

Nebraňme (se) objevům aneb náhoda přeje připraveným

V minulém měsíci uplynulo 103 let od narození a 18 let od úmrtí vynikajícího chemika Charlese J. Pedersena, nositele Nobelovy ceny za chemii. Tento článek není připomenutím jeho přínosu pro organickou a supramolekulární chemii, ač by si to tento objevitel crown-etherů jistě zasloužil. Příklad jeho objevu zde slouží k úvaze o tom, co vše je třeba k tomu, aby bylo možno k podobnému významnému výsledku dospět.

Mnoho lidí řekne o svém kolegovi, který se stal objevitelem, že měl pouze štěstí. Je v tom ale trocha hořké závislosti. V jednom diskusním televizním pořadu Karla Šípa s našimi čelnými vědci přišla řeč na objev penicilinu, který moderátor v popularizační nadsázce shrnul konstatováním, že k němu stačilo Alexandru Flemingovi udržovat mírný nepořádek v laboratoři, aby mu kultury pěkně zplsnivěly. I když realita byla jiná, z uvedeného příkladu vyplývá, že o vzniku objevu rozhoduje často náhoda a že objev je zpravidla bočním produktem jiného (do té doby hlavního) výzkumného zaměření.

O štěstí si, jak v životě, tak i ve vědě, do značné míry rozhoduje každý sám. Každá výzkumná práce přináší mnoho nečekaných podnětů. O vzniku objevu pak rozhoduje nejen odborná úroveň a připravenost iniciátora, ale i jeho vnímavost a až zanícení, s kterými je schopen rozpoznat zajímavost a důležitost takové šťastné přihrávky přírody a dovést ji ve finále až k formulaci objevu. Přesně tyto vlastnosti dovedly Charlese J. Pedersena k jeho objevu.

*Cesta k Nobelově ceně za objev crown-etherů začala v roce 1961, když Ch. J. Pedersen (již jako významný výzkumný pracovník firmy Du Pont) se v projektu stabilizace polyolefinů začal zabývat ligandy pro vanadylové ionty. Ve snaze připravit otevřený pentadentátní ligand nechal reagovat monochráněný pyrokatechol (obsahující malou příměs nesubstituovaného pyrokatecholu) s bis(2-chlorethyl)-etherem v *tert*-butylalkoholu za přítomnosti hydroxidu sodného jako báze. Při zpracování nevábného hnědého pryskyřičnatého produktu izoloval v zanedbatelném množství (0,4 %) bílou krystalickou látku, kterou ovšem jako nepodstatnou nezhodil. Naopak ji důkladně analyzoval, správně odvodil její polyetherovou makrocyclickou strukturu dibenzo-18-crownu-6 pocházející z reakce nesubstituovaného pyrokatecholu, rozpoznal její zvláštní schopnost komplexovat sodné kationty a pochopil i templátový efekt*

těchto iontů při makrocyclické reakci. Uvědomil si důležitost těchto zjištění a prosadil si u oddělení elastomerů firmy Du Pont podporu pro další mnohaletý výzkum v tomto směru, za jehož výsledky nakonec obdržel v roce 1987 Nobelovou cenou za chemii (spolu s Donaldem J. Cramem a Jean-Marie Lehmem).

A nyní si pravdivě zhodnotíme, jak sami nakládáme s takovými nečekanými podněty. Obecně špatně, protože je vesměs pomíjíme. Jen malá část podnětů totiž zasluhuje hlubší pozornost a to je těžké rozpoznat. V lepším případě odložíme vyhodnocení překvapivého pokusu, až budeme mít čas. Ale čas stále není, takže na uschovanou baňku padá prach a nakonec i tato připomínka dojde ke zkáze při generálním úklidu. Vážné je, že k ignorování objevných příležitostí dochází také proto, že všichni jsme zapojeni v termínovaných výzkumných projektech, ve kterých jsme se zavázali pracovat na sto i více procent, takže bychom se neměli zabývat ničím s projektem přímo nesouvisejícím. Dokonce jsme povinni zajistit, aby ani nejmenší část adresně přidělených finančních prostředků nebyla spotřebována mimo příslušný projekt. Nechci nabádat k hospodářské nekázní konstatováním, že kontrola financování výzkumu tak ostře vyhrocená není a že rozpoznání důležitosti podnětu nemusí být finančně náročné. Následně lze na základě i elementárních zjištění získat pro další výzkum finanční prostředky, například formulováním nového grantového projektu, což bez vstupních poznatků není možné.

Společnost očekává od vědců objevné výsledky, i když je nemůže předem finanční podporou iniciovat. Abychom toto očekávání naplnili, nesmíme si nechat nasadit plánování a termínování výzkumu klapky na oči a chovat se jako jednoúčelově naprogramované stroje. Vědečtí a výzkumní pracovníci by si měli zachovat svou vnímavost a flexibilitu, i když se tyto vlastnosti jen zřídka promítají do osobních hodnocení. K tomu je dobré navíc připomenout Pedersenovu důslednost, s kterou šel za novým poznáním. Věda je jako řeka a tak příležitosti, které se nám k objevům naskytou, se již nejspíše nezopakují. Snažme se je proto sami využít a také nedusit nadšení z nových podnětů a elán do jejich zkoumání u studentů a mladých kolegů. Přesně to chtěl vyjádřit titul této úvahy.

Petr Holý

β-GLUKANY, HISTORIE A SOUČASNOST

MIROSLAV NOVÁK

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

Došlo 16.1.07, přijato 15.5.07.

Klíčová slova: polysacharidy, β-glukan, imunomodulátory, houby, buněčná stěna, makrofágy, receptory, aktivace makrofágů

Obsah

1. Úvod
2. Historie
3. Zdroje a struktura β-glukanů
4. Mechanismus účinku
5. Nežádoucí účinky
6. Možné alternativy dalšího výzkumu
7. Závěr

1. Úvod

β-Glukan je chemické označení polymeru β-glukosy; takových polymerů, lišících se polohou glykosidové vazby je známo více (příkladem je celulóza – (1→4)-β-D-glukan). Následující údaje se budou týkat homopolymerů glukosy s lineární molekulou obsahující (1→3)-β-D-glykosidové vazby, případně s větvenou molekulou, obsahující navíc ještě postranní řetězce, vázané (1→6)-β-D-glykosidovými vazbami. Ačkoliv jde o chemicky dosti heterogenní skupinu, obvykle se tyto polysacharidy označují společným názvem β-glukany. Je třeba zdůraznit, že jde o označení celé řady podobných látek, které sice vyvolávají v makroorganismu – byť s rozdílnou intenzitou – podobné nebo téměř identické imunitní reakce, ale jsou různého původu, mohou se lišit primární, sekundární i terciární strukturou a některými dalšími vlastnostmi, především rozpustností ve vodě, v alkáliích za chladu a za tepla atd. Z toho vyplývají četné diskrepance, které lze nalézt v pracích různých autorů; tento fakt je třeba mít stále na mysli. Několik zdrojů β-glukanů je uvedeno v tabulce I.

Významnou vlastností β-glukanů a důvodem, proč jim je věnováno tolik pozornosti, jsou jejich fyziologické účinky. β-Glukany patří do skupiny fyziologicky účinných látek, které se souborně označují jako modifikátory biolo-

gické odpovědi (biological response modifiers, BRMs). Modifikátory biologické odpovědi lze podle mechanismu účinku dělit v zásadě na dvě skupiny – cytokiny, které zprostředkovávají komunikaci mezi buňkami imunitního systému a regulaci, a imunomodulátory, ovlivňující funkci imunitního systému, buď pozitivně (imunopotenciace) nebo negativně (imunosuprese). Imunomodulátorů je známa celá řada a je možné je zhruba rozdělit do několika skupin^{1,2}:

1. intaktní mikroby, např. tzv. bacil Calmettův a Guérinův (BCG), a složky mikrobiálních buněk, např. endotoxin gramnegativních mikroorganismů (lipopolysacharid, LPS), muramyl-dipeptid (MDP), fungální polysacharidy, polynukleotidy, bestatin;
2. přirozené složky normálního imunitního systému, např. thymové hormony, lymfokiny, monokiny;
3. syntetické látky, např. levamisol, isoprinosin, diethyl-dithiokarbamat.

Mezi mnoha dosud známými a vyzkoušenými imunomodulátory prvé skupiny zaujímají významné místo polysacharidy izolované z různých rostlinných druhů. Takovýchto polysacharidů, vesměs fungujících imunopotenciačně, existuje velké množství³; do této skupiny náleží i β-glukany.

2. Historie

Již někdy od počátku osmnáctého století bylo známo, že některá infekční onemocnění vykazovala určitý terapeutický efekt na maligní bujení. Cílené použití takovéto terapie se datuje zhruba od poloviny devatenáctého století, kdy Busch⁴ prováděl pokusy o léčbu sarkomu infekcí erysipelu, tedy β-hemolytickými streptokoky skupiny A. Tyto léčebné postupy opakoval koncem devatenáctého století Coley⁵, který nakonec přešel od infikování pacientů kulturami bakterií k bezpečnějším extraktům z jejich kultur, konkrétně z kultury *Bacillus prodigiosus* (nyní *Serratia marcescens*); je to své doby známý Coleyův toxin (který byl později určen jako interleukin IL-12, cit.⁶). V bakteriologii bylo totiž známo již dávno, že některé složky mikroorganismů způsobují v těle vyšších organismů, především savců, prudké reakce, analogické patofyziologickým stavům při infekci intaktními mikroby. V tomto směru Coley ale nemá prvenství. Pravděpodobně první takto zkoumanou látkou byly endotoxiny (lipopolysacharidy, LPS) gramnegativních bakterií (jako jsou *Escherichia coli*, rody *Salmonella*, *Shigella*, *Pseudomonas*, *Neisseria*, *Haemophilus* a další); o LPS byla publikována zmínka před více než 140 lety⁷. Lipopolysacharidy jsou komplexní sloučeniny, skládající se z lipidické složky (lipid A), obsahující C12 a C14 mastné kyseliny, navázané glykosidovými vazbami na jádrový polysacharid, který je spojen s výrazně imunogenním O-antigenem proměnlivého složení, tvořeným

Tabulka I
Některé β -glukany s imunomodulačním účinkem

Název	Zdroj	Charakter polymeru
Curdlan	<i>Alcaligenes faecalis</i>	lineární
Laminaran	<i>Laminaria sp.</i>	lineární
Pachyman	<i>Poria cocos</i>	větvený
Lentinan	<i>Lentinus edodes</i>	větvený
Pleuran (HA-glucan)	<i>Pleurotus ostreatus</i>	větvený
Schizophyllan	<i>Schizophyllum commune</i>	větvený
Sclerotinan (SSG)	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	větvený
Scleroglucan	<i>Sclerotium glaucanicum, S. rolfsii</i>	větvený
Grifolan	<i>Grifola frondosa</i>	větvený
T-4-N, T-5-N	<i>Dictyophora indusiata</i>	větvený
Yeast glucan	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	větvený

opakujícími se oligosacharidovými jednotkami. U člověka a experimentálních zvířat LPS vyvolávají zvýšenou fagocytosu, která může mít pro hostitele protektivní efekt, ale toxické účinky (horečka, průjem, hypotenze šok, intravaskulární koagulace, mnohočetná orgánová selhání) zcela převažují. Principem toxicity LPS je jeho lipidická část, zatímco polysacharidová složka, s převažujícím obsahem glukosy, galaktosy a mannosy⁸, je netoxická a má výrazné imunomodulační vlastnosti. Je patrné, že i samotné polysacharidy mohou fungovat jako imunomodulátory, přičemž jejich toxicita je nepatrná.

Tabulka II
Začlenění mikrobiálních polysacharidů v historii imunomodulátorů

Rok	
1865	endotoxin (LPS)
1894	erysipelové toxiny, <i>B. prodigiosus</i>
1936	mykobakteriální adjuvancia (BCG)
1941	zymosan
1943	polysacharid ze <i>S. marcescens</i>
1963	<i>Corynebacterium parvum</i>
1964	thymové hormony
1967	picibanil (OK-432)
1968	kvasničný glukán
1969	lentinan
1967	dvojvláknové polynukleotidy
1970	tuftsin
1971	levamisol
1975	MDP

Vlastní historie použití polysacharidů jako imunomodulátorů sahá do čtyřicátých let minulého století, kdy Shear se spolupracovníky⁹ popsal látku – opět z kultury *Serratia marcescens* – která způsobovala nekrozu tumorů. Později tato látka (tzv. Shearův polysacharid) byla identifikována jako směs tří polysacharidů, obsahujících hlavní řetězec z D-glukosových a D-mannosových zbytků vázaných (1→3) glykosidovými vazbami¹⁰.

Postupně byly hledány další polysacharidové imunomodulátory pocházející z různých zdrojů a tak se objevily na scéně β -glukany. Počátky výzkumu β -glukanů spadají do šedesátých a sedmdesátých let minulého století. V historii β -glukanů lze vystopovat dvě linie, vycházející z odlišných východisek, ale postupně konvergující: první probíhala především v USA a také v Evropě, druhá v Asii, především v Japonsku. Výzkum β -glukanů v euroamerickém prostředí vycházel z poznatků o imunomodulačním účinku zymosanu, což je směs polysacharidů, izolovaná ze stěn kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*. Zymosan byl připraven a zkoumán nejprve Pillemerem ve čtyřicátých letech minulého století¹¹; od té doby byl použit v řadě fyziologických a imunologických studií. Jde o potentní stimulátor především alveolárních makrofágů, který mj. indukuje uvolňování řady cytokinů, především IL-8, z lidských neutrofilů. Ačkoliv zymosan byl schopen stimulovat nespecifickou imunitní odpověď, nebylo zpočátku jasné, která složka této poněkud hrubé kompozice je za tuto stimulaci odpovědná. Při hlubším zkoumání zymosanu byl jako primární účinná složka identifikován právě β -glukan, který byl izolován a zkoumán jeho imunomodulační účinek. Pionýrské práce v tomto směru provedl Nicholas R. DiLuzio^{12,13} z Tulane University v New Orleans.

V Japonsku k β -glukanu dospěli poněkud odlišným způsobem. V asijské medicíně má velmi dlouhou tradici konzumace různých léčivých hub (shiitake, maitake, reishi ad.). Podrobným zkoumáním biologických efektů, zejména antikancerogenních účinků těchto hub byl opět jako hlavní příčina nespecifické imunomodulace zjištěn β -glukan. Po-

čátky tohoto výzkumu jsou spojeny se jménem Goro Chiha-ry z Teikyo University v Kawasaki, který izoloval β -glukan, nazvaný jím lentinan, z houby shiitake (*Lentinus* (nyní *Lentinula edodes*)¹⁴.

Všechny dostatečně purifikované polysacharidové imunomodulátory se vyznačují velmi nízkou toxicitou (např. u lentinanu je pro myš $LD_{50} > 1600 \text{ mg kg}^{-1}$, cit.¹⁵). Časové začlenění β -glukanů v historii rozličných imunomodulátorů je uvedeno v tabulce II.

Výzkum chemického složení β -glukanů má rovněž dlouhou, i když nikoliv přímočarou historii. Složení stěn různých mikrobiálních producentů β -glukanu, především kvasinek, bylo zkoumáno již v devatenáctém století. Van Wisselingh¹⁶ již v roce 1898 publikoval názor, že v buněčné stěně hub může převažovat buď chitin nebo celulóza.

Na příkladu β -glukanu ze stěn *Saccharomyces cerevisiae* je možné ilustrovat, jak obtížné bylo v první polovině minulého století exaktní stanovení chemické struktury. V padesátých a šedesátých letech minulého století byl β -glukan, izolovaný ze stěn *Saccharomyces cerevisiae* podroben zkoumání s využitím tehdy běžného aparátu analýzy sacharidů, tj. parciální kyselý hydrolyzy, enzymové hydrolyzy, methylační analýzy, jodistanové oxidace, Smithovy degradace (tj. jodistanové oxidace, redukce NaBH_4 a parciální hydrolyzy) ad., zpočátku ovšem se značně diskrepantními výsledky^{17,18}. Teprve zjištění, že ve stěně kvasinek se může vyskytovat několik různých typů β -glukanu¹⁹, vedlo k detailní frakcionaci komponent stěn sacharomycet a k chemické charakterizaci nalezených složek²⁰ a ustálil se názor, že hlavní složkou β -glukanu ze stěn sacharo-

mycet je mírně větvený (1 \rightarrow 3)- β -D-glukan s vysokou molekulární hmotností (DP kolem 1500, molekulová hmotnost ca 240 kDa), s obsahem kolem 3 % větvení β -(1 \rightarrow 6); je to běžný partikulární „kvasničný β -glukan“.

Značná heterogenita všech přírodních β -glukanů, nejenom ze sacharomycet, ale i z různých dalších zdrojů, pochopitelně byla a dosud stále je příčinou řady vzájemně si odporujících závěrů. V nedávné době se tento problém začal řešit přípravou semisyntetických a syntetických sond, vhodných pro exaktní imunologický výzkum²¹.

3. Zdroje a struktura β -glukanů

V přírodě se β -glukany vyskytují v různých zdrojích, ovšem nejčastěji byly a jsou připravovány z buněčných stěn hub. β -Glukan se nalézá také v mořských řasách (lineární (1 \rightarrow 3)- β -D-glukan, laminaran z rodu *Laminaria sp.*)²², produkují jej i bakterie (curdlan z *Alcaligenes faecalis*)²³ a je obsažen rovněž v obilovinách; tam má poněkud odlišné složení než fungální (obsahuje ještě β -(1 \rightarrow 4) vázanou glukosu).

Taxonomicky se pojem „houby“ vyvíjel a řada organismů, dříve řazených mezi *Fungi*, je dnes zařazována do jiných říší; hovoříme-li dále o houbách, bude tento taxonomický delikt zmírněn uváděním tohoto slova v uvozovkách. Příklady složení stěnových polysacharidů u různých „hub“ jsou uvedeny v tabulce III, z níž je patrné, že významnými producenty β -glukanů jsou především askomycety, kam náležejí kvasinky a některé vláknité plísně,

Tabulka III
Složení stěnových polysacharidů některých „hub“

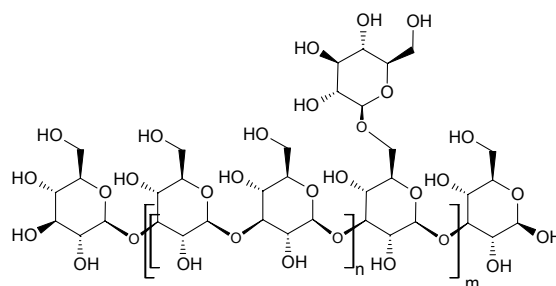
Říše	Třída	Příklad		Převažující stěnové polysacharidy vegetativních buněk
		řád	rod a druh	
Protista	<i>Acrosiomyces</i>	<i>Dictyosteliales</i>	<i>Dictyostelium discoideum</i>	celulóza – glykogen
	<i>Oomyces</i>	<i>Perenosporales</i>	<i>Plasmopara viticola</i> <i>Phytophthora infestans</i>	celulóza – β -glukan
Chromista	<i>Hyphochytridiomycetes</i>	<i>Hyphochytriales</i>	<i>Rhizidiomyces parasiticus</i>	celulóza – chitin
	<i>Zygomycetes</i>	<i>Mucorales</i>	<i>Mucor mucedo</i>	chitosan – chitin
	<i>Chytridiomycetes</i>	<i>Chytridiales</i>	<i>Blastocladiella emersonii</i>	chitin – β -glukan
	<i>Ascomycetes</i>	<i>Eurotiales</i>	<i>Aspergillus niger</i>	
	<i>Homobasidiomycetes</i>	<i>Agaricales</i>	<i>Agaricus bisporus</i> <i>Lentinula edodes</i> <i>Pleurotus ostreatus</i>	
Fungi		<i>Stereales</i>	<i>Grifola frondosa</i> <i>Schizophyllum commune</i>	
	<i>Hemiascomycetes</i>	<i>Saccharomycetales</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Schizosacch. octosporus</i>	mannan – β -glukan
	<i>Hypomyces</i>	<i>Sporobolomycetaceae</i>	<i>Sporobolomyces roseus</i>	mannan – chitin

a basidiomycety, kam mj. náleží většina makromycet, tedy hub – jedlých či nejedlých – v původním slova smyslu, ať již nalézáných v přírodě, nebo uměle pěstovaných.

Buněčná stěna tvoří podstatnou část hmotnosti fungálních buněk; u kvasinek je to mezi 15 až 25 %. Nejde o inertní strukturu, ale živou organelu, která plní řadu funkcí – mechanickou ochranu, zajištění osmotické stability, vazbu sloučenin, vzájemnou adhezi buněk apod. Buněčná stěna rovněž funguje jako nosič enzymů a selektivně permeabilní bariéra.

Výzkum buněčné stěny různých druhů „hub“ nevedl přímočaře k jasnému modelu její struktury a představy o jejím uspořádání prošly určitým vývojem. Buněčná stěna kvasinek podle Stratforda²⁴ připomíná armovaný beton – armaturu představují fibrily v alkáliích nerozpustného (1→3)-β-D-glukanu, tvořící kolem 35 % hmotnosti stěny, a výztuž je obklopena výplní mannoproteinů (kolem 25–35 % stěny), vázanou k ní amorfním β-glukanem a chitinem; podobně je konstruována buněčná stěna i dalších „hub“. V zásadě stejný model fungální stěny publikoval Selitrennikoff²⁵. V nedávné době publikoval Grün²⁶ model buněčné stěny askomycet a basidiomycet, podle něž se buněčná stěna většiny „hub“ skládá z pěti hlavních složek: (1→3)-β-D-glukanu, (1→6)-β-D-glukanu, (1→3)-α-D-glukanu, chitinu a glykoproteinů. (1→3)-α-D-Glukan chybí v kvasinkách (např. u *Saccharomyces cerevisiae* a *Candida albicans*), ale je nalézán u celé řady dalších příslušníků třídy *Ascomycetes* a *Basidiomycetes*, kde tvoří 9–46 % hmotnosti buněčné stěny. Chitin u sacharomycet je přítomen pouze v zárodečných jizvách.

I když se různé modely buněčné fungální stěny poněkud liší, shodují se v tom, že (1→3)-β-D-glukan neleží přímo na povrchu stěny, ale je do ní více méně vnořen. Z toho vyplývá významná skutečnost, týkající se jak imunologického výzkumu, tak farmaceutického využití β-glukanů. V makroorganismu β-glukany fungují především jako markery fungální invaze, tedy aktivita preparátů se vzhledem k lokalizaci β-glukanů bude zvyšovat se stupněm obnažení glukanových fibril; zde se projeví efektivnost různých způsobů izolace a purifikace.



Obr. 1. Obecná struktura větveného β-glukanu; hodnoty m a n závisí na původu β-glukanu; u lineárních β-glukanů postranní řetězec chybí

β-Glukany jakéhokoliv původu lze obecně dělit do dvou velkých skupin:

A. β-Glukany tvořící ve vodě gel („rozpuštěné“), které lze ještě dělit dále:

- vysokomolekulární větvené β-glukany (např. grifolan, schizophyllan, scleroglucan – viz tab. I);
- lineární β-glukany (např. laminaran z hnědých mořských řas);
- chemicky modifikované β-glukany (např. karboxymethylované, sulfonované či fosforylované β-glukany).

B. Partikulární („nerozpuštěné“) β-glukany (např. kvasničný glukan).

β-Glukany první skupiny jsou kromě toho obvykle kompletně rozpustné v alkáliích. V novější době byl vysloven předpoklad, že (alespoň u některých β-glukanů) rozpustnost nebo nerozpustnost v alkáliích je dána pouze rozsahem, v jakém jsou provázány s chitinem²⁷.

Názory na vztah struktury a biologické účinnosti prošly vývojem. Donedávna se předpokládalo, že biologicky účinné β-glukany mají podobnou strukturu – skládají se z hlavního řetězce z β-D-glukopyranosových jednotek spojených vazbou (1→3), na který je v náhodných místech navázáno vazbou (1→6) po jedné β-D-glukopyranose (obr. 1). Ovšem detailní struktura těchto polysacharidů z různých zdrojů se liší, podobně jako jejich biologická

Tabulka IV

Stupeň větvení (DB) u různých β-glukanů

β-Glukan	Zdroj	DB
Pachyman	<i>Poria cocos</i>	0,015–0,02
Kvasničný glukan	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0,03–0,2
Lentinan	<i>Lentinula edodes</i>	0,23–0,33
Pleuran	<i>Pleurotus ostreatus</i>	0,25
Grifolan	<i>Grifola frondosa</i>	0,31–0,36
Skleroglukan	<i>Sclerotium glaucanicum</i>	0,3
Schizophyllan	<i>Schizophyllum commune</i>	0,33
SOG	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	0,5

aktivita^{28–32}. Molární stupeň větvení (degree of branching, DB) některých β -glukanů je uveden v tabulce IV. V nativním β -glukanu se skládají fibrily z organizovaných částí, kdy hlavní řetězce jsou stočeny do trojitě šroubovice; tyto oblasti jsou kombinovány s jednoduchými nebo dvojitými vlákny z (1 \rightarrow 3)- β -D-glukopyranos^{33,34}. Trojnásobný helix, stabilizovaný postranními řetězci, se ovšem pravděpodobně vyskytuje pouze u β -glukanů s velkou molekulovou hmotností (>90 kDa)³⁵; tento konformer je tvořen vždy třemi vodíkovými vazbami v poloze C-2 (cit.³⁶). Vodíkové vazby lze přerušit zvýšenou teplotou, vysokým pH nebo určitými rozpouštědly.

V otázkách vztahu struktury, velikosti molekuly a biologické účinnosti se literární údaje dosti liší. Například antitumorová aktivita schizophyllanu se údajně projevuje pouze tehdy, vyskytuje-li se ve formě trojitěho helixu a při molekulové hmotnosti větší než 100 kDa (cit.³⁷). Obecně si lze ovšem představit, že trojnásobná helikální struktura pravděpodobně nebude jedinou účinnou formou β -glukanu, neboť působením alkalického prostředí, které se používá ve většině izolačních postupů, dochází k jejímu rozvolňování^{38–40}. Nejnovější náhledy rovněž nepotvrzují vžitě představy o nutnosti velké molekulové hmotnosti a větvení biologicky účinných β -glukanů – zdá se, že zřejmě nejsou nutnou podmínkou pro účinek β -glukanů. U antigenních polysacharidových determinantů již před třiceti lety zjistil Kabat⁴¹, že velikost vazebného místa na protilátce odpovídá šesti nebo sedmi monosacharidovým jednotkám. Zdá se, že i u β -glukanu velikost vazebného místa – tentokrát na receptoru imunokompetentní buňky, např. makrofágu – může zhruba odpovídat tomuto počtu glukosových zbytků^{21,42}.

4. Mechanismus účinku

Hlavní imunofarmakologické aktivity β -glukanů zahrnují zvýšení rezistence hostitele vůči virovým⁴³, bakteriálním^{35,44}, fungálním a parazitárním infekcím⁴⁵, protinádorový efekt a prevenci karcinogeneze^{46,47,78} a radioprotektivní účinky^{49–51}; v Japonsku se již využívá fungálních β -glukanů (lentinan, schizophyllan) při léčbě rakoviny klinicky⁵². Je známa protektivní role β -glukanů vůči genotoxickým účinkům některých protirakovinných léčiv (cyklofosfamid, adriamycin, cisplatina)^{53,54}. Kvasničný β -glukan je schopný absorbovat mykotoxiny (zearalenon, aflatoxin B1, deoxynivalenol, ochratoxin A, patulin), pravděpodobně prostřednictvím vodíkových můstků a van der Waalsových sil; tento efekt β -glukanů je významný zejména u hospodářských zvířat⁵⁵. V poslední době se rovněž prokázalo, že β -glukan může mít významný efekt při profylaxi následků použití biologických zbraní, především nákazy anthraxem⁵⁶. Významný je účinek obilovin (ječmen, oves) a jedlých hub (*Grifola frondosa*, *Lentinula edodes* a *Flammulina velutipes*⁵⁷; *Pleurotus ostreatus*⁵⁸; *Agaricus bisporus*⁵⁹), daný obsahem β -glukanů, na snižování hladiny

serového cholesterolu a jaterního lipoproteinu s nízkou hustotou (LDL), vedoucí ke snižování rizika aterosklerózy a onemocnění srdce. Je známo, že obilniny, houby a kvasinky podporují střevní motilitu a mohou být využity k zlepšení intestinálních potíží, zejména obstipace^{60,61}; nestravitelné β -glukany představující významnou složku těchto látek, mohou rovněž modulovat mukosální imunitu střevního traktu⁶². V centrálním nervovém systému β -glukany aktivují mikrogliové buňky⁶⁵; mikroglia hrají významnou úlohu při ochraně před onemocněním typu Alzheimerovy nemoci nebo AIDS⁶⁶.

Možné účinky β -glukanů v makroorganismu jsou tedy velmi rozmanité a zasahují nejen imunitní systém, pravděpodobně je však většina popsáných účinků určitým způsobem s funkcí imunitního systému více či méně spojená. Nejvýrazněji se účinek β -glukanů projevuje zvýšením fagocytární a proliferativní aktivity profesionálních fagocytů. Mezi tyto buňky náleží neutrofilní granulocyty, monocyty, makrofágy a dendritické buňky. V projevech biologické aktivity β -glukanů se nejvíce uplatňují makrofágy^{14,63,64}, které jsou považovány za základní výkonné buňky v obraně hostitele proti bakteriím, prvokům, virům, vícebuněčným parazitům, nádorovým buňkám a chybným vlastním buněčným klonům.

Makrofágy jsou součástí nespecifického (vrozeného, neadaptivního), evolučně staršího imunitního systému, který kromě fagocytů, tj. buněk pohlcujících mikroorganismy, zahrnuje složitou soustavu sérových proteinů zvaných souhrnně komplement a celou řadu dalších rozpustných rozpoznávacích a efektorových molekul⁶⁷. Vrozená imunita je založena na neklonových receptorech (pattern recognition receptors, PRRs, znaky rozpoznávající receptory), které rozeznávají určité molekuly na povrchu invadujícího mikroorganismu, souhrnně označované jako molekulární znaky asociované s patogeny (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs); navzdory názvu nejsou unikátní pouze pro patogeny, pro přežití a patogenitu daného organismu jsou ovšem zásadní. PAMPs se odlišují od molekul hostitele, nepodléhají antigenní proměnlivosti, jsou evolučně vysoce konzervované a invariantní u všech mikroorganismů určité třídy. Náleží k nim mj. různé biopolymery, tedy i β -glukany, které – jak bylo zmíněno výše – jsou obligátní složkou povrchu většiny „hub“.

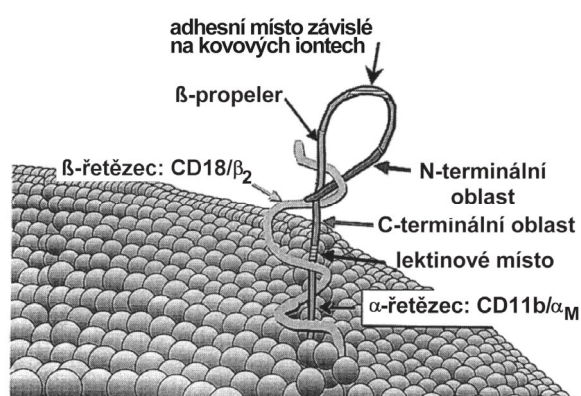
Makrofágy detegují PAMPs prostřednictvím celé řady receptorů. K rozpoznávání β -glukanu mají makrofágy k dispozici několik receptorů: TLR-2 (toll-like receptor 2), dectin-1, CR3 (complement receptor 3), laktosylceramid a pravděpodobně i další. Receptory nejsou ovšem příliš specifické a detegují obvykle několik různých PAMPs.

Toll-like receptory (TLRs) byly objeveny relativně nedávno, ačkoliv jde o možná nejdůležitější receptorové molekuly neadaptivní složky imunitního systému. Jsou to typické znaky rozpoznávající receptory (PRRs), které se váží s molekulárními znaky asociovanými s patogeny (PAMPs); u obratlovců napomáhají aktivaci adaptivního

Tabulka V

Příklady makrofágových receptorů a odpovídajících molekulárních znaků asociovaných s patogeny (PAMPs)

Charakter receptoru	Receptor	Primární PAMP
Transmembránové proteiny	CR3	iC3b opsonizované částice, LPS, β -glukan, <i>Candida albicans</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i>
	dectin-1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , β -glukan, <i>C. albicans</i> , <i>Pneumocystis carinii</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i>
	TLR-2	bakteriální lipoproteiny, LPS, zymosan, β -glukan
Glykosfingolipid	laktosylceramid	β -glukan, <i>C. neoformans</i> , <i>C. albicans</i> , <i>Helicobacter pylori</i>
Glykoproteiny	scavengerové receptory	<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>M. tuberculosis</i> , <i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Streptococcus spp.</i> , <i>H. pylori</i> , LPS, bakteriální DNA

Obr. 2. Schematické znázornění receptoru CR3 (podle⁴⁷); β -glukan se váže na lektinové místo

imunitního systému⁶⁹. TLRs odvozuji své jméno od sekvenční homologie s proteinem, kódovaným genem Toll nalezeným u mušek rodu *Drosophilla*, kde hraje roli při embryogenezi a, jak bylo později nalezeno, u dospělců napomáhá ochraně před fungální infekcí^{70,71}. TLRs jsou transmembránové proteiny s extracelulárními repetitivními sekvencemi bohatými na leucin; dosud je jich známo asi 10, přičemž β -glukan (ale i zymosan, intaktní kvasinky, LPS a další) se váže především na TLR-2 (cit.^{72,73}).

Dectin-1 je lektin nalézající se na povrchu makrofágů, který se speciálně účastní detekce a fagocytózy fungálních patogenů; v určitých případech spolupracuje s TLR-2. Je to rovněž transmembránový protein a plní řadu funkcí, zahrnujících vazbu fungálního PAMP, pohlcení a usmrcení invadujících buněk a indukci tvorby cytokinů a chemokinů.

Komplementový receptor 3 (CR3, také označovaný jako integrin CD11b/CD18, α M β 2 a MAC1) je jedním

z nejvíce promiskuitních PR receptorů. Rozpoznává totiž kromě komplementových komponent celou řadu dalších ligandů, mezi nimi i β -glukan. Receptor CR3 se skládá z několika domén, rozpoznávání sacharidů zprostředkovává lektinová doména⁴⁷ (obr. 2). Pokud dojde k současné vazbě fragmentu komplementu iC3b, spouští navázání β -glukanu fagocytosu a degranulaci.

Laktosylceramid (také označovaný CDw17 nebo Gal β 4Glc β 1Cer) je glykosfingolipidový PRR, který se nalézá v plasmatické membráně. Rozpoznávání β -glukanu zprostředkované laktosylceramidem vyvolává různé buněčné odpovědi, včetně produkce cytokinů a respiračního vzplanutí⁷⁴. Příklady makrofágových receptorů a odpovídajících PAMPs jsou uvedeny v tabulce V.

Navázání β -glukanu na receptor makrofágy aktivuje. Aktivace zahrnuje několik souvisejících pochodů:

- zvýšený pohyb (chemokinesi) makrofágů,
- směrově orientovaný pohyb (chemotaxi), migraci makrofágů k částicím, které mají být fagocytovány,
- degranulaci vedoucí ke zvýšené expresi adhesivních molekul na povrchu makrofágů, k podpoře adheze k endoteliu, a k migraci makrofágů do tkání,
- intracelulární procesy, charakterizované oxidativním (respiračním) vzplanutím po fagocytose invadující buňky (tvorba cytotoxických reaktivních kyslíkatých intermediátů a volných radikálů (peroxid vodíku, hydroxylový radikál, superoxidový radikál, NO, HClO, HIO ad.)), zvýšením obsahu a aktivity hydrolytických a metabolických enzymů,
- signalizační procesy, které vedou k aktivaci dalších fagocytů a sekreci cytokinů a jiných látek vyvolávajících zánětlivé reakce (např. interleukiny IL-1, IL-6, tumor nekrotizující faktor TNF- α).

Pro farmakologický efekt β -glukanu je důležité, že účinek aktivovaných makrofágů nesměřuje pouze proti aktivátoru, ale také proti jakémukoliv přítomnému antigenu, mikroorganismu nebo nádorové buňce. Vzhledem k tomu,

že savci postrádají ve své enzymové výbavě β -glukanasy, představují současně makrofágy pravděpodobně jediný nástroj likvidace β -glukanu v těle; fagocytovaný β -glukan je v nich degradován oxidativní cestou⁶⁸.

5. Nežádoucí účinky

Převažující imunofarmakologický účinek β -glukanů je pozitivní, nelze však přehlédnout ani určité nepříznivé vedlejší účinky, které tyto látky mají. V současné době je popsáno poměrně málo nežádoucích efektů β -glukanů, nicméně lze předpokládat, že s postupujícím prohlubováním znalostí o širokospektrých účincích těchto látek se tato oblast bude rozšiřovat.

Intramuskulárně podávaný partikulární β -glukan působí v místě vpichu zánětlivou reakci a tvorbu granulomů, a především je tento způsob aplikace značně bolestivý⁸⁷.

Samotný fakt, že β -glukan je příčinou vzniku zánětlivé reakce, sebou přináší určité nebezpečí. Fyziologický zánět probíhá v rozsahu i tempu odpovídajícím vyvolávající noxe, tedy přítomnosti β -glukanu. Pokud však působení noxy přetrvává – a to vzhledem k obtížné odbouratelnosti β -glukanu je možné – může dojít k patologickému zánětu s nadměrným tkáňovým poškozením, s přechodem do chronicity, poruchami imunoregulace a rozvojem imunopatologického (např. autoimunitního) procesu. Nejzávažnější hrozbu představuje generalizace zánětlivých dějů s rozvojem šoku a fatálním multiorgánovým selháním (multiple organ dysfunction syndrome, MODS); takový případ byl popsán u zymosanů⁷⁵.

Dvoječetná je funkce oxidu dusnatého. Oxid dusnatý, „molekula roku 1992“, za objev jehož fyziologických účinků byla v roce 1998 udělena Nobelova cena za fyziologii a lékařství, je v makrofázích produkovan inducibilní syntasou oxidu dusnatého (iNOS); její syntéza je spouštěna navázáním β -glukanu na PRR. Produkovaný oxid dusnatý působí cytotoxicky na nádorové buňky^{76,77} a má výrazný antimikrobní účinek na řadu patogenů^{78,79}, na druhé straně ale působí poškození tkání a DNA⁸⁰ a ve vysokých koncentracích může působit septický šok: přetrvávající působení aktivátoru indukuje expresi iNOS a zvýšená tvorba NO, která má likvidovat infekci, působí vasodilatačně na cévy, čímž dochází k silnému poklesu cévního odporu a tlaku krve⁸¹; u β -glukanu zatím takovýto efekt nebyl popsán, ale je představitelný.

Inhalace intaktních buněk nebo buněčného detritu plísní nebo kvasinek, což jsou součástí domácího prachu⁸² nebo různých zemědělských a průmyslových prachů⁸³, způsobuje tzv. syndrom toxického organického prachu (TODS), který je charakterizovaný plicními reakcemi, včetně zánětu plic, kašle a chronické bronchitidy⁸⁴, dále rhinitidou, bolestmi hlavy a drážděním očí a krku⁸⁵. Podstatou těchto potíží je β -glukan, který prostřednictvím aktivace makrofágů, monocytů a leukocytů působí zvýšenou sekrecí prozánětlivých složek (mj. TNF- α a IL-8).

