

50. výročí udělení Nobelovy ceny za polarografii

10. prosince 1959 převzal z rukou švédského krále Gustava Adolfa VI. profesor Jaroslav Heyrovský Nobelovu cenu za polarografickou metodu analýzy. 50. výročí této události je jistě vhodnou příležitostí k zamýšlení nad minulostí i nad budoucností.

Nobelova cena byla jistě spravedlivým oceněním průkopnické práce profesora Heyrovského a zejména jeho schopnosti propagovat novou analytickou metodu a prosadit její uplatnění v analytických laboratořích. Schopnost profesora Heyrovského soustředit se na podstatné věci, co nejjednodušeji popsat a interpretovat i složité jevy a nadchnout své spolupracovníky i žáky pro studium nové metody, může sloužit jako příklad i dnešním badatelům. Je jistě ctí pro náš časopis, že první práce o polarografii byla publikována právě v časopise *Chemické listy* (viz *Chem. Listy* 16, 256 (1922)). Ve světě není mnoho časopisů, které se mohou pochlubit tím, že v nich byla poprvé popsána metoda oceněná Nobelovou cenou. Rychlost, s jakou byla práce otištěna (4 měsíce po provedení prvních experimentech), nám může být vzorem i v dnešní době, kdy bohužel dochází k prodlužování publikačních lhůt v našem časopise (což nevidíme příliš rádi) v souvislosti s rostoucím přílivem příspěvků (což naopak vidíme velmi rádi). Při ohlédnutí do minulosti mě maně napadá otázka, jak by asi dnešní grantové agentury, vyžadující časový rozvrh postupu bádání, záruku, že bádání bude úspěšné, a charakterizaci významu dosažených výsledků, reagovaly na žádost o udělení grantu na sledování povrchového napětí rtuti kapající do různých roztoků. V žádosti by se totiž těžko mohlo uvést, že cílem studia je vyvinutí nové analytické metody, překonávající většinu metod existujících co do citlivosti, selektivity i praktické použitelnosti. To byl totiž neplánovaný výsledek základního výzkumu, a většina skutečných objevů hodných toho jména, vznikla tímto způsobem. Skutečný objev totiž nelze naplánovat ani bodově ohodnotit. A skutečně velcí vědci, mezi něž profesor Heyrovský bezesporu patřil, se o praktické využití svých objevů starají se stejným nadšením, s jakým získávali, vyhodnocovali a interpretovali poznatky k těmto objevům vedoucím.

Budeme-li mít na našich vědecko-výzkumných pracovištích lidi tohoto formátu, pak nebude potřeba kontrolovat jejich efektivitu, neboť takoví lidé sami na sebe kladou větší požadavky než si dokáže vymyslet i sebeschopnější byrokrat (a to je co říci). Tyto lidi je třeba systematicky vyhledávat a stejně jako ve sportu či v umění je úspěšnost výběru přímo úměrná velikost základny, z níž pracovníky s mimořádnými schopnostmi vybíráme. Jedině pyramida s dostatečně širokou základnou může dosáhnout požadované výšky, omezování a zužování této základny pod zámkou přednostní podpory špičkových jedinců či pracovišť zpravidla nevede ke kýženému cíli ba právě naopak. Navíc špičkové osobnosti musí mít k dispozici tým reagující na jejich impulsy a v tomto týmu pochopitelně nemohou být samé „špičky“ ale i kvalitní pracovníci na systematickou a trpělivou „mravenčí práci“, bez níž lze dnes špičkových výsledků dosáhnout jen velmi obtížně. Udržování rozsáhlé a kvalitní vědecko-výzkumné základny pochopitelně něco stojí, je to však jedna z nejlepších možných investic. Je smutnou skutečností, že prostředky, které náš stát věnuje na základní výzkum, nedosahují úrovně vyspělých evropských a asijských států. A ještě smutnější jsou objevující se úvahy o jejich další redukci. Přiznám se, že si nedovedu představit náš základní vývoj bez silné a dobře financované Akademie věd a její účinné spolupráce s vysokými školami, na které mohou obě strany jen vydělat. A vydělat na ní může i celá společnost, neboť jedině kvalitní základní výzkum může přinášet skutečně nové poznatky, které mohou vést i k novým materiálům, technologiím, léčivům, výrobkům, k poznatkům, které skutečně stojí za to patentovat. A jedním z prvořadých úkolů našeho časopisu by měla být demonstrace skutečnosti, že peníze investované do základního výzkumu alespoň v oblasti chemických věd (a podle mne i ve všech ostatních vědách) jsou peníze dobře investované rozumným hospodářem. V této souvislosti mne napadá jeden anglický bonmot, který si dovoluji nepřeložit: „If you think education and research are expensive, try ignorance“. Zkusil jsem obojí, nedá se to srovnat.

Jiří Barek

HRST VZPOMÍNEK NA PANA PROFESORA HEYROVSKÉHO A JEHO POLAROGRAFII

ROBERT KALVODA

*Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR, v.v.i.,
Dolejškova 3, 182 00 Praha 2
Robert.Kalvoda@jh-inst.cas.cz*

Došlo 5.3.09, přijato 7.5.09.

Klíčová slova: Heyrovský, polarografie, historie

Pár slov úvodem

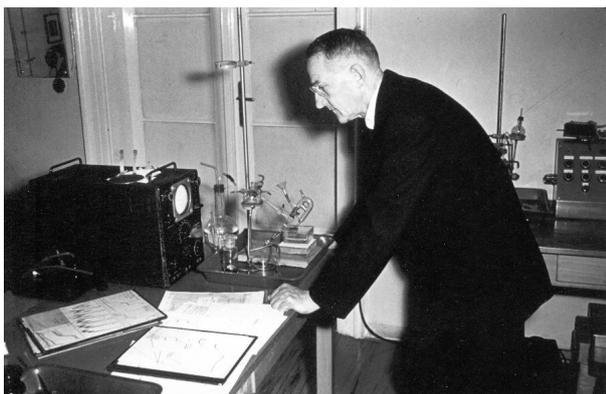
Měl jsem tu čest a štěstí být pracovníkem Polarografického ústavu od svých mladých let až do let seniorských, vlastně kmetských, s polarografií jsem tudíž prožil většinu svého života. U příležitosti 50. výročí udělení Nobelovy ceny tvůrci polarografie Jaroslavu Heyrovskému bych se tedy chtěl zamyslet nad krásnými chvílemi spjatými s rozvojem polarografie a zejména potom údobím prožitým pod šéfovstvím pana profesora.

Během studia na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy jsem navštěvoval přednášky pana profesora o polarografii, kdy jsem se mimo jiné dozvěděl, že pomocí krátce přes galvanometr zapojeného systému rtuťová elektroda – kalomelová elektroda, lze provádět polarometrické titrace iontů či látek podléhajících při potenciálu kalomelové elektrody elektrodové reakci: titračním roztokem se pak mění koncentrace sledované látky, což je provázáno změnou měřeného proudu. Tato měření jsou nyní známá pod názvem „amperometrická“. Krátce řečeno, jednoduchost celého postupu měření a celé aparatury mne natolik ovlivnily, že jsem se této technice ihned začal věnovat a posléze publikoval spolu s přítelem Jaroslavem Zýkou celou řadu prací, zejména orientovaných na farmaceutickou analýzu, což vyplývalo z našeho zaměstnání na tehdejší Ústavu pro farmaceutickou chemii UK. Další přístrojová technika, která mne poté na dlouhá léta ovlivnila, byla oscilografická polarografie střídavým proudem zavedená panem profesorem a těšící se jeho obzvláštní oblibě – a ta mne vlastně přivedla do Polarografického ústavu. Ostatní polarografické techniky zejména po straně instrumentální a samozřejmě i aplikační můj zájem trvale udržely a byly předmětem nesčetných tvůrčích diskusí s panem profesorem. Vždy jsem tehdy obdivoval jeho naprosto racionální rady a odhady či naznačení správného postupu k cíli. Heyrovského genialita se vlastně již projevila při jeho studiu elektrokapilarity v laboratoři profesora Kučery, kdy během svých měření pozoroval za přítomnosti kovových iontů v roztoku charakteristické vlny na křivce závislosti proudu na napětí vloženém na elektrody: již

tehdy poznal dalekosáhlý význam a dopad pozorovaných jevů. (Popisem pozorovaného jevu v Chemických listech v roce 1922 se potom datuje vznik polarografie). Další podrobnosti poté Heyrovský publikoval v britském *Philosophical Magazine* v roce 1923. Tím ovšem jeho úsilí nekončilo, právě naopak – se svými žáky, z nichž mnozí přišli do Prahy ze zahraničí blíže se seznámit s novou metodou, rozvíjel polarografii v ucelený vědní obor se zvláště silným dopadem na analytickou chemii.

Všeobecné rozšíření určité analytické metody je závislé na možnostech jejího praktického využití, ať již při řešení teoretického problému nebo požadavků chemických analýz. Ten druhý požadavek samozřejmě vzhledem k významu chemické analýzy pro veškerá odvětví lidské činnosti logicky převažuje. Tak tomu bylo i v případě polarografie, jejíž praktické rozšíření se datuje od let druhé světové války, zejména proto, že metoda našla uplatnění v metalurgické analýze tolik potřebné pro zbrojní průmysl. U polarografie tak bylo hned z počátku zřejmé její praktické využití. Jedním z příznivých faktorů bylo, že se jednalo vlastně o první automatizovanou analytickou metodu vůbec. K tomu, aby se polarografie dostala do světa, přispěl i časopis *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*, který založil profesor Heyrovský spolu s profesorem E. Votočkem, a ve kterém byly publikovány mj. i původní, objevené práce z polarografie. Samozřejmě, že profesor Heyrovský napsal také řadu monografií o polarografii, nicméně velkou zásluhu na všeobecné akceptaci polarografie odbornou veřejností měla Heyrovského stať o polarografické metodě, uveřejněná v obsáhlém díle „*Physikalische Methoden in der chemischen Analyse*“ (Akad. Verlag, Leipzig 1935) významného německého analytického chemika profesora W. Böttgera. Na americkém kontinentu se o rozšíření polarografie zasloužil svojí populární knížkou o této metodě profesor I. M. Kolthoff a J. J. Lingane (v údobí druhé světové války). Samozřejmě, že se také hned objevila celá řada výrobců polarografů – u nás to byla před druhou světovou válkou firma Dr. V. & J. Nejedlý v Praze – Vokovicích, v USA firma Sargent a v Německu v poválečných letech fa. Leybold. Ostatní světové firmy poté rychle následovaly. V průběhu padesátých let byla posléze tato metoda dále zdokonalována a navrženy její nové varianty dosahující podstatného zvýšení citlivosti.

V letech po druhé světové válce jsme pak byli svědky všeobecného rozvoje aplikací polarografické analýzy. Účinně tomu napomáhala vydávání polarografické literatury, zejména speciálních monografií a učebnic, a to prakticky na všech kontinentech. Za zmínku snad stojí i skutečnost, že byly zřizovány polarografické ústavy: jeden v Praze (1950) pod vedením profesora J. Heyrovského (od roku 1952 se tento ústav stává součástí Československé akademie věd), druhý v Itálii, jakožto pracoviště Národní-



Obr. 1. Profesor Heyrovský při práci v laboratoři

ho centra pro výzkum – CNR, a třetí ve Velké Británii pod patronací výrobních podniků vyrábějících polarografy. Rozšíření polarografie v Československu samozřejmě napomáhala pořádání pravidelných seminářů o nově publikovaných pracích z polarografie; ty také byly příležitostí k diskusím pro pracovníky hlavně z průmyslových laboratoří.

Tehdejší Polarografický ústav Jaroslava Heyrovského Československé akademie věd byl vskutku Mekkou polarografie, kterou se snažil navštívit nespočet odborníků ať již ke krátké návštěvě, nebo i k delším odborným stáží. Ústav se tehdy členil na jednotlivá vědecká oddělení se specifickou tematickou náplní, orientovanou např. na polarografii anorganickou, organickou, problémy teoretické, otázky polarografické instrumentace a průmyslových analyzátorů, abych vyjmenoval alespoň ta základní oddělení. Vedoucím každého z nich byl renomovaný světově uznávaný odborník.

Vědečtí pracovníci ústavu – to byli nadšenci, kteří nehleděli na čas, víkendy a svátky. Pracovní atmosféra, která tehdy v ústavu okolo profesora Heyrovského vládla, je z dnešního pohledu až neuvěřitelná, ale pro tehdejší účastníky, kteří byli „při tom“ byla vskutku pohádkou. Asi nikdo z nich nezapomíná, jak „pan šéf“ každý den obcházel pracoviště a s každým podrobně podiskutoval o řešeném problému. Sluší se uvést, že si ale nesmírně potrpěl na přesnost příchodu do práce, mírné opoždění „po osmé“ – byť se třeba poté setrvalo na pracovišti mnoho hodin přes čas – zásadně netrpěl a před dalším takovým prohřeškem pracovníka důrazně varoval s tím, že by v opačném případě bylo lépe si hledat místo někde jinde. Inu pořádek musí být! Jestliže si ale někdo musel něco osobního zařadit v pracovní době a vyžádal si svolení pana šéfa, vše bylo OK – ach kde je nyní ta pracovní morálka a pracovní nadšení, které tehdy v ústavu vládlo.... Osobní problémy tehdy mladého kolektivu pana profesora také zajímaly a neváhal pomoci, kde mohl. Prostě byla to velká rodina, která se i společensky stýkala. Jen tak mimochodem, každoročně profesor Heyrovský pořádal na své náklady večírek – nejčastěji v pronajaté restauraci Savarin Na příkopě

– ke kterému pozval všechny zaměstnance s rodinnými příslušníky a také některé pracovníky „mimo ústav“, kteří se polarografií zabývali. Zde se také uděly tzv. „Ceny Collection“ za nejzajímavější polarogram, znázorňující nějaký nový princip nebo jev. Soutěž byla určena pro mladé pracovníky (a to byli vlastně tehdy všichni pracovníci ústavu), navíc finančně dotována z prostředků pana profesora – první cena obnášela tisíc korun, což tehdy byla značná částka shodná s měsíčním platem. Jednou se takový večírek konal v pivnici u sv. Tomáše na Malé Straně – to bylo těsně po udělení Nobelovy ceny. Bohatou večerí tehdy předcházela kabaretní program, který k pronájmu celého podniku patřil – a ten se tehdy panu šefovi silně nelíbil. Také se zlobil, že se v sále klidně kouřilo – kouření na večírcích bývalo totiž povoleno až po desáté hodině.... (Vůbec s kouřením to bylo těžké, v místnostech ústavu to bylo zcela nemožné, proto pracovníci chodili kouřit na zahradu, ale tak, aby to pan šéf neviděl). Na zmíněných večírcích se těšili obzvláštní pozornosti zahraniční hosté, kteří právě na ústavu pracovali. Vůbec v ústavu za ředitelování profesora Heyrovského panoval jakýsi kult přesporních hostů, zejména cizinců: prostě každý zájemce o polarografii byl vítán, i když se někdy jednalo jen o zběžné seznámení s touto technikou. Výuka polarografie totiž probíhala na katedře fyzikální chemie Přírodovědecké fakulty UK v rámci každoročně pořádaného „polarografického praktika“. Na dobu dvou týdnů tehdy přijížděli zejména z ciziny ti, kteří se s metodou chtěli blíže seznámit a získat určité zkušenosti a zručnosti po absolvování cvičení s pečlivě volenými a v průběhu let osvědčenými úlohami. O toto praktikum pečovali pracovníci zmíněné katedry fyzikální chemie, ovšem řada pracovníků Polarografického ústavu se zúčastnila teoretické výuky. Během doby trvání tohoto praktika byly pořádány i společenské akce, tradiční nedělní výlet nevyjímaje. S mnohými absolventy jsme měli později možnost setkat se na zahraničních pracovištích, kde dále rozvíjeli obor, se kterým se v Praze seznámili. Mnoho zahraničních hostů pracovalo v ústavu i po několik let při práci na vědeckém problému, zejména když se jednalo o „vědeckou výchovu“ zakončenou udělením vědecké hodnosti. Nejen významní zahraniční hosté, ale i tito „dlouhodobí“ hosté byli spolu s pracovníky ústavu, kteří o ně pečovali, zvaní panem profesorem na večíři, zpravidla do čínské restaurace ve Vodičkově ulici nebo do restaurace EXPO 58 v Letenských sadech. Zájem o náš ústav byl tehdy skutečně obrovský, koncem let šedesátých dokonce Čedok organizoval hromadné návštěvy ústavu.

Asi nejmasovější prezentací, jaké se kdy polarografii vůbec v celosvětovém měřítku dostalo, byla její účast na Světové výstavě v Bruselu v roce 1958. Polarografie zřejmě tehdy dosáhla svého zenitu jak po stránce teoretické, tak také ve sféře aplikační, a tak tedy zcela logicky a prozřetelně padlo rozhodnutí obeslat Světovou výstavu EXPO 58 v Bruselu expozicí o polarografii (viz cit.¹).

Ústav a jeho pracovníci se tak stali velice známými ve světě a získali spoustu zahraničních přátel. Není tedy divu, že profesor Heyrovský a jeho žáci byli zvaní zahra-

ničními vysokými školami a učenými společnostmi ať již k proslovení speciálních přednášek z oboru či k pořádání celých přednáškových cyklů o polarografii. Pracovníci ústavu tak prakticky procestovali celý svět, a to téměř výhradně na náklady zvonící strany, což snad je dobré také zdůraznit. V době, kdy výjezdů do zahraničí bylo poskrovnu, polarografie vzhledem ke své výlučnosti tvořila jakousi výjimku. Totéž se dá říci o Polarografickém ústavu, který byl krásnou oázou, oddělenou od politického dění a různých protivenstev tlustými dubovými dveřmi ve Vlašské ulici č. 9 na Malé Straně.

Zamyslíme-li se tedy nad otázkou největšího přínosu československé vědy vědě světové ve dvacátém století, musíme zcela objektivně uvést na prvním místě polarografii, za níž její tvůrce profesor Jaroslav Heyrovský obdržel Nobelovu cenu, jejíž výročí udělení si letos připomínáme.

Šíření polarografie po světě

Japonsko a Čína

Z Prahy se polarografie rychle šířila do celého světa a velmi brzy po jejím zavedení, které se datuje rokem 1922, zapustila kořeny také v Japonsku. V roce 1925 totiž sestrojil profesor Heyrovský se svým japonským hostem a žákem M. Shikatou, který se v Praze seznamoval s polarografií, přístroj nazvaný polarograf, který automaticky zaznamenával polarografické křivky. Z historického hlediska dlužno navíc uvést, že to byl vlastně první automatický měřicí přístroj vůbec, který zaznamenával průběh analýzy, tehdy ještě na fotografickém papíře, takže byl hned k dispozici doklad o provedeném měření. M. Shikata pak založil po svém návratu do Japonska tamní polarografickou školu. Mimochodem v Japonsku vznikla též polarografická společnost, vydávající časopisy věnované polarografii, z nichž je významný zejména *Review of Polarography*. Z Japonska se pak polarografie šířila po asijském kontinentě a dostala se do Číny a Indie. Po Mukdenském incidentu v roce 1931, při kterém japonská vojska přepadla čínská kasárna v Mukden (Shenyang), a poté „kwantungská armáda“ obsadila Mandžusko, byl M. Shikata poslán do Changchunu v provincii Jilin, městu známém z knihy či filmu o „posledním čínském císaři“, aby pracoval ve výzkumném ústavu, který tam Japonci zřídili. Po skončení války se pak Shikata dostal do čínského zajetí, ale k jeho velké spokojenosti jej ponechali v ústavu, aby mohl v klidu dále vědecky pracovat až do r. 1953, kdy se vrátil do Japonska. Tím v podstatě zakotvila polarografie i v Číně a doznala tam velké obliby. Není tedy divu, že v 50. letech přišel do tehdejšího polarografického ústavu první čínský stážista k několikaletému pobytu, nyníjší profesor Erkang Wang, ředitel Ústavu pro aplikovanou chemii Čínské akademie věd právě v onom Changchunu a v téže budově, v které působil již zmíněný profesor Shikata. Tento ústav se později stal jedním z čínských center polarografie. V době, kdy jsem jej navštívil (1987), měl tento ústav přes tisíc zaměstnanců a věnoval se také výchově vědeckých pracovníků. Rovněž

i pro tento ústav platí to co pro jiné ústavy Čínské akademie věd, totiž že jsou výborně vybaveny po technické stránce.

Určitým vyvrcholením vědeckých styků s Čínou v oblasti polarografie byla cesta pana profesora Heyrovského do této velké země, kam jej doprovázel jeho syn Michael a tehdy již absolvent zdejší vědecké aspirantury, zmíněný Erkang Wang. Profesor Heyrovský navštívil celou řadu pracovišť po celé Číně a seznamoval tamější pracovníky s polarografií, případně již zkušené pracovníky s novinkami v tomto oboru. Že to byla záležitost nesmírně namáhavá – profesoru Heyrovskému tehdy bylo 68 let – jsem si uvědomil, když jsem pak sám měl tu možnost v Číně přednášet po 29 letech, tedy v roce 1987. Bylo tam totiž zvykem pořádat přednášky zhruba dvouhodinové, které se vždy značně protáhly tím, že byly překládány z angličtiny, případně i z češtiny, byl-li přítomen pracovník, který vystudoval v Praze. Během toho překládání si ale přednášející mohl alespoň trochu odpočinout, případně promyslet či upřesnit další věty. Kdo si to jednou zkusí, uzná, že to je značně namáhavá záležitost. Četné přednášky profesora Heyrovského na čínských pracovištích měly pak odezvu v zavádění polarografie v nejrůznějších oblastech lidské činnosti, prostě všude tam, kde se vyžaduje služby analytické chemie. Je tedy nasnadě že další intenzivní vyslání čínských pracovníků do Československa nedalo na sebe dlouho čekat. Většinou zde pobývali tři roky, během kterýchto doby se zde naučili také česky. Je nyní obzvláště milé, když vás univerzitní profesor nebo významný vědecký pracovník při návštěvě čínských vysokých škol nebo ústavů akademie přivítá česky. Bohužel část naší veřejnosti, a to i odborné, se stavěla k těmto pracovníkům přezíravě. Zcela pravdivě a objektivně řečeno – byly to pro nás velmi vítané „ruce“, které odvedly dobrý kus práce. Myslím, že každý si čínské pracovníky musel pochvalovat.

Rozšíření polarografie v Číně napomohlo mimo již zmíněných akcí též vydávání čínských knih o polarografii, případně překládání knih zahraničních autorů do čínštiny. Spoluprací profesora Heyrovského a profesora Hana vyšel v roce 1959 v Šanghaji několikadílný věcný index polarografické literatury, a to jak anglicky, tak i čínsky. Dílo vskutku monumentální, uvážíme-li, že bylo nutno přeložit také několik tisíc názvů prací z různých jazyků do čínštiny. Obdobných věcných rejstříků se později odborná veřejnost dočkala od americké firmy Sargent, vyrábějící také polarografy, a od profesora G. Semerana, prvního ředitele polarografického ústavu v Padově. Pozadu nezůstal ani čínský průmysl, který uvedl na trh několik modelů polarografů.

Přístroje pro metody se superponovou střídavou složkou byly vyráběny např. firmou Yanagimoto v Kyotu. Jejich konstruktér Y. Yasumori mne během mé účasti na Mezinárodním polarografickém kongresu v Kyotu v r. 1966 pozval k prohlídce tohoto vysoce moderního závodu se širokým výrobním sortimentem jak elektrochemických, tak spektrálních přístrojů. Velmi příznivým dojmem působil na mne fakt, že v podnikovém výzkumu

pracovala celá třetina zaměstnanců, což nesporně přispělo k rychlé realizaci výsledků výzkumu a k neustálé modernizaci již vyráběných přístrojů. A že se jednalo o přístroje kvalitní, jsme se mohli v Praze přesvědčit při práci s jejich DC a AC polarografem, který firma darovala panu profesorovi Heyrovskému k jeho 75. narozeninám.

Jestliže již hovoříme o Číně a panu profesorovi, je snad možno uvést i něco z oblasti kulinářské: Pan profesor Heyrovský totiž miloval čínskou kuchyni, nicméně po svých nesčetných zkušenostech tvrdil, že ta nejlepší čínská restaurace je přece jen v Praze (ta, která bývala ve Vodičkově ulici). Tu si tak oblíbil, že se stala prakticky vedle restaurace v tehdejší Domě potravin jeho každodenním cílem v poledne, někdy pak i večer, chtěl-li pozvat některé zahraniční hosty prodlévající v polarografickém ústavu. Pan profesor měl stabilně rezervovaný stůl v zadní části restaurace a než začal objednávat, zpravidla se odebral do kuchyně, aby v doprovodu šéfkuchaře nejprve obhlížel jídla. Byl takovým milovníkem čínského jídla, že si je nechal nosit i do nemocnice v termosce. Bylo to dost kuriózní, protože pan profesor byl tehdy ve vysíleném stavu odvezen do nemocnice v Krči, kde mu dietolog profesor Mašek naordinoval speciální stravu – ta čínská ovšem byla lepší a zdá se, že přispěla zásadní mírou k jeho tehdejšímu ozdravení. To ale jistě profesor Mašek netušil.

Austrálie

Zde bych se chtěl zmínit o jedné, velmi milé a populární osobě, která se do historie polarografie zapsala tzv. AC polarografií. Jedná se o profesora Bruno Breyera, australského profesora chemie, který delší dobu působil na univerzitě v Kyotu a mluvil plynně japonsky. B. Breyer, původem z c.k. rakouskouherské monarchie, vystudoval v Německu medicínu a chemii, před Hitlerem se ale uchýlil do Anglie, kde jej zastihla 2. světová válka. Jako občan německého původu byl tehdy internován, poději naložen na loď, která jej měla odvézt kamsi do internace. Tedy měla, ale byla torpédována, našťástí byl B. Breyer z vody vyloven a dopraven do Austrálie. Tam se tedy začal věnovat chemii a v poválečných letech se proslavil tím, že zavedl novou polarografickou metodu – polarografii se superponovanou střídavou složkou (tzv. AC polarografii) a metodu tenzametrickou, sloužící ke sledování povrchově aktivních látek v roztocích právě touto AC polarografií. Zprvu sice tato AC metoda neskýtala podstatných výhod oproti polarografii klasické, byla ale později jinými autory zdokonalena eliminováním proudu nabíjecího, čímž se její citlivost zvýšila zhruba tisíckrát. Dlužno dodat, že původní A.C. polarografie nebyla v našem ústavu moc populární, a to platilo i o jejím autoru. Situace se však změnila, když B. Breyer náš ústav v roce 1956 navštívil a v úvodní přednášce velice dojatě líčil svoji touhu navštívit jednou v životě náš ústav. Aby se vůbec dostal do Evropy, přijal na jakési nákladní lodi místo lodního lékaře. Jeho přednášky byly velice působivé a on sám si jako osoba získal mezi kolegy vřelých sympatií. Pobýval v ústavu ve Vlašské ulici v malém pokojíku s výhledem do naší krásné, ma-

lostranské zahrady. Během jeho pobytu jsme spolu pracovali v laboratoři na vývoji nového elektrického zapojení pro řečenou A.C. polarografii. Zde v Praze, v mimopracovní aktivitě, chtěl putovat po stopách dobrého vojáka Švejka – ta knížka prý byla jedinou věcí, kterou při torpédování lodi zachránil a v podstatě mu pomohla v dobré mysli překonat útrapy války – tedy v rámci toho putování jsme zde v Praze navštívili řadu hospůdek, zejména tu U kalicha.

Chile

Na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy býval pravidelně pořádán roční UNESCO kurs analytické chemie pro pracovníky z tehdy tzv. „rozvojových zemí“, jehož náplní byly také přednášky a praktika z polarografie. Jedním z prvních chemiků, kteří přijeli na katedru analytické chemie do tohoto kursu, byl prof. Alfonso Morales z pedagogické fakulty státní univerzity v Santiagu de Chile. Během svého dlouhodobého pobytu se nejen úspěšně seznamoval s polarografií a hlavně jejím použitím v praxi, ale navázal též četné známosti „na vyšších místech“, takže jaksi dalším řízením osudu se stalo, že někdy v roce 1962 uzavřelo naše ministerstvo školství se státní univerzitou v Santiagu de Chile smlouvu o spolupráci. V rámci této smlouvy přijížděli pracovníci, tedy i profesori tamní univerzity, na naše vysoké školy k většinou dlouhodobým stážím. Řada z nich byla z oblasti chemie a ti obvykle pracovali na katedře analytické chemie Přírodovědecké fakulty UK v Praze a také v Polarografickém ústavu ČSAV. Jako pomoc tamní katedře chemie ministerstvo školství zakoupilo soupravu elektroanalytických měřicích přístrojů československé výroby, které měly navíc také reprezentovat náš průmysl. V soupravě byly zahrnuty zejména polarografy, oscilografické polarografy, elektronické zapisovače, pH-metry, zařízení na konduktometrická a fotometrická měření, abych zmínil jen ty nejdůležitější přístroje, které v tehdejší době představovaly zařízení dobře vybavené laboratoře. Část přístrojů byla odeslána do Chile lodí. Polarografy však, pokud se pamatují, byly dopraveny letecky z obavy, aby cestou lodí přes rovník přece jen nedošlo ke korozi, zejména kontaktů elektronické části přístrojů. Posléze pak byli vybráni pracovníci, kteří měli přístroje na místě uvést do chodu a tamní pracovníky a studenty zasvětit do jejich obsluhy, případně uspořádat kurzy elektroanalytické chemie. A tak byl do Chile vyslán profesor Jan Doležal (později i profesor Jaroslav Zýka) z katedry analytické chemie PŘF UK a též moje osoba k zajištění zejména polarografické problematiky. Po příletu do Santiaga bylo nutno přístroje vybalit, zprovoznit a vytvořit elektroanalytickou laboratoř v budově umístěné v nádherném tropickém parku univerzity, což se po krátké době podařilo. V této laboratoři jsme rovněž uspořádali řadu veřejně přístupných polarografických kursů. Oznámení o jejich konání bylo uveřejněno v hlavním chilském deníku El Mercurio. Zájemců se přihlásilo poměrně mnoho, takže jsme měli o zábavu na několik týdnů postaráno. Většinou se jednalo o pracovníky z geologického průzkumu

mu, kteří se snažili analýzou vod na obsah mědi objevit její ložiska a pak rychle zbohatnout. Zájemci o kurs byli ale i z řad farmaceutů, kteří byli vychovávaní tamní farmaceutickou fakultou také pro práci v klinické laboratoři. Podnikových chemických laboratoří bylo jen poskrovnu, byly-li vůbec nějaké. Výuku v laboratořích jsme posléze zaměnili za činnost přednáškovou doplněnou promítáním naučných filmů s polarografickou tematikou na univerzitách ve městech Temuko, Concepcion a Valdivia na jihu Chile. V severní Chile jsme poté přednášeli o polarografii na univerzitě v Antofagastě, která nám zorganizovala cestu do pouště Atacama, zejména do oblast Chuquicamaty, kde americká firma Anaconda Mining Copper Company těžila měď v jednom z největších terasovitých povrchových dolů na světě. I tam na „firemní“ půdě probíhaly diskuse o aplikaci polarografie v analýze anorganických surovin. A protože pan profesor miloval hory – v mládí sám aktivní horolezec, pořídili jsme pro něj na jeho výslovné přání několik záběrů z různých stran nejvyšší hory Kordiller Aconcagui z malého pronajatého letadla. Pravděpodobně jsme při tom narušili argentinský vzdušný prostor, ale to se tam tehdy tak vážně nebralo.

Maďarsko

Záhy po zřízení Polarografického ústavu byl pan profesor Heyrovský pozván na přednáškovou cestu do Maďarska. Poznatkům z této cesty „do Uher“, jak pan profesor říkával, byly věnovány dvě seminární přednášky v knihovně našeho ústavu ve Vlašské ulici, což mimochodem byla organizační chyba, protože tato místnost počtu zájemců naprosto nestačila. Řada pozdě „příšlých“ tudíž musela vzít za vděk posloucháním u otevřených oken vedoucích z knihovny na kouzelný malostranský dvůr této stavby. Tak veliký byl tehdy zájem o vše, co souviselo s polarografií, ale také se životem vědecké komunity v zahraničí, o níž byly přece jen mizivé informace. S nadšením tudíž byla přijata zpráva, že během tohoto pobytu došlo k návrhu uspořádat v roce 1955 první maďarsko-československou polarografickou konferenci, která by měla být obeslána početnou československou delegací. Také byla dohodnuta pozdější obdobná konference na oplátku v Československu, k níž skutečně došlo v roce 1958.

A tak nastaly na obou partnerských stranách rozsáhlé přípravy. Z naší strany se měli zúčastnit prakticky všichni vědečtí pracovníci ústavu, jakož i prizvaní hosté z jiných pracovišť. Nad skladbou vědeckého programu dbal osobně pan profesor – před odjezdem do Maďarska musel každý účastník konference přednést na ústavním semináři svůj příspěvek v příslušném cizím jazyce a být připraven na celou řadu připomínek vylepšujících přednášku. Mne pan profesor navíc pověřil zajištěním všech potřebných formalit spojených s touto cestou. Snad nějak vycítil moji skrytou touhu po cestování – každopádně to zařizování cest, spojené později s problematikou zahraničních styků ústavu, mi zůstalo prakticky do konce mého aktivního působení na pracovišti a musím se hned přiznat, že to byl vlastně

vedle polarografie také můj koníček, který jsem se snažil plnit ke spokojenosti svých kolegů.

A tak jsme večer dne 10. srpna 1955 v slavnostní náladě vyjeli, abychom byli následujícího dne ráno slavnostně uvítáni na Východním nádraží v Budapešti za asistence dechovky a také televize. My ovšem měli hlad a toužili po snídani. Naši hostitelé ale mysleli na vše a tak pohlédnu-li do tehdejšího programu, zjišťuji, že 25 minut po příjezdu byla snídaně – dnes bychom řekli spíše brunch – ve sbětoznámé kavárně Hungaria. Veškerý náš program byl tak říkajíc na minuty rozpracován, asi podobně, jako se dnes připravují státní návštěvy. Naše výprava byla ubytována ve studentské koleji, kam se večer ještě přistěhovali maďarští účastníci konference. Ta byla večer slavnostně zahájena koncertem státní filharmonie, také s českou hudbou na programu. Mám-li se zmínit o náplni přednášek, tedy jednalo se zejména o praktické aplikace polarografie v nejrůznějších oborech lidské činnosti. Tehdy se v podstatě ještě nepoužívala plynová chromatografie a když, tak jen ojediněle, rovněž atomová absorpční spektroskopie byla jen ve vývojovém stadiu, neku-li jiné, dnes zcela běžné fyzikální metody v analytických laboratořích. Polarografie tedy do jisté míry „kralovala“ jakožto značně univerzální a používaná analytická metoda.

Naši hostitelé se prostě překonávali. Protože věděli, že pan profesor rád víno Bikavér (býčí krev), které tehdy bylo i v Maďarsku nedostatkovým zbožím, vozili toto výborné víno v láhvích autem všude za námi, aby mohlo být podáváno v podniku, kde jsme obědvali nebo večereli. Patrně všichni tehdejší účastníci si vzpomenu na exkurzi do vinných sklepů v Badačonu, kde nám celé odpoledne dávali ochutnávat jedno víno za druhým – a my museli statečně degustovat. Ale byli jsme mladí, a tak se vše vydrželo. Pan profesor s námi pochopitelně nebyl, ostatně měl mít ráno plenární přednášku, tak se přece jen chtěl pečlivě připravit, jak měl ostatně ve zvyku. My zase mysleli, že se ráno prospíme a že snad nebude vidět, že v sále scházíme, protože při plenárních přednáškách bylo vždy „nabito“ domácími. Ouha! Ráno jsem byl vytažen z postele kýmsi z organizačního výboru s tím, že se panu profesoru ukázil oscilograf, který nutně potřeboval na demonstraci při své přednášce o oscilografické polarografii. „Přece tady seženete nějakého elektronika, který to spraví – nejsem zrovna ve formě“. „Už tam byl jeden náš inženýr a nehnul s tím – pan profesor chce Vás“, sděloval mi lánou němčinou onen posel. Tedy sprcha, rychle se obléci a autem do ne zcela blízké budovy techniky. Skutečně, stínítko oscilografu zůstávalo temné a vedle bledý maďarský inženýr. „Tak to, pane Kalvoda, opravte“, děl pan profesor. Požádal jsem tehdy vedle stojícího inženýra, aby přístroj znovu odkrytoval – sám jsem si netroufal tak učinit, protože bych se asi šroubovákem netrefil do drážky šroubů, byl jsem totiž rád, že mi stůl skýtá jakous takous oporu. Říká se v této souvislosti cosi o štěstí, a skutečně: po odkrytí přístroje jsem si všimnul odpojeného vodiče vysokého napětí pro obrazovku. „Přiletujte sem tento přívod, prosím“, což bylo provedeno a obrazovka se rozzářila a já také, a i pan profesor měl radost, že se dobře

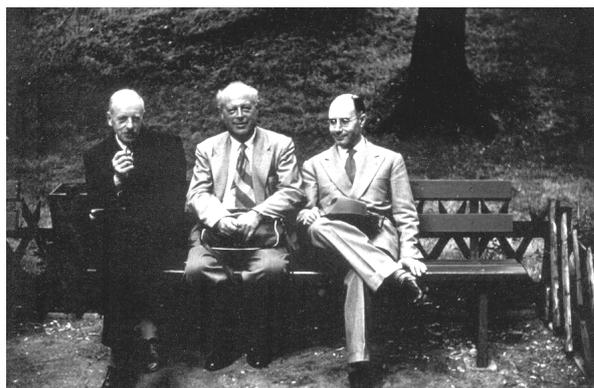
dílo podařilo. Takže jsem se mohl se ctí odporoučet.

Ovšem on pan profesor následující večer měl také „náladičku“, zatímco my jsme byli značně „pod párou“. To se totiž konala v Balatonalmádi v rekreačním středisku Akademie věd další ze slavnostních večeří. Ta „náladička“ se projevovala také tím, že při projednávání důležité služební záležitosti ohledně zpětného odvozu přístrojů domů, čímž jsem byl pověřen, jsme s panem profesorem mluvili chvíli česky, chvíli německy, jako bychom se nějak nemohli domluvit. Prostě jsou to takové milé vzpomínky.

Snad to bylo i naším přičiněním, že se v Maďarsku polarografie rozšířila měrou neobvyklou a dokonce bylo přistoupeno k výrobě polarografů. Firma Radelkis, v 80. letech velmi moderní podnik s managementem, který jsme obdivovali, vyráběla celou plejádu polarografů, vedle celé řady dalších zařízení pro elektrochemickou analýzu. Podnik úspěšně exportoval i do západních zemí, což se o našem výrobci polarografů bohužel nedalo tvrdit, i když poslední typy uvedené na trh v množství kolem snad tří tisíc kusů měly rozhodně světové parametry, pokud se týká návrhu konstrukce. Horší to už bylo s provedením: i když se řemeslnická práce časem zlepšila, podnik se stále potýkal s nedostatkem kvalitních, hlavně elektronických součástek. Výborný konstrukční návrh byl tak sériovou výrobou znehodnocen, což nás vlastně po desíletí mrzelo. Tehdejší servis snad ani nestačil různé ty závady odstraňovat.

Německo

Nebývalý zájem o polarografii byl projevován také u našeho severního souseda, kterým byla v důsledku politického rozdělení světa Německá demokratická republika. V Drážďanech na technické univerzitě existovalo již z předválečných dob světoznámé elektrochemické pracoviště vedené profesorem Kurtem Schwabem, který k nám začal posílat svoje žáky, mezi nimi také Dr. Hermann Berga, který později proslul svojí vlastní polarografickou školou na akademickém pracovišti v Jeně. Ale vraťme se k prof. Schwabemu: na jeho pracovišti se prováděl elektrochemický výzkum v celé své šíři, od polarografie až po výzkum koroze. K řešení praktických úkolů vlastnil prof. Schwabe svůj výzkumný ústav v Meinsbergu nedaleko Drážďan. V tomto soukromém podniku pracovalo několik kmenových zaměstnanců, většinu však tvořili doktorandi z drážďanského ústavu, kteří tak měli možnost řešit praktické problémy a něco si při tom navíc přivydělat, neboť veškeré výstupy z tohoto ústavu byly komerčně uplatňovány. Těsně před sloučením obou částí Německa byl tento ústav převeden do majetku státu pod jménem Forschungsinstitut „Kurt Schwabe“ – u příležitosti tohoto slavnostního aktu se konala vědecká elektrochemická konference, na které jsem měl tu čest úvodem oslovit a pozdravit přítomné hosty a též manželku prof. Schwabeho a v krátkém prosluvu ocenit dílo tohoto vědce v návaznosti na nově zahajovanou éru jím založeného ústavu. Bylo to již značně rozsáhlé pracoviště zabývající se nejen výzkumem, ale i komerční výrobou zejména sensorů a měřicích přístrojů



Obr. 2. Profesori M. v. Stackelberg, B. Breyer a G. Semerano (Drážďany-Míšeň 1957)

na různé škodliviny zatěžující životní prostředí. Zřejmě se jednalo o dobré pracoviště, protože ústav po sjednocení úspěšně přežil. Existenci tohoto ústavu a vůbec propojení vysokoškolského pracoviště s realizační jednotkou na soukromovlastnickém principu jsme ovšem v dobách, kdy „vše vlastnil stát“, obdivovali. O nějakém střetu zájmů se tehdy zřejmě vůbec nehovořilo a v praxi se snad tento termín ani nevyskytoval.

Velmi příjemným zážitkem byla účast na mezinárodní polarografické konferenci, kterou pořádal v r. 1957 již zmíněný prof. K. Schwabe v Drážďanech za účasti profesorů Maxe von Stackelberga (SRN), A. N. Frumkina a T. A. Krjukové (SSSR), G. Semerana (Itálie), B. Breyera (Austrálie), W. Kemuly (Polsko) a samozřejmě mnoha jiných elektrochemiků. Na tuto konferenci odjela i početná skupina našich pracovníků vedená panem profesorem Heyrovským. Vzpomínám si maně, jak pan profesor měl místenku na rychlík Vindobona na neexistující číslo sedadla – asi ten vůz někde odpojili. Pan profesor věc vyřešil svérázně – prohlásil „půjdeme prostě do jídelního vozu a tam si něco dáme“, a jak se ukázalo, byly tam zhruba poloviční ceny jídla i pití. „Tak budeme konzumovat dvojnásobné množství“, prohlásil pan profesor. Přijeli jsme tedy do Drážďan ve velmi dobré náladě, kterou umocnil ještě slavnostní večírek ve vile rektorátu univerzity, kde v přijímací hale byla vytvořena na stole asi metr vysoká, možná i vyšší, hora z různých pochoutek navzájem plynule propojených: pamatuji se hlavně na červený kaviár, pro nás úplnou novinku, kterou jsme neustále ve velkých kvantech konzumovali. Následek se objevil v noci v hotelu, kdy jsme se ještě s dalšími dvěma kolegy z ústavu neustále střídali u vodovodu a hasili žízeň.

Dalším pracovištěm úzce spjatým s polarografií byl tehdejší Institut für Mikrobiologie und experimentelle Therapie akademie věd NDR v Jeně, kde působil již zmíněný profesor Berg. Ten se zprvu zajímal zejména o použití polarografie a elektrochemie vůbec v biologii a medicíně, což stimulovalo použití polarografie nejen v NDR. Třetím stěžejním pracovištěm úzce propojeným s polaro-

grafii bylo akademické centrum pro přístrojovou techniku v Berlíně, kde se vlastně zrodil první počítačem řízený polarograf v zemích východních. Byl to poměrně univerzální elektrochemický přístroj, vyráběný a dodávaný po několik let – též v Československu bylo a možná ještě je několik těchto strojů. Konstrukce přístroje byla poplatná tehdejšímu stavu součástkové základny, čímž byla dána značná poruchovost. Dále stojí za zmínku Institut für Nichtmetalle ve Freibergu. Nejen že tam byl vyvinut velmi citlivý Square wave polarograf skupinou dr. Manfreda Geisslera, ale byly také vypracovány četné polarografické metody stanovení různých kovů pro průmyslovou praxi. Nutno ovšem uvést, že polarografie se zdárně vyvíjela, ale hlavně i používala v tehdejších západních Německu, a to již od dob poválečných, zejména zásluhou školy profesora Maxe von Stackelberka z univerzity v Bonnu. Centrem aplikace polarografie ve farmacii se stal posléze Ústav pro farmaceutickou chemii univerzity J. W. Goetheho ve Frankfurtu nad Mohanem, vedený profesorem H. Oelschlägrem, který se v polarografii zdokonalil spolu se svými spolupracovníky v Praze na našem ústavu, případně v polarografické praxi na Univerzitě Karlově. Tento ústav vychoval řadu vynikajících odborníků pro okolní farmaceutické giganty, v nichž se pak také uplatnila polarografická analýza.

Rusko

Poměrně záhy po publikování prvních prací o polarografii navštívil profesora Heyrovského významný sovětský geochemik, akademik V. I. Vernadský (to bylo v r. 1932), jehož zásluhou se polarografie rozšířila velmi rychle také v Rusku. Polarografie a samozřejmě také osobnost pana profesora jej zaujaly natolik, že pozval profesora Heyrovského do Sovětského svazu na Mendělejevské oslavy v roce 1934. Přednášky o polarografii, jakož i vydání Heyrovského knížky o této metodě v překladu Heyrovského sovětské žačky E. Varasové – která však později zmizela v některém z Gulagů – stimulovaly významným způsobem obrovský zájem o polarografii jak mezi pracovníky z vysokých škol, tak také z průmyslových laboratoří. Po druhé světové válce, nebo lépe řečeno zhruba 11 let po jejím skončení, začali i do této země jezdit také pracovníci našeho ústavu.

Maně si vzpomínám na všesvazovou polarografickou konferenci na paměť osmdesátých narozenin profesora Heyrovského v Kišiněvě v r. 1970. Mimochodem, sovětské kolegyně nám tehdy velmi vyčítali, že jsme my u nás nebyli schopni takovou akci k uctění památky našeho pana šéfa uspořádat. Akce to tehdy byla velice slavná a spolu s Dr. J. Řihou z našeho ústavu jsme museli do televize na živé vysílání, které se konalo v době závěrečného banketu, kde v jídelně bylo několik televizorů, aby nikomu nic z debaty u televizního kulatého stolu neušlo. V podstatě jsme museli odpovídat na nejrůznější otázky o tom, co to vlastně polarografie je a k čemu je dobrá, o panu profesorovi, proč jubilejní sjezd nebyl uspořádán v Praze a nevím co ještě. Jen si pamatuji, že jsme po té úmorné akci každý

obdrželi honorář ve výši 30 rublů a jedno jablko. Pak jsme se zase vrátili mezi hodovníky.

Z putování po rozlehlé sovětské zemi plné kontrastů bych chtěl zmínit také Gruzii a hlavně její hlavní město Tbilisi. V tomto městě se totiž konala někdy koncem 70. let koordinační porada tzv. Rady vzájemné hospodářské pomoci, a to v oblasti výzkumu, vývoje a výroby elektroanalytické přístrojové techniky. A tak od nás z Československa jsme tam za ústav letěli s dr. L. Pospíšilem a panem V. Gajdou – konstruktérem polarografů z podniku Laboratorní přístroje. Úvodem budiž konstatováno, že ty porady byly víceméně zbytečné, nic se nepodařilo zkoordinovat či výrobně zajistit, každý si hájil to svoje a snažil se udržet místo na slunci pro svoji výrobu. Proto byla účast v komisi přece jen nutná, aby snad někoho z řídicího centra v Moskvě nenapadlo administrativním zásahem iniciovat třeba zastavení výroby polarografů v Československu a kompletně ji převést do Maďarska k firmě Radelkis.

A závěrem něco z historie, současnosti a výhledů do budoucnosti polarografie

Při zvažování příznivých aspektů pro rozšíření polarografie lze zdůraznit, že v době jejího vzniku se jednalo o jednu z nejcitlivějších analytických metod s automatickým záznamem snadno vyhodnitelné křivky. Dalším příznivým faktorem byl (a samozřejmě stále je) široký sortiment látek a to anorganických i organických, které lze touto metodou stanovit v nejrůznějších maticích. V tehdejších dobách skutečně nebylo metody – snad mimo fotometrie – která by s polarografií mohla úspěšně soupeřit. Budiž ale hned konstatováno, že tvůrce polarografie nikdy nezdůrazňoval univerzálnost své metody či její výlučné postavení v analytické chemii, ale vždy své žáky učil, že je nutno se rozhodnout pro tu metodu, která je pro řešení té které úlohy nejvhodnější. Mnoho nadšenců se totiž snažilo aplikovat polarografii všude, a to i tam, kde jiná metoda byla prokazatelně výhodnější. Čas a praxe však vývoj záhy usměrnila. A tak jsme byli v letech po druhé světové válce svědky všeobecného rozvoje aplikací polarografické analýzy – ale také jejího použití při řešení teoretických problémů. Z vývojového hlediska ovšem také nelze opomenout důležitou okolnost, že Heyrovského polarografie s rtuťovou elektrodou – o které jsme až dosud stále hovořili – znamenala vlastně také jistý odrazový můstek ve vývoji elektroanalytické chemie, zejména při návrhu nových dokonalejších a citlivějších přístrojů, nových typů čidel, jakož i zásadně nových metodických přístupů.

Do jisté míry za zlomová lze považovat 60. léta minulého století, která přicházela s požadavkem stopové analýzy jak pro jaderný průmysl, tak také pro problematiku ochrany životního prostředí. A zde bohužel tzv. polarografie klasická (t.j. v podobě, jak byla zavedena prof. Heyrovským), mohla jen obtížně svoji citlivostí vyhovět. Navíc stále větší obliby si začaly získávat nově zavedené metody spektrální. Je sice pravda, že se vyskytly snahy

zvýšit citlivost polarografické metody zejména eliminací nabíjecího proudu, (konstrukce „square wave“ polarografu vynikajícím elektrochemikem G. Barkerem v britském atomovém středisku v Harvellu), avšak tento přístroj, uvedený na trh koncem 50. let byl velice nákladný, takže stěží mohl soutěžit se zmíněnými spektrálními přístroji. A tak docházelo k postupnému upadání zájmu o polarografii. To se také odrazilo v učebních osnovách vysokých škol chemického směru – polarografie se přestala učit, případně se zmiňovala jen okrajově, což také přispělo k postupnému vytlačování polarografie z laboratoří.

O „novou vlnu“ či „renesanci“ polarografie se v podstatě zasloužil elektronický průmysl tím, že začal vyrábět levné integrované obvody – operační zesilovače a číslicovou techniku, čehož mezi jinými využili výrobci moderních polarografických přístrojů. Tak v USA firma Princeton Applied Research Corporation vyvinula a na trh uvedla polarograf pracující s technikou diferenční pulzní polarografie, popsanou také již zmíněným G. Barkerem. Při použití integrovaných obvodů bylo docíleno výrobní ceny o řád nižší než tomu bylo u zmíněného elektronického square wave polarografu. Tato firma uvedla v době, kdy ještě jiní výrobci ze setrvačnosti dodávali „klasický“ typ polarografu v cenových relacích kolem 2000 až 3000 USD, svůj proslulý model PARC 174 za necelých tisíc dolarů. V krátkém sledu pak ve výrobě pulzních polarografů následovaly i jiné světově proslulé, jakož i čs. firma Laboratorní přístroje Praha. Další oživení trhu s polarografickými přístroji přineslo zavedení počítačové techniky, případně dostupnost polarografů buď s počítačem propojených, nebo polarografů řízených vestavěným počítačem. V České republice byla úspěšná v tomto směru firma Polaro-Sensors se svými počítačem řízenými polarografy, ať již v úpravě stolní nebo variantě pro použití v terénu.

Dostupnost těchto výkonných přístrojů podnítila znovu zájem o polarografii, která ve spojení s tzv. stripovacími či rozpouštěcími metodami (při nichž se analyzuje látka určitou dobu nahromaďovaná ze sledovaného roztoku na elektrodě) představuje jednu z nejcitlivějších analytických metod vůbec, a to ještě při velice nízké pořizovací ceně. A opět se objevila rozsáhlejší polarografická literatura, aplikační manuály, případně aplikační listy, vydávané zejména firmami PARC, Metrohm, a Polaro-Sensors, podle kterých může analýzy provádět i střední technický personál. Navíc jsou pořádány různé odborné konference, semináře, zejména potom mezinárodní kongresy s elektroanalytickou či polarografickou tematikou.

Jakou tedy má polarografie či voltametrie budoucnost? Stále zřetelněji se ukazuje, že její velké citlivosti lze výhodně využít ve spojení se separačními metodami, zejména s kapalinovou chromatografií. Zde se snoubí vynikající separační schopnost chromatografie s vysokou citlivostí polarografie. Určitou inovací je polarografie prováděná v průtokových systémech, což je výhodné zejména pro sériové analýzy. Polarografii je stále vytýkána pracnost při manipulaci s elektrodou, roztokem, odvodušňování, atd., což značně odrazuje potenciální uživa-

tele, zejména schází-li základní znalosti z oboru. Pro sériové analýzy lze ovšem použít automatické podavače vzorků, které veškeré procesy zjednodušují. K oprávněným námitkám patří jistě omezená selektivita metody vedoucí k potížím při analýze směsí: to se projevuje zejména při analýze vzorků obsahujících směsi organických látek. Zde je zřejmě v současnosti nezastupitelná plynová či kapalinová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií. Spektrální metody ovšem hrají „prim“ i v analýze anorganické. To se projevuje mimo jiné v akreditovaných metodách, kde se polarografie či metody od ní odvozené vyskytují jen sporadicky.

A co říci závěrem, snad jen že žádná analytická metoda není univerzální, i když v prvním údobí po jejím objevení či zavedení do praxe často panuje jistá optimistická euforie. Časem se ale většinou projeví jakési „těžiště využití“ metody, které jí pak přisoudí místo mezi metodami klasickými. Tak tomu snad bylo se všemi metodami analytické chemie, z nichž snad žádná úplně nezapadla do zapomnění, nýbrž našla uplatnění při řešení – řekněme – „speciálních problémů“. A tak tomu asi bude i s polarografií a od ní odvozenými metodami, jejíž doménou asi zůstane oblast stanovení stopových koncentrací toxických kovů ve vodách, sledování organických sloučenin vyznačujících se biologickou účinností a řešení problematiky redox reakcí vůbec. Rovněž lze uvést celou řadu spíše „netradičních“ použití polarografie a voltametrie, vymykající se z rámce běžné polarografické/voltametrické rutiny v analytických laboratořích: jsou to zejména některé možnosti metody v oblasti biologické a biochemické, sahající od měření *in vivo* až po čidla k účelům diagnostiky v lékařství a toxikologii, ale také zařízení pro určování kvality nejrůznějších přípravků z oblasti chemické, farmaceutické, potravinářské apod., jakými je tzv. voltametrický (či elektronický) jazyk. Rovněž lze uvést problematiku analýzy pevné fáze, měření ve fázi plynné a konečně použití v tribodiagnostice při zjišťování opotřebení strojů. Nelze také pominout různé způsoby amperometrických měření a vývoj nejrůznějších čidel, elektrochemických detektorů a analyzátorů, které mají do jisté míry původ v oné klasické polarografii. Jistá univerzálnost polarografických/voltametrických metod spočívá navíc v tom, že při nedostatečném vybavení laboratoře jinými aparaturami umožní polarograf – byť někdy i složitě – uspokojit co nejširší požadavky na chemickou analýzu. Tím se přece jen může pochlubit málo metod.

A úplně závěrem

Ono těch vzpomínek bylo ovšem mnohem více, nikoliv jen pouhá „hrst“ – vydaly by jistě na celou knihu – což se ostatně i stalo v dosud nevydaném spise „S polarografií kolem světa“ – případně sepsanou i více pamětníky, nebo alespoň knižním „uspořádáním“ toho, co již bylo na různých místech publikováno.

LITERATURA

1. Kalvoda R.: Chem. Listy 102, 923 (2008).

R. Kalvoda (*J. Heyrovský Institute of Physical Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*): **Pleasant Memory of Professor Heyrovský and His Polarography**

The article is devoted to the 50th anniversary of the Nobel Prize for polarography. The author gives some recollections and describes the life with polarography in the Heyrovský Institute where he has been working for nearly 60 years.



19. CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ KONFERENCE S MEZINÁRODNÍ ÚČASTÍ

APROCHEM 2010

**TECHNOLOGIE • ROPA • PETROCHEMIE • POLYMERY • BEZPEČNOST • PROSTŘEDÍ
19. – 21. DUBEN 2010 • KOUTY NAD DESNOU • JESENÍKY • HOTEL DLOUHÉ STRÁNĚ**

**PCHE • APROCHEM 2010 • Na Dračkách 13, 162 00 Praha 6 • Tel/Fax: 220 518 698 •
Mobil: 607 671 866, E-mail: pche@csvts.cz • www.aprochem.cz**

Připravuje PCHE s ČSPCH, ČSCH, ČSCHI, VŠCHT Praha, SCHP ČR, ÚCHP AV ČR.

ODPADOVÉ FÓRUM 2010

**5. ROČNÍK ČESKO-SLOVENSKÉHO SYMPOSIA • VÝSLEDKY VÝZKUMU A VÝVOJE
PRO ODPADOVÉ HOSPODÁŘSTVÍ • 21. – 23. DUBEN 2010 • KOUTY NAD DESNOU •
HOTEL DLOUHÉ STRÁNĚ**

CEMC – České ekologické manažerské centrum, Jevanská 12, 100 31 Praha 10
Tel.: 274 784 448, 723 950 237, fax: 274 775 869, e-mail: symposium@cemc.cz, www.odpadoveforum

V rámci obou akcí doprovodná technická výstavka.

Firemní komerční prezentace a loga v tištěných materiálech i na CD ROM.

Přihlášky přednášek prosíme do 31. 1. 2010, plná znění elektronicky do 15. 3. 2010.

2. cirkulář s Odborným programem a Přihláškou účasti vyjde koncem února 2010.

Přihlášky účasti budou žádány do 31. 3. 2010.

Registrace na jedné z akcí umožní účast na obou za výhodných podmínek.

Nepřehlédněte prosím nové místo konání v Koutech, Jeseníky. Sledujte web.

Zveme Vás k účasti a těšíme se na společné setkání.

KAM SMĚŘUJÍ MODERNÍ ELEKTROANALYTICKÉ METODY 50 LET PO UDĚLENÍ NOBELOVY CENY ZA POLAROGRAFIÍ

JIŘÍ BAREK, KAROLINA PECKOVÁ
a VLASTIMIL VYSKOČIL

Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra analytické chemie, UNESCO laboratoř elektrochemie životního prostředí, Albertov 6, 128 43 Praha 2
barek@natur.cuni.cz

Došlo 5.7.09, přijato 22.9.09.

Klíčová slova: polarografie, voltametrie, nové elektroodové materiály, chemicky modifikované elektrody, elektrochemické senzory, elektrochemické detektory

Věnováno památce profesora Jaroslava Heyrovského při příležitosti 50. výročí Nobelovy ceny za polarografii

Obsah

1. Úvod
2. Nové elektroodové materiály
 - 2.1. Amalgámové elektrody
 - 2.2. Bismutové filmové elektrody
 - 2.3. Diamantové filmové elektrody
 - 2.4. Další uhlíkové materiály
3. Chemicky modifikované elektrody
4. Elektrochemické senzory
5. Elektrochemická měření v průtokových systémech
6. Závěr

1. Úvod

Když před padesáti lety přebíral profesor Heyrovský Nobelovu cenu za polarografii, byla tato analytická metoda na jedné straně široce rozšířena v běžných analytických laboratořích a běžně používána pro stanovení anorganických i organických látek a na druhé straně byla vystavena rostoucí konkurenci bouřlivě se rozvíjejících separačních a spektrometrických metod^{1,2}. Zavedení moderních pulsních technik, které výrazně zvyšují citlivost polarografických stanovení, přispělo k určité renesanci polarografických metod^{3–5} v 70. a 80. letech minulého století, avšak nedokázalo zabránit jejich odsunutí do pozadí separačními a spektrometrickými metodami. Známé i nově akcentované výhody polarografických a voltametrických technik^{6–8} (nízké pořizovací a provozní náklady, široký dynamický lineární rozsah, široké spektrum elektrochemicky aktivních látek, vysoká citlivost umožňující stanovení často i subnanomolárních koncentrací elektrochemicky aktiv-

ních látek, vysoká rychlost a snadná automatizovatelnost a v řadě případů i postačující selektivita) často umožňují jejich použití i v konkurenci převládajících spektrometrických a separačních metod. V neposlední řadě k tomu přispívá i skutečnost, že u voltametrických metod je molekula analytu přímo zdrojem měřeného signálu způsobeného proudem vznikajícím při výměně elektronů mezi použitou pracovní elektrodou a molekulou stanovované látky, což zjednodušuje situaci ve srovnání se spektrometrickými metodami, kde je nutné excitovat molekulu analytu a foton vyzářený či spotřebovaný při tomto procesu vhodným způsobem konvertovat na měřený elektrický proud. Dalším zajímavým impulsem pro rozvoj elektroanalytických metod jsou i legislativní požadavky, podle nichž je v případě důkazu přítomnosti určité látky v analyzovaném vzorku „nade vši rozumnou pochybnost“ potřeba použít několika nezávislých analytických metod, takže i z tohoto hlediska je třeba rozvíjet elektroanalytické metody jako nezávislou alternativu k metodám spektrometrickým a separačním.

Obecně uznávanou podmínkou pro úspěšné rozšíření jakékoliv analytické metody v praxi je existence odpovídající teorie této metody, komerční dostupnost potřebné instrumentace, existence jednoduchých, jasně popsaných a validovaných postupů stanovení prakticky významných analytů, dostatečná informovanost analytické veřejnosti o výhodách, možnostech, ale i omezeních této metody, a pochopitelně i její konkurenceschopnost z hlediska ekonomického (pořizovací a provozní náklady), z hlediska analytických parametrů (citlivost, selektivita, lineární dynamický rozsah, opakovatelnost) i z hlediska praktického (časová náročnost, náročnost na operátora, uživatelská přívětivost, spolehlivost). Díky průkopnické práci profesora Heyrovského a jeho žáků je velká většina těchto požadavků splněna. Určitým problémem zůstává nízký stupeň automatizace (málokterý sériově vyráběný přístroj vyhodnocuje automaticky plochy (výšky) píků a zpracovává výsledky až do číselné podoby, jak tomu bývá u spektrometrických přístrojů). Kromě toho je obecně rozšířená tradice, že i běžný operátor bývá důkladně seznámen s voltametrickou technikou a jejími teoretickými principy, a to v podstatně větší míře, než je tomu u chromatografických či spektrometrických metod. Tato snaha o větší zodpovědnost a důkladnost rovněž poněkud omezuje praktickou aplikaci elektroanalytických metod.

Zdá se však, že hlavní překážkou dalšího rozšíření elektroanalytických metod, zejména pak voltametrických, na něž je tento článek zaměřen, jsou problémy související s používanou pracovní elektrodou. Ta totiž rozhoduje o kvalitě celého systému, jeho spolehlivosti, robustnosti, citlivosti i selektivitě. Navzdory přehnaným obavám z toxicity kovové rtuti, které podstatně komplikují používání rtuťových elektrod, představuje klasická rtuťová kap-

ková elektroda či její moderní varianta – visící rtuťová kapková elektroda – nejlepší pracovní elektrodu pro stanovení elektrochemicky redukovatelných látek vzhledem k atomicky hladkému povrchu, širokému potenciálovému oknu v katodické oblasti a zejména vzhledem ke snadné obnovitelnosti povrchu, což minimalizuje většinu problémů souvisejících s pasivací elektrody^{9,10}. Právě pasivace pracovní elektrody, ať už produkty elektrodové reakce či interferujícími složkami analyzovaného roztoku, je zřejmě největší překážkou většího rozšíření voltametrických metod a příčinou rostoucí popularity „bezkontaktních“ elektroanalytických měření¹¹. Problematika pasivace pracovních elektrod je neustále velmi aktuální navzdory značnému pokroku v oblasti jejich reaktivace mechanickým broušením a leštěním, chemickým či elektrochemickým čištěním nebo čištěním teplem, ultrazvukem, laserem, elektrickým výbojem či radiofrekvenčními výboji. Jedním z hlavních směrů dalšího rozvoje elektroanalytických metod je dle našeho názoru právě hledání nových elektrodo- vých materiálů odolnějších vůči pasivaci a materiálů umožňujících vhodnou modifikaci elektrod a jejich použití jednak pro konstrukci nových typů elektrochemických senzorů a jednak pro měření v průtokových systémech. A právě tyto oblasti se pokusíme stručně glosovat v následujícím textu. Pochopitelně si neklademe za cíl úplný a detailní přehled této široké oblasti, o níž informuje např. přehledný referát⁷¹, spíše se pokusíme vyjádřit své osobní pohledy na tuto problematiku.

2. Nové elektrodové materiály

Klasické a osvědčené elektrodové materiály (rtuť, platina, skelný uhlík) mají pochopitelně i některé nevýhody, mezi něž patří malá mechanická stálost a omezené anodické potenciálové okno u rtuti a obtížná obnovitelnost povrchu u kovových či uhlíkových elektrod.

Proto jsou systematicky vyhledávány nové elektrodové materiály vykazující širší potenciálové okno, nižší šum a zbytkový proud, použitelné v různých rozpouštědlech, odolné vůči pasivaci, s vyšší mechanickou stabilitou umožňující jejich kompatibilitu s měřením v průtokových systémech. Významná je i jejich kompatibilita se „zelenou“ analytickou chemií, která požaduje minimální toxicitu elektrodo- vých materiálů a minimální odpad při analýzách (elektrody na jedno použití nejsou z tohoto hlediska příliš ohleduplné k životnímu prostředí).

Problémy s pasivací elektrody lze do jisté míry eliminovat mechanickým obnovováním povrchu elektrody (broušení, leštění, ořtení povrchu pastové elektrody), elektrochemickou předúpravou elektrody (např. vložením vhodných potenciálových pulsů) či použitím elektrodo- vého materiálu, na němž se minimálně zachycují produkty elektrodové reakce či interferující látky. Volba elektrodo- vého materiálu je často rozhodující pro úspěch stanovení nejen z hlediska pasivace elektrody, ale i z hlediska dostupného potenciálového okna, šumu, velikosti a reprodukovatelnosti signálu atd. V následujícím textu je věnována pozornost vybraným netradičním elektrodo- vých materiá-

lům, které považujeme za perspektivní z hlediska moderních voltametrických a ampérometrických metod. Vybrali jsme ty materiály, u nichž je reálná šance na praktické uplatnění a připomínáme, že praxe vyžaduje elektrody spolehlivě fungující i v méně zkušených rukou a nevyžadující časově či experimentálně náročnou přípravu či předúpravu. Bohužel, z tohoto hlediska jsou visící rtuťové kapkové elektrody méně oblíbené, neboť vyžadují doplňování rtuti a obsahují jak pohyblivé části, tak díly vyžadující poněkud náročnější seřizování.

2.1. Amalgámové elektrody

Tuhé či pastové amalgámové elektrody, které byly vyvinuty na Ústavu fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR^{12,13}, mají celou řadu předností. Jsou netoxické, a tudíž přívětivé k životnímu prostředí, dostupné potenciálové okno je srovnatelné s visící rtuťovou kapkovou elektrodou (HMDE) a je možná jejich snadná elektrochemická předúprava. Navíc jsou mechanicky robustní, a tudíž kompatibilní s měřením v proudících kapalinách. Obecně jsou vhodné ke stanovení redukovatelných látek, podobně jako elektrody rtuťové, i když se od nich v některých ohledech liší¹⁴. O jejich použití, zejména v environmentální analýze, se čtenář může poučit jak na stránkách tohoto časopisu^{15,16}, tak i v četných přehledných referátech^{13,17,18}. Z teoretického hlediska je zajímavá možnost pokrytí tuhých amalgámových elektrod ideálně rovným rtuťovým filmem o definované tloušťce¹⁹ pro studium katodických dějů či uhlíkovým filmem²⁰, který umožňuje studium jak katodických, tak i anodických procesů. V poslední době jsou intenzivně zkoumány amalgámové pastové elektrody, ať již na bázi pastového amalgámu^{21–23}, či na bázi tuhého amalgámu smíchaného s vhodnou pastovací kapalinou²⁴, jejichž hlavní výhodou je snadná obnovitelnost povrchu pouhým ořtením. Pozornost byla věnována i přípravě a vlastnostem kompozitní amalgámové elektrody na bázi práškového amalgámu ve vhodné polymerní matici²⁵. Lze očekávat, že kromě dalšího vývoje metod vsádkového stanovení různých významných elektrochemicky redukovatelných analytů bude věnována pozornost i chemické modifikaci amalgámových elektrod vedoucí ke zvýšení citlivosti či selektivity stanovení a jejich využití v průtokových zařízeních.

2.2. Bismutové filmové elektrody

Velmi zajímavým elektrodo- vých materiálem pro studium katodických dějů je netoxický bismut. Bismutové filmové elektrody^{26–29} vytvořené *in situ* či *ex situ* na vhodném substrátu (skelný uhlík, uhlíková vlákna, uhlíková pasta, zlato, platina aj.) jsou slibnou alternativou filmů rtuťových, omezovaných vzhledem k toxicitě rtuti a jejich sloučenin. Těžiště jejich aplikací spočívá v anodické rozpouštěcí analýze anorganických látek^{27,29}, jejich využití ke stanovení stopových množství organických látek naráží na určité potíže, které zřejmě souvisí se složitým a ne zcela definovaným povrchem bismutového filmu. Je potěšitelné,

že významné místo v rozvoji těchto nových elektrod, zejména na substrátu na bázi uhlíkových past, zaujímá pardubická elektroanalytická škola^{30–34}, která v současné době připravuje přehledný referát z této oblasti pro tento časopis.

2.3. Diamantové filmové elektrody

Borem dopovaný diamant patří podle našeho názoru k nejperspektivnějším elektrodovým materiálům, především vzhledem k mimořádně širokému potenciálovému oknu umožňujícímu studium katodických i anodických dějů, nízkému šumu a zbytkovému proudu. K tomu přistupuje i mimořádná mechanická i chemická stabilita a odolnost vůči pasivaci související s parafinickým charakterem jeho povrchu, na němž se polární látky prakticky nadsorbují^{35–40}. Případné problémy s pasivací lze zpravidla snadno odstranit elektrochemickou předúpravou, omytím elektrody vhodným organickým rozpouštědlem či vyčištěním ultrazvukem. Nevýhodou je skutečnost, že pokud nepomohou tyto jednoduché prostředky, nelze, vzhledem ke krystalickému charakteru jejich povrchu, použít mechanické přešetření, které je běžně používáno u kovových, kompozitních či uhlíkových elektrod. Rozumná cena a komerční dostupnost těchto elektrod jistě přispějí k jejich dalšímu praktickému rozšíření, a to jak při voltametrii ve vsádkovém uspořádání, tak i při ampérometrii v průtokových metodách^{36,37}. Podrobnosti může čtenář nalézt v aktuálním přehledném článku v tomto časopise³⁵.

2.4. Další uhlíkové materiály

Nesmírný pokrok v oblasti materiálové chemie generuje stále nové a nové materiály na bázi uhlíku, z nichž řada má nebo může mít vlastnosti zajímavé z hlediska jejich využití jako elektrodových materiálů. Aktuální elektrochemické chování klasických i nových uhlíkových materiálů závisí na původu a historii jejich povrchu⁴¹. Kromě již zavedených uhlíkových elektrodových materiálů⁴² (např. spektrografický uhlík, skelný uhlík, pyrolytický uhlík atp.) se na scéně objevují stále nové materiály na bázi uhlíku⁴³, jako např. retikulární skelný uhlík⁴⁴, uhlíkové nanotrubičky⁴⁵, uspořádaný mesoporézní uhlík⁴⁶, grafen^{47–49}, naprášený nanouhlíkový film⁵⁰, uhlíková nanovlákná⁵¹ apod. Intenzivní pozornost věnovaná těmto materiálům se odráží v tisících publikacích. K elektroanalytickým účelům jsou zatím používány více na výzkumných pracovištích nežli v praktických analytických laboratořích. Na základě jejich zajímavých a mimořádných elektrochemických vlastností však lze očekávat, že intenzivní výzkum povede časem i k rostoucímu počtu konkrétních praktických aplikací.

3. Chemicky modifikované elektrody

Záměrná modifikace povrchu elektrody mající za následek zrychlení elektrodového děje, usnadnění akumulace látky na povrchu elektrody nebo usnadnění přístupu

analytu či naopak znesnadnění přístupu interferující látky k aktivní ploše elektrody, a tím i zvýšení citlivosti či selektivity stanovení, je stále v popředí pozornosti. Uplatňuje se zde celá řada přístupů lišících se pracností i spolehlivostí. V úvahu přichází zabudování vhodného modifikátoru do polymerního filmu pokrývajícího elektrodu, který lze vytvořit nanosením roztoku polymeru na povrch elektrody, ponořením elektrody do jeho roztoku (tzv. „dip coating“ technika), namočením elektrody s následným odstředěním (tzv. „spin coating“ technika) či elektropolymerizací v přítomnosti rozpuštěného monomeru. V úvahu přichází i kovalentní (chemické) navázání modifikátoru na povrch elektrody (důležitým prvkem zde je volba vhodné funkční skupiny použitého modifikátoru), fyzikální adsorpce či spontánní chemisorpce modifikátoru. Zajímavé možnosti nabízí i modifikace samoskladnými vrstvami („self-assembled monolayers“ – SAM), různými nanočásticemi, nanotrubičkami atp., sol-gel „zapouzdření“ (enkapsulace) modifikátoru do porézního sklovitého filmu připraveného hydrolyzou alkoxydových prekurzorů, pokrytí elektrody filmem umožňující prekoncentraci analytu či semipermeabilním filmem znemožňujícím přístup interferentu k povrchu elektrody („size exclusion“ či „charge exclusion“ efekty) apod. Tato bouřlivě se rozvíjející problematika pochopitelně přesahuje rozsah tohoto sdělení. Přesto bychom rádi upozornili alespoň na zajímavé přehledné referáty týkající se elektrochemických senzorů na bázi uhlíkových nanotrubiček⁵², využití elektrod modifikovaných různými nanočásticemi v rozpouštěcí analýze⁵³, rozpouštěcí analýzy kovů pomocí chemicky modifikovaných elektrod na bázi skelného uhlíku či uhlíkové pasty⁵⁴ nebo kompozitních elektrod a mikroelektrod⁵⁵, využití chemicky modifikovaných elektrod v organické voltametrii⁵⁶, elektrochemických biosenzorů na bázi elektrogenerovaných polymerů^{57,58}, využití chemicky modifikovaných elektrod v enantioselektivní analýze⁵⁹, využití povrchově aktivních látek k modifikaci elektrod⁶⁰, elektrod modifikovaných fullereny⁶¹, role uhlíkových nanotrubiček v současné elektroanalytické chemii⁶², či nyní velmi populárních sítotiskových elektrod na jedno použití⁶³.

4. Elektrochemické senzory a biosenzory

Elektrochemické senzory jsou rovněž jedním z produktů vývoje moderních elektroanalytických metod iniciovaného průkopnickými pracemi profesora Heyrovského a jeho školy. Jde o téma, kterému jsou dnes věnovány desítky monografií, stovky přehledných referátů a tisíce původních prací. Pojmy jako Clarkovo čidlo, lambda sonda, senzory na glukosu pro diabetiky atp. zevšedněly v laboratořích i v každodenním životě natolik, že neznalost jejich principů nebrání jejich úspěšnému používání. Kombinace elektrochemických principů s rozpoznávacími prvky umístěnými v podstatě na povrchu elektrody, ať už jsou povahy chemické, biochemické či biologické, vede ke zvýšení citlivosti i selektivity příslušných stanovení a bezpochyby jde o jeden z nejperspektivnějších směrů moderní elektroanalytické chemie. Snažíme se tyto trendy sledovat

i v časopise Chemické listy, jak dokazují přehledné referáty věnované ampérometrickým biosenzorům obecně⁶⁴ či různým typům membrán umožňujících imobilizaci rozpoznávacích prvků na jejich povrchu⁶⁵, praktické aplikaci biosenzorů při monitorování fermentačních procesů⁶⁶ nebo biologickým složkám biosenzorů pro stanovení těžkých kovů⁶⁷. Lze předpokládat, že další vývoj povede zejména ke zvýšení spolehlivosti, stability a robustnosti dosahovaných výsledků, což nepochybně povede i k výraznějšímu používání elektrochemických senzorů v praxi.

5. Elektrochemická měření v průtokových systémech

Dva hlavní důvody vedoucí k elektroanalytickým měřením v průtoku jsou snaha o zvýšení produktivity (zkrácení doby stanovení přechodem od vsádkového stanovení ke stanovení pomocí průtokové injekční analýzy (FIA) či sekvenční injekční analýzy (SIA)) a snaha o zvýšení selektivity kombinací mimořádně citlivé detekce s předběžnou separací např. vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC), či kapilární zónovou elektroforézou (CZE). Elektrochemická detekce již dříve našla široké uplatnění ve spojení s HPLC (cit.⁶⁸) či SIA (cit.⁶⁹) a v současné době se intenzivně studuje v souvislosti s rozvojem miniaturizovaných separačních zařízení^{37,70}, neboť dnes je již poměrně spolehlivě zvládnuta technologie přípravy miniaturizovaných elektrod, jejichž další zmenšování výrazně neovlivňuje dosažitelné meze detekce, a elektrické obvody kontrolující detekční systém lze rovněž snadno miniaturizovat. Přestože elektrochemická detekce pochopitelně nemůže konkurovat svou selektivitou detekci hmotnostní spektrometrií či svou citlivostí laserem indukované fluorescence, její analytické parametry jsou postačující pro řadu významných aplikací v oblasti sledování životního prostředí, biologických a lékařských věd, kde v její prospěch hovoří podstatně nižší pořizovací a provozní náklady.

6. Závěr

Vzhledem k obrovské rozmanitosti moderních elektroanalytických metod, které lze považovat za odvozené od klasické polarografie nebo k jichž vzniku či rozvoji klasická polarografie nepochybně přispěla, nemůže být tento přehled ani vyčerpávající ani zcela objektivní. Nutně je zkreslen osobním pohledem autorů a jejich vlastním odborným zaměřením a lze jen doufat, že vyprovokuje sepsání kvalitnějších a důkladnějších přehledů moderních elektroanalytických metod osobami povolanějšími. Naším hlavním cílem bylo připomenout, že průkopnická práce profesora Heyrovského a jeho polarografické školy byla zcela mimořádným impulsem pro rozvoj teorie i praxe elektroanalytických metod a že tyto metody mohou hrát významnou a užitečnou roli i ve světě fascinujících možností moderních metod separačních a spektrometrických.

Tato práce byla finančně podporována Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy (projekty MSM 0021620857, LC 06035 a RP 14/63).

LITERATURA

1. Barek J., Fogg A. G., Muck A., Zima J.: Crit. Rev. Anal. Chem. 31, 291 (2001).
2. Barek J.: Chem. Listy 91, 1038 (1997).
3. Kalvoda R., Volke J., v knize: *Nové směry v analytické chemii* (Zýka J., ed.), sv. I, kap. 2. SNTL, Praha 1983.
4. Kalvoda R.: Chem. Anal. (Warsaw) 52, 869 (2007).
5. Zuman P.: Electroanalysis 12, 1187 (2000).
6. Wang J.: *Analytical Electrochemistry*, 3. vyd. John Wiley, Hoboken 2006.
7. Bond A. M.: *Broadening Electrochemical Horizons*. Oxford University Press, Oxford 2002.
8. Bard A. J., Faulkner L. R.: *Electrochemical Methods*, 2. vyd. John Wiley, New York 2001.
9. Vyskočil V., Berek J., Jiránek I., Zima J., v knize: *Progress on Drinking Water Research*, (Lefebvre M. H., Roux M. M., ed.). Nova Science Publishers, New York 2008, str. 171.
10. Vyskočil V., Berek J.: Crit. Rev. Anal. Chem. 39, 173 (2009).
11. Hamplová A., Coufal P., Bosáková Z., Opekar F., Kubíček V.: Chem. Listy 102, 194 (2008).
12. Novotný L., Yosypchuk B.: Chem. Listy 94, 1118 (2000).
13. Yosypchuk B., Novotný L.: Crit. Rev. Anal. Chem. 32, 141 (2002).
14. Yosypchuk B., Berek J.: Chem. Listy 103, 284 (2009).
15. Cabalková D., Berek J., Fischer J., Navrátil T., Pecková K., Yosypchuk B.: Chem. Listy 103, 236 (2009).
16. Novotný V., Berek J.: Chem. Listy 103, 217 (2009).
17. Yosypchuk B., Navrátil T., Berek J., Pecková K., Fischer J., v knize: *Progress on Drinking Water Research* (Lefebvre M. H., Roux M. M., ed.), str. ??? Nova Science Publishers, New York 2008, str. 143.
18. Yosypchuk B., Berek J.: Crit. Rev. Anal. Chem. 39, 189 (2009).
19. Yosypchuk B., Fojta M., Berek J.: Electroanalysis, zasláno k otištění.
20. Yosypchuk B., Berek J., Fojta M.: Electroanalysis 18, 1126 (2006).
21. Yosypchuk B., Šestáková I.: Electroanalysis 20, 426 (2008).
22. Niaz A., Fischer J., Berek J., Yosypchuk B., Sirajuddin, Bhanger M. I.: Electroanalysis 21, 1786 (2009).
23. Niaz A., Fischer J., Berek J., Yosypchuk B., Sirajuddin, Bhanger M. I.: Electroanalysis 21, 1719 (2009).
24. Daňhel A., Yosypchuk B., Vyskočil V., Berek J.: *6th Spring Meeting of the International Society of Electrochemistry, Foz do Iguacu, 16-19 March 2008*, Book of Abstracts, str. 131.
25. Yosypchuk B., Navrátil T., Lukina A., Pecková K., Berek J.: Chem. Anal. (Warsaw) 52, 897 (2007).

26. Economou A.: Trends Anal. Chem. 24, 334 (2005).
27. Wang J.: Electroanalysis 17, 1341 (2005).
28. Švancara I., Vytřas K.: Chem. Listy 100, 90 (2006).
29. Kokkinos C., Economou A.: Curr. Anal. Chem. 4, 183 (2008).
30. Królická A., Pauliukaitė R., Švancara I., Metelka R., Norkus E., Bobrowski A., Kalcher K., Vytřas K.: Electrochem. Commun. 4, 193 (2002).
31. Vytřas K., Švancara I., Metelka R.: Electroanalysis 14, 1359 (2002).
32. Švancara I., Baldrianová L., Tesařová E., Hočevar S. B., Elsuccary S. A. A., Economou, A., Sotiropoulos S., Ogorevc B., Vytřas K.: Electroanalysis 18, 177 (2006).
33. Hočevar S. B., Švancara I., Ogorevc B., Vytřas K.: Electrochim. Acta 51, 706 (2005).
34. Baldrianová L., Agraftiotou P., Švancara I., Vytřas K., Sotiropoulos S.: Electrochem. Commun. 10, 918 (2008).
35. Musilová J., Barek J., Pecková K.: Chem. Listy 103, 469 (2009).
36. Cvačka J., Swain G. M., Barek J., Zima J.: Chem. Listy 96, 33 (2002).
37. Pecková K., Mocko V., Opekar F., Swain G. M., Zima J., Barek J.: Chem. Listy 100, 124 (2006).
38. Pecková K., Musilová J., Barek J., Zima J. v knize: *Progress on Drinking Water Research* (Lefebvre M. H., Roux M.M, ed.). str. ????. Nova Science Publishers, New York 2008, str. 103.
39. Fujishima A., Einaga Y., Rao T. N., Tryk D. A.: *Diamond Electrochemistry*. Elsevier, Amsterdam 2005.
40. Pecková K., Musilová J. Barek J.: Crit. Rev. Anal. Chem. 39, 148 (2009).
41. McCreery R. L. v knize: *Electroanalytical Chemistry*, vol. 19., (Bard A. J. ed.). M. Dekker, New York 1991.
42. Kisinger P. T., Heineman W. R.: *Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry*, str. 289. M. Dekker, New York 1984.
43. McCreery R. L. : Chem. Rev. 108, 2646 (2008).
44. Friedrich J. M., Ponce-De-Leon C., Reade G. W., Walsh F. C.: J. Electroanal. Chem. 561, 203 (2004).
45. Pumera M.: Chem.-Eur. J. 15, 4970 (2009).
46. Joo S. H., Choi S. J., Oh I., Kwak J., Liu Z., Teraski O., Ryoo R.: Nature 412, 169 (2001).
47. Li D., Kaner R. B.: Science 320, 1170 (2008).
48. Geim A. K.; Novoselov K. S.: Nat. Mater. 6, 183 (2007).
49. Shan Ch., Yang H., Song J., Han D., Ivaska A., Niu L.: Anal. Chem. 81, 2378 (2009).
50. Jia J., Kato D., Kurita R., Sato Y., Maruyama K., Suzuki K., Hirono S., Ando T., Niwa O.: Anal. Chem. 79, 98 (2007).
51. Wang J., Lin Y. H.: TrAC, Trends Anal. Chem. 27, 619 (2008).
52. Ahammad A. J. S., Lee J. J., Rahman M. A.: Sensors 9, 2289 (2009).
53. Jones S. E. W., Compton R. G. : Curr. Anal. Chem. 4, 177 (2008).
54. Stozhko N. Y., Malakhova N. A., Fyodorov M. V.: J. Solid State Electrochem. 12, 1185 (2008).
55. Stozhko N. Y., Malakhova N. A., Fyodorov M. V.: J. Solid State Electrochem. 12, 1219 (2008).
56. Shaidarova L. G., Budnikov G. K.: J. Anal. Chem. 63, 922 (2008).
57. Cosnier S.: Anal. Letters 40, 1260 (2007).
58. Cosnier S.: Electroanalysis 17, 1701 (2005).
59. Budnikov G. K., Evtuyugin G. A., Budnikova Y. G.: J. Anal. Chem. 63, 2 (2008).
60. Vittal R., Gomathi H., Kim K. J.: Adv. Colloid. Interface Sci. 119, 55 (2006).
61. Griese S., Kampouris D. K., Kadara R. O.: Electroanalysis 20, 1507 (2008).
62. Agui L., Yanez-Sedeno P., Pingarron J. M.: Anal. Chim. Acta 622, 11 (2008).
63. Renedo O. D., Alonso-Lomillo M. A., Martinez M. J. A.: Talanta 73, 202 (2007).
64. Polohová V., Nejdárková M.: Chem. Listy 102, 173 (2008).
65. Zajoncová L., Pospíšková K.: Chem. Listy 103, 291 (2009).
66. Valach M., Šturdík E.: Chem. Listy 103, 208 (2009).
67. Vopálenský P., Ruml T., Kotrba P.: Chem. Listy 101, 468 (2007).
68. Štulík K., Pacáková V.: *Elektroanalytická měření v proudících kapalinách*. SNTL, Praha 1985.
69. Pérez-Olmos R., Soto J. C., Zárate N., Araújo A. N., Montenegro M. C. B. S. M.: Anal. Chim. Acta 554, 1 (2005).
70. Matysik F. M.: Anal. Bioanal. Chem. 375, 33 (2003).
71. Barek J., Fischer J., Navrátil T., Pecková K., Yosypchuk B., Zima J.: Electroanalysis 19, 2003 (2007).