Vzhledem k tomu, že aplikace β -glukanů v lidském

těle vyvolává prozánětlivé pochody, lze předpokládat, že může dojít ke kompetitivní interakci s protizánětlivými léčivy. Skutečně byl popsán letální efekt, způsobený deregulací cytokinového systému, u myši, kterým byl podáván β -glukan (Sonifilan) a indometacin⁸⁶, nesteroidní protizánětlivé léčivo (NSAID).

6. Možné alternativy dalšího výzkumu

Přírodní původ z různých zdrojů, polymerní charakter, způsoby izolace, nerozpustnost nebo omezená rozpustnost preparátů, jejichž frakcionace je pak nereálná, to vše vede k tomu, že každý preparát β -glukanu, zejména partikulárního, je nutně heterogenní. I když v řadě případů heterogenita β -glukanu z hlediska velikosti molekuly, větvení a krystalické nebo amorfní struktury zásadním způsobem nemění účinky β -glukanu *in vivo*, pro seriózní farmakologický výzkum i pro schvalovací řízení je to značnou komplikací. Není divu, že většina preparátů obsahujících β -glukan – aby se tyto komplikace obešly – je zařazena jako potravina pro zvláštní výživu nebo potravní doplněk. Tímto způsobem se ovšem na trh dostává nepřeberné množství různých výrobků, obsahujících větší či menší množství β -glukanu, mnohdy značně pochybného původu, s nejistým účinkem a klamavou reklamou.

Problém heterogenity a nestandardnosti různých přírodních β -glukanů na solidní výzkumné úrovni lze řešit různě. Především se naskytá možnost zdokonalování izolačních postupů k získání produktů s co možná úzce vymezeným chemickým složením, a využití moderních metod fyzikálně-chemické analýzy k jejich spolehlivé identifikaci. Další možností je příprava chemicky modifikovaných glukanů, které díky své značné rozpustnosti je možné poměrně úspěšně frakcionovat; u některých takovýchto produktů ale klesá biologická účinnost. V nedávné době se tento problém začal řešit přípravou semisyntetických a syntetických sond, vhodných pro exaktní imunologický výzkum²¹. Obecným řešením je navázání krátkých oligomerů glukosy obsahujících β -(1 \rightarrow 3) a β -(1 \rightarrow 6) vazby na polymerní nosič s definovanou velikostí a strukturou. Lze důvodně předpokládat, že takovýto „syntetický“ β -glukan bude interagovat s receptory imunokompetentních buněk a vyvolávat analogické reakce, jako β -glukan přirozený; z imunofarmakologického hlediska by jej mohl konečně zcela nahradit.

Všechny tyto kroky jsou vedeny snahou zajistit β -glukanům adekvátní pozici, která primárně vyplývá z jejich mohutných imunofarmakologických účinků, ale díky problémům zmíněným na počátku odstavce je někdy obtížně hájitelná.

7. Závěr

Mezi mnoha dosud známými a vyzkoušenými imunomodulátory zaujímají významné místo polysacharidy izo-

lované z různých přírodních zdrojů. Významnou skupinu těchto polysacharidů představují homopolymery glukosy, označované stručně jako β -glukany, s lineární molekulou obsahující (1 \rightarrow 3)- β -D-glykosidové vazby, případně s větvenou molekulou, obsahující ještě (1 \rightarrow 6)- β -D-glykosidové vazby. β -Glukany se staly na určitou dobu téměř módní záležitostí, k čemuž jistě přispěla jejich významná vlastnost – nízká až zanedbatelná toxicita, což se o řadě dalších imunomodulátorů nedá tvrdit. Byl testován jejich účinek na nejrůznější onemocnění – infekce, choroby z ozáření a především na neoplastické bujení. Pozůstatkem těchto pionýrských let je záplava různých potravních doplňků a „alternativních“ léčiv, nabízených obvykle chabě poučenými neodborníky. Samozřejmě, že po určité době vlna nadšení opadla a β -glukany byly naopak řadou odborníků vystaveny – mnohdy neoprávněné – kritice. Důvodem byly především málo definované preparáty, a nespecifický a příliš komplexní účinek. V prvotním nadšení byly přezírány i možné nežádoucí účinky β -glukanů. Zhruba v posledním desetiletí dospěl výzkum β -glukanů na renomovaných pracovištích do stadia, kdy jsou známy základní mechanismy jejich účinku, a souvislosti mezi strukturou a účinkem dostávají jasné obrysy. β -Glukanům se tak reálně rýsují ty možnosti, které jim byly dávány do vínku při jejich debutu před téměř půlstoletím. Značnou pozornost věnuje příbuzné problematice i tento časopis^{87,88}.

Práce na této publikaci byla financována z grantu GA ČR 521/07/J039 a 525/05/0273.

LITERATURA

- Werner G. H., v knize: *Immunostimulants: Now and Tomorrows*, s. 3. Japan Sci. Soc. Press 1987.
- Franěk J., Nouza K.: *Vesmír* 67, 89 (1988).
- Whistler R. L., Bushway A. A., Singh P. P., Nakahara W., Tokuzen R.: *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* 32, 235 (1976).
- Busch W.: *Berl. Klin. Wochenschr.* 5, 137 (1868).
- Coley W. B.: *Am. J. Med. Sci.* 108, 50 (1894).
- Tsunga K., Norton J. A.: *Surgic. Oncol.* 15, 25 (2006).
- Billroth T.: *Arch. Klin. Chir.* 6, 372 (1865).
- Nowotny A.: *Bact. Rev.* 33, 72 (1969).
- Shear M. J., Turner F. C., Perrault A., Shovelton T.: *J. Natl. Cancer Inst.* 4, 81 (1943).
- Srivastava H. C., Adams G. A.: *Can. J. Chem.* 40, 1415 (1962).
- Pillemer L., Ecker E. E.: *J. Biol. Chem.* 137, 139 (1941).
- DiLuzio N. R., Hoffmann E. O., Cook J. A., Browder W., Mansell P. W. A., v knize: *Progress in Cancer Research and Therapy*, s. 475. Raven Press 1977.
- Williams D. L., Al-Tuwajri A., DiLuzio N. R.: *Internat. J. Immunopharmacol.* 2, 189 (1980).
- Chihara G., Maeda Y. Y., Hamuro J., Sasaki T., Fukuo F.: *Nature* 222, 687 (1969).
- Chihara G., Maeda Y. Y., Hamuro J.: *Int. J. Tis. React. IV*, 207 (1982).
- van Wisselingh C.: *Jahrb. Wiss. Botan.* 31, 619 (1898).
- Manners D. J., Patterson J. C.: *Biochem. J.* 105, 19c (1966).
- Bell D. J., Northcote D. H.: *J. Chem. Soc.* 1950, 1944.
- Bacon J. S. D., Farmer V. S.: *Biochem. J.* 110, 34P (1968).
- Manners D. J., Masson A. J., Patterson J. C., Bjorndal H., Lindberg B.: *Biochem. J.* 135, 19 (1973).
- Jamois F., Ferrières V., Guégan J.-P., Yvin J.-C., Plusquellec D., Větvicka V.: *Glycobiol.* 15, 393 (2005).
- Black W. A. P., Cornhill W. J., Dewar E. T., Woodward F. N.: *J. Appl. Chem.* 1951, 505.
- Harada T., Misaki A., Saitô H.: *Arch. Biochem. Biophys.* 124, 292 (1968).
- Stratford M.: *Yeast* 10, 1741 (1994).
- Selitrennikoff C. P.: *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 2883 (2001).
- Grün Ch. H.: *Structure and Biosynthesis of Fungal α -Glucans*. Proefschrift Universiteit, Utrecht 2001.
- Brown J. L., Kossaczka Z., Jiang B., Bussey H.: *Genetics* 133, 837 (1993).
- Rees D. A., Scott W. E.: *J. Chem. Soc. (B)* 1971, 469.
- Wagner H., Stuppner H., Schafer W., Zenk M.: *Phytochem.* 27, 119 (1988).
- Jamas S., Easson D. D. Jr., Ostroff G. R., Onderdonk A. B.: *ACS Symp. Ser.* 1469, 44 (1991).
- Kraus J., Franz G.: *Adv. Exp. Med. Biol.* 319, 299 (1992).
- Bohn J. A., BeMiller J. N.: *Carbohydr. Polym.* 28, 3 (1995).
- Saitô H., Tabeta R., Yoshioka Y., Hara Ch., Kiho T., Ukai S.: *Bull. Chem. Soc. Japan* 60, 4267 (1987).
- Ohno N., Adachi Y., Yadomae T.: *Chem. Pharmacol. Bull.* 36, 1198 (1988).
- Saitô H., Ohki T., Takasuka N., Sasaki T.: *Carbohydr. Res.* 58, 293 (1977).
- Chuah C. T., Sarko Y., Deslandes Y., Marchessault R. H.: *Macromol.* 16, 375 (1983).
- Kojima T., Tabata K., Itoh W., Yanaki T.: *Agr. Biol. Chem.* 50, 231 (1986).
- Young S.-H., Jacobs R. R.: *Carbohydr. Res.* 310, 91 (1998).
- Saitô H., Yoshioka Y., Uehara N., Aketagawa J., Tanaka S., Shibata Y.: *Carbohydr. Res.* 217, 181 (1991).
- Miura N. N., Ohno N., Adachi Y., Aketagawa J., Tamura H., Tanaka S., Yadomae T.: *Biol. Pharmacol. Bull.* 18, 185 (1995).
- Kabat E. A.: *Structural Concepts in Immunology and Immunochemistry*, kap. 2. Holt, Rinehart a Winston, New York 1976.
- Větvicka V., osobní sdělení.
- Song M., DiLuzio N. R., v knize: *Lysosomes in Biology and Pathology*, (Dingle J. T., Jacques P. J., Shaw I. B., ed.), s. 533. Elsevier, Amsterdam 1979.

44. Hetland G., Lovik M., Wiker H. G.: *Scand. J. Immunol.* **47**, 548 (1998).
45. Goldman R., Jaffe C. L.: *Parasite Immunol.* **13**, 137 (1991).
46. Sherwood E. R., Williams D. L., DiLuzio N. R.: *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.* **8**, 157 (1986).
47. Ross G. D., Větvička V., Yan J., Xia Y., Větvičková J.: *Immunopharmacol.* **42**, 61 (1999).
48. Williams D. L., Sherwood E. R., McNamee R. B., Jones E. L., DiLuzio N. R.: *Hepatology* **5**, 198 (1985).
49. Patchen M. L., MacVittie T. J.: *Int. J. Immunopharmacol.* **7**, 923 (1985).
50. Patchen M. L., MacVittie T. J.: *J. Biol. Respon. Mod.* **5**, 45 (1986).
51. Baker W. H., Nold J. B., Patchen M. L., Jackson W. E.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **201**, 180 (1992).
52. Kaneko Y., Chihara G., Taguchi T.: *Int. J. Immunother.* **4**, 203 (1989).
53. Tohamya A. A., El-Ghor A. A., El-Nahas S. M., Noshay M. M.: *Mutat. Res.* **541**, 45 (2003).
54. Chorvatovičová D., Navarová D.: *Mutat. Res.* **282**, 147 (1992).
55. Yiannikouris A., André G., Poughon L., François J., Dussap C.-G., Jeminet G., Bertin G., Jouany J.-P.: *Biomacromol.* **7**, 1147 (2006).
56. Větvička V., Terayama K., Mandeville R., Brousseau P., Kournikakis B., Ostroff G.: *J. Am. Nutraceut. Assoc.* **5**, 1 (2002).
57. Fukushima M., Ohashi T., Fujiwara Y., Sonoyama K., Nakano M.: *Exp. Biol. Med. (Maywood)* **226**, 758 (2001).
58. Bobek P., Ozdin L., Kuniak L.: *Nahrung* **40**, 222 (1996).
59. Fukushima M., Nakano M., Morii Y. T., Fujiwara Y., Sonoyama K.: *J. Nutr.* **130**, 2151 (2000).
60. Dongowski G., Huth M., Gebhardt E., Flamme W.: *J. Nutr.* **132**, 3704 (2002).
61. Battilana P., Ornstein K.: *Eur. J. Clin. Nutr.* **55**, 327 (2001).
62. Tsukada C., Yokoyama H., Miyaji C., Ishimoto Y., Kawamura H., Abo T.: *Cell. Immunol.* **221**, 1 (2003).
63. DiLuzio N. R.: *Trends Pharmacol. Sci.* **4**, 344 (1983).
64. Quinn P. J.: *Adv. Veter. Sci. Comp. Med.* **35**, 43 (1990).
65. Muller C. D., Bocchini V., Giaimis J., Guerrieri P., Lombard Y., Poindron P.: *Res. Immunol.* **145**, 267 (1994).
66. Haga S., Akai K., Ishii T.: *Acta Neuropathol.* **77**, 569 (1989).
67. Hořejší V., Bartůňková J.: *Základy imunologie*, 2. vydání, s. 158. Triton 2002.
68. Nono I., Ohno N., Masuda A., Oikawa S., Yadomae T.: *J. Pharmacobiol. Dyn.* **14**, 9 (1991).
69. Imler J.-L., Zheng L.: *J. Leukoc. Biol.* **74**, 1 (2003).
70. Lemaitre B., Nicolas E., Michaut L., Reichhart J. M., Hoffmann J. A.: *Cell* **86**, 973 (1996).
71. Bilak H., Tauszig-Delamasure S., Imler J.-L.: *Biochem. Soc. Trans.* **31**, 648 (2003).
72. Underhill D. M., Ozinsky A., Hajjar A. M., Stevens A., Wilson C. B., Bassetti M., Aderem A.: *Nature* **401**, 811 (1999).
73. Hořejší J.: *Vesmír* **83**, 134 (2004).
74. Brown G. D.: *Nat. Rev. Immunol.* **6**, 33 (2006).
75. Tanriverdi P., Yuksel B. C., Rasa K., Guler G., Iskit A. B., Guc M. O., Korkmaz A.: *J. Surgic. Res.* **124**, 67 (2005).
76. Hibbs J. B. Jr., Taintor R. R., Vavrin Z.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **157**, 87 (1988).
77. Stuehr D. J., Nathan C. F.: *J. Exp. Med.* **169**, 1543 (1989).
78. Granger D. L., Hibbs J. B. Jr., Perfect J. A.: *J. Clin. Invest.* **81**, 1129 (1988).
79. James S., Claven J.: *J. Immunol.* **143**, 4208 (1989).
80. Billar T. R.: *Ann. Surg.* **221**, 339 (1995).
81. Vincent J. L., Zhang H., Szabo C., Preiser J.-C.: *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **161**, 1781 (2000).
82. Beijer L., Thorn J., Rylander R.: *Mediators Inflamm.* **11**, 149 (2002).
83. Rylander R., Thorn J., Attefors R.: *Eur. Respir. J.* **13**, 1151 (1999).
84. Sato M., Sano H.: *J. Immunol.* **171**, 417 (2003).
85. Alwis K. U., Mandryk J., Hocking A. D.: *Appl. Occupat. Environment Hyg.* **14**, 598 (1999).
86. Yoshioka S., Ohno N., Miura T., Adachi Y., Yadomae T.: *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* **21**, 171 (1998).
87. Zajoncová L., Šebela M.: *Chem. Listy* **101**, 36 (2007).
88. Mazáň M., Mazáňová K., Farkaš V.: *Chem. Listy* **100**, 433 (2006).

M. Novák (*Department of Carbohydrate Chemistry and Technology, Institute of Chemical Technology, Prague, Czech Republic*): **β -Glucan, Its History and Present**

β -Glucan, a naturally occurring polysaccharide, is found mostly in the cell wall of fungi. In macroorganisms it acts as a potent biological response modulator. Its history began in the sixties of the last century, when it was found as a main component of zymosan as well as of extracts from medicinal Asian mushrooms. The review itemizes sources, structure, mechanisms of biological effects and adverse reactions of β -glucan and proposes alternatives of the future research.

POTENCIÁL MODIFIKOVANÝCH NANOČÁSTIC V ANALYTICKÉ CHEMII

PAVEL ŘEZANKA, KAMIL ZÁRUBA
a VLADIMÍR KRÁL

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

Došlo 15.1.07, přepracováno 24.4.07, přijato 21.6.07.

Klíčová slova: analytické aplikace, modifikované nanočástice, nanosenzory, nanoseparace, plasmonová rezonance

Obsah

1. Úvod
 - 1.1. Historie
 - 1.2. Příprava nanočástic
2. Aplikace nanočástic
 - 2.1. Elektrochemické metody
 - 2.2. Spektrometrické metody
 - 2.3. Separáční metody
 - 2.4. Ostatní metody
3. Závěr

1. Úvod

Metody přípravy a chemické modifikace nanočástic (objektů o rozměrech 1–200 nm), jsou v současnosti intenzivně rozvíjeny a využívány. Těmito postupy, které kombinují poznatky z chemie, fyziky nebo biologie, lze řídit tvar a velikost připravovaných nanočástic a dosahovat tak ojedinělých optických, elektronických a katalytických vlastností připravených materiálů^{1–5}.

Protože v současné době byla již publikována řada prací využívajících systémů s nanočásticemi i v analytické chemii, je cílem tohoto článku upozornit na současný stav v této expandující oblasti elektroanalytických, spektroskopických i separačních metod.

1.1. Historie

První zmínky o nanočásticích pocházejí z pátého nebo čtvrtého století př. n. l. z Egypta a Číny. Tehdy bylo objeveno „rozpuštěné zlato“, které bylo používáno jak pro estetické (výroba rubínového skla, barvení keramiky), tak pro léčivé účely (srdeční a sexuální problémy, úplavice, epilepsie a nádory a pro diagnózu syfilis).

V roce 1857 Faraday oznámil získání koloidního zlata redukcí vodného roztoku tetrachlorozlatitanu. Termín koloid (z francouzského *colle*) byl vytvořen Grahamem v roce 1861. V tomto období byly také připraveny další koloidní kovy.

Na rozkvět si ale tato oblast nanotechnologie, která je pokračováním koloidní chemie, musela počkat ještě jedno století. Z té doby pochází výrok laureáta Nobelovy ceny Richarda Feynmana „There is plenty of room at the bottom“, kterým navrhl směr pro rychle se rozvíjející vědeckou oblast nanotechnologie. Koncem 20. století už uměli vědci manipulovat s atomy, molekulami a klastry na površích. Miniaturizace struktur konvenční a elektronovou litografií dosahuje teoretického limitu kolem 50 nm. Pro další miniaturizaci musely být vyvinuty alternativní metody. A tak vědci následující Feynmanovu vizi použili atomy a molekuly jako stavební jednotky pro kompletaci struktur v řádech nanometrů „zdola nahoru“. Unikátní elektrické vlastnosti těchto nanočástic^{6,7}, stejně jako jejich optické a fotofyzikální vlastnosti, jako je velikostí kontrolovaná plasmonová absorpce, elektronová generace páru elektron-díra a fluorescence, umožňují částicím předávat elektronické a fotonové signály.

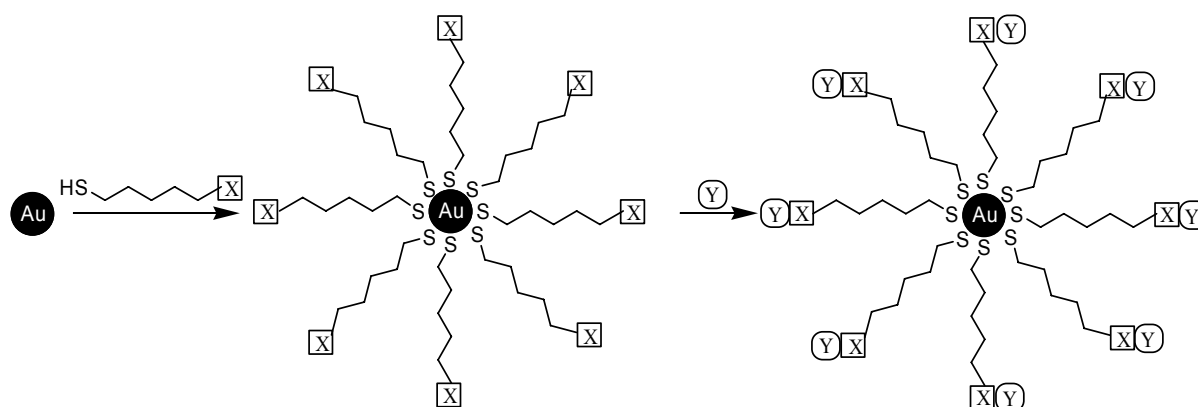
1.2. Příprava nanočástic

Již při přípravě vlastních nanočástic je třeba uvážit jejich další aplikaci. Nanočástice mohou být připraveny různými metodami a lze tak dosáhnout požadovaných velikostí a tvarů a tím i požadovaných chemických a fyzikálních vlastností. Mezi nejrozšířenější typy patří nanočástice kovů (např. zlata, stříbra), nanočástice oxidů (křemičitého, titaničitého), sulfidů (kadmenného), selenidů (kadmenného) a polymerní nanočástice (kopolymery, dendrimery).

Chemická metoda přípravy nanočástic kovů je založena na nukleaci a růstu tuhé fáze. Tento proces je nejčastěji vyvolán chemickou redukcí solí kovů. Ke kontrole růstu nanočástic a k jejich ochraně před agregací je používáno velké množství stabilizátorů, např. donorové ligandy (např. thioly) nebo polymery. První reprodukovatelný standardní návod pro přípravu koloidů kovů publikoval Turkevitch⁸, který také navrhl mechanismus pro tvorbu nanočástic založený na nukleaci, růstu a agregaci a je stále platný.

Redukce solí přechodných kovů v roztoku je nejvíce rozšířená metoda pro přípravu koloidních suspenzí kovů a je velmi jednoduše proveditelná. Umožňuje, aby byly v gramových množstvích připraveny koloidní nanočástice požadované velikosti s malou odchylkou. Za tímto účelem je používán široký rozsah redukčních činidel, např. hydridy (NaBH_4) a soli (citrát sodný)⁹.

Kromě přípravy nanočástic kovů lze získat i nanočástice jejich oxidů, sulfidů a selenidů, jejichž využití ale není



Obr. 1. Schéma modifikace povrchu nanočástice; X – funkční skupina, Y – látka mající funkční skupinu interagující s X

tak široké, jako v případě samotných kovů. Syntéza je většinou prováděna ve vodných roztocích, ve kterých se jako redukční činidlo používá hydrazin nebo hydroxylamin².

Polymerní nanočástice se většinou získávají řízenou polymerací ve vodě působením peroxidu vodíku, tepla nebo ultrazvuku¹⁰. Lze tak např. připravit kopolymery alginát sodný-chitosan a anthracen-polyakrylamid¹⁰.

Jak bylo uvedeno dříve, velikost částic a jejich distribuce zásadně ovlivňuje vlastnosti daných nanočástic. K metodám umožňujícím přístup k těmto informacím patří především metody elektronové mikroskopie¹¹ a metody studia povrchů – skenovací elektronová mikroskopie (SEM), mikroskopie atomárních sil (AFM), rentgenová fluorescenční spektroskopie (XFS), popř. spektroskopie povrchem zesíleného Ramanova rozptylu (SERS). Vedle těchto poměrně sofistikovaných metod lze v řadě případů získat dostačující informaci i např. metodou absorpční spektrometrie (UV-VIS spektrometrie) nebo elektrochemickými metodami.

Vzniklé nanočástice lze pro analytické účely použít přímo (nanočástice polymerů), ale většinou se provádí modifikace jejich povrchu (nanočástice kovů). Například u nanočástic zlata, které jsou velmi často používané, se modifikace provádí navázáním thiolem modifikovaných molekul, což vede k tvorbě kovalentních vazeb těchto molekul na nanočástice (obr. 1).

2. Použití nanočástic

Vedle základních prací demonstrujících všeobecné použití nanočástic, již existuje řada prací využívající nanočástice pro analytické účely. Analytické systémy s nanočásticemi totiž dosahují často lepších vlastností než systémy původní, ať už se jedná o možnost detekce nových analytů, snížení meze detekce a nebo zlepšení účinnosti separace.

2.1. Elektrochemické metody

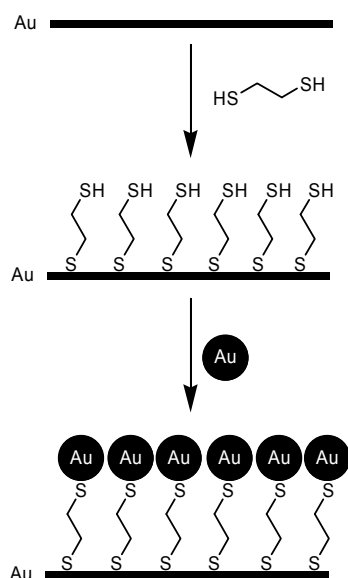
Mezi elektrochemické metody využívající modifikace povrchu elektrod nanočásticemi patří velmi často voltametrické metody. Používají se klasické elektrody, ale i mikroelektrody¹². Nanočástice byly ale také využity v potenciometrii např. pro přípravu iontově selektivní elektrody¹³, senzorického pole¹² a elektronického jazyku¹⁴. Imobilizace na povrchu elektrod se provádí buď fyzikální adsorpcí a nebo pomocí chemického navázání, kdy modifikované nanočástice reagují s povrchem elektrody, na jejímž povrchu je navázána vhodná látka. Obzvláště vhodné pro chemickou modifikaci jsou zlaté elektrody, na jejichž povrch se naváže dithiol přes jednu z SH skupin a na druhé SH skupiny se naváží nanočástice¹⁵ (obr. 2).

Jako příklad aplikace elektrod modifikovaných nanočásticemi, které umožnily snížit mez detekce o několik řádů, lze uvést stanovení As^{3+} diferenční anodickou rozpuštěcí voltametrií, pomocí níž bylo dosaženo detekčního limitu 0,09 ppb. Modifikace elektrody nanočásticemi zlata, na jejichž povrchu byl navázán poly(L-laktid), byla provedena cyklickou voltametrií. Získaná elektroda byla velice selektivní, takže vykazovala správnou odezvu i za přítomnosti dalších iontů o řádově vyšších koncentracích¹⁶.

Dalšími analyty detegovanými ve vodách byly např. dusičnany¹⁷, měďnaté ionty, pesticidy a herbicidy¹⁸. Elektroda citlivá na As^{3+} byla využita pro stanovení sulfidů v kyselých deštích¹⁹.

Pro stanovení těkavých organických látek bylo použito senzorové pole složené z pěti platinových elektrod modifikovaných různými nanočásticemi. Pro vyhodnocení byly použity neuronové sítě¹².

Další použití našly elektrody modifikované nanočásticemi ve farmacii, kde slouží ke stanovení léčiv¹³, a v lékařství pro analýzy biologických vzorků²⁰. Stanovovány byly např. hemoglobin, cytochrom c, glukosa a peroxid vodíku. Použité elektrody byly většinou biosenzory, v menší míře byly použity i chemické rozpoznávací systé-



Obr. 2. Schéma imobilizace nanočástic zlata na povrch modifikované zlaté elektrody

my. Za zmínku stojí i možnost detekce sekvencí DNA²¹, při které se využívají nanočástice s imobilizovaným oligonukleotidem. Výhodou je nízká mez detekce, takže odpadá nutnost použít PCR.

2.2.2. Spektrometrické metody

Jak bylo zmíněno v úvodu, spektrometrické metody patří mezi hlavní metody studia vlastností modifikovaných nanočástic, a proto i analytická stanovení těmito metodami patří mezi nejčtenější. Vlastnosti nanočástic, jako jsou jejich průměr, tvar, koncentrace a možnost interagovat s malými molekulami a biomolekulami, mají velký vliv na jejich optické vlastnosti.

Z pohledu přiměřené náročnosti přístrojového vybavení jsou využívány vedle již zmíněných metod absorpční spektrometrie (UV/VIS a IR) a spektroskopie povrchem zesíleného Ramanova rozptylu (SERS), také metody založené na rozptylu světla (rezonančním, dynamickém) a luminiscenční metody. Volba metody závisí především na vlastnostech použitých nanočástic. Typický experiment je založen na tvorbě směsi analytu (vzorku) a koloidu vytvořeného předem nebo *in situ*.

Absorpční spektrometrie

Schopnost kolektivních oscilací valenčních elektronů jednotlivých nanočástic určitých kovů vede k možnosti sledování tzv. plasmonové rezonance, jejímž důsledkem je intenzivní absorpční pás ve viditelné oblasti spektra²².

Toho bylo využito např. pro stanovení lithných iontů ve vodném prostředí. Chemická modifikace zlatých nanočástic thiolovým derivátem molekuly komplexující selektivně lithium umožnila použití tohoto systému ve vodném

prostředí, ve kterém samotný selektor není rozpustný²³. Změny absorpčního spektra ve viditelné oblasti umožnily stanovit koncentrace lithných iontů v přítomnosti Na⁺ a K⁺. Selektor na bázi cyklických etherů umožňuje stanovení ostatních alkalických iontů (sodných a draselných)²⁴.

Sledováním změn plasmonového absorpčního pásu nanočástic při biomolekulárních interakcích bylo v mnoha případech dosaženo velmi nízkých detekčních limitů (10^{-9} mol l⁻¹). Na nanočástice zlata byly navázány peptidy, enzymy nebo léčiva^{25,26}, popř. byly nanočásticemi značeny viry²⁵.

Závislost vlnové délky plasmonové absorpce na velikosti nanočástic a jejich agregátů byla využita v jednoduché metodě detegující olovnaté ionty, které svou přítomností rozrušují daný nanočásticový systém a mění tím jeho barvu, resp. absorpční spektrum²⁷. Na stejném principu je založena i detekce adenosinu²⁸.

Kovové nanočástice lze modifikovat i jinak než kovalentní vazbou. Příkladem může být nanočásticový systém reagující na glukosu, který byl připraven oxidací aminofenylboronového derivátu polyvinylalkoholu v přítomnosti zlatité soli²⁹.

Rozptylové techniky

Mezi nejčastější analytické metody využívající tohoto jevu patří povrchem zesílený Ramanův rozptyl (SERS) a rezonanční rozptyl laserového záření (RLS). Zatímco SERS vychází z posunu vlnových délek rozptýleného záření (Ramanův jev), který je mnohonásobně zesílený plasmonovou rezonancí, při rezonančním rozptylu světla k posunu vlnových délek nedochází, nicméně plasmonová rezonance funguje i zde (chová se jako chromofor) a opět zesiluje intenzitu rozptýleného záření³⁰.

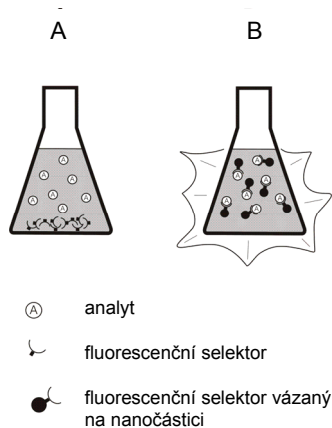
Tento princip umožnil např. identifikaci barviv odebráním nepatrného vzorku malby z malířského plátna³¹ nebo vypracování několika technik detekce biomarkerů určitých druhů rakoviny²⁰ a potenciálních léčiv³².

Luminiscenční techniky

Rada vhodně modifikovaných kovových nanočástic vykazuje po interakci s různými látkami výrazný nárůst intenzity fluorescence, zatímco emise fluorescence samotných nanočástic je obvykle velmi slabá. Vypracováno bylo několik systémů využívající komplexů lanthanoidů s různými ligandy a využity k detekci např. nukleových kyselin³³ a chinolonů^{30,33} (obr. 3).

Nanobiosenzor na detekci určitých sekvencí DNA byl připraven také modifikací nanočástic zlata oligonukleotidovým „roznávacím“ řetězcem zakončeným fluoroforem, který byl rovněž vázán na povrch nanočástice. V přítomnosti cílové sekvence DNA došlo v důsledku tvorby dvoušroubovice k uvolnění fluoroforu z povrchu nanočástice a k nárůstu fluorescence³⁴.

Mírně odlišným případem jsou nanokrystaly CdS nebo CdSe, které patří mezi tzv. kvantové tečky. Jedná se o nanostruktury o velikosti 2–10 nm s unikátními vlastnostmi ve smyslu kontroly jejich fyzikálních vlastností³⁵ (např. „laditelnost“ optických vlastností).



Obr. 3. Použití ve vodě nerozpustné fluorescenční značky pro stanovení analytu ve vodném prostředí; (A) použití fluorescenční značky bez imobilizace na nanočástice, (B) po imobilizaci na nanočástice

V současnosti kvantové tečky, které jsou rozpustné ve vodném prostředí a vykazují stabilní fotoluminiscenci, tvoří celou skupinu fluorescenčních značek pro mnoho biologických a bioanalytických aplikací.

Nanokrystaly (kvantové tečky) CdSe modifikované 11-merkaptoundekanovou kyselinou vykazují nárůst fluorescence v přítomnosti lysozymu, proteinu, který bývá označován jako vlastní antibiotikum lidského těla³⁶. Modifikací těchto nanokrystalů cysteinem bylo dosaženo biokompatibility, rozpustnosti ve vodě a možnosti stanovit rtuťnaté ionty díky interakci s NH_2 skupinou obsaženou v modifikovaných nanočásticích³⁷.

Jinou zajímavou skupinou jsou také polymerní nanočástice vykazující fluorescenci. Obvykle jsou tvořeny polymerizací vinylového nebo akrylového monomeru s navázaným fluoroforem (naftalen, anthracen, apod.). Sledování zhášení fluorescence určitými těžkými kovy bylo využito v řadě prací popisujících stanovení dvojmocné rtuti nebo šestimocného chromu¹⁰.

2.3. Separační metody

Požadavek rychlé a účinné analýzy chemických a biochemických vzorků vytváří stálý tlak na vývoj separačních metod, který se projevuje především miniaturizací jednotlivých klíčových prvků nebo celého separačního systému. Miniaturizace vede od zmenšování částic sorbentů, přes využití nanočástic až po technologii separací na čipu³⁸.

Vedle patrně nejrozšířenějších chromatografických technik (HPLC a GC) jsou poznatky z oblasti nanotechnologie aplikovány především v elektromigračních metodách – kapilární elektroforéze (CE) a kapilární elektrochromatografii (CEC). Modifikované nanočástice se zde používají jako aditivum do základního elektrolytu (CE), modifikátor vnitřní stěny kapiláry (CE nebo CEC) nebo jako separační médium (CEC). Především ze dvou důvodů se zdá využití

nanočástic velice perspektivní v CEC. Jde jednak o malý průměr částic, který umožňuje jejich plnění do používaných kapilár (publikována byla dokonce i práce kontinuálního „plnění“ kapiláry během analýzy³⁹, a jednak jejich povrchový náboj, který je velmi častý a který podporuje elektroosmotický tok).

„Lab-on-chip“ neboli laboratoř na čipu je koncept celkové miniaturizace rozvíjený od 80. let a vhodný opět především pro elektromigrační metody, u kterých je pohyb analytů separačním systémem způsoben pouze vloženým elektrickým napětím^{40,41}. Současné aplikace jsou založeny na komplementaritě bioafinitních interakcí (detekce DNA, analýza jejich fragmentů nebo analýza založená na interakci protilátka-antigen).

2.4. Ostatní metody

Kromě výše uvedených použití existují i další, např. nanočástice zlata byly použity pro stanovení aminioliů pomocí MALDI/MS (cit.⁴²), nanočástice imobilizované na hemoglobinu byly použity pro jeho stanovení metodou induktivního plazmatu spojeného s hmotnostní spektrometrií⁴³ (bylo dosaženo stejné meze detekce jako při použití metody založené na imunoreakci) a nebo byly nanočástice použity ke zlepšení imunochromatografických testovacích proužků⁴⁴.

3. Závěr

V současné době se začíná objevovat velké množství publikací zabývajících se aplikací modifikovaných nanočástic pro analytické účely. Je to dáno zejména zvládnutou technikou přípravy a modifikace nanočástic, což umožňuje nové přístupy v elektrochemických, spektroskopických a separačních metodách.

LITERATURA

- Bönnemann H., Richards R. M.: *Eur. J. Inorg. Chem.* 2001, 2455.
- Cushing B. L., Kolesnichenko V. L., O'Connor C. J.: *Chem. Rev.* 104, 3893 (2004).
- Daniel M.-C., Astruc D.: *Chem. Rev.* 104, 293 (2004).
- Katz E., Willner I.: *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 43, 6042 (2004).
- Shenhar R., Rotello V. M.: *Acc. Chem. Res.* 36, 549 (2005).
- Hicks J. F., Miles D. T., Murray R. W.: *J. Am. Chem. Soc.* 124, 13322 (2002).
- Chen S., Murray R. W.: *J. Phys. Chem., B* 103, 9996 (1999).
- Turkevitch J., Stevenson P. C., Hillier J.: *Discuss. Faraday Soc.* 11, 55 (1951).
- Yonezawa T., Onoue S., Kimizuka N.: *Langmuir* 16, 5218 (2000).
- Wang L., Xia T., Liu J., Wang L., Chen H., Dong L.,

- Bian G.: Spectrochim. Acta, Part A 62, 565 (2005).
11. Brust M., Fink J., Bethell D., Schiffrin D. J., Kiely C.: J. Chem. Soc., Chem. Commun. 1995, 1655.
 12. Shi X., Wang L., Kariuki N., Luo J., Zhong C.-J., Lu S.: Sens. Actuators, B 117, 65 (2006).
 13. Liu L., Wang L., Yin H., Li Y., He X.: Anal. Lett. 39, 879 (2006).
 14. Borato C. E., Leite F. L., Mattoso L. H. C., Goy R. C., Campana Filho S. P.: IEEE Trans. Dielectr. Electr. Insul 13, 1101 (2006).
 15. Wang L., Bai J., Huang P., Wang H., Zhang L., Zhao Y.: Electrochem. Commun. 8, 1035 (2006).
 16. Song Y.-S., Muthuraman G., Chen Y.-Z., Lin C.-C., Zen J.-M.: Electroanalysis 18, 1763 (2006).
 17. Welch C. M., Hyde M. E., Banks C. E., Compton R. G.: Anal. Sci. 21, 1421 (2005).
 18. Siswana M., Ozoemena K. I., Nyokong T.: Talanta 69, 1136 (2006).
 19. Song Y.-S., Muthuraman G., Zen J.-M.: Electrochem. Commun. 8, 1369 (2006).
 20. Seballos L., Zhang J. Z., Sutphen R.: Anal. Bioanal. Chem. 383, 763 (2005).
 21. Wang J.: Anal. Chim. Acta 500, 247 (2003).
 22. Kreibig U., Vollmer M.: *Optical Properties of Metal Clusters*. Springer-Verlag, Berlin 1995.
 23. Obare S. O., Hollowell R. E., Murphy C. J.: Langmuir 18, 10407 (2002).
 24. Lin S.-Y., Chen C., Lin M.-C., Hsu H.-F.: Anal. Chem. 77, 4821 (2005).
 25. Tkachenko A. G., Xie H., Coleman D., Glomm W., Ryan J., Anderson M. F., Franzen S., Feldheim D. L.: J. Am. Chem. Soc. 125, 4700 (2003).
 26. Hone D. C., Haines A. H., Russell D. A.: Langmuir 19, 7141 (2003).
 27. Lin S.-Y., Wu S.-H., Chen C.: Angew. Chem., Int. Ed. Engl. 45, 4948 (2006).
 28. Famulok M., Mayer G.: Nature 439, 666 (2006).
 29. Ma Y., Li N., Yang C., Yang X.: Colloids Surf., A 269, 1 (2005).
 30. Ding F., Zhao H., Jin L., Zheng D.: Anal. Chim. Acta 566, 136 (2006).
 31. Chen K., Vo-Dinh K.-C., Yan F., Wabuyele M. B., Vo-Dinh T.: Anal. Chim. Acta 569, 234 (2006).
 32. Liu S. P., Yang Z., Liu Z. F., Liu J. T., Shi Y.: Anal. Chim. Acta 572, 283 (2006).
 33. Huhtinen P., Vaarno J., Soukka T., Lövgren T., Härämä H.: Nanotechnology 15, 1708 (2004).
 34. Maxwell D. J., Taylor J. R., Nie S.: J. Am. Chem. Soc. 124, 9606 (2002).
 35. Vashist S. K., Tewari R., Bajpai R. P., Bharadwaj L. M., Raiteri R.: J. Nanotech. Online 2, 1 (2006).
 36. Zhong P., Yu Y., Wu J., Lai Y., Chen B., Long Z., Liang C.: Talanta 70, 902 (2006).
 37. Chen J., Gao Y., Xu Z., Wu G., Chen Y., Zhu C.: Anal. Chim. Acta 577, 77 (2006).
 38. Guihen E., Glennon J. D.: Anal. Lett. 36, 3309 (2003).
 39. Viberg P., Jornten-Karlsson M., Petersson P., Spégel P., Nilsson S.: Anal. Chem. 74, 4595 (2002).
 40. Pumera M., Wang J., Grushka E., Polsky R.: Anal. Chem. 73, 5625 (2001).
 41. Pumera M.: Talanta 66, 1048 (2005).
 42. Huang Y.-F., Chang H.-T.: Anal. Chem. 78, 1485 (2006).
 43. Zhang C., Zhang Z., Yu B., Shi J., Zhang X.: Anal. Chem. 74, 96 (2002).
 44. Tanaka R., Yuhi T., Nagatani N., Endo T., Kerman K., Takamura Y., Tamiya E.: Anal. Bioanal. Chem. 385, 1414 (2006).

P. Řezanka, K. Záruba, and V. Král (*Institute of Chemical Technology, Prague, Czech Republic*): **Application of Modified Nanoparticles in Analytical Chemistry**

A brief summary of applications of modified nanoparticles in analytical chemistry is presented. Electrochemical (voltammetric and potentiometric), spectral (absorption, fluorescence, and light scattering) and separation methods using nanoparticles are described. Modified nanoparticles are used to enhance selectivity, to decrease the limit of detection and in separation techniques.

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

RADEK CIBULKA^a, EVA SVOBODOVÁ^a,
BURKHARD KÖNIG^b, JIŘÍ LUDVÍK^c,
FRANTIŠEK HAMPL^a a FRANTIŠEK LIŠKA^{a,d}

^a Ústav organické chemie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6, ^b Ústav organické chemie, Universität Regensburg, Universitätsstr. 31, 93040 Regensburg (Německo), ^c Ústav fyzikální chemie Jaroslava Heyrovského AV ČR, v.v.i., Dolejškova 3, 182 23 Praha 8, ^d Katedra chemie a didaktiky chemie, Pedagogická fakulta UK, M. D. Rettigové 4, 116 39 Praha 1
cibulka@vscht.cz

Došlo 14.8.06, přepracováno 15.4.07, přijato 14.7.07.

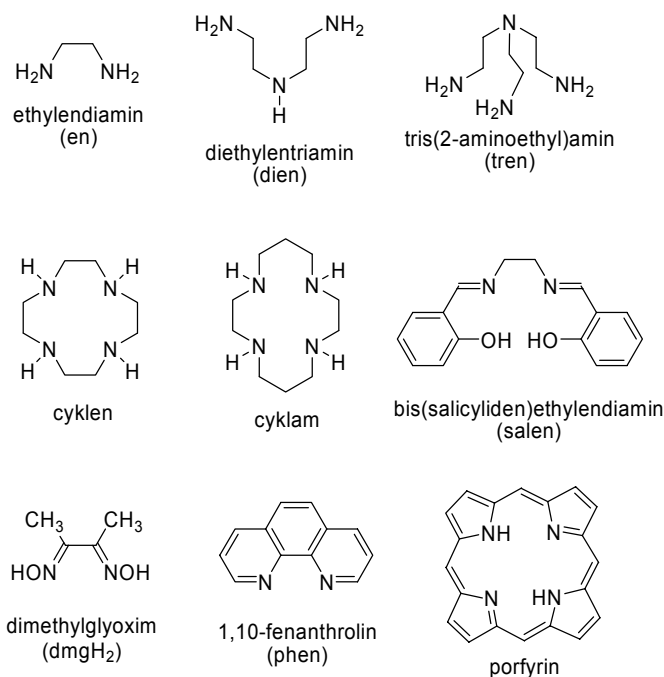
Klíčová slova: *N*-donorové ligandy, oximy, cyklen, přechodné kovy, hydrolytické katalyzátory, micelární katalýza, polarografie, kapalná membrána, transport iontů kovů, flavin, fotooxidace

Obsah

1. Úvod
2. Pyridinové oximy a jejich deriváty
 - 2.1. Hydrolytické katalyzátory na bázi komplexů pyridinových oximů
 - 2.2. Využití pyridinových oximů jako ligandů pro transport iontů kovů přes kapalnou membránu
3. Fotoaktivní systémy s cyklenovým vazebným místem
4. Závěr

1. Úvod

Jednu z největších skupin organických ligandů tvoří sloučeniny, které se koordinují k iontu kovu prostřednictvím atomu dusíku¹. Donorový atom dusíku je v ligandech (obr. 1) obsažen nejčastěji ve formě aminoskupiny (jako např. v amoniaku, ethylendiaminu, diethylentriaminu, tris(2-aminoethyl)aminu nebo v makrocyclických aminech, jako jsou cyklen, cyklam apod.), iminoskupiny (např. v bis(salicyliden)ethylendiaminu), (hydroxyimino) skupiny (např. v dimethylglyoximu známém jako Čugajevovo činidlo) nebo jako součást heterocyklu (např. v 2,2'-bipyridinu, 1,10-fenantrolinu nebo porfyrinech). Využití *N*-donorových ligandů zasahuje do různých odvětví che-



Obr. 1. Přehled různých typů *N*-donorových ligandů

mie²: využívají se jako analytická či extrakční činidla nebo jako stavební bloky v supramolekulární chemii, při konstrukci homogenních katalyzátorů a modelů metaloenzymů. Řada *N*-donorových ligandů se rovněž přímo zúčastňuje chemických dějů v organismech; mezi významné přírodní *N*-donorové ligandy patří některé aminokyseliny (např. histidin), porfyriny či báze nukleových kyselin. V této přehledné práci jsme se pokusili na příkladu námi studovaných *N*-donorových ligandů, tj. pyridinových oximů³ a derivátů cyklenu, ukázat možnosti jejich využití v homogenní katalýze, při extrakci iontů kovů a v enzymových modelech.

2. Pyridinové oximy a jejich deriváty

Asi nejčastěji studovanými ligandy ze skupiny pyridinových oximů jsou pyridin-2-karbaldoxim (*I*), fenyl (pyridin-2-yl)ketoxim (*II*) a methyl(pyridin-2-yl)ketoxim (*IIIa*), které jsou buď komerčně dostupné (*I* a *II*) nebo snadno připravitelné z dostupné karbonylové sloučeniny (v případě *IIIa*). Tyto bidentární ligandy a jejich deriváty tvoří s většinou iontů přechodných kovů cheláty (schéma 1), nejčastěji^{4–8} se stechiometrií $M : L = 1 : 1, 1 : 2$ a $1 : 3$ ($L =$ pyridinový oxim). Díky vysoké stabilitě některých komplexů byly pyridinové oximy studovány jako potenciální analytická činidla pro spektrofotometrické stanovení přechodných kovů ($M^{n+} = Fe^{2+}, Fe^{3+}, Ni^{2+}, Cu^{2+}, Pd^{2+}, Co^{2+}, Au^{3+}$). Mezi nově publikované aplikace patří využití palladiových komplexů pyridinových oximů ($M^{2+} = Pd^{2+}$) jako dostupných katalyzátorů Suzuki-Miyaurových reakcí halogenarenů s arylboronovými kyselinami^{9,10}. V naší skupině jsme se zabývali především využitím derivátů pyridinových oximů jako ligandů pro přípravu metalomicelárních hydrolytických katalyzátorů a studiem jejich využití k selektivním extrakcím iontů kovů z vodných roztoků do organických rozpouštědel.

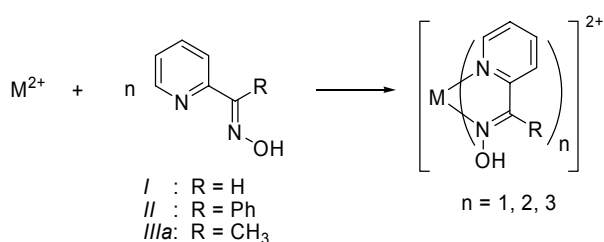


Schéma 1. Tvorba chelátů pyridinových oximů

2.1. Hydrolytické katalyzátory na bázi komplexů pyridinových oximů

V posledních třiceti letech byla navržena a testována celá řada komplexů iontů kovů s organickými ligandy jako základ systémů pro urychlení hydrolyzy esterů^{11–14}. Mechanismus jejich působení představuje analogii dějů probíhajících v hydrolytických metaloenzymech. Koordinací

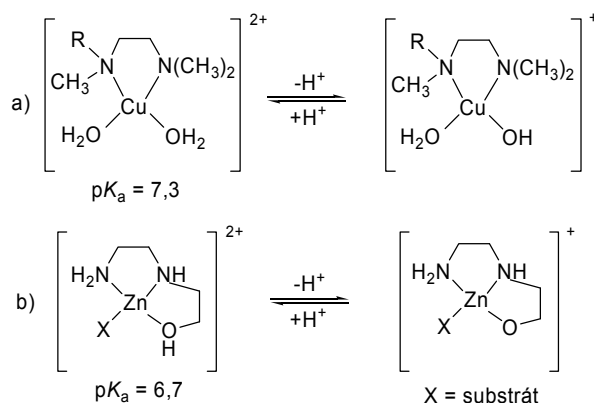


Schéma 2. Příklady aktivace nukleofilní skupiny koordinací

k iontu kovu se zvyšuje kyselost ionizovatelné skupiny, nejčastěji vody nebo hydroxyskupiny. Tím je i při fyziologickém pH zabezpečena dostatečná koncentrace deprotonované formy, která je nukleofilem atakujícím molekulu substrátu. Jako příklad může být uvedeno snížení pK_a molekuly vody koordinací k Cu^{2+} iontům v měďnatém komplexu ethylendiaminu¹⁵ (schéma 2a, R = CH₃), nebo zvýšení kyselosti hydroxyskupiny¹⁶ kovalentně vázané k ligandu (schéma 2b) v důsledku její koordinace k Zn^{2+} . Velká pozornost byla věnována také hydrolytickým katalyzátorům založeným na metalomicelárních systémech, které vznikají nejčastěji zabudováním lipofilního komplexu (viz schéma 2a, R = lipofilní alkyl¹⁷) do micely tenzidu, např. hexadecyltrimethylamonium-bromidu (CTAB). V těchto systémech se hydrolyza urychluje v porovnání s reakcemi v homogenním vodném roztoku díky tzv. micelární katalýze, která spočívá především ve zvýšení koncentrace obou reaktantů, lipofilního komplexu a lipofilního substrátu, v malém objemu micely¹⁸. Hlavními cíli studia metalokatalyzátorů je pochopení mechanismu hydrolyz katalyzovaných metaloenzymů a také potenciální praktické aplikace, např. účinná likvidace toxických fosfátů a fosfonátů, jako jsou např. bojové látky sarin, soman, VX nebo pesticid paraoxon.

Koordinací oximové skupiny k iontům kovů se rovněž snižuje její pK_a o několik řádů^{6,7,19}. Toto zvýšení kyselosti způsobuje, že při neutrálním pH se koordinovaná (hydroxyimino)skupina vyskytuje převážně ve své deprotonované formě, která je díky tzv. α -efektu²⁰ sousedního dusíkového atomu účinným nukleofilem schopným štěpit esterovou funkci. Zvýšení kyselosti (hydroxyimino) skupiny v důsledku její koordinace k iontu kovu (schéma 3a) představuje analogii aktivace oximové funkce účinkem elektronakceptorního substituentu, jako je tomu např. u kvarterních pyridinových aldoximů²⁰ (schéma 3b). Tyto sloučeniny, jako 2-[(hydroxyimino)methyl]-1-methylpyridinium-jodid (2-PAM), jsou schopné účinně štěpit fosfoesterové vazby, a proto se klinicky používají jako reaktivátory acetylcholinesterasy²¹ (AChE) inhibované fosfory-

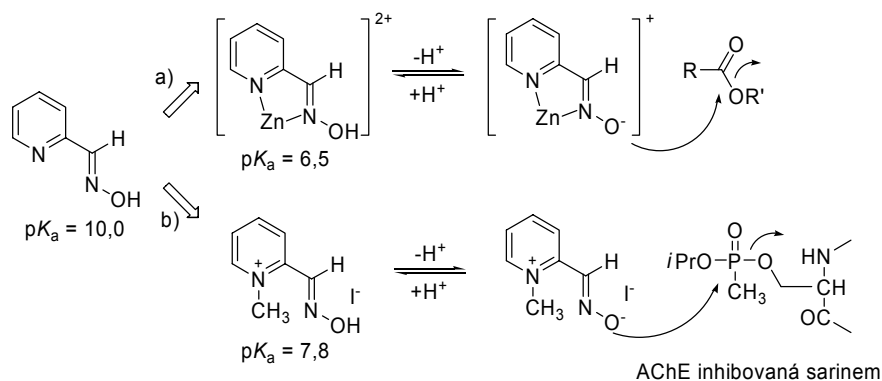


Schéma 3. Aktivace oximové skupiny pro atak esterové funkce; a) koordinací, b) přítomností elektronakceptorní skupiny

Tabulka I

Relativní rychlost štěpení^a 4-nitrofenyl-hexanoátu (PNPH) v přítomnosti ligandů *IIIe*, *IVd*, *Vb* a jejich komplexů s ionty kovů v micelách CTAB; $t=25\text{ }^{\circ}\text{C}$, pH 6,3

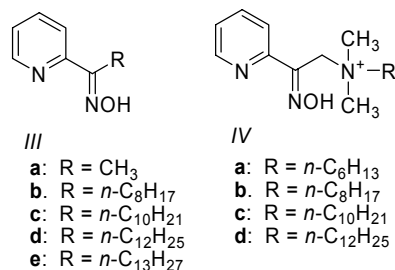
Ligand	M^{2+}				
	---	Co^{2+}	Ni^{2+}	Cu^{2+}	Zn^{2+}
<i>IIIe</i>	18	2	810	12	210
<i>IVd</i>	9300	240	600	120	8900
<i>Vb</i>	34	7	97	12	33

^a $c(\text{oxim}) = c(\text{M}^{2+}) = 4,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$, $c(\text{CTAB}) = 8,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol l}^{-1}$, $c(\text{PNPH}) = 2,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$, $k_0 = 3,75 \cdot 10^{-6} \text{ mol l}^{-1} \text{ s}^{-1}$ (rychlostní konstanta hydrolyzy PNPH v pufovaném roztoku CTAB)

lací či fosfonylací.

V naší laboratoři byla připravena série lipofilních alkyl(pyridin-2-yl)ketoximů *IIIb–IIIe*. Jejich komplexy s ionty přechodných kovů zabudované v micelách hexadecyltrimethylamonium-bromidu (CTAB) urychlovaly hydrolyzu 4-nitrofenyl-hexanoátu (PNPH) až o několik řádů v porovnání s reakcí v samotném CTAB²², jak je uvedeno v tabulce I na příkladu oximu *IIIe* (4-nitrofenylestery alkanových kyselin a kyseliny fosforečné jsou obvykle využívány při testování účinnosti hydrolytických katalyzátorů^{13,23}).

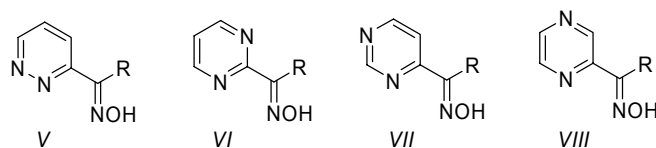
Limitujícím faktorem u lipofilních alkyl(pyridin-2-yl)ketoximů *IIIb–IIIe* je však jejich relativně nízká rozpustnost v micelách CTAB. Pro zvýšení rozpustnosti jsme proto do postranního řetězce alkyl(pyridin-2-yl)ketoximů zavedli kvarterní amoniovou skupinu. Vzniklé kvarterní amoniové soli *IV* reprezentují ligandové tenzidy, které jsou schopné při dostatečné délce alkylového řetězce ($R > \text{C}_{10}\text{H}_{21}$) tvořit samy micely a navíc díky zachovanému ligandovému seskupení koordinují ionty kovů²⁴. Při studiu



hydrolyzy PNPH v metalomicelárních systémech obsahujících komplexy ligandů *IV* jsme však překvapivě pozorovali snížení hydrolytické účinnosti oximů *IV* (viz např. tabulka I) účinkem koordinace k iontu kovu. Tento fakt lze vysvětlit protichůdnými důsledky koordinace na reaktivitu oximové skupiny. Koordinace sice zvyšuje kyselost oximové skupiny, a tím i koncentraci nukleofilního oximového iontu, na druhé straně však snižuje jeho nukleofilitu. Kyselost ketoximů *IV* je již dostatečně zvýšena přítomností kvarterní amoniové skupiny a koordinace k iontu kovu tak způsobuje především snižování jejich nukleofility²⁴.

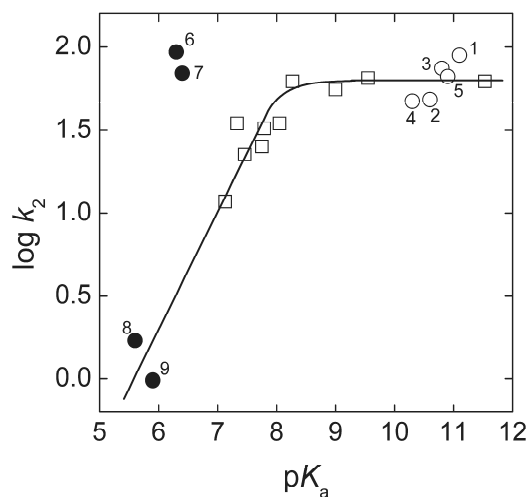
Problematika vlivu koordinace na reaktivitu oximové skupiny byla studována²⁵ u lipofilního dodecyl(pyridin-2-yl)ketoximu (*IIIa*) a série diazinových ketoximů *Vb–VIIIb*. Zavedení druhého dusíku do heteroaromatického kruhu představuje možnost jemného ladění koordinační schopnosti oximových ligandů a tudíž i hydrolytické účinnosti jejich komplexů. Micelární prostředí však komplikuje studium vlastností komplexů. Proto jsme zároveň studovali vztah struktury a reaktivity u komplexů nelipofilních homologů *Va–VIIIa* ($R = \text{CH}_3$), které lze pro jejich vyšší rozpustnost studovat rovněž v homogenním vodném prostředí²⁵.

Zjistili jsme, že jak hydrolytická účinnost hydrofilních ketoximů *IIIa* a *Va–VIIIa* v homogenních vodných roztocích, tak účinnost jejich lipofilních homologů v micelárním prostředí silně závisí na použitém ligandu i na iontu kovu. Zatímco Ni^{2+} a Zn^{2+} komplexy oximů *III*,



pro vzorce V - VIII : a: R = CH₃, b: R = *n*-C₁₂H₂₅

VI a VII urychlují hydrolyzu 4-nitrofenyl-alkanoátů o dva řády oproti reakci prováděné v samotném CTAB, účinnost ostatních komplexů je velmi nízká²⁵ (příklady viz tabulka I). Rozdíly v reaktivitě, někdy až řádové, však byly pozorovány rovněž mezi komplexy Ni²⁺ a Zn²⁺, zvláště pak v homogenním vodném prostředí. Dále jsme zjistili, že jak v řadě komplexů Ni²⁺, tak v sérii komplexů Zn²⁺ hraje nejdůležitější roli jejich stabilita²⁶. Překvapivě však zinečnaté komplexy vykazovaly řádově vyšší účinnost než komplexy nikelnaté, přestože jsou o 3–4 řády méně stabilní²⁶. Vysvětlení jsme našli při studiu protichůdných faktorů ovlivňujících reaktivitu koordinovaných oximů vůči esterům: kyselosti koordinované oximové skupiny a nukleofility její deprotonované formy, vyjádřené rychlostní konstantou druhého řádu reakce oximátu se substrátem. Jak koordinace k Zn²⁺ iontům, tak koordinace k Ni²⁺ iontům zvyšuje kyselost oximové skupiny natolik, že při neutrálním pH (pH při modelových reakcích) se vyskytuje prak-



Obr. 2. Bronstedův graf pro reakci oximátového iontu s 4-nitrofenyl-acetátem (PNPA) ve vodných roztocích o různém pH. Křivka znázorňuje závislost pro nekoordinované oximy; její tvar stejně tak jako body (prázdné čtverečky) jsou převzaty z literatury²⁰. Body vyznačené kroužky představují námi naměřená data. Jednotlivá čísla označují oximy (prázdné kroužky) či jejich komplexy (plné kroužky): IIIa (1), Va (2), VIa (3), VIIa (4), VIIIa (5), Zn²⁺-IIIa (6), Zn²⁺-VIa (7), Ni²⁺-IIIa (8), Ni²⁺-VIa (9)

ticky výhradně v deprotonované formě. Koordinace k Ni²⁺ iontům však snižuje nukleofilitu koordinovaného oximátu až o dva řády, zatímco u komplexů Zn²⁺ zůstává na úrovni nekoordinovaného oximátového iontu (obr. 2).

V prostředí kationických micel je však pozorovaná účinnost komplexů Zn²⁺ výrazně nižší v porovnání s homogenními vodnými roztoky, a to i přes příspěvek micelární katalýzy. Tato skutečnost je důsledkem nízké rovnovážné koncentrace komplexu vyplývající z jeho nižší stability v kationických micelách, kde se uplatňuje elektrostatické odpuzování mezi kladně nabitým iontem kovu a povrchem micely.

Nukleofilita oximátového iontu je dána elektronovou hustotou na (hydroxyimino)skupině. Obecně lze elektronovou hustotu jakékoliv skupiny kvantifikovat jejím redukčním potenciálem. Zabývali jsme se proto redukcí oximů a jejich komplexů na rtuťové kapkové elektrodě. Pyridinové a diazinové oximy se redukují v širokém intervalu pH čtyřelektronovým dějem na příslušný amin²⁷ (schéma 4). Jak se však redukují komplexy oximů? Obecně mohou komplexy při redukcí přijímat elektrony prostřednictvím iontu kovu nebo prostřednictvím ligandu²⁸. Při studiu mechanismu redukce komplexů oximů IIIa a Va–VIIIa s ionty Ni²⁺, Cu²⁺ a Zn²⁺ ve vodných roztocích pomocí *dc*-polarografie jsme pozorovali oba tyto mechanismy²⁹. Zatímco komplexy Ni²⁺ se redukují prostřednictvím oximové skupiny (podobně jako nekoordinovaný, protonovaný ligand), v Cu²⁺ komplexech se redukuje ion kovu. Komplexy Zn²⁺ nevykazovaly žádnou novou vlnu redukce komplexu (byly pozorovány pouze vlny redukce nekomplexovaného iontu kovu a volného ligandu), což je způsobeno jejich nízkou stabilitou²⁶. Vzhledem k odlišnému mechanismu redukce komplexů ketoximů IIIa a Va–VIIIa jsme nemohli provést přímou korelaci mezi změřenými redukčními potenciály a pozorovanou hydrolytickou aktivitou. U komplexů Ni²⁺ jsme využili *dc*-polarografie pro studium komplexačních rovnováh ve vodných roztocích²⁶.

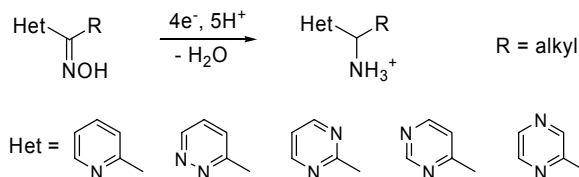


Schéma 4. Elektrochemická redukce pyridinových a diazinových oximů na rtuťové elektrodě

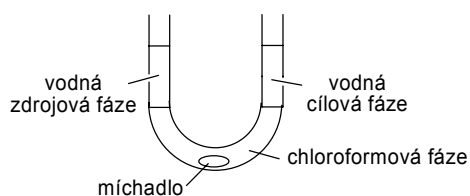
2.2. Využití pyridinových oximů jako ligandů pro transport iontů kovů přes kapalnou membránu

Studium transportu iontů kovů přes kapalnou membránu s využitím lipofilních ligandů představuje jeden z účinných způsobů testování jejich schopnosti extrahovat ionty kovů z vodných roztoků do organických rozpouštědel³⁰. Pro tyto účely jsou nejčastěji využívány kapalně membrány typu BLM (*bulk liquid membrane*). Při uspořádání BLM jsou obvykle dvě vodné vrstvy (zdrojová a cílová fáze) odděleny kapalnou membránou tvořenou roztokem lipofilního ligandu v organickém rozpouštědle. Nejčastější uspořádání představuje U-trubice, která má v obou ramenech vodné fáze a ve spojujícím oblouku chloroformovou fázi (obr. 3). Mezi dosud testovanými extrakčními činidly najdeme řadu *N*-donorových ligandů³¹; jde často o lipofilní analoga cykluenu, cyklamů, 2,2'-bipyridinu či fenantrolinu (viz obr. 1), které byly testovány jako extraktanty iontů přechodných kovů. V současné době je v popředí zájmu především studium selektivních extrakcí iontů kovů z jejich směsí. Potenciální praktické aplikace směřují k recyklování drahých kovů, izolaci a separaci radionuklidů, či zpracování odpadních vod³⁰.

Při přípravě micelárních roztoků komplexů oximů *III* a *IV* jsme pozorovali rozdílnou rychlost tvorby komplexů v závislosti na iontu kovu^{22,24}. Zatímco Cu^{2+} komplexy se tvořily okamžitě a komplexy Co^{2+} po deseti minutách, vznik Ni^{2+} komplexů trval několik hodin. Rozhraní mezi vodnou a micelární pseudofází, kde dochází ke koordinaci v micelle zabudovaného lipofilního ligandu k iontu kovu ve vodné fázi, představuje analogii rozhraní mezi vodnou a organickou fází při extrakcích. Proto jsme se rozhodli otestovat látky *IV* jako ligandy pro selektivní extrakce iontů kovů z vodné fáze do organických rozpouštědel.

K testování účinnosti našich ligandů bylo využito rozhraní typu BLM. Při experimentech bylo pufrům udržováno v zdrojové fázi vyšší pH než v cílové. Toto uspořádání zabezpečuje kompenzaci transportu iontů kovu ze zdrojové do cílové fáze zpětným transportem protonů (schéma 5), což umožňuje transport kovu proti koncentračnímu gradientu.

Úvodní experimenty s ligandy *IV* ukázaly, že s rostoucí lipofilitou ligandů vzrůstá rychlost transportu Cu^{2+} iontů. Naopak rychlost transportu Ni^{2+} iontů s rostoucí lipofilitou klesala³². Ligand *IX* (obr. 4) se dvěma lipofilními alkylovými řetězci ($\text{R} = \text{C}_8\text{H}_{17}$) transporto-



Obr. 3. Uspořádání fází v U-trubici sloužící jako model kapalně membrány

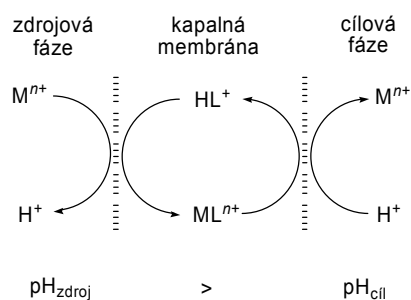
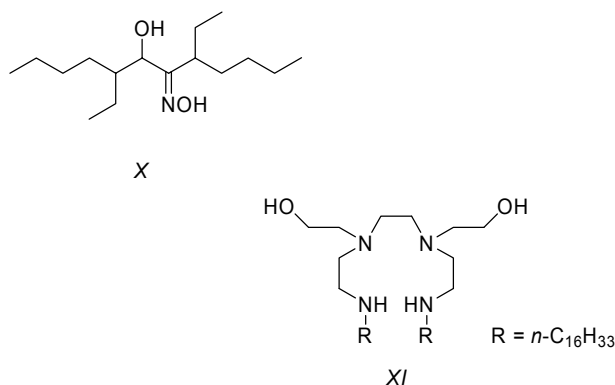


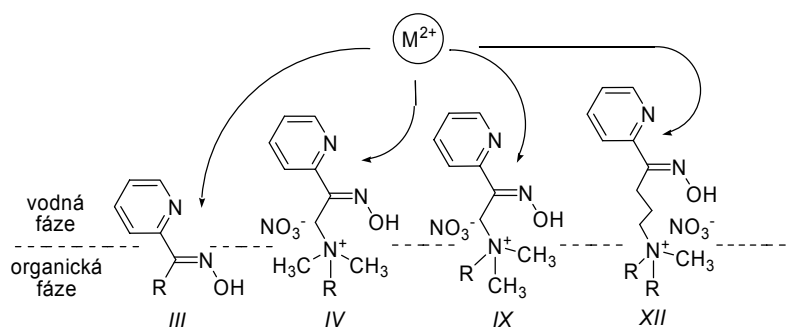
Schéma 5. Mechanismus transportu iontů přes kapalnou membránu s využitím protonovatelných ligandů (L)

val již selektivně Cu^{2+} ionty a jeho účinnost byla dokonce výrazně vyšší než účinnost průmyslového extraktantu *X* (LIX 63) a srovnatelná s účinkem ligandu *XI*, který patří mezi nejlepší extraktanty pro Cu^{2+} ionty³³.

Po získání těchto nadějných výsledků jsme se u tohoto strukturního typu ligandů zaměřili na studium vztahu struktury a účinnosti při transportu Ni^{2+} a Cu^{2+} iontů. K tomuto účelu byla připravena série ligandů *IV*, *IX* a *XII* s proměnným počtem a délkou hydrofobních alkylových řetězců v amoniovém seskupení a s různou délkou řetězce spojujícího amoniovou skupinu s chelatotvorným seskupením, která ovlivňuje hloubku zanoření chelatotvorného seskupení do vodné fáze (viz obr. 4). Ukázalo se, že žádný z připravených ligandů se dvěma alkylovými skupinami netransportuje Ni^{2+} ionty. Tyto ligandy však naopak přes kapalnou membránu účinně přenášejí Cu^{2+} ionty. Jejich účinnost závisela jak na délce alkylových skupin, tak na délce spojovacího řetězce. Nejúčinnější byly ligandy *XII* s trimethylenovou spojkou, což je v souladu s předpokladem, že delší (a tudíž volnější) spojovací řetězec umožňuje snazší navázání iontu kovu na rozhraní vodné a organické fáze³⁴.

Ligandy *IV*, *IX* a *XII* reprezentují nový typ ligandů s kovalentně vázanou nabitou skupinou a jsou účinnější pro transport Cu^{2+} v porovnání s ligandy *III* bez náboje³⁴. Přítomnost kationtové skupiny pozitivně ovlivňuje extrakční schopnosti ligandu, neboť zřejmě napomáhá jeho adsorpci na fázovém rozhraní spojené se správnou orientací, čímž je usnadněna koordinace. Z hlediska potenciálních



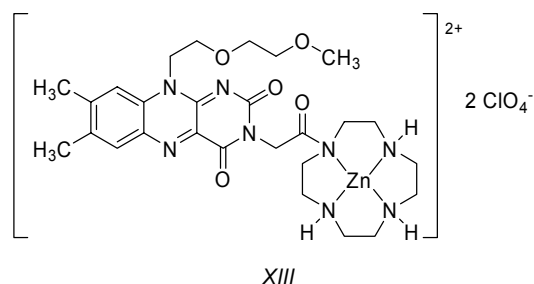
Obr. 4. Idealizované uspořádání ligandů *III*, *IV*, *IX* a *XII* na rozhraní vodná/organická fáze

aplikací je významné, že ligandy *IX* a *XII* transportují rovněž ionty Pd^{2+} (cit. ^{32,34}).

3. Fotoaktivní systémy s cyklenovým vazebným místem

Reverzibilní vazba substrátu na volné koordinační místo iontu kovu ve stabilních komplexech představuje další možnou aplikaci *N*-donorových ligandů. Tento způsob aktivace substrátu je ostatně využíván ve většině metaloenzymů³⁵. Vhodným vazebným centrem pro konstrukci modelů metaloenzymů a jiných umělých systémů jsou komplexy makrocyclických aminů s různými ionty kovů³⁶. Výhodou těchto komplexů je kromě jejich vysoké stability³⁷ také skutečnost, že koordinovaný kov většinou disponuje volným místem pro reverzibilní navázání substrátu. Příkladem takového vazebného centra je komplex cykvenu se zinečnatými ionty, který je schopen vázat jak anionty, tak neutrální molekuly³⁶, např. fosfáty, anionty imidů, alkoholy nebo vodu (obr. 5).

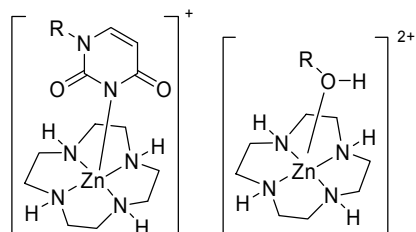
Vazebných schopností komplexu cykvenu se Zn^{2+} ionty jsme využili při konstrukci supramolekulárního senzibilizátoru *XIII* založeného na flavinu³⁸. Flavinová část molekuly *XIII* představuje chromofor, který po ozáření viditelným světlem ($\lambda_{\text{max}} = 450 \text{ nm}$) přechází do excitovaného stavu a stává se velmi silným oxidačním činidlem v porovnání se základním stavem³⁹. Excitovaný flavin může snadno přijímat elektrony elektronově bohatého



substrátu mechanismem fotoindukovaného přenosu elektronů⁴⁰ (*photoinduced electron transfer* – PET). Komplex Zn^{2+} -cyklen funguje jako vazebné místo pro substrát. Výhodou tohoto systému je intramolekulární průběh přenosu elektronů mezi excitovaným flavinem a substrátem vázaným reverzibilní koordinační vazbou k cyklenové jednotce. Přestože studiu fotoindukovaného přenosu elektronů v nekovalentních systémech je věnována velká pozornost, dosud je známo jen několik málo příkladů podobných typů senzibilizátorů^{41–43}. U většiny dosud známých systémů pro senzibilizaci či fotokatalýzu využívajících fotoindukovaného přenosu elektronů jde o přenos intermolekulární.

Jako modelová reakce pro testování fotomediátoru *XIII* byla zvolena fotooxidace 4-methoxybenzylalkoholu na odpovídající aldehyd³⁸. Reakce byla testována jak v organickém rozpouštědle (acetonitril), tak ve vodě. Bylo prokázáno, že po ozáření viditelným světlem látka *XIII* v oxidované formě (*XIII*_{ox}) účinně oxiduje 4-methoxybenzylalkohol na odpovídající aldehyd s kvantovým výtěžkem dosahujícím hodnoty až 0,4. Flavin *XIII* touto reakcí přechází na redukovanou formu (*XIII*_{red}). K reakci postačuje pouze katalytické množství fotomediátoru *XIII*, který je v katalytickém cyklu reoxidován vzdušným kyslíkem (schéma 6). Účinnost intramolekulární fotooxidace látkou *XIII* byla 30× vyšší než účinnost intermolekulárního procesu probíhajícího v přítomnosti flavinového derivátu bez vazebného místa.

Fotomediátor *XIII* byl rovněž testován jako ve vodě rozpustný model fotolyasy⁴⁴, flavoenzymu, který u některých organismů zabezpečuje štěpení dimerů thyminu v molekulách DNA⁴⁵ vznikajících nežádoucím účinkem ultrafialového záření (schéma 7) a opravuje tak její poško-

Obr. 5. Příklady navázání aniontu a neutrální molekuly ke komplexu Zn^{2+} -cyklen

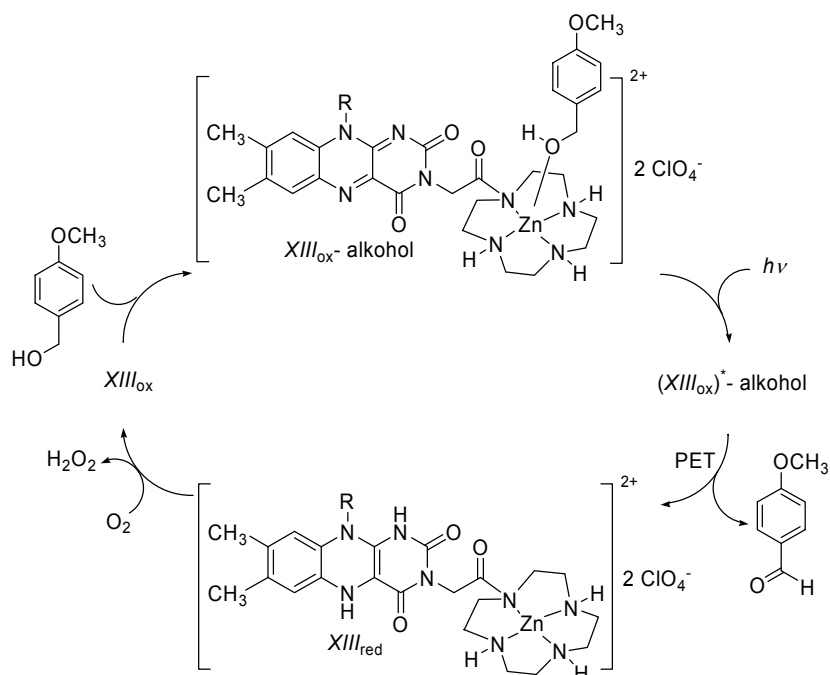


Schéma 6. Katalytický cyklus fotooxidace alkoholu kyslíkem senzibilizované flavinem XIII

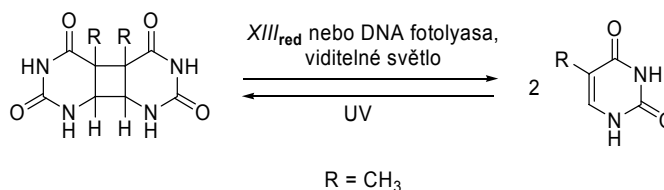


Schéma 7. Štěpení a vznik dimeru thyminu

zení. Štěpení dimeru je iniciováno přenosem elektronu z redukováného excitovaného flavinu (Fl_{red}) na dimer vázaný k cyklenové jednotce. V našem modelu byl fotomediátor XIII redukován dithioničtanem a po ozáření viditelným zářením štěpil modelový dimer rychleji než flavin bez vazebného místa⁴⁴. Doposud známé úspěšné modely fotolyas obsahovaly kovalentní vazbu mezi flavinovou částí a pyrimidinovým dimerem^{46–47}.

4. Závěr

Uvedené příklady ilustrují možné využití některých *N*-donorových ligandů v různých oblastech chemie. Ve většině případů jde o analogii mechanismů uplatňujících se v metaloenzymech, ve kterých hraje koordinace k iontům kovů důležitou roli při aktivaci substrátů nebo při aktivaci reaktivních funkčních skupin³⁵.

LITERATURA

1. Cotton F. A., Wilkinson G., Murillo C. A., Bochmann M.: *Advanced Inorganic Chemistry*, str. 347–379. 6. vydání. John Wiley, New York 1999.
2. Nejnovější aplikace byly uvedeny na konferenci “Nitrogen ligands in organometallic chemistry and homogeneous catalysis”: *J. Organomet. Chem.* 690, 1871 (2005).
3. Cibulka R., Hampl F., Liška F.: *Chem. Listy* 92, 469 (1998).
4. Chakravorty A.: *Coord. Chem. Rev.* 13, 1 (1974).
5. Riggle K., Linde-Kernell T., Schlemper E. O.: *J. Coord. Chem.* 25, 117 (1992).
6. Orama M., Saarinen H., Korvenranta J.: *Acta Chem. Scand.* 43, 407 (1989).
7. Orama M., Saarinen H., Korvenranta J.: *J. Coord. Chem.* 22, 183 (1990).