J. Barek, K. Pecková, and V. Vyskočil (*Charles University in Prague, Department of Analytical Chemistry, UNESCO Laboratory of Environmental Electrochemistry, Prague*): **Where Modern Electroanalytical Methods Verge Fifty Years after Nobel Prize for Polarography**

The review summarizes some recent trends in modern electroanalytical methods. Attention is paid to new electrode materials (solid and paste amalgams, bismuth, boron-doped diamond). The state of the art in the field of chemically modified electrodes, electrochemical sensors and electrochemical measurements in flow systems is briefly discussed.

JAROSLAV HEYROVSKÝ A JAN (JOHANN) BÖHM*

JIŘÍ JINDRA

*Kabinet dějin vědy Ústavu pro soudobé dějiny AV ČR,
v.v.i., Praha
jindra@usd.cas.cz*

Došlo 3.8.09, přijato 16.9.09.

Klíčová slova: J. Heyrovský, J. Böhm, vzájemná korespondence, fyzikální chemie

Jan (Johann) Böhm pocházel ze smíšené německo-české rodiny žijící v Českých Budějovicích, střední a vysokoškolské vzdělání získal na německých školách v Čechách. Ještě před skončením studia na Německé univerzitě v Praze (doktorát RNDr. 1922) pracoval v Berlíně v Ústavu císaře Viléma pro fyzikální chemii a elektrochemii, odkud byl po několika letech vyslán do Kodaně k slavnému Nielsu Bohrovi, kde v té době pracoval též Georg von Hevesy, pozdější laureát Nobelovy ceny. Böhm a Hevesy se později odebrali na univerzitu ve Freiburgu, kde se Böhm podílel na vybudování nového Ústavu fyzikální chemie, kde se habilitoval a dokonce byl jmenován mimořádným profesorem. Hevesy pro svůj původ po nástupu nacismu v Německu emigroval a Böhmovi nastaly v téže době potíže pro jeho antinacismus. Přes Hevesyho a Heyrovského se dostal do Prahy, kde byl jmenován roku 1935 mimořádným profesorem fyzikální chemie na Německé univerzitě a ředitelem Ústavu fyzikální chemie, jímž byl až do května 1945. Po celou dobu války se stýkal s českými kolegy, poněkud s Heyrovským. Heyrovskému umožnil, aby pokračoval ve výzkumu polarografie v jeho původním ústavu. Heyrovský Böhmovu nabídku přijal. Po skončení 2.světové války byl Heyrovský a tento toho obviněn z kolaborantství s Němci a perzekuován. S konečnou platností byl Heyrovský očištěn až počátkem roku 1947.

Mezi oběma profesory i jejich rodinami bylo upřímné přátelství, důkazem čehož je zachovalá korespondence z let 1945–1952. Z ní je patrný těžký osud Böhmův po roce 1945, kdy jedinou možností pro něj byly Pardubice-Rybitví, kde mohl pracovat v laboratořích Spolku pro chemickou a hutní výrobu v roentgenografii a fotochemii. Heyrovský, jak se dozvíme, se snažil dostat Böhma na některou vysokou školu či do nějaké vědecké instituce v Praze. Tomu věnovaná vzájemná korespondence je ve-

dena pouze v češtině, Böhmova čeština byla velmi dobrá jak gramaticky, tak syntakticky. Autoři dopisů se oslovovali uctivě. Heyrovský používal oslovení „Milý pane kolego“, „Vážený pane profesore“ a dokonce „Milý příteli“, Böhm se omezil na „Milý pane profesore“ a „Vážený pane profesore“.

Hned v květnu 1945 pomohl Heyrovský Böhmově rodině z internace pražských Němců, takže Böhmovi se mohli vrátit do původního bytu na Letné a nemuseli nosit označení Němců.

Z korespondence Heyrovského s von Hevesym z roku 1945 se dozvíme, že Böhmově rodině hrozí nová internace, protože v Praze je velký nedostatek bytů, které vyžadují navrátilci z koncentračních táborů. Internace by byla velmi těžká zejména pro Böhmovu dceru Annu, tehdy 14letou, která byla vážně nemocná. Heyrovský dále píše, že Böhm marně hledá práci a snaží se obnovit čs. státní občanství. Proto by mu jistě pomohlo Hevesyho dobrozdání o tom, že byl i v Německu ve 30. letech vždy antinacista, že musel opustit říši, protože odmítl německé občanství a že byl pravý Čechoslovák přesvědčením, a vůbec patriot a demokrat. Toto dobrozdání by měl Hevesy poslat Heyrovskému, jenž je předá Böhmovi. Hevesy dobrozdání obratem poslal do Prahy. V dopise je zmínka o tom, že Spolek pro chemickou a hutní výrobu nabídl Böhmovi zaměstnání ve výzkumných laboratořích v Pardubicích-Rybitví, což Böhm vděčně přijal. V Böhmově dopisu z 15.12.1946 žádá pisatel Heyrovského jménem mladého chemika Vojíře o separát Heyrovského základní práce o oscilografické polarografii, neboť laboratoře získaly kompletní oscilografickou výbavu a chtějí metodu uvést do chodu. Dále oznamuje, že obdržel z Vídně výnos tamního ministerstva, jímž je pověřen přednášet na vídeňské univerzitě fyzikální chemii. Heyrovský bezprostředně Böhmovi blahopřeje a věří, že přechod do Vídně nebude provázen potížemi. K přednáškám ve Vídni nedošlo, jak je zřejmé z Böhmova následující dopisu z 15.1.1947: spojení odmítli Böhmovi udělit visum pro Rakousko. V dopisu z 12.3.1947 posílá Heyrovský Böhmovi adresu anglické organizace (International Association of University Professors and Lecturers), která pomáhá demokratickým Němcům. Ta organizace potřebuje vědět, v čem a jak má pomoci a Heyrovský prosí Böhma, aby ho v tom smyslu informoval. Sám o sobě píše, že chodí do laboratoří na univerzitě a do Zbrojovky (vyráběli tam polarografy) a píše články pro znovuvycházející Collection. V dalších měsících roku 1947 si profesori vyměnili několik dopisů, které se však nezachovaly.

* V období, kdy si připomínáme 50. výročí udělení Nobelovy ceny z polarografií, je jistě zajímavý i netradiční redakčně zkrácený pohled na osobu profesora Heyrovského viděný očima historika přírodních věd přes jeho přátelství s jiným významným chemikem profesorem Böhmem.

Další Böhmov dopis je až ze září 1948. V něm Heyrovskému mj. oznamuje, že konečně obdržel dekret, podle kterého se jemu a jeho rodině zachovává čs. občanství pro účast v boji proti nacismu. Po téměř 8 měsících obdržel Heyrovský dopis, ve které Böhmm navrhuje dva termíny pro Heyrovského přednášku o polarografii v Rybitví a dále navrhuje uspořádat pro zaměstnance z laboratoří v Rybitví menší cyklus přednášek o polarografii. V zachovalém konceptu odpovědi Heyrovského pisatel s návrhy souhlasí. O polarografii by přednášel on a jeho spolupracovníci. Jsou v něm uvedena i témata přednášek, začátek cyklu a je nyní na Rybitví, o která témata by byl zájem. Dále upozornil na seminář pořádaný v červenci v Banské Štiavnici, kterého se zúčastní významní čeští chemici (profesoři Tomiček, Lukeš, Wichterle, Bárta, Heyrovský a další) a vyzývá Böhma k účasti co by delegáta Rybitví. Koncem června 1949 Böhmm odpovídá na dopis Heyrovského z minulých dnů. Uvádí jako výborného kandidáta na profesuru anorganiky Dr. Regnera ze Spolku, ale jmenuje i další případné kandidáty ze Spolku (Dr. Sehnoutku, Dr. Schneidera, Dr. Dykyje, Dr. Ettela a Dr. Waneka). Žádá Heyrovského, aby o něm samotném neuvažoval, protože není členem strany, že mu sice ve Spolku slibovali členství, ale nikdy k tomu nedošlo, asi i proto, protože na něj pohlíželi jako na bývalého profesora německé univerzity. On sice o členství v KSC měl zájem hned po válce, ale bylo mu rozmluveno. Dále uvedl, že kdykoli se projednávaly návrhy na profesury (a on u toho byl), že odmítal věkově staré kandidáty, k nimž on teď patří. A za třetí že by neprošel u ministra Nejedlého, který je velký šovinista. Konečně on sám se nechce stát profesorem školy, která se chovala radikálněji nežli jeho bývalá škola a která se nikterak neexponovala v odsouzení např. internace německých naprosto antifašistických a socialistických profesorů. Je si přitom vědom, že tato kritika se nevztahuje na většinu Heyrovského kolegů. Dále uvádí, že pro čs. vysoké školy by bylo dobré, aby profesury byly obsazovány i cizinci, jak je to běžné ve Švýcarsku, v Anglii či v Americe. Zejména by bylo hezké gesto povolat na profesuru nějakého německého profesora – antifašistu znalého češtiny. A jako příklad uvádí mladého fyzika doc. Sitteho, který prošel koncentračním táborem Buchenwald a nyní působí v atomovém výzkumu buď v Anglii nebo USA. V závěru dopisu přiznává, že by rád znovu učil, že jeho současné zaměstnání v Rybitví ho neuspokojuje. Dne 16.8.1949 Böhmm odpovídá Heyrovskému na jeho návrh, aby i on se ucházel o profesuru a vyloučívá mu angažování v té věci. Píše, že komunismus je národně zaměřený zejména u nás a nepřipouští, aby na vyšších školách vyučovali lidé jiných národností. Dále oznamuje zahájení cyklu kolokvií v Rybitví na téma elektrochemie v laboratorní praxi. Přednášet že mají pracovníci Spolku Dr. Klikorka (úvod do elektrochemie), Vojíš (měření pH), Peterka (elektrometrické titrace) a Váňa (elektrolýza, přepětí atd.). Logicky by po těchto kolokviích měla následovat polarografie (5 přednášek Heyrovského a jeho spolupracovníků).

Počátkem září 1949 Böhmm znovu na profesuru doporučuje Regnera. On sám že je na profesuru starý a nechtěl

by být v profesorském sboru *persona non grata*. Na sklonku r. 1949 píše Heyrovský Böhmmovi krátký list, v němž upozorňuje na udělení nejvýznamnější medaile (Complay) londýnské Královské společnosti G. von Hevesyemu. Za citování stojí část Heyrovského dopisu Böhmmovi z 28.4.1950:

„Milý pane kolego, ve včerejším sboru naší fakulty byl přijat jednomyslně návrh na volbu komise, která má vypracovati návrh na Vaše jmenování řádným profesorem anorganické chemie. Byl přijat velmi sympaticky a řada řečníků líčila Vaše vynikající schopnosti pro tuto funkci. Já jsem pověřen svoláním komise. Materiál se musí předložit do sboru 25.5., což velmi spěchá. Prosím Vás proto snažně o soupis Vašich prací, ať originálních vědeckých nebo popularisujících nebo referátů, curriculum vitae a co možná hodně separátů. Též adresu Hevesyho nutně potřebuji (je ve Stockholmu nebo v Kodani?). Prosím Vás pomozte mi nebo to všechno budu muset pracně hledat po Zentralblattu. Vaší persekucí v roce 1945 není prý není vinná nynější vláda, nýbrž ta buržoasní předúnorová. ...“ Zda Böhmm poslal Heyrovskému žádané materiály, není známo, korespondence z května 1950 chybí. V Heyrovského dopisu z 5.6.1950 se píše, že šetřením na ministerstvech zjistili, že dosud platí zákaz přijímat na čs. vysoké školy osoby jiných národností než je čs., i když byly jimi jen dočasně. Ministerstvo školství radí návrh na jmenování Böhma přesto podat, neboť zákaz má být v co nejbližší době odvolán. Heyrovský píše: „Podle Vašeho přání však nemám tento návrh podati, neboť byste profesuru nechtěl přijmouti. Musím proto naší komisi podat důvody, proč návrh nepodáváme a proto Vás prosím, abyste mi, co možná obratem sdělil Vaše důvody, proč byste jmenování nepřijal“. Böhmmovy důvody k nepřevzetí profesury na pražské Přírodovědecké fakultě neznáme, chybí příslušná korespondence, ale Böhmm Heyrovskému rozhodně psal, jak vyplývá z Heyrovského dopisu datovaného 29.6.1950. Počátkem června 1951 dorazil do Rybitví velmi důležitý dopis týkající se zřízení Ústředního ústavu fyzikálně chemického (ÚÚFCH), do kterého Böhmm přislíbil vstoupit. Heyrovský s ním počítal jako s vedoucím ústavu, protože Brdička nemůže opustit katedru fyzikální chemie KU. Böhmm by měl za úkol dát do chodu roentgenový výzkum všeho druhu a později fotochemické a spektroskopické výzkumy. V roce 1952 by proponovaný ústav byl přiřazen k Heyrovského Ústřednímu ústavu polarografickému (ÚÚP), ale od 1.1.1953 by se ÚÚFCH plně osamostatnil. Heyrovský Böhma žádá, aby se postaral o vhodné spolupracovníky. Na rok 1952 má Heyrovský naplánováno pro Böhma 25 osob (Böhma, aspiranty, asistenty, administrativu, laboranty, myčky nádobí a mechanika). Tento stav je již naplánován a je třeba do konce roku 1952 jej realizovat. Doporučuje sejít se v této záležitosti co nejdříve v Praze. Böhmm v dopisu z 5.6.1951 ku podivu zpochybňuje Heyrovského návrh na zřízení ÚÚFCH. Situace s plánovaným ústavem není podle Böhma srovnatelná s ÚÚP, který je založen na polarografii, jež je známa po celém světě. U ÚÚP že byla podobná situace jako při založení ústavu pro radium nebo Hevesyho ústavu pro radioaktivní indiká-

tory. Böhm rád přiřadit k Ústřednímu ústavu chemickému (ÚÚCH) oddělení fyzikální chemie, anorganické chemie a další, rozšířený ÚÚCH by poskytl novým oddělením administrativu, knihovnu, sklářské a mechanické dílny a pod. Dále Heyrovskému namítá, že směr práce plánovaného ÚÚFCH není slibný – fotochemie že je v ČSR předimenzována: existují laboratoře při výrobních závodech a též vědecká pracoviště v Praze a v Brně. K roentgenovému výzkumu poznamenává, že v ČSR sice není dobře vybavená laboratoř, že však roentgenová metoda je již úplně hotová a další její cena je pouze v laboratorní metodě. Oddělení roentgenografie by bylo tedy pouze servisem, což není v úmyslu ústředních ústavů. A že podobné je to se spektroskopii. K personálu plánovaného ústavu uvádí: „Samozřejmě nejlepší fyzikochemiky. Tedy Vy, Brdička, Čůta, Vaši nejúspěšnější žáci, též na Regnera by se dalo myslet. Já sám nejsem fyzikochemikem, nýbrž anorgánkem s fyzikálně chemickými znalostmi“. Pokračuje: „Vysoká škola chemická v Pardubicích mne prosila, abych převzal lektorát anorganické chemie, což jsem jim slíbil. Je to velmi málo lákavé zaměstnání.....Vedení Vámi navrhovaného ústavu se bojím. Vždyť už skoro 10 let vědecky nepracuji. Ztratil jsem styk s literaturou a s chemií vůbec tím, že jsem dělal fotokontrolu. Slušné stanovení struktury krystalu bych též už nesvedl“. Naivně se vyjádřil k situaci ústředních ústavů. Podle Böhma by Brdička nebo Čůta měli opustit vysoké školy a se svými týmy v podobě oddělení posílit Šormův ústav. Heyrovský reaguje na Böhmovy názory uvedené v dopisu z 5.6. překvapivě smířlivě, když píše, že si musí oni sami k věci napřed promluvit dříve, než se Heyrovský obrátí na Šorma. Heyrovský byl pověřen sestavením kolektivu fyzikální chemie v podstatě rozkazem a fyzikální chemici se musí vydupat. Svěřuje se Böhmovi, že je poněkud indisponován, minulý týden že omdlel. Ke schůzce Heyrovský – Böhm v navrženém termínu nedošlo, Böhm se Heyrovskému omlouvá (v dopisu z 9.6.1951), že do Prahy nemůže přijet, protože dostal od centrálního ředitele Ettela příkaz okamžitě sepsat zprávu o činnosti laboratoře, kterou mu dluží už 3 roky. Böhm se v dopise z 18.6.1951 znovu vrací k Heyrovskému nabídce pro angažmá v ÚÚFCH. Píše Heyrovskému, že do tohoto ústavu se určitě nehodí, že je velmi unaven a ustarán a že by se mu práce v ústavu nedařila. Opětne upozorňuje na Regnera. Zhruba o měsíc později se Böhm svěří Heyrovskému, že za ním v Rybitví byl fakultní tajemník pražské Vysoké školy chemicko-technologického inženýrství a jedna úřednice z ministerstva školství a přemlouvali ho, aby nastoupil na místo profesora Daneše. On že však nabídku odmítl s tím, že slíbil pardubické Vysoké škole technické přednášky z anorganické a fyzikální chemie, že je na řádnou profesuru starý atd. Heyrovský píše Böhmovi z Banské Štiavnice z 27.8.1951, že skutečně neví, jak mu poradit, když se o něj derou tři ústavy a jemu se do žádného z nich nechce. Heyrovský však doufá, že by Böhmovi nenápadné místo v ÚÚFCH konvenovalo. Brzy se má sejít schůze Ústředí výzkumu a technického rozvoje speciálně k fyzikální chemii. Heyrovský souhlasí s Böhmem, že nové ústavy by se

neměly vydupávat, když chybí odborníci. Věc že je však naplánována a rozhodnuta Státním úřadem plánovacím podle sovětského vzoru (mají to být ústavy Akademie) a tak že se to musí provést.

Po více než 2 měsících obdržel Heyrovský Böhmův dopis psaný v pardubické nemocnici. Böhm sděluje, že v současnosti (26.9.) je mu mnohem lépe po náročné terapii, leč podle primáře interny nebude moci přednášet, nestačil by s dechem. Tím je tedy problém jeho profesury samočinně rozřešen a je tedy volný pro ÚÚFCH. A konečně má čas ke studiu fyzikální chemie. Heyrovský odpověděl na výše uvedený list dopisem z 6.10. Nemoc že rozhodla, že další působení Böhmovo bude v ÚÚFCH (budoucím ústavu Československé akademie věd). O tom byla schůze, na níž byl Böhm jednomyslně schválen jako první vědecká síla v úvahu přicházející, a to od 1.11.1951. Heyrovský respektoval Böhmovu žádost, aby nebyl ředitelem, ale spíše školitelem aspirantů. Protože se nikdo nechce stát ředitelem nového ústavu (Brdička odmítl, Čůtu škola nepustí), zůstalo vše na Heyrovském a byla rozhodnuta personální unie ÚÚP s ÚÚFCH. 2.12.1951 Heyrovský oznamuje, že podle Böhmových pokynů začali s nákupem zařízení pro ÚÚFCH. Ví se, že dojde po Novém roce ke škrtům v rozpočtu, takže zřejmě nebude možné uvést ústav v plný chod. S Böhmem se však na každý pád počítá. Stále trvají potíže kolem bytu pro Böhma, ale po Novém roce se má situace změnit. Heyrovského rodina získala krásný byt na rozhraní Dejvic u Hradčan v ulici Na Valech č. 32, kde jsou všichni spokojeni. Heyrovský se zmiňuje i o svízelné situaci s vydáváním Collection. Stávající ústřední ústavy mají připadnout nové Akademii věd. Upozorňuje Böhma na udělení Faradayovy medaile G. von Hevesymu. V dochovaném Böhmově dopisu z 9.3.1952 psaném z pardubické nemocnice pisatel se Heyrovskému svěří se svým zdravotním stavem, který je snad lepší, ale který stejně mu nedovoluje nastoupit zaměstnání v Praze u Heyrovského. Optimisticky píše o svých plánech, co by v Praze dělal.

O týden později mu Heyrovský odpovídá. Za přísne důvěrné ať považuje informaci o zřízení fyzikálně-chemické laboratoře v rámci budoucí Akademie věd ČSR, jejímž vedoucím se má stát Brdička. V jeho týmu se počítá s Böhmem. Akademie má být konstituována do konce června, takže Böhm by mohl nastoupit po prázdninách za předpokladu, že do té doby bude nalezen byt pro Böhma. Pracovat že může Böhm na čem chce, bude to věc dohody s Brdičkou. Heyrovského stejně jako Böhma pobouřily referáty z brněnské konference. (Pozn. autora: počátkem roku 1952 byla do Brna svolána ideologická konference vědců z Československa, jejímž úkolem bylo v diskusi odhalit tzv. nesprávné názory vnášené pracovníky hlásícími se k idealistickým filosofickým směrům. Přednášky některých čelných vědeckých pracovníků měly silně tendenci zabarvení a měly naše vědce nasměrovat k sovětské vědě). Heyrovský se konference nezúčastnil, omluvil se. K referátům se snad bude moci vyjádřit až po ustavení Akademie. Z deníku Heyrovského víme, že byl Böhma navštívit spolu s Dr. Novákem 23.7. Znovu byl za

Böhmem ve vinohradské nemocnici 6.8. a 13.8. odvezla paní Marie Heyrovská Böhmovi do nemocnice polévku a malinovou vodu. Poslední zachovaný dopis z korespondence je Heyrovského list datovaný 25.8.1952. Je opět plný zájmu o Böhmovo zdraví. Na další návštěvu nemocného šel Heyrovský po návratu z dovolené spolu s Brdičkou 4.10. Oznámil nemocnému, že jej převedli do ÚFCH Akademie. 1.11. manželé Heyrovští navštívili Böhma v nemocnici, dozvěděli se, že trpí pravidelnými záchvaty. V noci z 26. na 27.11. profesor Böhm zemřel. Pohřeb se konal 5.12.1952, smuteční řeč za ČSAV pronesl Heyrovský.

Heyrovský se zcela jistě zasloužil o zvolení Jana Böhma za člena korespondenta nově založené ČSAV. Böhm jím byl jen pár dní, zemřel koncem listopadu 1952. Oba přátelé se znali skoro 20 let. Z korespondence čtenář pozná, že ač u nich šlo o nevelký věkový rozdíl, byl vztah Heyrovského k Böhmovi téměř otcovský. A nebylo to proto, že ve 30. letech Heyrovský pomohl Böhmovi k získání mimořádné profesury a katedry na pražské německé univerzitě a Böhm naopak umožnil Heyrovskému pracovat vědecky a tajně i pedagogicky v původním Heyrovského ústavu po celou dobu války. V dopisech obou protagonistů se často vyskytují i zprávy rodinného charak-

teru, takže nešlo jen o úřední korespondenci. Zajímavé jsou i názory obou na kandidáty vysokoškolských profesur v oboru chemie. Doplnjuje to obraz o vysokém školství v letech 1945–1952. Oficiální zápisy z porad jsou asi zachovány, ale jsou zřejmě zkrácené.

Autor děkuje panu Dr. Michaelu Heyrovskému za možnost použít zápisky jeho otce profesora Jaroslava Heyrovského v tomto článku.

Práce byla sepsána v rámci grantového projektu Vědecká korespondence Jaroslava Heyrovského, ident. kód IAA800630901 (GA AV ČR).

J. Jindra (*Study of History of Science, Institute for Contemporary History, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*): **Jaroslav Heyrovský and Johann Böhm**

The history of science and family friendship of Professors Jaroslav Heyrovský and Johann Böhm on the basis of their correspondence in the years 1945–1952 is presented.

50. VÝROČÍ NOBELOVY CENY ZA CHEMII – PUTOVNÍ VÝSTAVA S NÁZVEM PŘÍBĚH KAPKY

KVĚTA STEJSKALOVÁ

*Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR, v.v.i.,
Dolejškova 2155/3, 182 23 Praha 8
kvetoslava.stejskalova@jh-inst.cas.cz*

Došlo 5.9.09, přijato 8.10.09.

Klíčová slova: polarografie, profesor Heyrovský, Nobelova cena

Od udělení Nobelovy ceny prvním Čechoslovákovi (Jaroslav Heyrovský, 10. 12. 1959) uplyne letos v prosinci kulatých 50 let. Odborná veřejnost si toto výročí připomene mezinárodní elektrochemickou konferencí, jež bude počátkem prosince uspořádána v prostorách Univerzity Karlovy a zúčastní se jí vědci z celého světa. Tato akce však bude vzhledem ke svému zaměření středem zájmu jen uzavřené skupiny lidí. Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR, v.v.i. by rád tuto událost připomněl i široké laické veřejnosti, a proto se rozhodl uspořádat putovní výstavu, která život a vědeckou práci Jaroslava Heyrovského připomene nejen pamětníkům polarografie, ale představí ji i zájemcům o přírodní vědy z řad těch později narozených, tedy studentů a žáků.

Výstava se snaží přiblížit návštěvníkům osobnost Jaroslava Heyrovského (20. 12. 1890 – 27. 3. 1967) nejen jako vědce, který svůj život věnoval chemii a po objevení polarografie vybudoval na Univerzitě Karlově v Praze polarografickou školu, ale i jako běžného člověka, proto jsou na výstavě zveřejněny i některé informace a fotografie z jeho rodinného prostředí. Expozice vznikla z materiálů, které byly po dlouhá léta uloženy v ústavním archivu. Vedle téměř desítek různých polarografů z let 1924 až po 90. léta jsou to fotografie a písemné dokumenty, knihy a publikace a filmový materiál. Některé fotografie byly k pořízení kopií zapůjčeny rodinou Heyrovských. Pro výběr exponátů tým prohlédl téměř 10 kg písemných materiálů, více než tři stovky fotografií či diapozitivů a 6 km celuloidových filmů z 50. a 60. let. Spolu s desítkou přístrojů se zdálo, že materiálu k vytvoření výstavy bude dostatek. První přípravy začaly již počátkem roku 2008 a výstava měla svou komorní (co do rozsahu i trvání) týdenní předpremiéru v listopadu 2008 v rámci Týdne vědy a techniky organizované AV ČR v prostorách budovy na Národní třídě. U návštěvníků této akce vzbudila poměrně značný zájem, a tak se autorský tým (K. Stejskalová, M. Heyrovský, R. Kalvoda) rozhodl její uspořádání v roce 2009 dotáhnout do konce a nabídnout výstavu v rozpracovanější podobě a zpřístupnit ji širšímu

publiku, tj. na několika místech.

Výběr Prahy jako jednoho z výstavních míst je zcela logický, neboť profesor Heyrovský svůj vědecký i osobní život prožil v Praze, studoval v Praze (s výjimkou několika let bakalářského studia na univerzitě v Anglii), pracoval na Univerzitě Karlově a později v rámci ČSAV v Polarografickém ústavu, který sídlil rovněž v Praze (nejprve v Opletalově a později ve Vlašské ulici). Výběr dalších dvou míst byl vlastně dílem náhodných lidských setkání. A tak výstava zatím navštíví ještě města Pardubice a Brno. V Pardubicích v září zahájila své putování. Nová budova Fakulty chemicko-technologické nedávno postavená v univerzitním kampusu v Polabinách propůjčila prostory svého vestibulu k jejímu uspořádání na přelomu září a října 2009. Vernisáž tak proběhla v rámci celofakultní akce Večer s vědou a chemií, jejímž cílem bylo představit novou budovu fakulty veřejnosti. Koncem října výstava putuje z Pardubic do Brna. Jejím druhým působištěm je Hvězdárna a planetárium M. Koperníka, místo které často navštěvují děti, mládež i dospělí, neboť nabízí velice pestrý a zajímavý program převážně z oblasti astronomie. Čistě chemická expozice tak bude zpestřením jejich nabídky programů. Nakonec se v závěru roku výstava vrátí do Prahy, odkud „vyjela“ a Pražané ji budou moci navštívit v prosinci v historické budově Karolina.

Expozice je tvořena sadou deseti plakátů (formát A0 a A1), které s využitím fotografií a dokumentů přibližují návštěvníkovi život a vědeckou práci Jaroslava Heyrovského. Rodinou Heyrovských byly k pořízení kopií zapůjčeny fotografie z rodinného alba, z nichž některá foto dosud nebyla na veřejnosti prezentována. Řada fotografií, diapozitivů a písemných materiálů z archivu ústavu ilustruje výzkumnou práci J. Heyrovského a jeho týmu. Druhou část expozice tvoří přístroje (vývojová řada 8–10 polarografů), skleněné polarografické nádoby, diapozitivy, se kterými polarografisté přednášeli, ukázky knih a publikací o polarografii v různých světových jazycích. Filmy zhotovené v 50. a 60. letech dokumentující výzkum profesora Heyrovského jsou promítány v části expozice ve formě nekonečné smyčky. Výstava je doplněna doprovodným programem řady popularizačních přednášek nejen o Jaroslavu Heyrovském a jeho výzkumu v oboru polarografie, ale i o současné vědě a výzkumu v oboru fyzikální chemie, kterou se vědci v ÚFCH JH zabývají dnes.

Před autory expozice stojí poněkud nelehký úkol, a to třikrát rozbalit, postavit, zabalit, převést a zase instalovat expozici výstavy, a to vše ve třech naprosto odlišných prostorech! Tak například v Pardubicích – ve vstupní hale budovy FCHT jsou jen samé skleněné zdi, beton či železo. V planetáriu v Brně zase chybí pravé úhly, výstavní prostory jsou jaksí „dokulata“. Křížová chodba středověkého Karolina dýchá historií, až se jednomu tají dech. Každý prostor tak vtiskne výstavě nový příběh, což byla pro autory lákavá a zajímavá výzva, zvláště když jsou všichni profesí chemici a ne historici či výtvarníci. Výstava je již od července veřejnosti představována prostřednictvím denně aktualizovaných českých i anglických webových stránek (<http://www.jh-inst.cas.cz/heyrovsky>), kde si jejich ná-



Obr. 1. Polarograf LP60 na výstavě Příběh kapky na jejím prvním působišti (vernisáž ve vestibulu FCHT Univerzity v Pardubicích, 23.9.2009)

vštevňník může např. spustit videopozvánku, ukázky starých filmů a dočte se nejenom, co na ní bude možné vidět, ale i jaký doprovodný program bude možné navštívit. Některé školy neotálely a již rezervovaly více než polovinu nabízených termínů doprovodných přednášek, a tak Brdičkova posluchárna v budově ÚFCH JH na Praze 8 do konce roku 2009 přivítá téměř 600 studentů se svými pedagogy. Pro návštěvníky výstavy její organizátoři připravili i různé materiály (plakát, katalog a CD výstavy, zmenšené kopie 10 výstavních plakátů), které si zájemci mohou z výstavy odnést. Na nákladech na její uspořádání, spojených hlavně s jejím převozem, tiskem posterů, dalších materiálů a výrobou CD, se vedle ÚFCH JH (výstava je jako informační nástroj součástí řešení projektu r.č. 2E08038 poskytovatele MŠMT v programu NPVII – Lidské zdroje zaměřeného na

vzdělávání mládeže a popularizaci výsledků VaV veřejnosti; <http://www.jh-inst.cas.cz/3nastroje>) podíleli i partneři, kteří pro její uspořádání propůjčili své prostory (Univerzita Karlova v Praze, Univerzita Pardubice, Hvězdárna a planetárium M. Koperníka v Brně) či přispěli finanční částkou na krytí části jejích nákladů (např. DataApex s.r.o., Merck s.r.o. Sigma-Aldrich, s.r.o., MČ Praha 8, projekt NANOPIN, ATG, s.r.o.).

Příběh kapky patří do řady popularizačních akcí, kterými ÚFCH JH pravidelně seznamuje zájemce o přírodní vědu z řad veřejnosti s vědou a výzkumem, který za zdi budovy v Dolejškově ulici na Praze 8 běžně probíhá. Každoročně ústav při přednáškách, exkursích, odborných stážích a praxích, které vědci pro studenty a pedagogy ze středních škol pravidelně pořádají, navštíví okolo 500 studentů. Autoři výstavy si slibují, že počet zájemců o přírodní vědu, kteří se s historií, ale i současným výzkumem tohoto akademického pracoviště seznámí prostřednictvím Příběhu kapky, zase o „kapku“ vzroste. Dosud pro to udělali a ještě udělají maximum!

K. Stejskalová (*J. Heyrovský Institute of Physical Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*): **The Travelling Exhibition “The Story of a Drop”**

The traveling exhibition on the occasion of the 50th anniversary of the Nobel Prize in Chemistry awarded to Jaroslav Heyrovský gives the life story of the Prize winner using photographs, films, documents and other exhibits. The aim of the exhibition is to introduce the personality of Jaroslav Heyrovský (1890–1967), the scientist who devoted his life to physical chemistry. He founded at the Faculty of Science of the Charles University in Prague a polarographic school and, later on, he was the head of the Polarographic Institute of the then Czechoslovak Academy of Sciences. Thus Czechoslovakia became the international centre of research of the new method which found wide applications in many fields. The exhibition is organized by the J. Heyrovský Institute of Physical Chemistry of Academy of Sciences of the Czech Republic.

JAROSLAV HEYROVSKÝ – 50. VÝROČÍ UDĚLENÍ NOBELOVY CENY ZA CHEMII

LUBOMÍR POSPÍŠIL
a MAGDALÉNA HROMADOVÁ

Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR, v.v.i.,
Dolejškova 2155/3, 182 23 Praha 8
magdalena.hromadova@jh-inst.cas.cz

Došlo: 21.8.09, přijato 5.10.09.

Klíčová slova: polarografie, voltametrie, profesor Heyrovský, rtuťové elektrody

Věnováno památce profesora Jaroslava Heyrovského při příležitosti 50. výročí Nobelovy ceny za polarografii.

V letošním roce si připomínáme půl století od významného mezinárodního ocenění, udělení Nobelovy ceny za chemii profesoru Jaroslavu Heyrovskému. Udělení Nobelovy ceny je vždy velikou událostí, avšak tato pocta v době tehdejší politické situace měla obzvláště významnou váhu. Ukázala na hodnotu práce skromného českého vědce, na hodnotu, která nebyla ve světě neznámá, a to ani navzdory umělým bariérám. Byl oceněn jednoduchý fyzikálně-chemický princip se širokým dopadem na chemii analytickou, organickou, koordinační, biochemii a řadu oborů zasahujících do fyziky. Polarograf, vyvinutý profesorem Heyrovským, se stal patrně jedním z prvních „automatizovaných“ fyzikálně-chemických měřicích přístrojů. Vzpomínky na osobnost profesora Jaroslava Heyrovského a na atmosféru tehdejšího Polarografického ústavu často popisovali jeho první žáci a spolupracovníci. Byl člověkem velmi skromným, se stejnou důstojností jednal jak s technickým personálem, tak se studentem nebo s významným zahraničním hostem. Jako mladý student jsem nebyl zcela znalý poměrů a tak na svátek Jaroslava

jsem panu profesorovi popřál, jak je zvykem. Pan profesor se jen pousmál, zavrtěl hlavou a tiše a skromně odvětil: „mně se neblahopřeje“. Jaký kontrast s oslavováním mnohých jiných představitelů... Ještě jeden rys si připomeňme. Jeho jméno se vyskytuje jen na relativně nevelkém počtu vědeckých publikací. Pan profesor většinou nechával své spolupracovníky publikovat samostatně a v žádném případě se nenechával na publikace přepisovat. Také v tom se ukazuje kontrast s častou praxí naší doby. Cesta k významnému objevu tedy nemusí nutně vést přes ohromující impakt faktory a citační ohlasy. Skromnost, píle, připravenost vidět a rozpoznat objev, to je alternativa, kterou nám osobnost profesora Heyrovského ukazuje.

Od záznamu prvního polarogramu dne 9. února 1922 do udělení Nobelovy ceny uplynula dlouhá doba a polarografie se úspěšně rozvíjela¹. Jaké je místo polarografie v současném výzkumu a v současných požadavcích analytické a fyzikální chemie? S rozvojem elektroniky a digitální techniky dosahuje v současné době polarografie špičkové úrovně a nebývalé přesnosti. Je to sice trochu na úkor původní cenové nenáročnosti, ale současné elektroanalytické metody jsou stále v porovnání s jinými metodami poměrně levné. Plně automatizovaná statická rtuťová kapková elektroda (SMDE) řízená programem integrovaným do programového vybavení potenciostatu se dá pořídit za cenu nepřesahující 200 tisíc korun českých.

Pár statistických čísel snad ozřejmí, že původní objev profesora Heyrovského má stále významné uplatnění v elektrochemickém výzkumu i na počátku 21. století. Přehled počtu vědeckých sdělení v impaktovaných časopisech, které k řešení daného problému použily právě rtuťovou elektrodu, je uveden v tabulce I. Data jsou čerpána z databáze Web of Science za období posledních pěti let do 1. 9. 2009 za použití následujících klíčových slov: polarografie, voltametrie, visící rtuťová kapková elektroda (HMDE), statická rtuťová kapková elektroda (SMDE), rtuťová kapající elektroda (DME) a rtuťová elektroda. Pokud si člověk uvědomí, že v posledním období došlo v celosvětovém měřítku ke značnému omezení užívání kapalné rtuti v chemických laboratořích v důsledku legislativních změn, je z tabulky zcela zřejmé, že pro některé druhy výzkumu je užití rtuťové kapkové elektrody nezbytné a vědečtí pracovníci jen stěží hledají vhodnou náhradu. Perspektivními materiály pro analytické aplikace se jeví

Tabulka I

Přehled počtu vědeckých sdělení v impaktovaných časopisech pro zvolená klíčová slova

Klíčová slova	2005	2006	2007	2008	2009
Polarography	163	139	127	120	72
Voltammetry	3089	3163	3379	4051	2935
HMDE	43	31	39	38	20
SMDE	7	7	1	4	5
DME	235	232	248	315	209
Mercury electrode	340	300	257	325	226

elektrody, založené na amalgámech rtuti, které byly v 90. letech minulého století vyvinuty v Ústavu fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR, v.v.i. (cit.²). Zachovávají si část výhod rtuťových elektrod a jsou zcela bezpečné z toxikologického hlediska.

Z hlediska významu užití rtuťových elektrod v současnosti má výpovědní hodnotu také analýza referátů přednesených na posledním celosvětovém shromáždění elektrochemiků v Pekingu³. Dle procentuálního poměru příspěvků, přímo využívajících rtuťových kapkových elektrod, k celkovému počtu příspěvků v dané sekci, bylo největší procento příspěvků v sekci Molekulární elektrochemie (Molecular Electrochemistry), za ní následovala sekce Elektrochemie fázového rozhraní (Interfacial Electrochemistry) a sekce s názvem Od elektrochemie jednotlivých biomolekul k biosenzorům (From Single Biomolecule Electrochemistry to Biosensors).

Původním záměrem profesora Heyrovského bylo využití jeho objevu pro řešení problémů v oblasti fyzikální chemie a jak se zdá, nastává období renesance právě v této oblasti. Připomeňme, že použití dvou rtuťových kapek pro měření vodivosti různých organických molekul (molekulových drátů), které se zkoumají z hlediska jejich využití v rozvíjejícím se oboru molekulární elektroniky, je výhodnou alternativou k ostatním elektrodovým materiálům^{4,5}. Výhodou přitom zůstává vysoká reprodukovatelnost takto vzniklých přepojení (molecular junctions) a s tím spojených měření. Zdá se, že základní princip měření proudu a výhody původní rtuťové kapkové elektrody vedoucí k udělení Nobelovy ceny jsou i po padesáti letech významným nástrojem v rukou vědců. Profesor Jaroslav Heyrovský prozatím zůstává jediným českým vědcem, který za svůj objev obdržel ocenění nejvyšší.

Autoři děkují za finanční podporu Grantové agentury České republiky (GA ČR 203/08/1157 a 203/09/0705).

LITERATURA

1. Jindra J.: *Dějiny elektrochemie v českých zemích 1882-1989*. Nakladatelství Libri/Ústav pro soudobé dějiny, Praha 2009.
2. Barek J., Fischer J., Navrátil T., Pecková K., Yosypchuk B., Zima J.: *Electroanalysis* 19, 2003 (2007).
3. Book of Abstracts: *The 60th Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry, August 16 - 21, 2009, Beijing, China*.
4. Kraack H., Ocko B. M., Pershan P. S., Sloutskin E., Deutsch M.: *Science* 298, 1404 (2002).
5. Haick H., Cahen D.: *Prog. Surf. Sci.* 83, 217 (2008).

L. Pospíšil and M. Hromadová (*J. Heyrovský Institute of Physical Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*): **Jaroslav Heyrovský – 50th Anniversary of the Nobel Prize Award**

This contribution pays a tribute to a humble and talented physical chemist, Professor Heyrovsky, who was for his achievements awarded, as the only Czechoslovak scientist, the Nobel Prize in chemistry on 10th December, 1959.

STYREN A STYREN-7,8-OXID: METABOLISMUS A ANALYTICKÉ METODY STANOVENÍ ADUKTŮ S PROTEINY

MICHAL JÁGR^a, VĚRA PACÁKOVÁ^b
a MIROSLAV PETŘÍČEK^a

^a Mikrobiologický ústav, AV ČR, v.v.i., Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4, ^b Katedra analytické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Hlavova 8, 128 43 Praha 2
michaljagr@centrum.cz

Došlo 9.9.08, přepracováno 28.1.09, přijato 12.3.09.

Klíčová slova: styren, styren-7,8-oxid, adukty, metabolismus, biologické monitorování

Obsah

1. Úvod
2. Styren a styren-7,8-oxid
 - 2.1. Vlastnosti a použití
 - 2.2. Metabolismus styrenu a styren-7,8-oxidu
3. Aduktů styren-7,8-oxidu s proteiny
4. Metody stanovení aduktů styren-7,8-oxidu s proteiny
 - 4.1. Metoda modifikované Edmanovy degradace
 - 4.2. Metoda s použitím Raneyova niklu
 - 4.3. Metoda alkalické hydrolyzy
 - 4.4. Ostatní metody
5. Závěr

1. Úvod

Styren je jednou z nejdůležitějších průmyslových surovin¹. Po vstupu do organismu se v játrech metabolizuje převážně na styren-7,8-oxid (SO). Naprostá většina takto vzniklého SO podléhá dalším detoxifikačním procesům, jejichž hlavním produktem je kyselina mandlová a kyselina fenylglyoxylová^{2–4}. Menší část SO se uvolňuje do krve, kde se může navazovat na zde přítomné organické biomakromolekuly, zejména na proteiny či DNA⁵. Takto vznikají stabilní kovalentní sloučeniny, tzv. adukty. Z hlediska biologického monitorování mají největší význam adukty s krevními proteiny. Zvláštní pozornost je věnována aduktům průmyslových škodlivin s globinem, které jsou používány jako biomarkery expozice. Zde se s výhodou využívá jejich dlouhodobé perzistence v organismu, díky tomu mohou adukty sloužit jako dozi-

metry expozice trvající až několik měsíců⁶. Hlavním mechanismem, kterým adukty vznikají, je reakce elektrofilních cizorodých látek s nukleofilními atomy či skupinami. V případě vzniku aduktů s proteiny se jedná o atak elektrofilu na reziduální skupiny aminokyselin⁷.

Klasické a dosud používané metody pro biologické monitorování expozice parám styrenu stanovují hlavní metabolity styrenu (kyselinu mandlovou a fenylglyoxylovou) vylučované v moči. Tyto metody se ale potýkají s nízkým biologickým poločasem vylučování, který činí řádově hodiny. Proto jsou zkoumány alternativní cesty založené na stanovení konkrétních proteinových aduktů SO. Publikované metody stanovení proteinových aduktů SO jsou založeny zejména na použití modifikované Edmanovy degradace (MED), která se využívá ke stanovení aduktů SO s *N*-koncovým valinem⁸. Další metody jsou založeny na selektivním štěpení vazby mezi SO a aminokyselinou cysteinem pomocí Raneyova niklu, extrakci uvolněného fenylethanolu a jeho stanovení⁹. Možné je i použití zásadité hydrolyzy proteinu. Analýzou uvolněného styren glykolu lze pak nepřímo stanovit estery SO s kyselinou asparagovou a kyselinou glutamovou¹⁰. Další publikované postupy využívají totální kyselou nebo enzymovou hydrolyzu proteinu na volné aminokyseliny za současného uvolnění aduktů SO a stanovení těchto aduktů citlivými analytickými technikami^{11–14}.

2. Styren a styren-7,8-oxid

2.1. Vlastnosti a použití

Styren se používá jako monomer při výrobě plastických hmot, je základem při výrobě syntetického kaučuku, gum, nátěrových hmot a obalových materiálů^{1,2}. Tyto výroby probíhají převážně v uzavřených systémech, které zabraňují úniku styrenu do okolního prostředí. Velké množství vyrobeného styrenu je spotřebováno na výrobu laminovaných polystyrenových pryskyřic, kde se styren uplatňuje současně jako monomer i jako rozpouštědlo. Laminované pryskyřice se s výhodou používají např. v loďařském průmyslu při výrobě trupů lodí. V těchto výrobních s vysokým podílem ruční práce dosahují koncentrace styrenu v ovzduší hodnot řádově až stovky mg m⁻³, přičemž pro Českou republiku činí příslušný hygienický limit PEL (přípustný expoziční limit) 200 mg m⁻³. Protože možnosti osobní ochrany na těchto pracovištích jsou omezené, expozice pracovníků parám styrenu zde bývají značně vysoké. Vzhledem k nepříznivým zdravotním účinkům styrenu a vysokému počtu osob vystavených jeho působení, se jedná o významný hygienický problém. Styren byl detegován i v některých potravinách, v tabákovém kouři

Tabulka I
Základní fyzikálně-chemické vlastnosti styrenu a styren-7,8-oxidu

Parametr	Styren	Styren-7,8-oxid
M_r	104,15	120,15
Fyzikální vzhled	bzb. kapalina	bzb. kapalina
Teplota tání, °C	-30,6	-36,7
Teplota varu, °C	145,2	194,1
Tenze par, kPa	867 při 25 °C	< 133 při 20 °C
Rozpustnost	málo rozpustný ve vodě (0,3 g l ⁻¹ , 20 °C), rozpustný v benzenu a petrol-etheru	málo rozpustný ve vodě (3 g l ⁻¹ , 25 °C), rozpustný v acetonu, benzenu, heptanu a methanolu

a ve výfukových plynech¹.

Důležitost SO jako průmyslové suroviny je ve srovnání se styrenem mnohem nižší, neboť se používá v průmyslu v mnohem menší míře, např. jako přísada do různých polymerů či kopolymerů. Hlavní význam SO spočívá v jeho roli hlavního meziprojektu metabolismu styrenu. Expozice styrenu u lidí se v průmyslových provozech děje převážně inhalační cestou. Cca 94 % vdechnutého styrenu je zadrženo v plicích a vstřebáno do krve¹⁵. Jiný autor uvádí pro množství zadržného styrenu nižší údaj: 66,5 % (cit.¹⁶). Vstřebaný styren je krví transportován do jater, kde dochází k jeho metabolické přeměně. V tabulce I jsou shrnuty hlavní fyzikálně-chemické vlastnosti styrenu a SO.

Styren je mírně až středně toxický pro člověka a laboratorní zvířata. U potkana byl pro orální expozici styrenu stanoven index akutní toxicity $LD_{50} = 5000 \text{ mg kg}^{-1}$, zatímco pro myš je styren o něco toxicitější $LD_{50} = 320 \text{ mg kg}^{-1}$. Pro intraperitoneální a intravenózní podání styrenu myším činí $LD_{50} = 660 \text{ mg kg}^{-1}$ či 90 mg kg^{-1} (cit.¹⁷).

Nejzávažnějším biologickým efektem styrenu je jeho genotoxicita. U osob profesionálně exponovaných styrenu byl nalezen zvýšený počet různých typů chromosomových aberací, DNA zlomů, mutací na některých genech, apod. Proto byl styren Mezinárodní agenturou pro výzkum rakoviny (International Agency for Research on Cancer, IARC) zařazen do kategorie 2B jako možný genotoxický a karcinogenní rizikový faktor u člověka¹⁸.

SO je díky přítomnosti epoxidové skupiny mnohem reaktivnější látkou než styren, např. u lidí je jeho reaktivita cca o 2 řády vyšší než reaktivita styrenu¹⁹. Také přímé účinky SO na organismy jsou mnohem nepříznivější. Studie vlivu SO provedená na laboratorních zvířatech prokázala jeho karcinogenní a mutagenní schopnosti²⁰. Proto byl SO zařazen IARC do skupiny 2A jako pravděpodobný lidský karcinogen.

2.2. Metabolismus styrenu a styren-7,8-oxidu

Hlavní metabolickou cestou biotransformace styrenu je oxidace jeho dvojně vazby na epoxidovou skupinu. Tato přeměna je v játrech katalyzována cytochromy P450 (CYP), což jsou terminální oxidoreduktasy monoxygenového systému. Tímto způsobem je přes 95 % absorbované dávky styrenu přeměněno na SO (cit.¹⁷).

Enzymy se v organismu vyskytují ve více katalyticky a strukturně podobných formách, tzv. isoenzymech. Jednotlivé CYP isoenzymy vykazují vzájemně rozdíly ve schopnosti katalyzovat oxidaci styrenu na SO. U lidí patří mezi nejvýznamnější isoenzymy metabolizující styren a vyskytující se v mikrosomech jater zejména CYP2B6, CYP2C8 a CYP2E2. Zatímco v mikrosomech potkaních jater patří mezi nejvýznamnější CYP2C11/6 (cit.⁴).

Díky přítomnosti chirálního uhlíku existuje molekula SO ve dvou enantiomerních formách (*R*)-SO a (*S*)-SO. Oba dva enantiomery vznikají *in vivo* v organismech ze styrenu. Byly zjištěny rozdíly v toxicitě obou enantiomerů. (*R*)-SO je více mutagenní v Amesově testu vůči mikroorganismům *Salmonella typhimurium* než (*S*)-SO (cit.²¹).

Naprostá většina SO vzniklého v játrech podléhá dalšímu metabolismu, zejména hydrolyze za účasti enzymů epoxidhydrólasy na styren glykol, který je následně oxidován na kyselinu mandlovou a kyselinu fenylglyoxylovou. Menší část SO se uvolňuje přímo do krve, kde může podléhat dalším reakcím. Obsah SO v krvi lze stanovit metodou GC (cit.²²). Christakopoulos a spol.²³ sledovali koncentraci SO v krvi pracovníků profesionálně vystavených parám styrenu o průměrné koncentraci styrenu v ovzduší 75 ppm. Průměrná hladina SO v krvi byla 90 nmol l^{-1} (v rozmezí 40–130 nmol l^{-1}). Přímé stanovení SO v krvi se ale pro rutinní účely biologického monitorování do dnešní doby neujalo.

Ve schématu 1 je uveden stručný přehled hlavních drah metabolismu styrenu a SO s vyznačením nejvýznamnějších metabolitů. U člověka se v konečném důsledku na kyselinu mandlovou a fenylglyoxylovou přemění až kolem 90 % z absorbované dávky styrenu. Obě dvě kyseliny jsou posléze z organismu vyloučeny močí, kde jsou nejčastěji stanovovány metodami HPLC^{24–26}. Alternativa k těmto metodám byla popsána ve studii Halliera a spol.²⁷, kteří stanovili oba optické isomery kyseliny mandlové metodou TLC na chirálních deskách. Minoritními produkty této větve metabolismu SO, které jsou taktéž vylučovány v moči, jsou kyselina hippurová a kyselina fenylaceturová.

Stanovení kyseliny mandlové a kyseliny fenylglyoxylové v moči dnes představuje běžný a klasický nástroj biologického monitorování krátkodobé expozice člověka styrenu³. Hlavní nevýhodou tohoto způsobu stanovení je krátký biologický poločas vylučování těchto metabolitů (řádově hodiny). To znemožňuje stanovit dlouhodobé kumulativní vystavení organismu styrenu nebo jednorázovou expozici po uplynutí doby delší než 1 den.

Kromě výše zmíněné hlavní metabolické dráhy podléhá menší část SO v játrech účinkem enzymů glutathion-

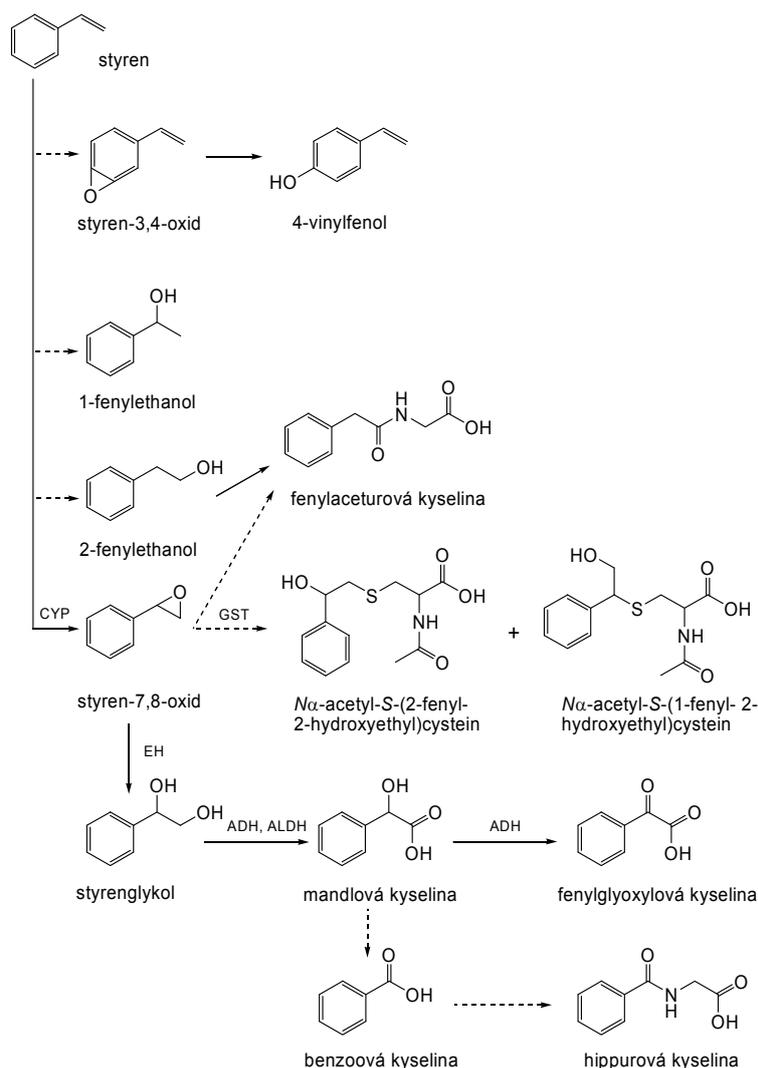


Schéma 1. Přehled hlavních metabolických drah styrenu a styren-7,8-oxidu. ADH – alkohol dehydrogenasa; ALDH – aldehyd dehydrogenasa; CYP – cytochrom P450 monoxygenasa; EH – epoxid hydrolasa; GST – glutathion *S*-transferasa

transferas reakci s tripeptidem glutathionem za vzniku *S*-konjugátů glutathionu, které jsou dále transformovány na tzv. *N*α-acetyl-*S*-fenyhydroxyethylcysteiny (merkapturové kyseliny). Při tom dochází ke vzniku dvou regioisomerů, *N*α-acetyl-*S*-(1-fenyl-2-hydroxyethyl)cysteinu (PHEMA1) a *N*α-acetyl-*S*-(2-fenyl-2-hydroxyethyl)cysteinu (PHEMA2). Každý regioisomer merkapturové kyseliny se díky přítomnosti dvou chirálních uhlíků může *in vivo* vyskytovat ve formě dvou diastereomerů, celkem tedy merkapturové kyseliny mohou poskytovat čtyři možné diastereomery. Delbressine a spol.²⁸ popsali výskyt těchto čtyř diastereomerů merkapturových kyselin v moči potkanů exponovaných styrenu *in vivo*.

Yagen a spol.²⁹ podávali mořským organismům *Pseudopleuronectes americanus* konjugát SO s glutathionem

značený uhlíkem ¹⁴C. Poté v jejich moči detegovali nejen merkapturové kyseliny, ale překvapivě i adukty SO s cysteinem. Stanovení merkapturových kyselin v moči pracovníků exponovaných styrenu metodou HPLC s UV detektorem bylo popsáno ve studii Maestri a spol.²⁶. Limit detekce merkapturových kyselin v této studii činil cca 7 μg ml⁻¹ moči. V poslední době byly popsány i jiné citlivé metody stanovení merkapturových kyselin v moči, využívající LC-MSⁿ či HPLC s fluorescenčním detektorem²⁵.

Vedlejší alternativní metabolickou drahou detoxifikace styrenu je oxidace probíhající přímo na aromatickém jádře za vzniku styren-3,4-oxidu, který je následně transformován na 4-vinylfenol^{30,31}. 4-Vinylfenol byl zjištěn v hydrolyzátu moče pracovníků vystavených parám styre-

nu, jeho obsah ale odpovídal jen cca 0,3 % obsahu kyseliny mandlové³². Toxikologický význam této oxidace, od níž se odvozuje několik dalších minoritních metabolitů nalezených v moči laboratorních myší, byl též předmětem dalšího výzkumu³³.

Metabolismus styrenu se u lidí a u laboratorních zvířat (potkanů a myší) kvantitativně liší. Byly pozorovány významné mezidruhové rozdíly ve vzájemném poměru hlavních metabolitů styrenu. Zatímco u člověka tvoří kyselina mandlová a fenylglyoxylová až 95 % absorbované dávky styrenu, u potkana je to jen 80 %. Na druhou stranu metabolická dráha biotransformace SO na merkapturové kyseliny je u potkanů mnohem významnější než u člověka. Vylučování merkapturových kyselin u potkana představuje cca 10 % z absorbované dávky styrenu^{24,34,35}, zatímco u člověka činí podíl merkapturových kyselin mezi všemi metabolity vylučovanými v moči méně než 1 % (cit.^{36,37}).

Na metabolismus styrenu má vliv i současná konzumace jiných látek, které mají vliv na hladinu mikrosomálních enzymů³⁸. Takovouto běžně užívanou látkou je např. ethanol v alkoholických nápojích. Ve studii Coccini a spol.³⁹ bylo studováno vylučování merkapturových kyselin u laboratorních potkanů, kterým byla podávána tekutá potrava obsahující 5 % ethanolu za současného vystavení potkanů parám styrenu. Podávaný ethanol způsobil zvýšené vylučování kyseliny mandlové a merkapturových kyselin ve srovnání s kontrolní skupinou potkanů.

Jak již bylo řečeno, jednotlivé metabolické přeměny styrenu, resp. SO, jsou katalyzovány biotransformačními enzymy ze skupiny cytochromů P450, epoxidhydrolas a glutathiontransferas, přičemž u řady jednotlivých isoenzymů byl popsán genetický polymorfismus. Výskyt různých forem těchto isoenzymů a jejich kombinace mají vliv na rychlost dílčích metabolických reakcí, a tím i na koncentraci SO v cílových tkáních. S tím souvisí riziko vzniku genetického poškození. Genotypizace biotransformačních enzymů je proto významným prostředkem k posouzení individuální vnímavosti k nepříznivým účinkům expozice styrenu⁴⁰.

Stereoselektivita metabolismu SO s lidskými jaterními enzymy *in vitro* byla studována Wenkerem a spol.⁴¹. Hydrolyza racemické směsi SO mikrosomálními epoxidhydrolasami na styren glykol probíhala stereospecificky mechanismem bimolekulární nukleofilní substituce. Toxický enantiomer (*R*)-SO byl rychleji hydrolyzován než jeho méně toxický protějšek (*S*)-SO. V následné studii autoři studovali stereoselektivitu metabolismu u lidí *in vivo*⁴². Byly zjištěny významné interindividuální rozdíly ve složení metabolitů SO vylučovaných močí (kyselina mandlová, kyselina fenylglyoxylová aj.) i ve vzájemném poměru jejich enantiomerů. Průměrný poměr (*S*)-kyseliny mandlové ku (*R*)-kyselině mandlové v moči činil cca 1,6:1.

Stereoselektivita metabolismu styrenu u lidí profesionálně exponovaných styrenu byla studována v pracích Korna a spol.^{43–45}. Tito autoři vypracovali GC metodu pro dělení optických enantiomerů kyseliny mandlové na koloně Chirasil-L-Val. Podobně byly studovány také další chirální metabolity styrenu, konkrétně (*R*)/(*S*)-1-fenylethanol

a (*R*)/(*S*)-fenylethylenglykol.

Foureman a spol.³⁸ prostudovali metabolismus oxidace styrenu mikrosomálními enzymy izolovanými z jater laboratorních potkanů. U kontrolních potkanů převažovala oxidace styrenu na (*S*)-SO vs. (*R*)-SO v poměru 1,54:1. Vzhledem k tomu, že různé cytochrom P450 isoenzymy vykazují různou stereoselektivitu oxidace styrenu na SO, tak u potkanů, kterým byl předem podán fenobarbital nebo β -naftoflavon, se tento poměr změnil na 1,09:1 či 0,8:1.

Metabolismus styrenu a SO *in vivo* u laboratorních potkanů byl též obšírně prostudován Linhartem a spol.⁴⁶. I v této studii byla u potkanů pozorována vyšší metabolická produkce (*S*)-SO než (*R*)-SO. Po podání styrenu nebo racemické směsi SO byla u nich pozorována produkce všech čtyř možných diastereomerů merkapturových kyselin [(*R,R*)-PHEMA1, (*S,R*)-PHEMA1, (*R,R*)-PHEMA2 a (*S,R*)-PHEMA2]. Pokud ale byl potkanům podáván pouze (*S*)-SO, pak došlo k produkci jen dvou diastereomerů merkapturových kyselin [(*R,R*)-PHEMA1 a (*S,R*)-PHEMA2], zatímco po podání (*R*)-SO byly vylučovány v moči ostatní dva diastereomery [(*S,R*)-PHEMA1 a (*R,R*)-PHEMA2]. Tak bylo prokázáno, že tvorba konjugátů SO s glutathiontransferasou, která předchází tvorbě merkapturových kyselin, probíhá stereospecificky mechanismem bimolekulární nukleofilní substituce. Na druhou stranu, biotransformace (*R*)-SO na kyselinu mandlovou zcela stereospecifická nebyla, vznikala nejen (*R*)-kyselina mandlová, ale i (*S*)-kyselina mandlová a to v poměru 2,57:1. Podobnou studii provedli Linhart a spol.³³ i na laboratorních myších. Na rozdíl od potkanů byla u myší po podání styrenu pozorována vyšší produkce toxického (*R*)-SO, která je tak možná zodpovědná za relativně vyšší citlivost myší k nepříznivým účinkům styrenu a SO ve srovnání s potkanem a člověkem. Pomocí NMR analýzy diastereomerů merkapturových kyselin vylučovaných v moči byla u myší pozorována vyšší produkce PHEMA2 než PHEMA1 (v poměru 5,6:1), na rozdíl od předchozí studie, kde u potkanů činil tento poměr cca 2:1 ve prospěch PHEMA1. Metabolismus styrenu byl do dnešní doby též přehledně zpracován do několika obsáhlých přehledných článků^{2,4,47}.

3. Adukt styren-7,8-oxidu s proteiny

První obecné využití proteinových aduktů jako možných biomarkerů vnitřní expozice cizorodým látkám navrhl Osterman-Golkar a spol.⁴⁸. Původním cílem jejich studie bylo stanovení efektivní dávky mutagenních látek v DNA v kritickém místě. Protože však cílová tkáň nebyla při běžných studiích vždy dostupná, jako náhrádka byl použit hemoglobin. Později byla prokázána tvorba hemoglobinových aduktů téměř pro všechny látky poskytující adukty s DNA. Korelace mezi oběma typy aduktů bývá velmi dobrá, přičemž hladina hemoglobinových aduktů je často mnohem vyšší. Tak byly vytvořeny předpoklady pro využití hemoglobinových aduktů a přeneseně i aduktů s jinými krevními proteiny jako biomarkerů expozice.

Proteinové adukty, které se dají využít k biologickému monitorování, vznikají prakticky výhradně s krevními proteiny, a sice s těmi, jejichž obsah v krvi je nejvyšší. Týká se to hemoglobinu obsaženého v erythrocytech, který má relativní molekulovou hmotnost $M_r \sim 64\,500$ a v krvi člověka je obsažen v koncentraci cca 150 mg ml^{-1} a sérového albuminu o $M_r \sim 68\,500$, který se vyskytuje v krevní plazmě člověka v koncentraci 30–45 mg ml^{-1} . Průměrná doba života hemoglobinu je přímo spjata s dobou života červených krvinek a u člověka činí 126 dní, zatímco u potkanů 60 dní a u myši 40 dní⁴⁹. Doba života lidského sérového albuminu činí cca 20 dní, zatímco u potkanů je to jen 2,5 dne a u myši 1,9 dne^{50,51}.

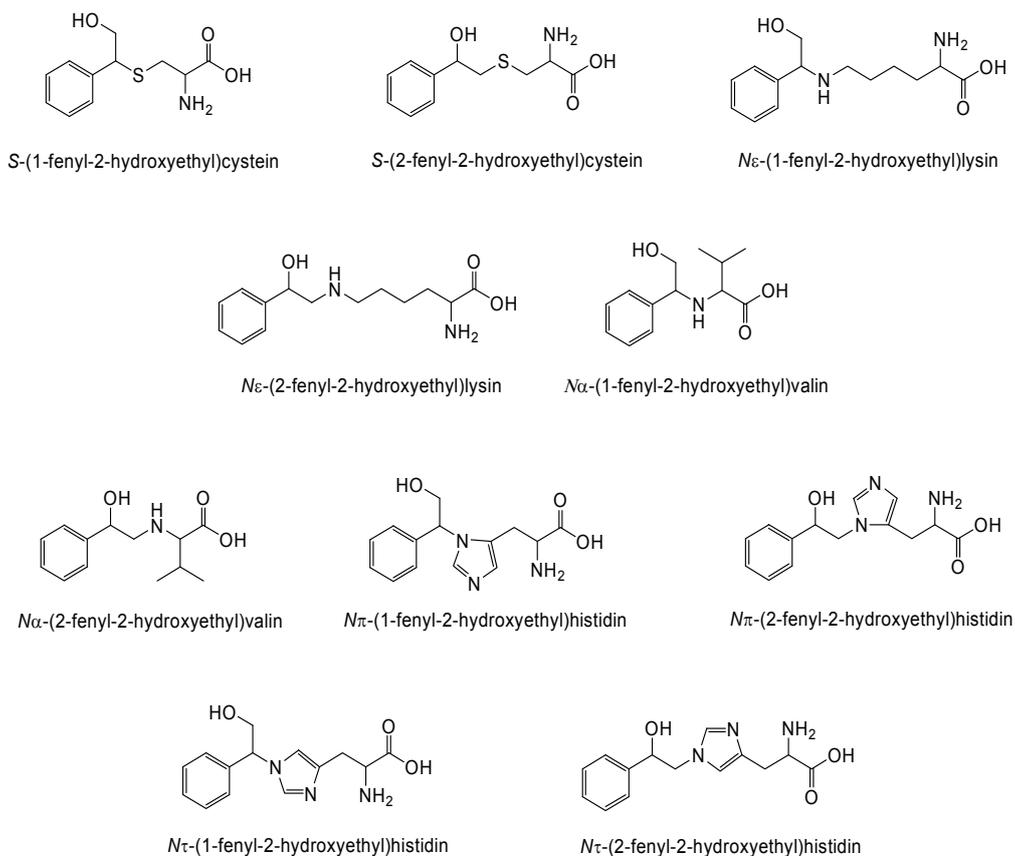
SO se s různou mírou intenzity váže na nukleofilní vazebná místa přítomná v globinu či v sérovém albuminu. Nejčastěji se váže na α -aminoskupinu *N*-koncové aminokyseliny (např. valinu u globinu), thiolovou skupinu v cysteinu a oba imidazolové dusíky v histidinu (obr. 1)^{14,52,53}. Dále se může vázat i na ϵ -aminoskupinu lysinu, hydroxylovou skupinu serinu a karboxylovou skupinu kyseliny asparagové a glutamové. Vzhledem k tomu, že reaktivita těchto nukleofilních skupin vůči SO je různá, jsou i vzniklé SO adukty obsaženy v proteinu v různé míře.

Jak již bylo řečeno, SO je chirální molekula s jedním

stereogenním centrem na epoxidickém uhlíku, takže se může vyskytovat ve dvou enantiomerních formách: (*R*)-SO a (*S*)-SO. Díky tomu, že reakce SO s nukleofilní skupinou může probíhat na obou elektrofilních epoxidových uhlících (C_α nebo C_β), vznikají dva možné typy regioisomerů: 1-fenyl-2-hydroxyethyl (21HPE) a 2-fenyl-2-hydroxyethyl (22HPE). Vzhledem k tomu, že aminokyselina též obsahuje jedno stereogenní centrum, dochází při její reakci s racemickou směsí SO obvykle ke vzniku dvou párů diastereomerů. Pokud reakce SO s nukleofilní skupinou aminokyseliny probíhá stereoselektivně S_N2 mechanismem, pak při vzniku 21HPE regioisomerů dochází k inverzi absolutní konfigurace na uhlíku C_α , zatímco tvorba 22HPE regioisomerů probíhá za zachování původní konfigurace na uhlíku C_β .

Dlouhá doba života hemoglobinu a jeho aduktů v krvi, dovolující monitorování dlouhodobé expozice spolu s jeho snadnou izolací z krve, stála za velkým počtem studií zabývajících se zkoumáním aduktů různých látek s krevními proteiny, zejména s globinem. V tomto případě izolační postup přípravy globinu z hemoglobinu zahrnuje odstranění hemu z hemoglobinu, čímž se připraví čistý globin.

Charakteristickou vlastností proteinových aduktů je



Obr. 1. Struktura aduktů styren-7,8-oxidu s cysteinem, histidinem, lysinem a valinem přítomných v hemoglobinu

jejich dlouhodobá perzistence v organismu. Až na výjimky se v organismu vyskytují po celou dobu životnosti biomakromolekuly. Vzhledem k tomu, že se u hemoglobinových aduktů neuplatňuje selektivní enzymové odbourávání aduktů, jako v případě DNA, zjištěná hladina odráží kumulativní expozici po celé období životnosti. Díky tomu se biologické monitorování těchto aduktů výborně hodí ke sledování dlouhodobé kumulativní expozice organismu. Kromě toho lze vznik těchto aduktů využít i ke stanovení jednorázové expozice, zejména pokud je dostatečně vysoká. Kinetiku tvorby a odstraňování hemoglobinových aduktů při různém časovém průběhu expozice lze popsat modelem, kde vstupními údaji jsou kinetické parametry po jednorázové expozici. Mezi modelem a experimentálními výsledky existuje dobrá shoda⁵⁴.

4. Metody stanovení aduktů styren-7,8-oxidu s proteiny

Do dnešní doby bylo vyvinuto mnoho analytických technik a postupů, jejichž účelem je studium a využití aduktů SO s krevními proteiny, zejména s globinem. V závislosti na typu zkoumaných aduktů jsou některé z nich velmi specifické, citlivé a zaměřené jen na jeden druh aduktu, jiné jsou univerzálnější, schopné současně analyzovat více druhů aduktů. Každá technika má svoje výhody i nevýhody, které vymezují možnosti jejího použití.

4.1. Metoda modifikované Edmanovy degradace

Modifikovaná Edmanova degradace (MED) se využívá ke stanovení aduktů s *N*-koncovou aminokyselinou. V případě lidského globinu je touto aminokyselinou výhradně valin. Pomocí činidla pentafluorfenylisothiokyanátu dochází za mírně alkalických podmínek k selektivnímu odštěpení *N*-koncového valinu s navázanou molekulou (např. SO) z globinového řetězce. Odštěpená molekula je převedena na svou cyklickou formu, 1-fenylhydroxyethyl-2-thio-3-pentafluorfenyl-5-isopropylhydantoin, který je z reakční směsi selektivně extrahován a stanoven metodou GC-MS s negativní chemickou ionizací⁵⁵. Tato velmi selektivní a citlivá metoda byla aplikována ke studiu aduktů SO s *N*-koncovým valinem (SO-Val)⁵⁶.

První použití MED ke studiu aduktů SO bylo publikováno ve článku Nordqvist a spol.⁵⁷, kteří intraperitoneálně podávali myším styren radioaktivně značený ¹⁴C. Po izolaci hemoglobinu a aplikaci MED zjistili, že adukty SO-Val tvoří jen 3 % z celkového SO navázaného na hemoglobin. Další autoři aplikovali metodu MED ke studiu aduktů SO-Val nejen u laboratorních zvířat, ale i u lidí exponovaných styrenu a SO *in vivo*. Tak Christakopoulos a spol. studovali stabilitu a kinetiku vzniku aduktů SO-Val a jejich korelaci s DNA adukty a s vylučováním metabolitů styrenu (kyselina mandlová a styren glykol) v moči²³. Autoři této studie se u osob profesionálně vystavených parám styrenu (expozice kolem 300 mg m⁻³) potýkali s velmi nízkou hladinou aduktů SO-Val, která se pohybovala na hranici

meze stanovitelnosti. U 7 exponovaných osob našli průměrnou hladinu aduktů SO-Val 28 pmol g⁻¹ globinu, avšak pozitivní nálezy byly zaznamenány i u osob neexponovaných. Následně Severi a spol.⁵⁸ nenašli po aplikaci MED adukty SO-Val u žádného pracovníka, který byl součástí pracovní skupiny exponované průměrně 8 ppm styrenu v ovzduší. Na druhou stranu byla ve studii pocházející ze současné doby nalezena významně vyšší hladina aduktů SO-Val (5,98 pmol g⁻¹ globinu) u skupiny čítající 75 profesionálně exponovaných pracovníků ve srovnání s kontrolní skupinou 77 osob (2,59 pmol g⁻¹ globinu)⁵⁹.

Osterman-Golkar a spol.⁶⁰ studovali metodou MED vznik aduktů SO-Val u laboratorních potkanů a myši exponovaných styrenu a SO *in vivo*. Při zkoumání vztahu mezi hladinou aduktů SO-Val a mírou expozice zjistili, že tato závislost je pro nižší dávky (cca do 0,4 mmol SO/kg živé hmotnosti) lineární, ale pro vyšší dávky strmost křivky stoupá, zřejmě díky nasycení mechanismů odbourávání SO. Na tuto studii navázal Pauwels⁶¹, který podával intraperitoneálně styren laboratorním myším v rozmezí 0 až 4,35 mmol kg⁻¹ živé váhy. Výsledná hladina aduktů SO-Val byla zjištěna v rozmezí < 10 až 305 pmol g⁻¹ hemoglobinu.

Johansson a spol.¹⁶ exponovali čtyři dobrovolníky parám styrenu značeného ¹³C o koncentraci 50 ppm po dobu 2 h. Poté v jejich krvi našli jen stopy aduktů SO-Val značených ¹³C, jejichž průměrná odhadnutá hladina byla 0,3 pmol g⁻¹ globinu. Takto nízká hladina narážela na teoretické limity analytické metody. Vodička a spol.⁶² vylepšili používaný postup MED zavedením dodatečného extrakčního kroku, čímž dosáhli snížení detekčního limitu metody. Byli schopni stanovit hladinu aduktů SO-Val na úrovni desetin pmol g⁻¹ globinu u pracovníků profesionálně exponovaných styrenu.

Ačkoliv je užití MED do dnešní doby obecně nejrozšířenějším způsobem biologického monitorování proteino- vých aduktů, v případě monitorování expozice styrenu a SO je velkou nevýhodou velmi nízká reaktivita SO vůči *N*-koncovému valinu ústící v relativně velmi nízký obsah aduktů SO-Val v globinu u lidí, a to i u pracovníků profesionálně vystavených *in vivo* poměrně vysokým dávkám styrenu. Proto byly zkoumány další cesty umožňující stanovení aduktů SO s jinými aminokyselinami.

4.2. Metoda s použitím Raneyova niklu

Aplikaci Raneyova niklu jako katalyzátoru selektivně štěpícího sulfidické vazby přítomné v proteinu lze stanovit cysteinové adukty. Pokud je Raneyův nikl použit v případě proteinu nesoucího adukty SO s cysteinem (SO-Cys), dojde k uvolnění navázané molekuly SO v podobě 1-fenylethanolu a 2-fenylethanolu, které lze ze směsi extrahovat a snadno stanovit metodou GC. Tuto metodu poprvé zavedli Ting a spol.⁶³ pro měření 2-fenylethanolu, který je uvolňován z molekuly *S*-(1-fenyl-2-hydroxyethyl)cysteinu. U potkanů byla pozorována dobrá korelace mezi velikostí expozice SO *in vivo* a množstvím uvolněného 2-fenylethanolu z aduktů SO-Cys.

Na tuto práci navázali Rappaport a spol.^{9,64}, kteří testovali použitelnost metody na vzorcích hemoglobinu a sérového albuminu získaných z lidské a potkaní krve exponované SO *in vitro*. Yeowell-O'Connell a spol.¹⁹ rozšířili měření i na 1-fenylethanol, který se uvolnil štěpením sulfidické vazby *S*-(2-fenyl-2-hydroxyethyl)cysteinu. V této *in vivo* studii provedené na lidských pracovnících byla nalezena korelace jen mezi hladinou aduktů SO-Cys přítomných v sérovém albuminu u lidí a velikostí expozice styrenu a SO v pracovním ovzduší. Podobná korelace v případě aduktů SO-Cys v hemoglobinu nebyla nalezena. Hlavním nedostatkem této a dalších podobných studií využívajících Raneyův nikl byla potíž s relativně vysokými hladinami obou fenylethanolů, které byly překvapivě poměrně vysoké (na úrovni cca jednotek nmol g⁻¹ globinu) a které byly pozorovány i u neexponovaných kontrolních osob^{65,66}. Přitom profesionální expozice nevedly k významnému zvýšení hladin těchto biomarkerů.

4.3. Metoda alkalické hydrolyzy

Kyselina asparagová a kyselina glutamová navázané do proteinového řetězce mohou díky svým volným karboxylovým skupinám vytvářet s molekulou SO estery. Esterovou vazbu těchto aduktů lze snadno štěpit alkalickým činidlem (např. 0,1 M-NaOH), přičemž dochází k uvolnění styren glykolu z globinu. Sepai a spol.¹⁰ použili SO značený radioaktivním uhlíkem ¹⁴C v koncentraci 8,7 mM k *in vitro* inkubaci lidské krve po dobu 24 h. Analýzou styren glykolu dospěli ke zjištění, že cca 15 % aduktů SO přítomných v globinu bylo ve formě esterů. Byl proveden pokus i o stanovení aduktů SO s kyselinou asparagovou a glutamovou u lidí exponovaných styrenu *in vivo*, ale nalezené hladiny styren glykolu byly pod limitem detekce metody (< 15 pmol g⁻¹ globinu). Osterman-Golkar a spol.⁶⁰ navíc ve své studii zjistil, že estery SO jsou po svém vzniku v organismu nestabilní, čímž se liší od aduktů SO-Val. Zatímco pokles obsahu aduktů SO-Val po jednorázové expozici styrenu u laboratorních zvířat byl přibližně lineární, pokles obsahu aduktů SO s kyselinou asparagovou či glutamovou byl mnohem rychlejší, což se nedalo vysvětlit jen pouhým odbouráváním hemoglobinu obsahujícího adukty SO.

Rozsáhlou srovnávací studii provedli Yeowell-O'Connell a spol.⁶⁷, kteří inkubovali vzorky lidské, potkaní a myší krve *in vitro* různým koncentracím SO v rozmezí 0 až 1000 μM. Po izolaci příslušných SO-modifikovaných globinů v nich stanovili obsah aduktů SO-Val metodou MED, dále obsah aduktů SO-Cys metodou s použitím Raneyova niklu a obsah esterů SO metodou využívající alkalickou hydrolyzu. Autoři pozorovali velké mezidruhové rozdíly v obsahu zkoumaných aduktů, zejména aduktů SO-Cys. Nejpočetnějšími nalezenými adukty v lidské krvi byly estery SO, následované *S*-(1-fenyl-2-hydroxyethyl)cysteinem, *N*α-(2-fenyl-2-hydroxyethyl)valinem a nejméně byl přítomen *S*-(2-fenyl-2-hydroxyethyl)cystein. U myší a potkanů bylo toto pořadí jiné. Nejvíce bylo

nalezeno *S*-(1-fenyl-2-hydroxyethyl)cysteinu následovaného *S*-(2-fenyl-2-hydroxyethyl)cysteinem a estery SO. Adukty SO s jinými aminokyselinami (např. s histidinem nebo lysinem) nebyly v této studii stanoveny.

4.4. Ostatní metody

Hemminki⁶⁸ se jako jeden z prvních zabýval obecně vznikem aduktů SO s aminokyselinami. Studoval reakci racemického SO s různými modelovými polypeptidy, skládajícími se vždy jen z jednoho druhu aminokyseliny. Polycystein se ukázal jako nejreaktivnější polypeptid, následovaný polyhistidinem, polylysinem a polyserinem. V další studii tentýž autor zkoumal *in vitro* reakci radioaktivně značeného SO s jednotlivými aminokyselinami a s hemoglobinem. Pořadí reaktivity jednotlivých aminokyselin bylo opět cystein >> histidin > lysin > serin. Ve shodě s tím byly adukty SO s cysteinem nejvíce zastoupeny v hydrolyzátu hemoglobinu. Autor se ale nepokusil izolovat jednotlivé adukty a řádně charakterizovat jejich strukturu.

Lidský globin inkubovaný *in vitro* s různými koncentracemi SO byl studován též metodami současné proteomiky. Takto modifikovaný globin byl pak podroben enzymové hydrolyze trypsinem. Vzniklé tryptické štěpy byly následně analyzovány velmi citlivými LC-MSⁿ technikami. Tímto způsobem bylo možno identifikovat přesné místo navázání molekuly na jednotlivé aminokyseliny v globinové řetězci. Tak Kaur a spol.¹¹ inkubovali hemoglobin *in vitro* s 25 mM roztokem racemického SO. Následnou HPLC-MS analýzou tryptických štěpů zjistili, že v globinu převažovaly histidinové adukty na β-His 143 a α-His 20. V hydrolyzátu byly také nalezeny cysteinové adukty na β-Cys 93.