8. Beckett R., Hoskins B. F.: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* 1972, 291.
9. Solodenko W., Brochwitz C., Wartchow R., Hashem A., Dawood K. M., Vaultier M., Kirschning A.: *Mol. Diversity* 9, 333 (2005).
10. Dawood K. M., Kirschning A.: *Tetrahedron* 61, 12121 (2005).
11. Ridder A. M., Kellogg R. M., v knize: *Comprehensive Supramolecular Chemistry* (Murakami Y., ed.), svazek 4, str. 394–408. Elsevier Science, Oxford 1996.
12. Chin J.: *Acc. Chem. Res.* 24, 145 (1991).
13. Feiters M. C., v knize: *Comprehensive Supramolecular Chemistry* (Reinholdt D. N., ed.), svazek 10, 321–328. Elsevier Science, Oxford 1996.
14. Suh J.: *Acc. Chem. Res.* 25, 273 (1992).
15. Sigman D. S., Jorgensen C. T.: *J. Am. Chem. Soc.* 94, 1724 (1972).
16. Scrimin P., Ghirlanda G., Tecilla P., Moss R. A.: *Langmuir* 12, 6235 (1996).
17. Menger F. M., Gan L. H., Johnson E., Durst D. H.: *J. Am. Chem. Soc.* 109, 2800 (1987).
18. Scrimin P., Tecilla P., Tonellato U., Bunton C. A.: *Colloids Surf., A* 144, 71 (1998).
19. Breslow R., Chipman D.: *J. Am. Chem. Soc.* 87, 4195 (1965).
20. Terrier F., MacCormack P., Kizilian E., Hallé J. C., Demerseman P., Guir F., Lion C.: *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* 1991, 153.
21. Bedford C. D., Harris R. W., Howd R. A., Miller A., Nolen H. W., Kenley R. A.: *J. Med. Chem.* 27, 1431 (1984).
22. Hampl F., Liška F., Mancin F., Tecilla P., Tonellato U.: *Langmuir* 15, 405 (1999).
23. Breslow R., Singh S.: *Bioorg. Chem.* 16, 408 (1988).
24. Cibulka R., Dvořák D., Hampl F., Liška F.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 62, 1342 (1997).
25. Cibulka R., Hampl F., Martinů T., Mazáč J., Totevová S., Liška F.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 64, 1159 (1999).
26. Cibulka R.: *Chem. Listy* 95, 809 (2001).
27. Cibulka R., Liška F., Ludvík J.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 65, 1630 (2000).
28. Vlček A. A.: *Prog. Inorg. Chem.* 5, 211 (1963).
29. Cibulka R., Čisarová I., Ondráček J., Liška F., Ludvík J.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 66, 170 (2001).
30. Araki T., Tsekube H.: *Liquid Membranes. Theory and Applications*. ACS, Washington 1997.
31. DeJong F., Visser H. C., v knize: *Comprehensive Supramolecular Chemistry* (Reinholdt D. N., ed.), díl 10, kapitola 2. Elsevier Sci, New York 1996.
32. Cibulka R., Hampl F., Šmidrkal J., Liška F.: *Tetrahedron Lett.* 40, 6849 (1999).
33. Menger F. M., Jeng-Jong L.: *J. Org. Chem.* 58, 1909 (1993).
34. Svobodová E., Cibulka R., Hampl F., Šmidrkal J., Liška F.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 70, 441 (2005).
35. Lippard S. J.: *Principles of Bioinorganic Chemistry*. University Science Book, Mill Valley 1994.
36. Klinke R. R., König B.: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* 2002, 121.
37. Kodama M., Kimura E.: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* 1977, 2269.
38. Cibulka R., Vasold R., König B.: *Chem. Eur. J.* 10, 6223 (2004).
39. *Chemistry and Biochemistry of Flavoenzymes* (F. Müller, ed.). CRC, Boca Raton 1991.
40. Ward M. D.: *Chem. Soc. Rev.* 26, 365 (1997).
41. Henning H.: *Coord. Chem. Rev.* 182, 101 (1999).
42. Balzani V., Borigelletti F., De Cola L.: *Top. Curr. Chem.* 158, 31 (1990).
43. Svoboda J., König B.: *Chem. Rev.* 106, 5413 (2006).
44. Wiest O., Harrison C. B., Saettel N. J., Cibulka R., Sax M., König B.: *J. Org. Chem.* 69, 8183 (2004).
45. Heelis P. F., Hartman R. F., Rose S. D.: *Chem. Soc. Rev.* 1995, 289.
46. Friedel M. G., Cichon M. K., Carell T.: *Org. Biomol. Chem.* 3, 1937 (2005).
47. Epple R., Wallenborn E.-U., Carell T.: *J. Am. Chem. Soc.* 119, 7440 (1997).

R. Cibulka^a, E. Svobodová^a, B. König^b, J. Ludvík^c, F. Hampl^a, and F. Liška^{a,d} (^a *Institute of Chemical Technology, Prague, Czech Republic*, ^b *Department of Organic Chemistry, University of Regensburg, Germany*, ^c *J. Heyrovský Institute of Physical Chemistry, Prague, Czech Republic*, ^d *Department of Chemistry and Chemistry Didactics, Pedagogical Faculty, Charles University, Prague*): **Study of Applications of Some N-Donor Ligands and Their Transition Metal Ion Complexes**

Purpose of Review

This review shows the diversity of applications of some N-donor ligands (pyridine and diazine ketoximes and cyclen derivatives), investigated by the authors in the last ten years. Special attention has been paid to (i) metallomimetic hydrolytic catalysts based on metal ion complexes of lipophilic alkyl pyridin-2-yl ketoximes and diazine ketoximes with transition metal ions comicellized with hexadecyltrimethylammonium bromide, (ii) alkyl pyridin-2-yl ketoximes with quaternary ammonium groups in side chains as metal ion carriers through liquid membranes, and (iii) design and testing of a new supramolecular sensitizer based on a flavin-Zn²⁺-cyclene conjugate.

Findings

The stability of the complexes of pyridine and diazine ketoximes with Ni²⁺, Co²⁺, Cu²⁺ and Zn²⁺ ions and nucleophilicity of the coordinated oximate group are crucial parameters influencing the efficiency of the complexes in hydrolysis of alkanates. Zn²⁺ complexes are the most reactive in aqueous solutions since coordination of Zn²⁺ does not decrease nucleophilicity of oximate anions. On the other hand, the observed efficiency of the Zn²⁺ complexes in cationic micelles is lower in comparison with their solutions due to lower stability, which is a conse-

quence of electrostatic repulsion between the positively charged micelle and metal cation. The Ni^{2+} complexes are most reactive in micellar solutions.

Alkyl pyridin-2-yl ketoximes with quaternary ammonium groups in alkyl chains are a new type of metal ion carriers suitable for Cu^{2+} and Pd^{2+} ; they do not extract Ni^{2+} and Co^{2+} . The introduction of the cationic group into the extractants increases their selectivity and facilitates the metal ion transport. The efficiency and selectivity of metal ion transport mediated by ligand surfactants depends predominantly on their structure and lipophilicity.

Upon irradiation with visible light, the flavin- Zn^{2+} -cyclen conjugate efficiently oxidizes 4-methoxybenzyl alcohol to the corresponding aldehyde with the quantum yield up to 0.4. In the presence of air, the resulting reduced

flavin is reoxidized, and so catalytic amounts are sufficient for the alcohol conversion. The mechanism of the oxidation is based on photoinduced electron transfer from the coordinated benzyl alcohol to the flavin chromophore. In fact, the flavin- Zn^{2+} -cyclen system is a supramolecular sensitizer of alcohol oxidation with oxygen. The conjugate also cleaves a thymine dimer model thus mimicking natural photolyase.

Conclusions

Potential applications of some *N*-donor ligands are shown. In most cases, the above systems are analogous to metalloenzymes where metal ion coordination plays an important role in substrate binding and in the activation of reactive functional groups.

VŠCHT Praha přijme do Centrálních laboratoří technika/čku

Požadavky:

- ukončené středoškolské vzdělání, nejlépe chemického směru,
- znalost práce na PC.

Náplň práce:

- zabezpečení chodu laboratoře hmotnostní spektrometrie po technické i administrativní stránce,
- pomoc při servisních měřeních (zaučíme).

Nabízíme:

- příležitost k osobnímu rozvoji,
- pracoviště v blízkosti metra,
- zaměstnanecké výhody (šest týdnů dovolené, pružnou pracovní dobu, příspěvek na stravování, rekreaci, penzijní připojištění, návštěvu kulturních zařízení).

Nástup:

- 1. 12. 2007
- na dobu určitou (zatím 1 rok)

Kontakt:

- Ing. Ivan Viden, CSc., tel. 220 443 812, e-mail: ivan.viden@vscht.cz ,
- Ing. Richard Hrabal, CSc., tel. 220 443 805, e-mail: richard.hrabal@vscht.cz

PŘÍRODNÍ LÁTKY HOŘKÉ CHUTI

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

^a Katedra farmaceutické botaniky a ekologie, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova v Praze, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové,

^b Ústav chemie a technologie sacharidů, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6, ^c Fakulta chemické a potravinářské technologie, STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, ^d Ústav chemie přírodních látek, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6
pavel.drasar@vscht.cz

Došlo 24.5.07, přijato 12.9.07.

Klíčová slova: přírodní látka, hořčiny, potravní doplněk, obnovitelné zdroje

Obsah

1. Úvod
2. Tradiční potravinářské přísady silně hořké chuti
3. Tradiční potravinářské přísady hořké chuti
4. Ostatní známé hořké sloučeniny
5. Trocha teorie o chuti hořké
6. Závěr

1. Úvod

Článek je dalším z řady přehledů, ve kterých popisujeme rozmanitost přírodních látek^{1–8} a který může sloužit i jako vhodná učební pomůcka*.

Hořká chuť je jedním z pěti chuťových principů (sladký, slaný, kyselý, hořký a umami)⁹. Organoleptický vjem na různé chuti může být přidáním hořké komponenty značně modifikován, což od nepaměti vědí např. lihovarníci¹⁰. Ve farmakognozii se uvádí termín hořčina (hořký princip). Mezi hořčiny se řadí takové sloučeniny obsažené v rostlinách, které jsou hořké chuti a mají současně farmakologický účinek: stimulací nejspíše přes nervus vagus navozují m. j. vylučování trávicích enzymů a dalších, fyzi-

ologicky významných látek. Drogy využívající se pro svůj obsah hořčin se nazývají „amara“ a v přiměřených dávkách zlepšují chuť k jídlu, podporují sekreci žaludečních šťáv a jejich kyselost. Dále jsou hořčiny obsaženy m. j. i ve skupině drog zvané cholagoga, která podporují vyprazdňování žlučníku (cholekinetika) a nebo podporují tvorbu žluči (choleretika). Velké množství hořčin se spotřebuje v potravinářském průmyslu na výrobu likérů, aperitivů a jiných hořkých nápojů. Dnes jsou zejména vyhledávány hořké látky netoxické a nemající svíravou (adstringentní) chuť. Pokud hodnotíme hořké drogy z hlediska potravinářského, jeví se jako cennější takové, které mají hořký princip podložený několika různými hořčinami, jejichž účinek je synergicky vyvážen do čisté hořké chuti. Rozsáhlou diskusí vlivu směsi hořčin a hořké chuti

Karlovarský hořký likér.
Důvodní Johann Becher z r. 1866.

280	g	zeměžluč	
175	"	kořen hořce	
190	"	pelyněk	
140	"	mateřidouska	
140	"	dymián	
210	"	devětsil (podběl)	
105	"	jitrocel	
105	"	mařinka vonná	
350	"	květ lipový	
350	"	květ petrklíče (Primulae)	
158	"	kořen osladiče	
140	"	kořen kozlíkový	
70	"	květ heřmánku čes.	
35	"	hřebíček	
175	"	kůra citronová	
44	"	muškátový květ	
ad II.	{	80 " květ divizny	vař v 28 ltr vody se 4½ kg cukru
		140 " sv. jánský chléb	
		210 " sladké dřevo	

maceruj ve 42 ltr čistého líhu 80°

14–21 dní, slej, kořeny vylisuj a spoj s odvarem vody
a cukru ad II.

59

Obr. 1. Reprodukce části strany 59 z citace¹⁰, foto archiv autora (PD)

* Autoři upozorňují na nedořešený aspekt českého názvosloví, který je zvláště vidět na příkladu přírodních látek, pojmenovaných podle cizích botanických názvů. České chemické názvosloví zatím systematicky nevyřešilo, kdy např. „c“ se mění na „k“ a kdy nikoli. V článku jsou použity známé termíny v počeštěné verzi, méně užívané ve verzi mezinárodní.

v kombinaci s chutí sladkou dokumentuje Štaffl¹⁰ mnoha recepturami, m. j. i recepturou tuze zajímavou (obr. 1). Přehledných článků je zatím poskrovnu¹¹, neb téma je velmi obtížné pro svoji rozmanitost jak chemickou, tak taxonomicou, proto byl užitečným zdrojem informací pro tento článek i Merck Index¹² a moderní kompendium o ochucovadlech¹³. Skromná je i legislativa, z hlediska potravinářské legislativy mohou být určité sloučeniny s hořkou chutí součástí přídatných látek zvýrazňujících chuť a vůni^{14,15}.

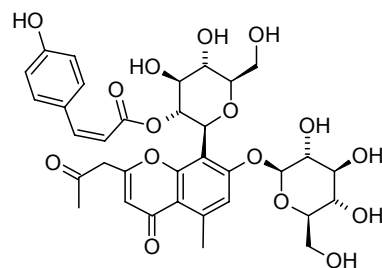
Vzhledem ke složitosti vnímání hořké chuti jsou i úvahy o vztahu mezi strukturou a aktivitou zatím skromné a podle současných znalostí autorů patrně takové ještě delší dobu budou. Některé teorie hodnotí hořký vjem jako vlastnost lidí, vyvinutou původně k rozeznání jedovatých látek^{16,17}, neboť některé toxické alkaloidy či glykosidy (např. kardenolidy, bufadienolidy) jsou látkami hořkými. Hořčiny jsou tvořeny heterogenní skupinou sloučenin vyskytujících se často ve formě glykosidů; u některých dokonce není ani chemická struktura známa, proto se jejich koncentrace stanovuje pomocí čísla hořkosti, tj. takovou nejnižší koncentrací výluhu drogy, která ještě vyvolává hořkou chuť. Tak např. 1 gram látky rozpuštěný ve 20 000 ml vody poskytne hořký roztok s hořkostí vyčíslenou hodnotou 20 000. Extrakt kořenu hořce¹⁸ má tuto hodnotu 58 000 000. Číslo hořkosti je základní lékopisnou charakteristikou pro hořčinné drogy¹⁹.

2. Tradiční potravinářské přísady silně hořké chuti

Jakkoliv při třídění látek na hořké a silně hořké podle tohoto principu hodnotíme spíše samu drogu, která je použita v potravinářství či k výrobě léčivých přípravků a léčiv, podržíme se ho, neboť je pro tyto oblasti lidské činnosti důležité.

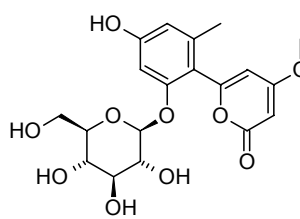
Štaffl¹⁰ uvádí jako základní „nejsilnější hořké“ přísady, používané v likérnictví: aloe (*Aloe lucida*), chiretta (*Herba chirettae*), pelyněk, který dělí na *Herba absinthii* (pelyněk pravý), *Herba absinthii pontici* (nevhodně označená nať pelyňku pontského) a *Herba genepi*. Zjistit dnes, co je to *herba genepi* (*Genepikraut*, *Genepi des Alpes*), je obtížné. Je možné, že *herba genepi* je nať *Artemisia glaci-alis* L., *Asteraceae*, často bývá tato droga používána jako falšování nebo spíše náhražka jiné rostliny označené jako *Herba Ivae moschatae* (synonymem *Herba achilleae moschatae*, *Achillea moschata* Wulfen, která se taky označuje jako *Herba genippe veri*), a kvasiové, též quassiové dřevo (*Lignum quassiae*).

Aloe, rod mnoha druhů (*Aloe barbadensis* Mill., *A. sucotrina* Lam. (syn. *A. socotrina* DC.), *A. chinensis* Bak. (resp. správně *A. vera* (L.) Burm. F.), *Asphodelaceae*), je známá pronikavou hořkostí některých z nich. Hořkost způsobují anthrony a chromony v nich obsažené, většinou ve formě *O*- a *C*-glukosidů (pro jednoduchost a paralelu používáme přežitý termín „*C*-glykosid“, když obecně jde o glykosylderivát, či v tomto případě „*S*-chromenyl-*D*-glucitol“).

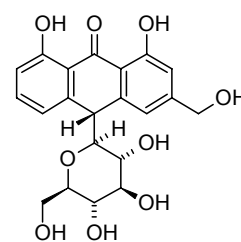


aloeresin C

Tak např. hořký aloeresin C byl izolován z aloe kapské (*Aloe ferox* Mill.).



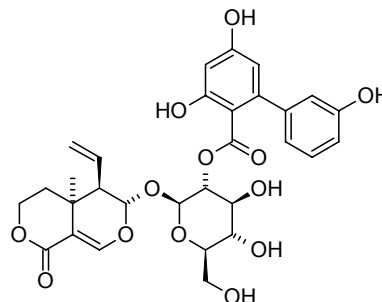
aloenin



barbaloin

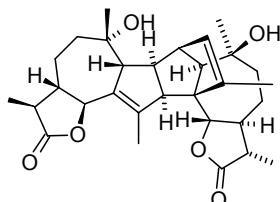
Aloenin (aloenin A, aloekarbonasid), je hořkým principem drogy z aloe stromovité (*Aloe arborescens* Mill.) a barbaloin (diastereoisomerní směs aloinu A a B) z jiných druhů aloe (např. Barbados aloe). Tyto hořčiny jsou i účinnými projímadly, kteroužto vlastností se může chlubit většina zástupců rodu aloe. Je zajímavé, že se projímavý účinek hořkých likérů jevil jako žádoucí¹⁰.

Chiretta, chirayta (*Herba chirettae*), je droga získávaná z byliny rostoucí v Indii a Japonsku (*Swertia chirata* (Wall.) C. B. Clarke, *Ophelia chirata* Griesb., *Gentianaceae*), která obsahuje amarogencin, jednu z nejvíce hořkých sloučenin, 10krát více hořkou než brucin. Dále pak hořké principy²⁰ chiratin ($C_{26}H_{48}O_{15}$), což jsou údajně dvě sloučeniny a ofelovou kyselinu ($C_{13}H_{20}O_{10}$).



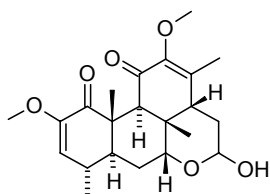
amarogencin

Pelyněk pravý, *Artemisia absinthium* L. (Asteraceae), je znám svojí hořkostí, která je způsobena hořkým dimerickým sekviterpenovým laktonem absinthinem (absinthiin, absynthin) a podobnými látkami a jejich glykosidy. Obsahuje také známý α -thujon, který je považován za určitý typ halucinogenu. Je též známo, že navozuje křeče a při delším používání vyvolává psychické poškození.

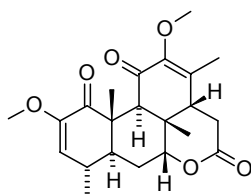


absinthin

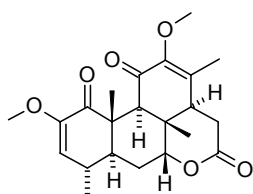
Kvasiové dřevo, pocházející z kmene a větví jamažského stromu *PicraSna excelsa* Lindl. (*Simaroubaeae*), též známém jako *Picrasma excelsa* Swartz (Planchon) a stromu hořkoň *Quassia amara* L., *Simaroubaeae*, známém pod obchodním jménem Surinam quassia jsou zdrojem amaroudů, jako kvasin, pikrasmin (isokvasin) a neokvasin, používané jako hořčiny²¹, jde o triterpenové neglykosidické sloučeniny, farmakologicky disponující také insekticidní a zčásti amoebocidní aktivitou. Číslo hořkosti dřeva je již samo vysoké, 40 000–50 000.



neokvasin

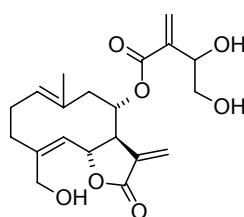


kvasin

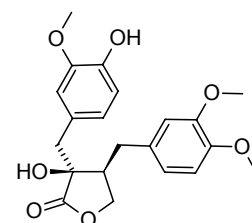


pikrasmin (isokvasin)

Druhou kategorií hořkosti podle Štaffla jsou přísady „silně hořké“. Patří sem např. čubet, nať benediktu lékařského (*Cnicus benedictus* L., *Herba cardui benedicti*, *Asteraceae*) obsahuje hořké látky charakteru seskviterpenových laktonů. Hlavní hořčinou je seskviterpenový laktan, germakranolid knicin (cynisin, centaurin). V semenech se vyskytují lignanové laktany, jako trachelogenin, které přispívají k hořké chuti^{22,23}.

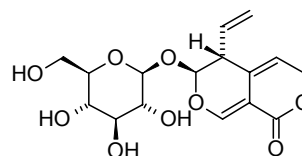


knicin



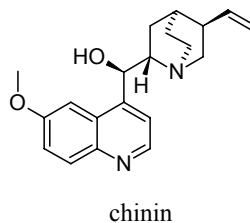
trachelogenin

Další silně hořkou drogou je kořen hořce (především *Gentiana lutea* L., *Gentianaceae*, *Radix gentianae*), který obsahuje iridoidní hořčiny, které zvyšují produkci trávicích šťáv a pozitivně působí na zažívání. Název získal podle ilyrského krále Gentia, který jím léčil mor. Někdy používaný výraz *Radix gentianae rubrae* je starý výraz pro kořen žlutého hořce, pro který se dnes používá jen výraz *Radix gentianae* (někdy R. g. *luteae*). Je to výraz historický a lze ho chápat tak, že R. g. *rubrae* je určen pro kořeny, které byly fermentovány a určeny především pro likérnictví, kdežto konvenčním způsobem usušené kořeny nebyly načervenalé a byly určeny jako farmaceutická surovina – lišily se však vůní a také chutí, zejména dozívající (aftertaste). Hlavními hořkými substancemi hořce jsou amarogencin (viz chiretta) a genciopikrosid, který má číslo hořkosti 12 000.

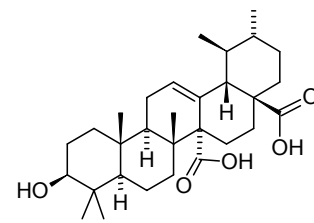


genciopikrosid

Cortex chinae je sušená kůra z chinovníku (či chinovníku), např. chinovníku červeného (*Cinchona succirubra* Pav.) obsahující chinolinový alkaloid chinin používaný k léčení malárie a při výrobě limonády. Přímým působením na centrální nervovou soustavu má chinin antipyretické, analgetické, lokálně anestetické a sympatolytické účinky, bývala to hlavní součást tzv. Harburnových prášků. Z kůry chinovníku červeného byla izolována i velmi hořká kyselina chinová, hořčina triterpenového typu, která se vyskytuje ve formě glykosidu chinovinu.

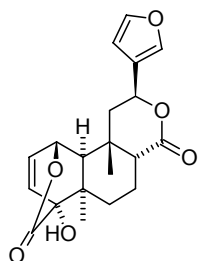


chinin

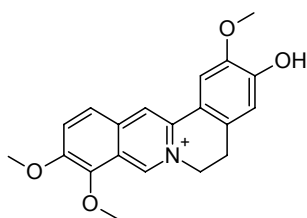


kyselina chinová

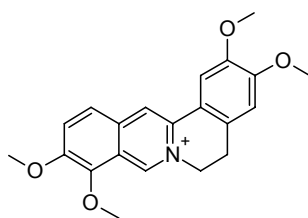
Kolombový kořen (*Radix colombo*), *Calumba*, kořen liany *Jateorhiza palmata* Miers, (*Menispermaceae*), obsahuje jako hlavní hořký princip kolumbin, jehož hořkost je udávána číslem 60 000. Dále obsahuje benzylochinolinové (protoberberinové) alkaloidy jateorhizin (jatrorrhizin) a palmatin, které jistě hořké chuti neuberou.



kolumbin

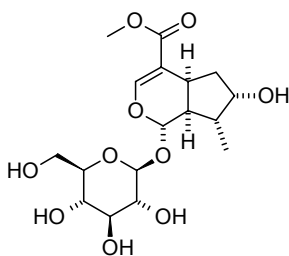


jateorhizin

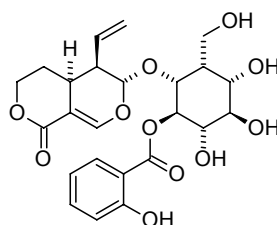


palmatin

Významnou silně hořkou surovinou je tzv. hořký jetel, vachta trojlistá *Menyanthes trifoliata* L. (*Menyanthaceae*), kde je hlavním hořkým principem loganin (menyanthin).



loganin



centapikrin

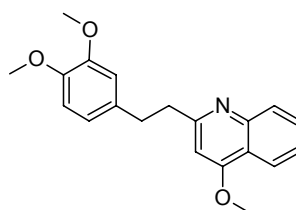
Důležitou přísadou při výrobě likérů je i zeměžluč lékařská, *Centaurium erythraea* Rafn. (*Gentianaceae*), která obsahuje hořký sekoiridoidní glukosid centapikrin. Zeměžluč patří mezi nejstarší léčivé rostliny světa; její starý název byl *Fel terrae* – žluč země, jak ji označoval Plinius. Dioskorides ji podle bájného kentaura označoval jako kentaurion mikron. Číslo hořkosti květů je 12 000 a nati 2000.

Je nutné konstatovat, že v současné době jsou tyto tzv. „čisté“ hořčiny iridoidního typu (hořec, vachta, zeměžluč) pokládány za nevhodnější z hlediska jak farma-

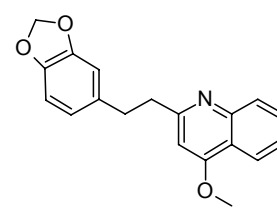
ceutického, tak potravinářského použití.

3. Tradiční potravinářské přísady hořké chuti

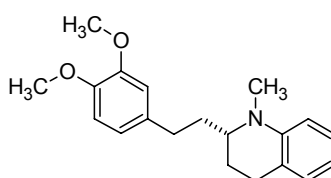
Třetí Štafflovou kategorií jsou přísady „hořké“. Uvádí pravou angosturou z kůry stromu *Cusparia febrifuga* (DC), *Rutaceae*²⁴, která obsahuje jako hlavní princip alkaloidy galipin, kusparin, kusparein, galipinin a příbuzné sloučeniny. Jiné prameny uvádí, že angostura pochází z *Galipea officinalis* Hancock (*Rutaceae*); tato substance má dokonce registrační číslo CAS 977000-22-8. Situace je zde z botanického hlediska složitější: *Cusparia febrifuga* Baill. je synonymum pro všeobecně užívaný název *Galipea officinalis* Hancock; pod tímto označením tuto rostlinu běžně najdeme stejně jako drogu z ní. Synonyma pro tuto problémovou rostlinu jsou: *Angostura cusparia* ROEM et SCHULT., *Angostura trifoliata* (WILLD.) ELIAS, *A. vera*, *Bonplandia angostura* RICH., *B. trifoliata* WILLD., *Cusparia angostura* RICH., *C. febrifuga* HUMB., *C. officinalis* (WILLD.) ENGL., *C. trifoliata* ENGLER, *Galipea cusparia* ST. HIL., *Galipea febrifuga* BAILL.



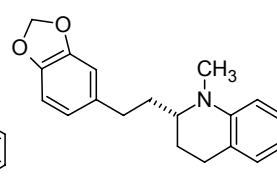
galipin



kusparin

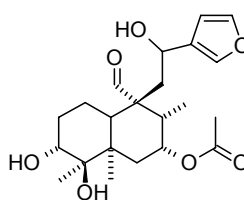


kusparein

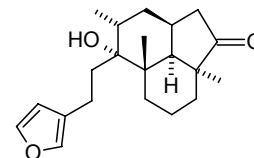


galipinin

Kaskarilová kůra (*Cortex cascarillae*) získávaná ze stromu *Croton eluteria* Benn. (*Euphorbiaceae*), obsahuje hořkou krystalickou látku kaskarillin.

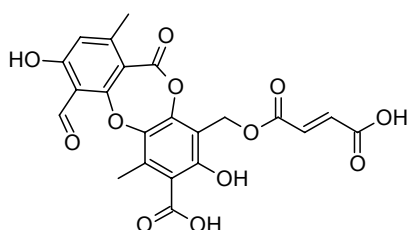


kaskarillin

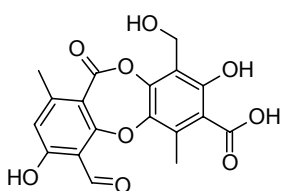


marrubiin

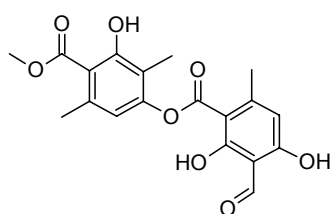
Ožanka čpavá, *Teucrium scordium* L., stejně jako jablečník obecný, *Marrubium vulgare* L. (oba taxony z čeledi *Lamiaceae*), jsou hořké díky obsahu diterpenu marrubiinu. Marubiin je uváděn v prostředcích proti chrápání. Puklélka islandská (mech islandský), *Cetraria islandica* (L.) Acharius ssp. *antarctica* Kärnerf (*Parmeliaceae*), obsahuje hořké lišejníkové kyseliny, např. depsidy kyseliny fumarprotocetrarovou a protocetrarovou.



fumarprotocetrarová kyselina



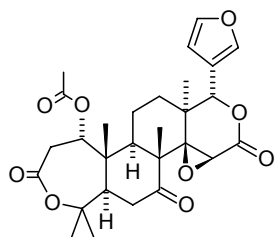
protocetrarová kyselina



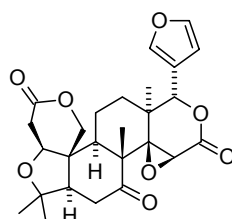
atranorin

Z řady lišejníků byla izolována další z lišejníkových kyselin, hořký atranorin.

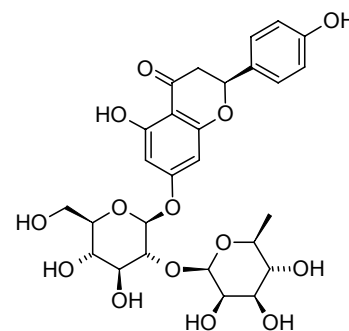
Podle Štaffla je čtvrtou, nejslabší kategorií hořkých přísad typ „aromatický a mírně hořký“. Sem zařazuje např. kůru plodů zralých i nezralých citrusů, která obsahuje hořké látky. Některé z nich jsou používány jako chuť zesilující a upravující sloučeniny²⁵, jako např. nomilin, limonin (citrolimonin, diktamnolakton, evodín, obakulakton), naringin ((2*S*)-naringin, naringenin-7-*r*-hamnoglukosid, naringosid) a jejich kombinace, většinou na koncentrační úrovni počátku chuťové detekce. Podstatu hořkosti plodů a květů grapefruitů (*Citrus paradisi* Macf., *Rutaceae*) tvoří naringin (aurantiin).



nomilin

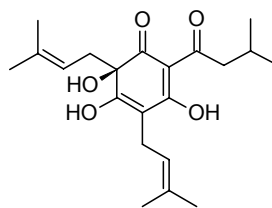


limonin

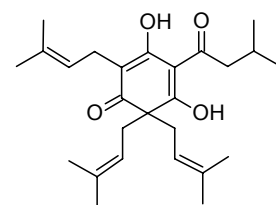


naringin

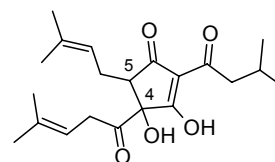
Chmel otáčivý, *Humulus lupulus* L. (*Cannabaceae*) obsahuje α -hořké kyseliny, skládající se převážně z humulonů, kohumulonu a adhumulonů, β -hořké kyseliny (lupulon, kolupulon, adlupulon), nespecifické měkké pryskyřice (humulinony, luputritiony), tvrdé pryskyřice (humulinové a hulupinové kyseliny)^{26–28} a další prenylderiváty floriglucinu. Nejvíce je v samičích květech obsažen humulon (2–6 %) a lupulon (8–12 %), vzájemný poměr hořčin a jejich složení závisí na odrůdě chmelu. Nejdůležitější z hlediska chuťových účinnů a bakteriostatických vlastností jsou tzv. isosloučeniny vznikající z hořkých kyselin během vaření piva. Isohumulony však také moduluji hladiny krevních lipidů cestou aktivace PPAR (peroxisome proliferator-activated receptors). Isohumulon se vyskytuje ve formě *trans* (4*S*,5*S*) a *cis* (4*R*,5*S*); nejčastěji je však pod CAS RN 25522-96-7 uváděn isohumulon bez rozlišení chiralit. Je nutno připomenout, že škála odvozených derivátů vyskytujících se v pivu, ať to jsou sekundární metabolity, nebo produkty zpracování, je široká.



humulon



lupulon

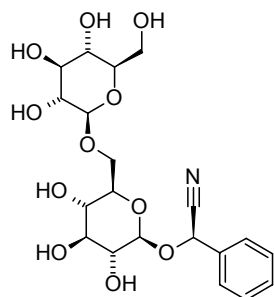


isohumulon

Některé drogy, které jsou uvedeny na Štafflovu seznamu hořkých ingrediencí, řepíček mochnovitý *Aremonia agrimonoides* L., *Rosaceae*, vítod hořký krátkokřídý *Polygala amara* L. subvar. *brachyptera* Chodat, kořen reveně (dlanitě: *Radix rhei*; bulharské: *Radix (rhei) rhapontici*, *Polygonaceae*), květ a nať řebříčku obecného (*Herba et flores millefolii*, *Achillea millefolium* L., *Asteraceae*) [podle Štaffla cypřiš polní (*Herba Ivae*)] ořechové slupky (*Pericarpium juglandis*) zůstaly zatím stran hořkých komponent chemicky nepopsány. Jiné, jako např. „choroš modřínový *Agaricus albus*“, jsou soudobé botanické nomenklaturě neznámy.

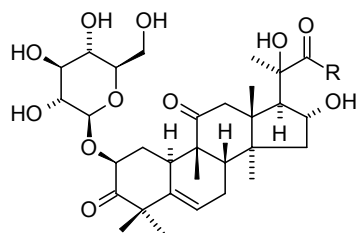
4. Ostatní známé hořké sloučeniny

Známa sloučenina z hořkých mandlí (*Amygdalus communis* R.J.Roemer var. *amara*, syn. *Prunus dulcis* (Mill.) D. A. Webb. var. *amara* (DC.) Buchheim, *Amygdalaceae*) je amygdalin, gentiobiosid benzaldehydkyanhydrinu.



amygdalin

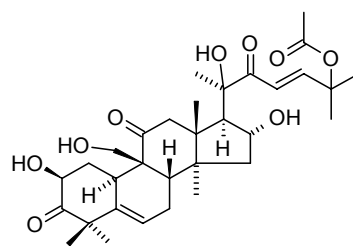
Hořké glukosidy arvenin I a II byly izolovány²⁹ z drchničky rolní *Anagallis arvensis* L. (*Primulaceae*); později byly identifikovány další hořké glukosidy³⁰.



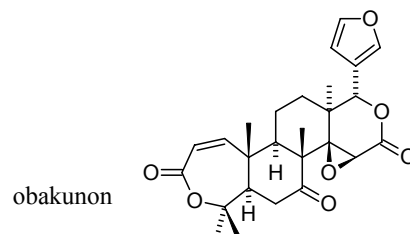
arvenin I, R = $-\text{CH}=\text{CHCMe}_2\text{OAc}$

arvenin II R = $-(\text{CH}_2)_2\text{CMe}_2\text{OAc}$

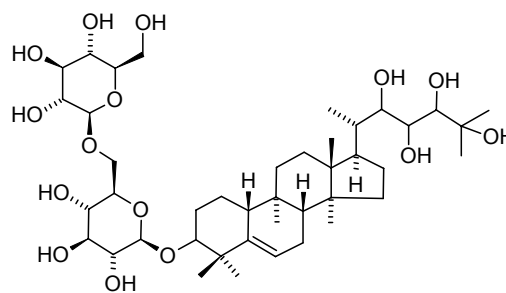
Skupina příbuzných hořkých kukurbitacinů byla izolována z dýní (čeleď *Cucurbitaceae*). Podobné příbuzné momordikosidy se vyskytují v hořké okurce *Momordica charantia* L. (*Cucurbitaceae*). Obakunon patří k hořkým limonoidům citrusů a byl nalezen i v korkovniku amurském, *Phellodendron amurense* Rupr. (*Rutaceae*), který je používán k léčení průjmů a zánětů (v tomto případě však spíše díky obsahu protoberberinových alkaloidů, zejména berberinu).



kukurbitacin A

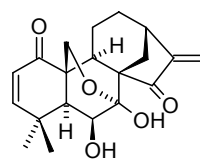


obakunon

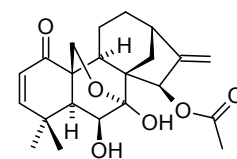


momordikosid A

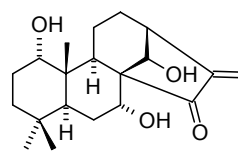
Hořké diterpeny, rabdosianon I a II byly izolovány³¹ z japonské rostliny *Isodon japonicus* Hara (syn. *Plectranthus japonicus* Koidz., *Lamiaceae*). Z příbuzného *I. kameba* Okuyama byl izolován kamebanin³². Hořký je i isodomedin, izolovaný z *I. shikokianus*. Na příkladu těchto entkauranů byl vysloven strukturně-molekulární předpoklad vjemu hořké chuti. Ke studii byly použity skeletálně modifikované diterpeny abietan, kauran, podokarpan a labdan. Dále byly zahrnuty sloučeniny jako enmein, cesalpiny,



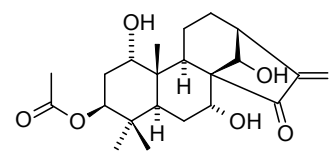
rabdosianon I



rabdosianon II

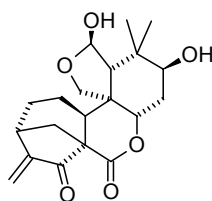


kamebanin

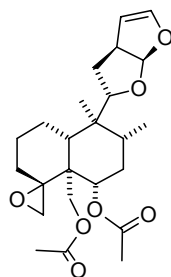


isodomedin

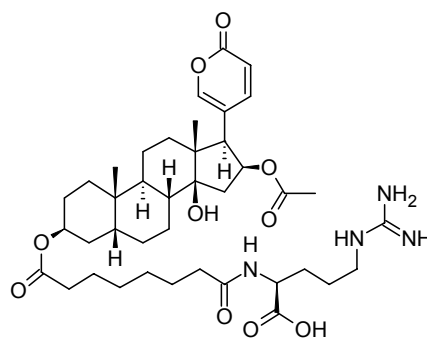
marrubiin, chaparrin, klerodin a kolumbin. Má-li být sloučenina této skupiny vnímána jako hořká, musí obsahovat alespoň jednu „jednotku“, která se skládá z donoru a akceptoru protonu, přičemž tyto dvě skupiny musí být od sebe vzdáleny 0,15 nm, a umožňovat tak vznik vodíkové vazby³³.



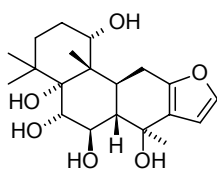
enmein



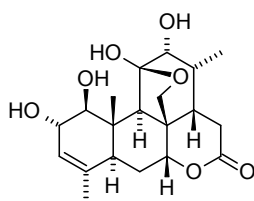
klerodin



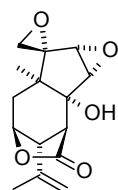
bufotoxin



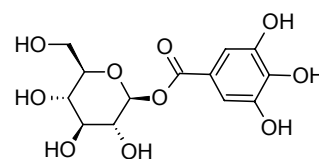
δ-cesalpin



chaparrin



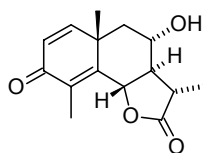
koriamyrtin



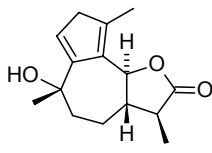
β-glukogallin

Koriamyrtin je hlavní toxický a hořký princip listů a plodů *Coraria myrtifolia* L., *Coriariaceae*. β-Glukogallin je hořká látka (glukotannoid) z rebarbory lékařské, *Rheum officinale* Baill., *Polygonaceae*. Podobným malým glykosidem je i glukovanilin hořká látka ze zelených tobolek vanilky *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews, *Orchidaceae*. Hořký je i alkaloid harman z kůry kubánského mahagonu *Sickingia rubra* (Mart.) K. Schum. (syn. *Arariba rubra* Mart.), z čeledi *Rubiaceae*.

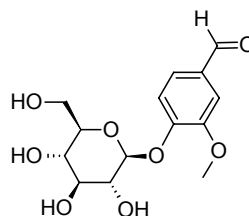
Z nerozvitých květenství rostlin pelyňků, *Artemisia* sp., zvláště *Artemisia maritima* L. (*Asteraceae*) byly izolovány hořké terpeny artemisin, artabsin a anabsinthin.



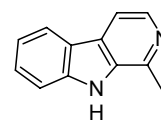
artemisin



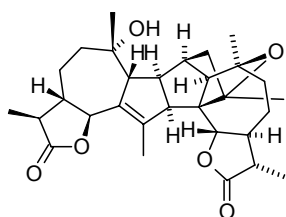
artabsin



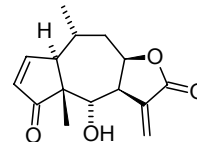
glukovanilin



harman



anabsinthin

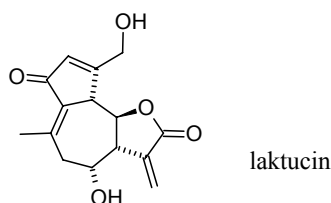


helenalin

Hořký je i bufotoxin, hlavní toxin jedu běžné evropské ropuchy *Bufo vulgaris*. I další bufadienolidy (např. scillaren A v mořské cibuli, *Urginea maritima* (L.) Baker, *Hyacinthaceae*) jsou také hořké.

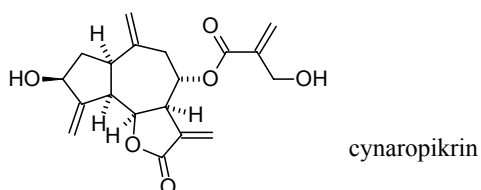
Hořkost salátu (locika setá, *Lactuca sativa* L., *Asteraceae*), ale i příbuzné lociky jedovaté, *Lactuca virosa* L., a listové čekanky, *Cichorium intybus* L., *Cichoriaceae*)

způsobuje azulenový derivát laktucin, též uváděný jako analgetikum a sedativum³⁴.

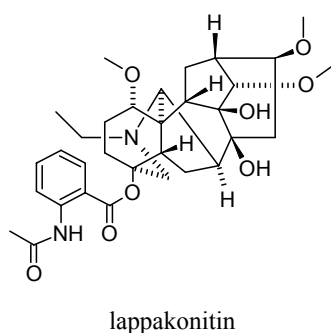
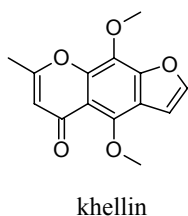


Hořký helenalin, pseudogujanolid, seskviterpenový lakton byl izolován ze zápleváku podzemního, *Helenium autumnale* L., a hořkého *H. amarum* (Raf.) H. Roch, i malohlavého *H. microcephalum* DC., *Asteraceae*.

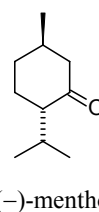
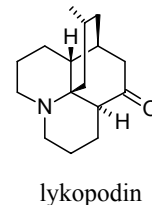
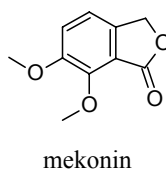
V čeledi *Asteraceae* jsou hojně zastoupeny seskviterpenové laktony. Cynaropikrin (seskviterpen guajanolidového typu) je hlavní obsahovou složkou hořčinné frakce listů jak artyčoků (artyčok zeleninový *Cynara scolymus* L., artyčok kardový *C. carduncullus* L.), tak v současnosti významné rostliny parchy saflorovitě (*Leuzea carthamoides* (Willd.) Iljin. Listy obou rostlin našly použití ve formě čajoviny a extraktů jako roborans, tonikum a digestivum³⁵. V případě parchy saflorovitě je tento zdroj o to zajímavější, že obsahuje frakci ekdysteroidů (především 20-hydroxyekdyson).



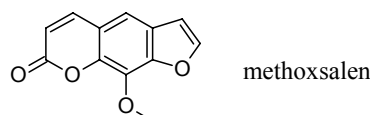
Hořký khellin (visammin) je ze semen morače zákrvnatého, *Ammi visnaga* Lam., *Apiaceae* a je jednou z aktivních složek tradiční drogy známé jako „khella“. Lappakonitin je hořká substance z oddenků a listů několika různých omějů *Aconitum* sp. (*Helleboraceae*). Jak to již u alkaloidů, natož z oměje, bývá, je značně jedovatý. V omějích se vyskytuje několik dalších hořkých diterpenových alkaloidů podobné struktury, jako lykoktonin, roylin aj., které se používají jako analgetika při neuralgiích a artritidách.



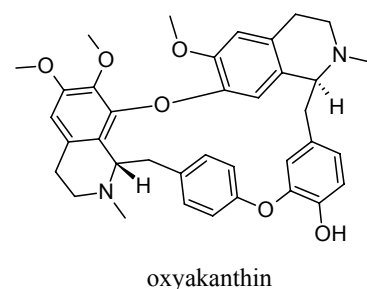
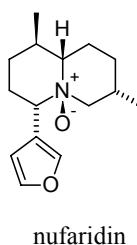
Z opia byl izolován ostře hořký mekonin, jenž se vyskytuje také ve vodilce kanadské, *Hydrastis canadensis* L., *Hydrastidaceae*. Hořký lykopolin se vyskytuje v plavuníku zploštělém *Diphasiastrum complanatum* (L.) Holub (syn. *Lycopodium complanatum* L.), či plavuni vidlače, *Lycopodium clavatum* L., *Lycopodiaceae*, tedy v rostlinách vyznačujících se antipyretickým účinkem. Hořký olejovitý (–)-menthon je nejběžnějším optickým isomerem menthonu, který se nalézá v řadě vonných olejů rostlin především z čeledi *Lamiaceae* (máta peprná, *Mentha x piperita* L., aj. taxony).



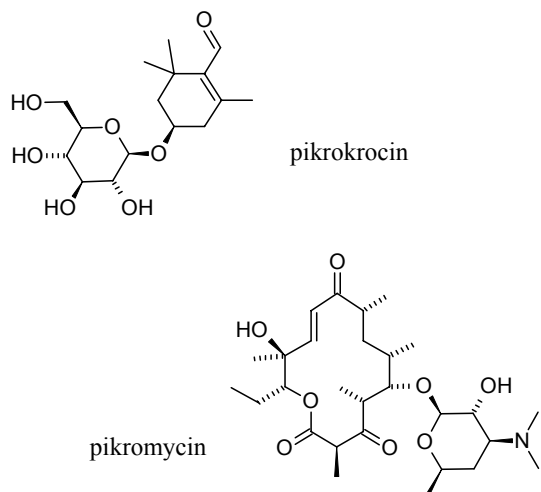
Methoxsalen je látka z řady rostlin *Fabaceae*, *Apiaceae* a *Rutaceae*, která se projevuje po odeznění hořké chuti pocitem brnění. Je to o to zajímavější, že je téměř nerozpustná ve vodě.



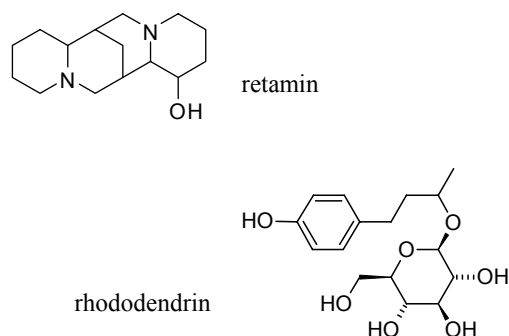
V oddencích stulíku žlutého (*Nuphar luteum* L., *Nymphaeaceae*) se nachází alkaloid nufaridin, který je jako volná báze bez chuti, leč ve formě soli je hořký. Alkaloid oxyakanthin (vinetin) z kořenů dříví obecného *Berberis vulgaris* L., *Berberidaceae* je jako volná báze sice hořký, ale opět téměř nerozpustný ve vodě.



Hořký glykosid pikrokrocin je izolován z blizen šafránu setého, *Crocus sativus* L. *Iridaceae*. Velmi hořký pikromycin (pikromycin, albomycetin, amaromycin) je izolován jako prvé makrolidové antibiotikum z aktinomycet, je zařazován také do skupiny polyketidů. Je zde syntetizován skupinou enzymů polyketidových synthas.

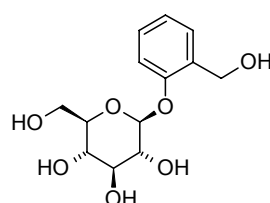
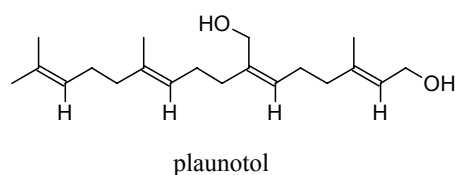


Retamin z kůry a mladých větvíček kručinky *Genista sphaerocarpa* Lam., *Fabaceae*, je opět jedním ve vodě nerozpustným alkaloidem, který je hořký. Hořký glykosid rhododendrin (betulosid) je izolován z listů řady pěnišníků, *Rhododendron* sp., *Ericaceae*.

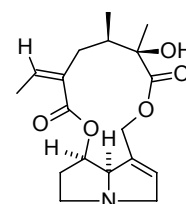


Z kůry topolu (*Populus* sp., *Cortex populi*) a vrby (*Salix* sp., *Cortex salicis*), *Salicaceae*, je vodou extrahován hořký salicin, který byl používán jako analgetikum, antipyretikum a antirheumatikum a který byl vzorem pro vývoj řady velmi účinných derivátů kyseliny salicylové. Senecionin (aurein) je dalším ve vodě nerozpustným hořkým alkaloidem. Tento hepatotoxický pyrrolizidinový alkaloid se vyskytuje v starčku obecném *Senecio vulgaris* L., *Asteraceae*.

Acyklický diterpenový alkohol plaunotol izolovaný z thajské léčivé rostliny *Croton sublyratus* Kurz, *Euphorbiaceae*, má kromě hořké chuti protivředovou účinnost.

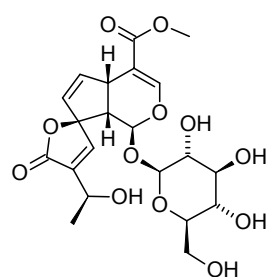


salicin

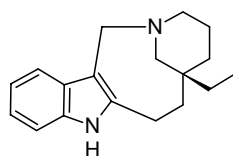


senecionin

Plumierid (agoniadin) je hořký glykosid nacházející se v kůře *Plumeria lancifolia* Muell.-Arg., *Apocynaceae* a několika dalších plumerií. Hořký alkaloid kebračamin (kamassin) se vyskytuje v kůře štítosemanky kebračo *Aspidosperma quebracho-blanco* Schlecht., *Apocynaceae*.

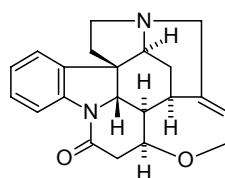


plumierid

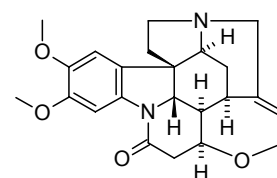


kebračamin

Silně hořký alkaloid strychnin má číslo hořkosti 700 000 a je velmi jedovatý; LD₅₀ u kryš je méně než 1 mg kg⁻¹. Vyskytuje se v kulčibě dávivé, *Strychnos nuxvomica* L., *Loganiaceae*, spolu s velmi hořkým brucinem.

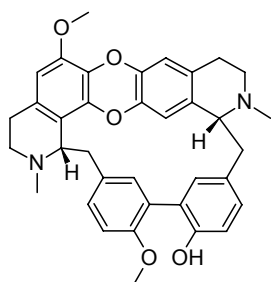


strychnin

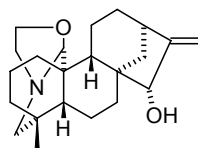


brucin

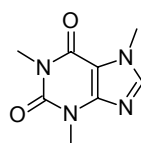
Tiliakorin je alkaloid z kůry *Tiliacora acuminata* Miers, *Menispermaceae*. Hořký alkaloid veatchin se vyskytuje v *Garrya veatchii* Kellogg, *Garryaceae*.



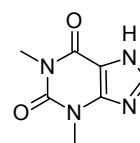
tiliakorin



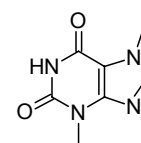
veatchin



kofein

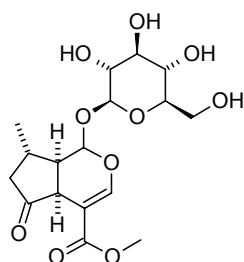


teofylin



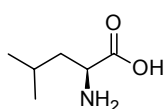
teobromin

Hořký glykosid verbenalin (kornin) byl izolován ze sporýše lékařského *Verbena officinalis* L., *Verbenaceae* či dřínu květnatého *Cornus florida* L., *Cornaceae*.

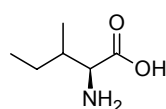


verbenalin

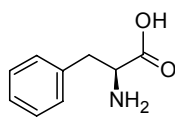
Jsou známy také typicky hořké aminokyseliny: L-leucin, L-isoleucin, L-fenylnalanin, L-tyrosin a L-tryptofan. Dále je znám hořký galegin z nati a také ze semen jestřabiny lékařské *Galega officinalis* L., *Fabaceae*, hořký vitamin B₂ (riboflavin) a značně hořký kofein z kávy (*Coffea arabica* L. aj., *Rubiaceae*), teobromin z kaka (kakaovník pravý, *Theobroma cacao* L., *Sterculiaceae*) a teofylin z listů čajovníku čínského *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze (syn. *Thea sinensis* L.), *Theaceae*.



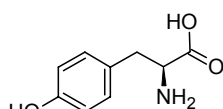
L-leucin



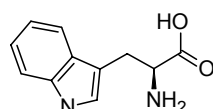
L-isoleucin



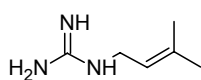
L-fenylnalanin



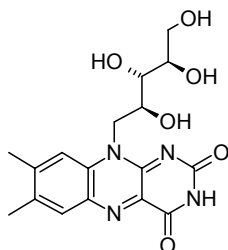
L-tyrosin



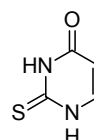
L-tryptofan



galegin

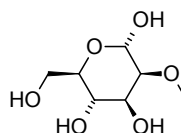


riboflavin

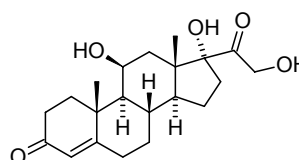


2-thiouracil

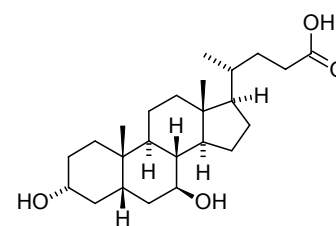
Methyl- α -D-mannopyranosid je např. sacharidová část glykosidu konkanavalinu A, která vyniká s hořkosladkou chutí. Chuťová adaptace na sacharosu vede k zdůraznění pocitu jeho hořkosti a naopak adaptace na chinin redukuje hořkost methyl- α -D-mannopyranosidu³⁶.

methyl- α -D-mannopyranosid

Hořké látky se vyskytují i v říši živočišné, jako např. známý hydrokortizon, hlavní glukokortikoid produkovaný kůrou nadledvinek. Hořké jsou i některé další steroidy, jako např. žlučová kyselina ursodiol, vyskytující se jako konjugát s taurinem ve žluči medvědů (*Ursus*).

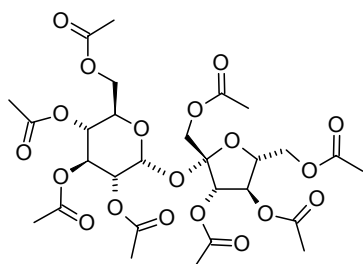


hydrokortizon



ursodiol

Přestože je tento článek o hořkých látkách z přírody, musíme se zmínit o oktaacetyl-sacharose, zvané též amerin či SOA, která slouží m.j. k náhradě chininu v některých limonádách. Je to látka, která je údajně naprosto netoxická (samozřejmě v používaných koncentracích a množstvích), která je však tak hořká, že hořko v ústech vyvolá již jen otevření prachovnice, ve které je uchována. Její hořkost je tak silná, že se v Rusku používala k denaturování alkoholu



amerin

v koncentraci 0,001 % a to hovoří za mnoho.

5. Trocha teorie o chuti hořké

Jak píší čeští pivovarníci³⁷, vjem hořké chuti v ústech, jak je všeobecně známo, vyvolává bez ohledu na typ hořkosti zvýšenou sekreci trávicích šťáv a tím i chuť k přijímání potravy. Konkrétně např. sekrece příušních slinných žláz, které jsou největšími slinnými žlázami, je reflexně vyvolávána podněty z oblasti zadní třetiny jazyka, tedy z oblasti nejcitlivější pro vnímání hořkosti. Tyto žlázy mají na rozdíl od ostatních slinných žláz výrazně seriózní funkci (produkce enzymu) a současně obohacují potravu vodou. Výrazně se uplatňují zvláště při požívání suché potravy. S tím patrně souvisí i jisté podněty, vedoucí ke konzumaci tekutiny. Reflexně na základě podnětů vycházejících z chuťových receptorů lze vyvolat rovněž sekreci žaludečních šťáv. Silná intenzita hořkosti piva českého typu podporuje proces trávení a je zdrojem podnětu pobízejících ke konzumaci tuhé potravy i tekutin. Tento fyziologický mechanismus je podporován mírně drsným, až drsným charakterem hořkosti. Drsnější hořkost déle ulpívá v ústech a tím i déle dráždí chuťové receptory. Naproti tomu vjem velmi jemné, až jemné hořkosti daleko rychleji vymizí a má tudíž daleko nižší fyziologickou účinnost.

S hořkou chutí je to zajímavé. Například mějme chuťový receptor TAS2R16, kterým zjišťujeme hořkou chuť kyanogenních glykosidů. Gen pro tento receptor se vyskytuje ve dvou variantách, jež se vzájemně liší v citlivosti. Obyvatelé subsaharské Afriky mají v drtivé většině (85 %) necitlivou variantu genu. Naopak, zbytek světa je z 90 % vybaven citlivou variantou.

Vysvětlení je, jak už to autoři podobných studií prezentují, zcela prosté. Necitlivá varianta genu je výhodná v oblastech zamořených malárií. Její nositelé konzumují větší množství rostlin s obsahem kyanogenních glykosidů a ty je pak chrání před malárií. Zároveň se tak sice trochu otravují, ale to je daň, kterou platí za ochranu před parazitickými prvky a nebezpečnou chorobou. V době, kdy se člověk druhu *Homo sapiens* vydal mimo Afriku, přišla vhod citlivá varianta. V chladnějších oblastech už malárie nepředstavovala takovou hrozbu a lidem se začalo vyplácet, když se rostlinám obsahujícím kyanogenní glykosidy vyhnuli³⁸.

Na úrovni vědeckých výpočetních studií jde výzkum

ještě hlouběji. Studium interakcí ligand-receptor u receptoru hořké chuti byly získány zajímavé výsledky³⁹. Fenylylthiokarbamid je intenzivně hořký, ale jen pro některé lidi; pro jiné je bez jakékoliv chuti. Bylo navrženo, že fenylylthiokarbamid vyvolává pocit hořkosti na úrovni interakce s lidským receptorem napojeným na G protein (hTAS2R38) kódovaný genem PTC. Příznak necitlivosti k chuti fenylylthiokarbamidu byl přiřazen k polymorfii třech jednotlivých nukleosidů v genu PTC. S použitím krystalové struktury hovězího rhodopsinu jako šablony byla generována 3D struktura receptorů hořké chuti hTAS2R38 a hTAS2R16. Tak bylo možno zmapovat u receptorů aminokyseliny ovlivněné genetickou polymorfii a navrhnout molekulární funkci pro dva z nich, které vysvětlovaly výskyt příznaku necitlivosti k hořké chuti.

6. Závěr

Přehled přírodních látek hořké chuti ukazuje zajímavost této skupiny obnovitelných materiálů, přispívá k poznání biodiverzity sekundárních metabolitů a může přispět k inspiraci, např. potravinářských a farmaceutických chemiků při hledání nových možností využití takových látek v praxi. Hledání nových hořčinných látek s čistě hořkou chutí použitelných nejen v humánní, ale i zemědělské praxi (živočišné výrobě, kde se mohou uplatnit jako určitý tonizující prostředek) je však jen jednou stránkou problému hořkosti: druhou je hledání postupů (a látek) – modifikátorů vnímání⁴⁰, které mohou tento vjem naopak tlumit. Dokud však nebudou dobře známy molekulární mechanismy principů vnímání hořkosti, budeme jen na začátku tohoto studia „tlumení hořké chuti“, tak jako v současnosti.

Autoři tímto děkují MŠMT za podporu v rámci výzkumného záměru č. MSM6046137305 a grantu NAZV ČR č. 1G46085.

LITERATURA

- Čopíková J., Lapčík O., Uher M., Moravcová J., Drašar P.: Chem. Listy 100, 778 (2006).
- Čopíková J., Uher M., Lapčík O., Moravcová J., Drašar P.: Chem. Listy 99, 802 (2006).
- Lapčík O., Čopíková J., Uher M., Moravcová J., Drašar P.: Chem. Listy 101, 44 (2007).
- Fišar Z.: Chem. Listy 100, 233 (2006).
- Fišar Z.: Chem. Listy 100, 314 (2006).
- Heřmanová V., Bárta J., Čurn V.: Chem. Listy 100, 495 (2006).
- Benešová E., Marková M., Lipovová P., Králová B.: Chem. Listy 99, 324 (2006).
- Harmatha J.: Chem. Listy 99, 622 (2006).
- Chandrashekar J., Hoon M. A., Ryba N. J. P., Zuker C. S.: Nature 444, 288 (2006).
- Štafl F.: *Likérnický receptář*, nákladem vlastním,

- Praha 1940.
11. Yamada Y.: *New Food Ind.* 44, 49 (2002); *Chem. Abstr.* 137, 309631 (2002).
 12. The Merck Index, 13th Ed., Merck & Co. Inc., Whitehouse Station, 2001, electronic version by CambridgeSoft, Cambridge.
 13. Ziegler H. (ed.): *Flavourings*, 2. vyd. Wiley-VCH, Weinheim 2007.
 14. Vyhláška č. 304/2004 Sb.
 15. Rouseff R. (ed.): *Bitterness In Foods And Beverages, (Developments in Food Science, 25)*. Elsevier, Amsterdam 1990.
 16. Moncrieff R.: *Perfum Essent. Oil Rec.* 42, 51 (1951).
 17. Pfaffmann C., Bartoshuk L. M., McBurney D. H.: *Handbook of Sensory Physiology*, Part 2, 75, (Beidler L. M., ed.), Springer, Berlin 1971.
 18. Samuelson G.: *Drugs of Natural Origin, A Textbook of Pharmacognosy*. Swedish Pharmaceutical Press, Stockholm 1992.
 19. *Český lékopis 2005*, str. 508, GRADA Publishing, Praha 2005.
 20. Remington J. P., Wood H. C. (ed.): *The Dispensatory of the United States of America, 1918*; <http://www.henriettesherbal.com/eclectic/usdisp/> (staženo 31. 1. 2007).
 21. Sugimoto N., Sato K., Yamazaki T., Tanamoto K.: *Shokuhin Eiseigaku Zasshi* 44, 328 (2003).
 22. Vanhaelen M., Vanhaelen-Fastr R.: *Phytochemistry* 14, 2709 (1975).
 23. <http://www.florahealth.com/flora/home/Canada/HealthInformation/Encyclo-pedias/BlessedThistle.htm> (staženo 4. 2. 2007).
 24. http://en.wikipedia.org/wiki/Angostura_bitters (staženo 31. 7. 2007).
 25. Soukup R. J., Parliment T. H.: *Fr. Demande FR 2529446* (1984), *Chem. Abstr.* 100, 137686 (1984).
 26. <http://www.vscht.cz/kch/kestazeni/sylaby/sladarstvi.pdf> (staženo 31. 1. 2007).
 27. Von Hirsch H.: *Ger. Offen. DE 2007023* (1971); *Chem. Abstr.* 75, 139418 (1971).
 28. Shimura M., Hasumi A., Minato T., Hosono M., Miura Y., Mizutani S., Kondo K., Oikawa S., Yoshida A.: *Biochim. Biophys. Acta, Mol. Cell Biol. Lipids* 1736, 51 (2005).
 29. Yamada Y., Hagiwara K., Iguchi K., Suzuki S.: *Tetrahedron Lett.* 1977, 2099.
 30. Yamada Y., Hagiwara K., Iguchi K., Suzuki S., Hsu H.-Y.: *Chem. Pharm. Bull.* 26, 3107 (1978).
 31. Yamada Y., Sako N., Ando E., Yamada M., Kikuzaki H., Yamamoto T.: *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 63, 524 (1999).
 32. Kubo I., Miura I., Kamikawa T., Isobe T., Kubota T.: *Chem. Lett.* 1977, 1289.
 33. Kubota T., Kubo I.: *Nature* 223, 97 (1969).
 34. Wesolowska A., Nikiforuk A., Michalska K., Kisiel W., Chojnacka-Wojcik E.: *J. Ethnopharmacol.* 107, 254 (2006).
 35. Opletal, L., Sovová, M., Dittrich, M., Solich, P., Dvořák, J., Krátký, F., Čerovský, J., Hofbauer, J.: *Česk. Slov. Farm.* 46, 247 (1997).
 36. McBurney D. H., Gent J. F.: *Chem. Senses* 3, 45 (1978).
 37. <http://www.prionord.cz/projects/colitiscrohn/product.asp?productid=224> (staženo 31. 1. 2007).
 38. <http://www.osel.cz/index.php?clanek=1377> (staženo 31. 1. 2007).
 39. Miguet L., Zhang Z. D., Grigorov M. G.: *J. Receptors Signal Trans.* 26, 611 (2006).
 40. Moravcová J., Opletal L., Lapčík O., Čopíková J., Uher M., Drašar P.: *Chem. Listy* 101, v tisku (2007).

L. Opletal^a, J. Čopíková^b, M. Uher^c, O. Lapčík^d, J. Moravcová^d, and P. Drašar^d (^a Department of Pharmaceutical Botany and Ecology, Faculty of Pharmacy, Charles University, Hradec Králové, ^b Department of Carbohydrate Chemistry and Technology, Institute of Chemical Technology, Prague, ^c Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak Technical University, Bratislava, ^d Department of Chemistry of Natural Compounds, Institute of Chemical Technology, Prague): **Naturally Occurring Bitter Compounds**

A brief survey of bitter compounds occurring in nature aims to show the importance of this group of renewable materials and to contribute to the knowledge of biodiversity of secondary metabolites which can be utilized, among others, in food and pharmaceutical industry. The beauty and biodiversity of this group of mostly secondary metabolites are illustrated.

LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

VYUŽITÍ HPLC KE STANOVENÍ PRODUKTU EXPRESE GENU PRO MIKROBIÁLNÍ TYROSINDEKARBOXYLASU

**RADKA BURDYCHOVÁ a VLASTIMIL
DOHNAL**

Ústav technologie potravin, Agronomická fakulta, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno

burdycho@node.mendelu.cz

Došlo 12.1.07, přijato 15.2.07.

Klíčová slova: tyrosindecaboxylasa, biogenní aminy, tyramin, HPLC, PCR

Úvod

Tyrosindecaboxylasa je mikrobiální enzym ze třídy lyas, který katalyzuje přeměnu volné aminokyseliny tyrosinu v potravinovém substrátu na toxický biogenní amin tyramin. Mezi nejdůležitější druhy mikroorganismů s výraznou produkcí tyrosindecaboxylasy patří rody *Bacillus*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Salmonella* a *Shigella*, ale také mléčné bakterie rodu *Lactobacillus*, *Pediococcus* a *Streptococcus* a mnoho příslušníků čeledi *Enterobacteriaceae*¹.

Enzym tyrosindecaboxylasa je v mikrobiálním genu kódován specifickou DNA sekvencí, genem pro tyrosindecaboxylasu (*tyrDC*). Tato DNA sekvence je součástí genového klastru, který je kromě genu pro tyrosindecaboxylasu složen z genů pro tyrosyl-tRNA syntetasu (*tyrRS*), genu pro tyrosin permeasu (*tyrP*) a genu pro Na⁺/H⁺ antiporter (*nhaC*). Molekulární detekce potenciálních producentů tyrosindecaboxylasy spočívá v identifikaci specifické *tyrDC* sekvence v genomu jednotlivých mikroorganismů.

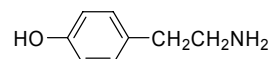
Expresí genu pro *tyrDC* je řízena promotorem, umístěným proti směru jeho transkripce. Produkt exprese, enzym tyrosindecaboxylasa, může být nepřímo detegován stanovením obsahu tyraminu ve vzorku, v němž je přítomen mikroorganismus s decaboxylasovou aktivitou. Pro přesné stanovení je využíváno optimální živné médium pro konkrétní mikroorganismus s tyrosindecaboxylasovou aktivitou s přesně definovaným množstvím tyrosinu, substrátu pro enzymovou katalytickou přeměnu tyrosinu na biogenní amin tyramin. Při stanovení tyraminu je využívá-

na řada separačních analytických metod, nejčastěji vysokotlaká kapalinová chromatografie (HPLC), v některých případech je nutné použít micelární elektrokinetickou kapilární chromatografii. Vzhledem k absenci chromoforu je nutné stanovovat analyt před vlastní detekcí derivatizovat, což je možné uskutečnit buď před nástřikem na kolonu nebo až po jeho výstupu z kolony. Nejčastěji používanými derivatizačními činidly jsou dansylchlorid (5-dimethylaminonaftalen-1-sulfonylchlorid) a *o*-ftaldialdehyd¹.

Tyramin (*p*-hydroxyfenylethylamin) je aromatický biogenní amin (obr. 1), který je ve výživě člověka důležitý jako zdroj dusíku a prekurzor pro syntézu hormonů, alkaloidů, nukleových kyselin a bílkovin².

Ačkoli je tyramin nepostradatelný pro zajištění řady velmi důležitých životních funkcí, může konzumace potravin obsahující vysoké koncentrace této látky vyvolat toxický účinek, nejčastěji vazomotorní, konkrétně vazokonstrikční³. Toxické dávky tyraminu je obtížné stanovit, velmi totiž záleží na individuálních rozdílech mezi lidmi a na přítomnosti různých biogenních aminů v potravine (potenciace). Pro tyramin je toxická dávka asi 20–80 mg kg⁻¹ potravin.

Zatím v žádné zemi neurčuje legislativa výrobcům deklarovat obsah tyraminu na obalu. Takovýto údaj by jistě ocenili především jedinci trpící migrénami, dietologové a alergici. Pro výrobce by však tato povinnost byla značně obtížná, což vyplývá z velkého kolísání obsahu tyraminu v rámci určitého druhu potravin. Výzkum proto vyvíjí nejen metody pro stanovení tyraminu v potravinách, ale i jednoduché, rychlé a levné metody pro odhalení příčin jeho produkce.



Obr. 1. Tyramin (*p*-hydroxyfenylethylamin)

Experimentální část

Bakteriální kmeny

Bakteriální buňky *Enterococcus faecalis* CNRZ 238 (cit.⁴) byly kultivovány na médiu s kanamycinem, eskulínem a azidem sodným (Merck, Německo) při 37 °C. Kultura byla použita jako pozitivní kontrola pro PCR a pro kultivaci v decaboxylačním médiu s tyrosinem i jako pozitivní kontrola pro HPLC analýzu.

Startovací kultury určené pro výrobu fermentovaných tepelně neopracovaných trvanlivých salámů (BioCarna, Německo) byly kultivovány na PCA, MRS a M17 agaru

Tabulka I

Použité startovací kultury pro výrobu fermentovaných tepelně neopracovaných masných výrobků, výrobce BioCarna

Označení startovací kultury výrobcem	Složení startovacích kultur (bakteriální druhy)	Detekce DNA sekvencí pro tyrosindekarboxylasu	HPLC detekce tyraminu [mg l ⁻¹ média]
PPX	<i>Pediococcus pentosaceus</i> <i>Staphylococcus xylosus</i>	– ^a –	– ^c –
SG1	<i>Staphylococcus carnosus</i> <i>Streptomyces griseus</i>	– –	– –
SC1	<i>Staphylococcus carnosus</i> <i>Lactobacillus curvatus</i>	– + ^b	– 0,45 ± 0,01
PLS	<i>Pediococcus acidilactici</i> <i>Staphylococcus carnosus</i> <i>Lactobacillus plantarum</i>	– – –	– – –
CXK	<i>Staphylococcus carnosus</i> <i>Staphylococcus xylosus</i> <i>Lactobacillus sakei</i>	– – +	– – 0,40 ± 0,01
PPLX	<i>Pediococcus pentosaceus</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Staphylococcus xylosus</i>	– – –	– – –
LG1	<i>Staphylococcus carnosus</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Streptomyces griseus</i>	– – –	– – –

^a Sekvence nedetegována, ^b sekvence detegována, ^c tyramin nedetegován

(Merck, Německo). Pro rozlišení a identifikaci jednotlivých mikrobiálních druhů byly použity komerční API testy (Biomérieux, Francie), katalasa test a Gramovo barvení. Složení použitých startovacích kultur je uvedeno v tabulce I.

Izolace DNA a PCR screening

Lyze buněk, izolace DNA z bakteriálních kultur, její purifikace a způsob kontroly koncentrace a čistoty byly provedeny dle autorů^{5,6}. Pro amplifikaci specifické DNA sekvence kódující bakteriální tyrosindekarboxylasu byla použita dvojice specifických oligonukleotidových primerů TD2/TD5 (cit.⁷). Gen pro tyrosindekarboxylasu byl amplifikován pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR). PCR byla provedena v termocykleru PTC 130 (MJ Research, Waltham, MA, USA) v celkovém objemu 25 µl a obsahovala 10 ng purifikované DNA, 10 pmol každého primeru TD2/TD5, 1 U HotStar Taq DNA polymerasy a příslušné množství optimalizované směsi specifických komponent pro PCR (HotStar Master Mix, Qiagen, Hilden, Německo). Templátové DNA byly nejprve denaturovány inkubací při 95 °C 15 min. DNA byla amplifikována ve 30 cyklech (denaturace při 95 °C 45 s, hybridizace primerů při 52 °C po dobu 45 s a syntéza komplementárního DNA řetězce při 72 °C 75 s). V posledním amplifikačním cyklu byla teplota 72 °C prodloužena na 10 min, a to pro

kompletní syntetizování finálního PCR produktu. PCR produkty byly vizualizovány pomocí agarosové gelové elektroforézy na přístroji Easy, model B1 (Owl Scientific, USA) a vizualizovány na UV transluminátoru (EB-20E Ultralum, USA) po barvení ethidium bromidem (0,5 µg ml⁻¹). Jako pozitivní kontrola PCR byla použita DNA purifikovaná z buněk *Enterococcus faecalis* CNRZ 238, jako negativní kontrola PCR byly použity komponenty PCR bez DNA.

Stanovení tyraminu

Bakteriální kmeny byly kultivovány v dekarboxylačním médiu⁸ s tyrosinem (10 g l⁻¹ média) při 37 °C 48 h. Mikrobiální produkce tyraminu byla potvrzena analýzou HPLC a vzorky byly připraveny modifikovanou metodou⁹. Kultivační média byla po kultivaci centrifugována při 3000 otáčkách/min po dobu 10 min a při teplotě 4 °C na centrifuze Hettich Universal 32R, Německo. Supernatant (1 ml) byl smíchán s 1 ml 0,1 M kyseliny chlorovodíkové a 20 µl interního standardu 1,7-diaminoheptanu (Sigma-Aldrich, Německo). Směs byla promíchána (MS2 Minishaker, IKA Werke, Germany) a znovu centrifugována. Supernatant byl filtrován přes 0,45 µm nylonovou membránu. Filtrát byl derivatizován *o*-ftalaldehydem v borátovém pufru (pH 9,5) (Sigma-Aldrich, Německo) za přítomnosti 2-sulfonylethan-1-olu (Merck, Německo). Stej-

ným způsobem byl zpracován i standard tyraminu (Sigma-Aldrich, Německo).

Vzorky byly podrobeny chromatografické analýze použitím Agilent HP 1100 systému (Agilent, Německo), který byl složen z vakuové odplynovací jednotky (G1322A), kvartérní pumpy (G1311A), automatického dávkovače (G1313A) a fluorescenčního detektoru (G1321A). Pro analýzu byla dále použita Zorbax XDB C8 kolona (4,6 × 150 mm, velikost částic 5 μm) s předkolonou Meta Guard Inertsil C18 (4,6 × 30 μm, velikost částic 5 μm) a metoda vyvinutá v naší laboratoři⁹. Ke gradientové eluci tyraminu byla použita mobilní fáze složená z 0,1 M acetátového pufru, A (pH 5,8) a acetonitrilu, ACN (Merck, Německo) (čas 0–27 min: A 60–23 %, ACN 40–77 %) při průtokové rychlosti 0,6 ml min⁻¹.

Kvalitativně byl tyramin ve vzorcích stanoven porovnáním retenčních časů jednotlivých vzorků a retenčního času standardu. Kvantitativní zastoupení tyraminu bylo vypočteno z plochy specifického píku a využitím kalibrační křivky.