Na tuto práci navázali další autoři¹², kteří inkubovali lidský hemoglobin se širším rozsahem koncentrací SO, a při tom zjistili výskyt aduktů SO i na dalších vazebných místech v hemoglobinu. Badghisi a spol. analyzovali metodou LC-MSⁿ s ionizací elektrosprejem hemoglobin inkubovaný s 40 mM koncentrací SO. Při tom zjistili výskyt aduktů SO na α-His 20, β-His 77, β-His 97, β-His 143, β-Cys 93, α-Val 1 a β-Val 1. Kromě toho Basile a spol.¹³ zjistili použitím kombinace LC-MS s elektrosprejovou ionizací a techniky MALDI-TOF u hemoglobinu inkubovaného s SO v molárním poměru 1:10⁻⁴ (hemoglobin : SO) výskyt aduktů na α-His 20, α-His 72, β-His 97, α-Cys 104, β-Cys 93, β-Cys 112 a α-Val 1, kdežto u hemoglobinu inkubovaného s SO v molárním poměru 1:5 (hemoglobin : SO) se navíc vyskytovaly i adukty na α-His 45, α-His 50, β-His 77, β-His 143 a β-Val 1. Významným poznatkem těchto studií bylo zjištění, že hlavním primárním cílem alkylace hemoglobinu při relativně nízkých koncentracích SO *in vitro* je aminokyselina histidin, následovaná cysteinem a teprve až pak *N*-koncovým valinem.

V nedávné studii¹⁴ byly připraveny vzorky hemoglobinu inkubovaného s nadbytkem racemického SO (zvolený molární poměr hemoglobin : SO činil 1:100 a 1:10) Tyto

vzorky byly podrobeny enzymové hydrolyze pronázou. Tím došlo k uvolnění jednotlivých aduktů SO z modifikovaného hemoglobinu, které byly následně analyzovány metodou LC-MS, či po jejich derivatizaci silylačním činidlem metodou GC-MS. Bylo zjištěno, že nejvíce zastoupené adukty SO ve zkoumaných vzorcích jsou: *S*-(1-fenyl-2-hydroxyethyl)cystein, *N* τ -(2-fenyl-2-hydroxyethyl)histidin a *N* ϵ -(1-fenyl-2-hydroxyethyl)lysin. V menší míře byly detegovány i všechny ostatní regioisomery aduktů SO s cysteinem, histidinem a lysinem (obr. 1). Hlavní výhodou použitého postupu je možnost současného stanovení všech isomerů aduktů SO, které se ve vzorku vyskytnou. Navíc po zařazení dalšího prekoncentračního kroku při přípravě vzorku (zakoncentrování aduktů z hydrolyzátu na SPE kolonkách) by bylo možno tímto způsobem potenciálně stanovit i mnohem nižší hladiny aduktů SO, které by byly na úrovni pmol g⁻¹ globinu.

5. Závěr

Výše uvedený výčet zdaleka neshrnuje všechny metody stanovení metabolitů styrenu v moči či stanovení aduktů SO, které byly dosud použity pro biologické monitorování expozice laboratorních zvířat a lidí styrenu a SO. Zde bychom mohli navíc zmínit zejména metody stanovení aduktů SO s DNA pocházejícím z leukocytů nebo stanovení degradačních produktů těchto DNA bázi v moči⁶⁹. Nelze opomenout ani na možnost stanovení aduktů SO ve spermatu, který je dalším poměrně dostupným biologickým materiálem⁷⁰. Do budoucna lze s rozvojem a zvyšováním citlivosti analytické instrumentace očekávat značný pokrok při využití aduktů SO s proteiny v rutinní laboratorní praxi.

LITERATURA

1. Miller R. R., Newbook R., Poole A.: *Crit. Rev. Toxicol.* 24, 1 (1994).
2. Sumner S. C. J., Fennell T. R.: *Crit. Rev. Toxicol.* 25, 11 (1994).
3. Manini P., De Palma G., Andreoli R., Goldoni M., Mutti A.: *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 77, 433 (2004).
4. Vodička P., Koskinen M., Naccarati A., Oesch-Bartlomowicz B., Vodičková L., Hemminki K., Oesch F.: *Drug Metab. Rev.* 38, 805 (2006).
5. Phillips D. H., Farmer P. B.: *Crit. Rev. Toxicol.* 24, 35 (1994).
6. Farmer P. B.: *Toxicol. Lett.* 149, 3 (2004).
7. Törnqvist M., Fred C., Haglund J., Helleberg H., Paulsson B., Rydberg P.: *J. Chromatogr.* 778, 279 (2002).
8. Mowrer J., Törnqvist M., Jensen S., Ehrenberg L.: *Toxicol. Environ. Chem.* 11, 215 (1986).
9. Rappaport S. M., Yeowell-O'Connell K., Bodell W., Yager J. W., Symanski E.: *Cancer Res.* 56, 5410 (1996).
10. Sepai O., Anderson D., Street B., Bird J., Farmer P. B., Bailey E.: *Arch. Toxicol.* 67, 28 (1993).
11. Kaur S., Hollander D., Haas R., and Burlingame A. L.: *J. Biol. Chem.* 264, 16981 (1989).
12. Badghisi H., Liebler D. C.: *Chem. Res. Toxicol.* 15, 799 (2002).
13. Basile A., Ferranti P., Mamone G., Manco I., Pocsfalvi G., Malorni A., Acampora A., Sannolo N.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 16, 871 (2002).
14. Jágr M., Mráz J., Linhart I., Stránský V., Pospíšil M.: *Chem. Res. Toxicol.* 20, 1442 (2007).
15. Petreas M. X., Woodlee J., Becker C. E., Rappaport S. M.: *Int. Arch. Environ. Health* 67, 27 (1995).
16. Johansson G., Ernstgård L., Gullstrand E., Löf A., Osterman-Golkar S., Williams C. C., Sumner S. C. J.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 168, 36 (2000).
17. Bond J. A.: *Crit. Rev. Toxicol.* 19, 227 (1989).
18. International Agency for Research on Cancer: *IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans.* 60, 233, IARC, Lyon 1997.
19. Yeowell-O'Connell K., Jing Z., Rappaport S. M.: *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 5, 205 (1996).
20. Watabe T., Isobe M., Sawakata T., Yoshikawa K., Yamada S., Takabatake E.: *Scand. J. Work Environ. Health* 4, 142 (1978).
21. Pagano D. A., Yagen B., Hernandez O., Bend J. R., Zeiger E.: *Environ. Mutagen.* 4, 575 (1982).
22. Kessler W., Jiang X., Filser J. G.: *J. Chromatogr.* 534, 67 (1993).
23. Christakopoulos A., Bergmark E., Zorzec V., Norppa H., Mäki Paakkanen J., Osterman-Golkar S.: *Scand. J. Work. Environ. Health* 19, 255 (1993).
24. Manini P., Andreoli R., Poli D., De Palma G., Mutti A., Niessen W. M. A.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 16, 2239 (2002).
25. Negri S., Maestri L., Andreoli R., Manini P., Mutti A., Imbriani M.: *Toxicol. Lett.* 162, 225 (2006).
26. Maestri L., Imbriani M., Ghittori S., Capodaglio E., Gobba F., Cavalleri A.: *Sci. Tot. Environ.* 199, 13 (1997).
27. Hallier E., Goergens H. W., Karels H., Golka K.: *Arch. Toxicol.* 69, 300 (1995).
28. Delbressine L. P. C., Van Bladeren P. J., Smeets F. L. M., Seutter-Berlage F.: *Xenobiotica* 11, 589 (1981).
29. Yagen B., Foureman G. L., Ben-Zvi Z., Ryan A. J., Hernandez O., Cox R. H., Bend J. R.: *Drug Metab. Dispos.* 12, 389 (1984).
30. Pantarotto C., Fanelli R., Bidoli F., Morazzoni P., Salmons M., Szczawinska K.: *Scand. J. Work Environ. Health* 4, 67 (1978).
31. Manini P., Buzio L., Andreoli R., Goldoni M., Bergamaschi E., Jakubowski M., Vodička P., Hirvonen A., Mutti A.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 189, 160 (2003).
32. Pfäffli P., Hesso A., Vainio H., Hyvönen M.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 60, 85 (1981).
33. Linhart I., Gut I., Šmejkal J., Novák J.: *Chem. Res. Toxicol.* 13, 36 (2000).
34. Seutter-Berlage F., Delbressine L. P. C., Smeets F. L. M., Ketelaars H. C. J.: *Xenobiotica* 8, 413 (1978).

35. Nakatsu K., Hugenroth S., Sheng L.-S., Horning E. C., Horning M. G.: *Drug Metab. Dispos.* 11, 463 (1983).
36. Ghittori S., Maestri L., Imbriani M., Capodaglio E., Cavalleri A.: *Am. J. Ind. Med.* 31, 636 (1997).
37. De Palma G., Manini P., Mozzoni P., Andreoli R., Bergamaschi E., Cavazzini S., Franchini I., Mutti A.: *Chem. Res. Toxicol.* 14, 1393 (2001).
38. Foureman G. L., Harris C., Guengerich P. F., Bend J. R.: *J. Pharm. Exp. Therapeutics* 248, 492 (1989).
39. Coccini T., Maestri L., Robustelli della Cuna F. S., Bin L., Costa L. G., Manzo L.: *Arch. Toxicol.* 70, 736 (1996).
40. Vodička P., Souček P., Tates A. D., Dušinská M., Šarmanová J., Zámečnicková M., Vodičková L., Koskinen M., de Zwart F. A., Natarajan A. T., Hemminki K.: *Mutat. Res.* 482, 91 (2001).
41. Wenker M. A. M., Kežić S., Monster A. C., de Wolff F. A.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 169, 52 (2000).
42. Wenker M. A. M., Kežić S., Monster A. C., de Wolff F. A.: *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 74, 359 (2001).
43. Korn M., Wodarz R., Schoknecht W., Weichardt H., Bayer H.: *Arch. Toxicol.* 55, 59 (1984).
44. Korn M., Wodarz R., Drysch K., Schoknecht W., Schmahl F. W.: *Arch. Toxicol.* 58, 110 (1985).
45. Korn M., Wodarz R., Drysch K., Schmahl F. W.: *Arch. Toxicol.* 60, 86 (1987).
46. Linhart I., Šmejkal J., Mládková I.: *Toxicol. Lett.* 94, 127 (1998).
47. Linhart I.: *Drug Metab. Rev.* 33, 353 (2001).
48. Osterman-Golkar S., Ehrenberg D., Segerbäck D., Hällström I.: *Mutat. Res.* 14, 1 (1976).
49. Bishop C., Surgenor D. M.: *The Red Blood Cell*. Academic Press, New York 1964.
50. Sabbioni G., Skipper P. L., Buchi G., Tannenbaum S. R.: *Carcinogenesis* 8, 819 (1987).
51. Jain N. C.: *Essentials of Veterinary Hematology*. Lea & Febiger, Philadelphia 1993.
52. Hemminki K.: *Arch. Toxicol. Suppl.* 9, 286 (1986).
53. Pauwels W., Veulemans H.: *Mutat. Res.* 418, 21 (1998).
54. Fennell T. R., Sumner S. C., Walker V. E.: *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 1, 213 (1992).
55. Törnqvist M., Mowrer J., Jensen S., Ehrenberg L.: *Anal. Biochem.* 154, 255 (1986).
56. Pauwels W., Farmer P. B., Osterman-Golkar S., Severi M., Cordero R., Bailey E., Veulemans H.: *J. Chromatogr., B* 702, 77 (1997).
57. Nordqvist M. B., Löf A., Osterman-Golkar S., Wallis S. A. S.: *Chem.-Biol. Interact.* 55, 63 (1985).
58. Severi M., Pauwels W., Van Hummelen P., Roosels D., Kirsch-Volders M., Veulemans H.: *Scand. J. Work. Environ. Health* 20, 451 (1994).
59. Teixeira J. P., Silva S., Torres J., Gaspar J., Roach J., Farmer P. B., Rueff J., Mayan O.: *Int. J. Hyg. Environ. Health* 211, 59 (2008).
60. Osterman-Golkar S., Christakopoulos A., Zorzec V., Svensson K.: *Chem.-Biol. Interact.* 95, 79 (1995).
61. Pauwels W., Vodička P., Severi M., Plná K., Veulemans H., Hemminki K.: *Carcinogenesis* 17, 2673 (1996).
62. Vodička P., Tvrdík T., Osterman-Golkar S., Vodičková L., Peterková K., Souček P., Šarmanová J., Farmer P. B., Granath F., Lambert B., Hemminki K.: *Mutat. Res.* 445, 205 (1999).
63. Ting D., Smith M. T., Doane-Setzer P., Rappaport S. M.: *Carcinogenesis* 11, 755 (1990).
64. Rappaport S. M., Ting D., Jing Z., Yeowell-O'Connell K., Waidyanatha S., McDonald T.: *Chem. Res. Toxicol.* 6, 238 (1993).
65. Rappaport S. M., Yeowell-O'Connell K.: *Toxicol. Lett.* 108, 117 (1999).
66. Fustinoni S., Colosio C., Colombi A., Lastrucci L., Yeowell-O'Connell, Rappaport S. M.: *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* 71, 35 (1998).
67. Yeowell-O'Connell K., Pauwels W., Severi M., Jiu Z., Walker M. R., Rappaport S. M., Veulemans H.: *Chem.-Biol. Interact.* 106, 67 (1997).
68. Hemminki K.: *Carcinogenesis* 4, 1 (1983).
69. Vodička P. E., Linhart I., Novák J., Koskinen M., Vodičková L., Hemminki K.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 210, 1 (2006).
70. Xie Q., Sun H., Liu Y., Ding X., Fu D., Lu K.: *Toxicol. Lett.* 163, 101 (2006).

M. Jágr^a, V. Pacáková^b, and M. Petříček^a
^a*Institute of Microbiology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague,* ^b*Department of Analytical Chemistry, Charles University, Prague): Styrene and Styrene Oxide: Their Metabolism and Analytical Methods for Determination of Their Adducts with Proteins*

A review of the current knowledge of the styrene and styrene oxide metabolism in laboratory animals and humans. Styrene ranks among the most important monomers in the manufacture of plastics and styrene oxide is the main intermediate involved in its metabolism. Both chemicals exhibit adverse effects. Various analytical methods have been developed for assessing their concentrations in organisms. Determination of their protein adducts shows several advantages over their determination in urine or as DNA adducts due to their stability and easy availability. The protein adduct determination by a modified Edman degradation, Raney-nickel cleavage, alkaline hydrolysis and enzymatic hydrolysis is described. Styrene oxide adducts with various globin amino acids have been also studied by these methods. A modified Edman degradation has proved to be a most sensitive method, with a limit of detection of the order of pmol per g of globin.

LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

COMPACTION MECHANISM OF INTERMEDIATE-SIZED DNA ELUCIDATED BY FLUORESCENCE LIFETIME CORRELATION SPECTROSCOPY

JANA HUMPOLÍČKOVÁ, ALEŠ BENDA,
LENKA BERANOVÁ, and MARTIN HOF

*J. Heyrovský Institute of Physical Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Dolejškova 3, 182 23 Prague 8
humpolic@natur.cuni.cz*

Received 12.6.08, accepted 24.10.08.

Key words: DNA compaction, fluorescence lifetime correlation spectroscopy, spermine

Introduction

Compaction mechanism of intermediate-sized DNA is not yet understood

In viruses, bacteria, prokaryotes, and sperm cells, DNA is packed into dense structures by positively charged polyamine molecules such as spermine. DNA packaging of single DNA molecules is called DNA compaction and can be generated by a variety of multivalent cations. There is an impressive amount of studies characterizing the morphology of the compacted DNA state by cryoelectron microscopy and it appears to be possible to rationalize the conditions for forming toroides, spherical globules, rods, or rackets¹. Single molecule fluorescence microscopy allowing to visualize large DNA molecules (166 kbp) clearly demonstrated the discrete (“all-or-non”) character of the DNA coil–globule transition². Moreover, Yoshikawa’s group could visualize the compaction mechanism by fluorescence microscopy directly in real time³ and showed that a compact part on a 166 kbp DNA chain appears and grows within several seconds until complete collapse. The same group showed that under certain conditions these intermediate conformations can be stabilized leading to unfolded and compact phases of DNA coexisting along a *single* DNA molecule¹. It is important to note that all these mechanistic observation based on fluorescence microscopy were done using rather large DNA molecules. For example, for the bacteriophage T4 DNA

(166 kbp) that was preferentially used by the above mentioned studies by Yoshikawa, a hydrodynamic radius of about 900 nm and 90 nm was determined for the unfolded and spermine-induced compacted state, respectively⁴. In a recent study⁵, fluorescence microscopy together with a Brownian motion analysis was for the first time applied on the spermine-induced compaction of circular plasmide of an intermediate size (12.5 kbp). In contrast to those linear DNA molecules larger than several tens of kbp, the authors found a comparable small change of the hydrodynamic radius from the elongated form (260 nm) to about 150 nm in the compact state and characterized the folding transition as continuous. To our knowledge, this study is the only single-molecule observation of compaction of a non-adsorbed, freely diffusing circular plasmide of an intermediate size. Taking into account the physiological relevance of such „small“ DNA structures⁵ and the fact that the resolution of the fluorescence microscopy used⁵ is less than 230 nm, there is certainly a need for applying alternative techniques which are able to monitor on a single molecule level the spermine-DNA interaction in solution. This motivated us to apply a recently developed single molecule fluorescence technique, fluorescence lifetime correlation spectroscopy (FLCS), for investigating the compaction mechanism of a 10 kbp circular plasmide.

Introduction to Fluorescence Lifetime Correlation Spectroscopy

Fluorescence lifetime correlation spectroscopy (FLCS) has been suggested in 2002 by Böhmer and Enderlein⁶ and it was our group that demonstrated its experimental realization⁷ and reported its first molecular applications^{7,8}. FLCS is based on fluorescence correlation spectroscopy^{9,10} (FCS).

FCS is a microscopic technique that monitors fluorescence fluctuations of fluorescently labeled species and characterizes dynamical properties of the fluorophores, such as free diffusion. A laser beam is led to the inverted confocal microscope and by objective with high numerical aperture is focused into a diffraction limited spot. Since the size of the spot is around one femtoliter and provided the concentration of labeled molecules is in the nanomolar range, the number of particles in the observation volume is in the order of units. In this case, the fluctuations in the intensity arise mainly from the diffusion of fluorophores in and out of the focal volume. The fluctuations carry information on the number of particles in the illuminated volume, the mean time the particles spend in the volume (τ_{res}) and consequently, on their concentration and diffusion coefficient. These pieces of information can be obtained by calculation of an intensity autocorrelation function (ACF) and fitting the function to an *a priori* known mathe-

mathematical model.

This approach works well if there is only one type of diffusing species. For multicomponent analysis, even though mathematical models are available, FCS fails, as there are already too many parameters to be fitted, so the fitting procedure is not mathematically stable. One of the ways that overcomes this problem is so called dual-color FCS,¹¹ which simultaneously monitors species of different color and allows calculating autocorrelation function for each of them. Apart from that, also crosscorrelation function (CCF) can be obtained, which gives additional information on the interaction between the species of interest, formation of aggregates, for instance. The experimental realization of dual-color FCS usually requires two lasers focused into a single spot (or a laser for two-photon excitation) and two detection paths.

The other, rather new solution of the multicomponent problem is FLCS. Similarly to the dual-color FCS, FLCS distinguishes between fluorophores with different spectroscopic properties. Instead of the emission wavelength used in dual-color FCS, FLCS uses lifetime of fluorescence. The technical realization becomes much easier since only one pulsed laser and a single detection path is needed. FLCS has an intrinsic advantage based on the fact that lifetime, compared to the emission spectra, is much more sensitive to the local microenvironment. Eventually, only a single fluorophore in different locations can be simultaneously monitored.

In this contribution, we take advantage of the finding that the fluorescence lifetime of the DNA intercalating dye PicoGreen[®] (PG) is shortened upon DNA compaction. The analysis of the point with partially condensed DNA can decide whether the compaction occurs continuously or whether it is a discrete process.

Material and Methods

DNA samples and labeling

The 10 kbp pH β Apr-1-Neo plasmid was a gift from the laboratory of Prof. Maciej Ugorski (Ludwik Hirszfeld Institute of Immunology and Experimental Therapy, Wrocław, Poland). It was prepared as described elsewhere¹² with slight modifications during the final purification stage¹³. The unsymmetrical monomethine cyanine dye PicoGreen[®] (2-[bis(3-dimethylaminopropyl)amino]-4-(3-methyl-2(3*H*)-benzothiazolylidene)methyl-1-phenyl-quinolinium) was purchased from Molecular Probes (Leiden, Netherlands) and spermine from Sigma. We used the labeling ratio 1 PG/100 basepairs. Experiments were performed in a Tris-EDTA buffer (pH 7.95, 10 mM Tris, 1 mM EDTA) at room temperature (25 °C).

Instrumental setup

FLCS measurements were performed on a MicroTime 200 inverted confocal microscope (PicoQuant, Germany).

We used a pulsed diode laser (LDH-P-C-470, 470 nm, PicoQuant) providing 80 ps pulses at 40 MHz repetition rate, dichroic mirror 490 DRLP and band-passfilter 515/50 (Omega Optical), and a water immersion objective (1.2 NA, 60 \times) (Olympus). Low power of 4 μ W (at the back aperture of the objective) was chosen to minimize photobleaching and saturation. In the detection plane, a pinhole (50 μ m in diameter) was used and the signal was subsequently splitted on two single photon avalanche diodes (SPADs, PDMs, Microphoton Devices, Bolzano, Italy). For calculating fluorescence correlation curves, we correlated only photons from different SPADs for preventing detector afterpulsing.

Data acquisition and processing

Photon arrival times were stored using fast electronics (Picoharp 300, PicoQuant) in time-tagged time-resolved recording mode. Two independent times were assigned to each detected photon: i) a time after the beginning of the measurement and ii) a time after the previous laser pulse. All the data were acquired for two hours in order to achieve good photon statistics. The FLCS data analysis was done using home built routines (DevC++, Bloodshed Software and OriginPro70, OriginLab Corporation). Further details of the data evaluation are given elsewhere¹⁴.

Results and Discussion

Titration of PicoGreen[®] (PG)-labeled circular 10 kbp DNA with spermine

When employing the experimental setup for performing FLCS experiments¹⁴, we simultaneously obtain information on the fluorescence lifetime (and thus on the molecule microenvironment) and its diffusion properties

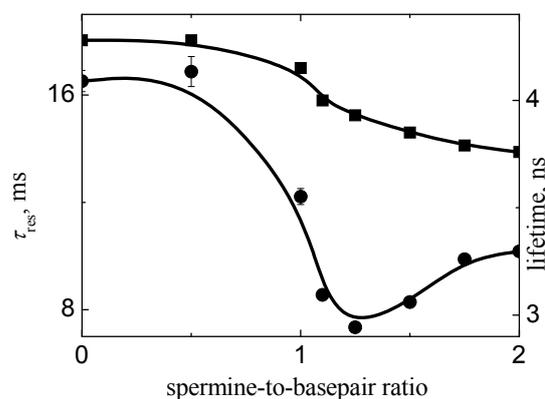


Fig. 1. Dependence of mean residence time (circles) and fluorescence lifetime (squares) on spermine-to-basepair ratio

(carried in the fluorescence intensity fluctuations). In Fig. 1, the fluorescence lifetime and the mean residence time τ_{res} of particles in the focus are used for the characterization of the DNA compaction by spermine titration of a PicoGreen® (PG)-labeled circular 10 kbp DNA. For the sake of simplicity, the mean residence time τ_{res} values were obtained by fitting the ACFs to the model assuming a single point-like diffusing species, though being aware that for multiply labeled DNA molecule, the size of which exceeds three times the diameter of the laser focus, segmental motion and the Brownian motion of the whole molecule are superimposed^{15,16}. Fluorescence lifetime values were obtained by tail fitting of the time-correlated single photon counting histograms.

Fig. 1 shows that at first, we observe almost no change in τ_{res} . As already reported⁴, at these ratios sodium ions in minor grooves¹⁷ are replaced by molecules of spermine. During this exchange, the fluorescence lifetime of PG measured simultaneously does not change either, which means that the dye “sees” the same microenvironment. At the spermine-to-basepair ratio around 1, τ_{res} decreases as well as the lifetime. This moment corresponds to the folding of the DNA molecules that reached the complete neutralization. The lifetime and residence time drops refer to the microenvironmental change in close proximity of PG and increase of the diffusion coefficient, respectively. While the lifetime decrease might be caused by functional groups which quench fluorescence getting closer to PG, the increase in the diffusion coefficient is the result of a dramatic decrease of the hydrodynamic radius. When there are enough condensed DNA molecules, simultaneously with folding, the condensed DNA starts to aggregate, which causes prolongation of τ_{res} . The lifetime remains constant as the additional aggregation does not change the immediate microenvironment of PG. From visual inspection of the rather steep residence time dependence, which displays the decrease of the hydrodynamic radius due to compaction induced by spermine, one might speculate that the process is rather discrete than continuous. However, the obtained residence time is an ensemble average over many single molecule diffusion events. Yoshikawa’s single molecule observations on large DNA molecules demonstrated that results on DNA-condenser titrations obtained by “ensemble” methods might lead to wrong mechanistic conclusions¹.

FLCS revealing mechanism of DNA compaction

During the FLCS experiment with increasing spermine-to-basepair ratio, fluorescence lifetime of PG undergoes shortening from 4.2 to 3.5 ns. This can be assigned to the formation of folded domains on the DNA chain with different microenvironment of PG. We regard the spermine-to-basepair ratio, when the lifetime of PG equals 3.9 ns, to be the “middle point” of the condensation, where molecules of PG coexist in the unfolded and folded domains of DNA. Using normalized fluorescence decays of the 4-ns (4.2 ns) and 3-ns (3.5 ns) living fluorophores and

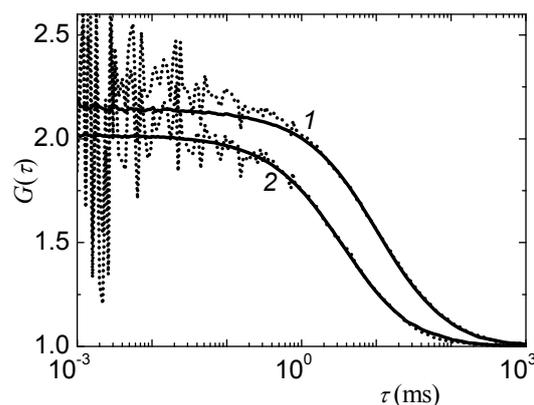


Fig. 2. Comparison of ACFs measured for free DNA and condensed DNA separately and ACFs obtained from filtering of the titration midpoint. Solid curves: DNA (curve 1) and condensed DNA (curve 2) measured individually; dotted curves: DNA (curve 1) and condensed DNA (curve 2) obtained from filtering of the titration midpoint

the decay of the compound signal at the middle point, the static lifetime filters can be calculated as described in ref.¹⁴ Applying those filters on the fluctuation photon trace measured at the titration midpoint, the resulting auto- and crosscorrelation functions (ACFs and CCFs, respectively) are expected to be very different for the two considered compaction mechanisms. Following extreme situations can be expected:

- DNA compaction is a continuous process: all the DNA molecules start to form condensed regions, where the lifetime of PG is shortened, i.e. each DNA molecule contains both 4-ns and 3-ns lifetime fluorophores. In this case, the residence time obtained for the 4-ns component is supposed to be shorter compared to the residence time of the free DNA measured separately. And vice versa, the residence time of the 3-ns component is prolonged in comparison with condensed DNA separately measured. Since the coexistence of both dye types on a single molecule is expected, significant crosscorrelation appears.
- DNA compaction is a discrete “all-or-none” process: DNA molecules coexist in the uncondensed and in the condensed form. In this case, the ACF (and consequently the residence time) of the 4-ns and 3-ns component exactly matches the ACF of separately measured DNA and condensed DNA, respectively. All the DNA molecules are either in the unfolded, or in the folded state. Thus, no crosscorrelation is expected.

Comparison of the ACFs depicted in the Fig. 2 clearly shows that the latter case is the correct one, i.e. the compaction is a discrete transition. The non-one CCFs suggest, however, that apart from the majority of the molecules that are in one of the states, there is a fraction of molecules bearing both the 3-ns and 4-ns lifetime components. Close

inspection of the amplitudes of the CCFs even suggests that there is an equilibrium state dynamics between compact and free domains on the DNA chain¹⁶.

Conclusions

The compaction mechanism of intermediate-sized DNA can neither be revealed by ensemble techniques nor by fluorescence microscopy imaging. FLCS opens the possibility to characterize the conformation of DNA molecules at the midpoint of the spermine titration. In opposite to a statistical analysis of the Brownian motion of 12.5 kbp DNA molecules¹⁵, FLCS clearly shows that the spermine induced compaction of a 10 kbp circular plasmide occurs in the all-or-non regime. There is only a small fraction of molecules (not observable in ACFs) that contain both the 3-ns and 4-ns labeled domains. These molecules are responsible for the CCFs curves, suggesting not only a static coexistence of the domains but an equilibrium interchange between the folded and unfolded ones. Thus, we show for the first time that the general mechanism of DNA compaction is similar for intermediate-sized and large DNA molecules.

We acknowledge support of the Ministry of Education of the Czech Republic via grant LC06063. A part of this work is based on the doctoral thesis of Aleš Benda, which got the prize Doctorandus in the competition Česká hlava in 2007.

REFERENCES

1. Zinchenko A. A., Baigl D., Yoshikawa K.: *Nanostructures and Organization of Compacted Single Chains of Polyelectrolytes* (Nalwa H. S., ed.). American Scientific Publishers, Valencia 2007.
2. Yoshikawa K., Takahashi M., Vasilevskaya V. V., Khokhlov A. R.: *Phys. Rev. Lett.* 76, 3029 (1996).
3. Yoshikawa K., Matsuzawa Y.: *J. Am. Chem. Soc.* 118, 929 (1996).
4. Makita N., Yoshikawa K.: *Biophys. Chem.* 99, 43 (2002).

5. Sato Y. T., Hamada T., Kubo K., Yamada A., Kishida T., Mazda O., Yoshikawa K.: *FEBS Lett.* 579, 3095 (2005).
6. Böhmer M., Enderlein J.: *ChemPhysChem* 4, 793 (2003).
7. Benda A., Hof M., Wahl M., Patting M., Erdmann R., Kapusta P.: *Rev. Sci. Instrum.* 76 (2005).
8. Benda A., Fagul'ova V., Deyneka A., Enderlein J., Hof M.: *Langmuir* 22, 9580 (2006).
9. Beranová L., Humpolíčková J., Hof M.: *Chem. Listy* 103, 125 (2009).
10. Thompson N. L., Lieto A. M., Allen N. W.: *Curr. Opin. Struct. Biol.* 12, 634 (2002).
11. Schwille P., Meyer-Almes F. J., Rigler R.: *Biophys. J.* 72, 1878 (1997).
12. Sombrook J., Fritsch E. F., Maniatis T.: *Molecular Cloning*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York 1989.
13. Kral T., Hof M., Langner M.: *Biol. Chem.* 383, 331 (2002).
14. Kapusta P., Wahl M., Benda A., Hof M., Enderlein J.: *J. Fluoresc.* 17, 43 (2007).
15. Adjimatera N., Kral T., Hof M., Blagbrough I. S.: *Pharm. Res.* 23, 1564 (2006).
16. Humpolíčková J., Benda A., Sýkora J., Macháň R., Kral T., Gasinska B., Enderlein J., Hof M.: *Biophys. J.* 94, L17 (2008).
17. Korolev N., Lyubartsev A. P., Laaksonen A., Nordenskiöld L.: *Biophys. J.* 82, 2860 (2002).

J. Humpolíčková, A. Benda, L. Beranová, and M. Hof (*J. Heyrovský Institute of Physical Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*): **Compaction Mechanism of Intermediate-sized DNA Elucidated by Fluorescence Lifetime Correlation Spectroscopy**

This work reveals the compaction mechanism of intermediate-sized DNA molecules. Using the FLCS it was shown that the compaction of 10 kbp circular plasmide is the all-or-none transition.

STANOVENÍ KONCENTRACE OSTEOKRINU V SÉRU NOVOU METODOU ELISA

DAVID STEJSKAL^a, MAREK ŠVESTÁK^a, HANA
KOTOLOVÁ^b, MICHAL KARPÍŠEK^b,
KATEŘINA ADAMCOVÁ^c, LENKA SPOROVÁ^a
a PAVEL HEJDUK^a

^a Oddělení laboratorní medicíny Nemocnice Šternberk o.z.,
Středomoravská nemocniční a.s., ^b Veterinární a farma-
ceutická fakulta Brno, Česká republika, ^c Gnosis s.r.o.,
Slovensko

david.stejskal@nemstbk.cz, michal.karpisek@email.cz

Došlo 17.9.08, přijato 10.10.08.

Klíčová slova: ELISA, metabolický syndrom, osteokrin

Úvod

Osteokrin (musclin, Ostn) je protein o velikosti 11,4 kDa (130 aminokyselin), který podléhá proteolytickému štěpení na aktivní C-terminální peptid (5 kDa). Je sekretovaný osteoblasty, buňkami kosterního svalu a vazivovými buňkami^{1,2}. Tento protein obsahuje oblast homologní s rodinou natriuretických peptidů, což umožňuje jeho vazbu na receptor natriuretických peptidů typu C (NPR-C) a inhibici jejich odbourávání^{3–5}. Přesná funkce zatím nebyla objasněna, nicméně nedávné studie naznačují, že kromě stimulace diferenciac osteoblastů (exprese Ostn v kostní tkáni se snižuje po přidání vitamínu 1,25-dihydroxyvitamínu D3 a chronické přidání Ostn ke kostní tkáni vede k inhibici mineralizace, snížené expresi osteokalcinu a kostní alkalické fosfatasy)⁴, může Ostn ovlivňovat energetický metabolismus a inzulinovou senzitivitu. Zdá se totiž, že buňky kosterního svalstva produkují řadu bioaktivních látek, které ovlivňují metabolismus podobně jako adipokiny.

Na myších modelech bylo prokázáno, že se exprese Ostn (mRNA) v příčně pruhovaném svalu snižuje po hladovění a zvyšuje se po najedení. Současně bylo zjištěno, že se exprese Ostn zvyšuje inzulinem a snižuje se adrenalinem či isoproterenolem^{1,2}. Obézní myši s rezistencí na inzulin měly vyšší expresi Ostn, a lze tedy odvodit, že osteokrin by mohl být peptid, který indukuje rezistenci k inzulinu^{1,2,5}.

V tomto kontextu je zajímavé, že Ostn snižuje inzulinem stimulované vstřebávání glukosy svalovými buňkami, syntézu glykogenu v játrech a je pravděpodobné, že osteokrin působí na celou inzulinovou signální dráhu^{1,3}.

Ačkoliv bylo nedávno provedeno několik studií, které

hodnotily expresi genu Ostn (viz výše), není stále dostupná komerční souprava pro stanovení koncentrace tohoto proteinu v biologických vzorcích. Ve většině publikací byl význam Ostn posuzován pomocí zvířecích genetických modelů (myši, krysy), případně kulturách embryonálních lidských renálních buněk (HEK 293 – Human Embryonic Kidney Cells).

Cílem naší práce byl proto vývoj, validace a klinické testování soupravy ELISA pro specifické stanovení sérové koncentrace lidského Ostn. Znalost koncentrace osteokrinu by mohla pomoci při objasnění dalších vztahů mezi kostním a energetickým metabolismem a umožnit tak další rozvoj diagnostické i léčebné péče.

Experimentální část

Příprava rekombinantního lidského osteokrinu

Sekvence mRNA genu Ostn byla získána z databáze RefSeq (Accession Number NM_1981184); příslušná sekvence byla syntetizována a optimalizována pro *E. coli*. Syntetický gen byl klonován do expresního vektoru pR-SET (Invitrogen); následně byla provedena transformace bakteriálního kmene *E. coli* JM109DE3. Produkční kmen byl kultivován při teplotě 37 °C a poté byla provedena indukce exprese rekombinantního proteinu pomocí isopropyl-β-D-1-thiogalaktopyranosidu (IPTG, Sigma). Po sonikaci produkčních buněk byl z inkluzních tělísek rozpuštěných v 6 M guanidinu, 0,1 M Tris (pH 8,6) izolován metalafinitní (NiNTA) chromatografií rekombinantní osteokrin. Protein byl následně dialyzován do prostředí 50 mM acetátového pufru (pH 4,0), čistota proteinu byla analyzována elektroforézou v polyakrylamidovém gelu v přítomnosti dodecylsulfátu sodného (12% homogenní gel, SDS PAGE) a koncentrace bílkoviny stanovena metodou s kyselinou bicinchoninovou (BCA metoda, Sigma, katalogové číslo BCA1-1KT).

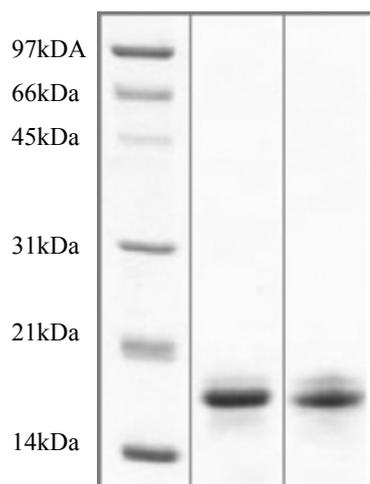
Příprava specifických protilátek

Pro sestavení soupravy byly použity 2 různé myši monoklonální protilátky připravené hybridomovou fúzí myších myelomových a B-buněk, které byly získány imunizací krysy rekombinantním myším osteokrinem (rmOsteokrin; aa 28–130; Accession No. AAQ84523). IgG frakce byla izolována ze supernatantu afinitní chromatografií s proteinem G.

Detekční protilátka byla značena modifikovaným biotinem (Sulfo-NHS-LC-LC-Biotin, Pierce, katalogové číslo 21338) podle návodu od výrobce.

Vývoj sendvičového testu ELISA pro stanovení osteokrinu v lidském séru

Sestavili jsme sendvičový test ELISA pro měření osteokrinu v séru. Tento test je vysoce specifický a citlivý díky použití detekční protilátky značené biotinem.



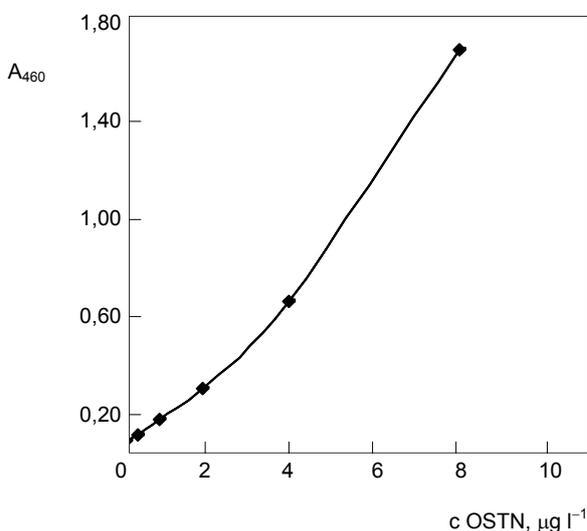
Obr. 1. Ověření čistoty proteinu elektroforézou (12% homogenní gel, SDS PAGE, metoda Laemli, barvení gelu: Coomassie blue). V levé dráze je standard tvořený proteiny o velikostech 14, 21, 31, 45, 66 a 97 kDa, v prostřední dráze je redukováný lidský osteonin, v pravé dráze je neredukovaný lidský osteonin

Mikrotitrační destička (Corning Costar, katalogové číslo 21338) byla potažena 0,25 μg protilátky/ jamku v 0,1 M karbonátovém pufru (pH 9,0; inkubace 16 h při 4 °C), po odsátí vazebného roztoku byly desky jednou promyty TBS (Tris pufr, pH 7,2 – 0,15 M NaCl, pH 7,2) s 0,05 % Tween 20 a do každé jamky bylo dávkováno 0,3 ml roztoku TBS (0,15 M NaCl, pH 7,2), 1,5 % BSA (hovězí sérový albumin), 4 % sacharosa a deska byla inkubována 30 min při laboratorní teplotě, aby byla zablokována nevyužitá vazebná místa na povrchu jamky. Po odsátí blokovacího roztoku byla destička usušena a pak bylo dávkováno 0,1 ml příslušného standardu nebo 4 \times zředěné sérum (všechny vzorky i standardy byly měřeny 2 \times). Po inkubaci 1 h se vzorky při laboratorní teplotě byla deska 3 \times promyta promývacím roztokem (TBS, 0,05 % Tween 20, pH 7,2) a poté inkubována 1 h při laboratorní teplotě s 0,1 ml biotinylované protilátky (0,05 $\mu\text{g ml}^{-1}$) v každé jamce. Pak byla deska opět 3 \times promyta promývacím roztokem a do každé jamky bylo nadávkováno 0,1 ml 7000 \times zředěného konjugátu neutravidin–křenová peroxidasa (Amdex, katalogové číslo RPN 4401V) a inkubováno 1 h při laboratorní teplotě. Po trojnásobném promytí promývacím roztokem byla každá jamka naplněna 0,1 ml substrátu TMB (1,2 mM tetramethylbenzidin s obsahem 3 mM peroxidu vodíku, KPL, katalogové číslo 52-00-01) a reakční směs inkubována 10 min při laboratorní teplotě. Reakce byla zastavena přidávkem 0,2 M kyseliny sírové a vzniklé žluté zbarvení bylo změřeno fotometricky při vlnové délce 450 nm. Intenzita žlutého zbarvení je přímo úměrná obsahu analytu ve vzorku. Koncentrace osteoninu

v neznámých vzorcích byly odečteny z kalibrační křivky (obr. 2), která byla získána vynesemím absorbancí standardů proti jejich známé koncentraci.

Ředícím roztokem pro standardy a vzorky byla kombinace TBS – 0,05 % Tween 20 – 0,05 % želatina. Stabilizačním roztokem pro biotinylovanou protilátku a konjugát streptavidin–křenová peroxidasa byl komerční roztok Stabilzyme (Surmodic). V testu byla použita řada standardů 8; 4; 2; 1; 0,5; 0,25; 0,125 $\mu\text{g l}^{-1}$, která vznikla naředěním rekombinantního lidského osteoninu. Sérové vzorky byly ředěny 4 \times (1 díl vzorku + 3 díly ředícího roztoku).

Po sérii pokusů s různými polyklonálními i monoklonálními protilátkami (data nejsou prezentována) byl vybrán popsáný systém, který poskytoval nejlepší výsledky. V tomto systému jsou použity jako vazebná i detekční protilátka myší monoklonální protilátka, která je v obou případech specifická k jiné části molekuly osteoninu.



Obr. 2. Standardní křivka pro osteonin ELISA, A₄₆₀ (nm) – absorbance při vlnové délce 460 nm, cOSTN – koncentrace osteoninu v $\mu\text{g l}^{-1}$

Klinické testování metody ELISA

Byla vyšetřena skupina 98 jedinců, pacientů metabolické ambulance Nemocnice Šternberk, kteří byli léčeni pro metabolický syndrom. Jako kontrolní soubor byla vybrána skupina zdravých osob, vyšetřených v rámci preventivních prohlídek (20 osob, neléčených ani nesledovaných pro žádné onemocnění). U všech byla vyšetřena hladina osteoninu v séru a současně koncentrace cholesterolu, HDL-cholesterolu, LDL-cholesterolu, triglyceridů, intaktního proinzulinu, glukosy a vypočtena hodnota indexu rezistence k inzulinu Quicki (6).

Tabulka I
Hodnoty osteokrinu u sledovaných skupin v $\mu\text{g l}^{-1}$

Sledovaný parametr ^b	Průměr	Medián	Signifikace ^a
Muži	1,8	0,125	
Ženy	8,1	0,125	NS, $P = 0,56$
Inzulinová rezistence ANO	2,1	0,125	
Inzulinová rezistence NE	5,2	0,125	NS, $P = 0,6$
Dyslipidémie ANO	2	0,125	
Dyslipidémie NE	8,4	0,125	NS, $P = 0,4$

^a NS – nesignifikantní, P – koeficient významnosti, ^b definice rezistence k inzulinu – na základě hodnotě Quicki (jedinci s hodnotou pod 0,357 byli definováni jako osoby s rezistencí k inzulinu) (6), definice dyslipidémie – do skupiny osob s dyslipidémií byli zařazeni jedinci s minimálně dva znaky ze tří (zvýšena hodnota triglyceridů, cholesterolu nebo snížená hodnota HDL). Do skupiny jedinců bez dyslipidémie byli zařazeni pouze jedinci s normální hodnotou cholesterolu, triglyceridů i HDL

Výsledky

Analytická charakteristika metody ELISA

Pro ověření funkčnosti testu byla verifikována správnost a přesnost metody. Správnost metody byla ověřena metodou standardního přídatku a byla zjišťována výtěžnost, vyjádřená jako poměr získané/očekávané hodnoty koncentrace osteokrinu. Vzorky sér od 3 pacientů byly obohaceny o +4, +2, +1 $\mu\text{g l}^{-1}$ Ostn. Průměrná hodnota výtěžnosti byla 94 %. V testu linearity byly testovány 2 sérové vzorky, které byly sériově ředěny 4 \times , 8 \times , 16 \times ředícím roztokem, který obsahoval TBS, 0,05 % Tween 20 a 0,05 % želatiny. Průměrná hodnota výtěžku byla 120 %.

Přesnost metody byla testována jako reprodukovatelnost výsledků u 2 vzorků sér a vyjádřena jako variační koeficient (CV) v sérii a mezi sériemi ($n = 8$). Jejich hodnota byla 7 a 11 %.

Mez stanovitelnosti metody, představující nejnižší stanovitelnou koncentraci osteokrinu, činila 0,5 $\mu\text{g l}^{-1}$ (tato hodnota je vyjádřením koncentrace osteokrinu, odpovídající absorbcí vypočítané podle vzorce: průměrná absorbance slepého vzorku ($n = 16$) + 3 \times směrodatná odchylka průměru slepého stanovení).

Klinické testování výsledků osteokrinu, získaných stanovením ELISA

U sledovaných osob nebyly zjištěny žádné souvislosti mezi hodnotami osteokrinu a ostatními měřeními ukazateli. Hodnoty Ostn se nelišily ani podle pohlaví, podle výskytu rezistence k inzulinu ani výskytu dyslipidémie (tab. I).

Závěr

Závěrem lze konstatovat, že byla navržena, sestavena, validována a zavedena do klinické praxe vůbec poprvé nová metoda ELISA, sloužící ke klinickému testování pro stanovení osteokrinu v séru. Současně je však nutno říci, že nebyly potvrzeny hypotézy o souvislosti mezi koncentrací osteokrinu v séru a antropometrickými i laboratorními ukazateli energetického a glukosového metabolismu, resp. o jeho možném využití v laboratorní diagnostice nejčastějších poruch energetického metabolismu (obezita, metabolický syndrom). Tento nálezn pouze podporuje známý fakt, že exprese látek se často liší od jejich koncentrace v séru, a že řada hypotéz o možném praktickém využití koncentrace peptidů na základě znalosti jejich exprese v klinické praxi selhává.

LITERATURA

1. Nishizawa H., Matsuda M., Yamada Y., Kawai K., Suzuki E., Makishima M., Kitamura T., Shimomura I.: *J. Biol. Chem.* 279, 19391 (2004).
2. Yasui A., Nishizawa H., Okuno Y., Morita K., Kobayashi H., Kawai K., Matsuda M., Kishida K., Kihara S., Kamei Y., Ogawa Y., Funahashi T., Shimomura I.: *BBRC* 364, 358 (2007).
3. Liu Y., Huo X., Pang X. F., Zong Z. H., Meng X., Liu G. L.: *J. Int. Med. Res.* 36, 496 (2008)
4. Thomas G., Moffatt P., Salois P., Gaumont M. H., Gingras R., Godin E., Miao D., Goltzman D., Lanctôt C.: *J. Biol. Chem.* 278, 50563 (2003).
5. Moffatt P., Thomas G., Sellin K., Bessette M. C., Laffrenière F., Akhouayri O., St-Arnaud R., Lanctôt Ch.: *J. Biol. Chem.* 282, 36454 (2007).

6. Katz A., Nambi S. S., Mather K., Baron A. D., Follmann D. A., Sullivan G., Quon M. J.: *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 85, 2402 (2000).

D. Stejskal^a, M. Švesták^a, H. Kotolová^b, M. Karpíšek^b, K. Adamcová^c, L. Sporová^a, and P. Hejduk^a
(^a *Department of Laboratory Medicine, Hospital, Šternberk*, ^b *Veterinary Faculty, Brno, Czech Republic*, ^c *Gnosis Ltd., Slovak Republic*): **Determination of the Serum Osteocrin Concentration by a New ELISA Method**

The osteocrin (musculin) concentration in blood serum was recently identified as a parameter of energetic homeostasis and bone modulation. At present, however, there are no valid data on osteocrin concentrations in serum and no routine method of its analysis in humans. The development and validation of a new ELISA method for osteocrin determination in serum and its testing in individuals with metabolic syndrome are described. It has been found that the osteocrin values are not able to differentiate between individuals with metabolic syndrome and controls. The serum osteocrine is probably not a useful marker for metabolic syndrome diagnosis.

Chemické listy

Vážení autoři,

vzhledem ke zvyšujícím se nákladům a v souvislosti se snahou udržet dosavadní kvalitu časopisu se vedení Chemických listů a České společnosti chemické rozhodlo upravit částku za poděkování grantovým agenturám v uveřejněných člancích na 1500 Kč za každý uvedený grant. Opatření platí od 1. 1. 2010. Věříme, že toto opatření přijmete s pochopením.

redakce časopisu

RYCHLÉ ELEKTROFORETICKÉ STANOVENÍ MOČOVÉ KYSELINY V ALANTOICKÉ TEKUTINĚ S DÁVKOVÁNÍM Z KRÁTKÉHO KONCE KAPILÁRY

PETR TŮMA a EVA SAMCOVÁ

Ústav biochemie, molekulární a buněčné biologie,
3. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Ruská 87,
100 00 Praha 10
petr.tuma@lf3.cuni.cz

Došlo 13.8.08, přijato 24.10.08.

Klíčová slova: kapilární elektroforéza, dávkování z krátkého konce kapiláry, močová kyselina, alantoická tekutina, separační účinnost

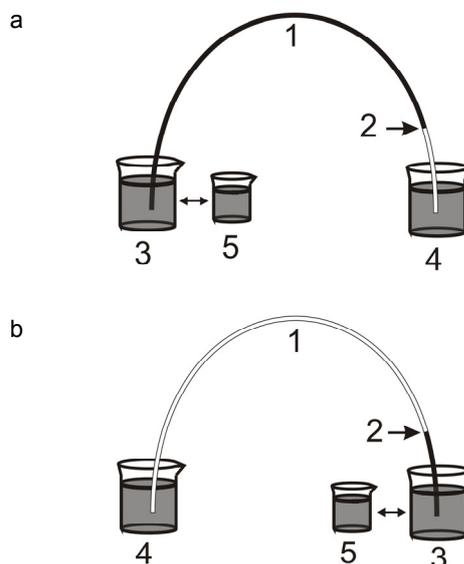
Úvod

Kvalitní klinické studie je nutné provádět na skupinách čítajících nejméně několik desítek a lépe několik stovek jedinců. Je to způsobeno vysokou variabilitou v koncentracích sledovaných biologicky aktivních látek uvnitř navenek stejnorodých skupin pacientů. Pro klinickou analýzu z toho vyplývá požadavek na vývoj velmi rychlých metod, které nevyžadují časově náročnou úpravu vzorku. Pro stanovení specifických metabolitů v biologických matricích lze s výhodou použít kapilární elektroforézu (CE)^{1–5}, která je na rozdíl od kapalinové chromatografie nenáročná na úpravu vzorku před vlastní separací a v mnohých aplikacích plně postačuje ředění vzorku, popřípadě jednoduchá filtrace.

Dobu samotné elektroforetické separace lze významně zkrátit snížením délky separační dráhy. U komerčních přístrojů CE lze snížit délku separační kapiláry maximálně na 30 cm (u přístroje HP^{3D}CE firmy Agilent⁶ je minimální délka separační kapiláry 33 cm). Separační dráhy o délce několika centimetrů jsou používány v elektroforéze na čipu a doba separace na mikročipech nebývá větší než 1 min (cit.^{7,8}). Instrumentace pro čipovou elektroforézu není dosud široce rozšířena, ale několikacentimetrových separačních drah je možné dosáhnout i na běžných přístrojích pro CE. I když se minimální délka separační kapiláry pohybuje kolem 30 cm, umožňuje většina přístrojů pro CE dávkovat vzorek z detekčního konce kapiláry, který je též označován jako krátký konec kapiláry^{9–11}. Při dávkování z krátkého konce kapiláry je pro vlastní separaci využita pouze dráha mezi detekčním koncem kapiláry a detektorem, která je u přístroje HP^{3D}CE firmy Agilent 8 cm dlouhá. Pro názornost je standardní způsob dávkování z dlouhého konce kapiláry a dávkování z krátkého konce

kapiláry schematicky zobrazen na obr. 1. Přednosti dávkování z krátkého konce kapiláry byly demonstrovány při CE separaci jednoduchých modelových směsí^{9–11} a v literatuře je také popsána jeho aplikace při stanovení biomarkery kreatininu v moči a krevní plasmě^{12,13}.

V tomto příspěvku jsou srovnávány analytické parametry standardního způsobu dávkování z dlouhého konce kapiláry a dávkování z krátkého konce kapiláry při elektroforetickém stanovení močové kyseliny v alantoické tekutině. Močová kyselina je u člověka sledovaným klinickým markerem, který je spojován s celou řadou nemocí jako je hypertenze, cévní onemocnění, tvorba ledvinových kamenů, dna, Lesh-Nyhamův syndrom a další^{14,15}. V klinických laboratořích se stanovení močové kyseliny rutinně provádí enzymatickými metodami¹⁶ a metodami kapalinové chromatografie¹⁷. Těchto metodických postupů ovšem nelze použít při stanovení močové kyseliny ve vzorcích alantoické tekutiny a krve odebraných z časných kuřecích embryí z důvodu velmi malých objemů těchto vzorků. Z tohoto důvodu byla pro stanovení močové kyseliny v tělních tekutinách kuřecích zárodků vypracována metoda CE (cit.¹⁸), která poskytuje reprodukovatelné hodnoty s analyzovanými objemy biologického materiálu o velikosti pouhého 1 µl.



Obr. 1. Schematické znázornění standardního typu dávkování v CE z dlouhého konce kapiláry (A) a dávkování z krátkého konce kapiláry (B); 1 – separační kapilára s černě zvýrazněným úsekem využitým k separaci; 2 – pozice detektoru; 3 – vstupní nádoba se separačním elektrolytem; 4 – výstupní nádoba se separačním elektrolytem; 5 – nádoba se vzorkem

Experimentální část

Experimentální podmínky pro CE

Elektroforetická měření byla provedena na přístroji kapilární elektroforézy HP^{3D}CE (Agilent Technologies, Německo) s vestaveným detektorem s diodovým polem (diod-array detector) a kontrolovaným ChemStation softwarem. Elektroferogramy byly zaznamenávány a vyhodnocovány při vlnové délce 292 nm, při které močová kyselina silně absorbuje. Pro stanovení močové kyseliny byla použita křemenná kapilára (Composite Metal Services, Velká Británie) o celkové délce 80 cm, vnitřním průměru 75 μm a vnějším průměru 363 μm . Vzdálenost detektoru od dlouhého konce kapiláry je 71,8 cm a od krátkého konce kapiláry 8,2 cm. Před prvním použitím byla nová kapilára aktivována promytím 0,1 M-NaOH, který byl v kapiláře ponechán po dobu 2 h, poté byla kapilára promývána deionizovanou vodou po dobu 15 min a nakonec separačním elektrolytem po 20 min. Před každou separací modelového vzorku i biologického materiálu byla kapilára promyta v sekvenci: 1 min 0,1 M-NaOH, 1 min deionizovaná voda a 2 min separační elektrolyt. Nadávkované množství vzorku bylo z dlouhého i krátkého konce kapiláry stejné, tlakem 20 mbar po dobu 10 s. Všechny separace probíhaly při napětí 20 kV a konstantní teplotě 25 °C. Pro statistické výpočty byl použit program Origin 7.0 (OriginLab Corporation, USA).

Chemikálie

Veškeré použité chemikálie dosahovaly analytického stupně čistoty. Močová kyselina, tris(hydroxymethyl)aminomethan (Tris), hexadimethrin bromid (polybren) a NaOH byly dodány firmou Fluka; 2-(*N*-morfolin)ethansulfonová kyselina (MES) a *p*-aminosalicylová kyselina byly od firmy Sigma. Pro přípravu všech roztoků byla použita deionizovaná voda (Millipore, USA). Zásobní roztok močové kyseliny (1 mg l⁻¹) a *p*-aminosalicylové kyseliny (1 mg l⁻¹) byly získány rozpuštěním pevných látek v deionizované vodě s přídatkem 1 M-NaOH do úplného rozpuštění. Separací pufr o složení 60 mM-MES + 30 mM-Tris + 0,001% polybren (pH 6,1) byl připravován denně čerstvý. pH separačního elektrolytu bylo měřeno laboratorním pH metrem (pMX 3000, Wissenschaftlich-Technischen-Werkstätten, Německo).

Odběr a úprava biologického materiálu

Alantoická tekutina byla odebírána z 8 až 14 dní starých kuřecích zárodků podle metodiky vypracované a prováděné na pracovišti Fyziologického ústavu AV ČR (cit. ¹⁹). Vzorky alantoické tekutiny byly dlouhodobě uchovávány v 0,5 ml nádobkách Eppendorf při teplotě -80 °C. Před elektroforetickým stanovením byly vzorky alantoické tekutiny rozmrazeny a zpracovány podle následujícího postupu: 50 μl alantoické tekutiny bylo smícháno s 20 μl 1 mg l⁻¹ roztoku *p*-aminosalicylové kyseliny, 100 μl 0,1 M-NaOH a 830 μl deionizované vody. Alantoická

tekutina je tímto postupem 20 \times ředěna, výsledná koncentrace *p*-aminosalicylové kyseliny ve zpracovaném vzorku je 20 mg l⁻¹ a koncentrace NaOH je 0,01 mol l⁻¹. *p*-Aminosalicylová kyselina je použita jako vnitřní standard pro zvýšení přesnosti elektroforetického stanovení a NaOH je přidáván z důvodu malé rozpustnosti močové kyseliny ve vodě.

Výsledky a diskuse

CE stanovení močové kyseliny v alantoické tekutině bylo provedeno v separačním pufru s výsledným složením: 60 mM-MES + 30 mM-Tris + 0,001% polybren, pH 6,1. Nízká iontová vodivost kyselých složek MES i zásadité Tris umožňuje použití vysoké koncentrace pufru, která je výhodná pro separaci biologických vzorků s vysokým obsahem solí. V koncentrovaných pufrách dochází k zaostření zón analyzovaných látek, které se od sebe snadněji oddělí a zároveň se také zvýší citlivost jejich stanovení. Přídavek povrchově aktivní látky polybrenu obrací elektroosmotický tok, který má stejný směr jako je migrace aniontů kyseliny močové, což zkrátí dobu jejího stanovení. Při pH 6,1 je močová kyselina dostatečně ionizována (hodnota pK_A pro první disociační stupeň je 5,4) a poměrně rychle migruje s hodnotou pozorované pohyblivosti 54,9 $\times 10^{-5}$ cm² s⁻¹ V⁻¹ určenou pro dávkování z dlouhého konce kapiláry. Pro zvýšení přesnosti CE stanovení močové kyseliny v biologickém materiálu byl do alantoické tekutiny přidáván interní standard *p*-aminosalicylová kyselina, který je chemicky stabilní a dobře absorbuje při stejné vlnové délce jako močová kyselina (292 nm).

Parametry kalibračních závislostí pro dávkování z dlouhého i z krátkého konce kapiláry jsou shrnuty v tabulce I. Citlivost stanovení určená z plochy píku je stejná pro oba způsoby dávkování, což dobře koresponduje se stejným absolutním nadávkovaným množstvím močové kyseliny do kapiláry. Zásadní rozdíl mezi oběma typy dávkování je v citlivosti určené z výšky píku a s tím souvisejícím limitem detekce (LOD) stanovení. Citlivost stanovení je pro dávkování z krátkého konce 3 \times vyšší a dosažený LOD 3 \times nižší v porovnání s normálním způsobem dávkování. Výška píku odpovídá aktuální koncentraci analytu v zóně, která kontinuálně klesá v průběhu separace vlivem disperze zóny způsobené difuzí, elektroosmózou a adsorpcí analytu na stěnu kapiláry. Všechny tyto efekty, které zapříčiňují rozmývání zóny analytu, budou menší na krátké separační dráze. Volba krátké separační dráhy je tak účinným nástrojem pro zvýšení citlivosti CE stanovení a umožňuje nenáročnou cestou dosáhnout submikromolárních LOD.

Z porovnání separačních parametrů pro oba typy dávkování jednoznačně vyplývá výrazné zkrácení migračního času v krátké kapiláře (tabulka II). Pozorovaný migrační čas (t_m) močové kyseliny je v krátké kapiláře 10 \times menší v porovnání s dávkováním z dlouhého konce kapiláry. Šířka píku v polovině výšky ($w_{1/2}$) je v krátké kapiláře 3 \times menší, což přesně souvisí s 3 \times vyšší výškou píku. Dalším

Tabulka I

Kalibrační závislosti určené z plochy a výšky píku kyseliny močové pro dávkování z krátkého a dlouhého konce kapiláry

Parametr ^a	Typ dávkování	
	krátký konec	dlouhý konec
	<i>plocha píku</i>	
Testovaný dynamický rozsah, mg l ⁻¹	1 – 200	1 – 200
Směrnice, mAU min l mg ⁻¹	1,77 ± 0,01	1,73 ± 0,02
Úsek, mAU min	-2,74 ± 1,24	-3,63 ± 1,41
<i>R</i>	0,9998	0,9998
	<i>výška píku</i>	
Lineární dynamický rozsah, mg l ⁻¹	1 – 50	1 – 50
Směrnice, mAU min l mg ⁻¹	2,15 ± 0,03	0,72 ± 0,01
Úsek, mAU min	0,91 ± 0,64	0,28 ± 0,28
<i>R</i>	0,9998	0,9997
LOD, mg l ⁻¹	0,14	0,42
LOD, μM	0,8	2,5

^a Kalibrační závislosti byly experimentálně změřeny pro 5 různých koncentrací, každá koncentrace byla měřena 3×. Hodnoty LOD byly určeny jako výška píku odpovídající trojnásobku průměrné hodnoty šumu

kritickým parametrem je počet teoretických pater (N), který byl vypočten ze vztahu $N = 5,54 (t_m/w_{1/2})^2$. 10× nižší hodnotu N pro dávkování z krátkého konce lze vysvětlit krátkou drahou, na které probíhá separace. Srovnatelnějším parametrem charakterizujícím separační účinnost je počet teoretických pater přepočítaný na jeden metr kapiláry, jehož hodnota je pro dávkování z obou konců kapiláry přibližně shodná. Také rozlišení píku kyseliny močové a *p*-aminosalicylové je menší v krátké kapiláře, což opět souvisí s krátkou separační drahou. Na druhou stranu je hod-

nota rozlišení 3,9 pro krátkou kapiláru dostačující a výrazně převyšuje kritickou hodnotu 1,5, jejíž dosažení je považováno za úplné rozdělení dvou píků²⁰.

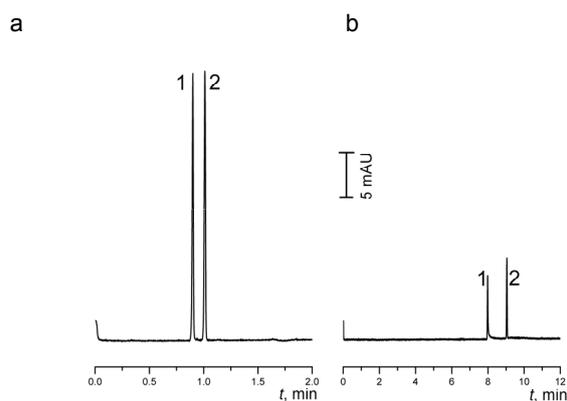
Úplného oddělení kyseliny močové a *p*-aminosalicylové bylo dosaženo nejen v modelové směsi těchto dvou látek, ale i v komplexním vzorku alantoické tekutiny (obr. 2). Přednosti dávkování vzorku z krátkého konce ve srovnání s normální typem dávkování jsou jasně patrné z elektroferogramů zobrazených ve stejném měřítku na obr. 2. Na krátké kapiláře trvá separace asi 1 min

Tabulka II

Migrační čas a charakteristiky separační účinnosti

Parametr ^a	Typ dávkování	
	krátký konec	dlouhý konec
Migrační čas, s	52,4 ± 0,2	523,2 ± 2,1
Šířka píku v polovině výšky $w_{1/2}$, s	0,7 ± 0,0	2,1 ± 0,0
N	33 300 ± 900	338 800 ± 6100
N , m ⁻¹	391 800 ± 10 600	473 800 ± 8500
Rozlišení R_S ^b	3,9 ± 0,1	13,1 ± 0,2

^a Všechny parametry byly určeny pro koncentraci močové kyseliny 10 mg l⁻¹. ^b Rozlišení píku močové kyseliny a vnitřního standardu *p*-aminosalicylové kyseliny



Obr. 2. Elektroferogram vzorku alantoické tekutiny s dávkováním z krátkého (A) a dlouhého (B) konce kapiláry; identifikace píků: 1 – *p*-aminosalicylová kyselina, 2 – močová kyselina

Tabulka III

Stanovené koncentrace močové kyseliny ve vzorcích alantické tekutiny

Vzorek číslo ^a	Typ dávkování	
	krátký konec [mg l ⁻¹]	dlouhý konec [mg l ⁻¹]
1	1853	1447
2	968	728
3	373	283
4	485	462
5	306	271

^a Uvedené hodnoty jsou průměrem ze třech měření

v porovnání s 9 min při stanovení v dlouhé kapiláře. Také výšky píků při stanovení téhož vzorku jsou při dávkování z krátkého konce kapiláry mnohem vyšší. Navíc je v dlouhé kapiláře pozorováno chvostování píku *p*-aminosalicylové kyseliny, které se nestačí projevit na krátké separační dráze.

Použitelnost dávkování z krátkého konce kapiláry pro stanovení močové kyseliny v alantické tekutině byla porovnáována s normálním způsobem dávkování. Párový *t*-test neprokázal statisticky významný rozdíl na hladině významnosti 0,05 mezi oběma způsoby dávkování při stanovení močové kyseliny v pěti vzorcích alantické tekutiny (tabulka III).

Z provedených experimentů jasně vyplývá, že na krátké separační dráze lze oddělit pouze velmi jednoduché směsi látek (počet teoretických pater i rozlišení je nižší v porovnání s dlouhou separační dráhou). V tomto případě ale byla separační dráha o délce pouhých 8 cm s úspěchem použita pro stanovení močové kyseliny ve velmi složité biologické matrici, jakou je alantická tekutina, která obsahuje kromě močové kyseliny stovky dalších biologicky aktivních látek. To, že na elektroferogramu alantické tekutiny jsou patrné pouze dva dominantní píky močové kyseliny a *p*-aminosalicylové, kyseliny je dáno volbou selektivního detektoru. Při vlnové délce 292 nm neabsorbují ostatní analyty přítomné v biologickém vzorku, které potom nemusí být úplně odděleny od sledovaného analytu a tyto interferenty nejsou detegovány.

Závěr

Zkracování délky kapiláry v CE na velikost několika centimetrů vede k dosažení velmi krátkých separačních časů nižších než 1 min. Pro dosažení takto rychlých elektroforetických separací není nutné vybavovat laboratoř málo rozšířenou čipovou elektroforézou, ale lze s úspěchem využít i standardní přístroj CE a zvolit dávkování z krátkého konce separační kapiláry. I když se na krátké separační dráze oddělí pouze jednoduché směsi

látek, lze volbou selektivního detektoru provádět stanovení biologicky aktivních látek i v tak komplexních matricích, jakými jsou biologické tekutiny, které obsahují stovky dalších komponent. Zároveň lze touto strategií snížit LOD CE na submikromolární úroveň.

Tato práce byla podporována Grantovou agenturou ČR (grant č. 203/07/0896) a MŠMT České republiky (výzkumný záměr č. MSM0021620814).

Seznam zkratk

CE kapilární elektroforéza
 MES 2-(*N*-morfolin)ethansulfonová kyselina
 Tris tris(hydroxymethyl)aminomethan
 LOD limit detekce

LITERATURA

- Shihabi Z. K., Friedberg M. A.: *Electrophoresis* 18, 1724 (1997).
- Jabeen R., Payne D., Wiktorowicz J., Mohammad A., Petersen J.: *Electrophoresis* 27, 2413 (2006).
- Huck C. W., Bakry R., Bonn G. K.: *Electrophoresis* 27, 111 (2006).
- Tůma P., Samcová E.: *Chem. Listy* 101, 200 (2007).
- Tůma P., Samcová E.: *Čas. lék. čes.* 146, 593 (2007).
- <http://www.chem.agilent.com/scripts/generic.asp?lPage=389>, staženo 1. října 2008.
- Wu D., Qin J., Lin B.: *J. Chromatogr., A* 1184, 542 (2008).
- Li S. F. Y., Kricka L. J.: *Clin. Chem.* 52, 37 (2006).
- Altria K. D., Kelly M. A., Clark B. J.: *Chromatographia* 43, 153 (1996).
- Euerby M. R., Johnson C. M., Cikalo M., Bartle K. D.: *Chromatographia* 47, 135 (1998).
- Geiser L., Rudaz S., Veuthey J.-L.: *Electrophoresis* 26, 2293 (2005).
- Zinellu A., Carru C., Usai M. F., Sotgia S., Deiana L.: *Electrophoresis* 25, 1096 (2004).
- Costa A. C. O., da Costa J. L., Tonin F. G., Tavares M. F. M., Micke G. A.: *J. Chromatogr., A* 1171, 140 (2007).
- Murray R. K., Granner D. K., Mayes P.A., Rodwell V. W.: *Harperova biochemie*. H & H, Praha 1998.
- Devlin T. M.: *Biochemistry with Clinical Correlations*. Wiley-Liss, New York 1992.
- Kolektiv autorů: *Doporučené metody v klinické biochemii*. Avicenum, Praha 1992.
- Hausen A., Fuchs D., König K., Wachter H.: *Clin. Chem.* 27, 1455 (1981).
- Matějčková J., Tůma P., Samcová E., Zemanová Z.: *J. Sep. Sci.* 30, 1947 (2007).
- Zemanová Z., Murphy M. J., v knize: *New Insights into Fundamental Physiology and Peri-natal Adaptation of Domestic Fowl* (Yahav S., Tzschentke B., ed.), str. 141. Nottingham University Press, Nottingham 2006.

20. Opekar F., Jelínek I., Rychlovský P., Plzák Z.: *Základní analytická chemie*. Karolinum, Praha 2002.

P. Tůma and E. Samcová (*Institute of Biochemistry, Molecular and Cell Biology, Third Faculty of Medicine, Charles University, Prague*): **Fast Electrophoretic Determination of Uric Acid in Allantoic Fluid with Injection from the Short End of the Capillary**

Using a short separation path makes it possible to achieve very fast electrophoretic separations. Such paths are available in capillary electrophoresis instruments on the condition that a sample is introduced into the capillary from the short end side. This procedure was successfully used in the determination of uric acid in allantoic fluid of chicken embryos. The LOD of the optimized method is $0.8 \mu\text{mol l}^{-1}$ and the separation time is shorter than 1 min.

KOPOLYMÉRNA SÍRA AKO VULKANIZAČNÉ ČINIDLO PRE NENASÝTENÉ KAUČUKY

MILAN OLŠOVSKÝ^a, PETER GÁŠEK^b,
SLÁVKA ĽALÍKOVÁ^a, TÁŇA BAZYLÁKOVÁ^a
a VENDELÍN MACHO^a

^a Fakulta priemyselných technológií TnUAD, I. Krasku 491/30, 020 01 Púchov, ^b Continental Matador Rubber, s. r. o., T. Vansovej 1054/45, 020 32 Púchov, Slovensko
olsovsky@fpt.tnuni.sk

Došlo 17.4.08, prijaté 12.9.08.

Kľúčové slová: kopolymérna síra, vulkanizačné činidlo, vulkanizácia, fyzikálno-mechanické vlastnosti vulkanizátov

Úvod

Pre ekologické a ekonomické výhody, ako aj jednoduchosť prípravy a tiež kvôli eliminácii nedostatkov vulkanizačných činidiel cyklooktamérskej a najmä polymérnej síry sa kopolymérna síra zaraďuje medzi perspektívne vulkanizačné činidlá. Jej veľkou výhodou je oveľa pomalšia migrácia na povrch („vykvetanie“) z nevulkanizovaných gumárenských zmesí než cyklooktamérska síra a ľahšie sa zapracováva do gumárenských zmesí ako polymérska síra.

Patent¹ uvádza prípravu kopolymérnej síry zahrievaním zmesi cyklooktamérskej síry, ľanového oleja a dicyklopentadiénu (DCPD) vo vhodných pomeroch za zvýšenej teploty, aby sa vyrobil produkt s obsahom síry 20–90 %. Hmotnostný pomer DCPD k ľanovému oleju je od 1 : 2 do 3 : 1. Kopolymerizácia sa uskutočňuje pri 125 až 135 °C počas 4–5 h. Vulkanizačné činidlo na báze kopolymérnej síry možno tiež pripraviť priamo *in situ* pri príprave gumárenských zmesí². Porovnávané sú fyzikálno-mechanické a dynamické vlastnosti silikových behúňových gumárenských zmesí. Výsledky sú porovnateľné so štandardnou gumárenskou zmesou. V patente³ sa uvádza konkrétne použitie pripraveného vulkanizačného činidla na báze alkylsulfidirsírneho kopolyméru. Dávkovanie je 0,5 až 8,0 hmot. častí. Ako najlepšie urýchľovače použitých gumárenských zmesí sa odporúčajú ditiokarbamáty. Dvojstupňovú prípravu vulkanizačného činidla síry s nenasýtenými uhľovodíkmi chráni patent⁴. V prvom kroku v uzavretej nádobe reaguje síra s nenasýteným uhľovodíkom (napr. DCPD, styrén, d-limonén, 5-etylidén-2-norbornén). Reakčná teplota je vyššia ako teplota tavenia síry a nižšia ako minimálna teplota, pri ktorej sa otvárajú kruhy monoklinickej alebo rombickej síry. Prvý stupeň reakcie je skončený, keď sa spotrebuje všetok uhľovodík a vznikne tak medziprodukt. Druhý stupeň reakcie pozos-

táva v zahrievaní medziproduktu s antioxidantom alebo spracovateľským olejom, buď samostatne alebo v kombinácii. Reakčná teplota je 160–170 °C. Takto získaný kopolymér síry zlepšuje aj adhéziu gummy k výstužným materiálom. Ešte podrobnejšie sme skúmali kopolymér síry, či organosírne vulkanizačné činidlo pripravené reakciou síry s norbornénom⁵. Podobný je i ruský patent⁶. Vulkanizačné činidlo je pripravené reakciou síry s olefinom alebo diénovým uhľovodíkom v mólovom pomere síra : uhľovodík = 25 : 1 až 10 : 1 a v prítomnosti 0,05–1 mólu maleinanhydridu na 1 mól uhľovodíkov pri 125–170 °C. Podľa vynálezu zavedenie uhľovodíka a reakcia so sírou prebieha v 1 alebo 2 stupňoch a vznikajú produkty s diénovým uhľovodíkom a maleinanhydridom alebo nenasýtenými esterami v množstve 0,25–0,5 % na množstvo síry. Syntéza vulkanizačných činidiel môže byť vedená katalyticky so syntetickými živícami alebo močovinou viazanou na merkaptánový produkt vulkanizačných činidiel, v množstve 0,5 až 3,5 hm.% síry.

Vulkanizačné činidlo reakciou síry s najmenej jedným olefinom možno pripraviť aj za intenzívneho miešania pri 120–200 °C (cit.⁷). Vzniknutý kopolymér má 39 až 46 hm.% síry. V takmer totožnom postupe prípravy⁸ reakcia prebieha navyše so zásaditým katalyzátorom a dispergačným činidlom. Ako katalyzátor sa používa *N,N,N',N'*-tetrametyléndiamín a CaCO₃. Ako ochranné koloidy sa uvádzajú deriváty celulózy a polyvinylalkohol. Reakčná teplota je 140–160 °C. Reakcia prebieha v autokláve 3 h. Vlastnosti pripraveného kopolyméru síry/olefin sa porovnávali s polymérnou sírou. V patente⁹ sa uvádza spôsob prípravy vulkanizačného činidla z metylcyklopentadiénu so sírou, príp. so sulfidom pri 100–180 °C. Mólový pomer síry a metylcyklopentadiénu je 1 : 1 až 1 : 9. Vzniká zmes oligomérskej a polymérnej síry. Ako nové vulkanizačné činidlá na báze kopolymérov síry pre diénové kaučuky sa uvádzajú¹⁰ aj zlúčeniny vzorca [S_x(CH₂)_y]_n, kde n = 1–11.

Prípravou vulkanizačných činidiel na báze síry sme sa zaoberali dávnejšie^{11–15}. Experimentálne práce boli zamerané hlavne na prípravu vzoriek a podmienok tvorby kopolymérov síry s DCPD a zvyškom z pyrolýznej C₅ frakcie. Pozorovali sme tvorbu kopolyméru s 20–30 % DCPD na reakčnú zmes pri teplote 135 ± 5 °C s dobou dávkovania DCPD 0,5–2 h a s dobou doreagovania 0,5–3 h. Stúpajúca koncentrácia DCPD v hraniciach 20–30 % však spôsobuje zvýšenie plasticity vzorky po vychladnutí. Reakčná zmes stuhne, resp. skrehne až po 8–16 h. Optimálny reakčný čas pri teplote 135 °C je 3 h, 1 h dávkovania DCPD a 2 h doreagovania za miešania.

Predmetom nášho výskumu bola aj analýza donorno-akceptorných reakcií v systéme styrén–síra, spôsobujúcich tvorbu bipolárnych medziproduktov¹¹. Preskúmali sme aj proces získavania kopolymérov, ako aj možnosti mechanizmu a reakcie týchto medziproduktov s komponentmi reakčnej zmesi. Tak sme došli k záveru¹¹, že v reakcii kopolymerizácie nenasýtených zlúčenín s cyklooktamérskou sírou sa tvoria kopolyméry so styrénom alternatívnymi reťazcami, t. j. uskutočňuje sa alternujúca kopolymerizácia. Navrhnutý mechanizmus získania kopolyméru

z polyesterovej kompozície s elementárnou sírou zahrňuje ako nukleofilnú, tak aj elektrofilnú reakciu komponentov. Výsledkom nášho výskumu je vynález⁵, podstatou ktorého je vulkanizačné činidlo, ktoré je vytvorené produktmi najmenej jednej nenasýtenej karboxylovej kyseliny s 1–4 dvojitými väzbami v molekule s počtom uhlíkov 12–22 alebo ich esterov s podobným počtom uhlíkov alebo ich zmesi. Celkový obsah síry vo vulkanizačnom činidle je 75–96 hm.%. Výhodou tohto vulkanizačného činidla je tiež veľmi dobrá zapracovateľnosť do gumárenskej zmesi. Kopolymérnu síru sme tiež pripravili^{11,12} kopolymerizáciou cyklooktamérskej síry s DCPD (v hmot. pomere 80 : 20) v autokláve, v inertej atmosfére pri teplote 165 ± 5 °C počas 2 h. Na prípravu gumárenskej zmesi sme okrem zvyčajných komponentov a sulfénamidového urýchľovača použili ako vulkanizačné činidlo komerčnú nerozpustnú síru CRYSTEX OT-33 a v druhej pripravenu kopolymérnu síru. Z porovnania parametrov gumárenskej zmesi a vulkanizátov vychádza, že ich účinok je porovnateľný. V práci¹¹ prezentujeme výsledky prípravy a použitia kopolymérnej síry s diémi pyrolýznej C₅ frakcie, s 1-alkénmi C₂₀–C₂₄, s kyselinami repkového oleja a ich metylesterov. Reakcia prebiehala v inertej dusíkovej atmosfére za stáleho miešania pri teplote 180 °C počas 240 min. Do taveniny bol pridaný po 228–230 min stabilizátor (jód, bróm, kyselina stearová). Horúca reakčná zmes sa rýchlo schladila vyliatím do studeného vodného roztoku parciálne zmydelneného polyvinylacetátu o koncentrácii 0,18 %. V prednáške¹² sa zaoberáme prípravou kopolymérnej síry z cyklooktamérskej síry s destilačným zvyškom pyrolýznej C₅ frakcie a zmesou kyselín repkového oleja. Obsah organických komponentov bol 15 hm.%. Reakcia prebiehala za miešania v inertej atmosfére (N₂) počas 4 h pri teplote 128 ± 2 °C. Príprava kopolymérnych zlúčenín z dioxidu síry alebo monooxidu uhlíka a olefinov, špeciálne etylénu je chránená v patente¹⁶. Tieto sa dajú pripraviť uvedením týchto monomérov do kontaktu so silnými Lewisovými kyselinami a vybraným kovom. Výsledkom týchto reakcií sú prevažne alternujúce kopolyméry, ktoré sa dajú aplikovať aj ako živice. V nadväznosti na tieto výsledky sme preukázali, že pri príprave kopolymérnej síry¹⁵ pripravenej adíciou cyklooktamérskej síry na nízkomolekulový polybutadién a so zmesou karboxylových kyselín z repkového oleja, ako aj pri substitúcii polybutadiénu zmesou dimérov pyrolýznej C₅ frakcie, najvhodnejší obsah organického podielu bol 10 až 30 hm.%, teplota kopolymerizácie 125 až 150 °C a reakčný čas 3–4 h. Jednoznačne sme preukázali¹⁵, že patentovaná teplota 225 °C (cit.⁴) je príliš vysoká, lebo môže prebiehať dehydrosulfurizácia uhlíkových reťazcov.

Experimentálna časť

Chemikálie

Síra (S₈) – cyklooktamérska síra z Clausovho procesu; zloženie (v hm.%): cyklooktamérska síra min. 99,5; organické látky pod 0,1; teplota topenia 119 °C; výrobca: Slov-

naft, a. s. Bratislava.

Diméry C₅ frakcie – destilačný zvyšok produktov dimerizácie pyrolýznej C₅ frakcie z pyrolýzy ropných frakcií; brómové číslo 245,3 g Br/100 g látky; jódové číslo 222,8 g I/100 g látky; pôvodná C₅ frakcia bola podrobená vákuovej destilácií pri teplote 80 °C a tlaku 6 kPa. Zloženie podľa ¹³C NMR: bicyklické nenasýtené uhľovodíky s 1 alebo 2 dvojitými väzbami, ktoré sú izolované aj konjugované. Zloženie podľa analýzy HPLC: obsahuje aromatické, resp. polyaromatické alebo cyklicko-aromatické uhľovodíky. Detekciu sme robili pri 254 nm; výrobca: Slovnaft, a. s. Bratislava.

Kyseliny repkového oleja (KRO) – zmes organických kyselín repkového oleja; číslo zmydelnenia 204 mg KOH/g; číslo kyslosti 191,3 mg KOH/g; jódové číslo 98,5 g I/100 g látky; brómové číslo 66,4 g Br/100 g látky; zloženie kyselín (v hm.%): palmitová 4, stearová 2, olejová 60, linolová 20, linolénová 10, eikozánová 2, eruková 1; výrobca: Polychem, s. r. o. Prievidza.

Oligoméry styrénu – zmes styrénu s 0,5 % síry a 1 % acidifikovaného mordenitu, zahrievaná v uzavretom autokláve počas 60 min pri teplote 140 ± 2 °C; kryoskopicky stanovená priemerná mólová hmotnosť 214 g mol⁻¹; priemerná mólová hmotnosť stanovená pomocou GPC 220,8 g mol⁻¹.

Monoetanolamín (MEA) – mólová hmotnosť 61,6 g mol⁻¹; hustota (20 °C) 1018 kg m⁻³; alkalita 911,6 mg KOH/g; výrobca: VÚP, a. s. Prievidza.

Dietanolamín (DEA) – mólová hmotnosť 105,48 g mol⁻¹; hustota (20 °C) 1095 kg m⁻³; alkalita 533,61 mg KOH/g; výrobca: VÚP, a. s. Prievidza.

Trietanolamín (TEA) – mólová hmotnosť 151,5 g mol⁻¹; hustota (20 °C) 1137 kg m⁻³; alkalita = 371,2 mg KOH/g; výrobca: VÚP, a. s. Prievidza.