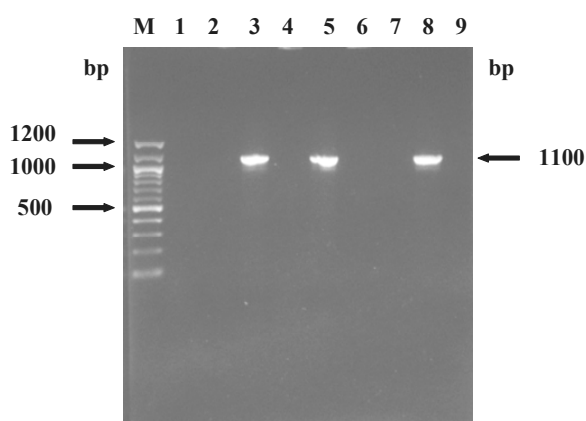
Výsledky a diskuse

Většina odborníků se domnívá, že startovací kultury mohou zvýšit obsah biogenních aminů ve finálním výrobku. Z hlediska prevence vzniku biogenních aminů v potravinách je tedy nutné volit takové mikroorganismy, které netvoří biogenní aminy. Zároveň by startovací kultura měla být schopná potlačit konkurenční mikroflóru tvořící biogenní aminy^{10,11}. Pro odhalení potenciálních producentů biogenních aminů musí být definovány vhodné skriningové metody. V této práci byla optimalizována metoda pro typizaci mikroorganismů produkujících tyramin. Tato metoda může být použita nejen pro skrining startovacích kultur používaných pro výrobu fermentovaných potravin, ale i pro odhalení jakýchkoli jiných mikroorganismů tvořících tyramin, např. z řad kontaminujících a doprovodných mikroflóry.

Při nepřímé detekci biogenního aminu tyraminu byly využity metody molekulární biologie v kombinaci s analytickými metodami. Specifita polymerázové řetězové reakce (PCR) pro detekci specifické sekvence genu pro tyrosindecarboxylasu byla ověřena použitím purifikované DNA buněk *Enterococcus faecalis* CNRZ 238, u nichž byla prokázána⁷ produkce tyrosindecarboxylasy. V reakci byl amplifikován PCR produkt o předpokládané velikosti (1100 bp).

Po ověření specifity a funkčnosti byla PCR použita pro skrining startovacích kultur používaných pro výrobu fermentovaných tepelně neopracovaných trvanlivých salámů. Přehled analyzovaných startovacích kultur uvádí tabulka I.

Z čistých kultur jednotlivých bakteriálních druhů byla izolována a purifikována DNA, která byla použita jako DNA matrice (10 ng) pro PCR na detekci genu pro tyrosindecarboxylasu. Postup detekce genu pro tyrosindecar-



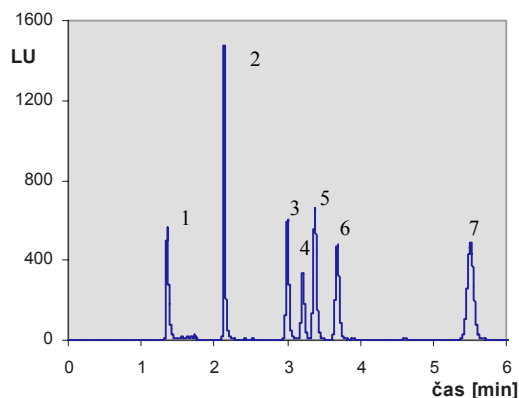
Obr.2. PCR detekce *tyrDC* pozitivních startovacích kultur; M: 100 bp ladder (New England Biolabs), běh č. 1–7: startovací kultury (sestupné pořadí tab. I), běh č. 8: pozitivní kontrola – *E. faecalis* CNRZ 238, běh č. 9: negativní kontrola (komponenty PCR bez DNA)

boxylasu byl stejný jako u kontrolního kmene. Specifické PCR produkty byly amplifikovány s použitím DNA bakterií druhu *Lactobacillus sake* a *Lactobacillus curvatus*. Přítomnost specifických PCR produktů v těchto kulturách je uvedena na obr. 2.

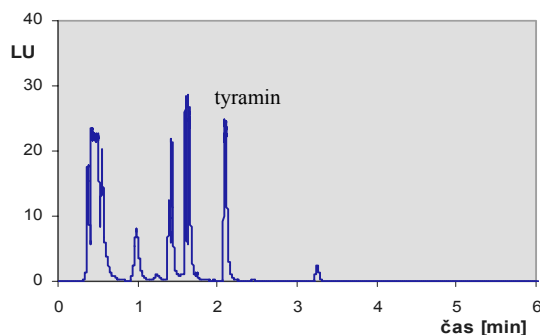
Expresí specifické sekvence DNA byla ověřena analytickým stanovením produktu exprese této sekvence – tyraminu, a to v médiu s přesně definovaným množstvím aminokyseliny tyrosinu (10 g l⁻¹ média). Kvalitativně a kvantitativně byl tyramin stanoven metodou vysoce účinné kapalinové chromatografie (HPLC).

V obou vzorcích médií po kultivaci prověřovaných bakteriálních kultur byla potvrzena přítomnost tyraminu. Vzhledem ke skutečnosti, že detekční limit tyraminu je 2,90 ± 0,01 ng ml⁻¹, lze s jistotou prohlásit, že u sledovaných kultur došlo při kultivaci v médiu s tyrosinem k expresi sledovaného genu, tedy k produkci bakteriální tyrosindecarboxylasy. Stanovená množství tyraminu se vzájemně podstatně nelišila (0,40 ± 0,01 mg l⁻¹ média pro *Lactobacillus sake* a 0,45 ± 0,01 mg l⁻¹ média pro *Lactobacillus curvatus*). To však může být ovlivněno standardním složením kultivačního média, konkrétně uniformní dostupností substrátu. Je známo, že se decarboxylasová aktivita mikroorganismů může značně lišit. V rámci určitého mikrobiálního druhu dokonce existují kmeny, které se mohou touto aktivitou lišit až o tři řády¹². V této práci uvedená hypotéza potvrzena nebyla.

Startovací kultury obsahující blíže nespecifikované kmeny dvou bakteriálních druhů *Lactobacillus sake* a *Lactobacillus curvatus* byly identifikovány jako potenciální producenti tyrosindecarboxylasy a mohou se ve fermentovaných trvanlivých salámech účastnit tvorby biogenního aminu tyraminu.



Obr. 3. Chromatogram standardu biogenních aminů ($c = 0,1 \text{ mg mL}^{-1}$); 1: histamin, 2: tyramin, 3: tryptamin, 4: putrescin, 5: 2-fenylethylamin, 6: kadaverin, 7: 1,7-diaminoheptan; LU – luminiscence



Obr. 4. Chromatogram vzorku živné půdy s pozitivním nálezem tyraminu; LU – luminiscence

Vzhledem k ochraně konzumenta před nežádoucími vlastnostmi tyraminu, který mohou za vhodných podmínek startovací kultury SC1 a CXK (tabulka I) obsahující druhy *Lactobacillus sake* a *Lactobacillus curvatus* tvořit, je třeba použití těchto startovacích bakteriálních kultur pro výrobu potravin důkladně zvážit.

LITERATURA

1. Komprda T.: Veterinářství 10, 646 (2005).
2. Davídek J.: *Natural Toxic Compounds of Foods*. CRC Press, Boca Raton 1995.

3. Velíšek J.: *Chemie potravin 1*. OSSIS, Tábor 1999.
4. Coton E., Coton M.: J. Microbiol. Methods. 63, 296 (2005).
5. Sambrook J., MacCallum P., Russell D.: *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Lab. Press, New York 2001.
6. Ausubel F. M., Brent R., Kingston R. E., Moore D. D., Seidman J. G., Smith J. A., Struhl K.: *Current Protocols in Molecular Biology*. Greene Publishing Associates a Wiley-Interscience, New York 1994.
7. Coton M., Coton E., Lucas P., Lonvaud A.: Food Microbiol. 21, 125 (2004).
8. Bover-Cid S., Holzapfel W. H.: Int. J. Food Microbiol. 53, 33 (1999).
9. Komprda T., Smělá D., Pechová P., Kalhotka L., Štencl J., Klejdus B.: Meat Science 67, 607 (2004).
10. Hammes W. P., Hertel C.: Lait 76, 159 (1996).
11. Rice S. L., Koehler P. E.: J. Milk Food Technol. 38, 256 (1976).
12. Kalač P., Křížek M., Pelikánová T., Langová M., Veškrna O.: Food Chemistry 90, 561 (2005).

R. Burdychová and V. Dohnal (Department of Food Technology, Mendel University of Agriculture and Forestry, Brno, Czech Republic): The Use of HPLC for Determination of Expression Product of Microbial Tyrosine Decarboxylase

The aim of this study was verification of the presence or absence of specific DNA sequences coding for tyrosine decarboxylase in the starter cultures used in the fermented sausages production and confirmation of the tyrosine decarboxylase gene expression by rapid HPLC analysis affording the expression product – tyramine.

Genomic DNA from microorganisms used as starter cultures for production of fermented sausages was extracted with phenol. The DNA was used as a template for PCR identification in which a set of oligonucleotide primers based on tyrosine decarboxylase gene sequence was used. Two strains with high tyrosine decarboxylase activity were detected (*Lactobacillus curvatus* and *Lactobacillus sake*). The tyrosine decarboxylase gene expression of these two strains was analyzed by an optimized rapid HPLC method, which confirmed the presence of high concentrations of tyramine. The results show suitability of the described PCR and HPLC methods of screening starter cultures for the presence and expression of the above gene.

FERMENTACE SMĚSÍ LAKTOSY A LAKTULOSY KMENEM

Lactobacillus acidophilus

IVAN BOHAČENKO^a, JITKA PINKROVÁ^a,
JITKA PEROUTKOVÁ^b a MARTA PECHAČOVÁ^b

^a Výzkumný ústav potravinářský Praha, Radiová 7, 102 31 Praha 10, ^b Milcom a.s., Výzkumný ústav mlékárenský, Ke Dvoru 12a, 160 00 Praha 6
ivan.bohacenko@vupp.cz, jitka.pinkrova@vupp.cz,
peroutkova@milcom/as.cz

Došlo 17.4.07, přijato 22.6.07.

Klíčová slova: laktosa, laktulosa, směsi laktosy a laktulosity, fermentace, lactobacillus

Úvod

Laktosa (*O*-β-D-galaktopyranosyl-(1,4)-D-glukopyranosa) a laktulosa (*O*-β-D-galaktopyranosyl-(1,4)-D-fruktofuranoza) jsou disacharidy, které ve své molekule obsahují galaktosu, která je β-glykosidovou vazbou svázána buď s glukosou (laktosa) nebo s fruktosou (laktulosa). Tato rozdílná struktura má však za následek jejich naprosto rozdílné vlastnosti, které určují jak jejich nutriční hodnotu, tak možnosti dalšího využití.

Laktosa se v přírodě vyskytuje pouze v mléce savců a její obsah závisí na živočišném druhu. Nejvyšší obsah laktosy je v lidském mléce 5,5–7,0 %, v kravském čini 4–5 %. Z nutričního hlediska je, stejně tak jako většina ostatních sacharidů, především zdrojem energie pro základní metabolické pochody organismů a dále stimuluje intestinální absorpci vápníku. V zažívacím traktu zdravých lidí je nejprve v horní části tenkého střeva (jejunum) štěpena β-galaktosidasou na glukosu a galaktosu, které jsou následně absorbovány v dolní části tenkého střeva (ileum)¹. Laktosa přítomná v mléce, resp. syrovátce, je též fermentována bakteriemi mléčného kvašení za vzniku kyseliny mléčné, popř. octové, čehož se využívá při výrobě sýrů a fermentovaných mléčných výrobků.

Laktulosa se v přírodě přirozeně nevyskytuje, ale je možno ji připravit uměle, a to isomerací laktosy. Principem reakce je vzájemná konverze aldosa a ketosa v alkalickém prostředí, probíhající přes intermediární endiolátové aniony dle tzv. Lobry de Bruin-Alberda van Ekensteinovy transformace. Kinetiku isomerace laktosy v alkalickém prostředí podrobně studovali Dandene a spol.² Prokázali, že jako hlavní produkt vzniká laktulosa a jako vedlejší produkty galaktosa, ze které může vznikat tagatosa, dále isosacharinové kyseliny a malé množství epilaktosy. Ve velmi malém množství je též laktulosa pří-

tomna ve sterilovaných mlékárenských výrobcích³.

Na rozdíl od laktosy není laktulosa hydrolyzována β-galaktosidasou lidského zažívacího traktu a nemůže tedy být absorbována v tenkém střevě. Jako taková pak prochází do tlustého střeva, kde je relativně rychle fermentována přítomnou mikroflórou za vzniku kyseliny mléčné, popř. i octové⁴. Pokusy *in vitro*⁵ a později i *in vivo*^{6,7} pak bylo prokázáno, že laktulosa pozitivně stimuluje růst a/ nebo aktivitu žádoucí střevní mikroflóry, zvláště bifidobakterií a laktobacilů, při současném potlačování růstu nežádoucích alkalifilních proteolytických bakterií. Pro tyto své vlastnosti byla již dříve klasifikována jako tzv. „bifidogenní faktor“⁸ a i v současné době splňuje náročná kritéria kladená na prebiotika⁹.

Prebiotický účinek laktulosity je též hlavním důvodem pro její využití při výrobě potravin. Např. v Japonsku je již delší dobu přidávána laktulosa do kojenecké výživy a do fermentovaných mléčných výrobků pro dospělou populaci¹⁰. Další oblastí praktického uplatnění laktulosity je farmacie, kde se používá při léčbě chronické zácpy, hepatické encephalopatie, při léčbě potenciálních bacilonosičů salmonelasy a ve stadiu klinického výzkumu jsou její aplikace u dalších onemocnění, např. hypercholesterolemie a zánětlivých střevních onemocnění¹¹.

Bakterie mléčného kvašení fermentují laktosu dvěma metabolickými cestami¹². Při první z nich, uplatňující se především u rodu *Lactococcus*, je laktosa transportována do buněk fosfoenolpyruvát dependentním fosfotransferasovým systémem a hromaděna zde jako laktosa-6-fosfát, který je hydrolyzován 6-fosfo-β-D-galaktosidasou za vzniku glukosy a galaktosa-6-fosfátu. Tyto jsou následně metabolizovány na kyselinu mléčnou. Při druhé cestě, uplatňující se především u rodu *Lactobacillus*, je laktosa akumulována specifickou permeasou a pak intracelulárně hydrolyzována β-galaktosidasou na glukosu a galaktosu. Glukosa je metabolizována na kyselinu mléčnou, zatímco galaktosa je uvolňována do média.

Průběh fermentace laktulosity je v naprosté většině případů uváděn v kontextu se studiem problematiky prebiotik, tj. využívání tohoto nestravitelného disacharidu komplexem bakterií osídlicích tlusté střeva, především laktobacilů a bifidobakterií. Údaje o možných metabolických cestách využívání laktulosity při její fermentaci bakteriemi mléčného kvašení jsou naopak velmi sporadické⁸. Zajímavou studií o růstu bakterií mléčného kvašení a bifidobakterií na laktose a laktulose a vztahu mezi distribucí v nich přítomných β-galaktosidasou a fosfo-β-galaktosidasou, uskutečnili Smart a spol.¹³ Z prezentovaných výsledků vyvodili závěr, že bakterie mléčného kvašení s β-galaktosidasovou nebo fosfo-β-galaktosidasovou aktivitou mohou využívat i laktulosu, což naznačuje, že metabolismus laktulosity není spojen ani s jednou z cest využití laktosy.

Cílem našich experimentů pak bylo studium využívání laktosy a laktulosity při fermentaci jejich směsí s různými poměry těchto sacharidů kmenem *Lactobacillus acidophilus*, prováděné *in vitro* za standardních podmínek. Vzhledem k tomu, že tato problematika nebyla dosud studována,

měly by dosažené výsledky přispět k dalšímu objasňování rozdílů metabolických cest těchto dvou potravinářsky a farmaceuticky významných sacharidů.

Experimentální část

Použité mikroorganismy a substráty

K fermentaci byl použit kmen *Lactobacillus acidophilus* CCDM 92 ze sbírky mlékařských kultur Laktoflora (Milcom a.s.), rezistentní vůči žlučovým solím a nízkému pH.

Substrátem pro fermentaci byl interně připravený MRS bujón o pH 6,2 a o složení:

10 g pepton (Imuna Pharm, Slovensko), 5 g kvasničný extrakt (HiMedia), 10 g masový extrakt (Oxoid), 1 ml Tween 80 (Lach-Ner), 2 g hydrogenfosforečnan draselný, p.a. (Merck), 5 g octan sodný trihydrát, p.a. (Lach-Ner), 2 g citrát diamonný, p.a. (Merck), 0,2 g síran manganatý heptahydrát, p.a. (Lach-Ner), 0,05 g síran manganatý tetrahydrát, p.a. (Lach-Ner), 1000 ml destilovaná voda.

V tomto substrátu byla původní sacharidická komponenta (20 g glukosy) nahrazována laktosou p.a. a laktulosem p.a. (Appli Chem) v následujících variantách:

- I. přídavek 5 hm.% laktosy
- II. přídavek 5 hm.% laktulose
- III. přídavek směsi 6 hm.% laktosy a 1 hm.% laktulose
- IV. přídavek směsi 1 hm.% laktosy a 6 hm.% laktulose
- V. přídavek směsi 5 hm.% laktosy a 5 hm.% laktulose

Stanovení růstových křivek

Jednotlivé varianty substrátů (viz výše) v množství 150 ml byly po sterilizaci (120 °C/15min) očkovány 1 obj.% přídavkem kultury *Lactobacillus acidophilus* CCDM 92. Zaočkovaná média byla kultivována při 37 °C po dobu 16 h. Během kultivace byly odebírány vzorky v čase 0, 6, 8, 12, 14 a 16 h pro stanovení počtu mikroorganismů plotnovou metodou na MRS agaru s pH 5,7 (Merck). Kultivace probíhala za optimálních podmínek pro daný kmen (37 °C/ 3 dny). Zároveň bylo ve vzorcích stanoveno pH.

Stanovení spotřeby laktosy a laktulose a produkce kyseliny mléčné v průběhu fermentace

Ve stejných časových intervalech jako při stanovení růstových křivek byly odebírány 10 ml vzorky všech variant substrátů pro stanovení obsahu laktosy, laktulose a kyseliny mléčné. Vzorky byly okamžitě zamrazeny a před analýzou uchovávány v mrazicím boxu při –25 °C. Spotřeby laktosy a laktulose byly vypočteny jako rozdíl jejich obsahů v substrátech před a po fermentaci v daném čase.

Vlastní stanovení obsahu laktosy a laktulose bylo provedeno metodou HPLC s refraktometrickou detekcí.

Příprava vzorku

Do 50 ml odměrné baňky se naváží cca 10 g (s přesností na 4 desetinná místa) vzorku a doplní demineralizovanou vodou na celkový objem 50 ml. K odstranění kyselých produktů přítomných ve vzorku je použita extrakce přes cartridge Chromabond SB (Macherey Nagel), na kterou se nanáší cca 1 g (s přesností na 4 desetinná místa) vzorku, promývá cca 9 ml demineralizované vody do 10 ml odměrné baňky a doplní po značku. Před vlastní chromatografií se cca 2 ml takto upraveného vzorku ještě přefiltrují přes mikrofiltr s velikostí pórů 0,45 µm do kyvety automatického dávkovače.

Použitá aparatura

pumpa Waters 515; in-line degaser AF Waters; RI detektor Waters 2414; termostat kolon LCO 101 Ecom; autosampler 717 plus Waters; software CSW 32, Data Apex

Chromatografické podmínky

analytická kolona Ostion LGKS 0800 Ca form (250 × 8 mm), Watrex; předkolony HEMA-BIO 1000Q SB (50 × 4 mm), Watrex; mobilní fáze – demineralizovaná voda; průtok 0,3 ml min⁻¹; teplota kolony 80 °C.

Stanovení obsahu kyseliny mléčné bylo provedeno na stejné aparatuře metodou HPLC s refraktometrickou detekcí.

Příprava vzorku

Byl použit stejný výchozí vzorek jako v případě stanovení laktosy a laktulose s tím, že do postupu nebyla zařazena extrakce přes cartridge Chromabond SB.

Chromatografické podmínky

analytická kolona Ostion LGKS 0800, H form (250 × 4 mm), Watrex; mobilní fáze – 9 mM kyselina sírová; průtok 0,3 ml min⁻¹; teplota kolony 80 °C.

Vyhodnocení analýz

Pro sestavení kalibračních přímků a určení retenčních časů byly použity roztoky čistých standardů jednotlivých analytů.

Opakovatelnost vyjádřená jako interval spolehlivosti:

- pro laktosu a laktulosu ± 0,05 g/100 ml,
- pro kyselinu mléčnou ± 0,1 g/100 ml.

(Interval spolehlivosti byl vypočten jako trojnásobek směrodatné odchylky 10× opakované analýzy směšného standardu, obsahujícího 5 hm.% laktosy a laktulose a 1 hm.% kyseliny mléčné).

Výsledky a diskuse

Podle předpokladu byly jak laktosa, tak laktulosa fermentovány použitým kmenem *Lactobacillus acidophilus* CCDM 92. Z růstových křivek (viz obr. 1) vyplývá, že počet mikroorganismů (CFU) po 16 hodinové fermentaci substrátu s přidávkem laktosy je řádově vyšší, a to $2,2 \cdot 10^7$ (log CFU 7,35) než v případě substrátu s laktulosou, kdy činil $7,0 \cdot 10^6$ (log CFU 6,85). U obou sacharidů je tento nárůst výrazný do 8. hodiny fermentace a od této doby se již CFU prakticky nemění. Toto je v dobré shodě se zjištěním Smart a spol.¹³, kteří našli kratší dobu dvojnásobného nárůstu („dubling times“) mikrobiální kultury u většiny testovaných kmenů laktobacilů kultivovaných na médiu s laktosou než při jejich kultivaci na médiu s laktulosou.

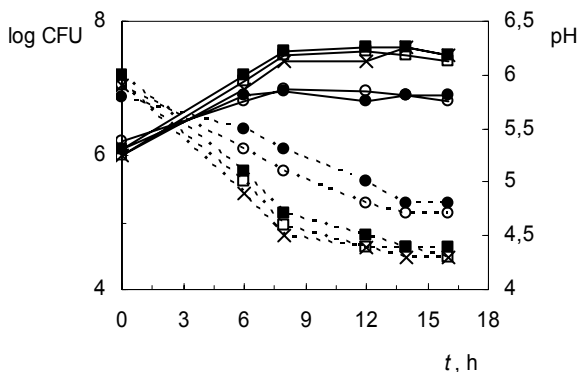
Podobně je tomu při spotřebě (využívání) obou samostatných sacharidů v substrátu (viz obr. 2), kdy na konci fermentace je spotřeba laktosy vyšší (cca 0,60 g/100 ml) než u laktulosy (cca 0,40 g/100ml). Z obr. 2 je dále patrný i určitý rozdíl v průběhu využívání sacharidů. U laktosy je rychlý do 8. hodiny fermentace a poté se výrazně zpomalí. Naproti tomu u laktulosy je nejrychlejší mezi 6.–8. hodinou a pak dále mírně stoupá až do ukončení fermentace.

Z produktů fermentace byla nalezena pouze kyselina mléčná, což odpovídá homofermentativnímu způsobu kvašení laktosy i laktulosy. Její tvorba při fermentaci (viz obr. 3) je, podle očekávání, svázána se spotřebou obou jednotlivých sacharidů. Na konci fermentace činí u substrátu s laktosou 0,60 g/100 ml, u substrátu s laktulosou je nižší, a to 0,36 g/100 ml. Patrný je i rozdíl v průběhu její

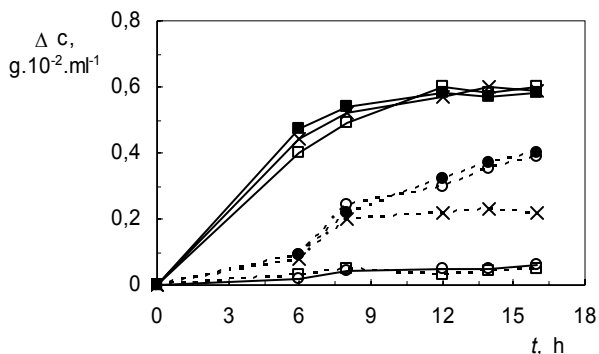
tvorby (viz obr. 3). Zatímco při fermentaci laktosy prakticky kopíruje spotřebu tohoto sacharidu, tj. nejvyšší tvorba je mezi 6.–8. hodinou a pak dále mírně stoupá, u fermentace laktosy je vzestup tvorby kyseliny mléčné až do cca 14. hodiny téměř lineární, zde teprve dosáhne úrovně spotřeby sacharidu a pak se výrazně zpomaluje.

Průběhu zvyšování obsahu kyseliny mléčné v substrátech odpovídají i průběhy poklesu jejich pH (viz obr. 1). Na konci fermentace substrátu s laktosou bylo dosaženo pH cca 4,4; zatímco u substrátu s laktulosou činilo pH cca 4,8.

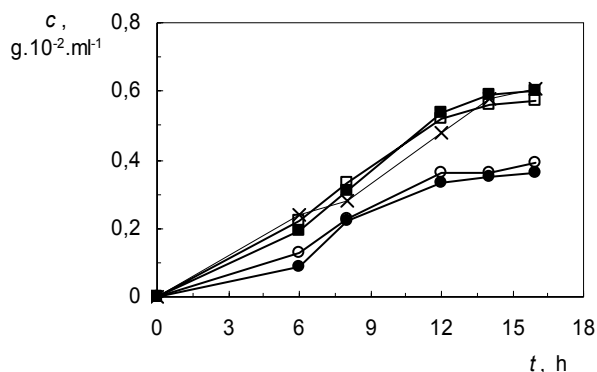
V případě fermentací směsí laktosy a laktulosy, kdy jeden ze sacharidů byl přidáván do substrátu ve výrazném přebytku (poměr obsahu laktosa : laktulosa = 6 : 1, resp 1 : 6), byl preferován ten typ (průběh) fermentace, který odpovídal fermentaci dominantního sacharidu, tj. fermentaci substrátu buď s laktosou, nebo laktulosou. Týká se to jak prakticky identických průběhů růstu počtu mikroorganismů a poklesu pH v substrátech (viz obr. 1), tak spotřeby jednotlivých dominantních sacharidů a s ním spojené tvorby kyseliny mléčné (viz obr. 2 a 3). Dále je zřejmé, že v těchto případech nebyl minoritní sacharid prakticky fermentován (obr. 2). Preferenci spotřeby dominantního sacharidu by bylo možno vysvětlit indukcí takového enzymového komplexu (systému), který je v buňce syntetizován v případě, že v substrátu je přítomna buď laktosa, nebo laktulosa ve výrazném přebytku. Je však pravděpodobné, že tyto enzymové komplexy nemusí být identické, neboť spotřeba minoritního sacharidu v substrátu nebyla v průběhu fermentace prokázána.



Obr. 1. Změny počtu mikroorganismů CFU a pH v průběhu fermentace substrátů s různými přidávkami laktosy a laktulosy; osa y platí pro odečítání hodnot jak log CFU, tak i pH, přičemž vlastní průběh těchto veličin je odlišen následovně: ————— průběh log CFU; - - - - - průběh pH. Vynášené hodnoty jsou průměrem ze dvou paralelních stanovení. Složení substrátů: ■ MRS + hm.5 % laktosy; □ MRS + 6 hm.% laktosy + 1 hm.% laktulosy; ● MRS + 5 hm.% laktosy; ○ MRS + 1 hm.% laktosy + 6 hm.% laktulosy; × MRS + 5 hm.% laktosy + 5 hm.% laktulosy. Fermentační podmínky: 1 obj.% přidavek kultury *Lb. acidophilus* CCDM92, teplota 37 °C, doba 16 h. Stanovení CFU: plotnovou metodou na MRS agaru; pH 5,7; kultivace při 37 °C, doba 3 dny



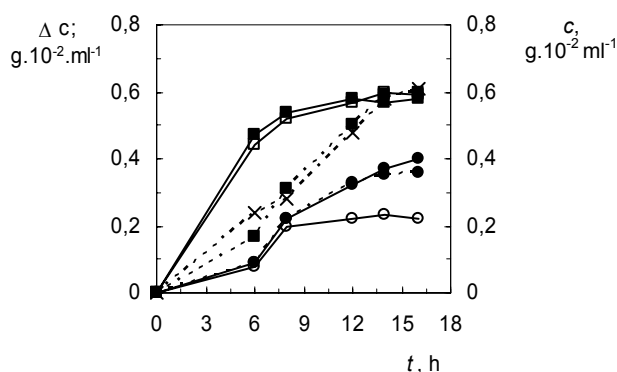
Obr. 2. Spotřeba laktosy a laktulosy v průběhu fermentace substrátů s různými přidávkami sacharidů; spotřeba sacharidů Δc je rozdíl jejich obsahů v substrátech před a po fermentaci v daném čase t , vynášené hodnoty jsou průměrem ze tří paralelních stanovení. ————— průběh spotřeby laktosy; - - - - - průběh spotřeby laktulosy. Složení substrátů a podmínky fermentace: viz obr. 1. Stanovení sacharidů: metoda HPLC s refraktometrickou detekcí; analytická kolona – Ostion LGKS 0800 Ca form, 250 × 8 mm; předklonky: HEMA-BIO 1000 Q+SB, 50 × 4 mm; mobilní fáze – demineralizovaná voda; průtok 0,3 ml min⁻¹; teplota kolony 80 °C



Obr. 3. Produkce kyseliny mléčné v průběhu fermentace substrátů s různými přídávky sacharidů; produkce kyseliny mléčné je uváděna jako její koncentrace c v substrátech v daném čase t fermentace, vynášené hodnoty jsou průměrem ze tří paralelních stanovení. — průběh produkce kyseliny mléčné. Složení substrátů a podmínky fermentace: viz obr. 1. Stanovení kyseliny mléčné: metoda HPLC s refraktometrickou detekcí; analytická kolona – Ostion LGKS 0800 H form, 250 × 4 mm; mobilní fáze – 9 mM kyselina sírová; průtok 0,3 ml min⁻¹; teplota kolony 80 °C

Zajímavá byla fermentace substrátu obsahujícího směs laktosy a laktulose v poměru 1:1 a pro lepší objasnění jejího průběhu byly důležité parametry soustředěny do samostatného obrázku 4. Z něho je patrné, že průběh spotřeby laktosy je stejný jako v případě čisté laktosy, zatímco průběh spotřeby laktulose se od průběhu její spotřeby v čistém stavu značně liší. Ta byla obdobným způsobem, jako v případě čisté laktulose, spotřebována pouze do 8. hodiny fermentace, pak se její spotřeba zastavila a v 16. hodině fermentace činila 0,21 g/100 ml, což je cca 53 % oproti spotřebě čisté laktulose. Pokud se týká obsahu kyseliny mléčné, činila v 6. hodině fermentace 0,24 g/100 ml, což odpovídá součtu jejich obsahů při fermentaci čisté laktosy a laktulose. V 8. hodině byl její obsah v substrátu 0,28 g/100 ml, což se velmi blíží koncentraci, při které se významně zpomaluje její tvorba při fermentaci čisté laktulose. Od této doby až do konce fermentace je průběh produkce kyseliny mléčné obdobný s její produkcí z čisté laktosy.

Pro odlišný průběh spotřeby laktulose, nalezený při fermentaci tohoto typu substrátu, se pak nabízí vysvětlení, založené na změně koncentrace kyseliny mléčné v kultivačním médiu v průběhu fermentace. Hromadění se tohoto metabolitu se pak projevuje jako inhibice zpětnou vazbou (*feed-back inhibition*), způsobující zhruba od 8. hodiny fermentace potlačení aktivity enzymového komplexu odpovědného za metabolizaci laktulose, jejíž množství v systému se dále nemění. Tento fakt pak opět poukazuje na rozdílné vlastnosti komplexu enzymů, uplatňujících se při fermentaci laktosy nebo laktulose.



Obr. 4. Vybrané parametry pro popis průběhu fermentace substrátu s přidávkou laktosy a laktulose v poměru 1:1; osa y platí pro odečítání hodnot jak spotřeby sacharidů v substrátu (Δc), tak i koncentrace kyseliny mléčné (c), přičemž vlastní průběh těchto veličin je odlišen následovně: — průběh spotřeby sacharidů; ■ spotřeba laktosy v substrátu MRS + 5 hm.% laktosy; ● spotřeba laktulose v substrátu MRS + 5 hm.% laktulose; □ spotřeba laktosy v substrátu MRS + 5 hm.% laktosy a 5 hm.% laktulose; ○ spotřeba laktulose v substrátu MRS + 5 hm.% laktosy + 5 hm.% laktulose. - - - - - průběh produkce kyseliny mléčné; ■ v substrátu MRS + 5 hm.% laktosy; ● v substrátu MRS + 5 hm.% laktulose; × v substrátu MRS + 5 hm.% laktosy a 5 hm.% laktulose. Vynášené hodnoty jsou průměrem ze tří paralelních stanovení. Podmínky fermentace – viz obr. 1; stanovení sacharidů a kyseliny mléčné – viz obr. 2 a 3

Závěr

Prezentované výsledky, získané při fermentaci laktosy, laktulose a jejich směsí kmenem *Lactobacillus acidophilus* CCDM 92, lze shrnout následovně:

- různý průběh využívání sacharidů a tvorby kyseliny mléčné při fermentaci čisté laktosy a laktulose,
- preference fermentace dominantního sacharidu v substrátu, obsahujícího směs laktosy a laktulose v poměru 6:1, resp. 1:6,
- výrazné snížení spotřeby laktulose při fermentaci substrátu obsahujícího směs laktosy a laktulose v poměru 1:1 z důvodu inhibice zpětnou vazbou při kumulaci kyseliny mléčné v kultivačním médiu.

Tato zjištění pak podporují hypotézu vyslovenou Smart a spol.¹³, že při fermentaci těchto sacharidů námi použitým kmenem laktobacilů, není metabolismus laktulose spjat s metabolickou cestou využití laktosy.

Práce byly provedeny za podpory Ministerstva zemědělství České republiky, grant č. QF 4011 a Výzkumný záměr MZE 0002702201.

LITERATURA

1. Jílek L., Schreiber V.: *Přehled lékařské fyziologie*, Avicenum Praha 1976, 1. vydání českého překladu Ganong W. F.: *Review of Medical Physiology*, Lange Medical Publications, Los Altos 1973.
2. Dandene K., Guihard L. M., Nicolas S., Bariou B.: J. Chem. Biotechnol. 61, 37 (1994).
3. Geier H., Klostermeyer H.: *Milchwissenschaft* 38, 475 (1983).
4. Salminen S., Salminen E.: *Scand. J. Gastroenterol.* 32 Suppl 222, 45 (1997).
5. Sahota S. S., Bramley P. M., Menzies I. S.: J. Gen. Microbiol. 128, 319 (1982).
6. Ballonque J., Schumann C., Quignon P.: *Scand. J. Gastroenterol.* 32 Suppl 222, 41 (1997).
7. Tuohy K. M., Ziemer Ch. J., Klinder A., Knöbel Y., Pool-Zobel B. L., Gibson G. R.: *Microb. Ecol. Health Dis.* 14, 165 (2002).
8. O'Sullivan M. G.: *Bull. IDF* 313, 23 (1996).
9. Gibson G. R., Probert H. M., Van Loo J., Rastall R. A., Roberfroid M.: *Nutr. Res. Rev.* 17, 259 (2004).
10. Tamura Y., Mizota T., Shimamura S., Tomita M.: *Bull. IDF* 289, 43 (1993).
11. Schumann Ch.: *Eur. J. Nutr.* 41 Suppl 1, 17 (2002).
12. Axelsson L., v knize: *Lactic Acid Bacteria, Microbiological and Function Aspects* (Salminen S., Von Wright A., Ouwehand A., ed.), kap. 1. Marcel Dekker, New York 2004.
13. Smart J. B., Pillidge Ch. J., Garman J. H.: *J. Dairy Res.* 60, 557 (1993).

I. Boháčenko^a, J. Pinkrová^a, J. Peroutková^b, and M. Pechačová^b (^a*Food Research Institute Prague,* ^b*Milcom Dairy Research Institute, Prague*): **Fermentation of Lactose and Lactulose Mixtures with *Lactobacillus acidophilus* Strain**

The utilisation of lactose, lactulose and their mixtures in fermentation by the strain *Lactobacillus acidophilus* CCDM 92 was followed. Experiments were carried out in vitro under standard conditions (MRS agar, 1 vol.% of inoculum, cultivation for 16 h at 37 °C). In the course of fermentation, lactose, lactulose and lactic acid (HPLC), the count of bacteria (classic plate method) and pH were monitored in substrates. The present results demonstrated: (i) different courses of saccharide utilization and lactic acid production in the fermentation of substrates with addition of lactose or lactulose; (ii) the preference of predominant saccharide fermentation in substrates with lactose and lactulose mixtures (6:1 and 1:6); (iii) considerable reduction of lactulose consumption during the fermentation of substrate containing a lactose and lactulose mixture (1:1). The reason is the feed-back inhibition effect of lactic acid cumulated in the substrate. The findings support the hypothesis that under the test conditions, the lactulose metabolism is not linked to the known lactose utilization pathways.

VŠCHT Praha přijme do Centrálních laboratoří vědeckého pracovníka/ci

Požadavky:

- ukončené vysokoškolské vzdělání, nejlépe chemického nebo fyzikálního směru, popř. ukončená vědecká výchova,
- vhodné i pro postgraduální studenty.

Náplň práce:

- práce v laboratoři hmotnostní spektrometrie, metoda LC-MS.

Nabízíme:

- příležitost k osobnímu rozvoji,
- špičkové technické vybavení,
- samostatnou práci na zajímavých a aktuálních tématech,
- možnost účasti na vědeckých konferencích,
- pracoviště v blízkosti metra,
- zaměstnanecké výhody (šest týdnů dovolené, pružnou pracovní dobu, příspěvek na stravování, rekreaci, penzijní připojištění, návštěvu kulturních zařízení).

Nástup: 1. 1. 2008

Kontakt: Ing. Ivan Viden, CSc., tel. 220 443 812, e-mail: ivan.viden@vscht.cz ,
Ing. Richard Hrabal, CSc., tel. 220 443 805, e-mail: richard.hrabal@vscht.cz

MOŽNOSTI DIAGNOSTIKY INTOXIKACÍ ANTIDEPRESIVY

MARIE STAŇKOVÁ^a, PETER ONDRA^b
a PETR KURKA^a

^a Ústav soudního lékařství FN Ostrava, 17. listopadu 1790, 708 52 Ostrava-Poruba, ^b Ústav soudního lékařství FN Olomouc, Hněvotínská 3, 772 00 Olomouc
marie.stankova@tiscali.cz, petr.kurka@fnspo.cz
ondra@tunw.upol.cz

Došlo 5.1.06, přepracováno 17.12.06, přijato 9.1.07.

Klíčová slova: antidepresiva nových generací, analýza antidepresiv, TLC, GC-MS

Úvod

Pojem antidepresiva (AD)¹ zahrnuje psychofarmaka, která přímo specificky působí na depresivní stavy endogenního (vznikajícího uvnitř organismu), méně již na deprese exogenního původu, např. deprese somatogenní a sociogenní. Jde o chemicky různorodou skupinu látek s rozdílnými farmakokinetickými a farmakodynamickými vlastnostmi, metabolismem, výskytem nežádoucích účinků, rozdílnou toxicitou. Ze širokého sortimentu této skupiny léčiv byla vybrána antidepresiva nových generací, která z velké části nahradila relativně toxická léčiva ze skupiny tzv. tricyklických antidepresiv. Výskyt různých forem poruch nálady, depresí a úzkostných stavů mají dle statistických údajů stále rostoucí tendenci. Roční prevalence se odhaduje téměř na 10 %. Je tedy zřejmé, že léčba těchto problémů přináší i rostoucí spotřebu uvedených léků, jejichž účinné látky se pak objevují stále častěji i v biologickém materiálu analyzovaném v toxikologických laboratořích. S novými antidepresivy se setkáváme u akutních intoxikací především v kombinaci s dalšími léčivy nebo alkoholem, a to u úmyslných nebo náhodných (především malé děti), při kontrole terapie, zneužití atd.

Toxikologická analýza je důležitou součástí diagnostických postupů potřebných k získání informace o akutní nebo chronické expozici vyšetřované osoby toxikologicky významné látky – noxe.

K získání validních výsledků toxikologického vyšetření je potřeba volit vhodný biologický materiál. Běžně odebíraný biologický materiál k toxikologickému vyšetření u živých osob je moč, žaludeční obsah (zvratky, výplach žaludku) a krev. U mrtvých osob kromě uvedených materiálů i vzorky tkání (játra, ledviny). Dalším krokem je izolace nox z biologického materiálu. Výběr izolačního postupu závisí na druhu analyzovaného biologického materiálu, charakteru hledané či stanovované látky, volbě následně použité analytické metody k průkazu či stanovení vlastní

látky atd. Důležitá pak je i volba analytické metody pro účely záchytu, identifikace a stanovení stopových koncentrací nox v biologickém materiálu.

Přední místo v analýze nových antidepresiv zaujímají separační techniky.

V mnoha toxikologických laboratořích je pro záchyt a identifikaci extrahovaných látek stále využívána metoda tenkovrstvé chromatografie. Analýze nových antidepresiv je v literatuře věnováno již málo nových prací^{2,3}.

Metoda GC-MS je stále nejcitlivější, specifická a univerzální analytická metoda pro analýzu nízkomolekulárních látek. Spojení plynové chromatografie s hmotnostní detekcí poskytuje účinnou separaci, selektivitu a citlivost detekce a umožňuje využít širokých databází hmotnostních spekter. Právě využití této techniky pro záchyt a identifikaci jednotlivých látek ze skupiny nových antidepresiv a jejich metabolitů je věnována celá řada prací. Většinu antidepresiv je možno zachytit a identifikovat bez předchozí derivatizace^{4,5}. Maurer a Bickeboeller analyzují antidepresiva ve formě jejich acetylderivátů⁶, Eap a spol.⁷ po derivatizaci *N*-methylbis(trifluoracetyl)amidem.

Ke kvalitativní analýze cíleně zaměřené na úzký okruh látek je využívána také metoda HPLC, a to s využitím UV detektoru⁸ či hmotnostního detektoru⁹.

Pro kvantitativní analýzu nových antidepresiv je rovněž využívána metoda plynové chromatografie, a to s použitím plamenoionizačního detektoru (FID)¹⁰ a citlivého termoionizačního detektoru (NPD, ATP)^{11,12}. Více se používá metoda GC-MS^{13–15}.

Pro kvantitativní analýzu nových antidepresiv je více prací věnováno využití vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC). Z detektorů jsou nejvíce zastoupeny UV detektory, fluorescenční detektory a detektory s diodovým polem (DAD)^{16–21}. Stále více prací je zaměřeno na využití spojení HPLC s hmotnostním detektorem (LC-MS)^{22–25}.

V článku je popsána možnost průkazu a stanovení vybraných antidepresiv (maprotilin, mianserin, trazodon, milnacipran, mirtazapin, moclobemid, citalopram, fluoxetin, fluvoxamin, paroxetin, sertralin a venlafaxin) chromatografií na tenké vrstvě a plynovou chromatografií s hmotnostní detekcí včetně výtěžnosti extrakce sledovaných látek tuhou fází z biologického materiálu. Byly stanoveny limity detekce (LOD) a limity kvantifikace (LOQ) pro sledovanou AD. Byly vypracovány metody kvantifikace příslušných antidepresiv v krvi (séru) a sledována linearita kalibračních závislostí těchto metod v rozsahu od terapeutických až po letální koncentrace.

Experimentální část

Chemikálie

Byly použity chemikálie diethylether p.a. nestabilizovaný, kyselina chlorovodíková konc., dichlormethan, isopropylalkohol, methanol, acetonitril, ethyl-acetát, amoniak (25% vodný roztok), kyselina fosforečná, síran sodný bezvodý (vše p.a., Penta Chrudim, ČR), ethanol, hydroxid

sodný(p.a., Jan Kulich Hradec Králové, ČR), hydrogenfosforečnan draselný trihydrát (p.a., Merck, Německo), octan sodný, síran amonný (p.a., Lach-Ner, s.r.o. Neratovice, ČR). Substance antidepresiv: citalopram hydrobromid a fluoxetin hydrochlorid od fy Zentiva, Praha, ČR, fluvoxamin maleát, maprotilin hydrochlorid, mianserin hydrochlorid, paroxetin hydrochlorid, sertralin hydrochlorid, trazodon hydrochlorid a venlafaxin hydrochlorid fy Sigma Aldrich, USA. Milnacipran hydrochlorid byl izolován z tabletové formy léku Ixel fy Pierre Fabre Médicament, Boulogne Cedex, Francie, mirtazapin byl izolován z tabletové formy léku Remeron fy N. V. Organon, Oss, Nizozemsko a moclobemid byl izolován z tabletové formy léku Aurorix fy Hoffmann-La Roche Ltd, Basel, Švýcarsko. Identita byla ověřena bodem tání a analýzou metodou GC-MS.

Standardní roztoky antidepresiv byly připraveny o koncentraci 0,025 mg ml⁻¹ v ethanolu (odpovídá koncentraci bazí jednotlivých antidepresiv). Standardní roztok vnitřního standardu propiverinu v ethanolu byl připraven o koncentraci 0,06 mg ml⁻¹.

Aparatura

Extrakce tuhou fází byla provedena s použitím extrakčních kolonek SPEC-DAU, 3 ml, 30 mg, Varian, USA, SPE Evidex, 6 ml, 400 mg, J&W Scientific, USA, DC-Alufolien Kieselgel 60, 0,2 mm fy Merck, Německo.

Materiál a metody

Pro účely kvalitativní analýzy byly u případů akutní intoxikace dodány moč, případně žaludeční obsah pacienta. Pokud šlo o kontrolu terapie, byla vždy dodána moč a v případech letálních intoxikací žaludeční obsah, jaterní tkáň a moč (pokud bylo možno odebrat). Pro kvantitativní analýzu (stanovení hladiny) byla dodána srážlivá krev.

Zpracování vzorků

Kvalitativní analýza

Vzorky 20–50 ml moče (M) a zfiltrovaného žaludečního obsahu (ŽO) byly po úpravě pH na hodnotu 3–4 zředěnou kyselinou chlorovodíkovou extrahovány do etheru. Po úpravě pH vodné fáze na hodnotu 10 byla znovu provedena extrakce do etheru. Extrakce byla provedena dvakrát z kyselého a dvakrát z alkalického prostředí. K extrakci byl brán vždy 1,5 násobek objemu etheru k objemu vodné fáze. Ether byl odpařen na vodní lázni do sucha. Odparky byly označeny M(A) příp. ŽO(A) – extrakty z kyselého prostředí a M(B) příp. ŽO(B) – extrakty z alkalického prostředí. Moč byla poté podrobena kyselé hydrolyze. K moči byla přidána koncentrovaná kyselina chlorovodíková (1 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové na 10 ml moče). Směs se 10 min vařila pod zpětných chladičem, po ochlazení a úpravě pH na 8–10 byla provedena extrakce do 1,5 násobného objemu etheru k objemu vodné

fáze. Po odpaření byl odparek označen M(H). Odparky byly pro analýzu rozpuštěny v 0,5 ml ethanolu.

Kvantitativní analýza

Pro účely kvantitativní analýzy byla antidepresiva izolována extrakcí tuhou fází (SPE) následujícím postupem: kondicionace: 0,5 ml methanolu, 0,5 ml fosfátového pufru (pH 6); aplikace vzorku (1 ml séra s přidavkem 10 µl vnitřního standardu a 4 ml fosfátového pufru o pH 6); promytí: 0,5 ml destilované vody, 0,5 ml acetátového pufru o pH 4,5, 0,5 ml methanolu, 5 min vakuum; eluce: 2 × 1 ml směsi dichlormethan-isopropylalkohol-amoniak (4:1:0,1). Eluát byl odpařen při teplotě 40 °C v proudu dusíku do sucha a odparek byl rozpuštěn v 0,05 ml methanolu.

Stejným postupem byly zpracovány vzorky pro kalibraci v rozsahu 0,02–2,00 mg l⁻¹ pro citalopram, maprotilin, mianserin, mirtazapin, sertralin a venlafaxin, 0,10–2,00 mg l⁻¹ pro fluoxetin, fluvoxamin, milnacipran, moclobemid a paroxetin a 0,50–2,50 mg l⁻¹ pro trazodon.

Analýza chromatografií na tenké vrstvě (TLC)

Pro analýzu etherových extraktů M(B) případně M(H) obsahujících izolovaná antidepresiva z příslušného biologického materiálu byl použit modifikovaný systém dle Večerkové²⁶. Extrakty rozpuštěné v 0,5 ml ethanolu byly nanášeny na vrstvu silikagelu (DC Alufolien Kieselgel) proti směsi standardů (diazepam, aminofenazon, fenmetrazin, kodein, atropin – ozn. DAFCA). Chromatografické desky byly vyvíjeny v soustavě ethyl-acetát-ethanol-amoniak (36:2:2) a detegovány těmito činidly: kyselina sírová v ethanolu (1:1), Dragendorffovo činidlo a jod v chloroformu. Po postřiku kyselinou sírovou v ethanolu byl chromatogram prohlížen v UV světle při 254 a 365 nm.

Analýza plynovou chromatografií s hmotnostní detekcí (GC-MS)

Kvalitativní analýza

Analýzy byly provedeny na přístroji GC-MS firmy Shimadzu, Japonsko. Plynový chromatograf GC 17 A, hmotnostní detektor MS QP 5050 s elektronovou ionizací (EI, 70 eV). Kolona kapilární, délka 30 m, průměr 0,32 mm, tloušťka filmu 0,25 µm 5 % poly(fenylsiloxanu) – fáze Zebron ZB 5 (firmy Phenomenex, USA). Podmínky analýzy: teplota injektoru 250 °C, detektoru (interface) 280 °C, program analýzy 80 °C (20 °C/ min) 270 °C (15 min), nosný plyn helium s konstantním průtokem 2,2 ml min⁻¹ – teplotní program 1.

Analýzy byly provedeny ve skenovacím modu v rozsahu *m/z* 50–500. K identifikaci bylo použito srovnání retenčních časů *t_R* a hmotnostních spekter separovaných látek s *t_R* a hmotnostními spektry standardů.

Kvantitativní analýza

Stanovení antidepresiv ve vzorcích séra (krve) po jejich izolaci metodou SPE bylo provedeno metodou GC-MS za podmínek uvedených výše. Pouze pro stanovení trazodonu je nutné změnit teplotní program analýzy na 150 °C (30 °C/min) 280 °C (10 min) s konstantním průto-

kem nosného plynu helia 2,0 ml min⁻¹ – teplotní program 2. Analýza byla prováděna v SIM modu s 2 hodnotami *m/z* pro stanovovanou látku a s 2 hodnotami *m/z* pro vnitřní standard (tab. I).

Do přístroje byl dávkován 1 µl vzorku.

Tabulka I
GC-MS charakteristiky analyzovaných antidepresiv

Antidepressivum	<i>m/z</i>	<i>t_R</i> [min]	pík č. (obr. 4)
Citalopram	58, 238	11,1	10
Fluoxetin	59, 183	7,9	1
Fluvoxamin	187, 276	8,0	2
Maprotilin	59, 277	10,7	8
Mianserin	193, 264	9,9	5
Milnacipran	204, 246	8,3	3
Mirtazapin	195, 208	10,2	7
Moclobemid	100, 139	10,0	6
Paroxetin	192, 329	12,5	12
Sertralin	262, 276	10,9	9
Trazodon	176, 278	18,6 ^a	
Venlafaxin	58, 134	9,2	4
Propiverin ^b	183, 225	11,2	11

^a Jiný teplotní program (teplotní program 2); ^b vnitřní standard

Výsledky a diskuse**Zpracování biologického materiálu**

V použitém postupu klasické frakční extrakce (moči a žaludečního obsahu) do etheru přecházejí sledovaná antidepresiva a jejich metabolity do extraktu z alkalického prostředí – M(B). Sertralin a jeho metabolity a paroxetin s metabolity se v moči nacházejí ve volné formě jen v nízkých koncentracích a je vhodné jejich uvolnění z konjugátu kyselou hydrolyzou.

Pro účely kvantitativní analýzy byla použita izolace vybraných antidepresiv extrakcí tuhou fází (SPEC-DAU) postupem modifikovaným pro izolaci bazických látek. Byla určena extrakční výtěžnost, která se u většiny sledovaných antidepresiv pohybuje nad 70 %, pouze u moclobemidu a trazodonu je výtěžnost nižší (kolem 40 %), ale i u nich je výtěžnost reprodukovatelná (tab. II).

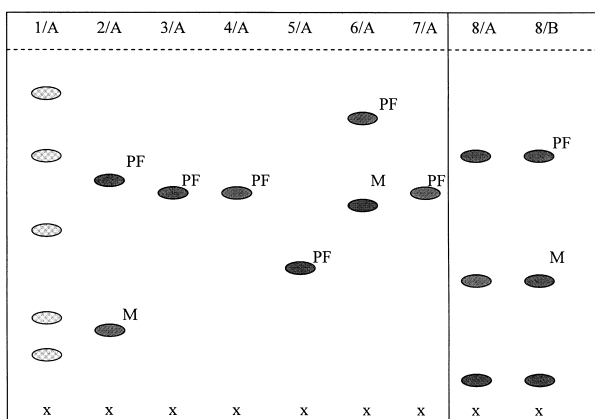
Analýza metodou TLC

Pro sledovaná antidepresiva byla testována citlivost detekce (kyseliny sírová v ethanolu, Dragendorffovo činidlo a jod v chloroformu). Použitý postup detekce je málo citlivý pro záchyt fluxetinu, fluvoxaminu, sertralínu a paroxetinu v moči, protože uvedená antidepresiva se do mo-

Tabulka II
Výtěžnosti extrakce antidepresiv, limity detekce a kvantifikace

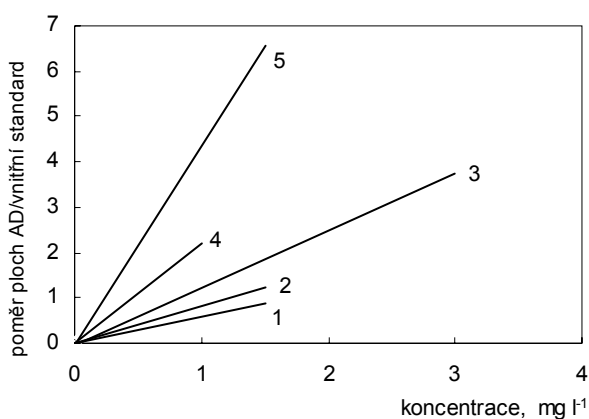
Antidepressivum	Výtěžnost extrakce ^a [%]	RSD [%]	Výtěžnost extrakce ^b [%]	RSD [%]	LOD ^c [ng ml ⁻¹]	LOQ ^d [ng ml ⁻¹]
Citalopram	98	4,4	95	5,9	0,5	2
Fluoxetin	80	4,7	85	6,6	15	50
Fluvoxamin	72	8,9	73	2,7	50	100
Maprotilin	75	4,0	90	4,3	2	5
Mianserin	99	2,7	94	6,4	0,5	2
Milnacipran	93	4,9	91	5,0	15	50
Mirtazapin	80	9,0	82	6,5	0,5	2
Moclobemid	40	2,5	49	9,3	2	5
Paroxetin	81	6,2	92	6,2	50	100
Sertralin	86	5,3	83	7,0	0,5	2
Trazodon	40	9,3	49	9,9	50	100
Venlafaxin	99	3,6	91	5,8	0,5	2

^a Výtěžnost extrakce při koncentraci 0,2 mg l⁻¹, ^b výtěžnost extrakce při koncentraci 2,0 mg l⁻¹, ^c LOD – limit detekce, ^d LOQ – limit kvantifikace



Obr. 1. Analýza TLC vybraných antidepresiv; deska: DC-Alufolien Kieselgel, vyvíjecí soustava: ethyl-acetát-ethanol-amoniak (36:2:2); 1 – DAFCA (diazepam, aminofenazon, fenmetrazin, kodein, atropin), 2 – citalopram, 3 – fluoxetin; 4 – fluvoxamin; 5 – maprotilin; 6 – mianserin; 7 – moclobemid, 8 – trazodon; A – detekce činidly: kyselina sírová, Dragendorffovo činidlo, jod v chloroformu, B – fluorescence v UV světle (365 nm) po postřiku kyselinou sírovou. PF – původní forma léčiva, M – metabolit

če vylučují v původní formě pouze v minimálním množství. Záchyt v žaludečním obsahu při předávkování je i u uvedených látek dostatečně citlivý, pokud nejde o intoxikaci směsí léků. TLC jako identifikační metoda v použitém uspořádání je dostatečná pro rychlý průkaz citalopramu, maprotilimu, mianserinu, moclobemidu, trazodonu a venlafaxinu (záchyt od cca 1 µg ve skvrně). Velmi citlivá je pro citalopram, který dává s Dragendorffovým činidlem postupně tmavnoucí skvrnu (záchyt od cca 0,2 µg



Obr. 2. Závislost poměru plochy píku antidepresiva (AD) a vnitřního standardu na koncentraci jednotlivých AD v séru; 1 – moclobemid, 2 – mianserin, 3 – mirtazapin, 4 – citalopram, 5 – venlafaxin

Tabulka III
Regresní rovnice a korelační koeficienty kalibračních přímků antidepresiv

Antidepresivum	Regresní rovnice ^a	R ²
Citalopram	$y = 2,2133 x - 0,0198$	0,9996
Fluoxetin	$y = 0,1976 x - 0,0057$	0,9986
Fluvoxamin	$y = 0,0443 x + 0,0002$	0,9976
Maprotilin	$y = 0,7341 x - 0,0035$	0,9997
Mianserin	$y = 0,8258 x - 0,0033$	0,9932
Milnacipran	$y = 0,1493 x - 0,0013$	0,9971
Mirtazapin	$y = 1,2566 x - 0,0236$	0,9987
Moclobemid	$y = 0,5993 x + 8 \cdot 10^{-5}$	0,9945
Paroxetin	$y = 0,1716 x - 0,006$	0,9989
Sertralin	$y = 0,4076 x + 0,0036$	0,9965
Trazodon	$y = 0,4615 x + 0,0154$	0,9866
Venlafaxin	$y = 4,3793 x - 0,0238$	0,9877

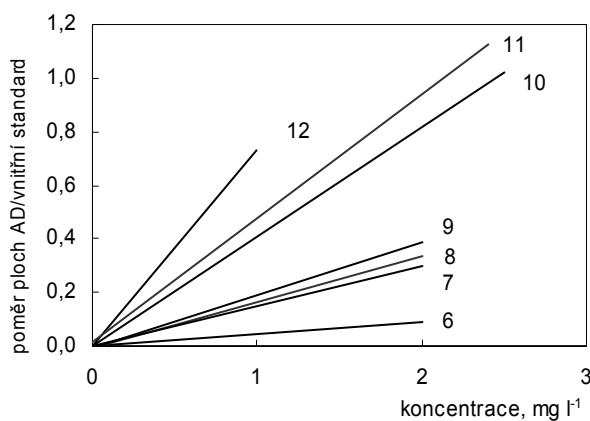
^a Koncentrační interval: 0,02–2,00 mg l⁻¹ pro citalopram, maprotilin, mianserin, mirtazapin, sertralin a venlafaxin, 0,10–2,00 mg l⁻¹ pro fluoxetin, fluvoxamin, milnacipran, moclobemid a paroxetin, 0,50–2,50 mg l⁻¹ pro trazodon

ve skvrně), mirtazapin a trazodon, které v UV světle vykazují modrou fluorescenci (citlivost od cca 0,2 µg ve skvrně). Záznamy TLC analýzy některých AD jsou uvedeny na obr. 1.

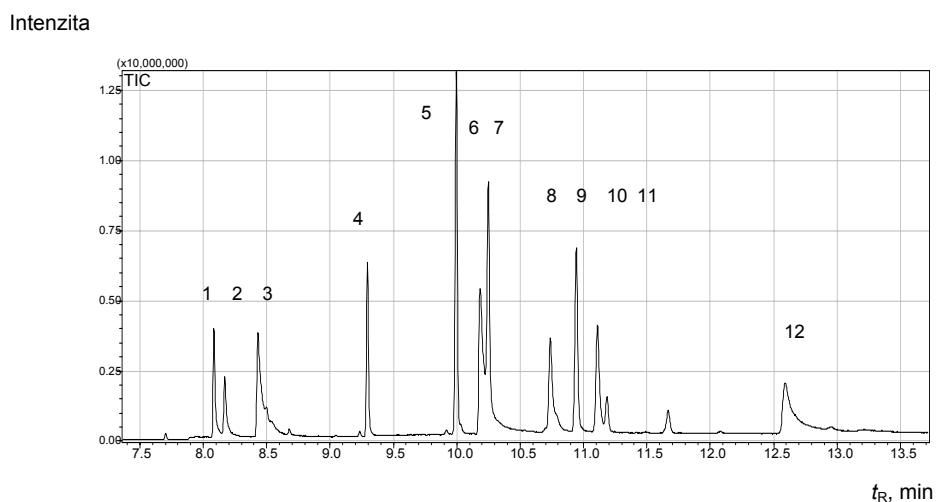
Analýza metodou GC-MS

Kvalitativní analýza

Sledovaná antidepresiva a jejich metabolity lze za-



Obr. 3. Závislost poměru plochy píku antidepresiva (AD) a vnitřního standardu na koncentraci jednotlivých AD v séru; 6 – fluvoxamin, 7 – milnacipran, 8 – fluoxetin, 9 – paroxetin, 10 – sertralin, 11 – trazodon, 12 – maprotilin



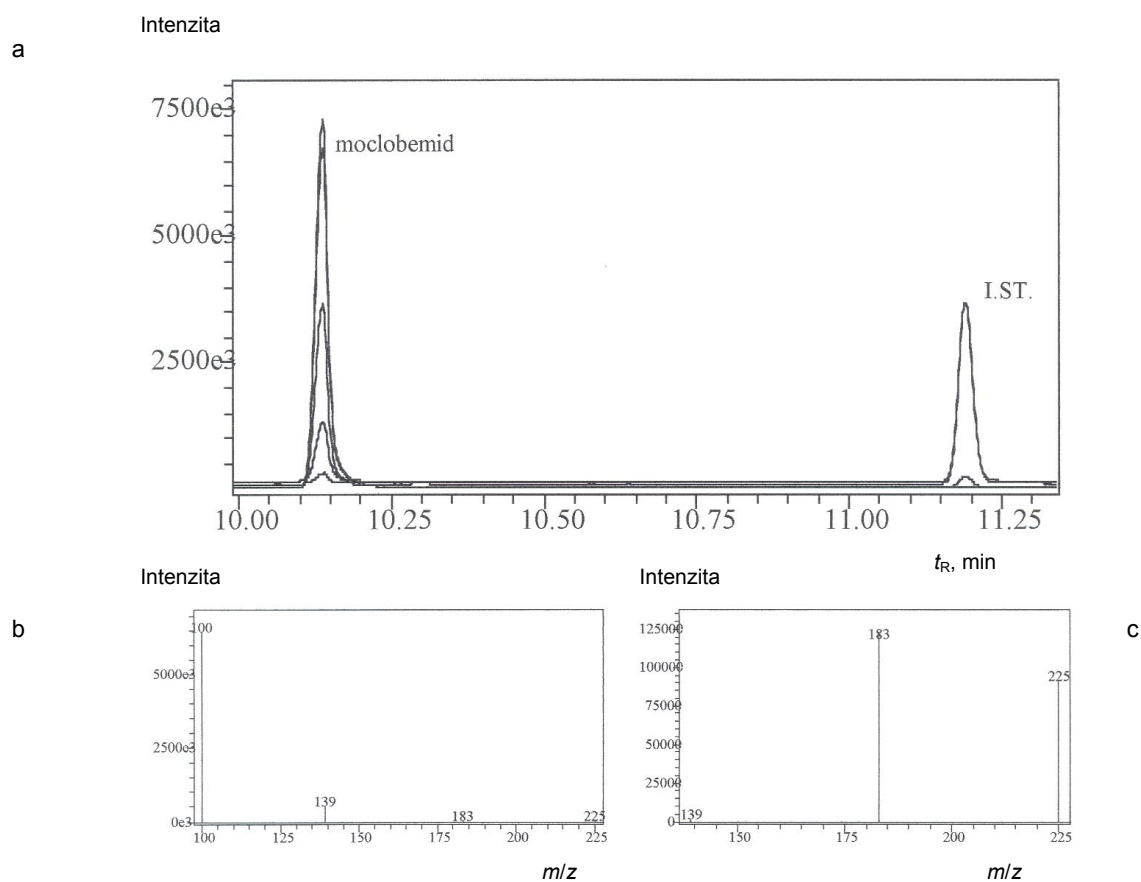
Obr. 4. GC-MS chromatogram séra s přidavkem standardů antidepresiv; podmínky extrakce a program analýzy je uveden v textu. 1 – fluoxetin, 2 – fluvoxamin, 3 – milnacipran, 4 – venlafaxin, 5 – mianserin, 6 – moclobemid, 7 – mirtazapin, 8 – maprotilin, 9 – sertralin, 10 – citalopram, 11 – vnitřní standard – propiverin, 12 – paroxetin. Koncentrace AD v séru 5 mg l^{-1} , citalopram a venlafaxin $0,5 \text{ mg l}^{-1}$. Analýza ve skenovacím módu

Tabulka IV

Stanovené hladiny antidepresiv v krvi u letálních případů předávkování

Číslo	Pohlaví/věk	Antidepresivum	Hladina [mg l^{-1}]	Další léky	Hladina [mg l^{-1}]
1.	Ž/41	citalopram	0,80	promethazin	10,20
2.	Ž/47	moclobemid	18,20	promethazin	7,44
3.	M/50	mianserin	1,33	levomepromazin dosulepin alkohol	0,51 2,76 0,49*
4.	M/38	moclobemid	32,00	promethazin alkohol	19,00 1,88*
5.	M/51	citalopram	1,24	levomepromazin ketamin	0,04 NQ
6.	M/37	citalopram	2,39	morphin alkohol	2,52 1,20*
7.	Ž/55	mianserin sertralin	0,02 0,76	tramadol zolpidem betaxolol	2,15 0,22 0,12
8.	M/74	trazodon	3,20	betaxolol alkohol	0,35 2,45*
9.	Ž/51	trazodon dibenzepin	7,90 30,00	ibuprofen chlordiazepoxid	56,50 0,69
10.	M/55	maprotilin	12,20	zolpidem	1,10
11.	M/39	citalopram	3,31	metoprolol	40,20

Toxické hladiny: citalopram – nad $0,5 \text{ mg l}^{-1}$, moclobemid – nad 3 mg l^{-1} , mianserin – nad $0,5 \text{ mg l}^{-1}$, sertralin – nad $0,5 \text{ mg l}^{-1}$, trazodon – nad 4 mg l^{-1} , maprotilin – nad $0,5 \text{ mg l}^{-1}$ (27), NQ – nekvantifikován, * hladina alkoholu v g kg^{-1}



Obr. 5. GC-MS chromatogram séra pacienta intoxikovaného moclobemidem; analýza v SIM modu (a) s m/z 100 a 139 pro moclobemid (b) a m/z 183 a 225 pro vnitřní standard (c) (propiverin)

chytit a identifikovat v použitém systému GC-MS analýzy (teplotní program 1). Pouze pro záchyt trazodonu je nutno použít vyšších teplot (teplotní program 2). Sledovaná antidepresiva a některé jejich metabolity v moči je možno analýzou GC-MS zachytit a jednoznačně identifikovat po aplikaci terapeutických dávek. Záchyt paroxetinu a sertralínu a jejich metabolitů v moči je možný po jejich uvolnění z konjugátu kyselou hydrolyzou.

Kvantitativní analýza

Stanovení antidepresiv ve vzorcích krve (séra) po jejich izolaci extrakcí tuhou fází bylo provedeno metodou GC-MS. Byly stanoveny limity detekce (LOD) a kvantifikace (LOQ). Jako mez detekce byla brána hodnota poměru signálu píku sledovaného antidepresiva k šumu (S/N) = 3, jako mez stanovitelnosti (kvantifikace) pak poměr S/N = 10. Výsledky jsou uvedeny v tab. II. Pro většinu sledovaných antidepresiv je použita metoda dostatečně citlivá – limit kvantifikace je výrazně nižší než v literatuře uváděná nejnižší terapeutická hladina (citalopram, mianserin, maprotilin, mirtazapin, moclobemid, sertralín a venlafaxin). Pro ostatní antidepresiva je použita metoda dostatečná pro jejich stanovení v případech akutních intoxikací.

Lineární odezva použité metody byla ověřena na standardních roztocích antidepresiv v rozsahu tří řádů (od nejnižších terapeutických hladin až po hladiny toxické případně letální). K výpočtu směrnice regresní křivky, úseku na ose Y i korelačního koeficientu R^2 , který byl ve většině případů vyšší než 0,99, byla použita metoda lineární regrese. Parametry kalibračních křivek jsou uvedeny v tab. III. Na obr. 2 a 3 jsou uvedeny kalibrační přímky pro jednotlivá AD.

Na obr. 4 je uveden chromatografický záznam analýzy séra s přidavkem vybraných antidepresiv a na obr. 5 jsou záznamy reálného vzorku analyzovaného séra při intoxikaci moclobemidem. Metoda byla aplikována při kvantifikaci antidepresiv u letálních i neletálních případů intoxikací. V tab. IV jsou uvedeny výsledky analýz u případů letálních intoxikací novými antidepresivy v kombinaci s jinými léčivy.

Závěr

V článku jsou uvedeny možnosti záchytu a identifikace vybraných antidepresiv nových generací (maprotilin, mianserin, trazodon, milnacipran, mirtazapin, moclobemid).

mid, citalopram, fluoxetin, fluvoxamin, paroxetin, sertralin a venlafaxin) v biologickém materiálu. Záchyt a identifikace v použitém uspořádání metod TLC a GC-MS jsou dostatečně citlivé a spolehlivé pro většinu sledovaných antidepressiv. Pro účely kvantitativní analýzy metodou GC-MS byla použita izolace sledovaných antidepressiv z biologického materiálu (krev, sérum) extrakcí tuhou fází (SPEC-DAU) s postupem modifikovaným pro bazické látky. Metoda je u všech sledovaných AD dostatečně citlivá pro případy akutních intoxikací a u většiny antidepressiv (citalopram, fluoxetin, fluvoxamin, mianserin, maprotilin, mirtazapin, moclobemid, sertralin, trazodon a venlafaxin) citlivá i pro jejich stanovení v rozpětí terapeutických hladin.

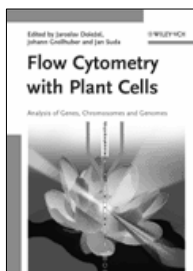
LITERATURA

- Švestka J.: *Psychofarmaka v klinické praxi*. Grada Publishing, Praha 1995.
- Misztal G., Hopkala H., Slawik T.: *Acta Pol. Pharm.* 54, 257 (1997).
- Nováková E.: *Soud. Lék.* 49, 2 (2004).
- Lacassie E., Ragot S., Gaulier J. M., Marquet P., Lachat G.: *Acta Clin. Belg. Suppl. 1*, 20 (1999).
- Goeringer K. E., Raymon L., Christian G. D., Logan B. K.: *J. Forensic Sci.* 45, 633 (2000).
- Mauer H. H., Bickeboeller-Friedrich J.: *J. Anal. Toxicol.* 24, 340 (2000).
- Eap C. B., Bouchoux G., Amey M., Cochard N., Savary L., Baumann P.: *J. Chromatogr. Sci.* 36, 365 (1998).
- Dallet Ph., Labat L., Kummer E., Dubost J. P.: *Eur. J. Emergency Med.* 8, 79 (2001).
- Berzas Nevado J. J., Villasenor Llerena M. J., Contento Salcedo A. M., Aguas Nuevo E.: *J. Chromatogr. Sci.* 38, 200 (2000).
- Kollroser M., Schober C.: *Chromatographia* 57 (2003).
- Martinez M. A., Sanchez de la Torre C., Almerza E.: *J. Anal. Toxicol.* 28, 174 (2004).
- Fontanille P., Jourdil N., Villier C., Bessard G.: *J. Chromatogr., B: Biomed. Sci. Appl.* 692, 337 (1997).
- Staach R. F., Maurer H. H.: *J. Anal. Toxicol.* 27, 560 (2003).
- Burrows D. L., Hagardom A. N., Harlan G. C., Wallen E. D. B., Ferslew K. E.: *J. Anal. Toxicol.* 27, 179 (2003).
- Reymond P., Amey M., Spucne A., Lambert S., Konrat H., Eap C. B., Baumann P. J.: *J. Chromatogr.* 616, 221 (1993).
- Gaillard Y., Pepin G.: *Forensic Sci. Int.* 87, 239 (1997).
- Ohkubo T., Osanai T., Sugawara K., Ishida M., Otani K., Mihara K., Yasui N.: *J. Pharm. Pharmacol.* 47, 340 (1995).
- Duverneuil Ch., de la Grandmaison G. L., de Mazancourt Ph., Alvarez J. C.: *Ther. Drug Monit.* 25, 565 (2003).
- Titier K., Castaing N., Scotto-Gomez E., Pehourcq F., Moore N., Molimard M.: *Ther. Drug Monit.* 25, 581 (2003).
- Tournel G., Houdret N., Hedouin V., Deveau M., Gosset D., Lhermitte M.: *J. Chromatogr., B: Biomed. Sci. Appl.* 761, 147 (2001).
- Kristoffersen L., Bugre A., Lundanes E.: *J. Chromatogr., B: Biomed. Sci. Appl.* 734, 229 (1999).
- Nair M. B., Aaron J. J., Prognon P., Mahuzier G.: *Analyst* 123, 2267 (1998).
- Guttech U., Reutsch K. M.: *Clin. Chem. Lab. Med.* 41, 1571 (2003).
- Juan H., Zhiling Z., Nuance L.: *J. Chromatogr., B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 820, 33 (2005).
- Horkins J. M., Gross A. S., Shenfield G. M., Rivory L. P.: *J. Chromatogr., B: Biomed. Sci. Appl.* 754, 319 (2001).
- Večerková J.: *Postupy při záchytu a identifikaci léčiv a jejich metabolitů v biologickém materiálu pomocí chromatografie na tenkých vrstvách*. SPN, Praha 1983.
- Schulz M.: *Pharmazie* 58, 448 (2003).

M. Staňková^a, P. Ondra^b, and P. Kurka^a (^a*Institute of Forensic Medicine, University Hospital, Ostrava*, ^b*Institute of Forensic Medicine, Faculty of Medicine, Palacký University, Olomouc*): **The Possibilities of Diagnostics in Antidepressant Intoxications**

The article presents the possibilities of identification of selected antidepressants of new generations in biological materials. Identification of the drugs by TLC and GC-MS after ether extraction from biological materials (urine, stomach content) was tested. The detection is sensitive and reliable for most of the drugs. For quantitative GC-MS analysis, the drugs were isolated from blood or serum by solid phase extraction (SPE). The recovery of most drugs is over 70 %. Limits of detection (LOD, 3 S/N) as well as limits of quantification (LOQ, 10 S/N) have been determined. The LOD are 0.5–2 ng l⁻¹ for citalopram, maprotiline, mianserine, mirtazapine, moclobemide, sertraline and venlafaxine, 15 ng l⁻¹ for fluoxetine and milnacipran and 50 ng l⁻¹ for fluvoxamine, paroxetine and trazodone. LOQ are 2–5 ng l⁻¹ for citalopram, maprotiline, mianserine, mirtazapine, moclobemide, sertraline and venlafaxine, 50 ng l⁻¹ for fluoxetine and milnacipran and 100 ng l⁻¹ for fluvoxamine, paroxetine and trazodone. For all the monitored drugs, the method is sufficiently sensitive in acute intoxications and for most of the drugs also in determination of therapeutic levels.

RECENZE



Jaroslav Doležel,
Johann Greilhuber
a Jan Suda (ed.)

Flow Cytometry with Plant Cells: Analysis of Genes, Chromosomes and Genomes

Vydal Wiley-VCH, Weinheim, v únoru 2007, o 479 stranách v pevné vazbě, v Česku je dostupná za ekvivalent pouhých 150,- €.

ISBN: 978-3-527-31487-4

Kniha je koncipována tak, aby byla užitečná jak začínajícím, tak pokročilým uživatelům. Popisuje možnosti využití a výhody průtokové cytometrie ve studiu rostlin a rostlinných genomů. Úvodní kapitoly shrnují vývoj metody a obecné zákonitosti studia rostlinných buněk metodami průtokové cytometrie, další části knihy jsou věnovány příkladům jejich využití v rostlinné genetice, analýze genomu, analýze průběhu buněčného cyklu, šlechtitelském výzkumu i analýze mořského fytoplanktonu. Každá kapitola má bohatý výběr doporučené literatury, a rozsáhlý rejstřík umožňuje dobrou orientaci. Kniha představuje vynikající a zatím unikátní soubor informací o průtokové cytometrii rostlinných materiálů a doplňuje tak mezeru v dosavadních informacích. Vzhledem k tomu, že se neustále rozšiřuje počet pracovišť, která průtokovou cytometrii využívají, a jak dokazuje neustále rostoucí počet publikací, narůstá i počet pracovníků, kterým budou praktické poznatky shrnuté v knize velice užitečné.

Na knize spolupracovalo 36 autorů, proto je každá kapitola psána vysoce fundovaně. Jednotlivé kapitoly zahrnují přehled cytometrů a cytometrie z hlediska vývoje, principy metody, přehled cytometrie u rostlin, měření obsahu jaderné DNA, studium ploidie, využití v systematické rostlin, v ekologii a v evoluční biologii, dále sledování způsobů reprodukce, určování velikosti genomu, sledování zastoupení bazí v rostlinných genomech, detekce a stanovení viability rostlinných patogenů, analýza a třídění protoplastů. Samostatnou kapitolu si vyžádala průtoková cytometrie chloroplastů, studium DNA v nižších rostlinách, i fytoplankton a jeho analýza. Podrobně je také popsáno využití v analýze buněčného cyklu rostlinných buněk a populací, synchronizace buněčného cyklu u protoplastů i kořenových meristémů, studium endoploidie, analýza a třídění chromosomů, i analýza exprese rostlinných genů. Závěrem je zařazena kapitola věnovaná databázi FLOWer, databázi údajů o průtokové cytometrii rostlinné DNA.

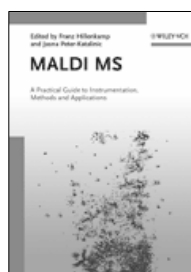
Editoři knihy jsou v botanických kruzích dobře známi, Jaroslav Doležel je vedoucím olomoucké pobočky Ústavu experimentální botaniky Akademie věd ČR, a současně je docentem Palackého university v Olomouci. Patří mezi prů-

kopníky využití průtokové cytometrie ve studiu rostlin, zejména analýzu velikosti jaderných genomů, a pravidelně na toto téma pořádá mezinárodní kursy.

Johann Greilhuber je docentem Botanického ústavu University ve Vídni. Zabývá se studiem rostlinných genomů již téměř 30 let, a je znalcem vnitrodruhové proměnlivosti velikosti genomu. Zabývá se rozvojem nových postupů ke studiu rostlinného genomu, včetně metod založených na průtokové cytometrii.