Príprava vzoriek kopolymérnej síry

Prípravu vzoriek sírneho vulkanizačného činidla (kopolymérnej síry) sme robili v uzavretej trojhrdlovej banke, ktorá bola umiestnená v olejovom kúpeli, vyhriatom na reakčnú teplotu. Reakčnú teplotu sme volili podľa druhu organických komponentov tak, aby sa nezačali rozkladať, resp. prebiehať iné konkurenčné reakcie. Celková hmotnosť reakčnej násady bola 30 g. Po navážení reaktantov sme ich v banke rozpustili (hlavne síru) bez miešania pri reakčnej teplote. Potom sme reakčnú zmes miešali mechanickým miešadlom až do konca reakčnej doby. Po uplynutí reakčnej doby sme reakčnú zmes vyliali do Petriho misky a nechali stuhnúť na vzduchu pri laboratórnej teplote. Pripravené vzorky sme pomleli na zrnitosť pod 0,071 mm.

V tab. I sú uvedené reakčné podmienky prípravy vzoriek 1–11 prevažne s KRO. KRO sme pred samotnou aplikáciou zneutralizovali mono-, di- alebo trietanolamínom (MEA, DEA a TEA). Neutralizáciu sme vykonali stechiometricky a pH sme merali na laboratórnom pH metri značky HANNA. Výsledné pH takto zneutralizovaných KRO bolo 7–7,5. Neutralizáciu sme robili kvôli spomaleniu

Tabuľka I

Zloženie reakčného systému pri príprave vzoriek 1–11

Vzorka	Zloženie vzorky [hm.%]	Reakčné podmienky
1	Síra (85) + KRO neutralizované MEA (3,75) + diméry C ₅ frakcie (11,25)	4 h, 128 ± 2 °C
2	Síra (85) + KRO neutralizované DEA (3,75) + diméry C ₅ frakcie (11,25)	4 h, 128 ± 2 °C
3	Síra (85) + KRO neutralizované TEA (3,75) + diméry C ₅ frakcie (11,25)	4 h, 128 ± 2 °C
4	Síra (85) + oligoméry styrénu (7,5) + diméry C ₅ frakcie (7,5)	4 h, 128 ± 2 °C
5	Síra (85) + oligoméry styrénu (5) + diény (5) + diméry C ₅ frakcie (5)	4 h, 128 ± 2 °C
6	Síra (85) + oligoméry styrénu (15)	4 h, 128 ± 2 °C
7	Síra (85) + oligoméry styrénu (10) + KRO (5)	4 h, 128 ± 2 °C
8	Síra (85) + oligoméry styrénu (7,5) + KRO (7,5)	4 h, 128 ± 2 °C
9	Síra (85) + kyselina stearová (7,5) + KRO (7,5)	4 h, 150 ± 2 °C
10	Síra (85) + kyselina stearová (7,5) + KRO neutralizované TEA (7,5)	4 h, 150 ± 2 °C
11	Síra (85) + KRO neutralizované MEA (15)	4 h, 150 ± 2 °C

„vykvetania“ vulkanizačných činidiel z gumárenských zmesí, ako aj kvôli zníženiu strát prchaním reakčných zložiek z reakčného systému. Všetky pripravené vzorky (1 až 11) po stuhnutí boli bledohnedej farby, tvrdé a krehké.

V tab. II sú uvedené zloženia pokusov, ktorými sme skúmali vplyv zvyšovania obsahu KRO na úkor oligomérov styrénu a porovnanie neutralizovaných KRO s neneutralizovanými. Všetky pripravené vzorky boli tmavožltej farby, tuhé a tvrdé. Reakčný čas a teplota boli pri príprave vzoriek 12–27 rovnaké – t. j. 4 h a 128 ± 2 °C.

V tabuľke nie sú uvedené výsledky pokusov, v ktorých bol obsah KRO nad 10 hm.%, pretože tieto vzorky už nezreagovali (ani s neutralizovanými KRO). Potvrdili sa tým predchádzajúce výsledky^{12,13,17}. Pri pokusoch, kde sme zvolili teplotu 150 ± 2 °C, už začali oligoméry styrénu degradovať (bolo cítiť styrenový zápach). V tab. II je tiež uvedené zloženie vzoriek, ktoré majú totožné zloženie ako vzorky 12–19, len KRO boli neutralizované MEA. Vzorky 20–27 boli po stuhnutí tvrdé a krehké.

Tabuľka II

Zloženie reakčného systému vzoriek 12–27 (reakčné podmienky: 4 h, 128 ± 2 °C)

Vzorka	Zloženie vzorky [hm.%]
12	Síra (85) + oligoméry styrénu (10) + KRO (5)
13	Síra (85) + oligoméry styrénu (10) + KRO neutralizované TEA (5)
14	Síra (85) + oligoméry styrénu (12,5) + KRO (2,5)
15	Síra (85) + oligoméry styrénu (12,5) + KRO neutralizované TEA (2,5)
16	Síra (85) + oligoméry styrénu (7,5) + KRO (7,5)
17	Síra (85) + oligoméry styrénu (7,5) + KRO neutralizované TEA (7,5)
18	Síra (85) + oligoméry styrénu (5) + KRO (10)
19	Síra (85) + oligoméry styrénu (5) + KRO neutralizované TEA (10)
20	Síra (85) + oligoméry styrénu (10) + KRO (5)
21	Síra (85) + oligoméry styrénu (10) + KRO neutralizované MEA (5)
22	Síra (85) + oligoméry styrénu (12,5) + KRO (2,5)
23	Síra (85) + oligoméry styrénu (12,5) + KRO neutralizované MEA (2,5)
24	Síra (85) + oligoméry styrénu (7,5) + KRO (7,5)
25	Síra (85) + oligoméry styrénu (7,5) + KRO neutralizované MEA (7,5)
26	Síra (85) + oligoméry styrénu (5) + KRO (10)
27	Síra (85) + oligoméry styrénu (5) + KRO neutralizované MEA (10)

Charakterizácia vybraných vzoriek kopolymérnej síry

Výsledné produkty reakcie vzoriek 3 a 11 sme analyzovali metódou ^{13}C NMR spektrometrie na ^{13}C NMR pulznom spektrometre BS 487 C pri laboratórnej teplote s použitím CS_2 ako rozpúšťadla. Koncentrácia vzorky v rozpúšťadle bola 3–5 hm.%; frekvenčný rozsah: 6000 Hz; stabilizácia frekvenčného rozsahu: hexametyldisiloxán; dĺžka pulzu: 30 μs ; počet pulzov: 1500. Pre potvrdenie typu väzieb v týchto vulkanizačných činidlách sme pripravili aj vzorky s obsahom organického podielu 50 hm.% pri zachovaní pomerov jednotlivých zložiek. Namerané chemické posuny signálov spektra sú uvedené v tab. III. Na interpretáciu ^{13}C NMR spektier sme použili údaje o chemických posunoch štruktúrnych skupín C-S dialkyltioéterov a dialkylditioéterov z katalógu C NMR spektier¹⁸. Z ^{13}C NMR spektra vzoriek možno na základe multipletu signálov jednoznačne potvrdiť väzby C-S_n pri chemickom posune 34–42 ppm. V spektre je jasne vidno

signály aminoskupín (42–58 ppm). Spektrum je vzhľadom podobné spektrám polymérov. Hodnota chemického posunu signálov je zrejme závislá od dĺžky polymérneho reťazca síry a miesta jej naviazania na dvojité väzbu reťazcov organických podielov.

Použitie kopolymérnej síry ako vulkanizačného činidla gumárenských zmesí

Prípravu gumárenských zmesí sme robili dvojstupňovým miešaním podľa STN²⁰. Prípravu gumárenských zmesí sme robili dvojstupňovým miešaním podľa STN²⁰. Použili sme pripravenú päťkovú gumárenskú zmes (prvý stupeň), ktorá bola pripravená v Continental Matador Rubber, s. r. o. Púchov. V druhom kroku (druhom stupni) sme do zmesi pridávali vulkanizačný systém, ktorý pozostával z vulkanizačného činidla (vzorky kopolymérnej síry), urýchľovača vulkanizácie (Santocure TBBS GRS 2MM), inhibítora navulkanizácie (Duslin G-80) a aktivátora vulkanizácie (Vuchtalink FMI/G-80). Obsah vulkanizačného činidla sme prepočítali na konštantný obsah síry. Dávkovanie ostatných zložiek sme nemenili. Ako štandard sme pripravili vzorku s komerčnou polymérnou sírou (Síra N). Prípravu druhého stupňa gumárenských zmesí sme robili na laboratórnom hnetacom stroji Brabender pri teplote 110 °C.

Medzi dôležité spracovateľské parametre patrí aj sledovanie „vykvetania“ vulkanizačných činidiel zo zmesi. Tento jav je nežiadúci, lebo „vykvetanie“ znižuje konfekčnú lepivosť a následne súdržnosť polotovarov. Preto sme po zamiešaní gumárenských zmesí z týchto vyrezali vzorky na sledovanie tejto vlastnosti. Vzorky mali rozmer 10 × 10 cm a hrúbku 2,2 mm. „Vykvetanie“ vzoriek vulkanizačného činidla zo vzoriek sme sledovali pri laboratórnej teplote vizuálne každých 24 h. Po technologickom odstávaní gumárenských zmesí (min 16 h) sme stanovili ich základné vulkanizačné charakteristiky. Postupovali sme postupom podľa STN (cit.²⁰). Vulkanizačné parametre sme stanovovali na vulkametri Monsanto MDR 1000 pri 150 °C

Tabuľka III

Chemické posuny charakteristických signálov vzoriek pomocou ^{13}C NMR

σ [ppm]	85 % síry	50 % síry
$-(\text{CH}_2)_n-$	28	28
$-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}=\text{CH}-$	31	31
-C-S-C	34–35	34–35
-C-S-S _n -S-C-	38–42	38–42
-C-NH-	48	44–50
-C-N-R	24	24
-C=C-	128–137	128–137
R-COO ⁻	180	180

Tabuľka IV

Vulkanizačné charakteristiky gumárenských zmesí so vzorkami 1–11

Vzorka	„Vykvetanie“ [dni]	M _{MIN} [N m]	M _{MAX} [N m]	t ₉₀ [min]	t ₀₂ [min]	R _V [min ⁻¹]
Síra N	6	14,0	85,0	18,0	2,5	6,45
1	6	2,5	23,0	14,5	3,0	8,69
2	6	3,0	26,0	15,5	2,5	7,69
3	8	3,0	26,0	15,0	2,5	8,00
4	7	3,0	25,0	16,0	2,5	7,41
5	6	17,5	91,0	15,5	2,5	7,69
6	7	17,0	90,0	16,0	2,5	7,41
8	7	8,0	66,0	17,0	4,0	8,99
9	7	9,0	69,0	18,0	4,5	9,10
10	7	14,0	103,0	11,0	3,0	9,09
11	11	14,0	105,0	11,5	3,0	11,77

Tabuľka V

Vulkanizačné charakteristiky gumárenských zmesí so vzorkami 12–27

Vzorka	„Vykvetanie“ [dni]	M _{MIN} [N m]	M _{MAX} [N m]	t ₉₀ [min]	t ₀₂ [min]	R _V [min ⁻¹]
Síra N	6	14	85	18,0	2,5	6,45
12	6	8	90	14,0	4,0	10,76
13	6	8	92	14,0	4,0	11,67
14	4	7	92	13,5	3,5	10,44
15	6	7	92	13,0	3,0	10,45
16	6	8	90	12,0	3,5	11,21
17	7	7	92	12,0	3,5	11,08
18	4	6	88	12,0	4,0	10,91
19	9	7	89	12,5	4,0	11,32
20	4	9	92	13,5	4,5	10,65
21	5	8	96	13,0	4,0	10,32
22	6	8	93	14,0	4,0	11,02
23	8	8	96	13,0	4,5	10,65
24	6	7	95	13,0	4,0	10,54
25	9	8	90	14,5	4,0	10,11
26	6	9	95	13,5	4,5	11,63
27	8	8	94	13,5	4,5	10,24

počas 60 min zapisovania vulkanizačnej krivky. Namerané hodnoty sú v tab. IV a V.

Gumárenské zmesi so vzorkami vulkanizačných činidiel 1–11 majú takmer totožné hodnoty minimálneho a maximálneho krútiaceho momentu ako zmes so Sírou N. To znamená, že na viskozitu zmesi nemajú nami pripravené vzorky vulkanizačných činidiel podstatný vplyv. Naopak, hodnoty optimálneho času vulkanizácie (t₉₀) sú vo väčšine prípadov nižšie ako optimálna doba vulkanizácie vzorky so Sírou N. Naproti tomu, začiatok vulkanizácie (t₀₂) nijako výrazne neovplyvňujú. Časy „vykvetania“ vzoriek vulkanizačných činidiel nie sú ani v jednom prípade nižšie, ako čas „vykvetania“ Síry N. To je pozitívne z technologického hľadiska. Z výsledkov v tab. VI je zrejme, že kombináciou oligomérov styrénu s KRO v hmotnostnom pomere 2 : 1 a 1 : 1 (vzorky 12, 16) je čas do „vykvetania“ 6 dní, teda podobný ako so Sírou N, ďalším zvyšovaním obsahu oligomérov styrénu klesá na 4 dni (vzorka 14). Ale ak sa použijú zneutralizované KRO s TEA, predĺži sa zase na 6 dní. Pozitívny je vplyv zneutralizovaných KRO v porovnaní s natívnymi, ako vidno aj z porovnania času „vykvetania“ vzoriek pokusov 18 a 19. Použitím zneutralizovaných KRO s TEA sa predĺžil čas „vykvetania“ zo 4 na 9 dní.

Z vulkanizačných parametrov vzoriek 12–27 sú zaujímavé hlavne nízke hodnoty minimálneho krútiaceho momentu – v niektorých prípadoch o viac ako 50 %. Znamená to, že použité KRO pôsobia v gumárenských zmesiach aj ako zmäkčovadlá. Vyššie hodnoty maximálneho krútiace-

Tabuľka VI

Fyzikálno-mechanické vlastnosti vulkanizátov so vzorkami 1–11

Vzorka	Pevnosť [MPa]	Ťažnosť [%]	Tvrdosť [Sh A]	Modul 300 [MPa]
Síra N	17,45	534	67,8	9,67
1	17,34	510	65,7	9,08
2	17,40	523	66,9	10,51
3	16,89	540	64,3	9,64
4	17,14	489	67,5	9,67
5	17,64	521	67,5	10,12
6	16,78	511	67,2	8,10
7	17,13	508	65,8	8,43
8	18,09	496	66,4	9,76
9	17,67	470	67,0	10,09
10	17,92	465	66,8	10,16
11	17,43	507	67,9	10,32

ho momentu potvrdzujú predpoklad, že organické súčasti pripravených vulkanizačných činidiel reagujú s kaučukovou maticou počas vulkanizácie a poskytujú tak pevnejšiu sieť. Potvrdzujú to aj výrazne vyššie hodnoty koeficientov rýchlosti vulkanizácie – takmer o 50 % vyššie v porovnaní s gumárenskou zmesou, kde sme ako vulkanizačné činidlo použili Síru N.

Tabuľka VII
Fyzikálno-mechanické vlastnosti vulkanizátov so vzorkami 12–27

Vzorka	Pevnosť [MPa]	Ťažnosť [%]	Tvrdosť [Sh A]	Modul 300 [MPa]
Síra N	17,45	534	67,8	9,67
12	17,32	540	66,8	8,90
13	17,66	535	66,0	9,05
14	17,70	537	65,4	9,11
15	17,34	576	64,3	10,22
16	17,20	577	64,3	10,07
17	17,22	609	63,8	9,76
18	17,10	612	64,0	10,10
19	17,35	542	66,0	10,02
20	17,32	526	66,5	10,20
21	17,56	543	65,4	10,12
22	17,45	546	64,5	10,22
23	17,23	550	65,9	9,89
24	17,36	552	66,5	10,00
25	17,21	542	64,9	9,98
26	17,17	557	65,0	10,21
27	16,89	552	65,0	10,14

Zvulkanizované zmesi sme nechali odstáť 24 h a potom sme z nich vysekli skúšobné telieska v tvare obojstranných lopatiek pre ťahové skúšky, vo forme krúžkov pre stanovenie tvrdosti. Postupovali sme podľa STN (cit.²⁰). Namerané hodnoty sú v tab. VI a VII. Fyzikálno-mechanické vlastnosti vzoriek 1–11 sú porovnateľné s vlastnosťami vulkanizátu, v ktorých sme ako vulkanizačné činidlo použili Síru N. Hodnoty pevností sú síce vo väčšine prípadov nižšie, ako pevnosť vzorky so Sírou N, čo je pravdepodobne spôsobené prítomnosťou organických súčastí vo vulkanizačnom činidle. Tieto pôsobia ako zmäkčovadlá, resp. zriedčovadlá, lebo hodnoty ťažnosti nezvyšujú. Hodnoty tvrdosti a modulov 300 sú dobre porovnateľné so štandardom a vzorky nami pripravených vulkanizačných činidiel nemajú na ne výrazný vplyv, resp. nezhoršujú tieto parametre.

Pri vzorkách 12–27 (tab. VI) nie je vidieť žiadny negatívny vplyv na fyzikálno-mechanické vlastnosti pripravených vzoriek vulkanizátov, len so zvyšujúcim sa obsahom KRO mierne stúpa ťažnosť a klesá pevnosť, čo je pochopiteľné, keď pravdepodobne KRO pôsobia v gumárenskej zmesi ako aj dodatočné zmäkčovadlo a tým robia zmes viac elastickú. Aj napriek zvyšovaniu hodnôt ťažnosti a znižovaniu hodnôt pevností sú výsledky dobre porovnateľné so štandardom (Síra N).

Záver

Experimentálnymi prácami prípravy kopolymérnej síry sme získali originálne výsledky využiteľné na získanie finálnych podkladov pre prípravu nového sírneho vulkanizačného činidla nenasýtených kaučukov. Ako komonoméry so sírou sa javia najvhodnejšie oligoméry styrénu, diméry pyrolýznej C₅ frakcie, zmes karboxylových kyselín repkového oleja. Na základe predchádzajúcich experimentov^{11–13,15,17} a z porovnania vulkanizačnej účinnosti a vplyvu na fyzikálno-mechanické vlastnosti vulkanizátov najvhodnejšie technologické parametre prípravy kopolymérnej síry sú 128 ± 2 °C, čas 4 h a obsah organických zlúčenín 10 až 20 hm.%. Porovnaním vplyvu kopolymérnej síry na vulkanizačné vlastnosti gumárenských zmesí a fyzikálno-mechanické vlastností vulkanizátov sme preukázali, že najvhodnejšie pripravené vzorky kopolymérnej síry môžu úplne substituovať v receptúrach gumárenských výrobkov používané sírne vulkanizačné činidlá (najmä polyméru Síru N). Výsledky umožnili vypracovať nový postup výroby vulkanizačného činidla z dostupných východiskových surovín⁵. Jednoduchá technológia výroby tohto vulkanizačného činidla umožňuje zhodnotiť aj domáce suroviny, zlepšiť potenciálne technicko-ekonomické náklady a znížiť náklady výroby gumárenských výrobkov.

Potvrdili sme v prípade vzoriek kopolymérnej síry s využitím ¹³C NMR, že ide o vytvorenie kopolyméru, resp. monomérov so sírou, keď sme identifikovali prítomnosť väzieb -C-S-C-, -C-S-S-C-, -C-S-S_n-S-C-, -C-NH-, -C-N-(R)-.

Použitie skratky

DCPD	dicyklopentadién
KRO	kyseliny repkového oleja
MEA	monoetanolamín
DEA	dietanolamín
TEA	trietanolamín

LITERATÚRA

- Rosen G., Helmer W. D. (Thiokol Chemical): US 3 264 239 (C08F236/04).
- Cook S.: Tire Technol. Inter. 75, 16 (2004).
- Sugimoto K. (Bridgestone corp.): JP 2000 159 934 (B60C1/00).
- Kazunori I., Nakata Y. (Yokohama Rubber): DE 10 114 025 (C07D341/00).
- Macho V., Rosina Š., Štubňa M., Michálek J., Komora L., Kováčik I., Vajdová J., Krajčík J., Brescher R., Jakubcová A. (Matador Holding): SK 285 498 (C08C19/00).
- Sachabudítov A. G.: RU 2 147 308 (C08G75/14).
- Colvin H., Bull Ch. L. (Goodyear Tire and Rubber): US 4 902 775 (C07G17/00).
- Colvin H., Bull Ch. L. (Goodyear Tire and Rubber): US 4 792 589 (C07G17/00).

9. Hahn J., Runk M., Weidenhaupt H. J., Buding H. (Bayer): EP 1 277 732 (C08G75/14).
10. Hahn J.: Rubber Chem. Technol. 74, 779 (2001).
11. Macho V., Vajdová J., Krajčík J., Komora L., Štubňa M., Michálek J.: *The 14th Slovak Rubber Conference 2002. Púchov, 22. - 23. máj 2002*, Proceedings (bez editora), str. 53. Ľubomír Šeba Púchov, 2002.
12. Macho V., Jureček Ľ., Komora L., Michálek J.: *The 13th Slovak Rubber Conference 2001. Púchov, 23. - 24. máj 2001*, Proceedings (bez editora), str. 47. Ľubomír Šeba Púchov, 2001.
13. Macho V., Olšovský M., Štubňa M., Michálek J.: *The 16th Slovak Rubber Conference 2004. Púchov 19. - 20. máj 2004*, Proceedings (bez editora), str. 43. GC-TECH Trenčín, 2004.
14. Iwami S., Okahoma K., Yokoma M. (Sumitomo Rubber): US 6 241 625 (C08L21/00).
15. Macho V., Vajdová J., Krajčík J., Cingelová J., Štubňa M., Michálek J., Olšovský M.: *The 15th Slovak Rubber Conference 2003. Púchov, 21. - 22. máj 2003*, Proceedings (bez editora), str. 24. Ľubomír Šeba Púchov, 2003.
16. Proux G. (Wilmington): US 6 037 442 (C08G67/02).
17. Olšovský M., Štubňa M., Macho V.: Chem. Listy 98, 549 (2004).
18. Simons W. W. (ed.): *The Sadtler Handbook of Infrared Spectra*. Sadler Research Laboratories, Philadelphia 1978.
19. Kováč Š., Ilavský D., Leško J.: *Metódy kontroly technologických procesov – spektrálne metódy v organickej chémii a technológii*. ALFA, Bratislava 1987.
20. Vajdová J., Štubňa M., Olšovský M.: *Laboratórium odboru II – Chemické a fyzikálno-mechanické skúšky*. FPT TnUAD, Púchov 2003.
21. Krmela J., Pešlová F., Hajduchová E.: Mater. Eng. 3, 17 (2004).

M. Olšovský^a, P. Gášek^b, S. Ľalíková^a, T. Bazyláková^a, and V. Macho^a (^a Faculty of Industrial Technologies, Púchov, ^b Continental Matador Rubber Ltd, Púchov, Slovak Republic): **Sulfur Copolymers as Vulcanizing Agents for Unsaturated Rubber**

The article deals with a new class of sulfur vulcanizing agents, which are prepared by polyaddition of octasulfur and styrene oligomers or a mixture of fatty acids from rapeseed oil and by the reaction of polybutadiene and dicyclopentadiene from pyrolytic C₅ fraction. The optimal copolymerisation temperature is 125–150 °C and the optimal content of organics in the vulcanization agents is 10–30 %. Vulcanization characteristics of various rubber mixtures were determined. Mechanical properties of vulcanizates prepared using the sulfur copolymers and those obtained with commercial polymeric sulfur (Sulfur N) are compared. At the same sulfur contents in the vulcanizate, the sulfur copolymers give products of the same or better quality compared with those obtained using polymeric sulfur.

POUŽITÍ JEDNODUCHÉ A POSTUPNÉ EXTRAKCE KE ZHODNOCENÍ CHOVÁNÍ ZINKU V KOMPOSTECH A V PŮDĚ

ALEŠ HANČ, PAVEL TLUSTOŠ, JIŘINA
SZÁKOVÁ a JAN HABART

*Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin,
Česká zemědělská univerzita, 165 21 Praha 6
hanc@af.czu.cz*

Došlo 23.10.08, přijato 26.2.09.

Klíčová slova: kompost, zinek, mobilita, frakcionace, půda

Úvod

Zinek patří k prvkům, které jsou nepostradatelné pro metabolismus živých organismů, ale zároveň se řadí do skupiny často sledovaných rizikových prvků. V půdách je obsah zinku dán primárně půdotvorným substrátem a v současnosti i lokálními zdroji znečištění (metalurgické provozy, galvanovny, aplikace pesticidů se zvýšeným obsahem zinku). V kompostech je zvýšený obsah zinku způsoben kontaminací některé ze vstupních surovin, zejména čistírenských kalů¹.

Platné legislativní předpisy^{2,3} pro aplikaci organických hnojiv a obsahů zinku v půdě vycházejí ze stanovení celkového obsahu tohoto prvku ve výluhu lučavkou královskou, případně 2 mol l⁻¹ kyselinou dusičnou, které extrahují 80–90 %, resp. 40 % prvku. Riziko kontaminace je však potřeba posuzovat v širším kontextu. Zejména se jedná o pozitivní vliv organické hmoty a pH na omezení přístupnosti prvku v půdě a jeho transfer do rostlin a dále do potravního řetězce⁴.

Metody používající ke stanovení přístupnosti prvku různě silná extrakční činidla nacházejí uplatnění při hodnocení reálných rizik souvisejících s aplikací kompostů a čistírenských kalů obsahujících rizikové prvky⁵. Zředěná kyselina octová je charakterizována jako činidlo uvolňující frakce prvku specificky sorbované na jílovité minerály v půdě. Širší rozpětí hodnot touto kyselinou extrahovatelného množství u Zn ve srovnání se silnými kyselinami naznačuje větší vliv komplexu půdních vlastností na uvolňování prvku tímto činidlem. Roztoky neutrálních solí uvolňují z půdy frakce prvků přibližně odpovídající podílu prvků přijatých rostlinami. Pro stanovení přístupného obsahu zinku se jeví jako nejvhodnější 0,01 mol l⁻¹ CaCl₂ (cit.⁶). Vzhledem k různé stabilitě organické hmoty v kompostech a v půdě se dá očekávat změna mobility prvku a jeho pohyb mezi jednotlivými složkami těchto materiálů.

Cílem této práce bylo zhodnotit mobilitu a zastoupení zinku v hlavních frakcích během kompostovacího procesu a po aplikaci různých dávek těchto kompostů do půdy metodou jednoduché a postupné extrakce.

Experimentální část

Reagencie

Hodnoty pH kompostu a půdy byly stanoveny v 0,01 mol l⁻¹ CaCl₂. Uhlík organických sloučenin kompostu a půdy byl oxidován 0,33 mol l⁻¹ dichromanem draselným v prostředí koncentrované kyseliny sírové⁷. Obsah organického dusíku byl stanoven Kjeldhalovou metodou⁸. Přístupný obsah P a K v půdě byl stanoven ve výluhu Mehlich III (cit.⁹), který se skládá z 65% kyseliny dusičné, fluoridu amonného, dusičnanu amonného, kyseliny ethylendiamino-tetraoctové a koncentrované kyseliny octové. Tento výluh je používán při agrochemickém zkoušení zemědělských půd ke stanovení obsahů prvků v půdě, které jsou přijatelné pro rostliny. Přístupný obsah zinku^{10,11} v kompostu a v půdě byl stanoven ve výluhu 0,01 mol l⁻¹ CaCl₂ v poměru navážky vzorku a objemu činidla 1:10 a v 0,11 mol l⁻¹ CH₃COOH v poměru navážky vzorku a objemu činidla 1:20. Ke stanovení zinku vázaného v jednotlivých frakcích byla použita metoda sekvenční extrakce. Zastoupení prvku bylo stanoveno ve výměnné (extrakce 0,11 mol l⁻¹ CH₃COOH v poměru navážky vzorku a objemu činidla 1:20 po dobu 16 h), redukovatelné (extrakce 0,1 mol l⁻¹ NH₂OH · HCl v poměru navážky vzorku a objemu činidla 1:20, pH 2, po dobu 16 h), oxidovatelné (rozklad 8,8 mol l⁻¹ H₂O₂ v poměru navážky vzorku a objemu činidla 1:20 při teplotě 85 °C na teflonové horké desce, po odpaření do vlhkého zbytku následovala extrakce 1 mol l⁻¹ CH₃COONH₄) a v reziduální frakci (vypočtena jako rozdíl celkového obsahu prvku a součtu předchozích frakcí)¹².

Aparatura

Hodnoty pH v kompostu a v půdě byly stanoveny přístrojem WTW pH 340i (WTW, Německo). Ke zjištění obsahu organického uhlíku ve výluzích byl použit přístroj Specol (Carl Zeiss, Německo) a měření bylo provedeno při vlnové délce 600 nm. Obsah organického dusíku byl stanoven na přístroji Kjeltec (Tecator, Švédsko). Obsah fosforu byl stanoven kolorimetricky na přístroji SKALAR SAN^{PLUS} SYSTEM[®] (Skalar Analytical, Holandsko) a obsah draslíku byl stanoven plamenovou atomovou absorpční spektrometrií na přístroji VARIAN SpectrAA-300 (Varian, Austrálie).

Obsah zinku ve výluzích byl stanoven metodou optické emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES) na přístroji Vista-Pro (Varian, Austrálie).

Pracovní postup

V experimentu se sledovalo chování zinku během kompostovacího procesu u šesti variant kompostů, jejichž složení je uvedeno v tab. I. Jednotlivé suroviny se lišily obsahem zinku (tab. II). Čistírenský kal I prošel termofilní stabilizací na rozdíl od kalu II, který byl stabilizován mezofilně. Kal II pocházel z města s vyšším zastoupením hutního průmyslu, a proto obsahoval vyšší koncentrace rizikových prvků. Štěpka I pocházela z listnatých stromů a byla jemně nadrcena (< 10 mm). Štěpka II byla získána z jehličnanů a nadrcena na větší kusy (< 50 mm). Tráva pocházela z intenzivně pěstovaného trávníku. Kompostování probíhalo diskontinuálně v aerovaných fermentorech s přívodem vzduchu o průtoku 4 l min^{-1} s frekvencí 5 min/30 min. Vzorby byly odebírány na začátku pokusu, po 1, 3, 6 a 12 týdnech (konec experimentu). Takto připravené komposty byly ve dvou dávkách (9,6 a 28,8 g kg^{-1}) smíchány se dvěma zeminami odlišných typů (fluvizem a kambizem) v množství 5 kg (tab. III), vsypány do nádob a osety senážním ovsem (*Avena sativa* L., cv. *Atego*). Nádobky byly umístěny ve vegetační hale a zalévány demineralizovanou vodou. Po sklizni nadzemní biomasy byla odebraná zemina vysušena při laboratorní teplotě, nadrcena v porcelánové misce, upravena na velikost zrn 2 mm a analyzována.

Tabulka I

Zastoupení vstupních surovin v jednotlivých variantách kompostů

Varianta ^a	Složení (hmotnostní podíl v čerstvé hmotě)
1	kal I (1/3) + štěpka I (1/3) + tráva (1/3)
2	kal I (1/3) + štěpka II (1/3) + tráva (1/3)
3	kal II (1/2) + štěpka I (1/4) + tráva (1/4)
4	kal II (1/2) + štěpka II (1/4) + tráva (1/4)
5	kal I (1/2) + štěpka I (1/2)
6	tráva (6/7) + štěpka I (1/7)

^a Popis variant v textu

Tabulka II

Nalezený obsah zinku v kompostovatelných surovinách (mg kg^{-1} suché hmoty) stanovený ve výluhu $0,01 \text{ mol l}^{-1}$ CaCl_2 a $0,11 \text{ mol l}^{-1}$ CH_3COOH a celkový obsah zinku

Surovina	$0,01 \text{ mol l}^{-1} \text{ CaCl}_2$	$0,11 \text{ mol l}^{-1} \text{ CH}_3\text{COOH}$	Celkový obsah
Čistírenský kal I	2,54	18,5	783
Čistírenský kal II	4,77	82,2	1824
Dřevní štěpka I	0,65	3,62	18
Dřevní štěpka II	1,14	10,1	75
Tráva	8,65	14,1	64

Tabulka III

Agrochemické vlastnosti použitých zemín

Zemina	pH	C_{org}	$\text{P}_{\text{MIII}}^{\text{a}}$	$\text{K}_{\text{MIII}}^{\text{a}}$	Zn_{tot}
	CaCl_2	[%]	[mg kg^{-1}]	[mg kg^{-1}]	[mg kg^{-1}]
Fluvizem	5,5	0,57	384	158	50,0
Kambizem	6,2	1,7	51,3	188	228

^a MIII = stanovené ve výluhu Mehlich III

Naměřená data byla vyhodnocena analýzou rozptylu a podrobnější vyhodnocení bylo provedeno testem podle Tukeye na hladině významnosti $\alpha = 0,05$. Statistické analýzy byly provedeny v programu Statgraphics, verze 5.1 (cit.¹³).

Výsledky a diskuse

Kompostovací proces

Hodnoty pH se během kompostování nacházely v optimálním rozmezí pro rozvoj bakterií (6–7,5) a hub (5,5–8,0) (cit.¹⁴). Na počátku kompostování byla průměrná hodnota pH 6,2 a postupně se zvyšovala až na 7,2 na konci kompostování, což bylo způsobeno komplexem chemických a biologických reakcí vyskytujících se během mineralizace organické hmoty (degradace karboxylových a fenolických skupin a postupný rozklad proteinů za vzniku amoniaku, který zvyšuje hodnotu pH, cit.¹⁵). Nejnižší hodnoty vykazovaly varianty s kalem II a naopak nejvyšší nárůst pH byl zaznamenán při kompostování s převahou trávy (na konci kompostování bylo pH 8,4). Je to patrně způsobeno tím, že čistírenský kal, na rozdíl od trávy, již prošel částečnou humifikací a obsahuje tedy huminové látky, které mají schopnost pufovat hodnotu pH.

Během kompostování došlo k poklesu obsahu organické hmoty z důvodu její oxidace na CO_2 a následné volatilizace¹⁶.

Ztráta organické hmoty se projevila i na zvyšování obsahu celkového zinku v původní hmotě kompostu (o 73 % na konci kompostování ve srovnání s počátkem procesu).

Průměrný obsah zinku extrahovaného $0,01 \text{ mol l}^{-1}$ CaCl_2 byl na počátku kompostování $4,1 \text{ mg kg}^{-1}$ a na konci $1,8 \text{ mg kg}^{-1}$, což činilo 0,8 % a 0,25 % z jeho celkového

Tabulka IV

Nalezené obsahy zinku v hlavních frakcích před kompostováním a po 12 týdenním kompostování (v mg kg⁻¹)

Varianta	Před kompostováním				Po kompostování			
	výměnná	redukovatelná	oxidovatelná	reziduální	výměnná	redukovatelná	oxidovatelná	reziduální
1	58,20	86,95	148,83	75,02	32,37	89,88	160,17	177,58
2	46,57	73,52	88,52	26,40	43,10	125,50	170,00	385,90
3	193,50	324,17	251,17	100,67	175,00	389,33	450,17	180,50
4	138,00	254,17	238,33	54,25	166,17	394,83	390,33	210,92
5	65,27	120,33	181,83	63,32	46,93	108,90	172,83	201,83
6	23,65	26,78	21,21	300,80	7,14	12,63	46,63	41,45

obsahu. Největší pokles zaznamenala varianta 6 s převahou trávy, kde na počátku kompostování byl obsah zinku 6,8 mg kg⁻¹ a po ukončení kompostování byl obsah 2,1 mg kg⁻¹. Tento pokles je důsledkem rostoucího pH této varianty během kompostování ($R = 0,81$; $P < 0,05$).

Koncentrace Zn extrahovaného 0,11 mol l⁻¹ CH₃COOH byla řádově vyšší než u předchozího vyluhovačla. Obsahy takto stanoveného Zn byly na konci kompostování o 20 % nižší ve srovnání s počátkem experimentu, což patrně svědčí o tom, že se zinek vázal do pevnějších vazeb (např. na křemičitany). Zředěná kyselina octová je totiž charakterizována jako činidlo uvolňující vodorozpustnou, výměnnou a karbonátovou frakci prvků¹⁷.

Porovnáváme-li frakce zinku extrahovatelné metodou postupné extrakce (tab. IV), pak varianty s kalem I měly na počátku kompostování nejvyšší zastoupení v oxidovatelné frakci (v průměru 40 %). Varianta 4 měla nejvyšší zastoupení v redukovatelné frakci a varianta 6 měla nejvyšší obsah zinku v reziduální frakci. Zvýšení pH zapříčinilo pokles zastoupení zinku ve výměnné frakci a jeho vzestup v reziduální frakci.

U variant 3 a 4 (s převahou kalu II) byl zinek z 1/3 vázán v redukovatelné frakci, což může být způsobeno původem tohoto kalu¹⁸.

Vegetační experiment

Ve fluvizemi byl zaznamenán pokles obsahu přístupného zinku stanoveného v 0,01 mol l⁻¹ CaCl₂ u variant hnojených kompostem vůči kontrolní nehnojené variantě (1,8 mg kg⁻¹), což bylo způsobeno nejspíše vyšším obsahem organické hmoty v půdě a vyšším pH po přidání kompostu. Statisticky významné rozdíly na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ byly patrné u vyšší dávky kompostů variant 1, 2, 5 a 6, kde obsahy zinku byly až dvakrát nižší oproti nehnojené variantě. Koncentrace zinku stanovené v témže vyluhovačle byly v kambizemi hnojené komposty téměř dvojnásobné kvůli čtyřnásobnému obsahu zinku v této půdě ve srovnání s fluvizemí. Aplikace kompostů opět snížila obsah takto přístupného zinku. Průkazně nižší obsahy byly ve srovnání s kontrolní variantou dosaženy u všech variant (kromě varianty 4) po aplikaci trojnásobné

dávky kompostu.

Pro stanovení obsahu zinku v zeminách po aplikaci kompostů byla také použita 0,11 mol l⁻¹ kyselina octová, která je silnějším extraktantem než chlorid vápenatý, což se projevilo v 6× vyšších stanovených hodnotách obsahu zinku. U fluvizemi byly obsahy zinku ve všech variantách hnojených komposty vyšší než u nehnojené varianty, což je v souladu s výsledky Zhao a spol.¹⁹ a Zhanga a spol.²⁰. Statisticky průkazné rozdíly na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ byly zaznamenány u variant 3, 4 a 5 při trojnásobné dávce kompostu. U variant 4 a 5 byla zaznamenána nejvyšší množství zinku (11,9 mg kg⁻¹ a 11,2 mg kg⁻¹), což je dvojnásobné množství oproti kontrolní kompostem nehnojené variantě (5,1 mg kg⁻¹).

V případě kambizemě podobné zvýšení mobilních podílů zinku po přidavku kompostu zaznamenáno nebylo, z čehož lze usuzovat, že na zinkem kontaminovaných půdách se aplikací kompostů snížil obsah výměnného a vodorozpustného zinku a zinek je distribuován do méně mobilních frakcí²¹.

Aplikace kompostů výrazně neovlivnila distribuci zinku do jednotlivých frakcí ve fluvizemi. Karaca²² a Zheljazkov a Warman²³ zaznamenali největší zastoupení zinku v reziduální frakci (od 67 do 76,5 %). Dále zjistili, že podíl zinku po aplikaci kompostů se výrazně zvýšil u výměnné a redukovatelné frakce. Tento jev je obvyklý, protože zinek se ochotně sorbuje na povrch oxidů Fe a Mn (cit.¹⁸). V našem experimentu u varianty 3 a 4 při trojnásobné dávce kompostu došlo k 50% nárůstu (16,4 a 17,1 %) zastoupení zinku ve výměnné frakci oproti kontrolní variantě (11,2 %). Kyselější pH fluvizemě přispělo k vyšším obsahům zinku ve výměnné frakci. Menší zastoupení zinku v oxidovatelné a redukovatelné frakci v našem experimentu bylo nejspíše způsobeno půdním druhem. Fluvizem je lehčí půdou a má menší sorpční schopnosti pro těžké kovy.

Závěr

Výsledky experimentů ukazují, že aplikací kompostu s podílem čistírenského kalu se nezvýší přístupný obsah zinku v půdě. Použití jednoduché a postupné extrakce je

vhodnou metodou ke zhodnocení mobility zinku v kompostech a v půdě.

Problematika byla řešena v rámci projektu MŽP SPII2f1/21/07 a výzkumného záměru MSM 6046070901.

LITERATURA

- Smith S. R.: *Agricultural Recycling of Sewage Sludge and The Environment*. CAB International, Walingford 1996.
- Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 474/2000 Sb., o stanovení požadavků na hnojiva.
- Vyhláška Ministerstva životního prostředí č. 13/1994 Sb., kterou se upravují některé podrobnosti ochrany zemědělského půdního fondu.
- Hanč A., Tlustoš P., Száková J., Habart J., Gondek K.: *Plant Soil Environ.* 54, 7 (2008).
- Amir S., Hafidi M., Merlina G., Revel J.: *Chemosphere* 59, 801 (2005).
- Száková J., Tlustoš P., Balík J., Pavlíková D., Balíková M.: *Chem. Listy* 95, 179 (2001).
- Sims J. R., Haby V. A.: *Soil Sci.* 112, 137 (1971).
- Bremner J. M.: *J. Agr. Sci.* 55, 11 (1960).
- Mehlich A.: *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 15, 1409 (1984).
- Novozamsky J., Lexmond T. M., Houba V. J. G.: *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 51, 47 (1993).
- Ure A., Quevauviller P., Muntau H., Griepink B.: *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 51, 135 (1993).
- Bacon J. R., Davidson C. M.: *Analyst* 133, 25 (2008).
- Statgraphics Plus for Windows User Manual*. Manugistics, Inc., Rockville 1997.
- Zorpas A. A., Arapoglou D., Panagiotis K.: *Waste Manage. Res.* 23, 27 (2003).
- Gil M. V., Carballo M. T., Calvo L. F.: *Waste Manage. Res.* 28, 1432 (2008).
- Meunchang S., Panichsakpatana S., Weaver R. V.: *Biores. Technol.* 96, 437 (2005).
- Miller W. P., Martens D. C., Zelazny L. W., Kornegay E. T.: *J. Environ. Qual.* 15, 69 (1986).
- Luo Y. M., Christie P.: *J. Environ. Qual.* 27, 335 (1998).
- Zhao B. Z., Maeda M., Zhang J. B., Zhu A. N., Ozaki, Y.: *Environ. Sci. Pollut. Res.* 13, 90 (2006).
- Zhang M., Heaney D., Solberg E., Herigues B.: *Compost Sci. Util.* 8, 224 (2000).
- Li Y. M., Chaney R. L., Siebielec G., Kerschner B. A.: *J. Environ. Qual.* 29, 1440 (2000).
- Karaca A.: *Geodetka* 122, 297 (2004).
- Zheljazkov V. D., Warman P. R.: *Sci. Total Environ.* 302, 13 (2003).

A. Hanč, P. Tlustoš, J. Száková, and J. Habart
(*Department of Agroenvironmental Chemistry and Plant Nutrition, Czech University of Life Sciences, Prague, Czech Republic*): **A Simple Sequential Extraction Procedure for Evaluation of Zinc Behavior in Composts and Soil**

A simple sequential extraction was used for evaluation of the Zn behavior during twelve-week intensive composting and on compost application in two soils. The efficiency of Zn extraction from compost with 0.11 mol l⁻¹ acetic acid is higher than that with 0.01 mol l⁻¹ CaCl₂. Composting led to redistribution of exchangeable Zn into less available, mainly oxidizable and reducible fractions. The content of zinc extracted with 0.01 mol l⁻¹ CaCl₂ decreased in Fluvisol and Cambisol soils fertilized with compost. On the contrary, the zinc extracted with the acetic acid solution increased in a Fluvisol soil after compost application, despite the 70 % bonding of Zn in residual fraction. No significant change was found in compost-modified Cambisol. The results suggest that the sewage sludge compost can be safely used in soils containing zinc. The Zn content in compost and soil can be simply assessed by extraction.

DISKUSE

Pseudoslovo „skriptum“ je analogické tvaru „kalhota“

Není tomu tak dávno, co jsme se mohli spolehnout na to, že ve sdělovacích prostředcích uslyšíme spisovnou češtinu. Co bylo, bylo, *tempora mutant*. Tvary jako „o kabalistickém drama“, „opatření se týkalo dvě stě dvacet čtyř občanů“, „odjeli s dvěma (dvouma, oběmi) dětmi“, „respektivě“ a mnoho dalších uslyšíme od hlasatelů a reportérů často. Můžeme mávnout rukou, je to jen mluvené slovo nebo článek či zpráva v novinách a ty v paměti posluchače rychle zaniknou.

Něco jiného by měl být jazyk odborného článku, kde by se nespisovné tvary neměly vyskytovat. Na tomto místě bych rád vzpomněl památky Doc. Ing. Dr. Karla Bláhy CSc., s kterým jsem měl čest spolupracovat řadu let na vydávání Sborníku ČSCH. Doc. Bláha byl nespornou autoritou v organicko-chemickém názvosloví a organické terminologii. Dbal na kulturu chemického jazyka jak v projevech písemných, tak ústních. Nenechávala ho lhostejným nevzdělanost absolventů socialistické školy např. v klasických jazycích a z toho pramenící patvary cizích slov.

Pod vedením Doc. Bláhy probíhala na stránkách Bulletinu ČSCH např. diskuse o správném počestném tvaru slovesa *detego* – *detegere* s jednoznačným doporučením tvaru „detegovat“. Současný „Akademický slovník cizích slov“ připouští všechny tři tvary, které byly tenkrát diskutovány – detegovat, detekovat i detektovat, z nichž poslední byl považován za paskvil. Bohužel lze konstatovat, že se v tomto případě „hlas lidu“ prosadil.

Rovněž přednášející si museli dávat pozor na jazyk. Vzpomínám si na jeden kuloární rozhovor Doc. Bláhy na konferenci v Liblicích. Doc. Bláha: „Když jste řekl skriptum, je to stejné jako kalhota“. Provinilec: „To se ale říká“. „A dvěf byste řekl taky?“ „To bych, prosím, neřek“. Patvar „skriptum“ našťestí hlas lidu zatím do pravopisu neprosadil a tak zůstává spisovným pouze **pomnožný tvar „skripta“** – jedny skripta, dvoje skripta.

Oldřich Paleta

ERRATA NA VYŽÁDÁNÍ AUTORŮ

Následující projekt byl podporován grantem IGA MZ ČR NH/6990-3:

S. Jirsová, J. Mašata, L. Jech, P. Drbohlav, M. Jaržembovská, J. Pavelková, M. Moosová, K. Řežábek, V. Bencko a J. Zvárová: Hladiny chlorovaných organických pesticidů ve folikulární tekutině neplodných žen. Chem. Listy 103, 589 (2009).



62. SJEZD ASOCIACÍ ČESKÝCH A SLOVENSKÝCH CHEMICKÝCH SPOLEČNOSTÍ

28. – 30. června 2010, Pardubice

<http://sjezdCsSch2010.upce.cz>

*Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická*

62. sjezd asociací českých a slovenských chemických společností se koná při příležitosti oslav šedesátého výročí vysokého školství v Pardubicích pod záštitou děkana Fakulty chemicko-technologické.

Sekce sjezdu

Anorganická chemie (včetně bioanorganické); garant: I. Lukeš
Organická chemie a polymery (včetně bioorganické a farmaceutické); garant: M. Sedlák
Analytická chemie (včetně bioanalytické); garant: M. Holčapek
Fyzikální, teoretická a počítačová chemie; garant: P. Čársky, M. Urban
Přírodní látky (fytoceutika, biologická aktivita, fytofarmaka); garant: V. Šimánek
Chemické vzdělávání, historie a popularizace chemie, garant: H. Čtrnáctová
Průmyslová chemie (ChemProgres); garant: J. Hanika
Potravinářská chemie (včetně doplňků stravy, nutraceutik); garant: J. Královský
Nanotechnologie (nanomateriály a nanotechnologie materiálův-chemického směru); garant: G. S. Martynková (ve spolupráci s projektem OP VpK – „TEAM – CMV”)
Termická analýza a kalorimetrie; garant: P. Šulcová

Organizační výbor: předseda – Tomáš Wágner; e-mail: tomas.wagner@upce.cz, J. Ulrichová, M. Drábik, H. Pokorná, A. Vlková, R. Rápková, K. Ventura, P. Mikulášek, L. Svoboda, P. Kalenda, Mir. Vlček, R. Svoboda, V. Zima, A. Růžička, A. Komárková, L. Vařeková, M. Rolečková, B. Frumarová

Vědecký výbor: předseda – Miloslav Frumar; e-mail: miloslav.frumar@upce.cz
a odborní garanti jednotlivých sekcí

Veškeré aktuální informace najdete na internetové adrese: <http://sjezdCsSch2010.upce.cz>.



Odborná skupina organické, bioorganické a farmaceutické chemie ČSCH



Sborník abstraktů

Konference Pokroky v organické, bioorganické a farmaceutické chemii

44. Konference

27. - 29. listopadu 2009

redakce sborníku

Radmila Řápková, Irena Valterová, Vladimír Pouzar a Pavel Drašar

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

☪

Karolina Express (Sartorius)
časopis Chemické listy
Lach-Ner s.r.o.
Lonza Biotec s.r.o.
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, v. v. i., Praha
Vysoká škola chemicko-technologická, Praha

☪

Slovo úvodem

Liblická konference t.č. v Nymburce, přezdívaná podle podobně cestujícího setkání „LibKon“ se stala již takovou tradicí, že to, co má v české (a začíná to platit i o slovenské) chemii kolem organické, bioorganické a farmaceutické oblasti, smysl se tam prostě musí objevit.

Konference má řadu tradic a zvyklostí, jakou je cena za nejlepší poster, Červinkova cena pro nejlepší přednášku atd. Je načase pozvednout stavidla soutěživosti účastníků a vyhlásit cenu o nejhorší zasláný abstrakt. Nejhorší ne stran „vzrušivosti“ jeho chemie, jak se dnes rádo hodnotí, byť mám pocit, že vzrušení obvykle vyhledávám jinde, ale stran hrůz, které si autor dovolí zaslat po formální stránce, bez ohledu na požadavky redakce sborníku: „Vždyť oni si to redaktori rádi sami dopiši a upraví!“ Možná ano, možná ne. Od příštího roku nejhorší abstrakty nejen že mohou skutečně pozbyti práva na otištění, ale jejich autoři budou veřejně oznámeni a bude jim udělena „Cena za maximálně odbylý abstrakt“. Snad si teprve potom uvědomí, že lidská práce, a to nejenom ta jejich vlastní, má určitou cenu, zastydí se, a jak by napsal Jára (da) Cimrman: „uříznou si kšandu a se svěřenými kalhotami opustí sál“. Stejná soutěž proběhla zkušebně již letos, byť předem nevyhlášena.

Přeji všem autorům mnoho úspěchů na poli dodržování stanovených pravidel, i když vím, že dodržet je ze sta procent jde jenom náhodou. Avšak, jak říká klasik: „Naší snahou nejlepší bud' čin“.

Pavel Drašar

SYNTEZA STAVEBNÍCH JEDNOTEK PRO TVORBU SAMOSKLADNÝCH STRUKTUR

TEREZA BEDNAŘÍKOVÁ, JINDŘICH JINDŘICH

Katedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Hlavova 2030/8, 128 40 Praha 2 jindrich@natur.cuni.cz

Cyklodextriny (CD) jsou cyklické oligosacharidy skládající se z $\alpha(1\rightarrow4)$ spojených D-glukopyranosových jednotek. CD mají široké uplatnění v průmyslu. Důvodem je především jejich schopnost tvořit supramolekulární komplexy s dalšími sloučeninami¹ a také jejich snadná dostupnost.

Práce je zaměřena na přípravu sady multimerů β -CD a adamantanu jako stavebních jednotek pro přípravu samoskladných supramolekulárních struktur. Adamantan tvoří s β -CD silný inkluzní komplex². Byla syntetizována sada multimerů β -CD obsahujících dvě nebo tři β -CD jednotky připojené k C_3 -symetrickému jádru a sada multimerů hosta obsahujících jednu, dvě nebo tři jednotky adamantanu připojené k C_3 -symetrickému jádru. Jako C_3 -symetrické jádro byla použita benzen-1,3,5-trikarboxylová kyselina (schéma).

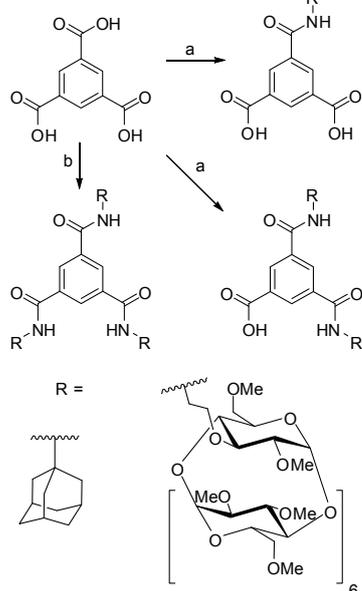


Schéma: (a) ECF, NMM, 1-adamantylamin nebo per-*O*-methyl-3¹-*O*-aminoethyl- β -CD; THF (b) 1. SOCl₂, CH₂Cl₂; 2. 1-adamantylamin nebo per-*O*-methyl-3¹-*O*-aminoethyl- β -CD, Et₃N, CH₂Cl₂

Tento projekt je podporován MSM 0021620857.

LITERATURA

1. Szejtli J.: Chem. Rev. 98, 1743 (1998).
2. Cromwell W. C., Bystrom K., Eftink M. R.: J. Phys. Chem. 89, 326 (1985).

NUKLEOFILNÍ FLUOROALKYLACE POMOCÍ FOSFONÁTŮ

PETR BEIER*, ANASTASIA V. ALEXandroVA, PRABHAKAR CHERKUPALLY

Ústav organické chemie a biochemie, AV ČR, Flemingovo náměstí 2, 166 10 Praha beier@uochb.cas.cz

Selektivně fluorované sloučeniny hrají významnou roli při přípravě moderních biologicky aktivních molekul a materiálů. Vyvinuli jsme nové metodologie pro zavedení trifluoromethyl, difluoromethyl, difluoromethylen a fluoromethylových funkčních skupin do molekuly pomocí nukleofilní fluorometylace fosfonáty (Schéma 1).

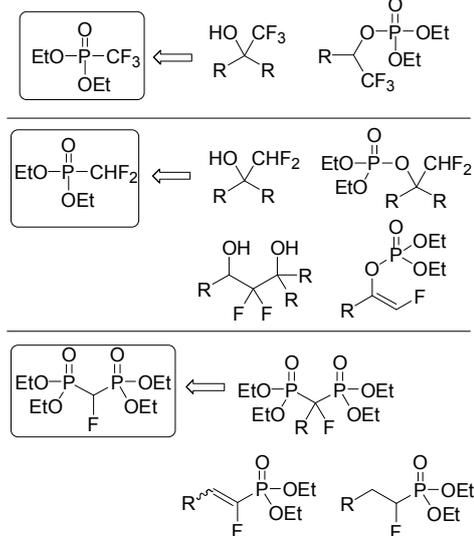


Schéma 1.

Tato práce vznikla za podpory grantu GAČR 203/08/P310 a výzkumného plánu AV ČR (AVZ40550506).

LITERATURA

1. Beier P., Alexandrova A. V., Zibinsky M., Prakash G. K. S.: Tetrahedron 64, 10977 (2008).
2. Alexandrova A. V., Beier P.: J. Fluorine Chem. 130, 493 (2009).
3. Beier P., Pohl R., Alexandrova A. V.: Synthesis 2009, 957.

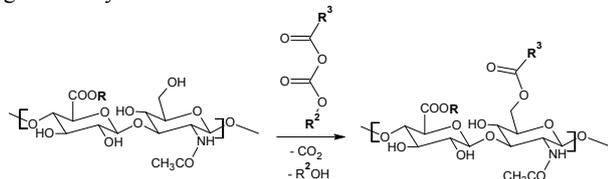
ACYLACE KYSELINY HYALURONOVÉ POMOCÍ *O*-ACYL-*O'*-ALKYL KARBONÁTŮ

RADOVAN BUFFA*, LUCIE POSPÍŠILOVÁ, EVA PŘÍKOPOVÁ, VLADIMÍR VELEBNÝ

CPN spol. s r.o., 561 02 Dolní Dobrouč 401 buffa@contriopro.cz

Kyselina hyaluronová je významným polysacharidem tvořeným z opakujících se jednotek β -(1,3)-D-glukuronové kyseliny a β -(1,4)-*N*-acetyl-D-glukosaminu. Vyznačuje se velkou molekulovou hmotností $5 \cdot 10^4$ až $5 \cdot 10^6$ g.mol⁻¹, která závisí na způsobu izolace a výchozím materiálu. Je nezbytnou součástí pojivových tkání, synoviální tekutiny kloubů, hraje významnou roli v řadě biologických procesů.

Tato práce popisuje originální způsob acylace kyseliny hyaluronové pomocí acylalkylkarbonátů (Schéma I). Protože byly původně považovány za nestabilní sloučeniny, byly generovány *in situ* během reakce¹.



R = H, Na
 R² = Et, iPr, tBu, sBu, Ph
 R³ = Me-CH₂(OH)-, PhCH₂-, Ar-, Alkyl-...

Schéma I

V této práci se nejvyšších výtěžků (nad 40 % mol/mol) dosáhlo použitím dvojnásobného nadbytku směšného anhydridu a dvojnásobného nadbytku acylačního katalyzátoru DMAP (*N,N*-dimethylaminopyridín) v DMSO². Samotná reakce pravděpodobně probíhá přes acylovaný komplex s DMAP, nebo přes symetrický anhydrid. Z výsledků také vyplývá, že je možné uskutečnit acylaci HA se směsnými anhydridy i bez přítomnosti toxického DMAP, výtěžky jsou ale maximálně do deseti procent. Hlavním problémem při použití směsných anhydridů se ukázala být jejich tendence rozpadu na ester a oxid uhličitý, a také schopnost uvolňovat po reakci s přítomnými nukleofily do reakční směsi konkurenční alkohol.

Identifikace derivátů byla uskutečněna pomocí spektroskopických metod IR, NMR a chromatografické metody GPC. Rozhodující informací o navázání substituentu na hyaluronan přinesly dvojdimenzionální NMR metody HSQC, DOSY, HH COSY. V případě bifunkčních acylačních činidel byl pomocí metody SEC-MALLS pozorován výrazný nárůst molekulové hmotnosti polysacharidu (síťování).

LITERATURA

1. Lalezari I.: Method of synthesizing polyesters. US patent 5,498,708, 12 March, 1996.
2. Buffa R., Velebný V., Pospíšilová L., Příkopová E., Pravda M., Nikodým P., Palek L.: Způsob modifikace kyseliny hyaluronové pomocí acylalkylkarbamátů. CZ PV2009-168, 17 March 2009.

SYNTÉZA NOVÝCH CHIRÁLNÍCH KLEČÍ

JIŘÍ HLINKA^a, KRISTÝNA BÜRGLOVÁ^b, JANA HODAČOVÁ^b, TOMÁŠ KRAUS^a, MILOŠ BUDĚŠÍNSKÝ^a

^aÚstav organické chemie a biochemie AV ČR, v.v.i., Flemingovo náměstí 2, 166 10 Praha 6; ^bÚstav organické chemie VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6
 kraus@uochb.cas.cz

K přípravě makrocyclických Schiffových bází jsou obvykle využívány cyklokondenzační reakce diaminů s dikarbonylovými sloučeninami. V předchozích letech jsme připravili řadu trojúhelníkových [3+3] makrocyclů na bázi *trans*-1,2-diaminocyklohexanu a rigidního dialdehydu, jejichž vznik není potřeba podporovat přítomností templátu. Tyto makrocycly se vyznačují plošným uspořádáním^{1,2}.

Cílem této práce bylo rozšířit původně ploché trojúhelníkové makrocycly do třetí dimenze použitím tetraaldehydu (**1**) namísto analogického dialdehydu. U takto nově vzniklého klecovitého makrocyclu dojde ke značnému zvětšení objemu kavity, kterou lze následně využít pro komplexaci, pro chirální molekulové rozpoznávání či v katalýze.

Pomocí Suzukiho cross-couplingu byl připraven tetraaldehyd (**1**), který v cyklokondenzační reakci s enantiomerně čistým *trans*-1,2-diaminocyklohexanem poskytl makrocyclickou [3+6] Schiffovu bázi (**2**). Experimenty prokázaly, že při vhodné koncentraci tetraaldehydu (**1**) vzniká přednostně požadovaný [3+6] makrocyclus (**2**) mající klecovou strukturu. Tak jako všechny makrocyclické Schiffovy báze lze i tento nový makrocyclus redukovat na polyamin.

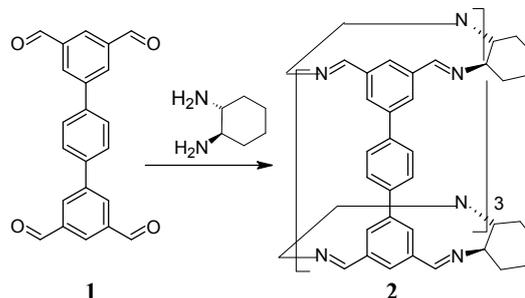


Schéma 1

LITERATURA

1. Gawronski J., Kolbon H., Kwit M., Katrusiak A.: J. Org. Chem. 65, 5768 (2000).
2. Chadim M., Buděšínský M., Hodačová J., Junk P. C.: Tetrahedron: Asymmetry 12, 127 (2001).

SEKUNDÁRNÍ METABOLITY ROSTLIN ŘÁDU PAPAVERALES, JEJICH IZOLACE, IDENTIFIKACE A BIOLOGICKÁ AKTIVITA

LUCIE CAHLÍKOVÁ^a, KATEŘINA MACÁKOVÁ^a, JITKA VYTLAČILOVÁ^a, JAKUB CHLEBEK^a

LUBOMÍR OPLETAL^a, MILAN KURFÜRST^b, LUDĚK JAHODÁŘ^a

^aKatedra farmaceutické botaniky a ekologie, FarmF, Univerzita Karlova, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové, ^bÚstav chemických procesů AV ČR, Rozvojová 135, 165 02 Praha 6 Cahlikova@faf.cuni.cz

V současné době mají přírodní léčiva nezastupitelné místo v medicíně. Moderní výzkum nových léčiv se po určité době opět vrací k rostlinnému materiálu, který je v dnešní době ekonomicky výhodnější a mnohdy levnějším zdrojem biologicky aktivních látek. Velká pozornost je v současnosti věnována rostlinám tradiční čínské medicíny, která využívá asi 5000 léčivých rostlin, u nás nepříliš známých nebo terapeuticky nevyužívaných. Do popředí se také dostávají rostliny dříve považované za okrasné (*E. californica*).

Hlavními sekundárními metabolity rostlin řádu *Papaverales* jsou isochinolinové alkaloidy představující velkou skupinu farmakologicky aktivních látek přírodního původu.

Ze 4 rostlin: *Escholtzia californica*, *Chelidonium majus*, *Corydalis cava* a *Corydalis yanhusuo* byly připraveny sumární ethanolové extrakty, z nich byly získány čisté alkaloidní koncentráty (slabě, středně a silně bazické alkaloidy, jodidy kvartérníchází ze slabě kyselého prostředí a jodidy kvartérníchází ze slabě alkalického prostředí).

Jednotlivé frakce byly zpracovány běžnými chromatografickými metodami. Doposud se podařilo izolovat 30 isochinolinových alkaloidů, z nichž některé byly z přírodního materiálu získány vůbec poprvé. Veškeré alkaloidy izolované v dostatečném množství byly podrobeny biologickým testům zahrnujícím inhibiční aktivitu vůči cholinesterasám, antioxidační a antiprotozoální aktivitu.

Cholinesterasová inhibiční aktivita byla měřena *in vitro*. Byla použita lidská erytrocytární AChE a sérová BuChE. Aktivita byla měřena spektrofotometricky za použití standardní Ellmanovy metody.

Antioxidační aktivita byla testována *in vitro* DPPH testem. Metoda je založena na reakci stabilního 2,2'-difenyl-1-pikrylhydrazil radikál (DPPH) se vzorkem.

Pro stanovení antiprotozoální aktivity byla použita spektrofotometrická metoda využívající redukci MTT barviva (3-[4,5-dimethyl-thiazol-2-yl]-2,5-diphenyl-tetrazolium bromid) na fialově zbarvený formazan.

Byly stanoveny hodnoty IC₅₀ a EC₅₀. Ty byly porovnány s hodnotami IC₅₀ a EC₅₀ referenčních látek, nebo látek používaných v terapii (galanthamin, huperzin A, rivastigmin).

Tato práce vznikla za finanční podpory grantu GA UK 122309.

LITERATURA

1. Fabre N, Claparols C., Richelme S., Angelin M.-L., Fourasté I., Moulis C.: J. Chromatogr., A 904, 35 (2000).

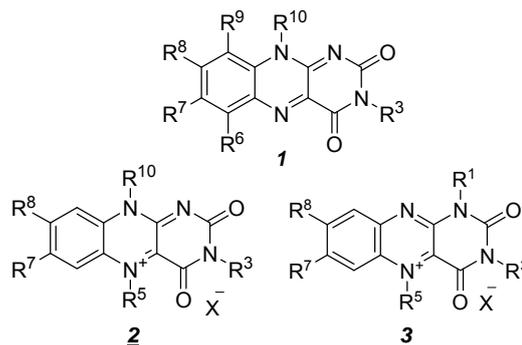
FLAVINY – PERSPEKTIVNÍ KATALYZÁTORY OXIDACÍ A REDUKCÍ**RADEK CIBULKA**

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

Flaviny **1** jsou biologicky aktivní látky, které se vyskytují jako kofaktory v řadě enzymů zabezpečujících redoxní procesy^{1,2} (např. v oxidasách, monooxygenasách a dehydrogenasách). V uvedených enzýmech vystupují flaviny jako univerzální oxidační nebo redukční činidla. V posledních desetiletích byla připravena celá řada umělých systémů, jejichž cílem je jednak modelování činnosti flavoenzymů a jednak aplikace flavinů jako katalyzátorů redoxních reakcí v organické syntéze³. Tyto umělé katalytické systémy vesměs využívají flaviniové soli **2** nebo **3**.

Příkladem reakcí katalyzovaných flaviniovými solemi jsou oxidace sulfidů na sulfoxidy, terciárních aminů na *N*-oxidy a cyklických ketonů na laktony peroxidem vodíku nebo kyslíkem³. Z redukce lze uvést transformaci alkenů na alkyany diimidem generovaným z hydrazinu účinkem solí **2** (cit.⁴). Všechny reakce v přítomnosti flaviniových derivátů probíhají chemoselektivně, za mírných podmínek a bez přítomnosti kovu. Použití chirálních flavinových katalyzátorů umožňuje stereoselektivní provedení reakcí. Jedná se tedy o perspektivní organokatalytické systémy šetrné k životnímu prostředí.

Přednáška bude zaměřena na souvislosti ve fungování flavinů v biologických a umělých systémech. Na příkladech bude uvedeno možné využití flavinů v praktických aplikacích. Pozornost bude rovněž věnována přínosu našeho pracoviště v oblasti oxidací katalyzovaných flaviniovými deriváty.



Autor děkuje Grantové agentuře České republiky (projekt č. 203/07/1246) a Ministerstvu školství, mládeže a tělovýchovy (projekt č. LC06070) za finanční podporu.

LITERATURA

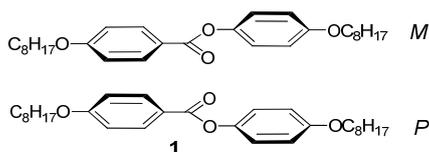
1. *Chemistry and Biochemistry of Flavoenzymes* (Müller F., ed.). CRC, Boca Raton 1991.
2. Massey V.: Biochem. Soc. Trans. 28, 283 (2000).
3. Galalcha F. G.: Chem. Rev. 107, 3338 (2007).
4. Imada Y., Iida H., Naota T.: J. Am. Chem. Soc. 127, 14544 (2005).

NOVÉ KAPALNÉ KRYSTALY NA BÁZI SUBSTITUOVANÝCH FENYLESTERŮ BIFENYL-4-KARBOXYLOVÝCH KYSELIN

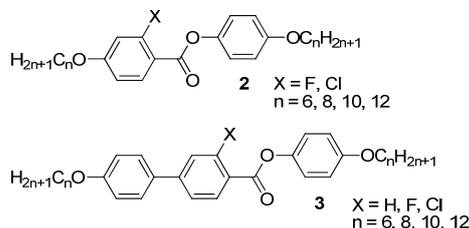
MARTIN CIGL^a, FRANTIŠEK HAMPL^a,
JIRÍ SVOBODA^a, VLADIMÍRA NOVOTNÁ^b,
MILADA GLOGAROVÁ^b

^a VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6; ^b Fyzikální
ústav AV ČR, v. v. i., Na Slovance 2, 182 21 Praha 8
Martin.Cigl@vscht.cz

Studium chování mesogenů s laterální substitucí jádra by mohlo přinést odpověď na diskutovanou¹⁻³ a dosud nezodpovězenou otázku, zda skutečně může achirální mesogen 4-(oktyloxy)fenyl-4-(oktyloxy)benzoát (**1**) vytvářet ve smektické C fázi chirální domény tvořené konformery *P* a *M*.



V předchozí studii⁴ jsme syntetizovali sérii mesogenů **2** s laterální substitucí halogenem v *ortho*-poloze jádra benzoové kyseliny, u kterých jsme předpokládali zvýšení bariéry rotace okolo esterové funkce v porovnání s matečnou strukturou **1**. Tyto látky však pro X = Cl netvořily SmC fáze. Proto jsme se rozhodli syntetizovat mesogeny **3**, jejichž jádro je tvořeno fenyl-bifenyl-4-karboxylátem. Očekávali jsme, že prodloužení jádra mesogenu o další benzenovou jednotku by mohlo zvýšit stabilitu SmC fázi i v případě substituce chlorem.



Studium mesomorfního chování připravených látek bylo provedeno pomocí optické polarizační mikroskopie a DSC. Výsledky potvrdily předpoklad, že estery **3** tvoří stabilní SmC fáze i v případě laterální substituce chlorem. Studium možnosti vzniku chirálních domén v mesofázích bude předmětem dalšího studia.

Tato práce vznikla za podpory grantu GA ČR 202/09/0047.

LITERATURA

1. Kajitani T., Masu H., Kohmoto S., Yamamoto M., Yamaguchi K., Kishikawa K.: J. Am. Chem. Soc. 127, 1124 (2005).

2. Choi S. W., Fukuda K., Nakahara S., Kishikawa K., Takanashi Y., Ishikawa K., Watanabe J., Takezoe H.: Chem. Lett. 35, 896 (2006).
3. Walba D. M., Korblova E., Huang C. C., Shao R., Nakata M., Clark N. A.: J. Am. Chem. Soc. 128, 5318 (2006).
4. Šámal M., Hampl F., Svoboda J., Novotná M., Glogarová M.: Chem. Listy 102, 1034 (2008).

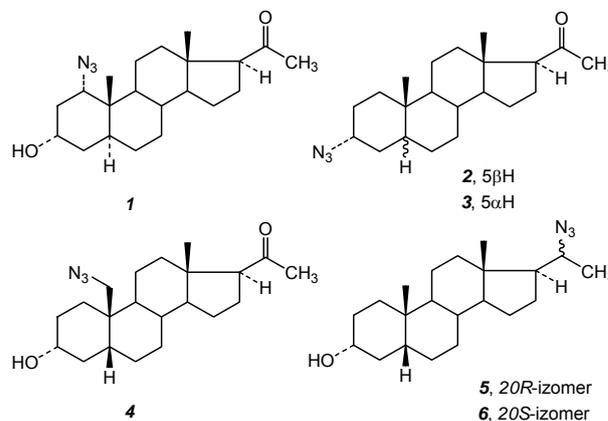
AZIDODERIVÁTY NEUROAKTIVNÍCH STEROIDŮ

IVAN ČERNÝ, LUKÁŠ VIDRNA, VLADIMÍR POUZAR,
HANA CHODOUNSKÁ

Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, v. v. i.,
Flemingovo n. 2, 166 10 Praha 6
cerny@uochb.cas.cz

Azidoderiváty steroidů bývají často užívány jako syntetické meziproducty pro přípravu odpovídajících aminoderivátů¹. Jejich další využití by mohlo být odvozeno z fotochemického chování azidoskupiny, zejména z její schopnosti poskytnout po ozáření světlem vhodné vlnové délky velmi reaktivní nitrén², schopný reagovat s aminokyselinovými zbytky v molekule bílkoviny. Cílem naší studie je připravit řadu azidoderivátů neuroaktivních steroidů a zjistit jejich vhodnost pro fotoafinitní značení receptorů neurosteroidů.

Jako modelové skelety byly vybrány allopregnanolon a pregnanolon a byly připraveny vybrané azidoderiváty v polohách 1, 3, 19 a 20. 1 α -Azidoallopregnanolon **1** byl připraven adicí azoimidu na odpovídající 1-en-3-on a selektivní redukcí 3-ketoskupiny K-Selektridem³. 3 α -Azidopregnanolon **2** byl připraven nukleofilní substitucí příslušného 3 β -tosylátu azidem a 3 α -azidoallopregnanolon **3** Mitsunobuovou reakcí⁴ 3 β -hydroxyderivátu s azoimidem. 19-Azidopregnanolon **4** vznikl nukleofilní substitucí mesylátu azidem a obdobnou reakcí (20*R*)- a (20*S*)-20-tosylátů byly připraveny oba isomery 20-azidoderivátu **5** mimikujícího pregnanolon.



Tato práce vznikla za podpory grantu MŠMT ČR projekt LC 06077 a grantu GA ČR 203/08/1498 v rámci výzkumného projektu AV ČR Z4 055 0506.

LITERATURA

1. Černý I., Buděšinský M., Pouzar V., Drašar P.: Steroids 74, 88 (2009).
2. Lwowski W.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 1980, 491.
3. Göndös G., Orr J. C.: J. Chem. Soc., Chem. Commun. 1982, 1239.
4. Mitsunobu O.: Synthesis 1981, 1.

**REGIOSELEKTÍVNA PRIAMA C-H ARYLÁCIA
1,3-DIMETHYLURACILU**
MIROSLAVA ČERŇOVÁ a MICHAL HOCEK*
*ÚOCHB AV ČR, Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6
cernova@uochb.cas.cz*

Pyrimidinové bázy a nukleozidy nesúce aryllovú skupinu v polohe 5 alebo 6 tvoria skupinu zlúčenín so širokou škálou biologických aktivít. 5- a 6- aryluracily môžu byť pripravené heterocyklizáciou alebo cross-coupling reakciami halogenovaného uracilu s arylboronovými kyselinami, arylstanánmi alebo reakciou metalovaného uracilu s aryl halogenidmi. Priama C-H arylácia uracilu s arylhalogenidmi predstavuje zaujímavú alternatívu klasických cross-coupling reakcií, pričom sa vyhne použitiu organokovových zlúčenín. Nedávno bola v našej skupine vyvinutá metodika Pd-katalyzovanej priamej C-H arylácie purínov a purínových nukleozidov do polohy 8 v prítomnosti CuI a bázy¹. Aby sme mohli rozšíriť použitie tohto typu reakcií u pyrimidinových báz a nukleozidov, študovali sme priamu C-H aryláciu 1,3-dimethyluracilu ako modelovej zlúčeniny. Bola vypracovaná regioselektívna priama C-H arylácia do polohy C-5 alebo C-6 1,3-dimethyluracilu s rôznymi arylhalogenidmi za špecifických podmienok. Táto všeobecná metóda bola použitá v regioselektívnej syntéze 5- a 6-substituovaných 1,3-dimethyluracilov.

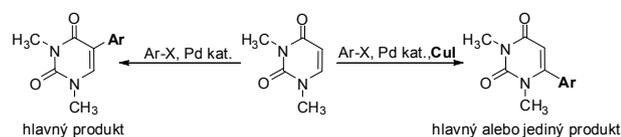


Schéma 1. C-H arylácia 1,3-dimethyluracilu

Tato práca je súčasťou výskumného projektu Z4 055 0506 podporovaná Centrom pre chemickú genetiku (LC06077) a Gilead Sciences, Inc. (Foster City, CA).

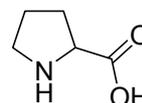
LITERATURA

1. (a) Čerňa I., Pohl R., Klepetářová B., Hocek M.: Org. Lett., 8, 5389 (2006). (b) Čerňa I., Pohl R., Hocek M.: Chem. Commun., 4729 (2007). (c) Čerňa I., Pohl R., Klepetářová B., Hocek M.: J. Org. Chem, 73, 9048 (2008).
2. Čerňová M., Pohl R., Hocek M.: Eur. J. Org. Chem. 22, 3698 (2009).

**ENANTIOSELEKTIVNÍ ORGANOKATALYTICKÁ
SYNTÉZA β -AMINOKARBONYLOVÝCH SLOUČENIN
OBSAHUJÍCÍCH α -ALKYLIDENOVOU SKUPINU**
SYLVA ČÍHALOVÁ, MAREK REMEŠ, JAN VESELÝ
*Katedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká fakulta
Univerzity Karlovy v Praze, Hlavova 2030, 128 43 Praha 2
scihalova@centrum.cz*

Příprava enantiomerně čistých látek, stejně jako vývoj syntetických metod vedoucích k jejich získání, je předmětem současného chemického výzkumu. Obecným cílem je efektivně a ekonomicky vybudovat komplexní molekulární skelet ze snadno dostupných výchozích látek.

S ohledem na odbornou literaturu se naše skupina zaměřila na využití organokatalytického konceptu na přípravu β -aminosloučenin obsahujících α -alkylidenovou skupinu, což jsou látky patřící mezi vhodné stavební prekurzory pro syntézu biologicky aktivních látek¹. Za využití katalýzy sekundárním aminem (D-prolin) byla v mírných reakčních podmínkách (DABCO/KF, CHCl₃, 25 °C) připravena řada enantiomerně čistých β -aminokarbonylových sloučenin, obsahujících α -alkylidenovou skupinu, reakcí α,β -nenasycených aldehydů s *N*-Boc- a *N*-Cbz sulfony jako prekurzory příslušných iminů.



Obrázek 1. D-Prolin.

Tato práce vznikla za podpory grantů MSM002160857, GAČR (203/09/P193), GAUK 2009/93109.

LITERATURA

1. (a) Shi M., Xu Y.-M.: Angew. Chem. Int. Ed. 41, 4507 (2002). (b) Basaviah D., Rao A. J., Satyanarayana T.: Chem. Rev. 103, 811 (2003).

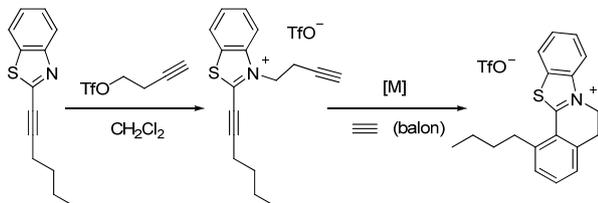
**MODULÁRNÍ SYNTÉZA *N*-HETEROAROMATIC-
KÝCH MONOKATIONŮ POMOCÍ [2+2+2]
CYKLOADICE S PLYNNÝM ACETYLENEM**
**MARTINA ČÍŽKOVÁ^{a,b}, IVANA CÍSAŘOVÁ^b,
DAVID ŠAMAN^a, FILIP TEPLÝ^{a*}**
*^aÚstav organické chemie a biochemie AVČR, v.v.i.,
Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6; ^bPřírodovědecká fakulta
UK, Hlavova 2030, 128 43 Praha 2
cizkova@uochb.cas.cz, teply@uochb.cas.cz*

N-heteroaromatické kationty zaujímají důležité místo mezi heterocyklickými sloučeninami. Mnoho látek z této strukturální skupiny vykazuje významné protirakovinné účinky¹,

jsou známé také jejich antibakteriální a herbicidní vlastnosti². V neposlední řadě se jedná o důležitou skupinu fluoroforů³.

Cílem této práce bylo otevřít novou cestu k *N*-heteroaromatickým kationtům odvozených od pyridinia, chinolinia, thiazolia, benzothiazolia, imidazolia a pyrimidinia. Syntéza zahrnuje Pd-katalyzovanou Sonogashirovu reakci⁴, *N*-alkylaci a [2+2+2] cykloadici⁵. Klíčovým konstrukčním krokem je cyklizace kationických diynů s plynným acetylenem. U připravených diynů a cyklických monokationtů byla studována fluorescence.

Navržený přístup představuje krátkou a flexibilní cestu k polycyklickým monokationickým strukturám.



Tato práce byla financována z grantů UOCHB Z4 055 0506 a GAČR 203/09/1614.

LITERATURA

- Martinez R., Chacon-Garcia L.: *Curr. Med. Chem.* 12, 127 (2005).
- Monk P. M. S., v knize: *The Viologens*. John Wiley, Chichester 1998.
- Lakowicz J. R., v knize: *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. Kluwer Academic Plenum Publishers, New York 1999.
- Kel'in A. V., Sromek A. W., Gevorgyan V.: *J. Am. Chem. Soc.* 123, 2074 (2001).
- Adriaenssens L., Severa L., Šálová T., Císařová I., Pohl R., Šaman D., Rocha S. V., Finney N. S., Pospíšil L., Slaviček P., Teplý F.: *Chem. Eur. J.* 15, 1072 (2009).

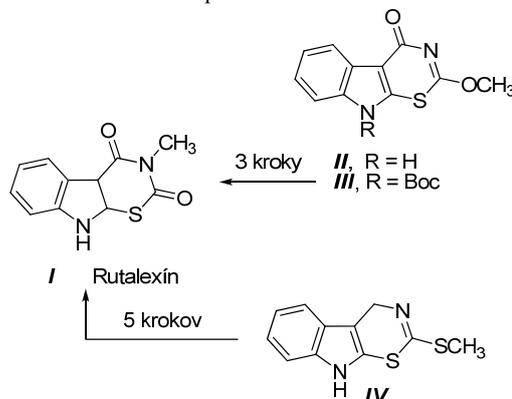
SYNTEZA INDOLOVÉHO FYTOALEXINU RUTALEXINU

ZUZANA ČURILLOVÁ^a, MARIANA BUDOVSKÁ^a, PETER KUTSCHY^a, MARTINA PILÁTOVÁ^b, JÁN MOJŽIS^b

^aUniverzita P. J. Šafárika, PrF, Ústav chemických vied, Moyzesova 11, Košice, 040 01; ^bUniverzita P. J. Šafárika, LF, Ústav farmakológie, Tr. SNP 1, Košice, 040 66, Slovensko zuzana.curillova@upjs.sk

Rutalexín **I** je jeden z ôsmich indolových fytoalexínov, izolovaných z kapusty repkovej kvakovej (*Brassica napus* L. ssp. *rapifera*) po abiotickej elicitácii UV svetlom alebo po infikovaní patogénnou hubou *Rhizoctonia solani*¹. Prvý krát bol získaný z UV ožiarenej hlúzy kalerábu (*B. oleracea* var. *gongylodes*), ale bola mu priradená nesprávna štruktúra **II** a názov cyklobrasinón². Pôvodná syntéza rutalexínu z 1-Boc-2-chlórindol-3-karbaldehydu¹, s celkovou výťažnosťou 24 %,

využíva v jednom z piatich krokov toxický fosgén. V príspevku budú prezentované dve alternatívne syntézy. Vychádzajúc z 1-Boc-cyklobrasinónu **III**³, bol rutalexín **I** získaný v troch krokoch a biomimetickou syntézou z indolového fytoalexínu cyklobrasinínu **IV** v piatich krokoch bez použitia toxických činidiel v celkovej výťažnosti 64 a 33 %. U syntetizovaných produktov bola testovaná protinádorová aktivita.



Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-0514-06.

LITERATÚRA

- Pedras M. S., Montaut S., Suchý M.: *J. Org. Chem.* 69, 4471 (2004).
- Gross D., Porzel A., Schmidt J.: *Z. Naturforsch., C. Biosci.* 49, 281 (1994).
- Kutschy P., Suchý M., Andreani A., Dzurilla M., Kováčik V., Alföldi J., Rossi M., Granátová M.: *Tetrahedron* 58, 9029 (2002).

FOTOOXIDACE SULFIDŮ V PŘÍTOMNOSTI TETRA-O-ACETYRIBOFLAVINU

JITKA DAŘOVÁ, RADEK CIBULKA

Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6
dadovaj@vscht.cz, cibulka@vscht.cz

Flaviny představují fotoaktivní látky, které se účinkem viditelného světla snadno excitují¹. Díky tomu jsou potenciálně využitelné jako senzibilizátory redoxních reakcí. V naší laboratoři byla objevena schopnost derivátů flavinů senzibilizovat selektivně oxidaci sulfidů na sulfoxidy (schéma 1). Vlastním oxidačním činidlem při této reakci je kyslík.

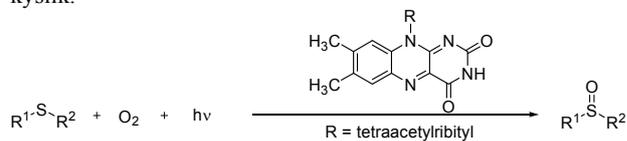


Schéma 1. Fotooxidace sulfidů na sulfoxidy

Z hlediska terminálního oxidačního činidla a podmínek reakce tedy můžeme tuto metodu oxidace zařadit mezi metody šetrné k životnímu prostředí.

Bylo popsáno několik jiných fotosenzibilizátorů, které oxidaci sulfidů umožňují² (např. 9,10-dikyanoantracen a *N*-methylchinolinium-tetrafluorborát). Problémem dosud publikovaných fotooxidací byl však vznik sulfonů jako vedlejších produktů.

V práci jsme se zaměřili na optimalizaci podmínek a studium průběhu fotooxidací sulfidů senzibilizovaných tetra-*O*-acetylriboflavinem. Pozornost byla věnována zejména hledání vhodného rozpouštědla, zjištění fotostability použitého senzibilizátoru a změření kvantových výtěžků. Fotooxidaci jsme provedli také v semipreparativním měřítku.

Autoři děkují za finanční podporu Ministerstvu školství, mládeže a tělovýchovy (grant č. LC06070).

LITERATURA

1. Silva E., Edwards A., Ed.: *Comprehensive Series in Photochemical & Photobiological Sciences* (Volume 6), Flavins Photochemistry and Photobiology, RSC Publishing, Cambridge 2006.
2. Baciocchi E., Del Giacco T., Elisei F., Gerini M. F., Guerra M., Lapi A., Liberali P.: *J. Am. Chem. Soc.* 125, 164444 (2003).
3. Fernández I., Khair N.: *Chem. Rev.* 103, 3651 (2003).

VÝVOJ SYNTÉZY VYBRANÝCH FARMACEUTICKÝCH SUBSTANCÍ ASISTOVANÉ MIKROVLNAMI

MARTIN DOLEŽAL, DIANA KEŠETOVÍČOVÁ, JAN ZITKO

*Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova v Praze, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové
martin.dolezal@faf.cuni.cz*

Mikrovlnami asistovaná syntéza rozšiřuje spektrum úloh zařazených do praktických cvičení povinného předmětu Farmaceutická chemie a povinně volitelného předmětu Technologie syntetických léčiv. Praktická cvičení z farmaceutické chemie jsou součástí výuky ve 3. ročníku pregraduálního studia farmacie a předmět Technologie syntetických léčiv je navštěvován studenty 3. ročníku s hlubším zájmem o farmaceutickou chemii.

V rámci projektu byly vypracovány návody pro nové úlohy do praktických cvičení z Farmaceutické chemie a Technologie syntetických léčiv. Použit byl mikrovlnný systém s fokusovaným polem Discover s autosamplerem Explorer 24 Synthesis System (CEM Corp., NC, USA). Výsledky syntézy provedených pomocí mikrovln byly pečlivě monitorovány a na závěr porovnávány s výsledky standardní syntézy. Na tuto syntetickou část navázala preparativní flash chromatografie, jejímž úkolem byla izolace čistého produktu. Pro chromatografické dělení byl využit přístroj CombiFlash® Rf (Teledyne Isco, Inc. Lincoln, Nebraska, USA).

Studenti mají příležitost seznámit se v rámci praktických cvičení s moderními přístupy k organické syntéze, k nimž patří i mikrovlnami asistovaná syntéza. V navazující úloze si vyzkouší preparativní chromatografii jako jednu ze základních a dnes rutinně používaných čistících operací^{1,2}.

Projekt byl finančně podpořen Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy FRVŠ 770/2009.

LITERATURA

1. Zimčík P., Kučerová M., Doležal M., Miletín M., Opletalová V.: *Farmaceutická chemie – Návody do praktických cvičení*. 1. vyd., Karolinum Praha, 2009.
2. Mavandadi F.; Lindström P.: *Curr. Top. Med. Chem.* 4, 773 (2004).

SYNTÉZA A VYUŽITÍ CHIRÁLNĚ SUBSTITUOVANÝCH 1,10-FENANTHROLINOVÝCH KOMPLEXŮ

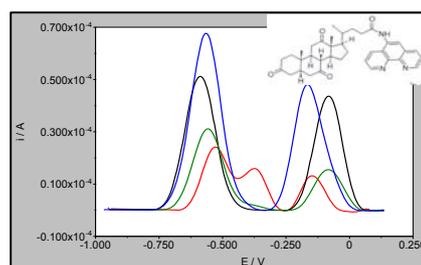
ZDENA NOVÁKOVÁ^a, JIŘÍ BAREK^b, MIROSLAV FOJTA^c, OLDŘICH LAPČÍK^a a PAVEL DRAŠAR^a

*^aVŠCHT Praha, 166 20 Praha 6; ^bPřF UK Praha 128 40 Praha 4; ^cBFÚ, AV ČR vvi, 612 65 Brno
Pavel.Drasar@vscht.cz*

Bidentátní ligandy, schopné interagovat s kovy přes dva donorové atomy, jsou velmi užitečné sloučeniny, které mohou přenášet vodík¹, katalyzovat přenos kovů při asymetrických reakcích², generovat funkcionální materiály se širokým spektrem použití³ a poskytovat analyt (chromofor, funkciofor) pro spektrální, elektroforetické a/či elektrochemické metody⁴. Specificky pak mohou fungovat i jako komplexy OsO₄ s 1,10-fenanthrolinovými deriváty (Os,L)^{5,6} či jako hapteny⁷.

Specifickým problémem je využití dobře organizované, stereochemicky a topologicky rigidní chirální modifikace bidentátních ligandů, jenž umožní v rámci jejich superskladebných mechanismů nejen jejich zapojení využívající zmíněné strukturální motivy bidentátního jádra ale též motivy chiralit a funkcionality modifikující části⁸.

1,10-Fenanthroliny s různými steroidními substituenty na skeletu byly syntetizovány a následně zkoumány stran analyzovatelnosti po interakci s DNA či peptidy (Os,L) ale též elektrochemickými a imunochemickými metodami.



Obr. 1. *Ex situ* square-wave voltammetrická měření

Prvé výsledky této studie ukázaly slibná nová zjištění. Na grafu na Obr. 1 vidíme příklad *ex situ* square-wave voltammetrických měření 40-meru oligonukleotidu (ODN) obsahujícího 20 thyminových nukleotidů a dekapetidu (pept) obsahujícího tři tryptofany po reakci s OsO₄ a 2,2-bipyridinem či s novým ligandem Zn-65, který je na vložném obrázku: černá (u cca 6 V, druhá nejvyšší), ODN-Os,bipy; modrá (nejvyšší), peptOs,bipy; zelená (třetí nejvyšší s naznačeným třetím maximem), ODN-Os,Zn-65; červená (nejnižší, se třemi maximy), pept-Zn-65.

Podporováno projekty MSM6046137305 LC06035, 2B06024 a NATO CBP.EAP.CLG.982972.

LITERATURA

- Besora M., Lledos A., Maseras F.: Chem. Soc. Rev. 38, 957 (2009).
- Ding K.L., Han Z.B., Wang Z.: Chem. Asian. J. 4, 32 (2009).
- Porta B., Khamsi J., Noveron J.C.: Curr. Org. Chem. 12, 1298 (2008).
- Vrabel M., Horakova P., Pivonkova H., Kalachova L., Cernocka H., Cahova H., Pohl R., Sebest P., Havran L., Hocek M., Fojta M.: Chem. Eur. J. 15, 1144 (2009).
- Fojta M., Kostecka P., Trefulka M., Havran L., Palecek E.: Anal. Chem. 79, 1022 (2007).
- Fojta M., Billova S., Havran L., Pivonkova H., Cernocka H., Horakova P., Palecek E.: Anal. Chem. 80, 4598 (2008).
- Palecek E., Kizek R., Havran L., Billova S., Fojta M.: Anal. Chim. Acta 469, 73 (2002).
- Dukh M., Šaman D., Kroulik J., Černý I., Pouzar V., Král V., Drašar P.: Tetrahedron 59, 4069 (2003).

VYUŽITÍ HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE A KVANTOVĚ CHEMICKÝCH VÝPOČTŮ PŘI URČOVÁNÍ VLASTNOSTÍ BIPYRIDIN-*N,N'*-DIOXIDŮ

LUCIE DUCHÁČKOVÁ^a, JANA ROITHOVÁ^{a,b}

^aKatedra organické a jaderné chemie, PřF UK, Hlavova 8, 128 40 Praha 2; ^bÚstav organické chemie a biochemie, AV ČR, Flemingovo náměstí 2, 166 10, Praha 6 roithova@natur.cuni.cz; duchacko@natur.cuni.cz

Bipyridin-*N,N'*-dioxidy jsou organokatalyzátory, které slouží v enantioselektivní katalýze jako chirální Lewisovské báze.^{1,2} Mají schopnost koordinovat se k elektrofilním centřům a diskriminovat při koordinaci jednoho z enantiomerů chirální elektrofilní molekuly. Využívají se například u allylaci aldehydů, kde aktivují allyl(trichlor)silany.

Cílem práce bylo určení protonové afinity a studium komplexačních vlastností bipyridin-*N,N'*-dioxidů. Hlavní experimentální metodou byla hmotnostní spektrometrie, jejíž výsledky byly doplněny kvantově chemickými výpočty pomocí metody DFT.

Protonová afinita bipyridin-*N,N'*-dioxidů získaná Cooksovou kinetickou metodou³ je větší než 1000 kJ/mol.

Látky s tak vysokou protonovou afinitou se označují jako tzv. superbáze a jsou to vůbec jedny z nejvíce bazických látek, které známe. Dosažené výsledky byly ověřeny kvantově chemickými výpočty (Schéma 1). Dále byly studovány komplexační vlastnosti bipyridin-*N,N'*-dioxidů vzhledem k iontům např. Cu²⁺, Zn²⁺, Mg²⁺. Celá studie povede k detailnímu pochopení mechanismu komplexace bipyridin-*N,N'*-dioxidů.

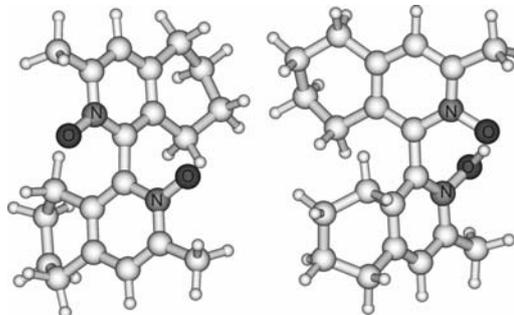


Schéma 1. Geometrie bis(3-methyltetrahydroisochinolin)-*N,N'*-dioxidu a jeho protonované formy získané pomocí metody B3LYP/6-311+G(2d,p)

Projekt byl financován Grantovou agenturou Univerzity Karlovy v Praze (grant č. 259029).

LITERATURA

- Hrdina M., Boyd T., Valterová I., Hodačová J., Kotora M.: Synlett. 20, 3141 (2008).
- Hrdina M., Opekar F., Roithová J., Kotora M.: Chem. Commun. 17, 2314 (2009).
- Cooks R. G., Patrick J. S., Kotiaho T., McLukey S. A.: Mass Spectrom. Rev. 13, 287 (1994).

ISOTHIURONIOVÉ SOLI S OMEZENOU FLEXIBILITOU JAKO VHODNÉ STAVEBNÍ BLOKY SUPRAMOLEKULÁRNÍCH STRUKTUR

VÁCLAV EIGNER a ROMAN HOLAKOVSKÝ

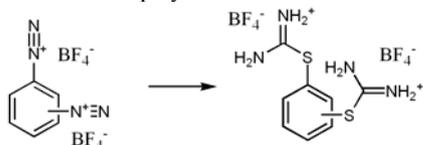
Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6 eignervaclav@seznam.cz; holakovr@vscht.cz

Isothiuroniové soli jsou již poměrně dlouhou dobu známé. V organické syntéze se používají spíše okrajově, hlavně pro tvorbu thiolů, nově ale nabývají významu v medicíně, kde se využívá skutečnosti, že se jejich účinky velice podobají amidinům. V poslední době jsou však tyto sloučeniny zkoumány hlavně pro své schopnosti komplexace rozličných aniontů, ať už anorganických nebo organických kyselin v polárním prostředí. Struktura takto vzniklých asociátů zůstává dosud do velké míry neprozkoumána.

Příprava alifatických isothiuroniových solí je velice jednoduchá, jedná se o prostou Sn2 substituci. Nízká rigidita alifatického řetězce je nevýhodná pro případnou tvorbu přesně

definovaných supramolekulární struktur. První možností omezení pohyblivosti molekuly je využití isothiuroniových solí benzylového typu. Jako výchozí látky pro tyto sloučeniny byly použity *ortho*, *meta* a *para* bisbrommethylbenzeny¹.

Ještě lépe prostorově definované aromatické isothiuroniové soli jsou problematické z hlediska jejich přípravy. Syntéza vyžaduje tvorbu diazoniových solí, které se za pokojové teploty velice rychle rozkládají². Následná výměna za isothiuroniovou skupinu je již dostatečně selektivní reakcí s dobrým výtěžkem³. Pro přípravu supramolekulárních struktur ve formě lineárních řetězců je nutné připravit aromáty nesoucí dvě isothiuroniové skupiny.



Problém dvojnásobné diazotace benzenu, která je velmi obtížná, se podařilo úspěšně vyřešit. Získané soli byly převedeny na isothiuroniové soli.

Všechny výše uvedené soli byly dále zkoumány z hlediska jejich interakce s anionty pomocí rentgenostrukturní analýzy, která je velice vhodným nástrojem pro zkoumání ne vazebných interakcí v pevné fázi.

Autoři děkují za finanční podporu výzkumnému záměru MSM 6046137301 MŠMT ČR.

LITERATURA

1. Tal D. M., Karlisch S. J. D.: *Tetrahedron*, 51, 3823 (1995).
2. Bergman E. D., Berkovic S., Ikan R.: *J. Am. Chem. Soc.* 78, 6037 (1956).
3. Šimůnek P.: *Metody přípravy thiofenolů*. Pardubice, Univerzita Pardubice, 1997.

PERFLUORALKYLACE POMOCÍ CROSS-METATHEZE ALKENŮ A JEJÍ VYUŽITÍ V SYNTÉZE BIOLOGICKY AKTIVNÍCH SLOUČENIN

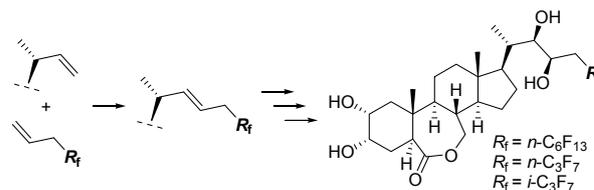
BARBARA EIGNEROVÁ^{a,b}, MARTIN DRAČÍNSKÝ^b, MARTIN KOTORA^{a,b}

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

Sloučeniny s jednou či více molekulami fluoru vykazují zajímavé biologické aktivity a našly široké uplatnění především ve farmaceutickém průmyslu¹. Cílem projektu bylo vypracovat flexibilní metodiku, která by umožnila zavedení perfluoralkylového řetězce do různých strukturálních typů molekul² a její následné uplatnění v syntéze konkrétních biologicky aktivních sloučenin³.

Naše práce je založena na cross-metathezi snadno dostupných 3-(perfluoralkyl)propenů s terminálními alkeny

katalyzované komplexy ruthenia. Tato metodika byla použita v přípravě fluorovaných brassinosteroidů,³ estradiolů, karboranů a isoprostanů. Reakce probíhala za mírných podmínek převážně s dobrými výtěžky.



Tato práce vznikla za podpory Centra pro nová antivirotika a antineoplastika MŠMT (projekt č. 1M0508) a grantové agentury AVČR (projekt č. IAA 400 550 609).

LITERATURA

1. Isanbor C., O'Hagan D.: *J. Fluorine Chem.* 127, 303 (2006).
2. Eignerová B., Dračínský M., Kotora M.: *Eur. J. Org. Chem.* 2008, 4493.
3. Eignerová B., Slavíková B., Buděšinský M., Dračínský M., Klepetářová B., Šťastná E., Kotora M.: *J. Med. Chem.*, in press.

SYNTÉZA NOVÝCH TTF-CALIXARENOVÝCH KONJUGÁTŮ

KAROLÍNA FLÍDROVÁ^a, LUBOMÍR POSPÍŠIL^b, PAVEL LHOTÁK^a

^aÚstav organické chemie, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6; ^bÚstav fyzikální chemie Jaroslava Heyrovského AV ČR, Dolejškova 2155/3, 182 00 Praha 8-Libeň flidrovk@vscht.cz

Tetrathiafulvalen (TTF) je významný elektrondonor, který pro své zajímavé elektrochemické chování našel široké uplatnění nejen v supramolekulární chemii. Navzdory tomu byla oblast TTF-calixarenových konjugátů dosud poněkud opomíjena.

TTF-calixarenové konjugáty mohou být obecně rozděleny na dvě skupiny, podle funkce TTF v molekule. TTF může sloužit buď jako spektroskopický marker nebo jako aktivní místo pro komplexaci. Ve své práci se zabývám oběma druhy TTF-calixarenových konjugátů.

Prvním typem připravovaných derivátů jsou amidy a močovinné deriváty pro komplexaci anionů, kde tetrathiafulvalenová část molekuly plní funkci markeru pro UV/Vis spektroskopii a cyklickou voltametrii¹. Syntéza těchto látek je analogická přípravě jiných močovinnových a amidických derivátů, které byly v naší laboratoři připraveny dříve a umožňuje sledování a porovnání jejich komplexačního chování a dimerizaci méně běžnými analytickými metodami.

Druhou částí práce je příprava TTF-calixarenových konjugátů, kde TTF jednotka funguje jako aktivní místo. Elektrondonorní vlastnosti TTF předurčují pro komplexaci

elektronově deficitních systémů, jako je například fullerén C₆₀. Kromě běžných derivátů TTF se pro tyto účely používají i TTF s rozšířeným π -systémem jejichž základem může být například anthrachinonový skelet². Takové deriváty pak svým tvarem připomínají tzv. molekulární pinzety.

Oblast TTF-calixarenových konjugátů nabízí možnost syntézy potenciálně velmi zajímavých receptorů a bylo by zajímavé se jí i dále do budoucna věnovat.

Tato práce vznikla za podpory grantu GA ČR 203/07/0691.

LITERATURA

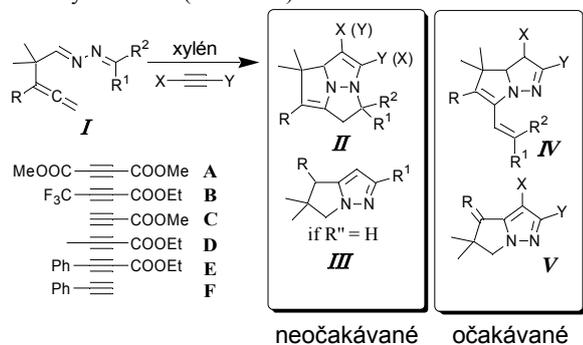
1. Lyskawa J., Sallé M., Balandier J-Y., Le Derf F., Levillain E., Allain M., Viel P., Palacin S.: Chem. Commun. 21, 2233 (2006).
2. Pérez E.M., Sánchez L., Fernández G., Martín N.: J. Am. Chem. Soc. 128, 7172 (2006).

CYKLOADIČNÉ REAKCIE NESYMETRICKÝCH ALLENYL ALDOKETAZÍNŮV S VYBRANÝMI ALKÝNYMI

JURAJ GALETA, STANISLAV MAN, MILAN POTÁČEK*

Ústav chemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova Univerzita, Kotlářská 2, 611 37 Brno
potacek@chemi.muni.cz

Už niekoľko rokov sa na našom pracovisku zaoberáme problematikou criss-cross cykloadičných reakcií¹⁻⁴. Predložená práca je ďalším príspevkom, kde sme sledovali vplyv substitúcie na alkýnoch na výsledky termicky iniciovanej kombinovanej intra-intermolekulárnej criss-cross cykloadície s allenyl azínmi **I** (Schéma 1).



Sledovali sme reaktivitu šiestich alkýnov s mnohými rôzne substituovanými allenyl azínmi **I**, pričom sme pozorovali vznik nových neočakávaných heterocyklických zlúčenín **IV** a **V** (Schéma 1). Tieto produkty vznikali špeciálne v prítomnosti alkýnov **D** a **E** s push – pull systémom. Na základe výsledkov sme navrhli reakčné mechanizmy. Na druhej strane tricyklický produkt **II** je typickým produktom intra-intermolekulárnej criss-cross cykloadície, kde bola pozorovaná nízka regioselektivita, ale na druhej strane vysoká

diastereoselektivita. Bicyklické deriváty **III** vznikajú ako vedľajšie produkty pri reakciách azínov **I** s málo reaktívnymi dipolarofilmi alebo v neprítomnosti dipolarofilu ako hlavné produkty.

Tento projekt vznikol za podpory Grantovej agentúry Českej republiky, grant No. 203/09/1345.

LITERATÚRA

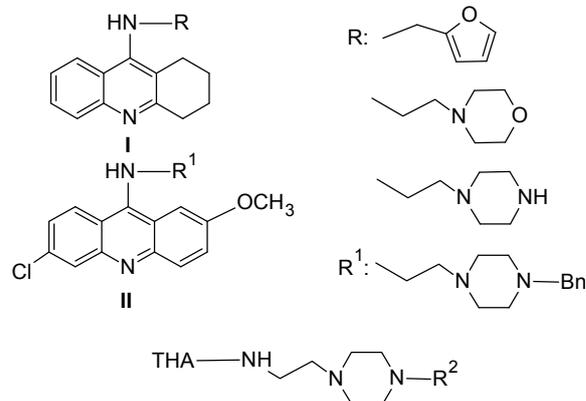
1. Man S., Kulhánek P., Potáček M., Nečas M.: Tetrahedron Lett. 43, 6431 (2002).
2. Man S., Bouillon J.-P., Nečas M., Potáček M.: Tetrahedron Lett. 45, 9419 (2004).
3. Man S., Nečas M., Bouillon J.-P., Baillia H., Harakat D., Potáček M.: Tetrahedron 61, 2387 (2005).
4. Galeta J., Man S., Potáček M.: Arkivoc Part (vi), 245 (2009).

NOVÉ INHIBÍTOREY CHOLÍNĚSTERÁZ S AKRIDÍNOVÝM FARMAKOFÓROM

SLÁVKA HAMULÁKOVÁ, JÁN IMRICH, PAVOL KRISTIAN

Univerzita P. J. Šafárika, Prírodovedecká fakulta, Ústav chemických vied, Moyzesova 11, 040 01 Košice
slavka.hamulakova@upjs.sk

Bola syntetizovaná séria nových analógov takrínu, ako potenciálnych inhibitorov cholinesteráz (AChE, BChE)¹. Syntéza derivátov **I** bola uskutočnená využitím reakcie syntónu, 9-chlór-1,2,3,4-tetrahydroakridínu, s príslušnými aminmi. Donepezil-takrín/akridínové deriváty **I**, **II** sa pripravili reakciou príslušných aminov s benzylchloridom. Pre prípravu homodimerických a heterodimerických derivátov **III**, **IV**, **V**, ktorých inhibičná účinnosť spočíva v možnosti simultánne sa viazať na periférne a katalytické miesto enzýmu² sa použili takrínové a akridínové skelety spojené piperazinylovým linkerom.



III: R² = akridin-9-yl

IV: R² = 6-chlór-2-metoxiakridin-9-yl

V: R² = 1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-yl

Schéma 1

Táto práca vznikla za podpory grantovej agentúry VEGA (1/0476/08) a štátneho programu NMR (2003SP200280203).

LITERATÚRA

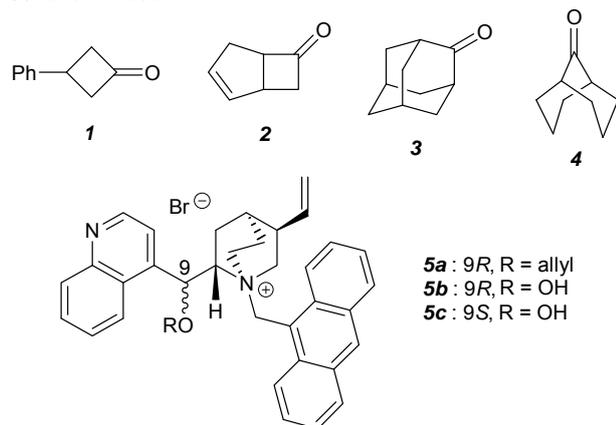
1. Hamuľáková S., Kristian P., Jun D., Kuča K., Imrich J., Danihel I., Böhm S., Klika K. D.: *Heterocycles* 76, 1219 (2008).
2. Carlier P. R., Chow E. S. H., Han Y., Liu J., Yazal J. E., Pang Y. P.: *J. Med. Chem.* 42, 4225 (1999).

PHASE TRANSFER-CATALYZED BAEYER-VILLIGER-TYPE OXIDATION OF KETONES WITH SODIUM HYPOCHLORITE

EVA HANZLOVÁ, TOMÁŠ MARTINŮ*

*Department of Organic Chemistry, Institute of Chemical Technology, Technická 5, 166 28 Praha 6
martinut@vscht.cz*

Poorly enolizable cyclic ketones **1-4** undergo clean biphasic oxidation to the corresponding lactones with aqueous sodium hypochlorite (pH ~ 12.5) in the presence of methyltrioctylammonium-chloride as a phase-transfer catalyst (PTC). Cyclobutanones react considerably faster than cyclohexanones. Enone **2** is oxidized to a mixture of two lactones with the C=C bond left intact.



Scheme 1. Substrates and chiral catalysts used in their oxidation

Stereoselective oxidative desymmetrization of **1** and oxidative chiral resolution of racemic **2** have been attempted using *Cinchona*-derived PTCs **5**, some of which had been previously shown to catalyze stereoselective epoxidation of α,β -enones with hypochlorite^{1,2}. Clean reactions were observed, however their stereoselectivity was poor (e.e. < 10%). Interestingly, **5b** exhibited the highest catalytic activity of all PTCs used in this study, while the activity of its epimer **5c** was the lowest.

The mechanism of the oxidation of cyclobutanones has been studied computationally and experimentally using ¹⁸O-labeled hypochlorite. The reaction follows the classical Baeyer-Villiger pathway without the intermediacy of a dioxirane³.

LITERATURE

1. Corey E. J., Zhang F.-Y.: *Org. Lett.* 1, 1287 (1999).
2. Lygo B., Gardiner S. D., McLeod M. C., To D. C. M.: *Org. Biomol. Chem.* 5, 2283 (2007).
3. Rosenberg M. G., Haslinger U., Brinker U. H.: *J. Org. Chem.* 67, 450 (2002).

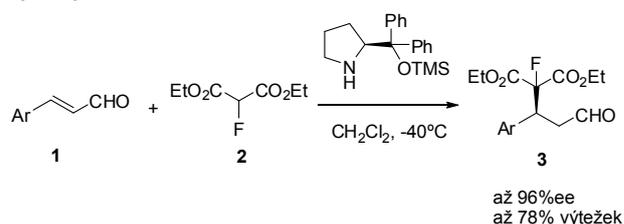
VYSOCE ENANTIOSELEKTIVNÍ ADICE FLUORMALONÁTU NA α,β -NENASYCENÉ ALDEHYDY¹

MONIKA HEJNOVÁ, MARTIN KAMLAR, JAN VESELÝ

*Katedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze, Hlavova 2030, 128 40 Praha 2
hejnova.monika@seznam.cz*

Organické molekuly obsahující ve své struktuře molekulu fluoru vykazují některé jedinečné fyzikální, chemické a biologické vlastnosti. Příčinou těchto vlastností je vysoká polarita vazby C-F, která má obvykle velký vliv na interakci se sousedními vazbami nebo na volné elektronové páry sousedních atomů. Tyto sloučeniny nalézají uplatnění v medicíně, biologii a souvisejících vědách. Například fluorace se v medicíně běžně využívá ke zlepšení metabolické stability, biodostupnosti a ke zlepšení interakce mezi léčivem a proteinem.² Výsledkem toho byl intenzivní výzkum, jenž vedl v posledních desetiletích k objevení nových postupů umožňujících jak elektrofilní, tak nukleofilní inkorporaci fluoru do molekul. Nukleofilní fluoralkylace se stala jednou z nejdůležitějších a nejrychleji se rozvíjejících odvětví chemie fluoru zahrnující přenos fluorovaného karbaniontu na elektrofilní částici, avšak metod zabývajících se enantioselektivní fluoralkylací sloučenin je v literatuře popsáno poměrně málo.

S ohledem k tomu se naše skupina zaměřila na studium nukleofilní adice fluormalonátu na α,β -nenasyčené aldehydy, katalyzované komerčně dostupnými sekundárními aminy. Záměrem byla příprava příslušné 1,4-sloučeniny s vysokými výtežky a enantioselektivitou.



Podařilo se nám vyvinout metodu vysoce enantioselektivní adice fluormalonátu **2** na aromatické α,β -

nenasyčené aldehydy **1** pomocí efektivní katalýzy komerčně dostupným chirálním derivátem pyrrolidinu (viz. Schéma).

Tato práce vznikla za podpory grantů MSM0021620857, GAČR (203/09/P193).

LITERATURA

1. Companyó X., Hejnová M., Kamlar M., Veselý J., Moyano A., Rios R.: *Tetrahedron Lett.* 2009, 5021.
2. Miller K., Faeh C., Diderich F., *Science* 317, 1881 (2007).

DARIFENACIN - PŘÍPRAVA A NEČISTOTY VZNIKAJÍCÍ V PRŮBĚHU SYNTÉZY

LUDMILA HEJTMÁNKOVÁ, JOSEF JIRMAN

Zentiva k.s., Dolní Měcholupy 130, 102 01 Praha
Ludmila.Hejtmankova@zentiva.cz

Darifenacin (**I**) je antagonist M3 selektivních muscarinových receptorů, používá se k léčbě hyperaktivity močového měchýře a urinární inkontinence. Registrace pro EU pod názvem Emsalex byla firmě Novartis udělena 22.10. 2004. Darifenacin se připravuje např. alkylací 2,2-difenyl-2-(S)-pyrrolidin-3-yl-acetamidu (**II**) 5-(2-bromethyl)-2,3-dihydrobenzofuranem (**III**) (Schema 1)¹. Syntéza je komplikována vznikem řady nečistot, které omezují izolaci produktu a dosažení API kvality. Vyvinuli jsme a patentem ochránili optimalizovaný výrobní postup přípravy darifenacinu hydrobromidu ve vysokém výtěžku a odpovídající kvalitě založený na reakci v dvoufázovém prostředí².

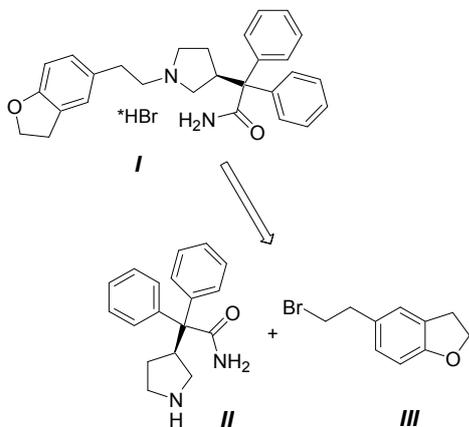


Schéma 1.

LITERATURA

1. Cross P.E., Mackenzie A.R.: *Pyrrolidine derivatives*. EP 0388054, 1988.
2. Hejtmánková L., Jirman J.: *Proces for preparing darifenacin*. PCT CZ/2009/000003, CZ 30085, 2008.

Cu(I)-CATALYZED PREPARATION OF THIOACETYLENES FROM TERMINAL ALKYNES

ADAM HENKE^a, JIŘÍ ŠROGL^{a*}

^a*Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Flemingovo nám. 2, 16610 Praha 6, Czech Republic.*
jsrogl@uochb.cas.cz

Benzoisothiazolones are introduced as reagents transforming terminal acetylenes into their thioanalogs in a Cu(I)catalyzed process. The desired thioalkynes- highly sought after substrates for cross-coupling reactions- are formed in very good yields under neutral conditions. Scope and limitations of the present method as well as an evaluation of the resulting thioacetylenic products in Pd catalyzed/ Cu(I) mediated cross-coupling reaction are presented.

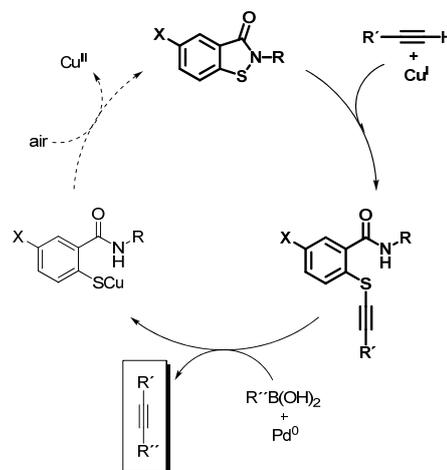


Schéma 1

This work was supported by The Grant Agency of the Czech Republic (GA ČR), No. 203/08/1318.

REFERENCES

1. Henke A., Šrogl J.: *J. Org. Chem.* 73, 7783 (2008).
2. Savarin C., Šrogl J., Liebeskind L. S.: *Org. Lett.* 3, 91 (2001).

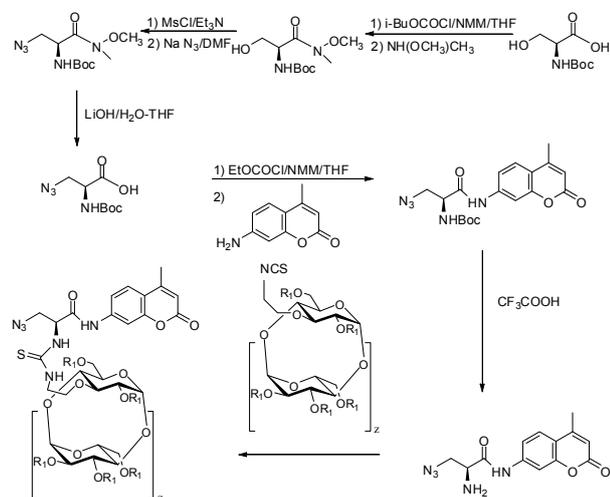
KONSTRUKCE CHEMOSENZORŮ NA BÁZI CYKLODEXTRINŮ

PETR HEZKÝ^{*a}, JINDŘICH JINDŘICH^b

^a*ÚOCHB AV ČR, v.v.i, Flemingovo 2, 166 10 Praha 6;*
^b*Katedra organické a jaderné chemie, PŘF, Univerzity Karlovy v Praze, Hlavova 2030/8, 128 40 Praha 2*
jindrich@natur.cuni.cz

Cyklodextriny¹ poskytují široké možnosti využití, zejména v oblasti supramolekulární chemie. Důvodem této skutečnosti je málo polární kavita v jejich cyklické struktuře, která je schopná komplexovat malé organické molekuly odpovídajících rozměrů, zvláště pak v polárním prostředí (voda). Na uvedeném principu je založeno jejich použití pro chemosenzorické aplikace. V našem případě je cyklodextrin vázán kovalentní vazbou ke spojovacímu linkeru vhodné délky, k jehož druhému konci je vázán fluorofor, který interaguje s kavitou cyklodextrinu. V přítomnosti analytu dochází ke změně této interakce, v závislosti na afinitě analytu. Důsledkem toho je změna fluorescenční odezvy, která se tak stává analytickým signálem. Spojovací linker je zároveň konstruován pro možnost vázání chemosenzoru na povrch pevné fáze.

V našem konkrétním případě byl jako prekurzor třífunkčního spojovacího linkeru využit přírodní L-serin z důvodů jeho definované stereochemie. Jakožto fluorofor pak byla použita skupina kumarylová (Schéma 1), dansylová a 4-(dimethylamino)-benzoylová. Pro kotvení senzoru na pevnou fázi bude použita skupina azidová, respektive její následná „click“ reakce s koncovou acetylenickou trojnou vazbou.



$z = 5, 6, 7$; $R_1 = \text{methyl}$; NMM = *N*-methylmorpholin

Schéma 1. Princip syntézy chemosenzoru

Tato práce je podporována grantem č. MSM0021620857.

LITERATURA

1. Szejtli J.: Chem. Rev. 98, 1743 (1998).

SYNTHESIS OF *N*^α-ACETYL-ORNITHINE AND *N*-SUCCINYL-DIAMINOPIMELIC ACID ANALOGS AS POTENTIAL INHIBITORS OF BACTERIAL ENZYMES ArgE AND DapE

JAN HLAVÁČEK^{a*}, JAN PÍCHA^a, JIŘÍ JIRÁČEK^a, VÁCLAV VANĚK^a, DANUTA GILNER^b, JIŘINA SLANINOVÁ^a, VLADIMÍR FUČÍK^a, RICHARD C. HOLZ^b

^aInstitute of Organic Chemistry and Biochemistry, CAS, CZ-166 10 Prague; ^bLoyola University Chicago, Chicago, IL, 60626, USA

honzah@uochb.cas.cz

A series of *N*^α-acyl (alkyl)- and *N*^α-alkoxycarbonyl-derivatives of L- and D-ornithine (Orn) and *N*^α-acyl-derivatives of racemic diaminopimelic acid (DAP) were prepared, characterized and analyzed for their inhibitory potency towards the bacterial enzymes *N*^α-acetyl-L-ornithine deacetylase (ArgE)^{1,2} and *N*^α-succinyl-L,L-diaminopimelic acid desuccinylase (DapE)^{3,4}. Most of the Orn derivatives tested provided IC₅₀ values in the μM range⁵, indicating that they are moderately strong inhibitors. *N*^α-chloroacetyl-L-ornithine was the best inhibitor tested towards ArgE providing an IC₅₀ value of 85 μM, while *N*^α-trifluoroacetyl-L-ornithine, *N*^α-ethoxycarbonyl-L-ornithine and *N*^α-acetyl-D-ornithine weakly inhibited ArgE activity providing IC₅₀ values between 200 and 410 μM. Weak inhibitory potency towards *Bacillus subtilis*-168 for *N*^α-acetyl-D-ornithine and *N*^α-chloroacetyl-, *N*^α-dichloroacetyl- and *N*^α-trichloroacetyl-D-ornithine was also observed. These data correlate well with the IC₅₀ values determined for ArgE, suggesting that these compounds are capable of getting across the cell membrane and that ArgE is the bacterial enzymatic target. Surprisingly, the DAP derivatives showed only very weak inhibitory potency towards the bacterial enzyme DapE and weak potency towards ArgE.

Supported by the Academy of Sciences of the Czech Republic (Research Project No. Z40550506; GA AV ČR No. IAA 400550614) and by the National Science Foundation, CHE-0652981

REFERENCES

1. Ledwidge R., Blanchard J.S.: Biochemistry 38, 3019 (1999).
2. Javid-Majd F., Blanchard J.S.: Biochemistry 39, 1285 (2000).
3. Lin Y.K., Myhrman R., Schrag M.L., Gelb M.H.: J. Biol. Chem. 263, 1622 (1988).
4. Bienvenue D. L., Gilner D. M., Davis R. S., Bennett B., Holz R.C.: Biochemistry 42, 10756 (2003).
5. McGregor W., Swierczek S. I., Bennett B., Holz R.C.: J. Am. Chem. Soc. 127, 14100 (2005).

NOVÝ TYP NANOMOLÁRNÍCH NUKLEOSIDOVÝCH CYTOSTATIK

MICHAL HOCEK*, PETR NAUŠ

UOCHB AV ČR, Gilead Sciences & IOCB Research Center,
Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6
hocek@uochb.cas.cz

V rámci našeho systematického studia modifikovaných C-substituovaných purinových nukleosidů byla v minulosti objevena cytostatická a anti-HCV aktivita 6-hetarylpurin ribonukleosidů^{1,2}. Další modifikací a substitucí heterocyklické části jsme dospěli k druhé generaci velmi účinných cytostatik s nanomolárními IC₅₀ vůči některým buněčným liniím lidských nádorů. Poprvé bude prezentována struktura této skupiny látek a strukturně-aktivitní závislost jednotlivých derivátů.³ Z patentových důvodů nelze uvést strukturu v abstraktu. Nejaktivnější deriváty postoupily do *in vivo* testů ve spolupráci s Gilead Sciences a FN Olomouc.

Tato práce je součástí výzkumného projektu Z4 055 0506, podporována Centrem nových antivirových a cytostatik (IM0502) a Gilead Sciences, Inc. (Foster City, CA).

LITERATURA

1. Hocek M., Holý A., Votruba I., Dvořáková H.: J. Med. Chem. 43, 1817 (2000).
2. Hocek M., Nauš P., Pohl R., Votruba I., Furman P. A., Tharnish P. M., Otto M. J.: J. Med. Chem. 48, 5869 (2005).
3. Hocek M., Nauš P.: PCT/CZ2009/000004.

SYNTHESIS OF POLYFLUOROALKYLATED TRIPYRAZOLYLMETHANES AND SCORPIONATES VIA HECK REACTION

**MARTIN HOLAN, MARTIN SKALICKÝ,
JAROSLAV KVÍČALA**

Department of Organic Chemistry, Institute of Chemical Technology, Prague, Technická 5, 166 28 Prague 6
holanm@vscht.cz; kvicalaj@vscht.cz

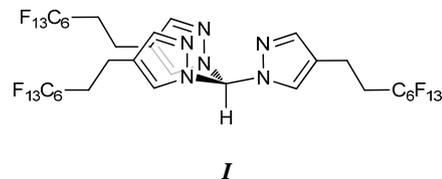
Tripyrazolylborates (scorpionates) and tripyrazolylmethanes are new types of ligands that exhibit excellent complexation ability to almost all known metal cations¹. Tripyrazolylmethanes have higher stability compared to tripyrazolylborates due to the absence of the B-H bond.

For the synthesis of tripyrazolylmethanes bearing polyfluoroalkylated chains in the position 4 of the pyrazole rings we investigated two reaction pathways.

The first reaction pathway employed the Heck reaction of (perfluoroalkyl)ethenes² with previously prepared tris(4-iodopyrazol-1-yl)methane resulting in complex mixtures of products from which the target compounds were isolated in very low yields.

The second reaction pathway started with the synthesis of polyfluoroalkylated pyrazoles as the key building blocks for fluorinated tripyrazolylmethanes. Heck reaction of (perfluoroethyl)ethene² with 4-iodo-1-(triphenylmethyl)pyrazole, followed by acidic deprotection and catalytic hydrogenation of the double bond gave 4-[2-(perfluoroethyl)ethyl]pyrazole.

Subsequently 4-[2-(perfluoroethyl)ethyl]pyrazole was smoothly transformed to the first known highly fluorinated tripyrazolylmethane (**I**) and tripyrazolylborate by the reaction with base and CHCl₃ or melting with NaBH₄ (ref.¹).



We thank the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (Research Center LC06070, research projects 6046137301 and KONTAKT ME09114-ME 857) for financial support of this project.

REFERENCES

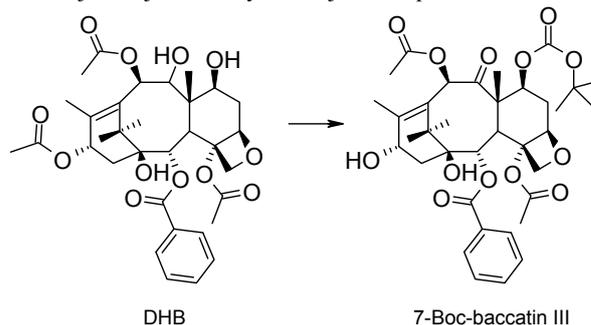
1. Trofimenko S.: Chem. Rev. 93, 943 (1993).
2. Darses S., Pucheault M., Genêt J. P.: Eur. J. Org. Chem. 2001, 1121.

VEDLEJŠÍ LÁTKY VÝROBY 7-Boc-BACCATINU III, MEZIPRODUKTU PŘI VÝROBĚ SEMISYNTETICKÉHO PACLITAXELU

TOMÁŠ HOLAS, LADISLAV CVAK

TEVA, Ivax Pharmaceuticals, Ostravská 29, 747 70 Opava-Komárov
Tomas.holas@ivax-cz.com

Klíčovou molekulou pro výrobu semisyntetického paclitaxelu, jednoho z nejuspěšnějších léků proti rakovině, se stal v naší firmě 13-acetyl-9-dihydrobaccatin III (DHB). Ten izolujeme z jehličí kanadského tisů (*Taxus canadensis*). Jeho obsah v jehličí je třikrát vyšší než je obsah paclitaxelu.



Hydroxylová skupina v poloze 7 u DHB se selektivně chrání Boc skupinou a následně se hydroxylová skupina v poloze 9 oxiduje za vzniku 13-acetyl-7-Boc-baccatinu III. Ten se dále deacetyluje za vzniku 7-Boc-baccatinu III. V rámci posteru bude prezentována syntéza 7-Boc-baccatinu III, vznik vedlejších produktů a způsob jejich eliminace

NOVÁ REGIOSELEKTIVNÍ SUBSTITUCE HORNÍHO OKRAJE CALIX[4]ARENU

OLDŘICH HUDEČEK^a, JAN BUDKA^a, VÁCLAV EIGNER^a, JAN SÝKORA^b, PAVEL LHOTÁK^a

^aÚstav organické chemie, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28, Praha 6; ^bÚstav chemických procesů AV ČR, v.v.i., Rozvojová 2/135, 165 02, Praha 6-Suchbátka
hudecekl@vscht.cz

Zavedením nosylové (*p*-nitrobenzonsulfonylové) skupiny na spodní okraj calixarenového skeletu lze cíleně deaktivovat tato jádra vůči další substituci. Těto vlastnosti lze využít pro následnou (*ipso*)nitraci dinosyloxy-dialkoxy (distálního/proximálního) derivátu, kdy dochází k regioselektivní substituci. Reakce je uskutečnitelná ve vysokých výtěžcích. Odstraněním chránící nosylové skupiny lze připravit zajímavé prekurzory k dalším, jinak obtížně připravitelným derivátům v konické, 1,2- nebo 1,3-alternující konformaci. Další derivatizace těchto látek by mohla být cestou k přípravě nových receptorů aniontů, případně iontových párů.

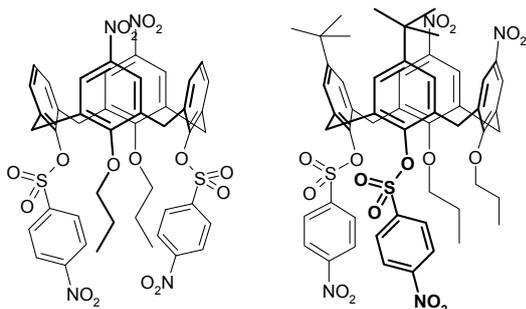


Schéma 1. Příklady distálně a proximálně substituovaných dinitroderivátů

Tato práce vznikla za podpory grantu GAAV IAAX08240901 a MSM 6046137301.

LITERATURA

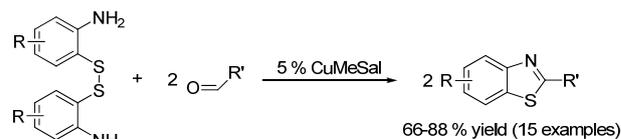
1. Verboom W., Durie A., Egberink R. J. M., Asfari Z., Reinhoudt D. N.: *J. Org. Chem.* 57, 1313 (1992).
2. Stastny V., Lhotak P., Michlová V., Stibor I., Sykora J.: *Tetrahedron* 58, 7207 (2002).
3. Wong S. M., Xia P. F., Lo P. K., Sun X. H., Wong W. Y., Shuang S.: *J. Org. Chem.* 71, 940 (2006).
4. Lhotak P., Bila A., Budka J., Pojarova M., Stibor I.: *Chem. Commun.* 2008, 1662.

Cu(I)-CATALYZED FORMATION OF BENZOTHAZOLES FROM ANILINEDISULFIDES AND ALDEHYDES

JAKUB HÝVL, JIŘÍ ŠROGL*

*Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, ASCR, Flemingovo nám. 2, 16610 Praha 6
jsrogl@uochb.cas.cz*

Substituted 2,2'-dithiodianilines and aldehydes are used as precursors for a mild synthesis of benzothiazoles in the copper-catalyzed process. Aryl as well as aliphatic aldehydes without α -hydrogen can be used as the reaction substrates, furnishing the desired benzothiazoles in good yields. The efficient transformation tolerates various functional groups and the products are obtained after a simple column chromatography.



Scheme 1.

This work was supported by The Grant Agency of the Czech Republic (GA ČR), No. 203/08/1318.

REFERENCE

1. Šrogl J., Hývl J., Révész A., Schröder D.: *Chem. Comm.* 23, 3463 (2009).

CHOLINESTERASOVÁ A ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA ISOCHINOLINOVÝCH TERCIÁRNÍCH ALKALOIDŮ CORYDALIS CAVA

JAKUB CHLEBEK^a, LUCIE CAHLÍKOVÁ^a, KATEŘINA MACÁKOVÁ^a, LUBOMÍR OPLETAL^a, MILAN KURFÜRST^b

^aKatedra farmaceutické botaniky a ekologie, FarmF UK, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové, ^bÚstav chemických procesů AV ČR, Rozvojová 135, 165 02 Praha 6
Jakub.Chlebek@faf.cuni.cz

Z hlíz dymnivky duté (*Corydalis cava*) byl připraven sumární ethanolový extrakt, ze kterého byly získány čisté koncentráty isochinolinových alkaloidů (slabě, středně a silně bazické alkaloidy, jodidy kvartérních bází ze slabě kyselého prostředí a jodidy kvartérních bází ze slabě alkalického prostředí)¹.

Pomocí běžných chromatografických metod bylo izolováno z frakce alkaloidního koncentrátu, obsahujícího slabě až středně bazické alkaloidy 13 látek; 9 z těchto alkaloidů různých strukturních podtypů (tetrahydropalmatin, skulerin, korypalmin, sinoakutin, korykavamin, allokryptopin, bulbokapnin, *N*-methylaurotetanin a korynolin) v množství dostatečném pro provedení testů biologické aktivity bylo

podrobeno *in vitro* stanovení celkové antioxidační aktivity a vlivu na lidské cholinesterasy.

Celková antioxidační aktivita byla zjištěna DPPH testem. Stanovené hodnoty EC_{50} alkaloidů byly porovnány s hodnotami EC_{50} referenčních látek (Trolox, kvercetin). Vysoký stupeň antioxidační aktivity vykazoval skulerin 102 μ M (Trolox 27,8 μ M, kvercetin 25,3 μ M), jiné alkaloidy např. allokryptopin nebyly vůbec antioxidačně aktivní.

Cholinesterasové inhibiční aktivity byly zjištěny za použití lidské erytrocytární AChE a sérové BuChE. Aktivita byla měřena spektrofotometricky za použití standardní Ellmanovy metody. Izolované alkaloidy vykazovaly výraznější inhibiční aktivitu vůči AChE a BuChE až při nejvyšší měřené koncentraci 1 mM. V této koncentraci byla AChE nejlépe inhibována allokryptopinem (72,34 %; IC_{50} 249,7 μ M), BuChE bulbokapninem (94,96 %; IC_{50} 67 μ M). Stanovené hodnoty IC_{50} byly porovnány se standardy (BuChE: eserin 1,62 μ M; AChE: galanthamin 6,9 μ M, huperzin A 0,252 μ M).

Tato práce vznikla za finanční podpory grantu GA UK 122309.

LITERATURA

- Slavík J., Slavíková L.: Collect. Czech. Chem. Commun. 44, 2261 (1979).

NOVÝ A SELEKTIVNÍ PŘÍSTUP VEDOUcí K 7-ALLYLADENINŮM

NADĚŽDA CHUDÍKOVÁ, DALIMIL DVOŘÁK

Vysoká škola chemicko-technologická, FCHT, Ústav organické chemie, Technická 5, 166 28 Praha 6
chudikon@vscht.cz

Asmariny (4) jsou mořské alkaloidy s unikátní strukturou a zajímavými biologickými vlastnostmi¹. Syntéza těchto látek vychází z 7-allyl-purinových derivátů. K dnešnímu dni lze výchozí 7-allylpuriny připravit buď přímou, neselektivní alkyací s nízkým izolovaným výtěžkem 30 % nebo s využitím reaktivity sofistikovaných, ale obtížně připravitelných Co-komplexů^{2,3}.

V naší laboratoři jsme se proto zaměřili na vypracování selektivní metodiky pro přípravu 7-allylpurinů pro syntézu asmarinových derivátů. Syntetický postup (Schéma 1) je založen na přímé alkylation chráněného 7,8-dihydropurinu 1 za vzniku *N*-7-allylového derivátu 2. V dalším kroku je odstraněna chránící skupina (PG) a oxidací je obnoven purinový skelet. Záměnou atomu chloru v poloze 6 za aminoskupinu vznikají 7-allyladeniny 3, které budou využity jako výchozí látky pro palladiem katalyzovanou syntézu asmarinů.

I přes fakt, že přeměna 3 na 4 nebyla zatím provedena, předběžné výsledky naznačují, že navržený postup umožní selektivní a jednoduchý přístup k asmarinovým derivátům.

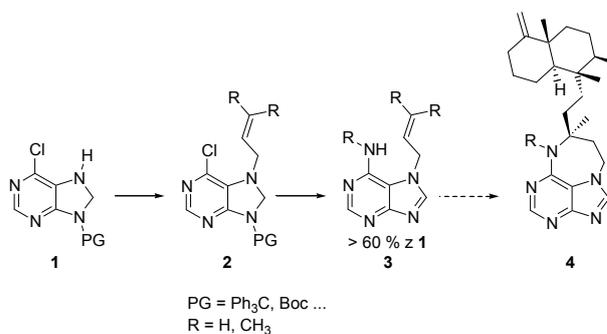


Schéma 1. Návrh syntézy asmarinových derivátů

Tato práce byla podporována grantovou agenturou ČR (GA ČR 203/09/1552) a Centrem základního výzkumu LC06070: "Struktura a syntetické aplikace komplexů přechodných kovů" Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky.

LITERATURA

- Pappo D., Rudi A., Kasman Y.: Tetrahedron Lett. 42, 5941 (2001).
- Vik A., Gundersen L.: Tetrahedron Lett. 48, 1931 (2007).
- Dalby C., Bleasdale C., Clegg W., Elsegood M. R. J., Golding B. T., Griffin R. J.: Angew. Chem. Int. Ed. 32, 1696 (1993).

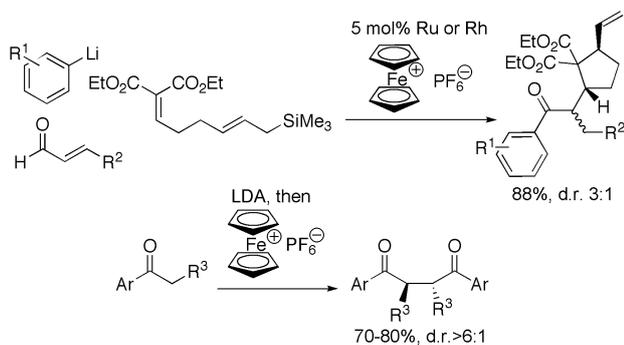
MERGING RADICAL CHEMISTRY WITH TRANSITION METAL CATALYSIS AND ORGANOMETALLIC REACTIONS - POWERFUL SEQUENCES AND UNEXPECTED REACTIVITIES

LEIGH FORD^a, ELMAR DEISTER^b, EMANUELA DINCA^b, PRATAP JAGTAP^a, ULLRICH JAHN^a

^aInstitute of Organic Chemistry and Biochemistry, ASCR, Flemingovo 2, CZ-16 610 Prague 6; ^bInstitut für Org. Chemie, TU Braunschweig, Hagenring 30, D-38106 Braunschweig
jahn@uochb.cas.cz

Free radical reactions represent today a powerful tool for organic chemists to access complex molecules under mild conditions thanks to the groundbreaking efforts and achievements of physical organic chemistry¹. Radicals as reactive intermediates of central oxidation state are also ideally suited to be combined with other intermediates by electron transfer. This expands their applicability even more.

We present unprecedented domino reactions where the organometallic intermediates, transition metal catalysis, radicals and also carbocations are linked by electron transfer steps. On the way to these sequences, we discovered also that enolate precursors constrain the reactivity of radicals. In this way the stereoselectivity of radical reactions can be influenced efficiently leading for instance to highly stereoselective oxidative dimerizations.



REFERENCE

1. *Radicals in Organic Synthesis*, Vol. 1+2 (Renaud P., Sibi M. P., ed.), Wiley-VCH, Weinheim 2001.

POTENCIÁLNÍ INHIBITORY
GALATOSYLTRANSFERAS

**IREKHJARGAL JAMBAL, KAREL KEFURT,
JITKA MORAVCOVÁ***

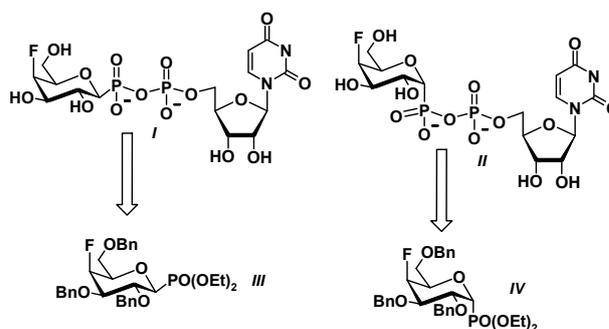
Ústav chemie přírodních látek, VŠCHT Praha, Technická 5,
166 28 Praha 6

Jitka.Moravcova@vscht.cz

Jak α -1,3-, tak β -1,4-galaktosyltransferasy katalyzují přenos D-galaktosy z α -galaktopyranosyl-UDP na sacharidovou jednotku glykokonjugátů. Velmi často slouží právě terminální D-galaktosa jako místo pro zachycení patogenu na cílové buňce, což je první krok v rozvoji onemocnění. Hledání potenciálních inhibitorů těchto enzymů proto stojí v popředí zájmu organických chemiků a biochemiků. Ačkoliv oba enzymy využívají stejný aktivovaný donor a oba jsou inhibovány vznikajícím UDP, aktivita různých typů inhibitorů může být zcela různá.

Strukturní motivem naší skupiny inhibitorů je nahrazení difosfátové vazby donoru nehydrolyzovatelnou vazbou fosfonofosfátovou a současně zavedení atomu fluoru, neboť fluorované fosfonáty byly identifikovány jako slibný strukturní motiv s biologickou aktivitou¹. Jsou vhodné pro cukerné syntézy zejména proto, že se snadno ve vysokém výtěžku připravují i selektivně a za mírných podmínek se odstraňují za vzniku volné anomerní hydroxylové skupiny. Navíc lze thioglykosidy dobře použít jako glykosyldonory a nebo je poměrně snadno oxidovat na příslušné sulfoxidy a sulfony, které mohou být používány pro nukleofilní substituce.

Posledním krokem mnohastupňové syntézy fosfonofosfátů **I** a **II** je modifikovaná Moffatova-Khoranova reakce fosfonátů **III** a **IV** s uridinofosfomorfolidátem za katalýzy 1*H*-tetrazolem.



Tato práce vznikla za podpory grantu MŠMT ČR 6046137305.

LITERATURA

1. Romanenko V. D., Kukhar V. P.: *Chem Rev.* 106, 3868 (2006).

EFEKTIVNÍ PŘÍPRAVA NERACEMICKÝCH
HELIKÁLNĚ CHIRÁLNÍCH LÁTEK ODVOZENÝCH
OD AZA[5]HELICENŮ

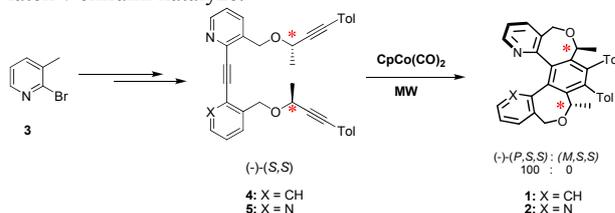
**ANDREJ JANČAŘÍK, IRENA G. STARÁ*,
IVO STARÝ***

Ústav organické chemie a biochemie, Akademie věd České republiky, v.v.i., Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6
jancarik@uochb.cas.cz

Neracemické helicenony, které představují inherentně chirální 3D aromatické molekuly, se jeví jako slibné ligandy pro použití v enantioselektivní katalýze. Opticky čisté látky podobné helicenům, které nejsou plně aromatické, ale zaujímají helikální uspořádání, mohou být snáze připravenelné pomocí asymetrické syntézy než samotné helicenony.

Syntéza neracemických helikálních látek **1** a **2** vychází z komerčně dostupného brompyridinu **3**, který je v několika stupních převeden na odpovídající trieny **4** a **5**. Klíčovým krokem syntézy je intramolekulární [2+2+2] cyklotrimerizace trienů, která je intenzivně studována naší skupinou¹. Jako nejúčinnější metoda se jeví [2+2+2] cyklotrimerizace katalyzovaná kobaltem za současného působení mikrovlnného záření. Reakce probíhá za termodynamické kontroly a poskytuje ve vysokém výtěžku pouze jeden diastereoisomer (*P,S,S*)-**1** respektive (*P,S,S*)-**2**.

V současné době je pozornost věnována uplatnění těchto látek v chirální katalýze.



Podporováno GA ČR (reg. č. 203/07/1664), GA AV ČR (reg. č. IAA400550916), MŠMT (Centrum pro biomolekuly a

komplexní molekulární systémy, reg. č. LC512) a ÚOCHB AV ČR (tato studie je součástí výzkumného záměru Z4 055 0506).

LITERATURA

- Míšek J., Teplý F., Stará I. G., Tichý M., Šaman D., Císařová I., Vojtíšek P., Starý I.: *Angew. Chem. Int. Ed.* 47, 2074 (2008).
- Sehnal P., Krausová Z., Teplý F., Stará I. G., Starý I., Rulišek L., Šaman D., Císařová I. J.: *Org. Chem.* 73, 2074 (2008).

BUCHWALD-HARTWIGOVA AMINÁCIA V SYNTÉZE DERIVÁTOV AKRIDÍNU

LADISLAV JANOVEC*, JÁN UNGVARSKÝ, PAVOL KRISTIAN, JÁN IMRICH

Univerzita Pavla Jozefa Šafárika, Prírodovedecká fakulta, Ústav chemických vied, Katedra organickej chémie, Moyzesova 11, 04167 Košice

ladislav.janovec@upjs.sk

Deriváty akridínu, známe svojimi biologickými a fluorescenčnými vlastnosťami, sú cieľom mnohých syntetických modifikácií so zámerom vylepšiť ich účinnosť. Jedna z najpoužívanejších syntéz na prípravu ich prekursorov je Ullmann-Jourdanova reakcia¹, ktorá vychádza z *orto*-halogén derivátov kyseliny benzoovej a príslušne substituovaných anilínov.

Keďže Ullmann-Jourdanova reakcia v prípade príslušných nitro-derivovaných reaktantov nebola dostatočne efektívna, alternatívnym spôsobom syntézy sa ukázala byť Buchwald-Hartwigova aminácia^{2,3} s použitím 2-bróm-4-nitrotoluénu a 3-nitroanilínu. Naším cieľom bolo štúdium reakčných podmienok zahŕňujúce zmenu bázy, paládiového katalyzátora, ako aj fosfinového ligandu a ich vzájomných pomerov.

Zo všetkých uskutočnených experimentov sa najvhodnejšou ukázala byť kombinácia K₂CO₃, 2-dicyklofosfín-2',6'-dimetoxybifenyly a paládium acetylacetonátu v molárnom pomere 4.8 : 0.04 : 0.01.

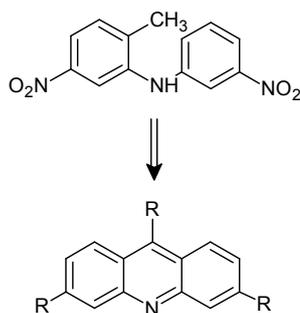


Schéma 1. Produkt Buchwald-Hartwigovej aminácie ako prekursor v syntéze derivátov akridínu

Táto práca vznikla za podpory grantovej agentúry VEGA (granty č. 1/0476/08 a 1/0053/08), štátneho NMR programu

(grant č. 2003SP200280203) a interného grantového programu Univerzity P. J. Šafárika v Košiciach (VVGS č.7/09-10).

LITERATÚRA

- Csuk R., Barthel A., Raschke Ch.: *Tetrahedron* 60, 5737 (2004).
- Louie J., Hartwig J. F.: *Tetrahedron Lett.* 1995, 3609.
- Wolfe J. P., Buchwald S. L.: *J. Org. Chem.* 61, 1133 (1996).

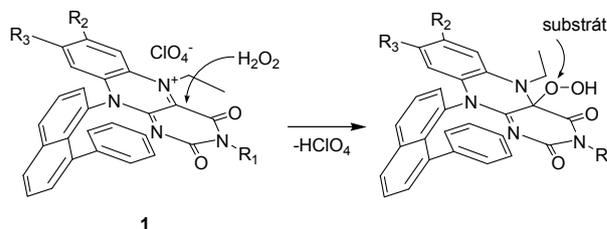
PLANÁRNĚ CHIRÁLNI FLAVINIOVÉ SOLI JAKO KATALYZÁTORY OXIDAČNÍCH REAKCÍ

RADEK JUROK, **RADEK CIBULKA**

Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6
jurokr@vscht.cz; cibulka@vscht.cz

Flaviniové soli predstavujú nadějné organokatalyzátory pro oxidaci sulfidů, terciárních aminů a Baeyer-Villigerovy oxidace, s použitím peroxidu vodíku jako stechiometrického oxidačního činidla¹. Oxidace katalyzované flaviniovými solemi probíhají chemoselektivně a za mírných podmínek. Vlastním oxidačním činidlem je příslušný flavin-4a-hydroperoxid vznikající reakcí flaviniové soli s peroxidem vodíku. Příkladů použití chirálních flaviniových soli jako katalyzátorů enantioselektivních oxidací však bylo dosud v literatuře publikováno jen málo².

Navrhli jsme proto planárně chirální flaviniové soli **1**, v kterých je přístup peroxidu vodíku i substrátu z jedné strany katalyzátoru blokován benzenovým jádrem připojeným rigidní naftalenovou spojkou. Flavinový skelet jsme současně derivatizovali s výhledem na modifikování katalytických vlastností a resoluci enantiomerů převedením na diastereomery.



S připravenými racemickými flaviniovými solemi jsme nejdříve provedli kinetická měření oxidace modelových substrátů (sulfidy, terciární aminy, 3-fenylcyclobutanon).

Nesubstituované racemické flaviny jsme na enantiomery rozdělili pomocí chirální HPLC a substituované flaviny po převedení na vhodné diastereomery sloupcovou chromatografií. Nejvíce pozornosti jsme věnovali stereoselektivním oxidacím alkyl(aryl)sulfidů (max. *ee* = 53 %).

Autoři děkují Grantové agentuře České republiky (projekt č. 203/07/1246) za finanční podporu.

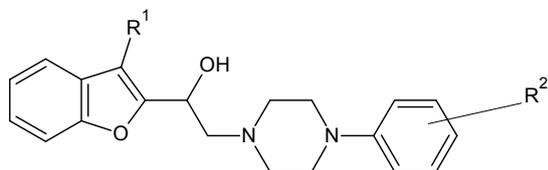
LITERATURA

1. Gelalcha F.G.: Chem. Rev. 107, 3338 (2007).
2. Shinkai S., Yamaguchi T., Manabe O., Toda F.: Chem. Commun. 1988, 1399; Murahashi S.-I.: Angew Chem. Int. Ed. 34, 2443 (1995); Murahashi S.-I., Ono S., Imada Y.: Angew Chem. Int. Ed. 41, 2366 (2002).

VÝPOČTY CHEMICKY A FARMAKOLOGICKY ZAJÍMAVÝCH STRUKTURNÍCH PARAMETRŮ SUBSTITUOVANÝCH PIPERAZINETHANOLŮ
IVAN RAICH^{*a}, SANDRA KÁČEROVÁ^a, JOSEF JAMPÍLEK^b

^aÚstav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6; ^bZentiva a.s., U kabelovny 130, 102 37 Praha 10
Ivan.Raich@vscht.cz.

Pro řadu substituovaných piperazinethanolů obecného vzorce **1** byly s použitím *ab initio* metod a predikčních programů předpovídány farmakologicky zajímavé fyzikálně chemické vlastnosti¹, především log *P*, afinita k protonu, *pK_a* a parciální náboje.



1 R¹=Me, Et; R²=H, F, Me, CF₃, OMe

Klíčovým bodem byly geometrické optimalizace všech 12 studovaných látek, které byly prováděny ve vakuu i v solvatovaném stavu na úrovních AM1 a HF/6-31G.

Použitým rozpouštědlem pro solvatovaný stav byl diethylether, který byl simulován za použití solvatačního modelu CPCM. Nalezená minima odpovídající zastoupeným konformerům byla verifikována pomocí frekvenčních výpočtů. Zastoupení jednotlivých konformerů bylo vypočteno s využitím Boltzmannova vztahu. Pro predikci rozdělovacích a distribučních koeficientů byly použity programy ACD/ChemSketch a ACD/LogP DB. Hodnoty *pK_a* byly predikovány pomocí programu ACD/pKa DB. Vypočtené a predikované hodnoty byly porovnány s dostupnými experimentálními údaji z literatury.

Tato práce vznikla za podpory grantu MŠMT ČR MSM6046137305.

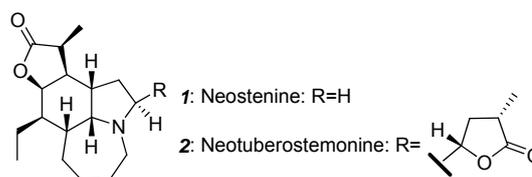
LITERATURA

1. Opatřilová R., Jampílek J., Raich I., Káčerová S., Havlíček J., Pekárek T., Dohnal J., Csollei J.: Curr. Org. Chem. 13, 965 (2009).

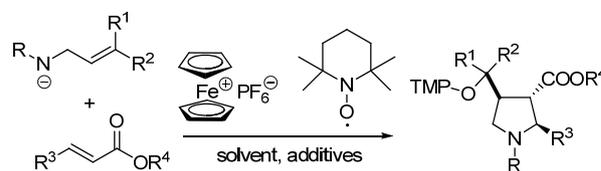
STEREOSELECTIVE APPROACHES TO POLYSUBSTITUTED PYRROLIDINES VIA TANDEM AZA-MICHAEL ADDITIONS-RADICAL CYCLISATIONS
FRANTIŠEK KAFKA^a, ULLRICH JAHN^{*a}, RADEK POHL^a, PETER G. JONES^b

^aInstitute of Organic Chemistry and Biochemistry, ASCR, Flemingovo 2, CZ-166 10 Prague 6; ^bInstitut für Anorganische und Analytische Chemie, TU Braunschweig, Hagenring 30, 38106 Braunschweig, Germany
jahn@uochb.cas.cz

Our target is to develop diastereoselective approaches to polysubstituted pyrrolidines in complex natural products such as the Stemona alkaloids neostenine **1** and neotuberostemonine **2**. Employment of tandem processes in the synthetic strategy allows us to take control over the formation of the up to three stereogenic centres in one-pot reaction.



We present novel synthetic routes to 4-substituted pyrrolidine-3-carboxylates consisting of tandem aza-Michael additions/radical cyclisations and oxidative 5-*exo* radical cyclisations of β -aminoesters¹. Variation of the reaction conditions and additives enables us both to control the diastereoselectivity (up to 9:1) and to access either diastereomer from the cyclisations in reasonable yield. The use of a chiral auxiliary as a *N*-substituent yields in exclusive formation of pyrrolidines with 3,4-*cis* configuration.



We also report derivatisations of the prepared pyrrolidine carboxylates via deprotection of TMP-unit in order to determine the absolute stereochemistry and to extend their synthetic use further.

REFERENCE

1. Jahn U., Kafka F., Pohl R., Jones P.G.: Tetrahedron, accepted for publication.

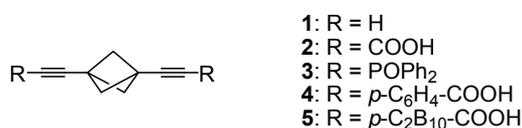
PREKURZORY MOF ODVOZENÉ OD 1,3-DIETHYNYLBICYKLO[1.1.1]PENTANU

JIRÍ KALETA, CTIBOR MAZAL

Ústav chemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Kotlářská 2, 611 37 Brno
kaleta@mail.muni.cz

Velký rozkvět zaznamenala v posledních letech chemie hybridních organicko-anorganických materiálů – MOF (MOF = **M**etal-**O**rganic **F**ramework). Tyto často vysoce porézní látky nacházejí v současnosti stále větší praktické využití (katalyzátory, senzory, čištění a skladování plynů...). V podstatě se jedná o 2D či 3D struktury skládající se z relativně jednoduchých organických molekul, které spojují jednotlivé atomy kovů. Vlastnosti organické molekuly (funkčnost, rigidita vs. flexibilita, délka...) často dramatickým způsobem ovlivní vlastnosti získaného materiálu.

Cílem tohoto projektu byla syntéza různě dlouhých (1 – 2 nm) rigidních bifunkčních derivátů (**2** – **5**) odvozených od 1,3-diethynylbicyklo[1.1.1]pentanu (**1**). Získané látky byly postoupeny následnému krystalografickému studiu.



Výchozí diyne **1** byl připraven ve čtyřech známých krocích z tetrahalidu **6** (Schéma 1)¹⁻³. Po optimalizaci reakčních podmínek je nyní požadovaná výchozí látka **1** získávána v gramových množstvích.

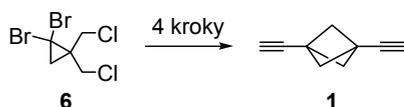


Schéma 1

Postupně byla připravena široká škála derivátů odvozených od uhlovodíku **1**. Struktura několika těchto látek byla potvrzena mimo jiné pomocí RTG strukturní analýzy. Využití těchto látek při tvorbě MOF je předmětem dalšího studia.

Projekt KONTAKT ME 09114 MŠMT, National Science Foundation (USA) a výzkumný záměr MSM0021622410.

LITERATURA

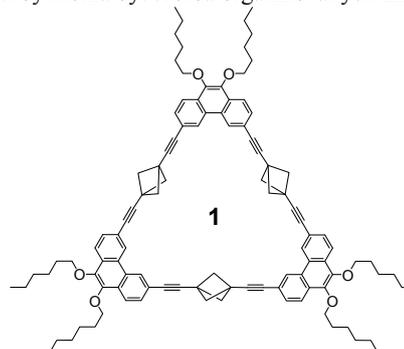
1. Mondanaro K. R., Dailey W. P.: *Org. Synt. Coll.* 10, 658 (2004).
2. Kaszynski P., Michl J.: *J. Org. Chem.* 53, 4594 (1988).
3. Schwab P., Noll B., Michl J.: *J. Org. Chem.* 67, 5476 (2002).

MOLEKULÁRNÍ TROJÚHELNÍK

JIRÍ KALETA, CTIBOR MAZAL

Ústav chemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Kotlářská 2, 61137 Brno
kaleta@mail.muni.cz

Jednou z intenzivně studovaných vlastností molekul, která získává stále více na významu, je schopnost jejich samoorganizace (self-assembly) do rozsáhlejších komplexních supramolekulárních útvarů. Náš výzkum byl zaměřen na přípravu a následné studium vlastností trojúhelníkovité molekuly **1**, kterou lze zařadit do skupiny tak zvaných tvarově stálých (shape-persistent) makrocyclů (tj. makrocyclických molekul, jejichž více či méně rigidní struktura nemůže zkolabovat). Jednou z častých vlastností planárních shape-persistentních makrocyclů je tvorba sloupcovitých (columnar) fází, při jejichž uspořádání hraje významnou roli π - π stacking aromatických kruhů¹. Struktura látky **1** byla navržena s ohledem na skutečnost, že v makrocyclické molekule kombinuje rovinné části aromatických kruhů s prostorově objemnými bicyklo[1.1.1]pentanovými jednotkami, v očekávání, jak tento fakt ovlivní samoskladbu a vznik zmíněných kolonových fází. Předpokládali jsme, že tento způsob samoorganizace již nebude možný a trojúhelník **1** bude pravděpodobně upřednostňovat jiný typ uspořádání. Jednou z možností by mohla být tvorba organizovaných 2D filmů.



Lineární, cca 10ti krokovou syntézou byl z levných, komerčně dostupných látek (fenanthren-9,10-dion a pentaerythritol) připraven požadovaný trojúhelník **1**. Jednotlivé syntetické kroky byly optimalizovány a nyní je teoreticky možné získat finální produkt v gramových množstvích.

Bylo zjištěno, že trojúhelník **1** velice ochotně vytváří tenké a pevné membrány. Studium jejich struktury a vlastností je oblastí zájmu dalšího zkoumání.

Projekt KONTAKT ME 09114 Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy, National Science Foundation (USA) a grant číslo 203/05/0961 české grantové agentury.

LITERATURA

1. Höger S.: *Chem. Eur. J.* 10, 1320 (2004).

PŘÍPRAVA A SUZUKIHO REAKCE 2-BROMVINAMIDINIOVÝCH SOLÍ

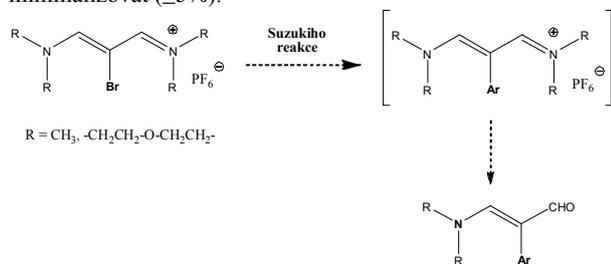
ROMAN KEDER, DALIMIL DVOŘÁK

Vysoká škola chemicko-technologická, Fakulta chemicko-technologická, Ústav organické chemie, Technická 5, Praha 6, 166 28, CZ. Roman.Keder@vscht.cz

Vinamidiniové soli patří k významným intermediátům v syntéze heterocyklických sloučenin a polyaromatických systémů. Tyto sloučeniny se vyznačují „push-pull“ efektem a je pro ně charakteristická reaktivita jak k nukleofilům, tak i k elektrofilům.

V posledních letech se objevily práce, v nichž byly úspěšně publikovány palladiem katalyzované Suzukiho reakce 2-chlor-*N,N*-diisopropylvinamidiniových solí.

V naší laboratoři jsme se zabývali Suzukiho reakcemi 2-brom-*N,N*-dialkyl-vinamidiniových solí. Ve všech případech těchto reakcí byl izolován jako hlavní produkt 2-aryl-3-(*N,N*-dialkylamino)acrolein, rovněž byl pozorován vznik vedlejšího produktu 3-(*N,N*-dialkylamino)acroleinu. Optimalizaci reakčních podmínek se nám podařilo vznik tohoto produktu minimalizovat ($\leq 5\%$).



Tento projekt byl podpořen výzkumným centrem Ministerstva školství, mládeže a sportu „Struktura a Syntetické využití komplexů přechodných kovů“ LC06070 a MŠMT 6046137301.

LITERATURA

1. Kucera J., Arnold Z.: Collect. Czech. Chem. Commun. 32, 3792 (1967).
2. Lloyd D., McNab H.: Angew. Chem. Int. Ed. 15, 459 (1976).
3. Davis W. I., Wu J., Marcoux J.-F., Taylor M., Hughes D., Reider P. J., Deeth R. J.: Tetrahedron 57, 5061 (2001).

NHC LIGANDY S POLYFLUORARYLOVÝMI SUBSTITUENTY A JEJICH KOMPLEXY

**VENDULA KELBICOVÁ, MARTIN SKALICKÝ,
JAROSLAV KVÍČALA**

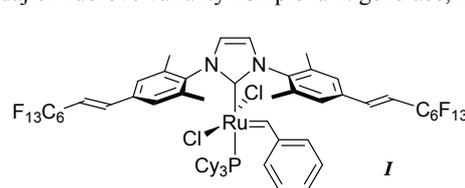
*Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6
kelbichv@vscht.cz*

N-heterocyklické karbenové (NHC) ligandy mají významnou roli v homogenní katalýze¹. Fluorová chemie

umožňuje recyklaci komplexů přechodných kovů, a proto lze v posledních letech pozorovat zvýšený zájem o syntézu ligandů substituovaných dlouhými polyfluorovanými řetězci². Ty umožňují separace na základě fluorofilních interakcí (fluorová extrakce, fluorová SPE).

V první fázi jsme jako klíčové intermediáty pro fluorové NHC ligandy syntetizovali imidazoliové soli s perfluoralkylými řetězci oddělenými od dusíkatého heterocyklu nefluorovanou alkenylarylovou nebo alkylylovou spojkou. Výchozí 2,6-dimethylanilin jsme nejprve převedli na 4-jod-2,6-dimethylanilin, ze kterého jsme reakcí s glyoxalem připravili *N,N*-bis(4-jod-2,6-dimethylfenyl)ethandiyliidendiamin. Pro zavedení fluorovaného řetězce do molekuly jsme využili Heckovu reakci tohoto diiminu s příslušnými (perfluoralkyl)etheny. Následnou reakcí s paraformaldehydem a případnou hydrogenací jsme získali cílové imidazoliové soli.

V druhé fázi jsme studovali transformace těchto solí na NHC ligandy a jejich komplexace s přechodnými kovy. Reakcí s uhlíkatým stříbrným jsme tak připravili stříbrný karbenový komplex. Při syntézách rutheniových komplexů jsme nejprve reakcí imidazoliových solí s *tert*-pentanolátem draselným získali intermediární karben, který s Grubbsovým nebo Hoveydoým-Grubbsovým komplexem 1. generace poskytl odpovídající fluorové varianty komplexů 2. generace, např. **I**.



Děkujeme MŠMT (projekt KONTAKT ME09114-ME857, Výzkumné centrum LC 06070, Výzkumný záměr 6046137301) a GA ČR (grant č. 203/06/1516) za finanční podporu.

LITERATURA

1. Herrmann W. A.: Angew. Chem. Int. Ed. 41, 1290 (2002).
2. Fürstner A., Ackermann L., Gabor B., Goddard R., Lehmann C. W., Mynott R., Stelzer F., Thiel O. R.: Chem. Eur. J. 7, 3236 (2001).

ZPŮSOB ESTERIFIKACE HYALURONANU

**SOFIANE KETTOU^a, RADOVAN BUFFA^a, LUKÁŠ
PALEK^a, MARTIN PRAVDA^a, RADIM HRDINA^b,
VLADIMÍR VELEBNÝ^a**

*^aCPN spol. s r.o. 561 02 Dolní Dobruč 401; ^bÚstav organické chemie a technologie, Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice, Studentská 573, 532 10 Pardubice
kettou@contipro.cz*

Hyaluronová kyselina (HA) jakožto vysokomolekulární glykosaminoglykan, polysacharid, který je výrazně rozpustný ve vodě, sám o sobě neumožňuje aplikace v oblasti tkáňového inženýrství. Snad už historické, i když dosud nepřekonané, se zdají v tomto směru estery hyaluronanu, tzv. HYAFFy¹. Z celé

řady biomedicínských aplikací jen námtkou jedna z oblastí vaskulárních transplantátů².

Cílem této práce bylo provést esterifikaci hyaluronanu (HA) na karboxylové skupině pomocí reakce s halogenalkany ve vodě nebo směsi voda-organické rozpouštědlo a vyjít přitom z hyaluronanu (sodné soli) jako startovního materiálu. Podařilo se nám obejít nerozpustnost hyaluronanu v dimethylsulfoxidu, kde jiní autoři museli složitě převádět hyaluronan na tetraalkylamonnou sůl. Hyaluronan je rozpuštěn ve vodě a poté je přidán dimethylsulfoxid. Originalita postupu je v použitém rozpouštědle (směs s vodou), přičemž výhodou je nižší ekologická zátěž oproti jiným postupům, kde se využívá jako rozpouštědlo čistý dimethylsulfoxid. Vedlejším produktem je halogenid sodný, prakticky netoxický oproti organickým amoniovým solím. Detailněji jsme se zabývali vznikem produktů esterifikace hyaluronanu 1,2-dibromethanem (viz Schéma I) a cílem bylo optimalizovat reakci na maximální stupeň substituce a molekulovou hmotnost polymeru s ohledem na možné síťování.

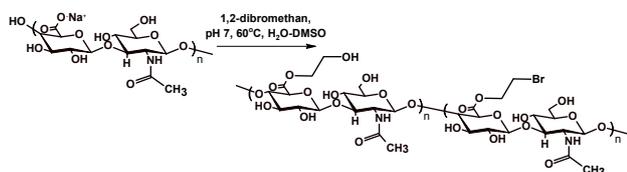


Schéma I

Z výsledků vyplývá, že nejsnáze reagují s karboxylovou skupinou hyaluronanu alkylbromidy a alkyljodidy. Naproti tomu alkylchloridy nedaly příslušné estery nebo byla substituce velmi nízká. Vzhledem k možné hydrolyze alkylhalogenidů vodou na příslušný alkohol a halogenvodíkovou kyselinu se ukázalo jako velmi vhodné udržování pH během reakce. Maximální dosažené stupně substituce se pohybovaly do 40 % (mol/mol) a nárůst molekulové hmotnosti polymeru byl sedminásobný. Výsledky této práce jsou shrnuty v patentové přihlášce PV 2009-399.

LITERATURA

- della Valle F., Romeo A.: New polysaccharide esters and their salts. EP0216453, 7 July 1986.
- Turner N. J., Kielty C. M., Walker M. G., Canfield A.E., Ann E.: Biomaterials 25, 5955 (2004).

MODIFIED CUCURBIT[6]JURIL AND ITS SUPRAMOLECULAR INTERACTIONS WITH METHYLVIIOLOGEN

MUHAMMAD SHAMSUL AZIM KHAN, VLADIMIR SINDELAR*

Department of Chemistry, Masaryk University, Kotlářská 2,
611 37 Brno
sindelar@chemi.muni.cz

A robust water soluble modified macrocyclic cavitand hexamethylated cucurbit[6]juril (MeCB6) was prepared,

purified and characterized by NMR, MALDI-TOF MS and X-ray diffraction techniques^{1,3}. The parent cucurbit[6]juril is a macrocyclic hollow barrel having six glycoluril units connected by twelve methylene bridges². High solubility of MeCB6 in pure water allowed us to study its supramolecular interactions with guest such as methylviologen (MeV²⁺) in solution as well as in solid state. We determined binding mode of MeV²⁺- MeCB6 complex in pure water using ¹H-NMR technique and measured high value of association constant of the complex to be $(2.05 \pm 0.21) \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ using UV-vis spectrophotometry (titration method). An extraordinary 2000-fold drop in the association constant of the complex was observed when pure water was replaced by 50 mM NaCl solution^{3,4}.

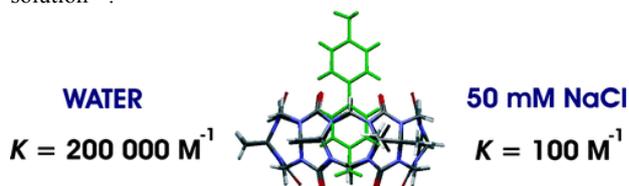


Figure 1. Wireframe representation of the crystal structure of MeV²⁺ – MeCB6 complex describing the remarkable salt effect

We are grateful to the Grant Agency of the Czech Republic for financial support (grant 203/07/P382) of this work.

REFERENCES

- Day A. I., Arnold A. P., Blanch R. J.: Molecules 8, 74 (2003).
- Kim J., Jung I. S., Kim S.-Y., Lee E., Kang J.-K., Sakamoto S., Yamaguchi K., Kim K.: J. Am. Chem. Soc. 122, 540 (2000).
- Khan M. S. A., Heger D., Necas M., Sindelar V.: J. Phys. Chem., B, 113, 11054 (2009).
- Ong W., Kaifer A. E.: J. Org. Chem. 69, 1383 (2004).

STEREOSELEKTIVNÍ SYNTÉZA (1→3)-C-DISACHARIDŮ JAKO NEHYDROLYZOVATELNÝCH EPITOPŮ GLYKOKONJUGÁTŮ

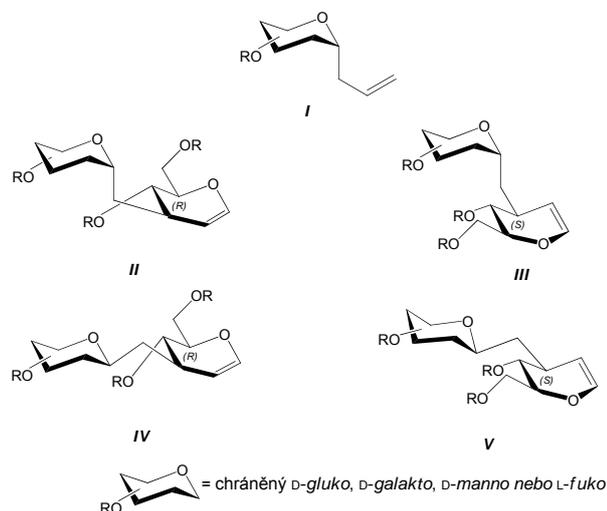
LADISLAV KNEŽO

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

Oligosacharidové části glykoproteinů umístěny na povrchu buněk tvoří specifické ligandy, které jsou rozpoznávány receptory z povrchu jiných buněk nebo z povrchu patogenních mikroorganismů. Tyto procesy jsou základem komunikací mezi dvěma buňkami nebo mezi buňkou a patogenem, dále základem imunitní odpovědi nebo metastáze rakovinových nádorů. Při studiu těchto procesů mohou sehrát důležitou roli C-disacharidy, které zachovávají strukturní informaci přírodních disacharidů, ale nelze je ani chemicky ani

enzymově hydrolyzovat. Navíc syntetizované C-disacharidy mohou být využity i jinak. Jejich připojení jako nehydrolyzovatelných disacharidových mimetik napodobujících strukturu přirozených sacharidových epitopů např. na vhodné dendrimery nebo na vhodný peptidický řetězec může vést k přípravě terapeuticky využitelných glykokonjugátů nebo vakcín, které nebudou v organismu hydrolyzovány vřadypřítomnými glykosidázami.

V naší laboratoři byla vypracována stereoselektivní syntéza¹⁻³, pomocí které lze ze snadno dostupných glykopyranosylpropenů **I** připravit kterýkoliv z 3-C-glykosylovaných glukalů **II – V**. C-disacharidy **II** napodobují α -glykosidovou vazbu a obsahují D-glukal, disacharidy **III** také napodobují α -glykosidovou vazbu, ale obsahují L-glukal, zatímco zbývající dvě skupiny **IV** a **V** napodobují β -glykosidovou vazbu, ale disacharidy **IV** obsahují D-glukal a disacharidy **V** obsahují L-glukal. Dále se ukázalo, že v průběhu syntézy lze změnit konfiguraci na C-4 v glukalovém kruhu, čímž se staly snadno dostupnými i odpovídající čtyři diastereoizomery 3-C-glykosylovaného D- nebo L-galaktalu. Připravené sloučeniny jsou mimořádně užitečnými prekursory a díky reaktivitě dvojné vazby umožňují v jednom nebo dvou krocích připravit rozmanité (1 \rightarrow 3)-C-disacharidové deriváty, anebo syntetizovat nehydrolyzovatelné epitopy glykoproteinů, resp. glykolipidů s α - nebo β -(1 \rightarrow 3)-C-disacharidovou strukturou. Disacharidové struktury, jejichž nehydrolyzovatelné napodobeniny (mimetika) jsou teď dostupné z uvedených glukalů, resp. galaktalů se často vyskytují jako koncové skupiny proteoglykanů⁴. Nejznámějšími příklady jsou pravděpodobně antigeny krevních skupin nebo strukturně podobné Lewis-a a Lewis-b antigeny. Tyto jsou rozpoznávány např. receptory z povrchu bakterie *Helicobacter pylori*, která se významně podílí na vzniku nemoci zažívacího traktu. Jiným známým příkladem je β -(1 \rightarrow 3)-disacharid označovaný jako Thomsen-Friedenreich (zkráceně T) epitop, který se ve zvýšené míře vyskytuje na povrchu nádorových buněk, např. u rakoviny prsníku.



V prezentaci bude diskutováno i další syntetické využití takto dostupných (1 \rightarrow 3)-C-disacharidů, jmenovitě transformace jejich redukujícího monosacharidu na příslušný iminosacharid, čímž lze připravit C-glykosylované iminosacharidy⁵. Iminosacharidy jsou obecně velmi účinnými, ale neselektivními inhibitory glykosidáz a předpokládá se, že C-glykosylované iminosacharidy by se mohly vyznačovat vyšší selektivitou inhibice.

Třetím okruhem otázek, který bude v prezentaci diskutován, je využití syntetizovaných C-disacharidů pro studium jejich preferovaných konformací⁶. Tyto informace jsou důležité pro porovnání, jak věrně C-disacharidy napodobují strukturu přírodních disacharidů.

Tato práce vznikla za podpory grantu MŠMT ČR 6046137305 a grantu GA ČR 203/08/1124.

LITERATURA

1. Štěpánek P., Vích O., Kniežo L., Dvořáková H., Vojtíšek P.: *Tetrahedron: Asymmetry* 11, 1033 (2004).
2. Štěpánek P., Vích O., Werner L., Kniežo L., Dvořáková H., Vojtíšek P.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 70, 1411 (2005).
3. Parkan K., Vích O., Kniežo L., Dvořáková H.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 73, 690 (2008).
4. Rüdiger H., Siebert H.-Ch., Solís D., Jiménez-Barbero J., Romero A., Lieth C.-W., Diaz-Maurino T., Gabius H.-J.: *Curr. Med. Chem.* 7, 389 (2000).
5. Werner L., Kniežo L., Dvořáková H.: *Tetrahedron Lett.* 48, 609 (2007).
6. Vích O., Kniežo L., Dvořáková H., Raich I., Valenta Š.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 70, 2086 (2005).

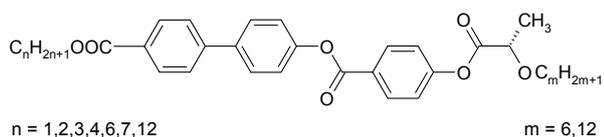
NOVÉ FERROELETRICKÉ KAPALNÉ KRYSTALY S LAKTÁTOVOU CHIRÁLNÍ SKUPINOU

MICHAL KOHOUT^a, ALEXEJ BUBNOV^b, JIŘÍ SVOBODA^a, MILADA GLOGAROVÁ^b

^aÚstav organické chemie, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6; ^bFyzikální ústav AVČR, Na Slovance 2, 182 21 Praha 8

Studiu chirálních kapalných krystalů byla v posledních letech věnována značná pozornost. Přestože bylo dodnes syntetizováno více než 100 000 nových chirálních materiálů a jejich chemické a fyzikální vlastnosti byly detailně prostudovány¹⁻³, zůstává mnoho nezodpovězených otázek.

Cílem prezentované práce je studium vlivu orientace esterových spojek na mesomorfní vlastnosti připravených materiálů. Byly připraveny dvě série nových kapalných krystalů s rozdílným počtem a orientací esterových spojek než dosud popsané materiály^{3,4}.



Vlastnosti připravených materiálů byly studovány metodami optické polarizační mikroskopie, diferenční skenovací kalorimetrie, rentgenostrukturní analýzou a dielektrickými měřeními. Bylo zjištěno, že přechodové teploty klesají se snižující se délkou terminálního alkylového řetězce. Toto chování je opačné v porovnání s dosud publikovanými materiály s etherovou či oxoskupinou vázanou na bifenylové jádro. Budou diskutovány mesomorfní vlastnosti nových materiálů.

Tato práce vznikla za podpory grantů: MŠMT OC 176, GAAV IAA100100710 a IAA100100911, GAČR 202/09/0047, ASČR AVOZ10100520 a.

LITERATURA

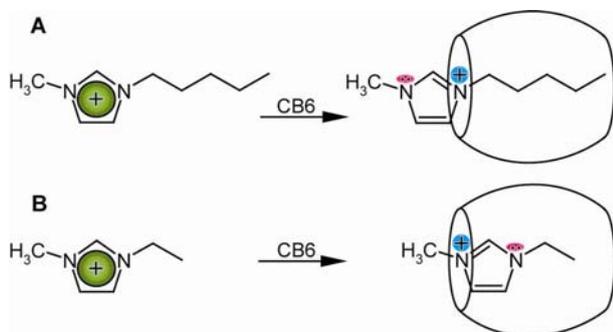
1. Tsai W.-L., Yeh S.-W., Hsie M.-J., Lee H.Ch., Fu Ch.-M.: *Liq. Cryst.* 34, 251 (2002).
2. Matsushima J., Takanishi Y., Ishikawa K., Takezoe H., Fukuda A., Park C. S., Jang W. G., Kim K. H., MacLennan J. E., Glaser M. A., Clark N. A., Takahashi K.: *Liq. Cryst.* 29, 27 (2002).
3. Bubnov A., Novotná V., Hamplová V., Kašpar M., Glogarová M.: *J. Mol. Struct.* 891, 151 (2008).
4. Hamplová V., Bubnov A., Kašpar M., Glogarová M.: *Liq. Cryst.* 30, 493 (2003).
5. Garić M., Bubnov A., Novotná V., Kašpar M., Hamplová V., Obadović D. Ž., Glogarová M.: *Liq. Cryst.* 32, 565 (2005).

LOCALIZED CHARGE OF AROMATIC SYSTEMS CAUSED BY COMPLEXATION WITH CUCURBIT[6]URIL

VIKTOR KOLMAN, VLADIMIR SINDELAR

Masarykova Univerzita, Kamenice 5, 625 00 Brno
Viktor.kolman@seznam.cz

In this study, we have investigated the supramolecular interaction between series of suitable aromatic guests with variable alkyl substituent lengths and cucurbit[6]uril (CB6) in the solution and the solid state.



Correct interpretation of ^1H NMR spectra was a key issue for determining the binding modes of the complexes in solution. Unusual chemical shifts of some protons in the ^1H NMR spectra were explained by the polarization of the imidazolium aromatic ring upon the complexation with the host. The formation of 1:1 complex between 1-ethyl-3-methylimidazolium and CB6 is in disagreement with previously reported findings describing an inclusion of two guest molecules in the CB6 cavity.

This work was supported by the Grant Agency of the Czech Republic (203/07/P382 to VS) and Ministry of Education of the Czech Republic (MSM0021622413 and LC06030 to RM). The access to the METACentrum supercomputing facilities provided under the research intent MSM6383917201 is highly appreciated.

BIFUNKČNÍ DERIVÁT TETRAPYRAZINOPORFYRAZINU VYUŽITELNÝ JAKO ZHÁŠEČ FLUORESCENCE

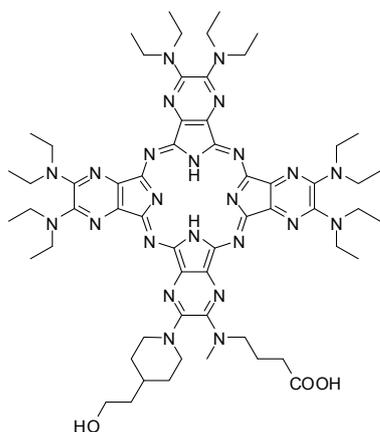
KAMIL KOPECKÝ, PETR ZIMČÍK, MIROSLAV MILETÍN, VERONIKA NOVÁKOVÁ, JANA ŠEBELOVÁ

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové
kamil.kopecky@faf.cuni.cz

Tetrapyrazinoporpyraziny (TPP) jsou využívány v mnoha aplikacích, jednou z nejnovějších je aplikace v molekulárních sondách jako zhášec fluorescence. TPP jsou schopné zhášet fluorescenci ve větším rozsahu vlnových délek než dosud komerčně používané struktury.

Pro možnost přípravy značené oligonukleotidové sondy je zapotřebí přítomnost vhodné reaktivní funkční skupiny (nejlépe hydroxylové blokované tritylovou skupinou) a současně další skupiny umožňující vazbu na pevnou fázi, na které probíhá příprava takovéto sondy. Z tohoto důvodu byl připraven 5,6-disubstituovaný pyrazin-2,3-dikarbonitril nesoucí volnou hydroxylovou a karboxylovou skupinu. Jeho následnou statistickou kondenzací s 5,6-diethylaminopyrazin-2,3-dikarbonitrilem vznikla směs šesti možných kongenerů, ze které byl chromatograficky izolován kongener nesoucí jednu hydroxylovou a karboxylovou skupinu.

Připravená sloučenina byla dále substituována (reverzibilně a specificky zablokovaná hydroxylová skupina) a dále byla zakotvena na pevnou fázi. Na modifikované pevné fázi byla poté připravena požadovaná sekvence oligonukleotidu značená na 3'-konci. Tato pevná fáze je použitelná i pro přípravu sond značených na 5'-konci flouroforem za vzniku „dual-labeled“ sond použitelných např. k monitorování PCR reakce.



Tato práce vznikla za podpory grantu Grantové agentury Akademie věd České republiky (GAAV KJB401100801).

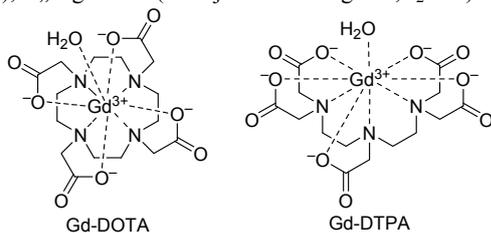
MEDICÍNSKÉ APLIKACE POLYDENTÁTNÍCH LIGANDŮ JAKO VÝZVA PRO MODERNÍ KOORDINAČNÍ CHEMII

Abstrakt přednášky k ceně Alfreda Badera za bioorganickou a bioanorganickou chemii za rok 2009

JAN KOTEK

Katedra anorganické chemie, Přírodovědecká fakulta
University Karlovy, Hlavova 2030, 128 40 Praha 2
modrej@natur.cuni.cz

Současná medicína nabízí koordinační chemii množství aplikací, jak v diagnostice, tak i v terapii. K diagnostickým metodám patří mj. i tomografie magnetické rezonance (MRI, Magnetic Resonance Imaging). Tato metoda je založena na měření intenzity NMR signálu protonů vody v různých částech studovaného objektu. Prostorové rozlišení je ovlivněno hlavně množstvím vody v jednotlivých tkáních a rozpustěnými látkami. Pro zvýšení rozlišení jsou používána tzv. kontrastní činidla (CA, contrast agents), což jsou paramagnetické látky katalyzující magnetickou relaxaci atomů vodíku ve vodě. Jejich účinnost se vyjadřuje jako tzv. relaxivita, r (rychlost relaxace vodíkových jader v roztoku CA o koncentraci 1 mM). Podle efektu se CA rozlišují na „pozitivní“ (zvyšují intenzitu signálu, r_1 -CA), a „negativní“ (snižují intenzitu signálu, r_2 -CA).



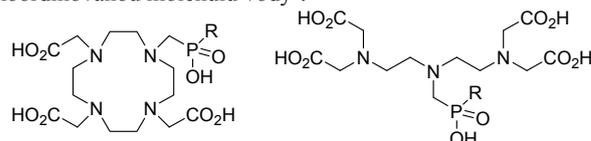
Obr. 1. Vybrané komplexy používané jako MRI CA

V současnosti používané pozitivní CA pro MRI jsou téměř výhradně komplexy iontů Gd^{3+} (tento ion má díky 7

nepárovým elektronům vysoký magnetický moment, a zároveň má dlouhou elektronovou relaxaci, která je pro efektivitu CA též velice důležitá). Je nutné, aby k centrálnímu iontu byla koordinována alespoň jedna molekula vody, díky níž je přenášena relaxace do okolí. Nevýhodou gadolinia je vysoká toxicita, která klade značné nároky na stabilitu používaných komplexů. Ke komplexaci gadolinia se proto používají oktaedrátní ligandy typu H_4dota nebo H_5dtpa , jejichž komplexy jsou dostatečně stabilní (Obr. 1)¹.

Kritické parametry ovlivňující relaxivitu CA jsou rychlost výměny koordinované vody (musí mít optimální hodnotu, používané CA mají rychlost výměny podstatně nižší než je optimum 10–30 ns), a rychlost rotace molekuly komplexu (rotace CA musí být co nejpomalejší).

Bylo připraveno několik analogů klinicky používaných ligandů H_4dota a H_5dtpa s pendantní skupinou obsahující fosforovou funkci (Obr. 2)^{2–4}. Fosforové funkce byly obvykle zavedeny Mannichovou syntézou (N–H, P^{III} a CH_2O). Rychlost výměny koordinované molekuly vody v Gd^{3+} komplexech těchto ligandů je významně vyšší než u komerčních CA a dosahuje až optimálních hodnot^{2–4}. Tento efekt lze vysvětlit vyšší flexibilitou koordinačního okolí^{5,6}. Další výhodou fosforových oxokyselin je příspěvek tzv. druhé solvatační sféry k relativitě; fosforová pendantní ramena totiž efektivně organizují síť vodíkových vazeb. Tím umožňují další přenos relaxace, a zvyšují tak celkovou účinnost kontrastních látek. Tento mechanismus byl studován u série ligandů se čtyřmi fosforovými pendanty, jejichž komplexy neobsahují přímo koordinovanou molekulu vody⁷.



Obr. 2. Studované fosforové analogy používaných ligandů

Byly připraveny bifunkční ligandy, jejichž komplexy byly ke zpomalení celkové rotace vázány k makromolekulárním nosičům^{8,9}, nebo sorbovány na nanočásticové materiály¹⁰.

Kinetická stabilita fosforových makrocyclických derivátů je vysoká^{11,12} a umožňuje použití *in vivo*. Bohužel, v případě analogů H_5dtpa došlo ke značnému snížení kinetické inertnosti; lineární ligandy jsou tedy z hlediska MRI neperspektivní¹³.

LITERATURA

- Hermann P., Kotek J., Kubíček V., Lukeš I.: Dalton Trans. 2008, 3027.
- Kotek J., Lebdušková P., Hermann P., Vander Elst L., Miller R. N., Geraldes C. F. G. C., Maschmeyer T., Lukeš I., Peters J. A.: Chem. Eur. J. 9, 5899 (2003).
- Rudovský J., Kotek J., Hermann P., Lukeš I., Mainero V., Aime S.: Org. Biomol. Chem. 3, 112 (2005).
- Rudovský J., Cígler P., Kotek J., Hermann P., Vojtíšek P., Lukeš I., Peters J. A., Vander Elst L., Muller R. N.: Chem. Eur. J. 11, 2373 (2005).
- Vojtíšek P., Cígler P., Kotek J., Rudovský J., Hermann P., Lukeš I.: Inorg. Chem. 44, 5591 (2005).
- Kotek J., Rudovský J., Hermann P., Lukeš I.: Inorg. Chem. 45, 3097 (2006).

- Kotková Z., Pereira G. A., Djanashvili K., Kotek J., Rudovský J., Hermann P., Vander Elst L., Muller R. N., Geraldes C. F. G. C., Lukeš I., Peters J. A.: *Eur. J. Inorg. Chem.* 2009, 119.
- Lebdušková P., Kotek J., Hermann P., Vander Elst L., Muller R. N., Lukeš I., Peters J. A.: *Bioconjugate Chem.* 15, 881 (2004).
- Lebdušková P., Sour A., Helm L., Tóth É., Kotek J., Lukeš I., Merbach A. E.: *Dalton Trans.* 2006, 3399.
- Řehoř I., Kubiček V., Kotek J., Hermann P., Lukeš I., Száková J., Vander Elst L., Muller R. N., Peters J. A.: *J. Mater. Chem.* 19, 1494 (2009).
- Försterová M., Svobodová I., Lubal P., Táborský P., Kotek J., Hermann P., Lukeš I.: *Dalton Trans.* 2007, 535.
- Táborský P., Lubal P., Havel J., Kotek J., Hermann P., Lukeš I.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 70, 1909 (2005).
- Kotek J., Kálmán F. K., Hermann P., Brücher E., Binnemans K., Lukeš I.: *Eur. J. Inorg. Chem.* 2006, 1976.

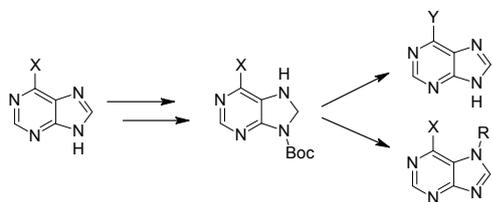
DIHYDROPURINY: POKROK V PURINOVÉ CHEMII

VLADISLAV KOTEK, DALIMIL DVOŘÁK

Vysoká škola chemicko-technologická, FCHT, Ústav organické chemie, Technická 5, 166 28 Praha 6
vladislav.kotek@vscht.cz

Purinový skelet představuje významný motiv v živých systémech. Není proto překvapující, že mnoho syntetických derivátů purinu vykazuje biologickou aktivitu. Příprava purinových derivátů však není jednoduchá. Některé moderní syntetické postupy (např. Heckova reakce nebo lithiace do polohy 6) u purinů překvapivě selhávají. Proto jsme se rozhodli využít 7,8-dihydropuriny, jejichž odlišné vlastnosti by mohly umožnit provedení problematických reakcí.

Literatura se dihydropurinovými deriváty zabývala pouze útržkovitě, zřejmě z důvodu jejich nesnadné přípravy a nízké stability. Původní experimenty provedené v naší laboratoři překonaly obtíže přípravy 7,8-dihydropurinů, nicméně stabilita těchto derivátů byla nízká. Studium vlastností dihydropurinů bylo zjištěno, že přítomnost elektronakceptorů v poloze 7 nebo 9 významně stabilizuje dihydropurinové uspořádání. 6-Halogenpuriny lze snadno převést na 6-halogen-9-Boc-ochráněné dihydropuriny dvoukrokovou reakcí ve vynikajícím (91 %) výtěžku bez nutnosti chromatografické separace. Tyto deriváty jsou stabilními prekurzory pro další transformace purinového skeletu. Substituce v poloze 7, následné ochránění a oxidace vede ve vysokém výtěžku (>80 %) k N-7 derivátům, které jsou obtížně dostupné jinými cestami.



Dále byla prověřena reaktivita halogenu v poloze 6 v některých palladiem katalyzovaných reakcích. Suzukiho a Sonogashirova reakce probíhají stejně jako u purinu a poskytují odpovídající deriváty ve vysokých (>90 %) výtěžcích. Odlišná je však reaktivita právě v Heckově reakci – zatímco 6-jodpurin poskytuje v reakci s butylakrylátem odpovídající derivát v nízkém výtěžku (<15 %), při reakci dihydropurinu vzniká žádaný produkt v 82% výtěžku. Prozkoumána byla také reaktivita halogenu v poloze 6 v nukleofilní aromatické substituci. Bylo zjištěno, že reaktivita je významně ovlivněna druhem skupin (EWG vs ERG) v polohách 7 a 9. Lithiace dihydropurinu do polohy 6 nebyla úspěšná; magnesiace však probíhá snadno, ale reaktivita vzniklého činidla je podobně jako u purinu nízká.

Tato práce vznikla za podpory grantu GA ČR č. 203/09/1552 a Centra základního výzkumu LC06070 MŠMT.

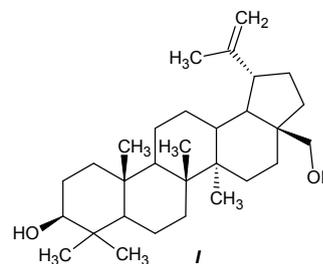
OPTIMALIZACE PODMÍNEK ELEKTROOXIDAČNÍCH REAKCÍ

JAN KOŤUHA, JAN HRDLIČKA

FPE ZČU v Plzni, Veveřslavínova 42, 303 74 Plzeň
SaulH@Seznam.cz, hrdlicka@kch.zcu.cz

Po sestavení aparatury sestávající z míchaného elektrolyzéry se železnou katodou a platinovou anodou bylo přikročeno k modelové elektrooxidační reakci tetrahydrofuranu¹, která vedla k předpokládaným produktům 2-hydroxyfuranu, γ -butyrolaktonu a kyseliny jantarové.

Po ověření funkčnosti zařízení bylo přikročeno ke studiu elektrooxidačních reakcí triterpenoidního diolu betulinu (*I*) izolovaného z ethanického extraktu březové kůry².



Vzhledem k nerozpustnosti betulinu ve vodném prostředí byl pro elektrochemické reakce zvolen systém kyselina octová–10% roztok KCl v poměru 9:1. Po proměření elektrochemických vlastností betulinu cyklickou voltametrií byly studovány možnosti oxidace. Průběh reakce v elektrolyzéry byl sledován porovnáním TLC zpracovaných reakčních produktů s výchozím betulinem.

Při napětí 1,8 V proběhla přeměna 50 mg betulinu během 48 hodin. Za těchto podmínek vznikla směs pěti látek, jejichž zastoupení je závislé na napětí, při kterém oxidace probíhá.

Další práce budou zaměřeny na identifikaci produktů reakce a na sledování dalších vlivů na průběh reakce.

Tato práce je realizována s přispěním finančních prostředků GAPE 2009/10.

LITERATURA

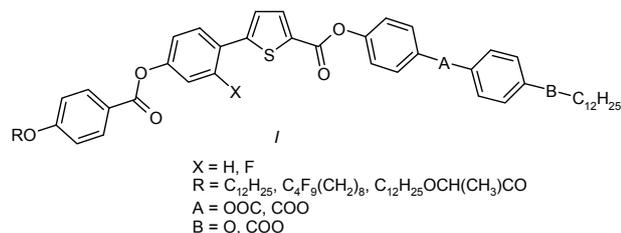
1. Mindl J., v knize: *Základy elektroorganické chemie*, kap. 8. Academia, Praha 2000.
2. Trnka T. a kol., v knize: *Praktikum z organické chemie*, str. 140. Karolinum, Praha 1994.

NOVÉ KAPALNÉ KRYSYALY ODVOZENÉ OD 5-FENYLTHIOFENKARBOXYLOVÉ KYSELINY

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

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

V posledních letech byla v naší laboratoři připravena a studována řada mesogenních materiálů odvozených od derivátů thiofenu¹⁻³. Abychom rozšířili tyto studie, zavedli jsme nové centrální jádro na bázi 2,5-disubstituovaného thiofenu⁴. V uvedené práci je popsána syntéza kapalných krystalů *I* odvozených od 5-fenylthiofen-2-karboxylové kyseliny.



Vlastnosti připravených materiálů byly studovány metodami optické polarizační mikroskopie, diferenční skenovací kalorimetrie a rentgenostrukturní analýzou. Bude diskutován vliv terminálního alkylu R na mesomorfní chování připravených látek a dále také vliv spojek A a B na fyzikální vlastnosti a přechodové teploty připravených materiálů.

Tato práce vznikla za podpory grantů GA AV IAA100100710, GA ČR 202/09/0047 a MŠMT (projekt COST OC176 a výzkumný záměr MSM 6046137301).

LITERATURA

1. Kovářová A., Svoboda J., Novotná V., Glogarová M., Salamonczyk M., Gorecka E., Pocięcha D.: Poster P106, ECLC 2009 - 10th European Conference on Liquid Crystals, Colmar, France.
2. Kurfürst M., Kozmík V., Svoboda J., Novotná V., Glogarová M.: *Liq. Cryst.* 35, 21 (2008).

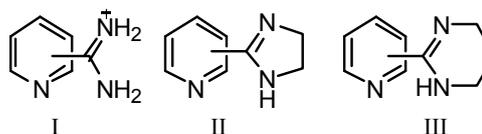
3. Černovská K., Kořata B., Svoboda J., Novotná V., Glogarová M.: *Liq. Cryst.* 33, 987 (2006).
4. Campbell N. L., Duffy W. L., Thomas G. I., Wild J. H., Kelly S. M., Bartle K., O'Neill M., Minter V., Tuffin R. P.: *J. Mater. Chem.* 12, 2706 (2002).

KOORDINAČNÍ VLASTNOSTI BIDENTÁTNÍCH AMIDINOVÝCH LIGANDŮ

PETR KOVAŘÍČEK a ROMAN HOLAKOVSKÝ

VŠCHT Praha, Ústav organické chemie, Technická 5, 166 28 Praha 6
petr.kovaricek@vscht.cz

Byla připravena série amidinů, imidazolinů a tetrahydropyrimidinů na pyridinu.



Všechny uvedené sloučeniny byly připraveny z odpovídajících nitrilů. V případě sloučenin (I) reakcí s methanolátem sodným v prostředí methanolu a následnou reakcí s chloridem amonným⁶ a v případě sloučenin (II) a (III) reakcí s odpovídajícím diaminem (1,2-diaminoethan nebo 1,3-diaminopropan) za katalýzy sulfidem fosforečným⁷.

Připravené sloučeniny nabízejí možnost koordinace přechodného kovu k atomu dusíku v heterocyklu nebo k amidinové skupině. Z tohoto důvodu byla testována jejich schopnost tvorby koordinačních sloučenin s některými ionty přechodných kovů (konkrétně Cu⁺, Ni²⁺ a Pd²⁺). Uvedené sloučeniny byly studovány rentgenostrukturní analýzou a zároveň byla provedena i komplexační studie v roztoku. Stechiometrie komplexů zjištěná z krystalové struktury se liší od stehiometrie zjištěné metodou Job's plot v roztoku. To je v souladu s teorií, že tvar komplexu v roztoku je dán koordinačními nároky iontu kovu, zatímco v pevném stavu se tyto nároky musí podřítit požadavkům vyšší krystalové symetrie. Dále byly stanoveny asociační konstanty a bazicita.

V rámci práce dále pokračujeme ve studiu na amidinových, imidazolinových a tetrahydropyrimidinových derivátech velkých molekul s pevnou konformací, především calix[4]arenech.

Autoři děkují za finanční podporu výzkumnému záměru MSM 6046137301 MŠMT ČR.

LITERATURA

1. Rivera A., Rios-Motta J., León F.: *Molecules* 11, 858 (2006).
2. Moriya O., Minamide H., Urata Y.: *Synthesis* 12, 1057 (1984).
3. Sant' Anna G. D., Machado P., Sauzem P. D., Rosa F. A., Rubin M. A., Ferreira J., Bonacorso H. G., Zanatta N.,

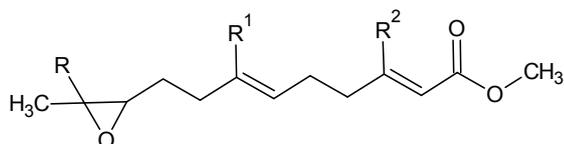
- Martins M. A. P.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 19, 546 (2009).
- Begland R.W., Hartter D. R., Jones F. N., Sam D. J., Sheppard W. A., Webster O. W., Weigert F. J.: *J. Org. Chem.* 39, 2341 (1974).
 - Kubik S., Reyheller C., Stüwe S.: *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* 52, 137 (2005).
 - Schaefer F.C., Peters G.A.: *J. Org. Chem.* 26, 412 (1961).
 - Anastassiadou M., Danoun S., Crane L., Baziard-Mouyisset G., Payard M., Caignard D. H., Rettori M. C., Renard P.: *Bioorg. Med. Chem.* 9, 585 (2001).

VÝVOJ METODY PRO STANOVENÍ HMYZÍHO JUVENILNÍHO HORMONU GC/MS TECHNIKOU

JANA KRASULOVÁ^{a,b}, PAVEL JIROŠ^a, ROBERT HANUS^a a IRENA VALTEROVÁ^a

^aÚstav organické chemie a biochemie AV ČR, Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6, ^bPřírodovědecká fakulta UK, Albertov 6, 128 43 Praha 2
irena@uochb.cas.cz

Juvenilní hormony (JH) jsou klíčovými látkami hmyzí fyziologie, jelikož ovlivňují téměř všechny aspekty hmyzího života jako je metamorfóza, řízení a načasování rozmnožování, diferenciace kast apod.¹ Z chemického hlediska jde o sesquiterpeny odvozené od farnesolu s epoxyskupinou na jednom konci a s methylesterovou skupinou na konci druhém (obr. 1).



Obr. 1. JH 0, R=R¹=R²=C₂H₅; JH I, R=R¹=C₂H₅, R²=CH₃; JH II, R=C₂H₅, R¹=R²=CH₃; JH III, R=R¹=R²=CH₃

Byla vypracována metoda stanovení JH III bez derivatizačního kroku, tedy umožňující měření technikou GC/MS (s kvadrupólovým analyzátozem iontů) ihned po separaci vzorku buď sloupcovou, nebo tenkovrstvou chromatografií. Metoda byla využita pro měření změny koncentrace JH III u termitního druhu *Prorethinos termitum simplex* při přeměně dělníka ve vojáka přes přechodné stadium bílého vojáka. Naměřené hodnoty odpovídají trendům popisovaným v literatuře, tedy výrazný vzestup koncentrace JH III u bílých vojáků a následný mírný pokles u vojáků². Metoda byla také využita při měření koncentrace JH III u čmeláků druhu *Bombus terrestris*, kde má JH významnou úlohu při regulaci sociální hierarchie a souvisí s dominantní rolí královen³. Byly připraveny vzorky hemolymfy čmeláčích královen v různých obdobích jejich života. JH III byl detegován pouze u královen čerstvě oplozených. Dále byl pozorován pokles koncentrace JH

III v hemolymfě nekladoucích čmeláčích dělnic v porovnání s dělnicemi kladoucími.

Tato práce vznikla za podpory výzkumného záměru AV ČR (Z40550506).

LITERATURA

- Hartfelder K.: *Braz. J. Med. Biol. Res.* 33, 157 (2000).
- Park Y.I., Raina A.K.: *J. Insect. Physiol.* 50, 561 (2004).
- Bloch G., Borst D.W., Huang Z., Robinson G. E., Cnaani J., Hefetz A.: *J. Insect. Physiol.* 46, 47 (2000).

SYNTÉZA ANALOG 5,6-DIHYDRO-2H-PYRAN-2-ONU

ONDŘEJ KRENK, MILAN POUR

Katedra anorganické a organické chemie, Farmaceutická fakulta UK, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové
kreno3aa@faf.cuni.cz

Strukturální obměnami přírodního butenolidu inkrustoporinu (**1**) s antifugálním účinkem byly získány látky, srovnatelné s amfotericinem B *in vitro*^{1,2}. Studie biologické aktivity analogických laktonů² ukázaly, že cytostatickou aktivitu vykazují rovněž látky s analogickým šestičlenným kruhem. Další krok obměny skeletu inkrustoporinu proto vedl k syntéze šestičlenných analogů tj. 5,6-dihydro-2H-pyran-2-onů².

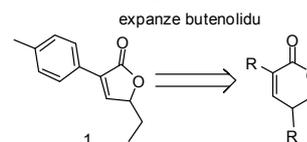


Schéma 1

Cílem práce je vyvinout optimální syntézu šestičlenných nenasyčených laktonů a jejich analogů. Navrhnuté cesty vycházejí z retrosyntéz syntonů A a B. Laktonizace syntonu A je katalyzována LA, jedná se o intramolekulární Claisenovu kondenzaci s následnou kysele katalyzovanou eliminací za vzniku α,β -nenasyčeného δ -laktonu. Pro uzavření laktonového kruhu syntonu B se nabízí metatese katalyzovaná Grubbovým katalyzátorem.

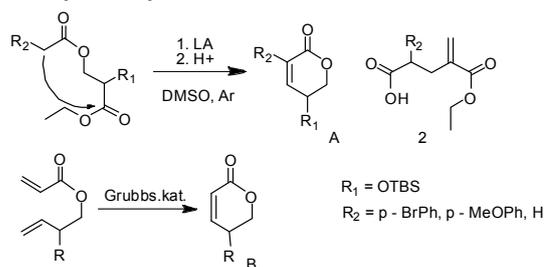


Schéma 2

Kysele katalyzovaná laktonizace nevedla k požadovanému syntonu A. Místo Claisenovy kondenzace proběhla

nukleofilní substituce a eliminace za vzniku majoritního produktu (**2**).

Práce vznikla za podpory Centra pro výzkum nových antivirových a antineoplastických, podporovaného MŠMT ČR (1M0508), Grantové agentury ČR (projekt č. 203/07/1302), Grantové agentury UK (289/2006/B-CH/FaF) a výzkumného záměru MŠMT ČR (MSM0021620822).

LITERATURA

1. Zapf S., Anke T., Sterner O.: Acta Chem. Scand. 49, 223. (1995).
2. Schiller R.: Disertační práce, FaF UK Hradec Králové, 2004.

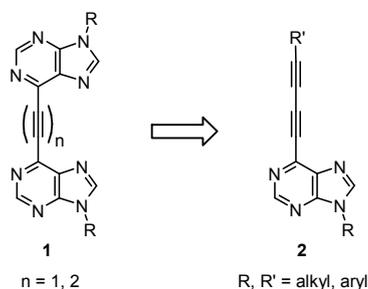
PŘÍPRAVA SUBSTITUOVANÝCH 6-(BUTA-1,3-DIYNYL)PURINŮ

MARTIN KŘOVÁČEK, DALIMIL DVOŘÁK

Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6
krovacem@vscht.cz

Purinový skelet představuje důležitý strukturní motiv, vyskytující se jako součást základních stavebních bloků nukleových kyselin ve všech živých organismech. Není proto překvapující, že řada purinových derivátů vykazuje rozmanitou biologickou aktivitu.

Mezi takové látky patří i bis(purin-6-yl)acetyleny a diacetyleny **1**, které vykazují značnou cytostatickou aktivitu¹. Mechanismus jejich působení nebyl dosud zcela objasněn. Proto jsme se rozhodli syntetizovat sérii analogických (buta-1,3-diynyl)purinů **2**, v nichž je jeden purin nahrazen jinou, jednodušší skupinou:



Studium biologické aktivity takových látek by mohlo pomoci rozhodnout, zda látky fungují jako kovalentní analoga Watson-Crickových párů a interkalují se do DNA, nebo zda je „na vině“ elektronově chudá násobná vazba, náchylná k adici *O*-, *N*- a *S*-nukleofilů.

Tato práce byla podporována Grantovou agenturou ČR (GA ČR 203/09/1552) a Centrem základního výzkumu LC06070: "Struktura a syntetické aplikace komplexů přechodných kovů" Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky.

LITERATURA

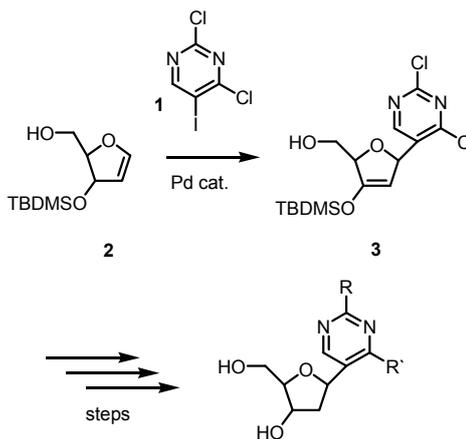
1. Hocek M., Votruba I.: Bioorg. Med. Chem. Lett. 12, 1055 (2002).

SYNTEZA NOVÝCH 2,4-DISUBSTITUOVANÝCH PYRIMIDIN-5-YL C-NUKLEOSIDŮ

TOMÁŠ KUBELKA, MICHAL HOCEK*

Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, Flemingovo náměstí 2, 166 10 Praha 6
kubelka@uochb.cas.cz, hocek@uochb.cas.cz

C-nukleosidy jsou analoga přírodních nukleosidů, které mají mimo jiné zajímavé antivirové a protinádorové vlastnosti. Vzhledem k tomu, že nukleosidová vazba je nahrazena C-C vazbou, jsou tyto látky odolné vůči enzymatické či chemické hydrolyze a nepodléhají snadné degradaci v buňkách. Existuje několik syntetických přístupů k přípravě C-nukleosidů, ale žádný z nich není dostatečně obecně použitelný a mnohé z nich se potýkají s nízkými výtěžky a především také selektivitou¹. Naše skupina se nyní zabývá vývojem metodologie pro syntézu různých typů C-nukleosidů^{2,3}. V této práci je využito Heckovy reakce 5-iodo-2,4-dichloropyrimidinu (**1**) s 3'-TBDMS ochráněným glykalem (**2**) za vzniku 2,4-dichloropyrimidin-5-yl nukleosidového analogu (**3**) vznikajícího selektivně pouze jako β-anomer. Následnými derivatizacemi byla poté připravena série 2,4-disubstituovaných pyrimidin-5-yl C-nukleosidů.



Tato práce vznikla za podpory grantu GA ČR (IAA400550902) a firmy Gilead Sciences, Inc.

LITERATURA

1. Adamo M. F. A., Pergoli R.: Curr. Org. Chem. 12, 1544 (2008).
2. Urban M., Pohl R., Klepetářová B., Hocek M.: J. Org. Chem. 71, 7322 (2006).
3. Joubert N., Pohl R., Klepetářová B., Hocek M.: J. Org. Chem. 72, 6797 (2007).

PŘÍPRAVA ETHYL-1-THIO- β -D-GALAKTOPYRANOSIDU SNADNO A RYCHLE

EVA KUBÍČKOVÁ, KAREL KEFURT,
JITKA MORAVCOVÁ*

Ústav chemie přírodních látek, VŠCHT Praha, Technická 5,
166 28 Praha 6
Jitka.Moravcova@vscht.cz

Thioglykosidy jsou vděčnou a oblíbenou výchozí látkou pro cukerné syntézy zejména proto, že se snadno ve vysokém výtěžku připravují i selektivně a za mírných podmínek se odstraňují za vzniku volné anomerní hydroxylové skupiny. Navíc lze thioglykosidy dobře použít jako glykosyldonory a nebo je poměrně snadno oxidovat na příslušné sulfoxidy sulfony, které mohou být používány pro nukleofilní substituce.

Pro přípravu 6-deoxy-6-fluor- α - a - β -D-galaktopyranosylfosfonátů jsme jako výchozí látku chtěli použít ethyl-1-thio- β -D-galaktopyranosid, který měl být podle údajů v literatuře velmi lehce dostupný z D-galaktosy acetylací a následnou reakcí s ethanthiolem bez izolace meziproductu jako per-O-acetylderivát a to v 80% výtěžku¹. Reprodukováním postupu jsme ale v reakční směsi identifikovali produkty celkem tři, přičemž ethyl-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-1-thio- β -D-galaktopyranosid jsme získali ve výtěžku pouhých 32 %. Ani použití čisté penta-O-acetyl- β -D-galaktopyranosy pro reakci s ethanthiolem nevedlo za podmínek uvedených v literatuře k podstatnému vylepšení výtěžku. Nakonec se ukázalo, že jednoduchá úprava teploty z popsanych 0 °C na -78 °C měla žádoucí efekt a ethyl-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-1-thio- β -D-galaktopyranosid jsme izolovali ve výtěžku 87 %. Velkou pozornost jsme věnovali identifikaci vedlejších produktů, a to jednak spektrálními metodami, jednak převedením na jednoznačně definované deriváty. Rovněž jsme navrhli pravděpodobný mechanismus jejich vzniku.

Tato práce vznikla za podpory grantu MŠMT ČR 6046137305.

LITERATURA

1. Agnihotri G., Tiwari P., Misra A. K.: Carbohydr. Res. 340, 1394 (2005).

DENDRIMERNÍ SILOXANY – SYNTÉZA A NMR ANALÝZA

MILAN KURFÜRST, JAN SCHRAML

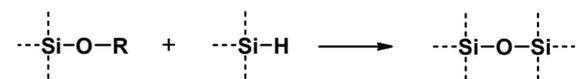
ÚCHP AV ČR v.v.i., Rozvojová 135, Praha 6
kurfurst@icpf.cas.cz

Konstrukce dendrimerů je jedním z rychle se vyvíjejících témat současné makromolekulární chemie. Jen malá pozornost byla zatím věnována dendritickým siloxanům. Tyto látky mohou, podobně jako tzv. „hypervětvěné“ polymery, sloužit jako prekurzory pro anorganické materiály s definovaným složením a geometrií; při vhodné derivatizaci pak jako podklad pro dendrimerní homogenní katalyzátory nebo jako modelové

struktury pro studium katalyzátorů heterogenních. Cílem této práce bylo vypracovat efektivní syntézu větvených siloxanů a připravit modelové dendrimery.

V literatuře je popsána řada reakcí vedoucích ke vzniku Si-O-Si fragmentu, bohužel, prakticky žádný z dosud publikovaných postupů neposkytuje požadované produkty dostatečně selektivně. Zdánlivě jednoduché syntézy jsou komplikovány řadou vedlejších reakcí.

Jako nejvhodnější se ukázala reakce silanu a alkoxyilanu katalyzovaná Lewisovskou kyselinou.



V závislosti na typu kyseliny a alkoxykupiny a volbě reakčních podmínek je v případě di-, tri- a tetraalkoxyilanů možné dosáhnout různého stupně konverze. Optimalizovaná reakční sekvence byla využita pro syntézu cílových modelových dendrimerů.

Dále budou diskutovány možnosti kontroly struktury a případných strukturních poruch siloxanových dendrimerů ²⁹Si NMR metodami i pomocí HPLC-NMR.

Práce je podporována GA ČR prostřednictvím grantu č. 203/08/P412 a GA AVČR (IAA400720706).

SPIROINDOLÍNOVÉ FYTOALEXÍNY A ICH AMINOANALÓGY

PETER KUTSCHY

Univerzita P. J. Šafárika, Prírodovedecká fakulta, Ústav
chemických vied, Katedra organickej chémie, Moyzesova 11,
040 01 Košice, Slovensko
peter.kutschy@upjs.sk

Fytoalexíny sú antimikrobiálne účinné nízkomolekulové sekundárne metabolity, produkované rastlinami pri pôsobení biologického, chemického alebo fyzikálneho stresu. Osobitú skupinu týchto látok predstavujú indolové fytoalexíny, izolované z rastlín čeľade Krížokveté (*Cruciferae*), vyznačujúce sa unikátnym štruktúrnym spojením indolového jadra s postranným reťazcom, alebo ďalším heterocyklom, obsahujúcim atómy dusíka a jeden, alebo dva atómy síry¹. Spiroindolín[3,5']dihydrotiazolové fytoalexíny (*S*)-(-)-spirobrasinín (*I*)², (*R*)-(+)-1-metoxyspirobrasinín (*II*)³ a (2*R*,3*R*)-(-)-1-metoxyspirobrasinolmetyléter (*III*)⁴ boli izolované v rokoch 1987, 1994 a 1995 z japonskej reďkovky^{2,4} a kalerábu³. Ich syntéza, absolútna konfigurácia a potenciálne zaujímavé biologické vlastnosti neboli v dobe izolácie známe. (*S*)-(-)-Spirobrasinín (*I*) bol syntetizovaný cyklizáciou (\pm)-dioxibrasinínu (*IV*) tionylchloridom a štiepením získaného racemátu na enantioméry pomocou (*S*)-(-)-1-fenyletylizokyanátu. Absolútna konfigurácia bola stanovená röntgenoštruktúrnou analýzou produktu acylácie (1*S*,4*R*)-(-)-kamfanoylchloridom⁵. Na syntézu racemátov fytoalexínov *II*

a **III** bola vyvinutá spirocyklizácia 1-metoxybrasíninu (**Va**) dioxándibromidom⁶ v prítomnosti metanolu ako nukleofilu, čím sa získal (\pm)-1-metoxyspirobrasínolmetyléter a po jeho oxidácii (\pm)-1-metoxyspirobrasínin. Štúdium enantiomérnych fytoalexínov **II** a **III**, získaných separáciou racemátov pomocou preparatívnej HPLC s chirálnou stacionárnou fázou, metódami ECD (elektrónový cirkulačný dichroizmus), VCD (vibračný cirkulačný dichroizmus) a pomocou chemickej korelácie viedlo k určeniu absolútnej konfigurácie prírodného (*R*)-(+)-1-metoxyspirobrasíninu (**II**) a (*2R,3R*)-(-)-1-metoxyspirobrasínolmetyléteru (**III**)⁷.

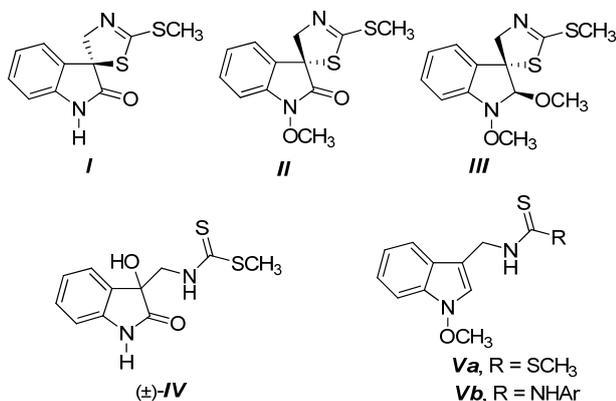


Schéma 1

Stereoselektívna syntéza fytoalexínov **II** a **III** využíva brómom iniciovanú spirocyklizáciu 1-metoxybrasíninu (**Va**) v prítomnosti (+)- a (-)-mentolu za vzniku 1-metoxyspirobrasínolmetyléteru a nasledovnú oxidáciu, respektíve výmenu mentoxy skupiny za metoxy skupinu⁸.

1-Metoxyspirobrasínolmetyléter **III** bol zvolený za predlohu pri syntéze aminoanalógov **VI** – **VII**, ktorých oba diastereoizoméry boli pripravené spirocyklizáciou **Va** v prítomnosti aminov ako nukleofilov alebo **Vb** v prítomnosti metanolu, respektíve aromatických aminov^{9,10}. U syntetizovaných fytoalexínov a ich aminoanalógov bola testovaná protirakovinová aktivita na vybraných ľudských nádorových bunkových líniiach. Najvyššia účinnosť bola zistená u diaminoanalógov **VIII**.

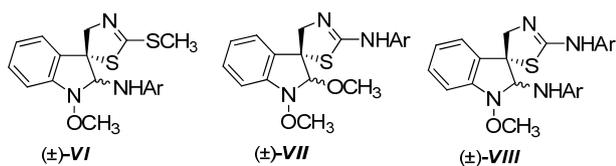


Schéma 2

Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-0514-06, grantom VEGA č. 1/3553/06 a MVTIS projektom Jap/Slov/UPJŠ.

LITERATÚRA

1. Kutschy P., Mezencev R., v knihe: *Targets in Heterocyclic Systems – Chemistry and Properties*, vol 12, s. 120. Italian Society of Chemistry, Urbino 2009.
2. Takasugi M., Monde K., Katsui N., Shirata A.: *Chem. Lett.* 1987, 1631.
3. Gross D., Porzel A., Schmidt J.: *Z. Naturforsch., C: Biosci.* 49, 281 (1994).
4. Monde K., Takasugi M., Shirata A.: *Phytochemistry* 39, 581 (1995).
5. Suchý M., Kutschy P., Takasugi M., Goto H., Harada N., Monde K., Dzurilla M., Balentová E.: *J. Org. Chem.* 66, 3940 (2001).
6. Kutschy P., Suchý M., Monde K., Harada N., Marušková R., Čurillová Z., Dzurilla M., Miklošová M., Mezencev R., Mojžiš J.: *Tetrahedron Lett.* 43, 9489 (2002).
7. Monde K., Taniguchi T., Miura N., Kutschy P., Čurillová Z., Pilátová M., Mojžiš J.: *Bioorg. Med. Chem.* 13, 5206 (2005).
8. Čurillová Z., Kutschy P., Budovská M., Nakahashi A., Monde K.: *Tetrahedron Lett.* 48, 8200 (2007).
9. Kutschy P., Salayová A., Čurillová Z., Kožár T., Mezencev R., Mojžiš J., Pilátová M., Balentová E., Pazdera P., Sabol M., Zburová M.: *Bioorg. Med. Chem.* 17, 2698 (2009).
10. Salayová A: *Dizertačná práca*. Univerzita P. J. Šafárika v Košiciach, Prírodovedecká fakulta 2009.

PERFLUORALKYLOVANÉ VARIANTY HOVEYDOVA-GRUBBSOVA KOMPLEXU

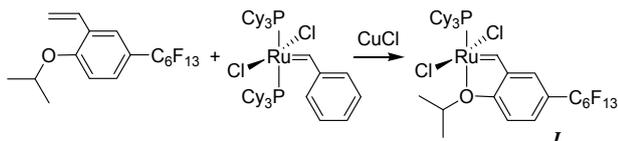
JAROSLAV KVÍČALA, MARTIN SCHINDLER, MARIO BABUNĚK, MARTIN SKALICKÝ

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

Grubbsův a Hoveydův-Grubbsův komplex první a druhé generace patří mezi nejvýznamnější katalyzátory pro metatezi alkenů¹. Substituce alkoxybenzylidenové části nitroskupinou vede ke zvýšené aktivitě katalyzátoru². S cílem usnadnit recyklaci těchto typů komplexů pomocí fluorových separačních metod byly syntetizovány i varianty těchto katalyzátorů obsahující 2-(perfluoralkyl)ethylové substituenty³.

V rámci tohoto projektu jsme se zaměřili na modifikaci alkoxybenzylidenové části perfluorovanými substituenty s cílem zvýšit reaktivitu a zároveň umožnit recyklaci katalyzátoru. Jako klíčové intermediáty jsme syntetizovali odpovídající 2-alkoxystyreny. První varianta modifikovaná v alkoxyčásti byla získána Mitsunobuovou reakcí 2-(perfluor-hexyl)ethan-1-olu s 2-ethenylfenolem nebo [2-(perfluorhexyl)-ethyl]-triflátu s 2-ethenylfenolátem draselným. Další dva styreny substituované perfluorhexylovou skupinou byly připraveny alkylovací 2-hydroxy-4-jodbenzoové kyseliny dimethylsulfátem nebo isopropyljodidem, Ullmannovou reakcí s perfluorhexyljodidem, redukcí esterové skupiny a Wittigovou methylenací. Reakcí těchto tří styrenů s Grubbsovým komplexem 1.

generace byly připraveny tři fluorové varianty Hoveyda-Grubbsova katalyzátoru 1. generace (např. **I**).



Modelové metateze alkenů s uzavřením cyklu (RCM, ring-closing metathesis) ukázaly, že první komplex má omezenou stabilitu a druhý reaktivitu analogickou Hoveydu-Grubbsovu katalyzátoru 1. generace. Třetí komplex je však 2-3krát reaktivnější než komerční katalyzátor. Komplex byl po reakci s výhodou separován pomocí fluorové SPE, při recyklaci však dochází k jeho částečné degradaci.

Děkujeme Ministerstvu školství, mládeže a tělovýchovy (projekt KONTAKT ME09114-ME857, Výzkumné centrum LC 06070, Výzkumný záměr č. 6046137301) a Grantové agentuře České republiky (grant č. 203/06/1516) za finanční podporu.

LITERATURA

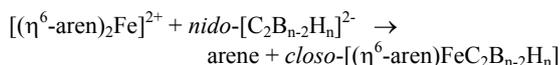
1. Bieniek M., Michrowska A., Usanov D. L., Grela K.: Chem. Eur. J. 14, 806 (2008).
2. Grela K., Harutyunyan S., Michrowska A.: Angew. Chem. Int. Ed. 41, 4038 (2002).
3. Matsugi M., Curran D. P.: J. Org. Chem. 70, 1636 (2005).

MS ANALÝZA POLYMETHYLOVANÝCH $[(\eta^6\text{-AREN})_2\text{Fe}]^{2+}$ A $[3-(\eta^6\text{-AREN})\text{-CLOSO-3,2,1-FeC}_2\text{B}_9\text{H}_{11}]$ SANDWICOVÝCH KOMPLEXŮ

MAGDALENA KVÍČALOVÁ^a, MARIO BAKARDJIEV^a, JOSEF HOLUB^a, ALEŠ RŮŽIČKA^b, BOHUMIL ŠTÍBR^a

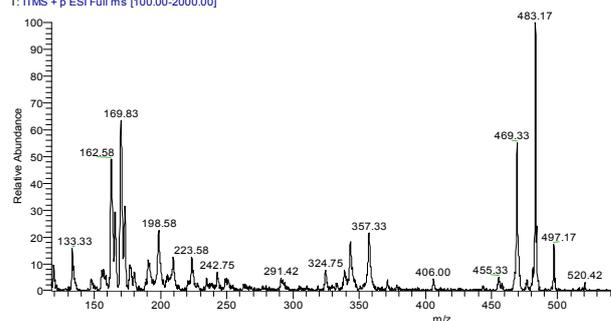
^aÚstav anorganické chemie AV ČR, v. v. i., 250 68 Řež; ^bKatedra obecné a anorganické chemie, FCHT, Universita Pardubice, Studentská 573, 532 10 Pardubice
magda@iic.cas.cz

Již dříve byly připraveny ferradikarbaboranové, trikarbaboranové a thiakarboranové isometalocenové obsahující fragment $\{\text{CpFe}\}^1$. V současné době jsme začali studovat komplexy s arenovými ligandy.



Přípravu výchozích arenových komplexů jsme převzali z literatury². Z NMR spekter reakčních směsí je však zřejmé, že místo očekávaných komplexů $\{[\text{C}_6\text{H}_2(\text{CH}_3)_4]_2\text{Fe}\}(\text{PF}_6)_2$ a $\{[\text{C}_6\text{H}_3(\text{CH}_3)_3]_2\text{Fe}\}(\text{PF}_6)_2$ vznikají složité směsi produktů, které byly identifikovány pomocí ESI-MS spekter.

ESI_MS_(TMS)2Fe_090428113346 #1 RT: 0.00 AV: 1 NL: 1.13E2
T: ITMS + p ESI Full ms [100.00-2000.00]



$m/z = 162$	$\{[\text{C}_6\text{H}_2(\text{CH}_3)_4]_2\text{Fe}\}/2$
$m/z = 169$	$\{[\text{C}_6\text{H}_2(\text{CH}_3)_4][\text{C}_6\text{H}(\text{CH}_3)_5]\text{Fe}\}/2$
$m/z = 469$	$\{[\text{C}_6\text{H}_2(\text{CH}_3)_4]_2\text{Fe}\}\text{PF}_6$
$m/z = 483$	$\{[\text{C}_6\text{H}_2(\text{CH}_3)_4][\text{C}_6\text{H}(\text{CH}_3)_5]\text{Fe}\}\text{PF}_6$
$m/z = 497$	$\{[\text{C}_6\text{H}(\text{CH}_3)_5]_2\text{Fe}\}\text{PF}_6$

Po úpravě reakčních podmínek byly arenové komplexy úspěšně připraveny a převedeny na karbaboranové isometalocenové.

Tato práce byla podpořena z projektu GA AV (grant IAA400310613) a projektu MŠ ČR (projekt LC 523).

LITERATURA

1. Perekalin D., Glukhov I. V., Holub J., Císařová I., Štíbr B., Kudinov A. R.: Organometallics 27, 5273 (2008).
2. Helling J. F., Braitsch D. M.: J. Am. Chem. Soc. 92, 7207 (1970).

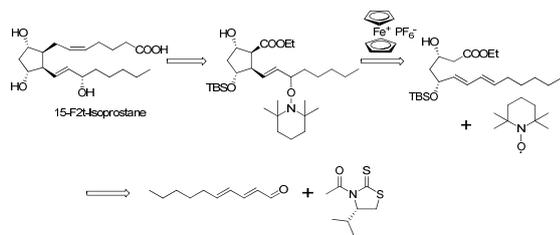
TOWARD AN ASYMMETRIC TOTAL SYNTHESIS OF 5-, 8-, 12- AND 15-F₂₁-ISOPROSTANES

TANJA LAU, ALEXANDRE PICHAVANT, ULLRICH JAHN

Institute of Organic Chemistry and Biochemistry AS CR v. v. i., Flemingovo 2, 166 10 Praha 6, Czech Republic
Lau@uochb.cas.cz

Since their discovery in the early nineties^{1,2}, isoprostanes have developed to the gold standard for monitoring oxidative stress *in vivo*³. Their level in tissues is related to a variety of diseases, like the Alzheimer's syndrome, stroke, pulmonary disorders or atherosclerosis. Moreover they display a wide range of biological activity.

Since isoprostanes are produced from arachidonic acid via autooxidative pathways and form diastereomers to the well known prostaglandins, they cannot be isolated conveniently from biological material. Therefore regio- and stereoselective total synthesis is required to provide sufficient quantities of isomerically pure material for medical research and diagnostic applications³.



After accomplishing a racemic total synthesis to 15-F_{2t}-Isoprostane⁴, we present here initial results on the development of a unified strategy toward the asymmetric synthesis of 15-F_{2t}-Isoprostane as well as a approach to modular asymmetric syntheses of 5-, 8- and 12-F_{2t}-Isoprostane.

REFERENCES

1. Morrow, J. D., Hill, K. E., Burk, R. F., Nammour, T. M., Badr, K. F., Roberts II, L. J.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 87, 9383 (1990).
2. Morrow, J. D., Awad, J. A., Boss, h. J., Blair, I. A., Roberts II, L. J.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89, 10721 (1992).
3. Jahn, U., Galano, J.-M., Durand, T.: Angew. Chem. Int. Ed. 47, 5894 (2008).
4. Dinca E., Jahn U.: Chem. Eur. J. 15, 58 (2009).

PREKURSORY α - a β -C-MANNOSYLOVANÝCH GLYKOKONJUGÁTŮ

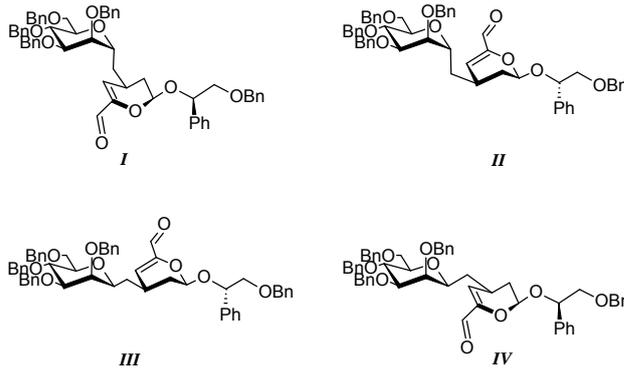
ZUZANA LÖVYOVÁ*, LADISLAV KNIEŽO

Ústav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha
zuzana.lovova@vscht.cz

Nedávno bylo zjištěno, že lektin označovaný jako DC-SIGN rozpoznává na povrchu mnohých patogenních mikroorganismů glykoproteiny, které mají vysoký obsah mannosy nebo fukosy¹. Následně se potvrdilo, že syntetické dendrimerní struktury obsahující na povrchu mannosu jsou schopny inhibovat infekci buněk modelem Ebola viru². Aby se získalo více poznatků o těchto procesech, rozhodli jsme se syntetizovat (1→3)-C-disacharidy obsahující na nereducujícím konci α - nebo β -mannopyranosylový zbytek.

Při syntéze jsme vycházeli ze snadno dostupné směsi α - a β -mannopyranosylpropanů (9:1), která byla ozonolýzou transformována na odpovídající směs α - a β -mannopyranosylethanalů. Čistý α -mannopyranosylethanal byl z této směsi získán jednoduchou flash chromatografií. Epimerizace v 1% roztoku K₂CO₃ v methanolu poskytla β -mannopyranosylethanal. Oba připravené ethanoly byly podrobeny Wittigově reakci s vhodným fosforečným ylidem a následně cykloadiční reakce s chirálními vinylethery odvozenými od R- a S-mandlové kyseliny stereoselektivně poskytly sloučeniny **I-IV**. Tyto lze dále transformovat na C-substituované glukaly, které jsou prekursory buď pro příslušné (1→3)-C-disacharidy, anebo pro příslušné nehydrolyzovatelné

glykokonjugáty, funkcionalizované dendrimery apod., obsahující α - nebo β -mannopyranosylový strukturní motiv.



Tato práce vznikla za podpory grantu MŠMT ČR 6046137305 a grantu GA ČR 203/08/1124.

LITERATURA

1. Guo Y., Feinberg H., Conroy E., Mitchell D. A., Alvarez R., Blixt O., Taylor M. E., Weis W. I., K. Drickamer.: Nature Struct. Mol. Biol. 11, 591 (2004).
2. Rojo J., Delgado R.: J. Antimicrob. Chemother. 54, 579 (2004).

MOLEKULÁRNÍ ELEKTROCHEMIE V ORGANICKÉ A KOORDINAČNÍ CHEMII

JIŘÍ LUDVÍK

Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského AVČR, v.v.i.,
Dolejškova 3, 182 23 Praha 8
jiri.ludvik@jh-inst.cas.cz

Elektrochemie je v oblasti organické chemie vnímána zejména jako alternativní syntetická, preparativní metoda, za využití velkoplochých elektrod a technologicky optimalizovaných cel. Protože jde o dlouhodobě významnou oblast v organické syntéze, existuje na toto téma řada monografií a povědomost organických chemiků v tomto směru je jistě vysoká. Tématem tohoto příspěvku je ale elektrochemie zaměřená spíše analyticky za účelem popisu chování rozpuštěných (=izolovaných) molekul po přijetí či odevzdání elektronu na elektrodě (proto „molekulární“).

V organické a koordinační chemii se neustále objevují nové sloučeniny a komplexy, jejichž specifické redox vlastnosti jsou zásadním předpokladem jejich využití ať už jako katalyzátorů, foto- a elektrochromních molekul pro zobrazovací jednotky, pesticidů, léčiv, modelů biologických systémů, stavebních jednotek pro molekulární elektroniku apod. Pro charakterizaci jejich oxidovatelnosti, resp. redukovatelnosti, pro určení potenciálů jednotlivých dějů, pro změření kinetiky a rovnovážných konstant předřazených či následných reakcí a pro zjištění příslušných mechanismů redox reakcí včetně zachycení meziproductů se velmi dobře hodí komplexní elektrochemický přístup, zejména v kombinaci

s dalšími fyzikálně chemickými a analytickými metodami. Takto získaná detailní znalost vztahu mezi strukturou a redox vlastnostmi pak umožní cílené navrhování nových molekul jakož i predikci jejich konkrétních vlastností.

I když elektrochemické studium organických látek je poměrně tradiční disciplína, v posledních letech se posouvá od popisu chování a vlastností k vysvětlení jejich příčiny. Je to způsobeno tím, že interpretaci získaných experimentálních dat je možné získat informace také o rozložení elektronů v molekule, lokalizaci redukčních a oxidačních center, o intramolekulárních interakcích i o míře elektronové delokalizace v určité části molekuly. Molekulární elektrochemie tedy navíc představuje experimentální podklad k úvahám a závěrům, které jsou doménou spíše kvantových chemiků.

V tomto příspěvku jsou možnosti molekulární elektrochemie ilustrovány na několika příkladech, které jsou v současnosti v naší laboratoři řešeny. Zvláště zajímavé jsou v tomto směru molekuly se dvěma (či více) redox centry, která, pokud spolu silně elektronově komunikují, si neopouštějí své původní vlastnosti, nýbrž vytvoří zcela nový delokalizovaný systém, který se od původní elektronové struktury značně liší a který tak může nabízet nové možnosti.

Jako příklady byly vybrány elektrochemické studie heterocyklických azinů (používaných jako pesticidy), jejichž vazba N-N v azinovém seskupení C=N-N=C má jednoduchý charakter a zjevně se nezapojuje do delokalizace¹. Dalším tématem jsou dikarboony a jejich oximy^{2,3}, jejichž redukce je silně ovlivňována vzájemnou interakcí těchto center, následuje problematika aminokarboenových komplexů Cr, W a Fe Fischerova typu, kde interpretace elektrochemických údajů pomáhá objasnit zdánlivě anomální redox chování studovaných molekul^{4,5} a nakonec budou zmíněny organické látky a komplexy (i vícejaderné), kde za pomoci ferrocenu jako redoxní sondy bylo možné experimentálně zjistit rozdíly v elektronové hustotě na různých místech v molekule, sledovat intramolekulární přenos elektronů i určit pořadí jednotlivých redox dějů ve složitých komplexech⁶⁻¹⁵. (Kromě těchto ukázek by bylo možné hovořit i o jiných právě řešených projektech jako např. o mechanismu redukčního i samovolného rozkladu geminálních dinitro-diamino sloučenin, o tetranitrokalixarenech, kde dochází k interakci čtyř nitroskupin, o oxidaci 1- a 12-substituovaných karboranových aniontů¹⁶ a o dalších systémech.) Ve všech těchto případech elektrochemický výzkum vede k formulaci důležitých otázek, ke kvalitativnímu návrhu odpovědi a je základem pro zobecnění získaných poznatků.

Je však třeba mít stále na paměti, že elektrochemický přístup je sice velice citlivý a podává velké množství informací, je ale často málo specifický a jakkoli je jedinečný a přínosný pro řešení daného problému, není samospasitelný a vyžaduje pro potvrzení hypotéz a pro jejich kvantitativní zpracování další analytické a fyzikálně chemické metody (elektronová a vibrační spektra, NMR, MS, rentgenová strukturní analýza apod.), jakož i kvantově chemické výpočty.

Tento projekt je podporován GA AV ČR, grantem č. IAA 400400813.

LITERATURA

1. Zuman P., Ludvík J.: *Tetrahedron Lett.* 41, 7851 (2000).
2. Celik H., Ekmekci G., Ludvík J., Pícha J., Zuman P.: *J. Phys. Chem., B* 110, 6785 (2006).
3. Celik H., Ludvík J., Zuman P.: *Electrochem. Commun.* 8, 1749 (2006).
4. Hoskocová I., Roháčková J., Meca L., Tobrman T., Dvořák D., Ludvík J.: *Electrochim. Acta* 50, 4911 (2005).
5. Hoskocová I., Roháčková J., Dvořák D., Ludvík J.: *ECS-Trans.* 2, 87 (2006).
6. Podlaha J., Štěpnička P., Ludvík J., Císařová I.: *Organometallics* 15, 543 (1996).
7. Lukesova L., Ludvik J., Cisarova I., Stepnicka P.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 65, 1897 (2000).
8. Hocek M., Štěpnička P., Ludvík J., Císařová I., Votruba I., Řeha D., Hobza P., *Chem. Eur. J.* 10, 2058 (2004).
9. Meca L., Dvořák D., Ludvík J., Císařová I., Štěpnička P.: *Organometallics* 23, 2541 (2004).
10. Štěpnička P., Ludvík J., Canivet J., Süß-Fink G.: *Inorg. Chim. Acta* 359, 2369 (2006).
11. Tschan M. J.-L., Therrien B., Ludvík J., Štěpnička P., Süß-Fink G.: *J. Organomet. Chem.* 691, 4304 (2006).
12. Auzias M., Süß-Fink G., Štěpnička P., Ludvík J.: *Inorg. Chim. Acta* 360, 2023 (2007).
13. Govindaswamy P., Therrien B., Süß-Fink G., Štěpnička P., Ludvík J.: *J. Organometal. Chem.* 692, 1661 (2007).
14. Govindaswamy P., Canivet J., Therrien B., Süß-Fink G., Štěpnička P., Ludvík J.: *J. Organometal. Chem.* 692, 3664 (2007).
15. Auzias M., Therrien B., Süß-Fink G., Štěpnička P., Ludvík J.: *J. Organomet. Chem.* 692, 755 (2007).
16. Ericsson L., Vyakaranam K., Ludvík J., Michl J.: *J. Org. Chem.* 72, 2351 (2007).

SYNTÉZA MODIFIKOVANÉ DNA A JEJÍ INTERAKCE S RESTRIKČNÍMI ENDONUKLEASAMI

HANA MACÍČKOVÁ CAHOVÁ, MICHAL HOCEK*

*UOCHB AV ČR, Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6
cahova@uochb.cas.cz*

Funkcionalizované nukleové kyseliny přitahují v posledních letech stále větší pozornost. Nejenže nám mohou pomoci při pochopení interakcí DNA či RNA s proteiny, ale mohou také sloužit v řadě dalších aplikací, ať už jde o nanotechnologie či bioanalýzu. V naší skupině jsme vyvinuli novou dvoukrokovou metodiku přípravy DNA nesoucí modifikaci na nukleových bazích. Vodné cross-coupling reakce halogenovaných deoxynukleosid trifosfátů (dNTP) s funkcionalizovanými boronovými kyselinami vedly k syntéze modifikovaných dNTP, které byly následně inkorporovány za využití polymeras do různých sekvencí. Zatímco 8-substituované dATP byly špatnými substráty DNA polymeras, 7-substituované-7-deaza purinové a 5-substituované pyrimidinové deoxynukleosid trifosfáty byly inkorporovány velmi efektivně. DNA nesoucí modifikace na adeninu a 7-deazaadeninu byla dále použita jako substrát pro restrikční

endonukleazy a byl sledován vliv modifikace na proces rozpoznávání a štěpení těmito enzymy.

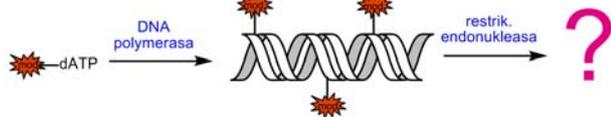


Schéma 1. Enzymatická syntéza modifikované DNA a následná interakce DNA s restričními endonukleasami

Tato práce je součástí výzkumného projektu Z4 055 0506, podporována Centrem pro biomolekuly a komplexní molekulární systémy (LC 512), Grantovou agenturou České republiky (203/09/0317) a Výzkumným centrem Gilead science, Inc. (Foster City, CA).

LITERATURA

- Čápek P., Cahová H., Pohl R., Hocek M., Gloeckner C., Marx A.: Chem. Eur. J. 13, 6196, (2007).
- Cahová H., Havran L., Brázdilová P., Pivoňková H., Pohl R., Fojta M., Hocek M.: Angew. Chem., Int. Ed. 47, 2059, (2008).
- Cahová H., Pohl R., Bednářová L., Nováková K., Cvačka J., Hocek M.: Org. Biomol. Chem. 6, 3657 (2008).
- Macíčková-Cahová H., Hocek M.: submitted.

IN VITRO INVESTIGATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF NOVEL 3-PHENYL-1,2,3-BENZOTRIAZINE-4(3H)-THIONE DERIVATIVES

PAVEL SKÁLA^a, MARTIN PRAVDA^a, LENKA KUBICOVÁ^b, JARMILA KAUSTOVÁ^c, VLADIMÍR BUCHTA^d, MILOŠ MACHÁČEK^a

^aFaculty of Pharmacy, Charles University, 500 05 Hradec Králové; ^bFaculty of Biosciences, Pharmacy and Psychology, University of Leipzig, Germany, D-04103; ^cInstitute of Public Health in Ostrava, 702 00 Ostrava; ^dTeaching Hospital and Faculty of Medicine, Charles University, 500 05 Hradec Králové machacek@faf.cuni.cz

A series of eight 3-phenyl-1,2,3-benzotriazine-4(3H)-thiones (**4a-h**) substituted in the para-position of the phenyl moiety was prepared.

2-Amino-*N*-phenylbenzamides **1a-h**, the starting compounds, were obtained from 2*H*-3,1-benzoxazine-2,4(1*H*)-dione by the reaction with the corresponding anilines.¹ They were subjected to two-step microwave-assisted procedure of thionation. Treatment of **1a-h** with P₄S₁₀ in pyridine afforded pyridinium salts **2a-h** as intermediates which were not isolated. Subsequently, the reaction mixture was added to a mixture of toluene and water, acidified to pH ≈ 1-2, and hydrolyzed again under microwave irradiation for 1 hr. 2-Amino-*N*-phenylbenzothioamides **3a-h** were isolated from the organic phase, purified by column chromatography and transformed to the final products **4a-h** by diazotization and spontaneous cyclization. 1,2,3-Benzotriazine-4(3*H*)-thiones **4a-h** were obtained as yellow crystalline solids in 41-61 % overall yields.

The compounds were tested for their *in vitro* antifungal and antimycobacterial activities. They showed moderate antimycobacterial activity against *Mycobacterium avium* and *M. kansasii* and low to moderate activity against *M. tuberculosis* and *M. kansasii* (clinical isolate). In antifungal screening against *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *Trichosporon asahii*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Aspergillus fumigatus*, and *Absidia corymbifera*, the observed minimum inhibitory concentrations (MICs) of compounds **4b-h** were equal to or higher than 125 μmol·L⁻¹. Only the unsubstituted compound **4a** was moderately active against *Candida albicans* and *Trichophyton mentagrophytes* (MIC = 62.5 μmol·L⁻¹).

This work was supported by the research project MSM 0021620822 of the Ministry of Education of the Czech Republic.

REFERENCE

- Kubicová L., Dostál H., Kuneš J., Kráľová K., Buchta V., Kaustová J., Waissner K., In: *Proceedings of ECSOC-4*, Sept. 1-30, 2000, p. 1358. Molecular Diversity Preservation Int., Basel 2000. Available on-line: <<http://pages.unibas.ch/mdpi/ecsoc-4/c0015/c0015.htm>>.

SYNTÉZA AKRIDINYL-IZOXAZOLÍNŮV AKO POTENCIÁLNÝCH NUKLEOZIDOVÝCH INHIBÍTORŮV REVERZNEJ TRANSKRIPTÁZY (NARTIs)

LUCIA MALUČKÁ*, JÁN IMRICH, MÁRIA VILKOVÁ

Univerzita Pavla Jozefa Šafárika, Prírodovedecká fakulta, Ústav chemických vied, Katedra organickej chémie, Moyzešova 11, 041 67 Košice
lucia.malucka@gmail.com

Zidovudin, abacavir a didanosin patria do triedy nukleozidových analógov antiretrovirálnych liečiv zameraných na inhibíciu reverznej transkriptázy retrovírusu HIV¹.

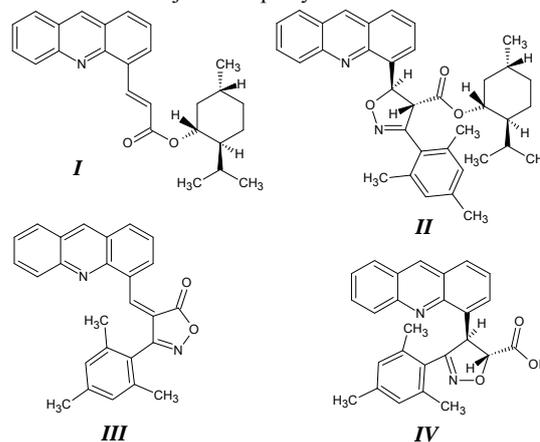


Schéma 1. Nové potenciálne inhibítory **II-IV** (NARTIs) na báze izoxazolínov

Nevyhnutnou součástíou molekuly horeuvedených liečiv je dusíkatý heterocyklus, čo nás motivovalo k príprave nových analógov inhibitorov reverznej transkriptázy na báze izoxazolínov s modifikovanou heterocyklicko-bázickou zložkou akridínového typu.

Nové nukleozidové inhibitory **II–IV** reverznej transkriptázy boli pripravené prostredníctvom 1,3-dipolárnych cykloadícií, reakciou chirálneho 4-akridinylalkenylového dipolarofilu **I** s 2,4,6-trimetylbenzonitriloxidom.

Táto práca bola finančne podporená grantovou agentúrou VEGA (grant č. 1/0476/08) a štátnym programom NMR (grant č. 2003SP200280203).

LITERATÚRA

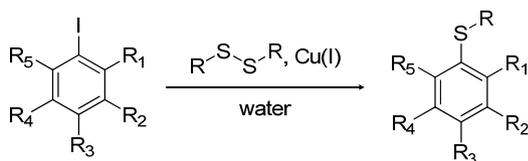
- Wang L., Suo Z., v knihe: *Nucleoside Triphosphates and their Analogues: Chemistry, Biotechnology, and Biological Applications*, kap. 8, s. 226. Taylor & Francis Group, Boca Raton 2005.

Cu(I)-CATALYZED CROSS-COUPPLING REACTION OF DISULFIDES AND ARYL IODIDES. SYNTHETICAL SCOPE STUDY AND LIMITATIONS

MAREK MARTÍNEK, JIŘÍ ŠROGL*

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

Disulfide functionality^{1,2,3} is one of the cornerstones of synthetic organic chemistry. The aim of our work was a detailed study of its reactivity in reductive cross-coupling reaction with organic halides catalyzed by copper salts⁴. In the center of our investigation is Cu(I) catalyst which is maintained in the catalytically active state by ascorbate moiety present in the reaction mixture⁵. Best coupling results achieved by this novel catalytic system are observed in water as a reaction media utilizing phase-transfer co-catalyst.



Scheme 1

This work was supported by The Grant Agency of the Czech Republic (GaČR), No. 203/08/1318.

REFERENCES

- Huxtable, R.J. *Biochemistry of Sulfur*. Plenum Press, New York 1986.
- Oae S., Okuyama T.: *Organic Sulfur Chemistry: Biochemical Aspects*. CRC Press, Boca Raton 1992.
- Oae S., Okuyama T.: *Organic Sulfur Chemistry: Structure and Mechanism*. CRC Press, Inc. Boca Raton 1992.

- Taniguchi N., Onami T.: *J. Org. Chem.* 69, 915 (2004).
- Korf M.: *Diploma thesis*, ICT Prague, 2008.

SYNTEZA BICYKlickÝCH PENTENOLIDŮ JAKO ANALOG PŘÍRODNÍCH LÁTEK S BIOLOGICKOU AKTIVITOU

ELIŠKA MATOUŠOVÁ, MILAN POUR

*Katedra anorganické a organické chemie, Farmaceutická fakulta UK, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové
matoes2aa@faf.cuni.cz*

Dienolidové strukturální seskupení je součástí řady přírodních látek, které vykazují antitumorózní¹, insekticidní² a významnou antifungální aktivitu³. Mezi takové přírodní látky patří například antifungálně aktivní CR 377 (**1**), izolovaná z houby *Fusarium* sp. nebo podolaktony (**2**) izolované z různých druhů rodu *Podocarpus*.

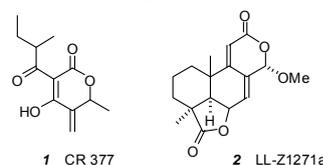
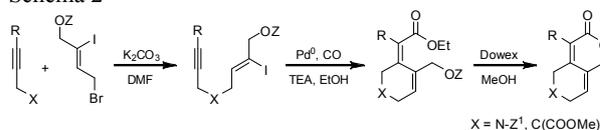


Schéma 1

Zdá se proto, že právě dienolidové seskupení je nositelem antifungálního účinku. Naším cílem je připravit jednoduché bicyklické pentenolidy a ověřit tak platnost této hypotézy. Postup přípravy je založen na Pd-katalyzované karbopalladační reakci zakončené laktonizací⁴.

Schéma 2



Připravený dusíkatý a karbocyklický derivát bez substituce v poloze 4 (R = H) byly otestovány na antifungální a cytotoxickou aktivitu.

Práce vznikla za podpory Grantové agentury ČR (projekt č. 203/07/1302) a Ministerstva školství ČR (projekty č. 1M0508 a MSM0021620822).

LITERATURA

- Hembree J. A., Chang C., McLoughlin J. L., Cassady J. M., Watts D. J., Wenkert E., Fonseca S. F., De Paiva Campello J.: *Phytochemistry* 18, 1691 (1979).
- Singh P., Russell G. B., Hayashi Y., Gallagher R. T., Fredericksen S.: *Entomol. Exp. Appl.* 25, 121 (1979).
- Hosoe T., Nozawa K., Lumley T. C., Currah R. S., Fukushima K., Takizawa K., Miyaji M., Kawai K.: *Chem. Pharm. Bull.* 47, 1591 (1999).
- Schiller R., Pour M., Fáková H., Kuneš J., Císařová I.: *J. Org. Chem.* 69, 6761 (2004).

MECHANISMUS *S*- A *N*-OXIDACÍ KATALYZOVANÝCH FLAVINIOVÝMI SOLEMI

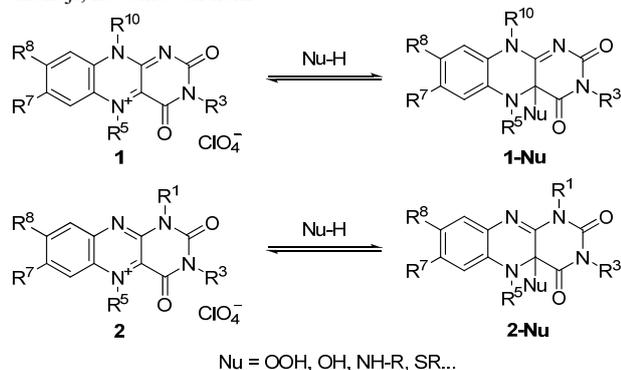
PETRA MĚNOVÁ, RADEK CIBULKA

Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5,
166 28 Praha 6

petra.menova@seznam.cz; cibulka@vscht.cz

Flaviniové soli představují účinné katalyzátory oxidace sulfidů a terciárních aminů s využitím peroxidu vodíku jako stechiometrického oxidačního činidla¹. Kromě flaviniových solí **1** odvozených od přírodního isoalloxazinu byly v poslední době testovány rovněž deriváty alloxazinu **2**.

Mechanismus *S*- a *N*-oxidací byl důkladně prostudován v případě isoalloxaziniových solí². Vlastním oxidačním činidlem je flavin-4a-hydroperoxid **1-Nu**, Nu = OOH, vznikající *in situ* reakcí příslušné flaviniové soli s peroxidem vodíku. Po oxidaci substrátu vzniká 4a-hydroxyflavin (**1-Nu**, Nu = OH), který po eliminaci vody přechází na flaviniovou sůl, a ta vstupuje do dalšího katalytického cyklu. Mechanismem účinku alloxaziniových solí se však dosud nikdo nezabýval. Předpokládá se, že je stejný jako v případě solí isoalloxaziniových³. Naše experimentální výsledky však ukazují, že tomu tak není.



Důvodem rozdílného mechanismu katalytického působení solí **1** a **2** při oxidacích peroxidem vodíku je pravděpodobně rozdílná ochota obou solí pro tvorbu aduktů s nukleofily **1-Nu** a **2-Nu**. Alloxaziniové soli **2** tvoří adukty méně ochotně, což mimo jiné znesnadňuje tvorbu alloxazinhydroperoxidu **2-Nu** (Nu = OOH) v katalytickém cyklu přímou reakcí soli s peroxidem vodíku.

Autoři děkují Grantové agentuře České republiky (projekt č. 203/07/1246) za finanční podporu.

LITERATURA

1. Gelalcha F.G.: Chem. Rev. 107, 3338 (2007).
2. Murahashi S.-I., Oda T., Masui Y.: J. Am. Chem. Soc. 111, 5002 (1989).
3. Minidis A. B. E., Bäckvall J. E.: Chem. Eur. J. 7, 297 (2001).

AKTIVACE *META*-POLOH CALIXARENOVÉHO SKELETU

JAN MOTYČKA, JAN BUDKA, VÁCLAV EIGNER,
PAVEL LHOTÁK

Ústav organické chemie, a Ústav chemie pevných látek
VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6
Jan.Motycka@vscht.cz

Pro aromatickou část calixarenového skeletu je typická substituce *para*-polohy (tzv. horní okraj). Naproti tomu *meta*-substituované deriváty představují nejméně prozkoumanou oblast chemie calix[4]arenů. Tato práce se zabývá substitucí *para*-poloh takovými skupinami, které vedle toho, že blokují horní okraj calixarenu, rovněž díky svému kladnému isomernímu efektu aktivují pro další elektrofilní substituci právě *meta*-polohy calixarenového skeletu (hydroxy, methoxy, amino nebo substituované aminoskupiny).

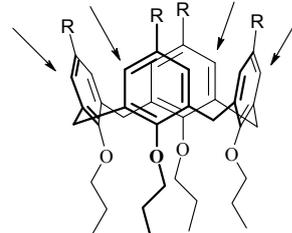


Schéma 1. Aktivovaný calix[4]aren

Meta-substituce calix[4]arenového skeletu vede často k inherentně chirálním derivátům, jakým je např. připravený tetrabromcalix[4]aren **I**.

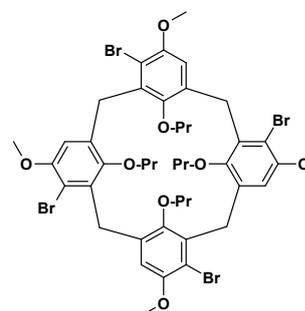


Schéma 2, Tetrasubstituovaný tetrabromcalix[4]aren

Tento projekt je podporován granty GA ČR 104/107/1242 a MSM 6046137301.

LITERATURA

1. Arduini A., Mirone L., Paganuzzi D., Pinalli A., Pochini A., Secchi A., Ungaro R.: Tetrahedron 52, 6011 (1996).
2. Paek K. S., Kim H. J., Chang S. K.: Supramol. Chem. 5, 83 (1995).

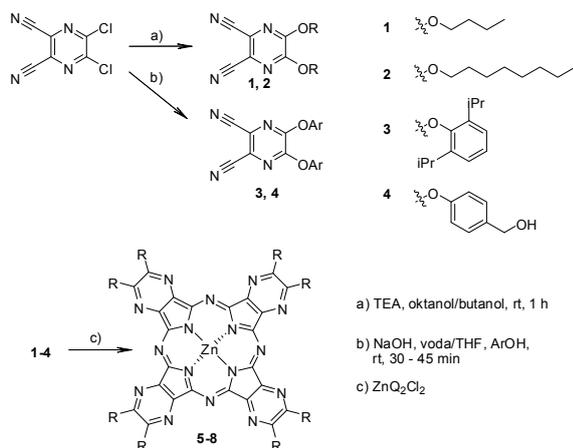
PŘÍPRAVA A FOTOFYZIKÁLNÍ VLASTNOSTI FLUOROFORŮ ZE SKUPINY ARYLOXY- A ALKYLOXY SUBSTITUOVANÝCH TETRAPYRAZINOPORFYRAZINŮ

VERONIKA NOVÁKOVÁ, PETR ZIMČÍK, KAMIL KOPECKÝ

*Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova v Praze
veronika.novakova@faf.cuni.cz*

Ftalocyaniny (Pc) jsou pro své výhodné fotofyzikální vlastnosti využívány v mnoha oblastech (např. jako chemické senzory, katalyzátory, fotosenzitizéry ve fotodynamické terapii). Jejich aza-analogy ze skupiny derivátů tetrapyrazinoporpyrazinů (TPP) si zachovávají vlastnosti Pc, navíc pyrazinové jádro jejich prekurzorů umožňuje přípravu TPP se širším spektrem substituentů oproti Pc. Dosud připravené alkyloxy TPP vykazují vysoké výtěžky fluorescence¹. Ta je navíc snadno detegovatelná, neboť tyto látky emitují ve viditelné oblasti spektra. Aryloxy- a alkyloxy deriváty TPP by se tak mohly stát novou skupinou fluoroforů. Cílem této práce bylo připravit a stanovit fotofyzikální vlastnosti takto substituovaných TPP.

Příprava aryloxy- a alkyloxy derivátů TPP je komplikována transesterifikací periferních substituentů prekurzorů (**1-4**) alkoholem, který je běžně používán při cyklotetramerizaci. Použili a optimalizovali jsme proto jinou metodu, a to cyklizaci v tavenině² založenou na zahřívání prekurzoru s chloridem bis(chinolinát)zinečnatým (ZnQ₂Cl₂).



Připravené TPP byly ohodnoceny z hlediska svých fotofyzikálních a fotochemických vlastností. Výsledky ukázaly na dobrý potenciál těchto látek stát se novou skupinou fluoroforů.

Tato práce vznikla za podpory grantu GAUK 41107B/2007.

LITERATURA

- Zimcik, P., Miletin M., Kostka M., Schwarz J., Musil Z., Kopecky K.: J. Photochem. Photobiol. A 163, 21 (2004).

- Mørkved E. H., Afseth N. K., Kjosen H.: J. Porphyr. Phthalocyanines 10, 1301 (2006).

TRANSKARBAM 12: VLIV pH NA TRANSDERMÁLNÍ PERMEACI TEOFYLINU A HYDROKORTISONU

**MICHAL NOVOTNÝ^a, KATEŘINA VÁVROVÁ^a,
ALEXANDR HRABÁLEK^a**

*^aUK v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra anorganické a organické chemie, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové
Michal.Novotny@faf.cuni.cz*

Transdermální podání léčiv je systémové podání léčiv přes kůži do krevního či lymfatického oběhu. Hlavním omezením přechodu léčiva přes kůži je vnější vrstva nazývaná stratum corneum. Použití transdermálního akceleraantu je jednou z cest, jak tento přechod usnadnit.

Transkarbam 12 (T12)^{1,2} byl projektován s myšlenkou připravit novou sloučeninu, která bude strukturně vycházet ze struktur již publikovaných, ale bude mít flexibilnější molekulu a především, její metabolické štěpy budou netoxické.

V rámci postupného objasňování předpokládaného mechanismu účinku T12 jsme studovali akcelerační aktivitu transkarbamu 12 a odpovídajícího hydrochloridu ω -aminoesteru v širokém spektru pH (pH 3–9). K permeačním studiím jsme vybrali dvě modelová léčiva – hydrokortison a teofylin. Pokusy byly prováděny *in vitro* pomocí Franzovy difúzní cely přes prasečí kůži plně tloušťky. Jako vehikulum jsme zvolili propylenglykol a tris-puřr v poměru 6:4. Hodnocení akcelerační aktivity bylo prováděno pomocí HPLC.

Z výsledků permeačních pokusů lze říci, že karbamátový anion obsažený v molekule T12 je pro samotný akcelerační účinek důležitý. V porovnání s odpovídajícím hydrochloridem ω -aminoesteru byl T12 podstatně účinnější. Byl pozorován významný vliv pH donorového vzorku na urychlovací schopnost. Nejlepších výsledků při hodnocení schopnosti urychlit permeaci modelových bylo dosaženo při pH 8.

Práce vznikla s podporou grantu GAUK 79607/2007/B-CH/FaF a grantu ministerstva školství MSM 0021620822.

LITERATURA

- Doležal P., Hrabálek A., Semecký V.: Pharm. Res. 10, 1015 (1993).
- Hrabálek A., Doležal P., Roman M., Macháček M., Šklubalová Z.: Pharmazie 49, 325 (1994).

BIS-INDOLYLMETHYLTIOAMOČOVINY: SYNTÉZA, CYKLIZAČNÉ REAKCIE A PROTINÁDOROVÁ AKTIVITA

PETER OČENÁŠ^a, ANETA SALAYOVÁ^a, PETER KUTSCHY^a, MARTINA PILÁTOVÁ^b, JÁN MOJŽIŠ^b

^aUniverzita P. J. Šafárika, PrF, Ústav chemických vied, Moyzesova 11, 040 01 Košice; ^bUniverzita P. J. Šafárika, LF, Ústav farmakológie, Tr. SNP 1, 040 66 Košice
peter.ocenas@student.upjs.sk

Indolové prírodné látky izolované z rastlín čeľade *Křížokveté* (*Cruciferae*) svojimi chemopreventívnymi a cytotoxickými vlastnosťami predstavujú zaujímavý objekt skúmania¹. Bis-indolové zlúčeniny, obsahujúce rôznym spôsobom spojené dve indolové jadrá, majú potenciál vykazovať zaujímavú biologickú aktivitu, čo nás viedlo k skúmaniu možností syntézy bis-indolylmetyltiomočovín **I** ako analógov indolových fytoalexínov a k následnému overeniu ich protinádorovej aktivity. Výhodnou metódou prípravy tiomočovín je nukleofilná adícia odpovedajúcich amínov na (1-Boc-indol-3-yl)metylizotiokyanát². Následné odstránenie *tert*-butoxykarbonylovej skupiny umožňuje získať produkty nesubstituované na indolovom dusíku. U vybraných tiomočovín bola sledovaná spirocyklizačná reakcia za vzniku spirocyklických zlúčenín **II**. Najvyššiu antiproliferatívnu aktivitu vykazovala tiomočovina **I** ($R_1 = \text{Boc}$, $R_2 = \text{OCH}_3$), ktorá na všetkých skúmaných bunkových línách mala hodnoty IC_{50} menšie ako $10 \mu\text{mol} \times \text{l}^{-1}$.

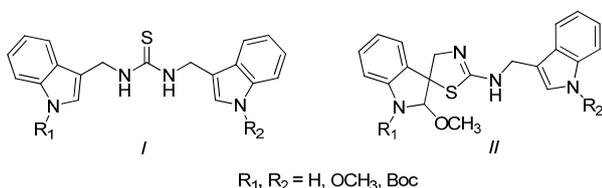


Schéma 1. Štruktúra cieľových zlúčenín

Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-0514-06 a projektom VVGS UPJŠ 15/09–10.

LITERATURA

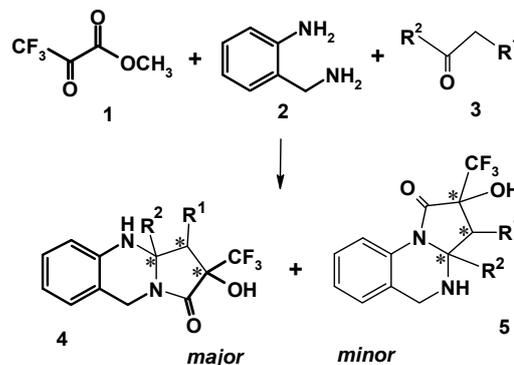
1. Kutschy P., Mezencev R., v knihe: *Targets in Heterocyclic Systems – Chemistry and Properties*, vol. 12, s. 120. Italian Society of Chemistry, Urbino 2009.
2. Kutschy P., Dzurilla M., Takasugi M., Török M., Achbergerová I., Homzová R., Rácová M.: *Tetrahedron* 54, 3549 (1998).

TŘÍSLOŽKOVÁ CYKLIZACE POSKYTUJÍCÍ TRIFLUORMETHYLOVANÉ DIDUSÍKATÉ HETEROCYKLY: ŘÍZENÍ DIASTEREOSELEKTIVITY

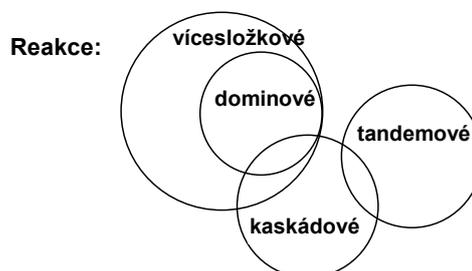
BOHUMIL DOLENSKÝ, JIŘÍ PALEČEK, JAROSLAV KVIČALA, OLDŘICH PALETA*

Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6
oldrich.paleta@vscht.cz

Uvedená cyklizace¹ zahrnuje 2-aminobenzylamin (**1**), 3,3,3-trifluor-2-oxopropanoát (**2**) a keton nebo aldehyd (**3**). Hlavním produktem cyklizace jsou heterocyklické sloučeniny (**4**), které jsou blízkými analogy alkaloidu *Vasicinu* (*Peganinu*)^{2,3}. V obecném případě jsou regioisomerní produkty **4** a **5** směsí diastereoisomerů. Usměrnění cyklizace na jediný regioisomer **4** nebo **5** se zajišťuje zavedením substituentu na atom dusíku v diaminu **2**. Diastereoselektivitu lze řídit vhodnou volbou oxosloučeniny **3** a reakční teplotou. Počet diastereoisomerů se snižuje na polovinu, je-li substituent R^1 nebo R^2 atom vodíku. Další zvýšení diastereoselektivity se dosáhne vhodnou strukturou oxosloučeniny **3**.



Mezi jaký typ reakce lze uvedenou cyklizaci zařadit? Především jde o vícesložkovou reakci. Bližší specifikace cyklizace není na základě literatury jednoznačná, podle ní může jít o reakci dominovou, kaskádovou i tandemovou. Převažující obecnou klasifikaci znázorňuje následující obrázek:



Výzkum byl podporován grantem MŠMT ČR MSM6046137601.

LITERATURA

1. Dolenský B., Kvičala J., Paleta O., Lang J., Dvořáková H., Čejka J.: *Magn. Res. Chem.*, v tisku.
2. Elks J., Ganellin C.R.(ed.), *Dictionary of Drugs, Chemical Data, Structures and Bibliographies*, s. 872. Chapman and Hall, London 1990.
3. Jindal D. P., Chattopadhyaya R.: *Indian Drugs* 35, 606 (1998).

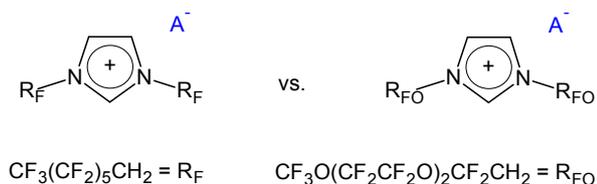
POLYFLUOROVANÉ IMIDAZOLIOVÉ SOLI: SYNTEZA A STUDIUM FLUOROFILITY

**JANA PATEROVÁ^a, MARTIN SKALICKÝ^a, JAROSLAV
KVIČALA^a**

*Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5,
166 28 Praha 6
paterovj@vscht.cz*

Iontové kapaliny na bázi imidazolových soli patří mezi perspektivní materiály v oblasti tzv. „zelené chemie“. Jako alternativní rozpouštědla vykazují vysokou účinnost, dobrou recyklovatelnost, a tím méně zatěžují životní prostředí. Bis(polyfluoralkylované) imidazoliové soli vzhledem k jejich vysoké teplotě tání nemají vlastnosti iontových kapalin¹ a vykazují překvapivě nízkou fluorofilitu.

Syntéza imidazoliových soli s polyfluoretherovými řetězci původně vycházela z dvoustupňové reakce imidazolu s triflátem příslušného alkoholu na bázi HFPO trimeru², použití nonaflátu se však ukázalo v prvním stupni reakce jako výhodnější. Analogickým způsobem byla následně studována syntéza vycházející z 1*H*,1*H*-perfluor-3,6,9-trioxadekan-1-olu a připravena další iontová kapalina s polyfluoretherovými řetězci. Imidazoliové soli s polyfluoretherovými řetězci jsou za laboratorní teploty viskózní kapaliny a vykazují vysokou fluorofilitu.



Dramatické rozdíly mezi vlastnostmi imidazoliových soli obsahujících polyfluoralkylové nebo polyfluoretherové řetězce jsme se pokusili vysvětlit na základě kvantové mechanických výpočtů. Z výsledků vyplynulo, že polyfluoralkylové řetězce směřují od imidazolového jádra, čímž vystavují polární část fluorofilnímu rozpouštědlu a tím snižují její fluorofilitu. Naproti tomu etherové spojky umožňují stočení řetězce do prostoru nad a pod imidazolové jádro. Tím zabraňují kontaktu polární složky s rozpouštědlem a zvýší tak fluorofilitu iontové kapaliny.

Děkujeme MŠMT ČR (Program KONTAKT ME09114-ME857, Výzkumné centrum LC06070, Výzkumný záměr číslo 6046137301) a GA ČR (grant č. 203/06/1511) za finanční podporu.

LITERATURA

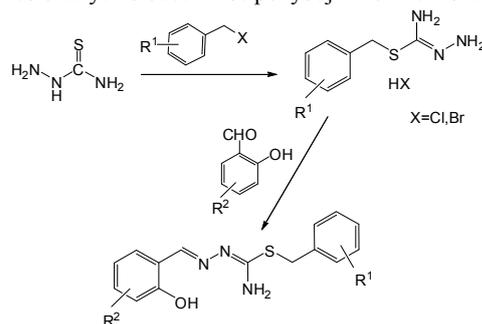
- Xu I., Chen W., Bickley J. F., Steiner A., Xiao J. J.: *Organomet. Chem.* 598, 409 (2000).
- Kysilka O.: *Diplomová práce*, VŠCHT, Praha 2008.

NOVÉ ISOTHIOSEMIKARBAZONY JAKO POTENCIÁLNÍ ANTITUBERKULOTIKA

**EVA PETRLÍKOVÁ^a, KAREL WAISSER^a, LOTHAR
HEINISCH^b, JIŘINA STOLAŘÍKOVÁ^c**

*^aUniverzita Karlova, FarmF, KAOCH, 500 05 Hradec Králové; ^bLeibnitz –Inst. Natl. Prod. Res. Inf. Biol., Hans Knöll Inst., Beutenbergstraße 11a, D-07745 Jena; ^cZÚ, Národní ref. laboratoř pro M. kansasii, 702 00 Ostrava
Eva.Petrlikova@faf.cuni.cz*

Tuberkulóza patří mezi vážná infekční onemocnění a lze říci, že v současné době dochází k nárůstu jejího výskytu i ve vyspělé části světa včetně České republiky. Velkým problémem jsou zejména multirezistentní kmeny, jejichž léčba je obtížná a často končí smrtí. Cílem tohoto projektu bylo připravit sloučeniny, které by mohly představovat potenciální antituberkulotika. Je známo, že thiosemikarbazony vykazují široké spektrum biologických účinků. Patří mezi látky, které jsou nejen antibakteriální a antifungální, ale jsou účinné také proti virům. Na základě farmakoforové analýzy prof. Waissera a předchozí dlouholeté práce dr. Heinische byla připravena série nových *S*-alkylisothiosemikarbazonů. Sloučeniny byly připraveny reakcí substituovaného *S*-benzylisothiosemikarbazidu hydrohalogenidu a příslušného substituovaného salicylaldehydu. U těchto sloučenin byla testována jejich antimykobakteriální aktivita. K biologickým testům *in vitro* byly použity kmeny *M. tuberculosis*, *M. avium* a dva kmeny *M. kansasii*. Hodnoty minimální inhibiční koncentrace (MIC) testovaných sloučenin se pohybují v rozmezí 8-250 $\mu\text{mol.l}^{-1}$.



Tato práce vznikla s podporou GAUK, grantu číslo 11809/2009/B-CH/FAF a VZ MSM 0021620822.

LITERATURA

- Waisser K., Heinisch L., Šlosárek M., Janota J.: *Folia Microbiol.* 51, 25 (2006).
- Waisser K., Heinisch L., Šlosárek M., Janota J.: *Folia Microbiol.* 50, 472 (2005).
- Waisser K., Petrlíková E., Heinisch L., Šlosárek M., Janota J.: *Folia Pharm. Univ. Carol.* 35,36, 37 (2007).

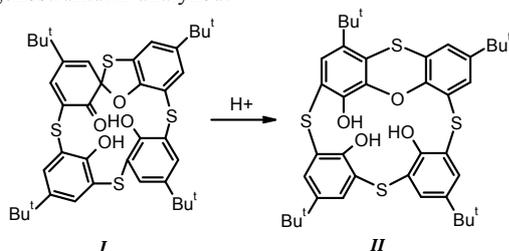
NEČEKANÉ CHOVÁNÍ MONO(SPIRO) CALIX[4]ARENU V KYSELÉM PROSTŘEDÍ

KATEŘINA POLÍVKOVÁ^a, MARKÉTA ŠIMÁNOVÁ^a,
JAN BUDKA^a, PETRA ČUŘÍNOVÁ^b, IVANA
CÍSAŘOVÁ^c, PAVEL LHOTÁK^a

^aÚstav organické chemie, VŠCHT, Technická 5, 166 28 Praha 6, ^bÚstav chemických procesů AV ČR, v.v.i., Rozvojová 135, 165 02 Praha 6, ^cKatedra anorganické chemie, PŘF UK, Hlavova 8, 128 43 Praha 2
katerina.polivkova@vscht.cz

V literatuře je popsáno využití spiroderivátů klasických calix[4]arenů k přípravě celé řady přímou syntézou nedostupných derivátů. Jedním z nich je i příprava calix[4]arenů se selektivně modifikovaným horním okrajem. Naši snahou bylo uskutečnit analogické reakce u spiroderivátů thiacalix[4]arenů.

Opět bylo pozorováno rozdílné chování klasických a sirtých calixarenů. Místo derivátu s jednou *tert*-butylovou skupinou nahrazenou halogenem nebo methoxy skupinou poskytl mono(spiro)thiacalix[4]aren **I** v kyselém prostředí fenoxantinový derivát **II**. Tento nečekáný produkt, vzniklý přesmykem výchozí látky **I**, byl izolován ve vysokých výtěžcích (až 80 %) a jeho struktura byla potvrzena rentgenostrukturální analýzou.



Tato práce vznikla za podpory Grantové agentury České republiky (203/09/0691) a Grantové agentury AV ČR (IAAX08240901).

LITERATURA

- Litwak A. M., Grynszpan F., Aleksiuik O., Cohen S., Biali S. E.: *J. Org. Chem.* 58, 393 (1993).
- Thulasi S., Bhagavathy G. V., Eliyan J., Varma L. R.: *Tetrahedron Lett.* 50, 770 (2009).

SYNTÉZA MONOSUBSTITUOVANÝCH DERIVÁTŮ β-CYKLODEXTRINU A STANOVENÍ JEJICH VAZEBNÝCH KONSTANT

MARTIN POPR, JINDŘICH JINDŘICH

Katedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká fakulta
Univerzity Karlovy v Praze, Praha
xpoprm@seznam.cz

Cyklodextriny¹ jsou cyklické oligosacharidy složené z D-glukopyranosových jednotek, které jsou spojené α(1→4) glykosidickými vazbami. Díky své struktuře jsou schopné tvořit inkluzní komplexy s hydrofóbními molekulami o vhodné velikosti.

Cílem práce bylo připravit sérii derivátů β-cyklodextrinu monosubstituovaných v poloze 3 (schéma 1), dále potom ověřit metodiku určování vazebných konstant těchto derivátů s vhodnou hostující molekulou a zjistit vliv substituce na velikost vazebné konstanty.

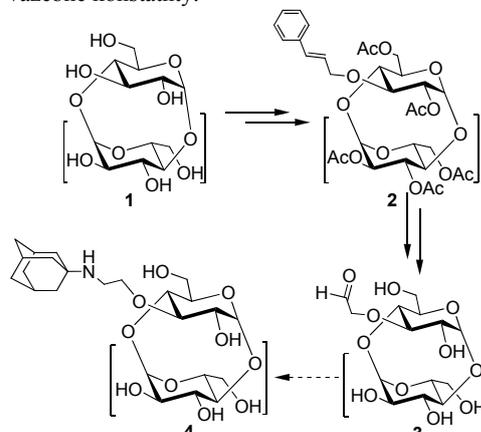


Schéma 1. Příprava série derivátů β-cyklodextrinu monosubstituovaných v poloze 3

Syntéza byla provedena v pěti krocích, z nichž první 3 byly reprodukci postupů popsaných v literatuře^{2,3}. Poslední krok syntézy, kterým je navázání 1-adamantylaminu na aldehydovou skupinu 3'-O-formylmethyl-β-cyklodextrinu **3** může být proveden publikovaným postupem⁴, který popisuje syntézu podobných látek. U některých meziproduktů byly určeny přibližné hodnoty vazebných konstant s modelovou hostující molekulou – kyselinou *p*-aminobenzoovou.

Tato práce je podporována projektem MŠMT ČR MSM0021620857.

LITERATURA

- Szejtli J.: *Chem. Rev.* 98, 1743 (1998).
- Jindřich J., Tišlerová I.: *J. Org. Chem.* 70, 9054 (2005).
- Kusák M.: *Diplomová práce*, PŘF UK Praha 2002.
- Prabakaran M., Mano J. F.: *Carbohydr. Polym.* 63, 153 (2006).

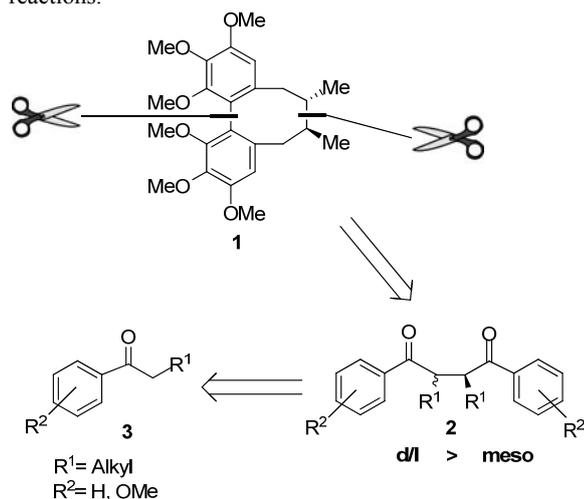
STEREOSELECTIVE OXIDATIVE DIMERIZATION - AN EFFICIENT TOOL FOR THE SYNTHESIS OF DIBENZOCYCLOOCTADIENES LIGNANS

PRATAP JAGTAP, ULLRICH JAHN*

Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Flemingovo 2, 166 10 Prague 6
prataprjagtap@gmail.com, jahn@uochb.cas.cz

Lignans are a class of natural products, which show a wide range of biological activity. They are of interest due to their estrogenic or anti-estrogenic and anti-oxidative activity. Dibenzocyclooctadiene lignans, which are present in plants like *Kadsura japonica* and flax seeds, show anti cancer, anti-inflammatory, anti-HIV and hepatoprotective effects.¹ Our focus is to develop a unified approach to synthesize dibenzocyclooctadiene lignans of type **1** and their analogues in the shortest and most efficient way. This goal can be achieved by using stereoselective oxidative dimerizations as a key step.

We present our results on oxidative dimerizations of enolates of ketones **3**. Moderate to excellent diastereomeric excess is achieved by using ferrocenium hexafluorophosphate as a selective electron transfer reagent.² Factors such as enolate geometry and aggregation³ influence the outcome of these reactions.



REFERENCES

- (a) Robin J., Dhal R., Landais Y., Lebrun A., Lenain V.: *Tetrahedron* **50**, 1153 (1994). (b) Chan J. B., Xie J. H.: *Chinese Chem. Lett.* **7**, 801 (1996).
- For another recent application: Jahn U., Dinca E.: *Chem. Eur. J.* **15**, 58 (2009).
- Collum D. B., Liou L. R., McNeil A. J., Toombes G. E. S.: *J. Am. Chem. Soc.* **130**, 17334 (2008) and references cited.

SYNTÉZA HYDROFOBIZOVANÝCH DERIVÁTŮ HYALURONOVÉ KYSELINY

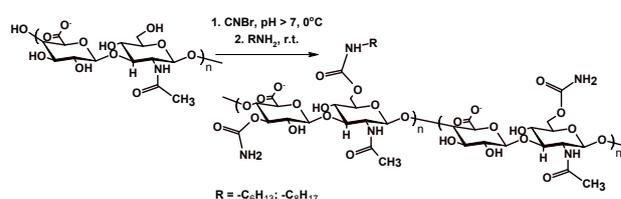
MARTIN PRAVDA, DANIELA ŠMEJKALOVÁ, MIROSLAVA BERKOVÁ, PAVEL NIKODÝM, VLADIMÍR VELEBNÝ

CPN spol. s r.o. 561 02 Dolní Dobrouč 401
pravda@contripro.cz

Hyaluronová kyselina (HA) je vysokomolekulární glykosaminoglykan, polysacharid, který je nezbytnou součástí extracelulární matrix tkání živočišných organismů a vyznačuje

se širokou paletou biologických účinků¹. Jedná se o plně biokompatibilní materiál, který nachází široké uplatnění v medicínských aplikacích (hojení ran, chirurgie atd.). Vysoká rozpustnost ve vodě a rychlá biodegradace v organismu příjemce omezuje možnosti využití nativní hyaluronové kyseliny zejména v oblasti tkáňového inženýrství. Tyto nevýhody překonávají biopolymery na bázi chemicky modifikované hyaluronové kyseliny².

Cílem této práce bylo studium reakce bromkyanem aktivovaného hyaluronanu (HA) s alifatickými aminy. Bromkyan je činidlo hojně využívané k aktivaci hydroxylových skupin polysacharidových řetězců. Vzniklé reaktivní skupiny (imidokarbonáty) jsou dále schopny podstupovat reakci s ligandy obsahujícími ve své struktuře nukleofilní funkční skupiny (např. aminoskupiny). Naším úkolem bylo potvrdit modifikaci struktury hyaluronové kyseliny danou reakcí (viz Schéma I) a sledovat vliv reakčních podmínek na dosahované stupně substituce.



Experimenty prokázaly, že modifikace hydroxylových skupin hyaluronové kyseliny vede ke vzniku *N*-substituovaných karbamátů. Jako vedlejší produkt se ve struktuře polysacharidu objevují rovněž nesubstituované karbamáty. Ze získaných dat vyplývá, že reakci nejčastěji podlehlají primární hydroxylové skupiny v poloze 6 *N*-acetylglukosaminu. Dále bylo prokázáno, že s rostoucím pH reakční směsi roste dosahovaný stupeň substituce. Maximální dosažené stupně substituce se pohybovaly do 20 % (mol/mol).

LITERATURA

- Tammi M. I., Day A. J., Turley E. A.: *J. Biol. Chem.* **277**, 4581 (2002).
- Prestwich G. D., Kuo J. W.: *Curr. Pharm. Biotechnol.* **9**, 240 (2008).

BIS-SILYLATED SULFONES: ORIGINAL AND ATTRACTIVE COMPOUNDS FOR ORGANIC CHEMISTRY

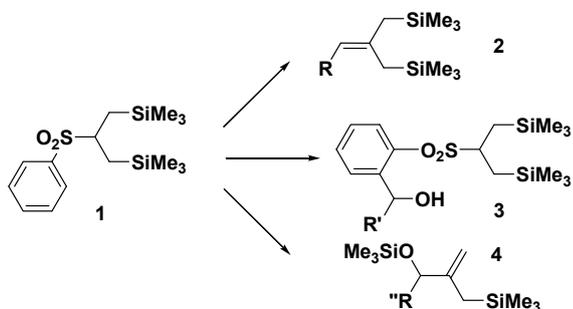
BERTRAND PUGET, ULLRICH JAHN*

Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, ASCR, Flemingovo náměstí 2, 166 10 Prague 6, bertrandpuget@hotmail.com, jahn@uochb.cas.cz

The formation of C-C double bonds is of the most important reactions in organic synthesis since olefins are prevalent in many naturally occurring and biologically active molecules, polymer precursors and organic materials.

Numerous methods, ranging from Wittig and derivated reactions or Peterson-type olefinations to cross-methatesis, are suitable. Among these various methods, Julia and related olefinations¹ are one of the most powerful tools of modern organic chemistry since it enables the reliable preparation of (*E*)-alkenes under mild conditions.

In the present communication, the synthesis and preparative applications of the novel β,β' -bis(silylated) sulfones **1** will be presented.



Sulfone **1** proved to be very interesting, since it leads under defined reaction conditions selectively to three classes of so far more or less unexplored synthetic intermediates (bisallylsilanes **2**, ortho-alkylated sulfones **3**, allylic silyl ethers **4**) in a good substrate scope in good to excellent yield.

REFERENCES

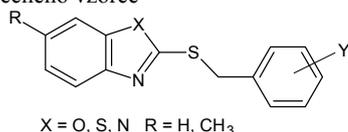
- (a) Dumeunier R., Markó I. E.: *In Modern Carbonyl Olefination*; (Takeda T., ed.); WILEY-VCH, Weinheim, 2004; pp 104-149. (b) Blakemore P. R.: *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* 2002, 2563. (c) Kociensky P. J.: *Comprehensive Organic Synthesis*; (Trost B. M., Fleming I., Eds.); Pergamon Press, New York, 1991; vol 6. pp 987. (d) Julia M., Paris J. M.: *Tetrahedron Lett.* 14, 4833 (1973).

ANALÝZA VLIVU STRUKTURY A SUBSTITUCE NA ANTIMYKOBAKTERIÁLNÍ AKTIVITU 2-BENZYLSULFANYL DERIVÁTŮ BENZAZOLŮ

OLDŘICH PYTELA^a, VĚRA KLIMEŠOVÁ^b

^a *Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice, 532 10 Pardubice*, ^b *Farmaceutická fakulta, Univerzita Karlova, 500 05 Hradec Králové*

Tuberkulóza stále představuje závažný zdravotnický problém. Hledání a vývoj nových, specificky účinných antituberkulotik je proto stále předmětem farmaceutického výzkumu. Tímto směrem je zaměřen i výzkum antimykobakteriální aktivity 2-benzylsulfanyl derivátů benzazolů obecného vzorce



substituovaných v benzylové části. Byly syntetizovány série 29 substitučních derivátů 2-benzylsulfanylbenzoxazolu BOZ, 2-benzylsulfanylbenzthiazolu BTZ, 2-benzylsulfanylbenzimidazolu BIM a 2-benzylsulfanyl-5-methylbenzimidazolu 5-MeBIM. Byla zjištěna antimykobakteriální aktivita (jako MIC) těchto sloučenin vůči kmenům *M. tuberculosis* My 331/88, *M. kansasii* My 235/80, *M. kansasii* 6509/96 a *M. avium* My 330/88 (cit.¹⁻⁴).

Získané hodnoty log MIC byly analyzovány statistickými metodami vícerozměrné analýzy. Jako nejvhodnější se ukázaly průzkumová analýza vícerozměrných dat, metody s latentními proměnnými a vícenásobná lineární regrese. Ke kvantitativní analýze vlivu substituce v benzylové části byly použity Hammettovy substituční konstanty σ , Chartonovy sterické konstanty ν , vypočtené hodnoty logP a z nich odvozené hodnoty π^* , vypočtené hodnoty HOMO a LUMO a některé další charakteristiky. Bylo zjištěno, že hodnoty log MIC statisticky významně klesají s rostoucí hodnotou σ (sloučeniny s elektronakceptorními substituenty jsou účinnější), rostou s hodnotou π^* a klesají se čtvrcem této hodnoty (nejzápornější π^* má thioamidová skupina, proto jsou sloučeniny s touto skupinou účinné). Při stejné substituci rostou hodnoty log MIC v řadě 5-MeBIM<BIM<BOZ<BTZ.

Tato práce vznikla za podpory MŠMT ČR, výzkumný záměr MSM 0021620822.

LITERATURA

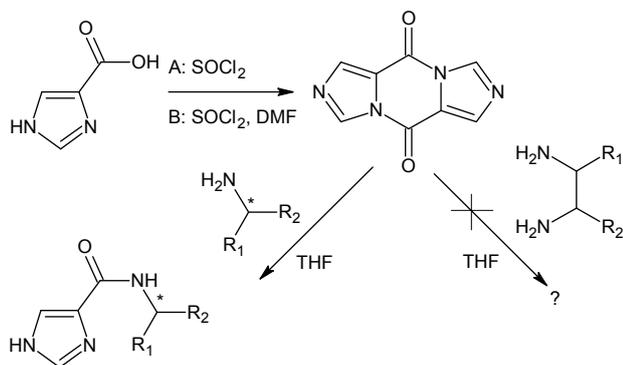
- Klimešová V., Kočí J., Pour M., Stachel J., Waisser K., Kaustová J.: *Eur. J. Med. Chem.* 37, 409 (2002).
- Klimešová V., Kočí J., Waisser K., Kaustová J.: *Farmaco* 57, 259 (2002).
- Kočí J., Klimešová V., Waisser K., Kaustová J., Dahse H. M., Möllmann U.: *Bioorg. Med. Chem. Letters* 12, 3275 (2002).
- Klimešová V., Kočí J., Waisser K., Kaustová J., Möllmann U.: *Eur. J. Med. Chem.* 44, 2286 (2009).

SYNTÉZA A VLASTNOSTI CHIRÁLNÍCH AMIDŮ 1H-IMIDAZOL-4(5)-KARBOXYLOVÉ KYSELINY

ROMAN OLEJNÍK, OLDŘICH PYTELA

Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice, 532 10 Pardubice

Z 1H-imidazol-4(5)-karboxylové kyseliny byl dvěma způsoby připraven 5H,10H-diimidazo[1,5-a:1',5'-d]pyrazin-5,10-dion, lepší výtěžky (78–90 %) poskytovala metoda B.



Reakci 5*H*,10*H*-diimidazo[1,5-*a*:1',5'-*d*]pyrazin-5,10-dionu s (*R*)- a (*S*)- chirálními aminy ($R_1 = \text{CH}_3$, $R_2 = \text{Ph}$, cHx a iPr) byly připraveny odpovídající chirální amidy 1*H*-imidazol-4(5)-karboxylové kyseliny v 60–70% výtěžku. Reakce téžé výchozí sloučeniny s chirálními 1,2-diaminy však ani při variaci podmínek neposkytla očekávané bisamidy, ale až na jednu výjimku pouze směsi neidentifikovatelných produktů. Jeden z produktů reakce s (1*R*,2*R*)-1,2-difenylethan-1,2-diaminem ($R_1, R_2 = \text{Ph}$) se podařilo izolovat a charakterizovat. Tato sloučenina obsahuje ve své struktuře osmičlenný cyklus vzniklý přemostěním centrálního šestičlenného kruhu.

U připravených sloučenin byly spektrofotometricky stanoveny konstanty stability komplexů s chloridem měďnatým (ligand:kov 2:1, 1:1 a 1:2) v methanolu.

5*H*,10*H*-Diimidazo[1,5-*a*:1',5'-*d*]pyrazin-5,10-dion se ukázal jako vhodný prekurzor pro syntézu chirálních monoamidů na bázi imidazolu. Otevírají se tak další možnosti pro syntézu pestřejšího spektra sloučenin, které se mohou uplatnit jako ligandy v koordinačních sloučeninách katalyzátorů pro enantioselektivní syntézy.

Tato práce vznikla za podpory grantu GA ČR 203/08/2308.

LITERATURA

- Moarbess G., Masquefa C. D., Bonnard V., Paniagua S. G., Vidal J. R., Bressolle F., Pinguet F., Bonnet P. A.: *Bioorg. Med. Chem.* 16, 6601 (2008).
- Yu G., Mason H., Wu X., Wang J., Chiny S., Beyer B., Kenwood A., Pongrac R., Seliger L., He B., Normandin D., Ferrer P., Zhang R., Adam L., Humphrey W. G., Krupinski J., Macor J. E.: *J. Med. Chem.* 46, 457 (2003).

IDENTIFIKACE A SYNTÉZA ORGANICKÝCH NEČISTOT A ROZKLADNÝCH PRODUKTŮ JAKO INTEGRÁLNÍ SOUČÁST VÝVOJE API

STANISLAV RÁDL

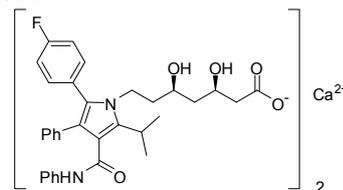
ZENTIVA k.s., U kabelovny 130, 102 37 Praha 10 Dolní Měcholupy
stanislav.radl@zentiva.cz

Dokumentace k jakékoli farmaceutické účinné látce (Active Pharmaceutical Ingredient, API) musí mít i část

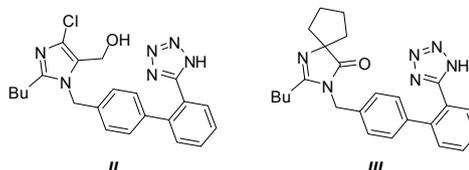
týkající se obsahu a identifikace nečistot. Nečistoty můžeme rozdělit na 3 základní kategorie: organické nečistoty, anorganické nečistoty a zbytková rozpouštědla. Tato přednáška bude věnována identifikaci a syntéze organických nečistot a rozkladných produktů v kontextu vývoje API.

Organické nečistoty zahrnují výchozí látky, intermediáty, vedlejší produkty reakcí, degradační produkty či jiná činidla, ligandy nebo katalyzátory. Žadatel o registraci musí ve své dokumentaci shrnout skutečné i potenciální nečistoty, které mohou vzniknout v průběhu syntézy, čištění či skladování. Tento přehled by měl být sestaven na základě znalostí chemických reakcí užitých při syntéze, znalostí nečistot výchozích látek a možných degradačních produktů. Dále musí být předloženy laboratorní studie zabývající se problematikou identifikace nečistot. Tyto studie zahrnují jak výsledky testů laboratorních šarží, tak šarží připravených způsobem, jakým se budou vyrábět šarže komerční.

Podstatnou součástí registrační dokumentace jsou také protokoly o provedení stabilitních studií a zátěžových testů. Stresové zkoušky účinné substance mohou pomoci identifikovat pravděpodobné rozkladné produkty a pochopit proces degradace daného léčiva a zjistit tak jeho skutečnou stabilitu. Postup při těchto zkouškách závisí na konkrétní substanci a lékové formě. Stresové zkoušky zahrnují vliv teploty, relativní vlhkosti, světla a oxidaci léčiva. Testy mají rovněž za cíl prověřit odolnost léčiva vůči hydrolyze při široké škále pH. Studie degradačních procesů a produktů je také vhodná pro určení vhodné analytické metody pro jejich následné stanovení.

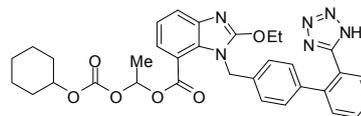


I

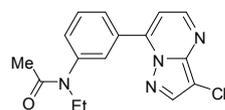


II

III



IV



V

Zjednodušeně lze říci, že minimální požadavky na čistotu API zahrnují souhrnné množství nečistot mezi 0,5 až 1 %, přičemž jakákoliv nečistota, která může dosáhnout hodnoty 0,10 % musí být identifikována. V případě takové nečistoty je pak možné bez provádění nákladných toxikologických studií dosáhnout hodnot obsahu v API až 0,15 %. K prokázání je ale nutné použít validovanou metodu včetně odezvového faktoru, k jehož stanovení je samozřejmě nutné mít tuto nečistotu k dispozici. Některé nečistoty, zvláště ty lékopisné, jsou komerčně dostupné, ale neobyčejně drahé. Většinou jsou získávány buď izolací z reakčních směsí, nebo nezávislou syntézou.

V přednášce bude diskutována uvedená problematika, která bude dokumentována vlastními příklady získanými v průběhu vývoje generických léčiv ve společnosti Zentiva. Příklady budou zahrnovat hlavně nečistoty a rozkladné produkty atorvastatinu (**I**)¹, léčiv ze skupiny sartanů, například losartanu (**II**), irbesartanu (**III**)², candesartan cilexetilů (**IV**)³ a hypnotika zaleplonu (**V**)^{4,5}.

Kromě uvedených oblastí bude krátce zmíněna v poslední době velmi aktuální problematika genotoxických nečistot.

LITERATURA

1. Stach J., Havlíček J., Plaček L., Rádl S.: Collect. Czech. Chem. Commun. 73, 229 (2008).
2. Havlíček J., Mandelová Z., Weisemann R., Střelec I., Plaček L., Rádl S.: Collect. Czech. Chem. Commun. 74, 347 (2009).
3. Stach J., Havlíček J., Tkadlecová M., Plaček L., Rádl S.: Acta Chem. Sloven. 2009, 56.
4. Rádl S., Blahovcová M., Havlíček J., Tkadlecová M.: Heterocycles, *In preparation*.
5. Rádl S., Blahovcová M., Plaček L., Pekárek T., Havlíček J.: J. Heterocycl. Chem., *Submitted*.
6. S. Rádl, M. Blahovcová, J. Havlíček, M. Tkadlecová: Heterocycles, *In preparation*.

BAREVNÉ ZNAČENÍ DNA VYUŽÍVAJÍCÍ KOVALENTNĚ VÁZANÉ REAKTIVNÍ SKUPINY

VERONIKA RAINĐLOVÁ, MICHAL HOCEK*

UOCHB AV ČR, Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6
raindlova@uochb.cas.cz

Funkcionalizované nukleové kyseliny (např. DNA aptametry) jsou hojně využívány v oblastech bioanalýzy, nanotechnologie, katalýzy a v neposlední řadě v chemické biologii. Jednoduchou jedнокrokovou reakcí (vodný Suzuki cross kapling) halogenovaných deoxy-nukleosid trifosfátů s boronovou kyselinou lze cíleně připravit deoxy-nukleosid trifosfáty nesoucí reaktivní skupinu X (např. -CHO, -N₃, -NO₂). Jejich následnou enzymatickou inkorporací DNA polymerasami byla připravena DNA, která byla amplifikována pomocí PCR a následně barevně značena prostřednictvím reakce mezi reaktivní skupinou X a derivátem Y.

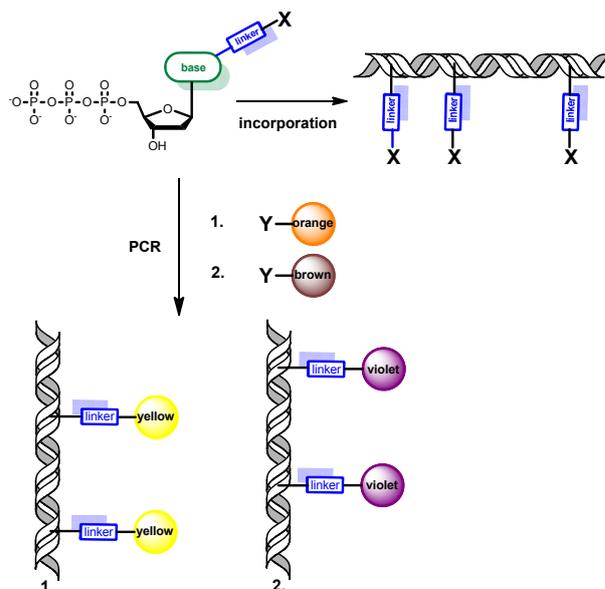


Schéma 1. Syntéza modifikovaných deoxy-nukleosid trifosfátů (dNTPs), jejich enzymatická inkorporace do DNA a amplifikace pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR)

Tato práce je součástí výzkumného projektu Z4 055 0506 podporovaná Centrem pro biomolekuly a komplexní molekulární systémy (LC512), GA ČR (203/09/0317) a Výzkumným centrem Gilead Sciences, Inc. (Foster City, CA).

LITERATURA

1. Cahová H., Havran L., Brázdilová P., Pivoňková H., Pohl R., Fojta M., Hocek M.: Angew. Chem. Int. Ed. 47, 2059 (2008).
2. Behforouz M., Flynt M. S.: J. Org. Chem. 50, 1186 (1985).

ROUBOVÁNÍ CELULOSY METODOU ATRP: ROLE ZPŮSOBU AKTIVACE CELULOSY PŘI PŘÍPRAVĚ MAKROINICIÁTORŮ S PŘEDURČENÝM MNOŽSTVÍM INICIAČNÍCH MÍST

VLADIMÍR RAUS*, PETRA LÁTALOVÁ, ADRIANA ŠTURCOVÁ, JIŘÍ DYBAL, JAROSLAV KRÍŽ, PETR VLČEK

Ústav makromolekulární chemie AV ČR, v.v.i., Heyrovského náměstí 2, 162 06 Praha 6
raus@imc.cas.cz

Roubované kopolymery celulosy se díky jejich zajímavým vlastnostem a nezanedbatelnému aplikačnímu potenciálu v posledních letech stávají předmětem širokého zájmu¹. Ten se postupně přesouvá od roubování v heterogenní

fázi k postupům prováděným v roztoku, které umožňují rovnoměrnější distribuci roubů v kopolymerech.

Esterifikací celulosy 2-bromoisobutyryl bromidem ve směsi *N,N*-dimethylacetamid/LiCl byly připraveny polyfunkční makroiniciátory pro radikálovou polymerizaci s přenosem atomu (ATRP) nesoucí předurčený počet iniciačních míst. Ukazuje se, že způsob aktivace celulosy, tj. procedura umožňující její dokonalé rozpuštění, významně ovlivňuje efektivitu přípravy makroiniciátorů a tedy i možnost stechiometrického řízení reakce. V tomto smyslu byly srovnány v současnosti běžně používané metody s nově vyvinutým postupem využívajícím 1,4-dioxan jakožto aktivační médium.

Připravené polyfunkční makroiniciátory byly následně v DMSO řízeně roubovány styrenem. Takto bylo možno syntetizovat kopolymery nejen s definovanou délkou roubů, ale nově také s předurčenou hustotou roubování.

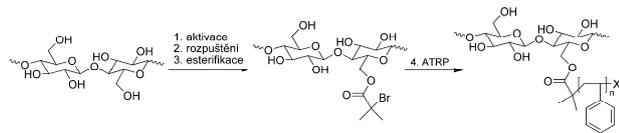


Schéma 1. Aktivace, rozpuštění a esterifikace celulosy a následné roubování vzniklého makroiniciátoru styrenem

Tato práce vznikla za podpory GA AV (AVOZ 4050913) a grantu GA ČR (IAA410820601).

LITERATURA

- Roy D., Semsarilar M., Guthrie J. T., Perrier S.: Chem. Soc. Rev. 38, 2046 (2009).

PŘÍPRAVA NESYMETRICKY SUBSTITUOVANÉHO DIFENYLACETYLENU JAKO PREKURSORU η^4 -CYKLOBUTADIEN- η^5 -CYKLOPENTADIEN KOBALTOVÉHO KOMPLEXU

JAN REJŠEK, JINDŘICH JINDŘICH

Katedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká fakulta
Univerzity Karlovy v Praze, Praha
janrejsek@centrum.cz

Difenylnacetyleny a η^4 -cyklobutadien- η^5 -cyklopentadien-kobaltové komplexy jsou vhodné pro využití v molekulové elektronice díky přítomnosti konjugovaného systému vazeb, který umožňuje přenos elektrického náboje.

Naším cílem je připravit kobaltový komplex, který bude vhodně substituovaný tak, aby se mohl navázat na povrch pevného nosiče. K přípravě kobaltového komplexu¹ je nejprve nutné připravit nesymetricky substituovaný difenylnacetylen (schéma 1).

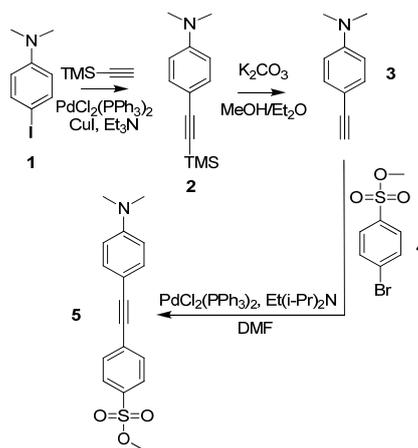


Schéma 1. Příprava nesymetricky substituovaného difenylnacetyleny

Příprava nesymetricky substituovaného difenylnacetyleny vychází z derivátu anilinu 1. Ten je pomocí Sonogashira couplingu² převeden na 2 a následně ochráněn za vzniku fenylnacetyleny 3. Dalším Sonogashira couplingem je 3 převeden za použití methylesteru 4 na nesymetricky substituovaný difenylnacetylen 5.

Tato práce vznikla za podpory grantů MŠMT ČR MSM0021620857 a ME09114.

LITERATURA

- Rausch M. D., Westover G. F., Mintz E., Reisner G. M., Bernal I., Clearfield A., Troup J. M.: Inorg. Chem. 18, 2605 (1979).
- Sonogashira K., Tohda Y., Hagihara N.: Tetrahedron Lett. 16, 4467 (1975).

EFEKTIVNÍ MIKROVLNNÉ SYNTÉZY TETRAZOLŮ: TERMÁLNÍ ČI NON-TERMÁLNÍ EFEKT MIKROVLN?

JAROSLAV ROH, PETR GELA, KATEŘINA VÁVROVÁ, ALEXANDR HRABÁLEK

Katedra anorganické a organické chemie, Farmaceutická
fakulta UK v HK, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové
Jaroslav.Roh@faf.cuni.cz

Od roku 1986, kdy byla poprvé publikována práce zabývající se urychlením organických reakcí mikrovlnnou iradiací, nastává nebývalý rozmach tohoto odvětví organické chemie. Do dnešní doby bylo publikováno bezmála 4000 prací na toto téma. Prakticky všechny deklarují mikrovlnnou iradiaci jako výhodnější ve srovnání s konvenčním ohřevem, a to z důvodu zvýšení výtěžků, zkrácení reakčního času či zvýšení selektivity dané reakce. To se přisuzuje jednak čistě termálním efektům, a často též zcela specifickým, non-termálním efektům mikrovlnné iradiace, které nemohou být běžným ohřevem nikdy navozeny¹.

Příprava 5-subst. tetrazolů spočívá v [2+3] cykloadici azidového aniontu na příslušný nitril a existuje mnoho způsobů provedení této reakce. V roce 2000 byla publikována první metoda přípravy 5-subst. tetrazolů v podmínkách mikrovlnné aktivace², která byla v následujících letech následována několika dalšími pracemi. Většina z nich deklaruje mikrovlnný ohřev jako efektivnější, zkracující reakční doby a zvyšující výtěžek reakce.

Naše pracovní skupina se zaměřila na několik běžně používaných postupů přípravy 5-subst. tetrazolů a provedla je jak za konvenčního ohřevu, tak v podmínkách mikrovlnné aktivace. Důraz byl kladen především na provedení reakcí za naprosto totožných teplotních podmínek. Teploty byly měřeny kontaktními teploměry ponořenými do reakčních směsí. Pro potlačení lokálního přehřívání byly reakční směsi intenzivně míchány.

Výsledky byly překvapivé, jelikož u žádné z námi provedených syntéz nedošlo k signifikantnímu zkrácení reakčního času ani zvýšení výtěžku při použití mikrovlnné aktivace. Na základě těchto výsledků byl u provedených reakcí zpochybněn jakýkoli non-termální efekt mikrovln. Je možno předpokládat, že výhody metod přípravy 5-substituovaných tetrazolů za mikrovlnné iradiace plynou výhradně z termálních vlivů mikrovln, tzn. z rychlejšího ohřevu a lokálního přehřívání reakční směsi.

Toto pozorování se ukázalo být v souladu s nejnovějšími poznatky z oblasti tzv. mikrovlnné chemie, které non-termální efekt mikrovln v podstatě popírají¹.

Práce vznikla za podpory VZ Ministerstva školství ČR (MSM 0021620822).

LITERATURA

- Herrero M. A., Kreamsner J. M., Kappe C. O.: *J. Org. Chem.* 73, 36 (2008).
- Alterman M., Hallberg A.: *J. Org. Chem.* 65, 7984 (2000).

FLUORINATED MONOSUBSTITUTED DERIVATIVES OF CYCLODEXTRINS

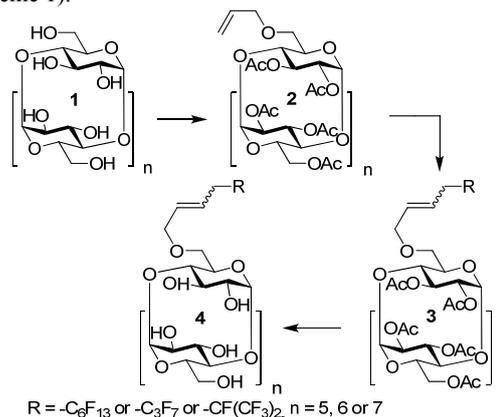
MICHAL ŘEZANKA^a, BARBARA EIGNEROVÁ^{a,b}, JINDŘICH JINDŘICH^a, MARTIN KOTORA^{a,b}

^aDepartment of Organic Chemistry, Faculty of Science, Charles University in Prague, 128 40 Praha; ^bInstitute of Organic Chemistry and Biochemistry, ASCR, 166 10 Praha rezanka@natur.cuni.cz

Cyclodextrins¹ (CDs) and their derivatives have good complexation abilities due to the rigid, cone-shaped cavity formed by α -1,4-linked D-glucopyranose units. In order to extend possibilities of utilization of cyclodextrins it is necessary to prepare their suitable derivatives.

Fluorinated derivatives of saccharides could have a key role in extraction of membrane proteins for biomedical research and can form micelles or other supramolecular structures in water solutions².

Our research is focused on a preparation of a set of 6^l-O derivatives of α -, β - and γ -CD with different fluorinated chains (Scheme 1).



Scheme 1. Preparation of fluorinated derivatives of CDs

Alkenes **2** were prepared by selective allylation of cyclodextrins followed by peracetylation. Preparation of fluorinated derivatives of cyclodextrins **3** was carried out by cross-metathesis of alkenes **2** and perfluoroalkylpropenes³ catalyzed by Hoveyda-Grubbs catalyst 2nd generation. Chosen derivative **3** was used after deacetylation for testing of amphiphilic properties.

This work is supported by projects No. MSM0021620857, No. IAA 400 550 609 and No. KAN 200200651.

LITERATURA

- Szejtli J.: *Chem. Rev.* 98, 1743 (1998).
- Abla M., Durand G., Pucci B. J.: *Org. Chem.* 73, 8142 (2008).
- Eignerová B., Dračinský M., Kotora M.: *Eur. J. Org. Chem.* 2008, 4493.

SYNTÉZA A CHARAKTERIZACE 5-AMINO-4-CHLOR-2,7-DIMETHYL-1H-BENZIMIDAZOLU: ODHALENÍ VÝROBNÍHO OMYLU V TUNOVÉM MĚŘÍTKU

MILOŠ SEDLÁK, TOMÁŠ WEIDLICH

Ústav organické chemie a technologie, FCHT, Univerzita Pardubice, Studentská 573, 532 10 Pardubice Milos.Sedlak@upce.cz.

2-Chlor-5-methyl-1,4-fenyldiamin (**1**) komerčně dodaný v množství jedné tuny, určený pro výrobu versalové červeně BRN, nebyl identický s deklarovaným barvářským meziproduktem. Jednalo se však o čisté a dosud nepopsané chemické individuuum. Pomocí ¹H, ¹³C NMR, MS, mikroanalýzou a rtg-difrakcí bylo určeno že dodanou surovinou byl 5-amino-4-chlor-2,7-dimethyl-1H-benzimidazol (**3**). Nezávislou syntézou bylo zjištěno, že chyba výrobce spočívala v nadměrné dávce kyseliny dusičné použité při nitraci N-(5-chlor-2-methylfenyl)acetamidu (nitrace do

druhého stupně). Samotné použití přebytku kyseliny dusičné, prodloužení reakční doby a případně zvýšení teploty však k produktu **2** nevede. Nitrace do druhého stupně vyžaduje katalýzu Fe^{3+} ionty (Schéma). Z uvedeného je patrné, že mohlo dojít k poruše smaltu reaktoru nebo výchozí suroviny byly znečištěny Fe^{3+} ionty.

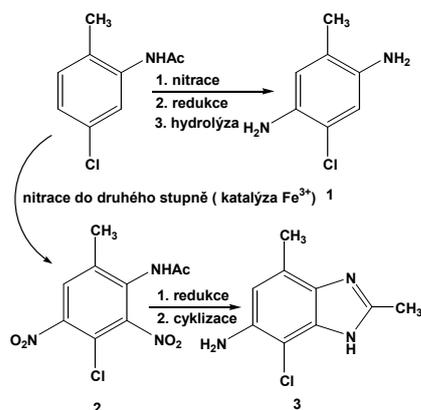


Schéma. Syntéza 2-chlor-5-methyl-1,4-fenyldiaminu (**1**) a 5-amino-4-chlor-2,7-dimethyl-1H-benzimidazolu (**3**)

Dále bylo zjištěno, benzimidazol **3** lze diazotovat za běžných podmínek a připravená diazoniová sůl byla využita pro syntézu hnědého pigmentu¹. Využití benzimidazolu **3** může spočívat v syntéze dalších nových substituovaných benzimidazolů.

Tato práce vznikla za podpory projektu MŠMT ČR 002162 7501.

LITERATURA

- Sedlák M., Drabina P., Panov I., Koprivová R., Růžička A., Ventura K.: *Dyes Pigments* 81, 113 (2009).

NOVÉ LOMENÉ KAPALNÉ KRYSYALY OBSAHUJÍCÍ AZOSKUPINU PRO MOLEKULÁRNÍ PŘEPÍNAČE

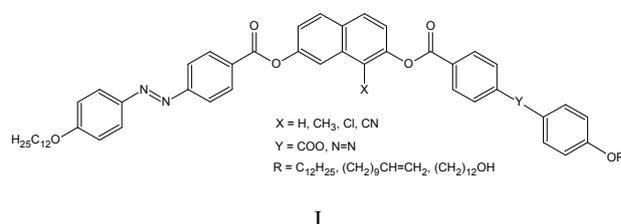
ARNOŠT SEIDLER^a, ADAM HENKE^a, MICHAL KOHOŮT^a, ANNA KOVÁŘOVÁ^a, VÁCLAV KOZMÍK^a, JIŘÍ SVOBODA^a, VLADIMÍRA NOVOTNÁ^b, MILADA GLOGAROVÁ^b

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

Kapalně krystalové se pro své elektrooptické vlastnosti široce využívají jako aktivní součásti různých typů displejů. Materiály obsahující jako spojku azoskupinu vlivem záření podléhají *cis-trans* isomeraci molekulární struktury. Lomená struktura *cis*-isomeru se hůře skládá do nematické či smectické matrice než lineární *trans*-isomer, což vede ke změně organizovanosti systému a tím i k modifikaci jeho fyzikálních,

chemických a mesomorfních vlastností¹. V posledních letech jsme prezentovali několik studií²⁻⁵ zabývajících se lomenými kapalnými krystaly, které jako centrální jádro měly naftalen-2,7-diol, event. jeho 1-substituované deriváty.

V této práci se zabýváme problematikou syntézy a fyzikálního studia kapalně krystalických monomerů pro molekulární přepínače (obecná struktura I), které obsahují fotochemicky přepínatelnou skupinu a polymerovatelnou jednotku.



Fyzikální vlastnosti nových materiálů byly studovány optickou polarizační mikroskopií, DSC a studiem textur. Vybrané látky byly podrobeny rentgenostrukturální analýze mesofázi.

Projekt výzkumu byl podporován MŠMT (projekt COST OC176 a výzkumným záměrem MSM 6046137301) a GA ČR (č. projektu 202/09/0047).

LITERATURA

- Demus D., Goodby J., Gray G. W., Spiess H.-W., Vill V. (editors): *Handbook of Liquid Crystals*, Vol. 1, str. 40, Wiley-VCH, Weinheim 1998.
- Svoboda J., Novotná V., Kozmík V., Glogarová M., Weissflog W., Diele S., Pelzl G.: *J. Mater. Chem.* 13, 2104 (2003).
- Kozmík V., Kuchař M., Svoboda J., Novotná V., Glogarová M., Baumeister U., Diele S.: *Liq. Cryst.* 32, 1151 (2005).
- Kozmík V., Kovářová A., Kuchař M., Svoboda J., Novotná V., Glogarová M., Kroupa J.: *Liq. Cryst.* 33, 41 (2006).
- Novotná V., Žurek J., Kozmík V., Svoboda J., Glogarová M.: *Liq. Cryst.* 2008, 35.

FLUOROVÉ TRIPYRAZOLYLMETHANY A TRIPYRAZOLYLBORÁTY

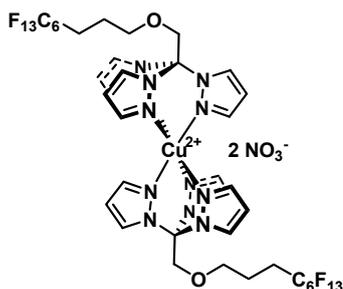
VERONIKA SKALICKÁ, MARIE DYMIČOVÁ, MARTIN SKALICKÝ, JAROSLAV KVÍČALA

Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6
veronika.skalicka@vscht.cz

Tripyrazolylymethany, uhlikatá analoga tripyrazolylyborátů, jsou novou skupinou ligandů komplexující téměř všechny kationty kovů a hrající tak důležitou roli v koordinační chemii¹. Tyto ligandy jsou isoelektronové s cyklopentadienidovými

anionty, ale umožňují selektivnější modifikace sterických a elektronických vlastností. S cílem získat nové komplexy s fluorovými vlastnostmi jsme studovali připojení polyfluoralkylovaného řetězce k centrálnímu methinovému uhlíku.

Při syntéze jsme vyšli z 2,2,2-tripyrazol-1-ylethan-1-olu, který jsme reakcí s allylbromidem převedli na požadovaný allylether v 92% výtěžku. Ten jsme dále podrobili radikálové adici se sérií perfluoralkyljodidů lišících se délkou fluorovaného řetězce s výtěžky kolem 60 %. Redukcí atomu jodu pomocí Bu_3SnH jsme ve vysokých výtěžcích získali pět [3-(perfluoralkyl)propyl](2,2,2-tripyrazol-1-ylethyl)etherů s perfluorbutylovou až perfluordodecylou skupinou. Byly studovány také metody přípravy jejich komplexů s kovy. Úspěšně byl připraven sendvičový komplex s mědí.



Dále jsme se zabývali přípravou tris{4-[2-(perfluorhexyl)ethyl]pyrazol-1-yl}borátu a jeho sendvičovými komplexy.

Děkujeme Ministerstvu školství, mládeže a tělovýchovy (projekt KONTAKT ME09114-ME857, Výzkumné centrum LC 06070, Výzkumný záměr číslo 6046137301) za finanční podporu.

LITERATURA

1. Pettinari C., Pettinari R.: *Coord. Chem. Rev.* 249, 525 (2005).

TEORETICKÉ STUDIUM POLYFLUOROVANÝCH NHC LIGANDŮ

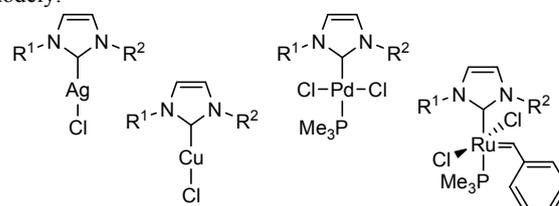
MARTIN SKALICKÝ, JAROSLAV KVÍČALA

Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6
martin.skalicky@vscht.cz

N-heterocyklické karbeny (NHC) jsou často využívány jako výhodnější alternativa fosfinových ligandů, neboť nabízejí vyšší tepelnou odolnost a stabilitu vůči oxidaci. Jsou součástí celé řady komplexů přechodných kovů (Grubbsův katalyzátor, komplexy palladia, niklu a dalších kovů)¹.

Cílem této práce bylo teoretické studium polyfluorovaných NHC ligandů, jejich prekurzorů a komplexů s přechodnými kovy. Jako model polyfluorovaného řetězce byl zvolen pentafluorethylový zbytek, oddělený od imidazolového

jádra jedno- nebo dvouuhlíkatou spojkou. Byl studován vliv délky alkylové spojky na disociační energii vazby kov-karbenový uhlík u jednoduchých komplexů stříbra, mědi, palladia a ruthenia. Výpočty byly provedeny v programu Gaussian 03 metodou DFT s hybridním funkcioálem PBE1PBE na bázi def2-TZVP a zahrnutím ECP na atomech Ag, Pd a Ru. Disociační energie byly vypočteny s opravou chyby superpozice sady bazí (BSSE). Získaná data byla porovnána s daty pro alifatické a aromatické nefluorované modely.



$R^1, R^2 = \text{CH}_3, \text{CF}_3\text{CF}_2\text{CH}_2, \text{CF}_3\text{CF}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$

Ukázalo se, že přítomnost polyfluoralkylových řetězců snižuje energii vazby uhlík-kov. Čím je nefluorovaná spojka delší, tím je tento pokles méně znatelný, u ethylenových spojek je rozdíl v energiích prakticky zanedbatelný.

V druhé fázi byly optimalizovány polyfluoralkylované imidazoliové soli jako prekurzory NHC ligandů a byl studován vliv substituentů na elektronovou hustotu molekul a kyselost N-CH-N vodíku v plynné fázi. Potvrdily se teoretické předpoklady, že nejkyselější je vodík na imidazolovém jádře nesoucím methylenovými spojkami oddělené polyfluoralkylové řetězce.

Děkujeme Ministerstvu školství, mládeže a tělovýchovy (Projekt KONTAKT ME09114-ME857, Výzkumné centrum LC 06070, Výzkumný záměr číslo 6046137301) a Grantové agentuře České republiky (grant č. 203/06/1516) za finanční podporu.

LITERATURA

1. Herrmann W. A.: *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 41, 1290 (2002).

LC-NMR ANALÝZA ORGANICKÝCH A ORGANOKŘEMIČITÝCH LÁTEK

JAN SÝKORA, VRATISLAV BLECHTA, MILAN KURFÜRST, JAN SCHRAML

Ústav chemických procesů AVČR, v.v.i., Rozvojová 135, 165 02 Praha 6 – Suchbátka
sykora@icpf.cas.cz

První kombinace HPLC-NMR se objevila již na konci 70-tých let minulého století, ovšem tehdy bylo možné provést modelové separace pouze na miligramových množstvích. V současné době, kdy máme za sebou obrovský pokrok ve vývoji materiálů nových, citlivějších NMR sond a

kryomagnetů, ale také nových pulsních sekvencí, nejnovější kapilární LC-NMR posouvá detekční limity až na 10 ng látky¹.

LC-NMR dnes nachází uplatnění při analýzách přírodních extraktů, zejména při identifikaci různých isomerů², kontrole čistoty léčiv a analýzách metabolitů v tělních tekutinách³, také při identifikaci jednotlivých reakčních produktů⁴, hlavně ale látek, které nejsou stálé a jakákoli manipulace může znamenat degradaci vzorku. Dále může LC-NMR posloužit při analýze sloučenin s nízkou UV absorpcí, kde NMR spektrometr slouží jako hlavní detektor pro kontrolu jejich separace. ¹H NMR detekce navíc dokáže rozlišit i několik látek při případné koeluci⁵, jestliže se jedná navíc o isomery, je tato metoda v podstatě nenahraditelná a předčí i LC-MS, podobně je tomu např. při identifikaci jednotlivých atropoisomerů. LC-NMR hraje důležitou úlohu i při určování takticity polysiloxanových a polysilanových řetězců⁷.

Práce je podporována granty GA AV ČR IAA400720706 a GA ČR 203/09/1574.

LITERATURA

1. Albert K. (ed.) *On-line LC-NMR and Related Techniques*. John Wiley&Sons, Ltd.; Chichester, 2002.
2. Albert K.: *J. Chromatogr. A* 856, 199 (1999).
3. Shockcor J.P., Unger S.E., Savina P., Nicholson J.K. Lindon J.C.: *J. Chromatogr. B* 748, 269 (2000).
4. Storch J., Sýkora J., Čermák J., Karban J., Císařová I., Růžička A.: *J. Org. Chem.* 74, 3090 (2009).
5. Sýkora J., Bernásek P., Zarevúcká M., Kurfürst M., Sovová H., Schraml J.: *J. Chromatogr. A* 1139, 152 (2007).
6. a) Blechta V., Sýkora J., Hetflejš J., Šabata S., Schraml J.: *Magn. Reson. Chem.* 44, 7 (2006). b) Blechta V., Kurfürst M., Sýkora J., Schraml J.: *J. Chromatogr. A* 1145, 175 (2007).

STUDIE IONTŮ CHLORIDU PALLADNATÉHO V ACETONITRILOVÉM ROZTOKU POMOCÍ ESI-MS

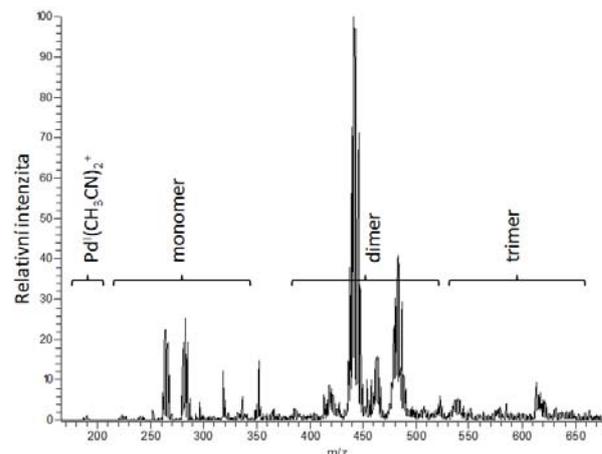
VOJTĚCH ŠÁDEK, DETLEF SCHRÖDER*

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

Anorganické soli v roztocích solvatuji a v závislosti na koncentraci tvoří různě velké klastry. Metoda ESI-MS umožňuje dostatečně měkkou ionizaci, která dovoluje převedení roztoku do plynné fáze s minimální mírou vzniku artefaktů¹. S použitím iontové pasti² se v hmotnostních spektrech mohou identifikovat a kvantifikovat jednotlivé solvatované klastry v závislosti na experimentálních podmínkách a vlastnostech vzorků³.

Dalo by se předpokládat, že ve spektrech PdCl₂ v acetonitrilu by měly být ionty obsahující palladium v monomerní formě. Výsledky experimentů ale ukazují, že dominantní hmotnosti odpovídají dimerům nebo oligomerům

ve formě [Pd_nCl_{2n-1}(CH₃CN)_m]⁺. Aniontová spektra ale vykazují předpokladatelné chování s klastry až do [Pd₁₀Cl₂₁]⁻.



Obrázek 1. Hmotnostní spektrum PdCl₂ v CH₃CN s koncentrací c = 1,9.10⁻⁴ mol/l

Tato práce vznikla za podpory grantu GA ČR 203/08/1487.

LITERATURA

1. Fenn J. B.: *Angew. Chem. Int. Ed.* 2003, 3871.
2. Tintaru A.: *J. Phys. Chem. A* 2008, 12097.
3. Tsierkesoz N.G.: *Inorg. Chem.* 2009, 6287.

FOTOCHEMIE 2-NITROBENZYLIDEN ACETALŮ

PETER ŠEBEJ, TOMÁŠ ŠOLOMEK, LUBICA HROUDNÁ, PAVLA BRANCOVÁ, PETR KLÁN*

Ústav Chemie, Přírodovědecká Fakulta, Masarykova Univerzita, Kamenice 5/A8, 625 00 Brno-Bohunice
klan@sci.muni.cz, sebej@mail.muni.cz

Fotochemické reakce 2-alkylnitroaromatických sloučenin jsou známy více než 100 let. 2-Nitrobenzyllová skupina (NB) se v posledních letech využívá jako fotolabilní chránící skupina¹ v chemii² i biochemii³, jelikož odstupuje s velmi dobrým chemickým i kvantovým výtěžkem. Žádná systematická studie se však dosud nezabývala využitím NB skupiny pro chránění dihydroxy sloučenin, i když první experimenty byly popsány již dříve⁴.

V této práci byla připravena série 2-nitrobenzyliden acetalů dihydroxysloučenin **1**. Jejich fotolýzou vznikala směs regioisomerů esterů 2-nitrosobenzové kyseliny **2** a po následné hydrolyze volný diol **3**. Pomocí NMR analýzy bylo zjištěno, že charakter skupiny R má rozhodující roli v selektivě štěpení C–O vazeb acetalu. Vlastní mechanismus reakce byl pak vysvětlen pomocí DFT kvantově-chemických výpočtů.

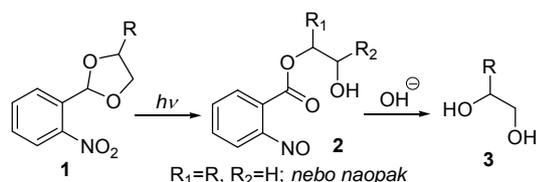


Schéma 2. Uvolnění chráněného diolu z 2-nitrobenzyliden acetalu

Tato práce vznikla za podpory grantů GA ČR 203/09/0748 a MŠMT ČR MSM0021622413.

LITERATURA

- Greene T. W., Puts P. G. M.: *Protective groups in organic synthesis*, 3. vyd., John Wiley & Sons, New York, 1999.
- Guillier F., Orain D., Bradley M.: *Chem. Rev.* 100, 2091 (2000).
- Ellis-Davies G.C.R.: *Nature Methods* 4, 619 (2007).
- (a) Tanasescu I., Ionescu M.: *Bull. Soc. Chim. Fr.* 7, 77 (1940); (b) Collins P.M., Oparaeche N.N.: *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* 1975, 1695.

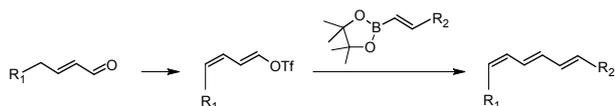
ONE-POT SYNTHESIS OF CONJUGATED TRIENES

PETR ŠEBESTA, ULLRICH JAHN

Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, AS CR, Flemingovo nám. 2, 166 10 Prague 6
 sebesta@uochb.cas.cz

Conjugated stereochemically defined trienes are important natural products. They display prominent biological activity for instance as sex pheromones.

We report here a new very mild one-pot method to synthesize *E,E,Z*-trienes in reasonable yield and good stereoselectivity. At first *E,Z*-dienyl triflate is generated in situ from *trans*- α,β -unsaturated aldehydes,¹ which is subjected directly to palladium-catalyzed cross-coupling with pinacol *trans*-vinylboronate at room temperature. The crude material can be purified further by selective Diels-Alder reactions² or isomerised to corresponding *E,E,E*-isomer³.



Using (10*E*,12*E*,14*Z*)-hexadeca-10,12,14-trien-1-ol, a sex pheromone of the tobacco hornworm moth, *Manduca sexta*, was synthesized^{2,3}. Triene esters, used as biological reference were also prepared.

REFERENCES

- Cahiez G., Habiak V., Gager O.: *J. Org. Chem.* 73, 6871 (2008).
- Chen X., Millar J. G.: *Synthesis-Stuttgart* 1, 113 (2000).

- Doolittle R.E., Braham A., Tumlinson J.H.: *J. Chem. Ecol.* 16, 1131 (1990).

CHEMOSELEKTIVITA SÍRY A SELENU JAKO NÁSTROJ PRO CHEMICKOU SYNTÉZU PROTEINŮ

JAROSLAV ŠEBESTÍK, ZBIGNIEW ZAWADA, MARTIN ŠAFÁŘÍK, JAN JEŽEK, PETR BOUŘ, JAN HLAVÁČEK

Ústav organické chemie a biochemie, AV ČR, Flemingovo nám. 2, 16610 Praha
 jsebestik@seznam.cz

Chemická syntéza větších peptidů a proteinů byla umožněna zavedením Merrifieldovy syntézy na pevné fázi. Současný limit pro běžnou divergentní syntézu peptidů na pevné fázi leží na hranici 70-80 aminokyselinových zbytků. Přesto jsou tyto látky do značné míry znečištěny delečními vedlejšími produkty a jejich purifikace poskytuje velmi malé výtěžky požadovaných peptidů. Na druhou stranu, konvergentní chemická syntéza peptidů a proteinů je limitována rozpustností chráněných fragmentů, která mnohdy úplně zamezí požadované kondenzační reakci.

Wieland a kolegové popsali možnost syntézy peptidů ve vodném prostředí s využitím chemoselektivní reakce thiolů¹. Později byla tato reakce využita ke kondenzaci nechráněných peptidových fragmentů při syntéze menších proteinů^{2,3} (Schéma 1).

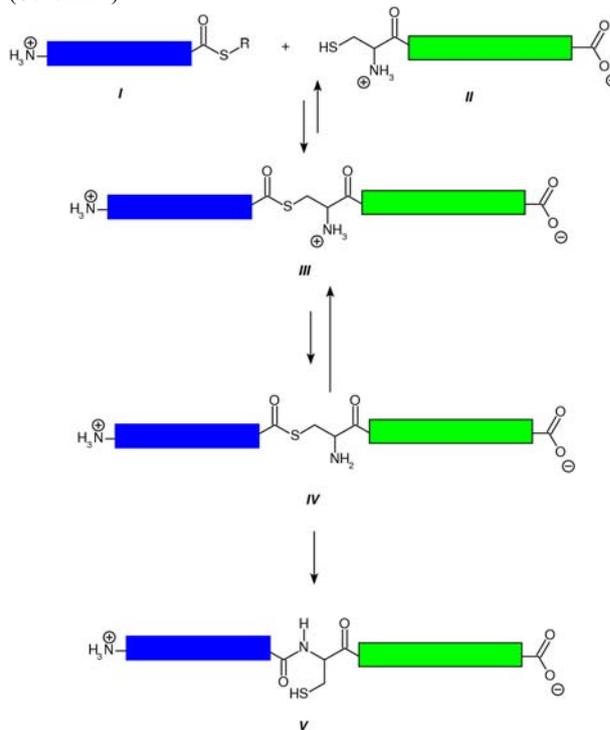


Schéma 1. Reakční schéma nativní chemické ligace

Požadovaná chemická transformace je umožněna chemoselektivním zachycením aktivovaného acylu **I** sirmým nukleofilem **II** (transthioesterifikace). Vhodnou volbou pH je tato reakce umožněna za podmínek, kdy neběží konkurenční reakce, jako je hydrolyza a neselektivní aminolýza thioesteru **I**. Dočasná rovnovážná deprotonace aminoskupiny v meziprojektu **III** vede k meziprojektu **IV**, který podléhá intramolekulárnímu S→N přenosu acylu přes transitní stav s pětičlenným kruhem.

Nativní chemická ligace byla využita k totální syntéze řady proteinů a glykoproteinů (~ 20-30 kDa) a jistá její verze se využívá ke kondenzaci rekombinantních stavebních bloků při syntéze značených proteinů. V poslední době byl takto připraven i prionový glykoprotein.

Na *N*-koncové straně *C*-komponenty je možno použít řadu látek imitujících cystein jako jsou selenocystein, homocystein, homoselenocystein, penicilamin, 3-sulfanylfenylalanin, atd.⁴. Využití derivátů selenu přináší další odstupňování reaktivity při chemických ligacích. Např. selenocystein reaguje při pH 5 tisíckrát rychleji než cystein⁴. Tato chemoselektivita je využitelná při tandemových kondenzacích derivátů cysteinu a selenocysteinu. Po chemické ligaci může být sulfanylová nebo selanylová skupina reduktivně odstraněna např. cystein poskytne alanin, penicilamin poskytne valin. Sulfanylová nebo selanylová skupina může být také chemoselektivně alkylována. Např. methylací homo(seleno)cysteinu získáme (seleno)methionin.

Nativní chemická ligace je limitována syntetickou dostupností výchozích stavebních bloků, hlavně peptidových thioesterů. Peptidové thioestery jsou dostupné Boc syntézou na pevné fázi⁵. Boc metodu nelze použít např. pro glykopeptidové a fosfopeptidové thioestery, protože jsou labilní k silně kyselému kapalnému HF. Alternativní metoda je syntéza peptidových thioesterů Fmoc postupem. Zde se vyskytuje problém s nízkou stabilitou thioesterové vazby vůči bazím používaným pro odstranění Fmoc skupiny. V současné době se hledají další přístupy pro syntézu peptidových thioesterů na pevné fázi, které by byly více robustní a snadno proveditelné. Jako nejvíce atraktivní mohou být práce Hoja⁶ a Dawsona⁷. První využívá thiolýzu amidové vazby, která je vlastně reverzibilní peptidovou ligací. Druhá generuje na prskyřici deriváty *N*-acylmočoviny, které jsou použity pro syntézu příslušných thioesterů.

Nalezení vhodné metody pro přípravu nechráněných peptidových thioesterů povede k dostupnosti řady značených a jinak funkcionalizovaných proteinů a umožní studium jejich role v živých systémech.

Tato práce vznikla za podpory grantu GA ČR 203-07-1517 a výzkumného záměru Z40550506.

LITERATURA

1. Wieland T., Bokelmann E., Bauer L., Lang H. U., Lau H.: Justus Liebigs Ann. Chem. 583, 129 (1953).
2. Dawson P. E., Muir T. W., Clark-Lewis I., Kent S. B. H.: Science 266, 776 (1994).
3. Johnson E. C. B., Kent S. B. H.: J. Am. Chem. Soc. 128, 6640 (2006).
4. Moroder L.: J. Peptide Sci. 11, 187 (2005).

5. Tam J. P., Lu Y. A., Liu C. F., Shao J.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92, 12485 (1995).
6. Hojo H., Onuma Y., Akimoto Y., Nakahara Y., Nakahara, Y.: Tetrahedron Lett. 48, 25 (2007).
7. Blanco-Canosa J. B., Dawson P. E.: Angew. Chem. Int. Ed. 47, 6851 (2008).

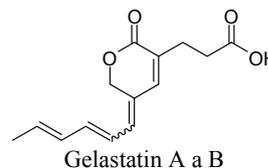
SYNTÉZA A BIOLOGICKÉ TESTOVÁNÍ

α -SUBSTITUOVANÝCH γ -ALKYLIDENPENTENOLIDŮ, NOVÝCH ANALOGŮ GELASTATINU

IVAN ŠNAJDR^{a,b}, JAN PAVLÍK^b, MILAN POUR^b

^aKatedra organické a jaderné chemie, PŘF UK, Albertov 6, 128 43, Praha 2; ^bKatedra anorganické a organické chemie, FarmF UK, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové
ivan.snajdr@post.cz

Gelastatiny A a B jsou látky, které obsahují pentenolidové uskupení. Tyto látky, izolované z kultury houby *Westerdykella multispora* F50733, vykazují inhibiční aktivitu vůči endopeptidasám gelatinase A a B, což jsou dva druhy kolagenas, které jsou v organismu úzce spojeny se vznikem a rozvojem některých druhů zhoubných nádorů. Z tohoto hlediska jsou jejich inhibitory potenciálními protinádorovými léčivy^{1,2}.



Biologicky aktivní α -substituované γ -alkyldenpentenolidy byly stereoselektivně připraveny z 2-jodallylkoholů pomocí série Pd-katalyzovaných reakcí, které zahrnovaly alkylylaci metyl-propiolátem, adici tributylcínhydridu a α -funkcionalizaci. Některé z výsledných struktur vykazovaly zajímavou cytostatickou aktivitu proti liniím ovariálního karcinomu HeLa S3 a leukemickým liniím CCRF-CEM.

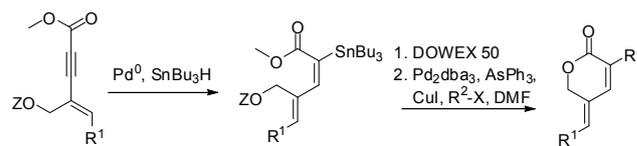


Schéma 1

Práce vznikla za podpory GA ČR (projekt č. 203/07/1302) a MŠMT ČR (projekty č. IM0508 a MSM0021620822).

LITERATURA

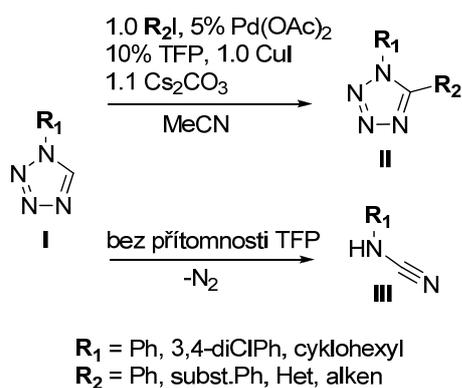
1. Lee H. J., Chung M. C., Lee C. H., Yun B. S., Chun H. K., Kho Y. H.: J. Antibiot. 50, 357 (1997).
2. Cho J. H., Soo Ko S. Y., Oh E., Park J. C., Yoo J. U.: Helv. Chim. Acta 85, 3994 (2002).

PŘÍMÁ C-H ARYLACE A ALKENYLACE 1-SUBSTITUOVANÝCH TETRAZOLŮ

MARCEL ŠPULÁK^a, RICHARD LUBOJACKÝ^a,
PETR ŠENEL^a, JIŘÍ KUNEŠ^a, MILAN POUR^a

^aCentrum pro výzkum nových virostatik a antineoplastik,
Katedra anorganické a organické chemie, UK v Praze, FarmF
v Hradci Králové, Heyrovského 1203, 500 02 Hradec Králové
spulak@faf.cuni.cz

Syntéza 1,5-disubstituovaných tetrazolů se doposud převážně realizovala reakcí acyklických precursorů s azidy za použití toxických činidel a s poměrně komplikovaným zpracováním reakční směsi, popřípadě *N*-alkylacemi 5-substituovaných tetrazolů doprovázené problémy se separací vzniklých regioisomerů^{1,2}. Úspěšné Pd-katalyzované couplingy 5-halogenetrazolů jsou v literatuře popsány pouze ojedinele. Naši pozornost jsme proto zaměřili na přímou arylaci/alkenylaci C-H vazby provedenou ve vysokém výtěžku např. na purinech³ nebo imidazolech⁴. Aplikace reakčních podmínek použitých při syntéze purinů na 1-substituované tetrazoly (**I**) ovšem nevedla k očekávanému 1,5-disubstituovanému produktu (**II**), izolován byl pouze kyanamidový derivát (**III**).



Jako nezbytné pro zdárný průběh reakce se ukázalo být přidání vhodného fosfinového ligandu, které umožnilo dále optimalizovat reakční podmínky. Následně byly provedeny couplingové reakce 1-aryl a 1-alkyl tetrazolů s různými aryl a alkenyly.

Za finanční podporu děkujeme „Centru pro výzkum nových virostatik a antineoplastik“, podporovanému Ministerstvem školství ČR (1M0508), Grantové agentuře ČR(203/07/1302) a výzkumnému záměru MSM0021620822.

LITERATURA

1. Koldobskii G.I.: Russ. J. Org. Chem. 42, 469 (2006).
2. Katritzky A.R., Cai C., Meher N.K.: Synlett. 1204 (2007).
3. Čerňá I., Pohl R., Klepetářová B., Hocek M.: Org. Lett. 8, 1379 (2006).

4. Bellina F., Cauteruccio S., Mannina L., Rossi R., Viel S.: J. Org. Chem. 70, 3997 (2005).

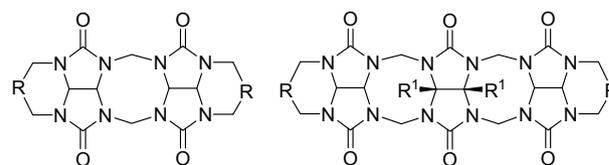
SELEKTIVNÍ PŘÍPRAVA A SUPRAMOLEKULÁRNÍ VLASTNOSTI OLIGOMERŮ GLYKOLURILU

MAREK ŠTANCL, MARTIN HODÁŇ, ZUZANA
GARGULÁKOVÁ, VLADIMÍR ŠINDELÁŘ*

Ústav chemie, Masarykova univerzita, Kotlářská 2, 611 37 Brno
sindelar@chemi.muni.cz

Glykolurily jsou již dlouho známé heterocyklické sloučeniny, které našly uplatnění jako stavební bloky různých supramolekulárních objektů, jako jsou molekulární klipsy a makrocyklické cucurbiturily¹.

V naší práci se zabýváme necyklickými oligomery glykolurilu. Takové látky byly již popsány - byly připraveny polykondenzací glykolurilu s formaldehydem - avšak dělení takto vzniklých směsí je velmi obtížné². Naši snahou je připravit selektivně jednotlivé oligomery bez nutnosti složitých dělení. Zde prezentujeme přípravu dimerů³ a trimerů⁴ glykolurilu. Tyto oligomery byly připraveny reakcí mezi vhodně substituovaným glykolurilem a formaldehydem nebo glykolurilem nesoucím reaktivní methylenové skupiny.



R = *o*-C₆H₄, CH₂; R¹ = H, CH₃
Schéma 1. Dimery a trimery glykolurilu

Takto připravené dimery a trimery mají tvar písmene C a tvoří v pevném stavu dimerní útvary. Trimery jsou schopné tvořit ve vodě komplexy s kladně nabitými organickými molekulami.

Tato práce vznikla za podpory grantu GAČR 203/07/P382.

LITERATURA

1. Lagona J., Mukhopadhyay P., Chakrabarti S., Isaacs L.: Angew. Chem. Int. Ed. 44, 4844 (2005).
2. Huang W.-H., Zavalij P. Y., Isaacs L.: J. Am. Chem. Soc. 130, 8446 (2008).
3. Stancl M., Necas M., Taraba J., Sindelar V.: J. Org. Chem. 73, 4671 (2008).
4. Stancl M., Hodan M., Sindelar V.: Org. Lett. 11, 4184 (2009).

MAKROCYKlickÉ LÁTKY NA BÁZI GLYKOLURILŮ JAKO MOŽNÁ PLNIVA PRO POLOPROPUSTNÉ POLYMER NÍ MEMBRÁNY

**JAN ŠVEC^a, PETR SYSEL^b, KAREL FRIESS^c,
VLADIMÍR HYNEK^c, MILAN ŠÍPEK^c,
VLADIMÍR ŠINDELÁŘ^{a*}**

^aÚstav chemie, Masarykova univerzita, Kotlářská 2, 611 37 Brno; ^bÚstav polymerů, VŠCHT, Technická 5, 166 28 Praha 6; ^cÚstav fyzikální chemie, VŠCHT, Technická 5, 166 28 Praha 6
sindelar@chemi.muni.cz

Glykolurily jsou látky vhodné pro přípravu makrocyclických sloučenin, z nichž nejznámější a nejvíce uplatnitelný v supramolekulární chemii je cucurbituril¹. Cucurbiturily jsou duté molekuly, přičemž velikost kavity cucurbiturilu závisí na počtu jednotek glykolurilu a na typu použitého glykolurilu. Prostorná kavita cucurbiturilu umožňuje vstupu a vázání menších molekul uvnitř makrocycly². Předpokládá se, že cucurbituril může být použit jako nanostrukturální plnivo do polymerních membrán. Jeho přítomnost by měla vést ke zvýšené propustnosti membrány a zároveň zvýšit její dělicí schopnosti. Limitujícím faktorem pro použití cucurbiturilu jako polymerního plniva je jeho špatná rozpustnost v organických rozpouštědlech a také jeho špatná kompatibilita s polymerním materiálem. Proto jsou připravovány cucurbiturily a další supramolekulární sloučeniny vycházející z glykolurilu, u kterých jsou zmíněné negativní vlastnosti potlačeny³.

Tato práce vznikla za finanční podpory Grantové agentury České republiky 203/07/P382.

LITERATURA

1. Lagona J., Mukhopadhyay P., Chakrabarti S., Isaacs L.: *Angew. Chem. Int. Ed.* 44, 4844 (2005).
2. Liu S., Ruspic Ch., Mukhopadhyay P., Chakrabarti S., Zavalij P. Y., Isaacs L.: *J. Am. Chem. Soc.* 127, 15959 (2005).
3. Kellersberger A. K., Anderson J. D., Ward S. M., Krakoviak K. E., Dearden D. V.: *J. Am. Chem. Soc.* 123, 11316 (2001).

SYNTEZA A REAKTIVITA OPTICKY AKTIVNÍCH SULFOXIDŮ ODVOZENÝCH OD CYSTEINU

**IVA ŠTIBINGEROVÁ, SVATAVA VOLTROVÁ,
JIRÍ ŠROGL***

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

Opticky aktivní sulfoxidy mohou být využity jako prekurzory přenosu chiralidy. Diastereoisomer **I** se jeví jako vhodné činidlo pro zkoumání těchto vlastností. Kromě vlastní syntézy látky **I** byla věnována pozornost schopnosti interakce jednotlivých diastereoisomerů s katalyzátorem [Re(O)Cl(hoz)₂; hoz = 2-(2-hydroxyfenyl)oxazol]¹ a její využití při oxidačních reakcích.

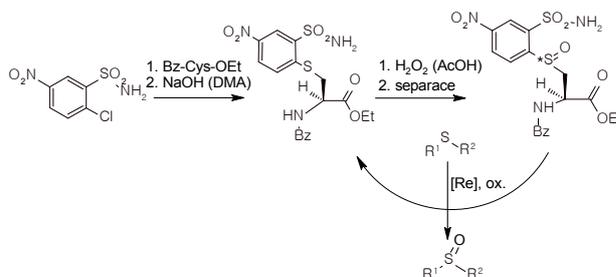


Schéma 1. Syntéza a reaktivita diastereoizomeru **I**

Tato práce vznikla za podpory grantu GA ČR 203/08/1318.

LITERATURA

1. Arias J., Newlands C. R., Abu-Omar M. M.: *Inorg. Chem.* 40, 2185 (2001).

CONJUGATES OF PHYTOSTEROLS WITH NITROGEN-CONTAINING COMPOUNDS

**JANA ŠUSTEKOVÁ^a, HANA SVOBODOVÁ^{a,b},
ZDENĚK WIMMER^b, PAVEL DRAŠAR^a**

^aInstitute of Chemical Technology, Technická 5, 16028 Praha 6; ^bInstitute of Experimental Botany AS CR, Isotope Laboratory, Videňská 1083, 14220 Praha 4
Jana.Sustekova@vscht.cz, wimmer@biomed.cas.cz

The objective of this partial investigation was to synthesize conjugates of phytosterols with nitrogen-containing compounds, and to study their physico-chemical properties. We have chosen stigmasterol as a representative compound of the phytosterol family. Using several selected short-chain dicarboxylic acids, hemiesters of stigmasterol have been synthesized by reacting the respective anhydrides of the dicarboxylic acids with stigmasterol in pyridine and in the presence of catalytic amount of DMAP (yield 13 - 93 %)¹. The resulting hemiesters reacted with methyl esters of selected amino acids (both, D- and L-forms, as well as with methyl esters of racemic amino acids), and the amidic bond was formed through the latter reaction. It was made in dichloromethane using DCC, DMAP as catalyst. The required conjugates have been obtained in more than 90 % yields¹.

The physico-chemical properties of the prepared conjugates of stigmasterol with methyl esters of selected amino acids have been studied. The compounds proved their potential for self-assembly. The effect was studied by measuring the UV spectra in a system consisting of a mixture of acetonitrile / water. The concentrations of both solvents varied from 100 % of acetonitrile to 100 % of water or from 100 % ethanol to 100% of water, sequentially in certain scheme of concentrations. Changes in the position and intensity of the UV maxima were observed. Moreover, one of the prepared compounds proved their potential in forming gel.

A financial support through the project 2B06024 (SUPRAFYT) from the Ministry of Education of the Czech Republic is gratefully acknowledged.

LITERATURA

- Šusteková J.: *Derivatizace přírodních steroidů. Bakalářská práce*, VŠCHT v Praze (2009).

HELQUAT A TVORBA VAZEB C-C PROSTŘEDNICTVÍM ORGANOKOVŮ V PŘÍTOMNOSTI BIOLOGICKÉHO MATERIÁLU

FILIP TEPLÝ^{a,*}, LUKÁŠ SEVERA^a, LOUIS ADRIAENSSENS^a, JAN VÁVRA^a, TEREZA ŠÁLOVÁ^a, MARTINA ČÍŽKOVÁ^a, IVANA CÍSAŘOVÁ^b, DAVID ŠAMAN^a, RADEK POHL^a, LUBOMÍR POSPÍŠIL^a, PETR SLAVÍČEK^c

^aÚstav organické chemie a biochemie AVČR, v.v.i., Flemingovo 2, 166 10 Praha 6; ^bPřF UK, Hlavova 2030, 128 43 Praha 2; ^cVŠCHT v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6
teply@uochb.cas.cz

N-Heteroaromatické kationty jsou sloučeniny s velmi širokým využitím. Katalyzátory fázového přenosu, iontové kapaliny, molekulární zařízení, látky pro nelineární optiku, barviva, DNA interkalátory a řada biologicky účinných látek pochází z této skupiny. Tento pestrý aplikační potenciál nás vedl k tomu, že jsme nedávno představili helquaty jako novou skupinu helikálních *N*-heteroaromatických dikationtů, které jsou strukturálním hybridem mezi heliceny a viologeny^{1,2}.

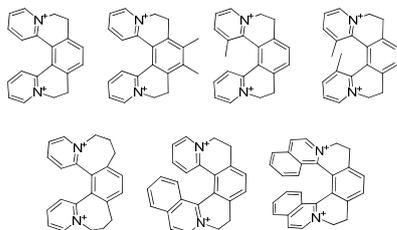
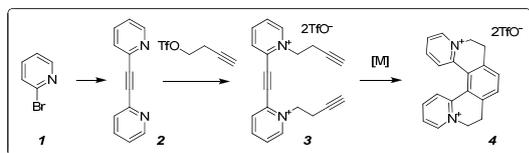


Schéma 1

Řadu těchto látek lze snadno připravit ve třech či čtyřech syntetických krocích s minimální potřebou chromatografických separací. Například syntéza symetrického helikálního dikationtu **4** zahrnuje dvojnásobnou kvarternizaci bis-pyridinu **2** but-3-ynyl triflátem (Schéma 1, **2**→**3**). Vzniklý dikationt **3** je po izolaci podroben rhodiem katalyzované [2+2+2] cykloisomerací³ za vzniku [5]helquatu **4**. Tato strategie umožňuje připravovat helquaty v různých strukturálních obměnách (Schéma 1). Reakce **3**→**4** je prvním příkladem

[2+2+2] cykloadice s kationickým *N*-heteroaromátem jako substrátem.

Druhým problémem řešeným v naší laboratoři je tvorba vazeb uhlík-uhlík (C-C) prostřednictvím organokovové chemie za přítomnosti biologického materiálu a vzduchu. Ačkoliv je katalýza organokovy hojně využívaným nástrojem preparativní chemie, její využití pro tvorbu vazeb C-C v přítomnosti biologického materiálu za aerobních podmínek bylo donedávna zcela opomíjeno^{4,5}. V roce 2006 Meggers a Streu publikovali práci, ve které ukazují, že organokovový komplex ruthenia **5** lze použít za fyziologických podmínek v živé buňce⁶ pro deallylaci allylkarbamátu za vzniku volného aminu. Inspirováni tímto výsledkem jsme zjistili, že několik dříve popsanych transformací alkykových substrátů⁷ za účasti látky **5** probíhá v přítomnosti biologického materiálu na vzduchu (např. v lidském séru či v buněčném lyzátu)⁸. Ukázali jsme, že [2+2+2] cykloadice, coupling alkenů a alkynu, nebo reakce enynu s diazosloučeninou jsou zajímavými kandidáty pro výzkum v oblasti chemické biologie (Schéma 2).

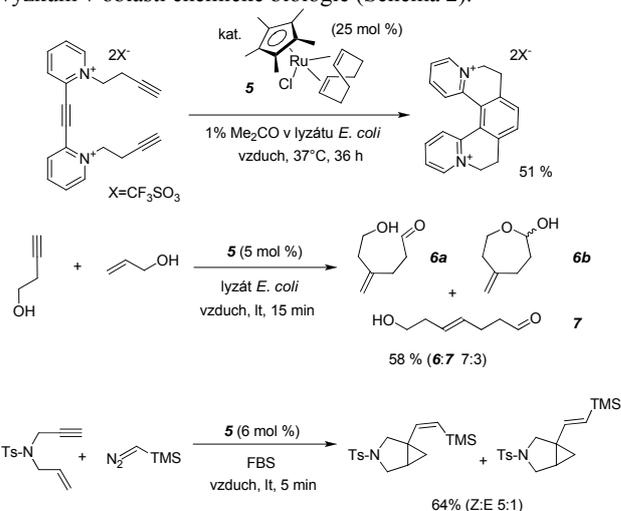


Schéma 2.

Tato práce vznikla za podpory grantu GA ČR 203/09/0705 a UOCHB Z4 055 0506.

LITERATURA

- Adriaenssens L., Severa L., Šálová T., Pohl R., Šaman D., Císařová I., Pospíšil L., Slaviček P., Teplý F.: *Chem. Listy* 102, 398 (2008).
- Adriaenssens L., Severa L., Šálová T., Císařová I., Pohl R., Šaman D., Rocha S. V., Finney N. S., Pospíšil L., Slaviček P., Teplý F.: *Chem. Eur. J.* 15, 1072 (2009).
- Stará I. G., Starý I., Kollárovič A., Teplý F., Šaman D., Tichý M.: *J. Org. Chem.* 63, 4046 (1998).
- Binder J. B., Blank J. J., Raines R. T.: *Org. Lett.* 9, 4885 (2007).
- Lin Y. A., Chalker J. M., Floyd N., Bernardes G. J., Davis B. G.: *J. Am. Chem. Soc.* 130, 9642 (2008).
- Streu C., Meggers E.: *Angew. Chem. Int. Ed.* 45, 5645 (2006).

- Severa L., Vávra J., Kohoutová A., Čížková M., Šalová T., Hývl J., Šaman D., Pohl R., Adriaenssens L., Teplý F.: *Tetrahedron Lett.* 50, 4526, (2009).
- Adriaenssens L., Severa L., Vávra J., Šalová T., Hývl J., Čížková M., Pohl R., Šaman D., Teplý F.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 74, 1023 (2009).

NOVÉ ANTIFUNGÁLNĚ ÚČINNÉ DERIVÁTY KORUSKANONU A

LUCIE TICHOTOVÁ^{a,b}, MILAN POUR^{a,b}, JIRÍ KUNĚŠ^{a,b}

^aUK v Praze, FarmF v Hradci Králové, KAOCH, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové; ^bVýzkumné centrum Nová antivirotika a antineoplastika, ÚOCHB AV ČR, Flemingovo 2, 166 10 Praha 6
tichl1aa@faf.cuni.cz

Naše pracovní skupina se již řadu let zabývá syntézou antifungálních látek typu 3,5-disubstituovaných butenolidů odvozených od přírodní předlohy (-)inkrustoporinu¹. Podobné přírodní látky (2-alkylidencyklopenten-1,3-diony) byly izolovány z *Piper coruscans* v roce 2004, koruskanon A (**I**) vykazuje antifungální aktivitu srovnatelnou s amfotericinem B a také cytostatickou aktivitu². Předlohovou strukturu koruskanonu A lze modifikovat několika způsoby (schéma 1). Deriváty, u nichž byl methyl v poloze 4 (R1) cyklopentendionového kruhu nahrazen substituovaným fenylem, ztratily antifungální aktivitu, zatímco cytostatická aktivita byla zachována. Deriváty bez metoxyskupiny (R2) jsme připravili pomocí Knoevenagelovy kondenzace cyklopent-4-en-1,3-dionu s aldehydy za katalýzy moderními Lewisovými kyselinami. Nejvyšší antifungální aktivitu vykazují látky připravené kondenzací cyklopent-4-en-1,3-dionu s nesubstituovaným cinnamaldehydem a benzaldehydem. Substituce aldehydu v poloze *para* i *meta* antimykotickou aktivitu snižuje.

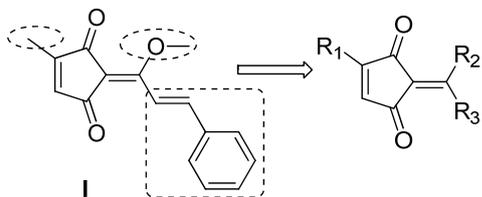


Schéma 1. Možné modifikace koruskanonu A

Strukturně podobné *N*-substituované maleimidy připravené pomocí Mitsunobu reakce jsou antifungálně aktivní, zatímco deriváty získané náhradou cyklopentendionového kruhu jiným dionem aktivitu ztratily.

Práce vznikla za finanční podpory grantové agentury UK (98908) a výzkumného centra Nová antivirotika a antineoplastika podporovaného ministerstvem školství ČR (1M0508).

LITERATURA

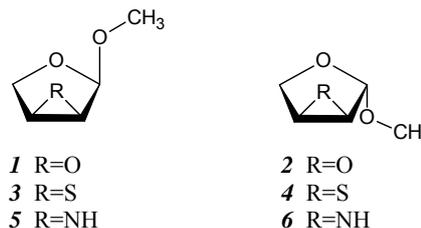
- Pour M., Špulák M., Buchta V., Kubanová P., Vopršalová M., Wsól V., Fáková H., Koudelka P., Pourová H., Schiller R.: *J. Med. Chem.* 44, 2701 (2001).
- Li X.C., Ferreira D., Jacob M.R., Zhang Q., Khan S.I., Nagle D.G., Clark A. M.: *J. Am. Chem. Soc.* 126, 6872 (2004).

PREDIKCE CHIROPTICKÝCH A SPEKTRÁLNÍCH VLASTNOSTÍ MONOSACHARIDŮ

IVAN RAICH^{*a}, KATEŘINA TOMČÁKOVÁ^a, JAKUB KAMINSKÝ^b

^aÚstav chemie přírodních látek, VŠCHT v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6; ^bÚstav organické chemie a biochemie, AV ČR, Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6
Ivan.Raich@vscht.cz.

Práce se zabývá *ab initio*/DFT výpočty optických otáčivostí, IČ a NMR spekter na sérii bicyklických methylerythrofuranosidů s heterocyklickými tříčlennými kruhy. V případě optických otáčivostí se zaměřuje na vliv solvatace, úrovně metody, vibračních příspěvků a vlnové délky. K tomu účelu byly syntetizovány epoxyderiváty **I** a **2** a měří se jejich optická otáčivost v rozmezí 365-633 nm. U IČ spekter se zabývá detailním kvalitativním a kvantitativním porovnáním vypočtených a experimentálních dat. V případě NMR spekter je studován vliv různých úrovní zahrnující IGLO báze.



Bylo zjištěno, že rozpouštědlo hraje při výpočtech optické otáčivosti podstatnou roli a musí být zahrnuto jak ve stadiu geometrických optimalizací, tak ve vlastních výpočtech otáčivosti. Zahrnutí vibračních korekcí, jejichž výpočet je velmi náročný, nemusí vést vždy k lepší shodě a pro definitivní posouzení jejich vlivu je třeba provést výpočty u dalších látek.

Tato práce vznikla za podpory grantu MŠMT ČR MSM6046137305 a GA AV IAA400550702.

PŘÍPRAVA TRIS(PURINYLBENZENOVÝCH DERIVÁTŮ HOMOCYKLOTRIMERIZACÍ 6-ALKYNYLPURINŮ

PAVEL TUREK^{a,b}, MARTIN KOTORA^{a,b*}

^aKatedra organické a jaderné chemie, PřF UK v Praze, Hlavova 8, 128 43 Praha 2; ^bÚOCHB AV ČR, Flemingovo náměstí 2, 166 10 Praha 6
pavel.turek@uochb.cas.cz

Ústav organické chemie a technologie, Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice, Studentská 573, 53210 Pardubice
tydlitajiri@seznam.cz

Biologické vlastnosti 6-aryl- a 6-heteroaryl-purinových bázi a nukleosidů (cytostatická, antibakteriální a antimykobakteriální aktivita)¹ činí z těchto látek zajímavý syntetický cíl. Naším záměrem bylo vypracovat nové metody přípravy 6-aryl- a 6-heteroaryl-purinů založených na [2+2+2]-cyklotrimerizaci katalyzované komplexy přechodných kovů (Ni, Co). Tento přístup se ukázal být vhodným pro syntézu celé řady substituovaných 6-aryl-purinů² a 6-pyridyl-purinů³.

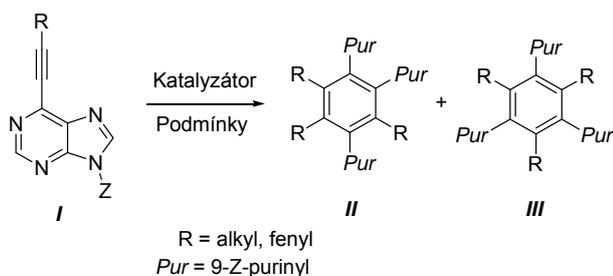


Schéma 1. Homocyklotrimerizace 6-alkynylpurinů

[2+2+2]-cyklotrimerizační reakce byla použita i v dalším projektu, který se zabýval homocyklotrimerizací 6-alkynylpurinů **I**, které mohou obecně reagovat na 1,2,4- **II** (nesymetrický) a 1,3,5-tris(purinylyl)benzen **III** (symetrický). V rámci našeho výzkumu byly studovány různé výchozí 6-alkynylpuriny (terminální, interní), katalyzátory (komplexy Co, Ni) a reakční podmínky (vliv rozpouštědla, mikrovlnné záření, atd.). Výsledky budou dále diskutovány.

Tato práce vznikla za podpory grantu MŠMT ČR 1M0508.

LITERATURA

- Hocek M., Holý A., Votruba I., Dvořáková H.: J. Med. Chem. 43, 1817 (2000).
- (a) Turek P., Kotora M., Hocek M., Císařová I.: Tetrahedron Lett. 44, 785 (2003). (b) Turek P., Kotora M., Tišlerová I., Hocek M., Votruba I., Císařová I.: J. Org. Chem. 69, 9224 (2004). (c) Turek P., Novák P., Pohl R., Hocek M., Kotora M.: J. Org. Chem. 71, 8978 (2006).
- Turek P., Hocek M., Pohl R., Klepetářová B., Kotora M.: Eur. J. Org. Chem. 2008, 3335.

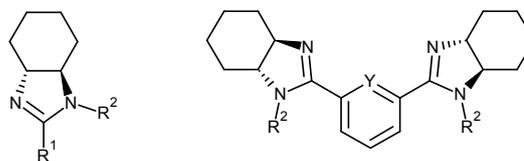
SYNTÉZA A CHARAKTERIZACE OPTICKY ČISTÝCH DERIVÁTŮ HEXAHYDRO-1H-BENZO[d]IMIDAZOLU

JIŘÍ TYDLITÁT, FILIP BUREŠ, JIŘÍ KULHÁNEK

Cílem této práce bylo studium syntézy chirálních derivátů hexahydro-1H-benzo[d]imidazolu substituovaných v poloze dvě. Byly připraveny deriváty s chirálními centry ležícími v polohách čtyři a pět 4,5-dihydro-1H-imidazolového skeletu. Syntéza derivátů vychází z dostupných nitrilů, které byly v prvním kroku nejprve převedeny na imidoestery, kdy následnou kondenzací s cyklohexan-1,2-diaminem v konfiguracích (1R,2R) byly připraveny příslušné chirální ligandy.

Bylo získáno devět chirálních derivátů hexahydro-1H-benzo[d]imidazolu s konfigurací (3aR,7aR) substituovaných v poloze dvě různými (hetero)aromáty – pyridin, pyrimidin, pyrazin, isochinolin, 1H-pyrrol, thiofen a benzen.

Ligandy se substituenty fenyl, pyridin-2-yl, pyrimidin-2-yl, 1H-pyrrol-2-yl a thiofen-2-yl na C-2 byly N-benzylvány pomocí systému bis-(trimethylsilyl)lithiumamid/benzylbromid.



Schéma

Tato práce vznikla za podpory Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky (MSM 0021627501).

LITERATURA

- Anilkumar G., Bhor S., Tse M. K., Klawonn M., Bitterlich B., Beller M.: Tetrahedron: Asymmetry 16, 3536 (2005).
- Bureš F., Kulhánek J., Růžicka A.: Tetrahedron Lett. 50, 3042 (2009).
- Dauwe C., Buddrus J.: Synthesis 1995, 171.

DERIVÁTY AKRIDÍNU AKO INHIBÍTORY TELOMERÁZY. ANALÓGY BRACO19

JÁN UNGVARSKÝ*, LADISLAV JANOVEC, JÁN IMRICH, PAVOL KRISTIAN

Univerzita Pavla Jozefa Šafárika, Prírodovedecká fakulta, Ústav chemických vied, Katedra organickej chémie, Moyzesova 11, 040 01 Košice
jan.ramone@gmail.com

Inhibícia enzýmu telomerázy je významnou selektívnou terapiou biomedicínskeho výskumu, ktorá pôsobí iba na rakovinové bunky. Tento enzým sa nachádza v množstve cca 80 % u všetkých rakovinových buniek, zatiaľ čo v zdravých somatických bunkách nie je prítomný¹⁻³.

Jedným zo spôsobov ako inhibovať telomerázu je „fixovať“ telomerickú DNA vo forme quadruplexu pomocou interkalácie s nízkomolekulovým ligandom a tak zabrániť

elongácii teloméru do pôvodnej dĺžky, čo je jedna z podmienok na permanentné prežívanie malígnych buniek. Medzi takéto ligandy je možné zaradiť štruktúru BRACO19 **I** (cit. 4,5).

Naším cieľom bola príprava trisubstituovaných analógov BRACO19, ako látok s potencionálnou inhibičnou aktivitou. Východiskovou metódou pre našu syntézu sa stala Ullmann-Jordanova reakcia 2-chlór-4-aminotoluénu s aromatickým aminom.

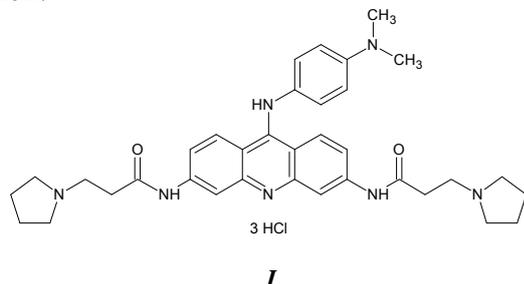


Schéma 1. BRACO19

Táto práca bola finančne podporená grantovou agentúrou VEGA (grant č. 1/0476/08 a 1/0053/08) a štátnym programom NMR (grant č. 2003SP200280203).

LITERATÚRA

- Cech T. R.: *Angew. Chem., Int. Ed.* 39, 34 (2000).
- Parkinson G. N., Lee M. P. H., Neidle S.: *Nature* 417, 876 (2002).
- Hurley L. H., Wheelhouse R. T., Sun D., Kerwin S. M., Salazar M., Federoff O. Y., Han F. X., Han H., Izbiccka E., von Hoff D. D.: *Pharmacol. Therapeut.* 85, 141 (2000).
- Harrison R. J., Reszka A. P., Haider S. M., Romagnoli B., Morrell J., Read M. A., Gowan S. M., Incles C. M., Kelland L. R., Neidle S.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 14, 5845 (2004).
- Schultes C. M., Guyen B., Cuesta J., Neidle S.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 14, 4347 (2004).

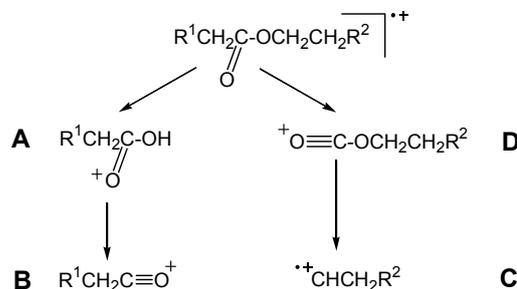
CHARAKTERIZACE HMOTNOSTNÍCH SPEKTER VOSKOVÝCH ESTERŮ

KLÁRA URBANOVÁ^{a,b}, VLADIMÍR VRKOSLAV^a, JOSEF CVAČKA^a, IRENA VALTEROVÁ^a

^aÚstav organické chemie a biochemie AV ČR, Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6, ^bÚstav chemie prírodných látok, VŠCHT, Technická 5, 166 28 Praha 6
irena@uochb.cas.cz

Vyšší (voskové) estery se vyskytují v řadě přírodních materiálů. Jsou hlavní součástí vosků živočišného i rostlinného původu a nacházíme je i v sekretech hmyzích žláz, kde mohou hrát roli v chemické komunikaci na blízko. Většinou jde o bohaté směsi látek, což může komplikovat jejich identifikaci. Již dříve byla publikována chromatografická data velkého souboru standardů voskových esterů^{1,2}. Hmotnostní spektra některých nevětvených esterů byla popsána ve starší práci³.

Analyzovali jsme sérii 166 standardů nasycených a nenasycených voskových esterů pomocí GC-MS s kvadrupólovým analyzátozem iontů. Popsali jsme fragmenty charakteristické pro kyselinovou a alkoholovou část esterů a závislost relativní intenzity těchto fragmentů na délce řetězce obou částí esteru (12-20 atomů uhlíku). Z hmotnostních spekter byly vybrány vždy dva a dva fragmenty charakteristické pro kyselinovou a alkoholovou část (Schéma).



Intenzita fragmentu **A** mírně stoupá s rostoucí délkou alkoholové části (R^2), zatímco intenzita fragmentu **B** s rostoucí alkoholovou částí mírně klesá. Pokud se kyselinová část esteru (R^1) nemění a délka alkoholové části esteru roste, intenzita fragmentů **C** a **D** výrazně klesá. Pokud se nemění alkoholová část esteru a délka kyselinové části esteru roste, pak se intenzita fragmentu **C** nemění nebo mírně klesá. Intenzita molekulového iontu klesá s prodlužující se délkou esteru. Obdobné trendy byly nalezeny i u nenasycených a větvených vyšších esterů.

Tato práce vznikla za podpory grantů MŠMT ČR (2B06007) a GA ČR (203/09/0139).

LITERATURA

- Stránský K., Zarevúcka M., Valterová I., Wimmer Z.: *J. Chromatogr., A* 1128, 208 (2006).
- Takagi T., Itabashi Y.: *J. Chromatogr. Sci.* 15, 121 (1977).
- Aasen A. J., Hofstetter H. H., Iyengar B. T. R., Holman R. T.: *Lipids* 6, 502 (1971).

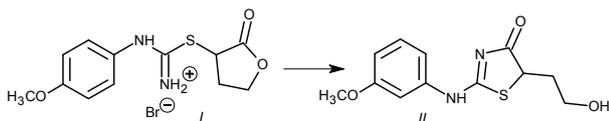
KATALÝZA LEWISOVSKÝMI SOLEMI - VLIV MĚDNATÝCH IONTŮ NA RYCHLOST TRANSFORMACE ISOTHIOURONIOVÝCH SOLÍ

JIRÍ VÁŇA, JIRÍ HANUSEK, MILOŠ SEDLÁK

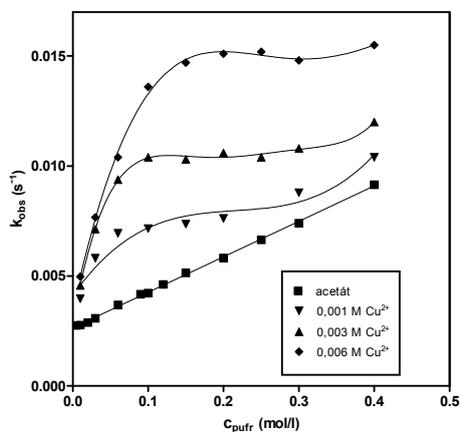
Ústav organické chemie a technologie, FCHT, Univerzita Pardubice, Studentská 573, 532 10 Pardubice
jiri.vana@student.upce.cz

Katalýze ionty přechodných kovů je mezi chemiky věnována velká pozornost. Může za to i skutečnost, že mnoho reakcí probíhajících v organismech je katalyzováno enzymy obsahujícími tyto ionty. Studium mechanismu obdobných reakcí na jednosuších sloučeninách může být dobrým

odrazovým můstkem k pochopení složitějších mechanismů probíhajících v buňkách.



Při studiu mechanismu transformace substituovaných *N*-aryl-*S*-2-oxotetrahydrofuran-3-yl isothiuroniových solí¹ (**I**) bylo zjištěno, že reakce je urychlována přidávkem měďnatých iontů. Na velikost tohoto urychlení mají zásadní vliv anionty přítomné v roztoku. Pokud jsou přítomné pouze anionty chloridové, siranové či chloristanové, k urychlení prakticky nedochází, nebo jen v malé míře. Naopak přítomnost acetátových, chloracetátových nebo methoxyacetátových aniontů reakci urychluje. Nejvíce je toto urychlení patrné pro acetátové anionty.



Tato práce vznikla za podpory výzkumného záměru MŠMT ČR č. 0002 162 7501.

LITERATURA

- Váňa J., Hanusek J., Růžička A., Sedlák M.: *J. Heterocycl. Chem.* 46, 635 (2009).

DERIVÁTY ω -AMINOKYSELIN JAKO AKCELERANTY TRANSDERMÁLNÍ PERMEACE LÉČIV

JAKUB NOVOTNÝ, MICHAL NOVOTNÝ, BARBORA JANUŠOVÁ, ALEXANDR HRABÁLEK, KATEŘINA VÁVROVÁ

Výzkumné centrum Nová antivirotika a antineoplastika, Farmaceutická fakulta UK, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové, katerina.vavrova@faf.cuni.cz

Akceleranty transdermální permeace jsou sloučeniny usnadňující přístup léčiv přes kůži¹. Přestože již byly popsány

stovky sloučenin s touto schopností, velmi málo z nich vykazuje vysokou aktivitu spolu s nízkou toxicitou.

Těmto ideálním vlastnostem se přibližují deriváty ω -aminokyselin připravené na našem pracovišti - například dodecylester kyseliny 6-(dimethylamino)hexanové (DDAK)² nebo 6-(dodecyloxy)-6-oxohexylammonium-6-(dodecyloxy)-6-oxohexylkarbamát (Transkarbam 12, T12)³. Tyto látky urychlují přístup širokého spektra látek přes kůži, u některých až o dva řády. Navíc vykazují nízkou toxicitu a dráždivost a díky přítomnosti esterové vazby jsou v tzv. živé epidermis poté, co splnily svůj účel ve stratum corneum, degradovány esterázami na netoxické metabolity. Jejich účinek je navíc reverzibilní, po odstranění z kůže se její rezistence poměrně rychle obnoví. V prezentaci budou přestaveny vztahy mezi strukturou a účinkem v této skupině sloučenin, jejich možný mechanismus účinku a chování v kůži.

Tato práce vznikla za podpory MŠMT ČR (Výzkumné centrum Nová antivirotika a antineoplastika IM0508 a Výzkumný záměr MSM0021620822).

LITERATURA

- Vávrová K., Zbytovská J., Hrabálek A.: *Curr. Med. Chem.* 12, 2273 (2005).
- Novotný J., Kovaříková P., Novotný M., Janušová B., Hrabálek A., Vávrová K.: *Pharm. Res.* 26, 811 (2009).
- Hrabálek A., Doležal P., Vávrová K., Zbytovská J., Holas T., Klimentová J., Novotný J.: *Pharm. Res.* 23, 912 (2006).

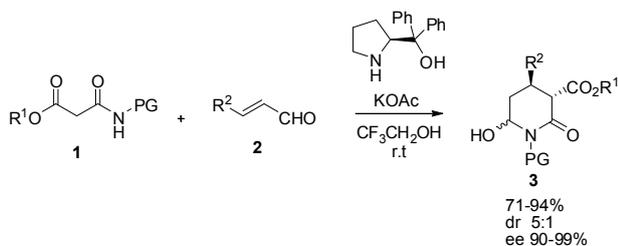
VYUŽITÍ ORGANOKATALYTICKÉHO KONCEPTU NA ENANTIOSELEKTIVNÍ PŘÍPRAVU ANTIDEPRESIVA (-)-PAROXETINU

JIRÍ SCHIMER, SYLVA ČÍHALOVÁ, JAN VESELÝ*

Katedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze, Hlavova 2030, 128 40 Praha 2 jxvesely@natur.cuni.cz

Výzkum nových efektivních reakcí, které umožňují přípravu komplexních molekul ze snadno dostupných výchozích látek, je stále trvající cíl řady vědeckých pracovišť. Ačkoli je odvětví organické syntézy zvané *organokatalýza* stále ještě ne plně rozvinuté, byly do současnosti publikovány tisíce organokatalytických reakcí. Řada z nich se zabývá syntézou cyklických sloučenin obsahujících pouze uhlíkatý skelet či heterocyklických sloučenin obsahujících atomy N, O a S. Nicméně pouze malá pozornost byla věnována přípravě derivátů piperidin-2-onů, které slouží jako běžně používané prekurzory pro syntézu biologicky aktivních látek (polycyklické alkaloidy jako indol[2,3-*a*]chinolizidiny a benz[*a*]chinolizidiny).

Sohledem na odbornou literaturu se naše skupina zaměřila na přípravu enantiomerně čistých derivátů piperidin-2-onů. Jak je naznačeno na schématu, příslušné deriváty **3** byly připraveny v jednom reakčním kroku s vysokými výtěžky a enantioselektivitou¹.



Jako příklad aplikace této nové metodiky bude v příspěvku diskutována asymetrickou syntéza antidepresiva (-)-paroxetinu.

Tato práce vznikla za podpory grantů MSM0021620857, GAČR (203/09/P193).

LITERATURA

1. Valero G., Schimer J., Císařová I., Veselý J., Moyano A., Rios R.: *Tetrahedron Lett.* 50, 1943 (2009).

BENZAMIDY – OTEVŘENÉ FORMY ANTIMYKOBAKTERIÁLNĚ AKTIVNÍCH BENZOXAZOLŮ

JÁN KOZIC^a, ZBYNĚK OKTÁBEC^a, JIŘINA
STOLÁŘIKOVÁ^b, JARMILA VINŠOVÁ^{*a}

^a Farmaceutická fakulta UK, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové; ^b Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě, Partyzánské náměstí 7, 702 00 Ostrava
jarmila.vinsova@faf.cuni.cz

Tuberkulóza (TB) zůstává v důsledku rozšiřující se multilokové rezistence (MDR-TB) na běžně používaná antituberkulotika, epidemie AIDS, migrace obyvatelstva, omezování kontroly TB a nedodržování léčebných režimů světovým zdravotním problémem. Jedním z výzkumných cílů je hledání nových antituberkulotik s jinými mechanismy aktivity, působících především na MDR kmeny. Skupina salicylanilidů, které patří k našim výzkumným záměrům, takové aktivity vykazuje^{1,2}. Jejich převrácená forma tj benzamidy, vzniklé pravděpodobně i metabolickým otevíráním benzoxazolů (Schéma 1), u nichž jsme našli nadějnou antimykobakteriální aktivitu³, se staly předlohou zde prezentované skupiny.

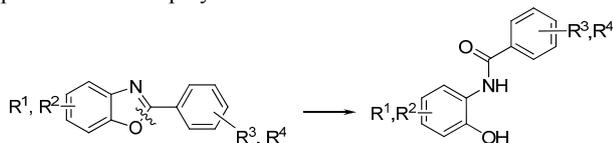


Schéma 1

Syntéza vycházející z našich zkušeností s přípravou salicylanilidů v mikrovlnném reaktoru selhala. Hydroxyskupina na anilinové části vede k možnosti cyklizace na benzoxazol, aminoskupina podléhá oxidaci což je doprovázeno celou řadou barevných vedlejších produktů. Proto bylo

přistoupeno ke klasické přípravě amidů přes chlorid příslušné kyseliny. Některé neuspokojivé výtěžky této reakce vedly k použití např. 5-chlor-2-methoxybenzoové kyseliny, jejíž anilid vykázal překvapivě vysokou antimykobakteriální aktivitu (MIC 4-8 $\mu\text{mol/L}$).

Bude prezentována syntéza a výsledky antimykobakteriální aktivity vůči *Mycobacterium tuberculosis* My 331/88 a některým netuberkulózním kmenům: *M. avium* My 330/88, *M. kansasii* My 235/80 a *M. kansasii* 6 509/96, který byl izolován u pacienta z Karviné.

Tato práce byla vypracována za finanční podpory MSM 0021620822, GAUK 64407/2007 a IGA NS 10367-3.

LITERATURA

1. Imramovský A., Vinšová J., Ferriz J. M., Buchta V., Jampílek J.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 19, 348 (2009).
2. Imramovský A., Vinšová J., Ferriz J. M., Doležal R., Jampílek J., Kaustová J., Kunc F.: *Bioorg. Med. Chem.* 17, 3572 (2009).
3. Vinšová J., Čermáková K., Tomečková A., Čečková M., Buchta V., Jampílek J., Čermák P., Kuneš J., Doležal M., Štaud F.: *Bioorg. Med. Chem.* 14, 5850 (2006).

HETEROCYKLICKÉ DERIVÁTY TRITERPENŮ S CYTOTOXICKOU AKTIVITOU

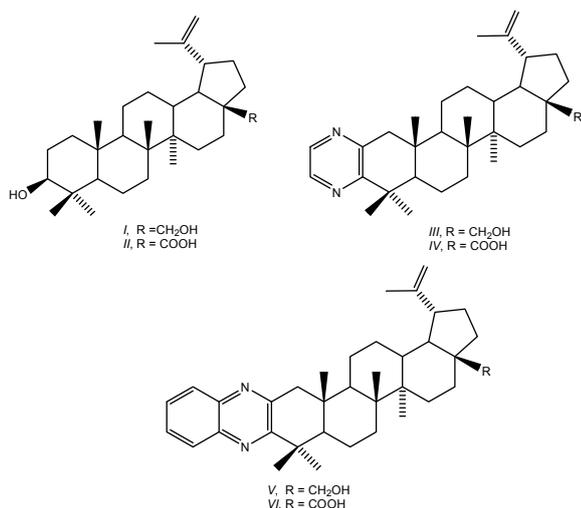
M. VLK^a, J. ŠAREK^b, M. MOYORDOMO MARTÍNEZ^a,
M. HAJDÚCH^c, T. ELBERT^d

^aKatedra jaderné chemie, FJFI, ČVUT, 115 19 Praha 1; ^bKatedra organické chemie, PŘF, Univerzita Palackého, 772 07 Olomouc; ^cLab. exp. medicíny, Dětská a onkologická klinika, LF UP a FN, 775 20 Olomouc; ^dLaboratoř radioizotopů, ÚOCHB AV ČR, 166 10 Praha 6
martin.vlk@jfifi.cvut.cz

Lupanové deriváty hrají důležitou roli mezi semisyntetickými sloučeninami pentacyklických triterpenů, zvláště pro své různé biologické aktivity¹, zahrnující aktivitu antineoplastickou, protivirovou, protizánětlivou, antimikrobiální, hepatoprotektivní a kardioprotektivní. Speciální pozornost je věnována derivátům betulinu (*I*) a kyseliny betulinové (*II*) pro jejich cytotoxické účinky a antivirotické účinky².

Systematický výzkum semisyntetických derivátů, během posledních několika let ukazuje, že právě heterocyklické deriváty vykazují velmi zajímavé cytotoxické účinky na buněčných liniích různého histogenetického původu včetně multilokové rezistentních³.

V minulých letech byla připravena série pyrazinových *III*, *IV* a benzopyrazinových *V*, *VI* derivátů, které byly testovány na spolupracujícím pracovišti LEM FN UP. Nově byly připraveny pyrazinové deriváty heterobetulinu, kyseliny heterobetulonové, moradiolu a kyseliny moronové. Struktury všech připravených sloučenin byly potvrzeny spektrálními daty.



Činidla a rozpouštědla byla financována z grantových prostředků: A/CZ 0046/1/0022 of FM EEA NORŠKA, GAČR 305/09/1216 a grantu Nadace pro výzkum rakoviny – rakovina věc veřejná.

LITERATURA

1. Dzubak P., Hajduch M., Vydra D., Hustova A., Kvasnica M., Biedermann D., Markova L., Urban M., Sarek J.: Nat. Prod. Rep. 23, 394 (2006).
2. Krasutsky P. A.: Nat. Prod. Rep. 6, 919 (2006).
3. Urban M., Sarek J., Kvasnica M., Tislerova I., Hajduch M.: J. Nat. Prod. 70, 526 (2007).

PROCES OPTIMALIZÁCIE CHROMATOGRAFIE SUROVÉHO SEMISYNTETICKÉHO PACLITAXELU

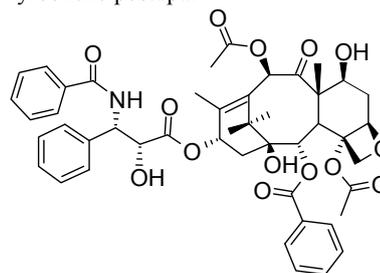
MICHAL VOJTECH, TOMÁŠ HOLAS, PAVEL BLATNÝ, LADISLAV CVAK

TEVA, Ivax Pharmaceuticals, Ostravská 29, 747 70 Opava-Komárov
Michal.vojtech@ivax-cz.com

Paclitaxel (PAC) je rastlinný diterpenoid zo skupiny taxánov, izolovaný v roku 1967 z kôry tichomorského tisú (*Taxus brevifolia*). Pre jeho cytostatické účinky má rozsiahle využitie v medicíne pri liečení rakoviny. V našej firme sa PAC vyrába jednak extrakciou z prírodného materiálu, ihličia kanadského tisú (*Taxus canadensis*) alebo semisynteticky z 13-acetyl-9-dihydrobaccatinu III (DHB), ktorý sa spoločne izoluje s PAC.

Semisyntetický paclitaxel sa čistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli (15 μm sférický silikagél). Optimalizácia tohto postupu predstavovala sledovanie separácie jednotlivých nečistôt počas chromatografie na analytickej kolóne za rozdielnych separačných podmienok (prietok a zloženie mobilnej fázy, nástrek materiálu, teplota).

Nasledoval potom „scale up“ metódy cez semipreparatívnu škálu až do výrobného postupu.



Paclitaxel

VYUŽITÍ SULFOXIDŮ A JEJICH IMINO-ANALOGŮ V OXIDAČNÍCH REAKCÍCH KATALYZOVANÝCH KOMPLEXY RHENIA

SVATAVA VOLTROVÁ, JIŘÍ ŠROGL*

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

Oxorhenium mono- a dioxazolinové sloučeniny¹ a oxorhenium trifenylofosfinové komplexy² byly použity jako katalyzátory při oxidačních reakcích různých organických substrátů sulfoxidy (Schéma 1) a sulfiliminy. Substráty X zahrnují alkoholy, sulfidy, olefiny a jiné oxidovatelné molekuly.

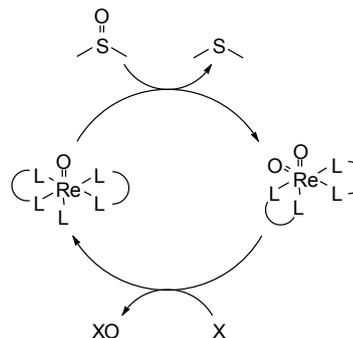


Schéma 1. Sulfoxidy v oxidačních reakcích katalyzovaných komplexy rhenia

Tato práce vznikla za podpory grantu GA ČR 203/08/1318.

LITERATURA

1. Arias J., Newlands C. R., Abu-Omar M. M.: Inorg. Chem. 40, 2185 (2001).
2. Arterburn J. B., Liu M., Perry M. C.: Helv. Chim. Acta 85, 3225 (2002).

ALKYLACE CUCURBITURILU

**MARKÉTA ZAJÍCOVÁ, JAN BUDKA,
PAVEL LHOTÁK***Ústav organické chemie, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28
Praha 6
zajicovm@vscht.cz*

Cucurbiturily jsou makrocyclické sloučeniny složené z glykolorilových jednotek. Velkým problémem cucurbiturilů je jejich velmi nízká rozpustnost. Proto byla cílem práce syntéza takových derivátů, které by vedly ke zvýšení rozpustnosti. Jednou z možností je zavedení hydroxylových funkcí a následná alkylace. Prezentace shrnuje dosud dosažené výsledky.

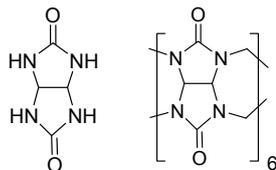


Schéma 1. Glykoloril a cucurbit[6]uril

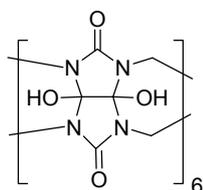


Schéma 2. Perhydroxy cucurbit[6]uril, který bude dále alkylován

Tento projekt je podporován grantem GAAV IAX08240901.

LITERATURA

1. Jon S. Y., Selvapalam N., Oh D. H., Kang J.-K., Kim S. Y., Jeon Y. J., Lee J. W., Kim K.: *J. Am. Chem. Soc.* 125, 10186 (2003).
2. Kim K., Selvapalam N., Ko Y. H., Park K. M., Kim D., Kim J.: *Chem. Soc. Rev.* 36, 267 (2007).

CONSECUTIVE NATIVE CHEMICAL LIGATION –
ROUTE TO SYNTHETIC MOUSE PRION PROTEIN**ZBIGNIEW ZAWADA^{a,b}, JAROSLAV ŠEBESTÍK^a,
MARTIN ŠAFARÍK^a, ANNA BŘEZINOVÁ^a, PETR
BOUŘ^a, JAN HLAVÁČEK^a, IVAN STIBOR^{a,b}***^aInstitute of Organic Chemistry and Biochemistry, Czech
Academy of Sciences, Flemingovo nám. 2, 166 10 Prague 6;
^bInstitute of Chemical Technology, Technická 5, 166 28 Prague 6*

Prion proteins are suspected as causative agents of several neurodegenerative diseases such as CJD, BSE, new variant of CJD¹ etc. Although recombinant prion protein is available², it is not easy if possible to introduce some its modifications by this way. Due to this fact it is desirable to find a way to fully synthetic prion protein.

Prions possess more than 200 AAs which strongly disfavor straightforward peptide synthesis. It requires syntheses of shorter fragments which are finally linked together³. This “small building block approach” also simplifies the synthesis of prion protein with any modification in comparison with “big building block approach” or even SPPS.

In our effort to prepare part of mouse prion protein (MoPrP) by subsequent native chemical ligation we were using peptide-Nbz approach⁴: Peptide was synthesized on 3,4-diaminobenzamide linker which was then transformed to Nbz (*N*-acyl-benzimidazolinone) activation group. After cleavage and purification the activated peptide was utilized in native chemical ligation. Ligation was conducted in neutral buffer which contained 4-mercaptophenylacetic acid (MPAA). It reacts with activated peptide to afford peptide-thioester, which actually participates in the native chemical ligation. Desirable thioester is formed in situ nearly quantitatively by reaction of peptide-Nbz with MPAA within a few minutes.

We also studied compatibility of peptide-Nbz with thiazolidine-2-carboxamide⁵ as a protection of N-terminal cysteine.

*Supported by research project Z4 055 0506 and grant of the
Czech Science Foundation No. 203/07/1517.*

REFERENCES

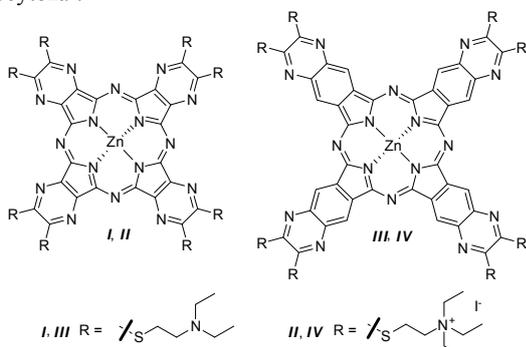
1. Prusiner S. B.: *PNAS* 95, 13363 (1998).
2. Legname, G., Baskakov I. V., Nguyen H. B., Riesner, D., Cohen F. E., DeArmond S. J., Prusiner S. B.: *Science* 305, 673 (2004).
3. Ball H. L., King D. S., Cohen F. E., Prusiner S. B., Baldwin M. A.: *J. Pept. Res.* 58, 357 (2001).
4. Blanco-Canosa J. B., Dawson P. E.: *Angew. Chem. Int. Ed.* 47, 6851 (2008).
5. Bang D., Pentelute B. L., Kent S. B. H.: *Angew. Chem. Int. Ed.* 45, 3985 (2006).

KATIONICKÉ AZAFTALOCYANINY -
FOTOSENSITIZÉRY PRO FOTODYNAMICKOU
TERAPII**PETR ZIMČÍK^a, MIROSLAV MILETÍN^a, EMIL
RUDOLF^b, HANA RADILOVÁ^c***^aFarmaceutická fakulta v Hradci Králové, UK v Praze,
Heyrovského 1203, 50005 Hradec Králové; ^bLékařská fakulta
v Hradci Králové, UK Praze, ^cGENERI BIOTECH, s.r.o.,
Hradec Králové
petr.zimcik@faf.cuni.cz*

Fotodynamická terapie je moderní metoda léčby zejména nádorových onemocnění¹. Využívá kombinace fotosensitizéru

(PS), aktivujícího světla a kyslíku. Samy o sobě jsou (by měly být) jednotlivé složky netoxické. Po aktivaci světlem předává PS svou energii kyslíku a vytváří reaktivní singletový kyslík ničící okolní nádorové buňky.

Azaftalocyaniny (AzaPc) mají výborné fotofyzikální a fotochemické předpoklady být úspěšnými fotosensitizéry. V naší laboratoři byly syntetizovány AzaPc se základním (**I**, **II**) i rozšířeným makrocyklem (**III**, **IV**). Periferní substituenty nesou buď terciární aminy, které je možno snadno převést na hydrochlorid, nebo kvarterní dusíky. Oba substituenty zajišťují výbornou rozpustnost molekul ve vodě. Měření kvantových výtěžků singletového kyslíku ukázala výrazný negativní vliv deaktivujícího fotoindukovatného přenosu elektronu (PET) u **I** a agregace (**III**, **IV**). Biologické *in vitro* testy na Hep2 buňkách potvrdily vysokou fotodynamickou aktivitu u látek **II**, **III**, **IV** ($IC_{50} = 100\text{--}200\text{ nM}$) po ozáření, zatímco toxicita bez aktivace světlem nebyla detegována až do max. koncentrace použité v testech ($200\text{ }\mu\text{M}$). Fluorescenční mikroskopie ukázala lokalizaci PS zejména v lysosomech, což naznačuje, že hlavní cestou vstupu těchto AzaPc do buněk je dle předpokladů endocytóza².



Tato práce vznikla za podpory Grantové agentury České republiky grant č 203/07/P445.

LITERATURA

- Zimcik P., Miletin M., v knize: *Dyes and Pigments – New Research*, kap. 1, s. 1-63. Nova Science Publishers, New York 2009.
- Zimcik P., Miletin M., Radilova H., Novakova V., Kopecky K., Svec J., Rudolf E.: *Photochem. Photobiol.*, v tisku.

BIOSYNTETICKÁ STUDIE: *IN VITRO* INKUBACE LABIÁLNÍ ŽLÁZY A TUKOVÉHO TĚLESA SAMCŮ ČMELÁKŮ (*BOMBUS LUCORUM* A *BOMBUS TERRESTRIS*) S [1,2-¹⁴C]OCTANEM SODNÝM

PETR ŽÁČEK^{a,b}, ROBERT TYKVA^a, JIŘÍ KINDL^a, IRENA VALTEROVÁ^a

^aÚstav organické chemie a biochemie AV ČR, Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6, ^bPřírodovědecká fakulta, UK, Albertov 8, 128 40 Praha 2
zacek@uochb.cas.cz

Sexuální značkovací feromon samců čmeláků je produkován a uchováván v hlavové části labiální žlázy¹. Oba studované druhy (*Bombus lucorum* a *Bombus terrestris*) se navzájem liší ve složení sekrece této žlázy. Samci druhu *B. lucorum* produkují alifatické sloučeniny s nerozvětveným uhlíkovým řetězcem. Nejvíce zastoupenou látkou je ethyl-(Z)-tetradec-9-enoát (53%)². V případě druhu *B. terrestris* se v labiální žláze nacházejí jak alifatické uhlovodíky, tak terpeny³. Nejvíce jsou zastoupeny 2,3-dihydrofarnesol a ethyl-dodekanoát.

Úkolem této práce bylo potvrdit hypotézu⁴, že *de novo* syntetizované mastné kyseliny (uchovávané ve formě acylglyceridů v tukovém tělese) jsou prekurzory alifatických komponent sekretu labiální žlázy.

Labiální žlázy a tuková tělesa samců studovaných druhů byly inkubovány *in vitro* s radioaktivním [1,2-¹⁴C]octanem sodným. Po inkubaci byly extrakty obou typů tkání analyzovány pomocí tenkovrstvé chromatografie za použití nedestruktivního polohově citlivého detektoru distribuce ¹⁴C. Bylo dokázáno, že [1,2-¹⁴C]octan se inkorporoval do různých druhů sloučenin (mastných kyselin, triacylglycerolů, esterů a uhlovodíků). Dále byly nalezeny rozdíly mezi labiální žlázou a tukovým tělesem v typech sloučenin obsahujících ¹⁴C.

Tato práce vznikla za podpory GA ČR (203/09/1446). Autoři děkují Dr. Josefu Holíkovi z ústavu Experimentální botaniky za umožnění radioanalýz.

LITERATURA

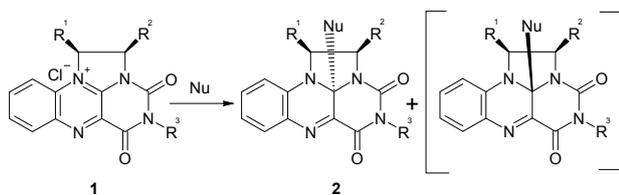
- Kullenberg B.: *Zoon Suppl.* 1, 31 (1973).
- Urbanová K., Valterová I., Hovorka O., Kindl J.: *Eur. J. Entomol.* 98, 111 (2001).
- Kullenberg B., Bergström G., Ställberg-Stenhagen S.: *Acta Chemica Scandinavica* 45, 1481 (1970).
- Luxová A., Valterová I., Stránský K., Hovorka O., Svatoš A.: *Chemoecology* 13, 81 (2003).

DIASTEREOSELEKTIVITA TVORBY 10A-ADUKTŮ U CHIRÁLNÍCH N¹,N¹⁰-PŘEMOSTĚNÝCH FLAVINIOVÝCH SOLÍ

JIŘÍ ŽUREK, RADEK CIBULKA, JIŘÍ SVOBODA

Ústav organické chemie, VŠCHT, Technická 5, 16628 Praha 6
zurekj@vscht.cz

Flaviniové soli nacházejí v poslední době široké uplatnění v oblasti organokatalýzy¹. V naší laboratoři byly připraveny N¹,N¹⁰-přemostěné chirální flaviniové soli **1**, které katalyzují oxidaci sulfidů na sulfoxidy a Bayerovy-Villigerovy oxidace s využitím peroxidu vodíku jako terminálního oxidačního činidla. Jelikož v katalytickém systému sůl **1** – peroxid vodíku je aktivním oxidačním činidlem příslušný flavin-10a-hydroperoxid (**2**, Nu = OOH), představuje stereoselektivní tvorba tohoto peroxidu jednu z klíčových podmínek pro zajištění stereoselektivního průběhu celé oxidace.



V příspěvku bude prezentována studie zaměřená na vliv substituentů R¹ a R² na zmíněnou diastereoselektivitu tvorby 10a-adtů.

Tato práce vznikla za podpory grantu GAČR, grant č. 203/07/1246.

LITERATURA

1. Feyissa Gadissa Gelalcha: Chem. Rev. 2007, 3338.

REJSTŘÍK AUTORŮ

Adriaenssens Louis	994	Holub Josef	971
Alexandrova Anastasia V.	940	Holz Richard C.	952
Azim Khan Muhammad Shamsul	961	Hrabálek Alexandr	977, 985, 998
Babuněk Mario	970	Hrdina Radim	960
Bakardžiev Mario	971	Hrdlička Jan	965
Barek Jiří	946	Hroudná Ľubica	989
Bednaříková Tereza	940	Hudeček Oldřich	954
Beier Petr	940	Hynek Vladimír	993
Berková Miroslava	981	Hývl Jakub	954
Blatný Pavel	1000	Cherkupally Prabhakar	940
Blechta Vratislav	988	Chlebek Jakub	941
Bouř Petr	1001	Chlebek Jakub	954
Bouř Petr	990	Chodounská Hana	943
Brančová Pavla	989	Chudíková Naděžda	955
Březinová Anna	1001	Imrich Ján	949, 957, 974, 996
Bubnov Alexej	962	Jagtap Pratap	955, 980
Budka Jan	954, 976, 980, 1001	Jahn Ullrich	955, 958, 971, 980, 981, 990
Budovská Mariana	945	Jahodář Luděk	941
Buffá Radovan	940, 960	Jambal Irekhjargal	960
Buchta Vladimír	974	Jampílek Josef	958
Bureš Filip	996	Jančařík Andrej	960
Cahlíková Lucie	941, 954	Janovec Ladislav	957, 996
Cibulka Radek	945, 957, 976, 1002	Janušová Barbora	998
Cígl Martin	943	Ježek Jan	990
Císařová Ivana	944, 980, 994	Jindřich Jindřich	940, 951, 980, 985, 986
Cuřínová Petra	980	Jiráček Jiří	952
Cvačka Josef	997	Jirman Josef	951
Cvak Ladislav	953, 1000	Jiroš Pavel	967
Čerňová Miroslava	944	Jones Peter G.	958
Černý Ivan	943	Jurok Radek	957
Číhalová Sylva	944	Káčerová Sandra	958
Číhalová Sylva	998	Kafka František	958
Čížková Martina	944, 994	Kaleta Jiří	959, 959
Čurillová Zuzana	945	Kaminský Jakub	995
Daďová Jitka	945	Kamlar Martin	950
Deister Elmar	955	Kaustová Jarmila	974
Dinca Emanuela	955	Keder Roman	960
Dolenský Bohumil	978	Kefurt Karel	960, 969
Doležal Martin	946	Kelbichová Vendula	960
Dračínský Martin	948	Kešetovičová Diana	946
Drašar Pavel	946, 993	Kettou Sofiane	960
Ducháčková Lucie	947	Kindl Jiří	1002
Dvořák Dalimil	955, 960, 965, 968	Klán Petr	989
Dybal Jiří	984	Klimešová Věra	982
Dymičová Marie	987	Kniežo Ladislav	961, 972
Eigner Václav	947, 954, 976	Kohout Michal	962, 987
Eignerová Barbara	948, 986	Kolman Viktor	963
Elbert T.	999	Kopecký Kamil	963, 977
Flídová Karolína	948	Kotek Jan	964
Fojta Miroslav	946	Kotek Vladislav	965
Ford Leigh	955	Kotora Martin	948, 986, 996
Friess Karel	993	Koťuha Jan	965
Fučík Vladimír	952	Kovaříček Petr	966
Galeta Juraj	949	Kovářová Anna	966, 987
Garguláková Zuzana	992	Kozic Ján	999
Gela Petr	985	Kozmik Václav	987
Gilner Danuta	952	Krasulová Jana	967
Glogarová Milada	943, 962, 966, 987	Krenk Ondřej	967
Hajdúch M.	999	Kristian Pavol	949, 957, 996
Hampl František	943	Kříž Jaroslav	984
Hamuřáková Slávka	949	Křováček Martin	968
Hanus Robert	967	Kubelka Tomáš	968
Hanusek Jiří	997	Kubicová Lenka	974
Hanzlová Eva	950	Kubičková Eva	969
Heinisch Lothar	979	Kulhánek Jiří	996
Hejnová Monika	950	Kuneš Jiří	992
Hejtmánková Ludmila	951	Kuneš Jiří	995
Henke Adam	951, 987	Kurfürst Milan	941, 954, 969, 988
Hezký Petr	951	Kutschy Peter	945, 969, 977
Hlaváček Jan	952, 990, 1001	Kvičala Jaroslav	953, 960, 970, 978, 979, 987, 988
Hocek Michal	944, 953, 968, 973, 984,	Kvičalová Magdalena	971
Hodáň Martin	992	Lapčík Oldřich	946
Holakovský Roman	947, 966	Látalová Petra	984
Holan Martin	953	Lau Tanja	971
Holas Tomáš	953, 1000	Lhoták Pavel	948, 954, 976, 980, 1001

Lövyová Zuzana	972	Slaviček Petr	994
Lubojackýa Richard	992	Stará Irena G.	960
Ludvík Jiří	972	Starý Ivo	960
Macáková Kateřina	941, 954	Stibor Ivan	1001
Macíčková Cahová Hana	973	Stolaříková Jiřina	979, 999
Macháček Miloš	974	Svoboda Jiří	943, 962, 966, 987, 1002
Maľučká Lucia	974	Svobodová Hana	993
Man Stanislav	949	Sýkora Jan	954, 988
Martínek Marek	975	Sysel Petr	993
Martinů Tomáš	950	Šádek Vojtěch	989
Matoušová Eliška	975	Šafařík Martin	990, 1001
Mazal Ctibor	959	Šalová Tereza	994
Mazal Ctibor	959	Šaman David	944, 994
Ménová Petra	976	Šarek J.	999
Miletín Miroslav	963, 1001	Šebej Peter	989
Mojžiš Ján	945, 977	Šebelová Jana	963
Moravcová Jitka	960, 969	Šebesta Petr	990
Motyčka Jan	976	Šebestík Jaroslav	990, 1001
Moyordomo Martínez M.	999	Šenel Petr	992
Nauš Petr	953	Šimánová Markéta	980
Nikodým Pavel	981	Šindelář Vladimír	992, 993
Nováková Veronika	963, 977	Šípek Milan	993
Nováková Zdena	946	Šmejkalová Daniela	981
Novotná Vladimíra	943, 966, 987	Šnajdr Ivan	991
Novotný Jakub	998	Šolomek Tomáš	989
Novotný Michal	977, 998	Špulák Marcel	992
Očenáš Peter	977	Šrogl Jiří	951, 954, 975, 993, 1000
Oktábec Zbyněk	999	Štancí Marek	992
Olejník Roman	982	Štibingerová Iva	993
Opletal Lubomír	941, 954	Štíbr Bohumil	971
Paleček Jiří	978	Šturová Adriana	984
Palek Lukáš	960	Šusteková Jana	993
Paleta Oldřich	978	Švec Jan	993
Paterová Jana	979	Teplý Filip	944, 994
Pavlík Jan	991	Tichotová Lucie	995
Petrliková Eva	979	Tomčáková Kateřina	995
Picha Jan	952	Turek Pavel	996
Pichavant Alexandre	971	Tydlitát Jiří	996
Pilátová Martina	945, 977	Týkva Robert	1002
Pohl Radek	958, 994	Ungvarský Ján	957, 996
Polívková Kateřina	980	Urbanová Klára	997
Popr Martin	980	Valterová Irena	967, 997, 1002
Pospišil Lubomír	948, 994	Váňa Jiří	997
Pospišilová Lucie	940	Vaněk Václav	952
Potáček Milan	949	Vávra Jan	994
Pour Milan	967, 975, 991, 992, 995	Vávrová Kateřina	977, 985, 998
Pouzar Vladimír	943	Velebný Vladimír	940, 960, 981
Pravda Martin	960, 974, 981	Veselý Jan	944, 950, 998
Příkopová Eva	940	Vidma Lukáš	943
Puget Bertrand	981	Vilková Mária	974
Pytela Oldřich	982, 982	Vinšová Jarmila	999
Radilová Hana	1001	Vlček Petr	984
Rádl Stanislav	983	Vlk M.	999
Raich Ivan	958, 995	Vojtech Michal	1000
Raindlová Veronika	984	Voltrová Svatava	993, 1000
Raus Vladimír	984	Vrkoslav Vladimír	997
Rejšek Jan	985	Vytlačilová Jitka	941
Remeš Marek	944	Waisser Karel	979
Roh Jaroslav	985	Weidlich Tomáš	986
Roithová Jana	947	Wimmer Zdeněk	993
Rudolf Emil	1001	Zajícová Markéta	1001
Růžička Aleš	971	Zawada Zbigniew	990, 1001
Řezanka Michal	986	Zimčík Petr	963, 977, 1001
Salayová Aneta	977	Zitko Jan	946
Sedlák Miloš	986, 997	Žáček Petr	1002
Seidler Arnošt	987	Žurek Jiří	1002
Severa Lukáš	994		
Schimer Jiří	998		
Schindler Martin	970		
Schraml Jan	969, 988		
Schröder Detlef	989		
Sindelar Vladimír	961, 963		
Skála Pavel	974		
Skalická Veronika	987		
Skalický Martin	953, 960, 970, 979, 987, 988		
Slaninová Jiřina	952		

ORBIFACHOS

OBSAH		CONTENTS	
ÚVODNÍK	879	EDITORIAL	879
REFERÁTY		REVIEW ARTICLES	
Hrst vzpomínek na pana profesora Heyrovského a jeho polarografii	880	Pleasant Memory of Professor Heyrovský and His Polarography	880
R. Kalvoda		R. Kalvoda	
Kam směřují moderní elektroanalytické metody 50 let po udělení Nobelovy ceny za polarografii	889	Where Modern Electroanalytical Methods Verge Fifty Years after Nobel Prize for Polarography	889
J. Barek, K. Pecková a V. Vyskočil		J. Barek, K. Pecková, and V. Vyskočil	
Jaroslav Heyrovský a Jan (Johann) Böhm	894	Jaroslav Heyrovský and Johann Böhm	894
J. Jindra		J. Jindra	
50. výročí Nobelovy ceny za chemii – putovní výstava s názvem Příběh kapky	898	The Travelling Exhibition “The Story of a Drop”	898
K. Stejskalová		K. Stejskalová	
Jaroslav Heyrovský – 50. výročí udělení Nobelovy ceny za chemii	900	Jaroslav Heyrovský – 50th Anniversary of the Nobel Prize Award	900
L. Pospíšil a M. Hromadová		L. Pospíšil and M. Hromadová	
Styren a styren-7,8-oxid: metabolismus a analytické metody stanovení aduktů s proteiny	902	Styrene and Styrene Oxide: Their Metabolism and Analytical Methods for Determination of Their Adducts with Proteins	902
M. Jágr, V. Pacáková a M. Petříček		M. Jágr, V. Pacáková, and M. Petříček	
LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY		LABORATORY EQUIPMENT AND METHODS	
Compaction mechanism of intermediate-sized DNA elucidated by fluorescence lifetime correlation spectroscopy	911	Compaction mechanism of intermediate-sized DNA elucidated by fluorescence lifetime correlation spectroscopy	911
J. Humpolíčková, A. Benda, L. Beranová a M. Hof		J. Humpolíčková, A. Benda, L. Beranová, and M. Hof	
Stanovení koncentrace osteokrinu v séru novou metodou ELISA	915	Determination of the Serum Osteocrin Concentration by a New ELISA Method	915
D. Stejskal, M. Švesták, H. Kotolová, M. Karpíšek, K. Adamcová, L. Sporová a P. Hejduk		D. Stejskal, M. Švesták, H. Kotolová, M. Karpíšek, K. Adamcová, L. Sporová, and P. Hejduk	
Rychlé elektroforetické stanovení močové kyseliny v allantické tekutině s dávkováním z krátkého konce kapiláry	919	Fast Electrophoretic Determination of Uric Acid in Allantoic Fluid with Injection from the Short End of the Capillary	919
P. Tůma a E. Samcová		P. Tůma and E. Samcová	
Kopolymérna síra ako vulkanizačné činidlo pre nenasytené kaučuky	924	Sulfur Copolymers as Vulcanizing Agents for Unsaturated Rubber	924
M. Olšovský, P. Gášek, S. Lalíková, T. Bazyláková a V. Macho		M. Olšovský, P. Gášek, S. Lalíková, T. Bazyláková, and V. Macho	
Použití jednoduché a postupné extrakce ke zhodnocení chování zinku v kompostech a v půdě	931	A Simple Sequential Extraction Procedure for Evaluation of Zinc Behavior in Composts and Soil	931
A. Hanč, P. Tlustoš, J. Száková a J. Habart		A. Hanč, P. Tlustoš, J. Száková, and J. Habart	
DISKUSE	935	DISCUSSION	935
ERRATA	935	ERRATA	935
LIBLICE 2009	937	LIBLICE	937

CHEMICKÉ LISTY • ročník/volume 103 (2009), čís./no. 11 • LISTY CHEMICKÉ, roč./vol. 133, ČASOPIS PRO PRŮMYSL CHEMICKÝ, roč./vol. 119 • 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 Praha, 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. Bělohlav, P. Drašar, J. Hetflejš, P. Holý, J. Horák, P. Chuchvalec, J. Podešva, P. Rauch, J. Volke; Bulletin: I. Valterová; Webové stránky: R. Liboska, P. Zámstný • ZAHRANIČNÍ A OBLASTNÍ REDAKTOŘI/ FOREIGN AND REGIONAL EDITORS: F. Švec (USA), L. Opletal (Hradec Králové), P. Tarkowski (Olomouc), Z. Kolská (Ústí nad Labem) • KONZULTANT/ CONSULTANT: J. Kahovec • VÝKONNÁ REDAKTORKA/EDITORIAL ASSISTANT: R. Řápková • REDAKČNÍ RADA/ADVISORY BOARD: E. Borsig, M. Černá, L. Červený, E. Dibuszová, J. Haníka, 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: chem.spol@csvts.cz, chem.ekonom@csvts.cz • PLNÁ VERZE NA INTERNETU/FULL VERSION ON URL: <http://www.chemicke-listy.cz> • TISK: Rodomax s.r.o., Rezecká 1164, 549 01 Nové Město nad Metují; SAZBA, ZLOM: ČSCH, Chemické listy • Copyright © 2009 Chemické listy/Česká společnost chemická • Cena výtisku 170 Kč, roční plně předplatné 2009 (12 čísel) 1730 Kč, individuální členské předplatné pro členy ČSCH 865 Kč. Roční předplatné ve Slovenské republice 92 EUR (doručování via SCHS), individuální členské předplatné pro členy ČSCH 70 EUR (doručování via SCHS), 258 EUR (individuální doručování), ceny jsou uvedeny včetně DPH • DISTRIBUTION ABROAD: KUBÓN & SAGNER, POB 34 01 08, D-80328 Munich, FRG; Annual subscription for 2008 (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 • Molekulární námět na obálce: D. Hnyk • Dáno do tisku 4.11.2009.