Jan Suda je vedoucím laboratoře průtokové a zobrazovací cytometrie v Botanickém ústavu AV ČR. Je taxonem specializovaným na rostlinnou biosystematiku, včetně stanovení velikosti genomu a je spoluautorem knihy o taxonomické analýze.

Tomáš Macek



Hillenkamp, Franz /
Peter-Katalinic, Jasna

MALDI MS A Practical Guide to Instrumentation, Methods and Applications

Vydal Wiley-VCH, Weinheim,

1. vydání, leden 2007, 99 Eur, 346 stran.

ISBN-10: 3-527-31440-7

S využitím hmotnostní spektrometrie se dnes setkáváme v mnoha oblastech výzkumu. K získání hmotnostních spekter jsou využívány různé techniky a přístupy. Jednou z velmi rozšířených technik je použití laseru k ionizaci molekul za přítomnosti matrice (matrix assisted laser desorption/ionization). MALDI se nejčastěji používá pro stanovení hmotnosti proteinů a peptidů, ale lze ji s úspěchem aplikovat i na jiné typy látek, jako jsou nukleové kyseliny, glykany, atd.

Tato kniha podává souhrnný přehled problematiky ionizace různých typů molekul. Je členěna do devíti kapitol, kdy první pojednává o dosavadních znalostech procesu ionizace a druhá o instrumentaci hmotnostních spektrometrů. Ostatní kapitoly jsou rozděleny podle typu studované látky: proteiny, biomarkry, nukleové kyseliny, glykany, lipidy, polymery a malé molekuly. Každá z těchto kapitol je členěna do subkapitol, které přehledně shrnují praktické aplikace a omezení v jednotlivých oblastech ionizace molekul. Pokud by se čtenář chtěl ponořit více do hloubky daného problému, může čerpat z četných odkazů na publikované primární zdroje informací.

Knihu lze doporučit jak lidem, kteří s MALDI už pracují pro ucelení pohledu na problematiku, tak lidem, kteří s hmotnostní spektrometrií začínají pracovat pro vytvoření si prvotního náhledu na možnosti, jež MALDI poskytuje.

Martin Svoboda

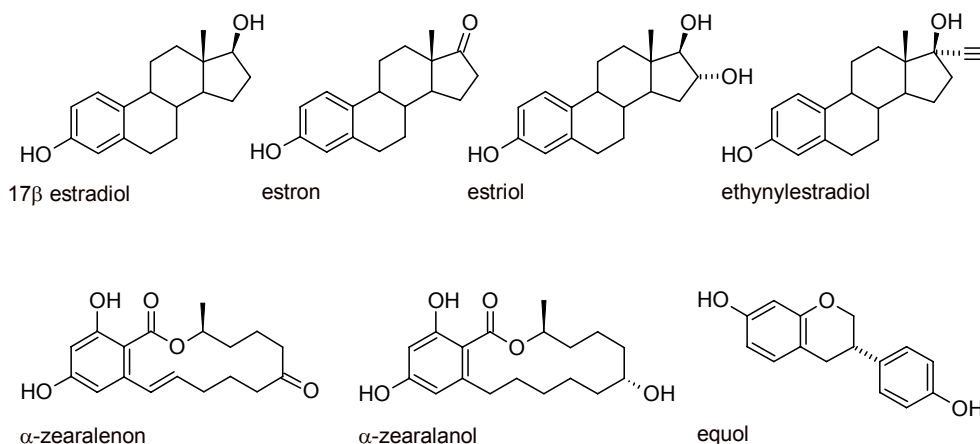
DISKUSE

V nejnovejším čísle Chemických listů jsem si se zájmem přečetl článek H. Kujalové a spol. „Látky s estrogením účinkem ve vodách“. Jedná se stručný přehled aktuálního tématu, v němž se stýkají oblast zdraví a ochrany životního prostředí, a který bude pravděpodobně zajímavý i pro širší veřejnost. Je proto škoda, že ať už kvůli nepozornosti nebo kvůli čerpání informací z neseřídných zdrojů (např. cit. 6, 10) se autoři dopustili chyb, které není možno považovat za triviální. Domnívám se, že alespoň pro některé by v následujícím čísle CHL měla být uvedena tisková oprava.

1. Nevhodné vymezení kategorií estrogenů ve druhém sloupci, třetí odstavec: „Mezi nejběžnější fytoestrogeny patří isoflavonoidy... .., kumestany, lignany, **laktony**, **steroly**, **naringeniny**.“ Isoflavonoidy, kumestany, lignany a steroly jsou vzájemně odlišné typy struktur. **Naringenin** je jeden konkrétní flavanon, významným fytoestrogenem je prakticky jediný derivát naringeninů (8-prenyl-naringenin). **Lakton** je obecný strukturální prvek, který se může vyskytovat např. u lignanů (enterolakton), kumestanů (kumestrol) aj.
2. Zcela nesprávné je tvrzení: „...ploštičnik (*Cimicifuga*) ... obsahuje fytoestrogen formononetin (na bázi triterpenových glykosidů).“

Formononetin (7-Hydroxy 4'-methoxyisoflavon) není ani glykosid ani terpen a nadto se nevyskytuje v ploštičniku (Kenelly et al., 2002; He et al, 2006). Jeho významnými zdroji jsou určité bobovité rostliny (např. některé druhy jetele – rod. *Trifolium*). Formononetin sám o sobě je velmi slabým estrogenem, může být ale střešní mikroflorou metabolizován na daidzein a dále na equol.

3. V současnosti není v České republice registrován žádný lék obsahující diethylstilbestrol, význam této látky pro životní prostředí ve srovnání s jinými uvedenými estrogeny (zejm. s ethynylestradiolem) bude patrně menší.
4. Ve vzorcích na obr. 1: **estriol** je zobrazen špatně (místo hydroxylů v polohách 16 α , 17 β dvojice hydroxylů na C17). **Zearalanol** má jednu nenasycenou vazbu navíc. Vzorce postrádají údaje o stereochemii vazeb, ať už se jedná o metyly a hydroxylové skupiny u všech steroidů, metyly ve vzorcích zearalenonu a zearalanolu, vazbu mezi C3 a C1' equolu. (Praktický význam má pouze *S* izomer equolu). V textu jsou zmiňovány jak 17 β -estradiol tak i 17 α -estradiol.



Oldřich Lapčík,
Ústav chemie přírodních látek, VŠCHT Praha

ZPRÁVY

VŠCHT PRAHA BILANCUJE

Žebříček kvality veřejných vysokých škol v České republice sestavil začátkem června deník MF Dnes. Vycházel přitom z kritérií mezinárodní skupiny International Ranking Expert Group, jaká pro obdobné posuzování platí ve světě. O pořadí rozhodovala úspěšnost vědeckého bádání na té které škole vyjádřená počtem publikací v prestižních odborných časopisech, které byly zahrnuté do respektované světové databáze ISI Web of Knowledge. Mezi jedenadvaceti posuzovanými školami nejlépe obstála Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, která dosáhla koeficientu 72. Univerzita Karlova, druhá v pořadí, měla koeficient 53, třetí Veterinární a farmaceutická univerzita v Brně 39, většina škol (od 5. místa žebříčku) se pohybovala pod 20 body.

Na konci tohoto roku uzavře profesor Vlastimil Růžička své druhé funkční období, tedy celkem šest let ve funkci rektora. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze prošla za toto období dynamickými změnami. Nyní bilancuje a na budoucnost zdá se být dobře připravena.

Nejvýrazněji se VŠCHT Praha proměnila v oblasti vzdělávání. Z pětiletých inženýrských studijních programů je dnes tříleté bakalářské a na ně navazující dvouleté magisterské studium. Škola nešla jednoduchou cestou, kterou zvolily některé jiné vysoké školy, když pětiletý program jednoduše rozdělily na tři plus dva roky. Na VŠCHT Praha to byla velmi zásadní změna, spojená s úplnou restrukturalizací studijních programů. Rektor Vlastimil Růžička k tomu říká: „Osobně se domnívám, že to byla proměna potřebná a užitečná. Reagovali jsme tím na rostoucí zájem mladé generace po vysokoškolském vzdělání i na politiku Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy zvýšit podíl terciárně vzdělaných lidí. Věřím, že také průmysl bude pro uplatnění bakalářů nabízet stále více možností uplatnění.“ Do jaké míry tato změna školy prospěla, ukáže ovšem až budoucnost. V minulém akademickém roce 2006/7 poprvé skončil třetí rok bakalářských programů a v září byli poprvé přijímáni studenti do navazujících magisterských programů.

Komunikace, marketing a inspirace ve spolupráci s průmyslovou sférou

Současné vedení školy věnuje velkou pozornost propagaci, ofenzivnímu marketingu, public relations. Díky tomu se podařilo získat víc zájemců o studium. Před třemi lety se ke studiu přihlásil téměř dvojnásobný počet uchazečů než rok před tím, a škola také přijala podstatně víc studentů. Od té doby zvýšený zájem o studium trvá. VŠCHT Praha byla mezi prvními vysokými školami u nás, které začaly dbát na svůj obraz u veřejnosti.

Pozoruhodná je partnerská struktura podniků, od nichž VŠCHT Praha získává výraznou podporu: Unipetrol, Zentiva, Preciosa, Procter & Gamble, dříve také

Appian Group, a další. Všechny tyto pojmy průmyslového světa spolupracují se školou dlouhodobě a inspirují k mnohým koncepčním krokům. „Možnost spolupracovat s velkými chemickými firmami, možnost sdílet navzájem výsledky i informace, kam se výzkum, vývoj a vzdělávání budou ubírat, je pro školu velmi důležitá. Partneři často přispěli i k přípravě některých studijních programů. Například program Syntéza a výroba léčiv by nevznikl bez podpory Zentivy, jiné studijní programy byly připravovány ve spolupráci s Unipetroleem“, podotýká k tomu rektor Růžička.

Příští vedení školy čekají nové výzvy

Nové vedení školy musí především stabilizovat čerstvě restrukturalizovaný systém studijních programů – bakalářských a magisterských, které jsou stále ještě ve vývoji. VŠCHT Praha by také měla i nadále mít ambici udržet své prioritní postavení mezi českými vysokými školami, ale nejen to, měla by stoupat i na žebříčku evropských škol. Podstatné je i výraznější otevření se světu. Každým rokem vyjíždí sedmdesát až osmdesát studentů v rámci výměnných programů LLP/Erasmus a ještě o zhruba dvacet více jich přijíždí, výzvou je ale získání více studentů z mimoevropských zemí, zejména z jihovýchodní Asie.

Bude zajímavé sledovat, zdali se příští vedení školy odhodlá ke snížení počtu studijních programů a oborů. K tomu prof. Růžička podotýká: „Dosavadní míra specializace je až zbytečně široká. V tomto názoru mne utvrdila nedávná návštěva tří špičkových univerzit světové úrovně v Jižní Koreji a na Tchaj-wanu, kde usilují právě o vysokou univerzalitu. U nás učíme až enormní množství předmětů, výuka je příliš atomizována. Oborů by mělo být méně. A úzká specializace by měla být pěstována až v doktorském studijním programu.“ Analogická inspirace ve světě by mohla oživit i úvahy o reorganizaci školy. Čtyři fakulty, třicet ústavů – dříve kateder, to není efektivní struktura pro školu, která má čtyři tisíce studentů. Struktura školy by měla být mnohem jednodušší, složená z menšího počtu větších celků. I to bude zajímavé sledovat.

A jaké jsou příští plány rektora Vlastimila Růžičky? „Tradice VŠCHT Praha, a vlastně všech českých vysokých škol, je trochu jiná, než je obvyklé v zahraničí. Akademičtí funkcionáři se tu po ukončení svého funkčního období zpravidla vrací ke své původní pedagogické a vědecké práci. Současné vedení bude předávat školu v dobré kondici, nemám proto ze svého možného setrvání zde obavy. Předpokládám, že nový rektor nebo rektorka a nové vedení přijdou se svými představami o dalším rozvoji školy a jsem přesvědčen, že to budou představy správné. Považuji proto za korektní nesvazovat nové vedení žádnými svými komentáři a plánuji, co lze s nadsázkou nazvat bobříkem mlčení. A s optimistickým očekáváním se těším na věci příští“.

připravil Daniel Sobotka

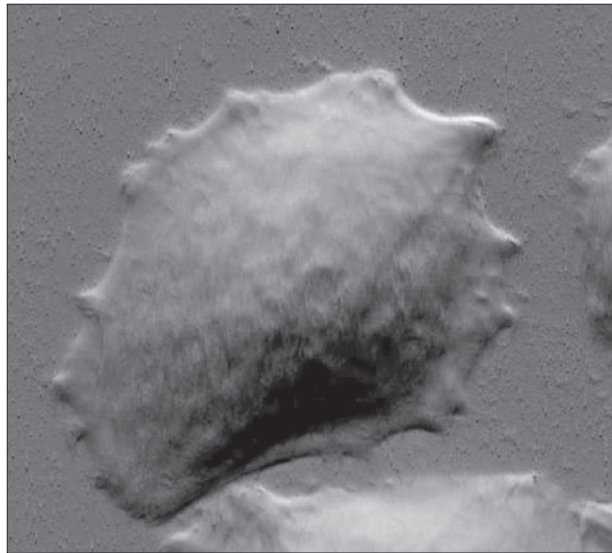
Oddělení vnitřní a vnější komunikace VŠCHT Praha

Společnost H TEST a.s. rozšířila svoji nabídku testovacích systémů i o produkty divize Agilent Materials Sciences Solutions, tj. AFM (Atomic Force Microscopy)/SPM (Scanning Probe Microscopy) rastrovací mikroskopy.

Zásadní výhodou technologie AFM oproti elektronovým mikroskopům je, že měřené vzorky nemusí být vodivé! S technologií AFM lze dosáhnout rozlišení až v řádu jednotek nanometrů.

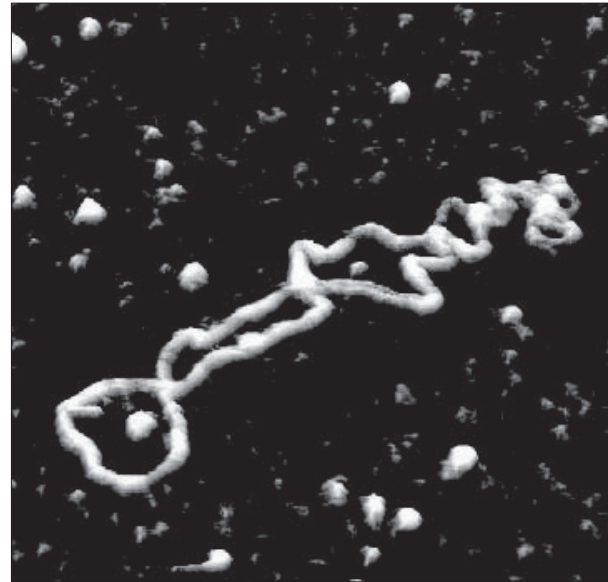
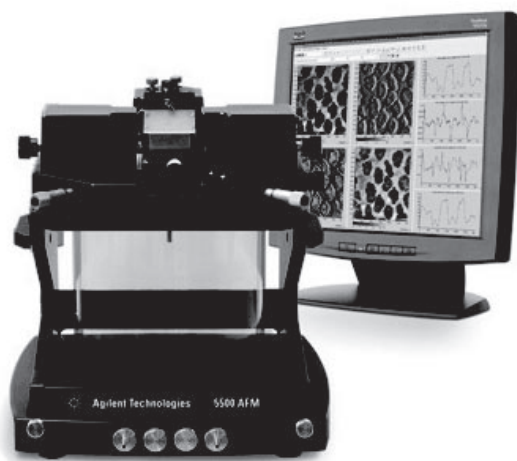
Systémy Agilent se uplatní v:

- elektrochemii
- nanolitografii
- aplikacích s polymery
- biotechnologiích
- medicíně



Série 5500 AFM/SPM

AFM mikroskop Agilent 5500 je vrcholný víceúčelový výzkumný mikroskopický systém pro AFM a SPM. Modulární koncepce této série dovoluje jednoduchou integraci stojanu pro velké vzorky až 150×200mm (LS), invertovaného mikroskopu (ILM), scannerů pro malé i velké zobrazované plochy, adaptérů pro uchycení vzorků, souprav pro elektrochemii nebo video mikroskopu.



Série 5100 AFM/SPM

AFM mikroskop Agilent 5100 je vhodný pro uživatele, kteří nepotřebují plnou funkčnost vrcholného modelu Agilent 5500, a přesto vyžadují možnost plné kontroly prostředí, ve kterém se nachází měřený vzorek. Pro plnou kontrolu prostředí, ve kterém se nachází měřený vzorek, je k dispozici volitelná hermeticky uzavřená komora a teplotně regulovaný adaptér pro uchycení vzorků.

- Velikost vzorku 20×20 mm
- Kontrola teploty a prostředí

Série 5400 AFM/SPM

Nový AFM mikroskop Agilent 5400 AFM/SPM je velmi přesný, univerzální přístroj za dostupnou cenu, určený zejména pro oblast vzdělávání a výzkumu a představuje tak ideální možnost zpřístupnění AFM technologie širokému spektru potenciálních uživatelů. Mikroskop je dodáván s podklady pro výuku AFM včetně vzorků pro experimenty.

- Velikost vzorku 20×20 mm
- Kontrola teploty

Kontaktní informace:

H TEST a.s.

Na okraji 44B
162 00 Praha 6
Tel.: 235 365 207, 204
Fax: 235 363 893
E-mail: info@htest.cz

www.htest.cz

www.agilent.com/?nd=nanotech



verze 2007.08.29 D

Odborná skupina organické, bioorganické a farmaceutické chemie ČSCH



Sborník abstraktů

Konference
Pokroky v organické, bioorganické
a farmaceutické chemii

42. Konference

16. - 18. listopadu 2007

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.



časopis Collection of Czechoslovak Chemical Communications

časopis Chemické listy

IVAX Pharmaceuticals s.r.o. Opava, člen skupiny TEVA

Zentiva, a.s., Praha

Merck, spol. s r.o., Praha

SciTech, spol. s r.o., Praha

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

Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, vvi, Praha

Vysoká škola chemicko-technologická, Praha



UNEXPECTED MISCIBILITY OF ORGANIC ETHERS WITH PERFLUOROCARBONS

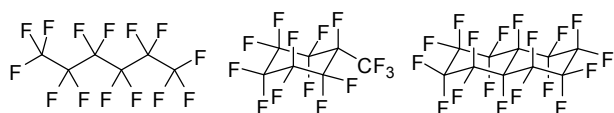
PETER BABIAK^a and PETR BEIER^b

Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, ASCR, 166 10 Praha 6

peto.babiak@gmail.com; beier@uochb.cas.cz

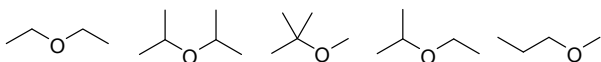
We recently uncovered unexpected complete miscibility of organic ethers with perfluorocarbons (Scheme 1). Investigations in the influence of the structure of an organic ether (Scheme 2) on the miscibility temperature and mutual solubility with perfluorocarbons are currently underway. Theoretical predictions from calculations will be made and compared with experimental data.

We intend to use perfluorinated solvents as a reaction media for oxidation reactions. High solubilities of gases such as hydrogen, methane and oxygen make perfluorocarbons excellent solvents for oxidations with oxygen. In situ formation of peroxycompounds by the reaction with oxygen and subsequent oxidation of organic substrates could represent a new approach to selective oxidation in organic synthesis.

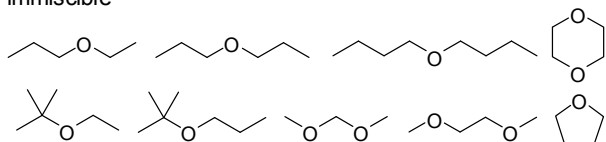


Scheme 1. Perfluorocarbon solvents used

miscible



immiscible



Scheme 2. Miscibility of some ethers with perfluorocarbon solvents at 25°C

Financial support from the IOCB is gratefully acknowledged.

SYNTÉZA NOVÝCH TYPŮ 2'-DEOXYRIBO-C-NUKLEOSIDŮ

JAN BÁRTA^a a MICHAL HOCEK^{a*}

^a *Ústav organické chemie a biochemie, AV ČR, v.v.i., Gilead Sciences & IOCB Res. Center, Flemingovo 2, 166 10, Praha 6*
barta@uochb.cas.cz, hocek@uochb.cas.cz

C-Nukleosidy jsou charakteristické náhradou labilní glykosidické C-N vazby za stabilní a hůře odbourávanou C-C vazbu. Z tohoto plyne jejich využití v rozšíření genetické abecedy¹. Existuje několik postupů pro syntézu C-nukleosidů², ale všechny jsou charakteristické nízkým výtěžkem a anomerní selektivitou. Budou prezentovány nejnovější pokroky ve vývoji modulární metodiky³ syntézy 2'-deoxyribo-C-nukleosidů založené na přípravě halogenovaných intermediátů a následných transformacích funkčních skupin vedoucích k sériím derivátů.

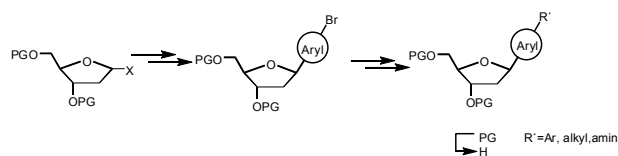


Schéma 1. Obecné schéma přípravy 2'-deoxy-C-nukleosidů

Tato práce je součástí výzkumného projektu Z4 055 905 a byla podpořena centrem biomolekul a komplexních molekulárních systémů (LC512), NIH, Fogarty International Center (grant 1R03TW007372-01) a Gilead Sciences, Inc (Foster city, CA, USA).

LITERATURA

- Reviews: (a) Wang L., Schultz P.G.: *Chem. Commun.* 2002, 1. (b) Henry A.A., Romesberg F.E.: *Curr. Opin. Chem. Biol.* 7, 727 (2003). (c) Kool E.T., Morales J.C., Guckian K.M.: *Angew. Chem. Int. Ed.* 39, 990 (2000). (d) Kool E.T.: *Acc. Chem. Res.* 35, 936 (2002).
- Wu Q.P., Simons C.: *Synthesis* 2004, 1533.
- (a) Hocek M., Pohl R., Klepetářová B.: *Eur. J. Org. Chem.* 2005, 4525. (b) Urban M., Pohl R., Klepetářová B., Hocek M.: *J. Org. Chem.* 71, 7322 (2006). (c) Joubert N., Pohl R., Klepetářová B., Hocek M.: *J. Org. Chem.* 72, 6797 (2007).

SYNTÉZA CYKLODEXTRINOVÉ STAVEBNÍ JEDNOTKY PRO TVORBU SAMOSKLADNÝCH STRUKTUR

TEREZA BEDNAŘÍKOVÁ a JINDŘICH JINDŘICH

Katedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze, Hlavova 8, 128 40 Praha 2
jindrich@natur.cuni.cz

Cyklodextriny (CD) jsou cyklické oligosacharidy skládající se z $\alpha(1\rightarrow4)$ spojených D-glukopyranosových jednotek. Nejdůležitější vlastností těchto sloučenin a jejich derivátů je jejich schopnost tvořit inkluzní komplexy s lipofilními organickými molekulami¹.

Náš výzkum je zaměřen na syntézu sady C-3 symetrických multimerů CD (cit.²) jako stavebních jednotek pro přípravu samoskladných supramolekulárních struktur dendrimerního typu. Postup je založen na přípravě sloučenin za tvorby amidových vazeb.

Nejprve byla připravena látka **1** a následně látka **2** s C-3 symetrickým jádrem, jak je uvedeno ve schématu.

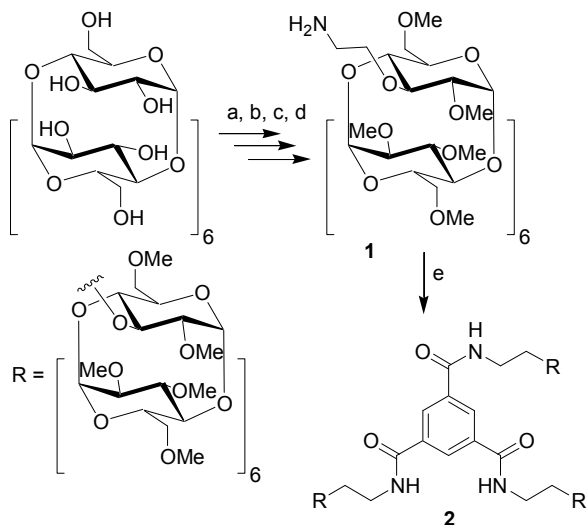


Schéma. Příprava trimeru β -CD derivátu s C-3 symetrickým jádrem. (a) CinBr, NaOH, H₂O/CH₃CN (b) NaH, MeI, DMSO (c) O₃, Me₂S, CHCl₃/MeOH (d) CH₃COONH₄, NaBH₃CN, MeOH (e) benzen-1,3,5-trikarboxylová kyselina, DIC, HOBT, DMF (1) amino-derivát β -CD (2) trimer amino-derivátu β -CD

Tento projekt je podporován MSM 0021620857.

LITERATURA

- Szejtli J.: Chem. Rev. 98, 1743 (1998).
- Ohga K., Takashima Y., Takahashi H., Kawaguchi Y., Yamaguchi H., Harada A.: Macromolecules 38, 5897 (2005).

SYNTÉZA β -CYKLODEXTRINOVÝCH MULTIMERŮ S VYUŽITÍM REGIOSELEKTIVNĚ MONOSUBSTITUOVANÝCH DERIVÁTŮ β -CD JAKO PREKURZORŮ PRO JEJICH PŘÍPRAVU

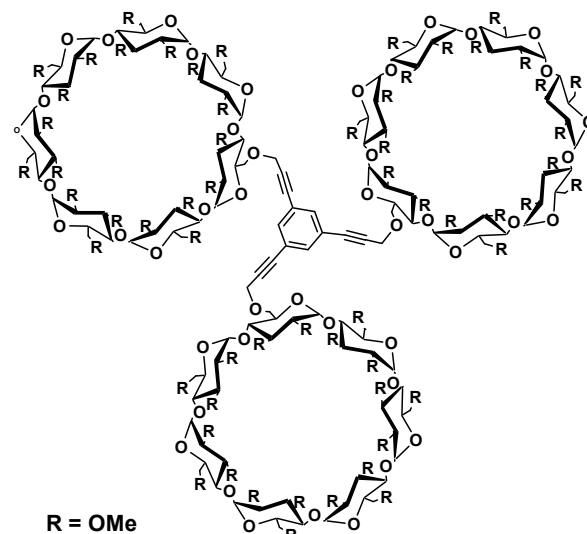
ANTONÍN BERAN a **JINDŘICH JINDŘICH**

Katedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze, Hlavova 8, 128 40 Praha 2
jindrich@natur.cuni.cz

Cyklodextriny¹ (CD) jsou cyklické oligosacharidy ve tvaru komolého kužele s vnitřní dutinou, jejichž významnou vlastností je schopnost vytvářet komplexy s různými organickými molekulami. Komplexaci se mění vlastnosti obou látek. Zejména je známa vlastnost měnit rozpustnost komplexovaných molekul. Sloučeniny na bázi CD nacházejí využití například jako nosiče léčiv, nebo jako součásti chemosenzorů.

Cílem této práce je syntéza dimerních a trimerních β -cyklodextrinových derivátů připravených za účasti

Grubbsových katalyzátorů. Jako prekurzory pro jejich syntézu byly připraveny regioselektivně monosubstituované deriváty β -cyklodextrinu, s allylovou nebo propargylovou skupinou v poloze 6¹-O.



Projekt je podporován granty MSM 0021620857 a KAN 200200651.

LITERATURA

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

SYNTÉZA A REAKCE 1,3,5(10),13(17)-ESTRATETRAEN-16-ONŮ

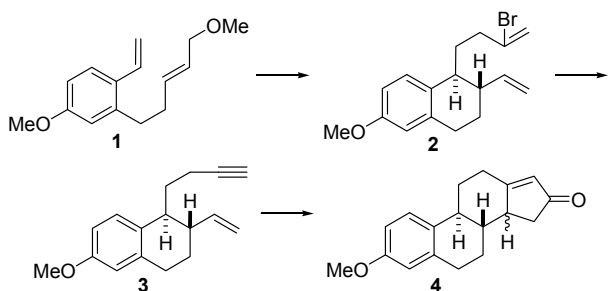
ROBERT BETÍK^a a **MARTIN KOTORA^{a,b}**

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

Syntéza isopernoidních sloučenin je zajímavou oblastí organické syntézy. Jeden ze směrů, který přitahuje pozornost, studium steroidů a zejména modifikace či funkcionalizace skeletu za účelem zlepšení některých biologických vlastností či naopak jejich potlačení. Nedávno jsme publikovali flexibilní syntetickou metodu pro přípravu derivátů 16-ketoestronu, která byla založena na opakované cyklizaci α,ω -dienů za použití Cp₂ZrBu₂ (dibutylzirkonocenu)¹ následované reakcemi s různými allylhalogenidy².

Tento postup je i základem pro syntézu estratetraen-16-nů o nichž se předpokládá, že by mohly být vhodnými intermediáty pro přípravu různých steroidních derivátů. Prvním krokem byla cyklizace výchozího dienu **1** následovaná reakcí a dibrompropenem, při které vznikl bromdien **2**. Dehydrohalogenací byl získán enyn **3**. Klíčovým krokem pak

byla Pauson-Khandova reakce enynu **3** při níž došlo k vytvoření požadovaného cyklopentenonového cyklu a tím i cílové sloučeniny **4**.



Projekt byl financován z Centra pro nová antivirovika a antineoplastika MŠMT (Projekt č. 1M0508).

LITERATURA

- Herrmann P., Katora M., Buděšínský M., Šaman D., Čiřáková I.: *Org. Lett.* 8, 1315 (2006).
- Herrmann P., Buděšínský M., Katora M.: *Chem. Lett.* 2007, in press.

KVARTERNÍ AMONIOVÉ SOLI TRITERPENOIDŮ S BIOLOGICKOU AKTIVITOU

**D. BIEDERMANN^a, J. ŠAREK^a, M. HAJDÚCH^b
a M. SVOBODA^c**

^aKatedra organické a jaderné chemie, PřF UK v Praze, Hlavova 8, 128 43 Praha; ^bLab. exper. medicíny, Dětská a onkologická klinika, LF UP a FN Olomouc, Puškinova 6, 775 20 Olomouc; ^cI.Q.A. a.s. Jindřicha Plachty 16, 150 00, Praha 5 david.biedermann@gmail.com

Pentacyklické triterpenoidy plní v přírodě nejrůznější důležité úlohy, ať už se jedná o membránovou stabilizaci u prokaryotů¹ nebo nejrůznější ochranné účinky u rostlin. Díky nedávným objevům silných biologických aktivit^{2,3} se tyto látky dostávají nyní do ohniska pozornosti vědců zabývajících se přírodními látkami.

V rámci výzkumu zaměřeného na biologické aktivity derivátů přírodních látek lupanové, oleananové a ursanové řady byla připravena skupina nových kvarterních amoniových solí. Připravené soli byly vesměs syntetizovány kvarternizací bromethylesterů příslušných kyselin, pomocí některého z běžných aminů.

Získaná série nových vysoce polárních derivátů triterpenů byla podrobena testům rozličných biologických aktivit. Výsledky testů anti-HIV aktivity vybraných derivátů neprokázaly žádnou signifikantní aktivitu. Avšak výsledky testů antimikrobiální aktivity vybraných derivátů na osmi bakteriálních liniích vykázaly naproti tomu v některých případech velice nízké inhibiční koncentrace. Výsledky testů *in vitro* cytotoxické aktivity byly provedeny u všech derivátů na linii T-lymfoblastické leukemie CEM a u vybraných derivátů

na více nádorových liniích a pozorované inhibiční koncentrace jsou rovněž slibné. Struktury všech připravených látek byly potvrzeny spektrálními daty (NMR, IČ, MS).

Režijní náklady byly hrazeny z výzkumného záměru MSM0021620857, derivatizační činidla byla financována z grantu MPO FT-TA/027.

LITERATURA

- Horbach S., Sahn H., Welle R.: *FEMS Microbiol. Lett.*, 111, 135 (1993).
- Šarek J., Klinot J., Bražínová S., Džubák P., Klinotová E., Nosková V., Křeček V., Kořínková G., Thomson J. O., Janošťáková A., Wang S., Parsons S., Fischer P. M., Zhelev N. Z., Hajdúch M.: *J. Med. Chem.* 46, 5402 (2003).
- Dzubak P., Hajduch M., Vydra D., Hustova A., Kvasnica M., Biedermann D., Markova L., Urban M., Sarek J.: *Nat. Prod. Rep.* 23, 394 (2006).

STUDIUM INHIBITORŮ ACETYLCHOLINESTERASY

JIŘÍ BINDER^a, KAMIL KUČA^b, DANIEL JUN^b, JIŘÍ WIESNER a VERONIKA OPLETALOVÁ^a

^aKatedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv, FarmF, UK v Praze, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové; ^bKatedra toxikologie, FVZ Univerzity obrany Hradec Králové, Třebešská 1575, 500 01 Hradec Králové; ^cNárodní centrum pro výzkum biomolekul, Masarykova univerzita, Kamenice 5/A4, 625 00 Brno

Acetylcholinesterasa (AChE; EC 3.1.1.7) je enzym, který má klíčovou roli v přenosu nervového signálu. Jeho funkcí je štěpit neurotransmitter acetylcholin uvolňovaný z nervových zakončení při přenosu nervového vzruchu¹. Inhibitory AChE jsou v současnosti užívány jako pesticidy (parathion, malathion), jako léčiva Alzheimerovy choroby (donepezil, rivastigmin, galantamin), k léčbě myastenien gravis (neostigmin, pyridostigmin), k premedikaci před otravou nervové paralytickými látkami (SAD-128) či v oftalmologii.

Za posledních několik let znalosti o struktuře, vlastnostech či mechanismu inhibice a reaktivace AChE značně pokročily, především zásluhou *in silico* výzkumu. Rychlý vývoj výkonných počítačů a nových metod teoretické chemie umožnil studovat chování látek bez toho, aby se uskutečnil jediný experiment². V současnosti je dostupné velké množství softwarových systémů, s jejichž pomocí je možné objasnit jednotlivé detaily chemických reakcí, vypočítat vlastnosti látek či studovat interakci léčiv s receptory nebo jinými makromolekulami.

V našem příspěvku se zabýváme studiem interakcí nově syntetizovaných inhibitorů s AChE. Získané hodnoty budou srovnávány a výsledky *in vitro* experimentu³.

Autoři děkují Ministerstvu obrany za finanční podporu (projekt č. FVZ0000604).

LITERATURA

1. Quinn D. M.: Chem Rev 87, 955 (1987).
2. Lushington G.H., Jian-Xin Guo, Hurley M. M.: Curr. Top. Med. Chem. 6, 57 (2006).
3. Kuča K., Cabal J., Patočka J., Dohnal V.: Lett. Drug Des. Discov. 1, 97 (2004).

KVARTERNÍ HETEROARENIOVÉ SOLI JAKO KOMPETITIVNÍ INHIBITORY ACETYLCHOLINESTERASY

JIŘÍ BINDER^a, KAMIL KUČA^b, DANIEL JUN^b a VERONIKA OPLETALOVÁ^a

^aKatedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv, FarmF, UK v Praze, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové; ^bKatedra toxikologie, Fakulta vojenského zdravotnictví Univerzity obrany Hradec Králové, Třebešská 1575, 500 01 Hradec Králové

Acetylcholin (ACh) je významným neuromediátorem vegetativního nervového systému. ACh je odbouráván enzymem acetylcholinesterasou (AChE; EC 3.1.1.7) a na nervových synapsích¹. Při inhibici tohoto enzymu se zpomaluje pokles koncentrace acetylcholinu v synapsi, čehož se využívá při léčbě Alzheimerovy choroby či myastenien gravis. Inhibitory AChE se rovněž používají jako pesticidy, profylaktika před otravou nervově paralytickými látkami či v oftalmologii.

V naší práci se zabýváme syntézou a *in vitro* testováním kvarterních inhibitorů AChE². Z vybraných dusíkatých heterocyklů jsme jednoduchou syntézou připravili monokvarterní a biskvarterní deriváty. Jejich účinnost byla ověřena standardním *in vitro* testem s použitím homogenátu z potkaních mozků. Všechny testované heteroareniové soli byly shledány reverzibilními inhibitory AChE. Na základě získaných hodnot byla sledována závislost inhibiční schopnosti nově syntetizovaných látek na jejich struktuře.

Autoři děkují Ministerstvu školství, mládeže a tělovýchovy za finanční podporu projektu (MSM0021620822).

LITERATURA

1. Quinn D. M.: Chem. Rev. 87, 955 (1987).
2. Kuča K., Cabal J., Patočka J., Dohnal V.: Lett. Drug Des. Discov. 1, 97 (2004).

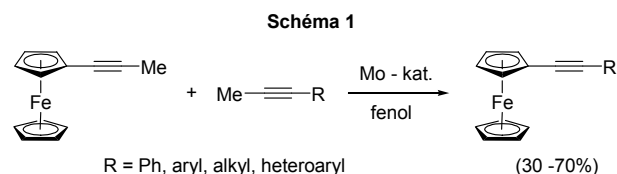
CROSS-METATHESA PROPYNYL FERROCÉNU S ALKÍNYMI

TOMÁŠ BOBULA^a, JASON HUDLICKÝ^a, PETR NOVÁK a MARTIN KOTORA^{a,b}

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

Medzi moderné a selektívne metódy prípravy rôzne substituovaných acetylénov patrí aj cross-metathesa dvoch alkinov založená na Mo-katalytickom systéme s príslušnými aktivujúcimi fenolmi^{1,2,3}.

Našími hlavnými cieľmi bolo preskúmať selektivitu metathesy propynylferrocénu s rôznymi alkinmi ako metódy prípravy série rôzne substituovaných derivátov ferrocénu (Schéma 1). Pozornosť bola zameraná na optimalizáciu reakčných podmienok, správnu voľbu katalytického systému a možnosť rozšírenia aplikácie aj na iné typy propinových substrátov.



Vyššie uvedená metodika umožňuje prípravu série π -konjugovaných arylových a heteroarylových derivátov etynylferrocénu, nesúcich elektrón-donorné a elektrón-akceptorné skupiny. Reakcia sa javí ako vysokoselektívna a vedie prednostne k vzniku heterodimérov (30-70%) - v niektorých prípadoch vznikajú v malých výtazkoch vedľajšie produkty homometathesy jednotlivých zúčastnených reaktantov. Získané produkty boli podrobené rôznym fyzikálno-chemickým štúdiám z hľadiska ich potenciálneho využitia v rôznych oblastiach chémie (v oblasti nových materiálov, organickej syntézy, rentgenoštruktúrnej analýzy atď).

Tato práce vznikla za podpory Centra základního výzkumu MŠMT (projekt č. LC06070, Struktura a syntetické aplikace komplexů přechodných kovů).

LITERATURA

1. Nečas D., Kotora M., Štěpnička P.: Coll. Czech. Chem. Commun. 68, 1897 (2003).
2. Zhang W., Moore J.S.: Adv. Synth. Catal. 349, 93 (2007).
3. Füstner A., Davies W. P.: Chem. Commun. 2005, 2307.

SYNTÉZA MAKROCYKLŮ PRO KOMPLEXACI FULLERENŮ

PETR HOLÝ^a, MICHAL BUCHTA^b, JIŘÍ RYBÁČEK^a, ŠÁRKA LIPNICKÁ^a a MARTIN BĚLOHRADSKÝ^a

^aÚstav organické chemie a biochemie AV ČR, v.v.i., Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6; ^bVysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6 michal.buchta@vscht.cz; petrholý@uochb.cas.cz

V programu syntézy makrocyklů uvažovaných pro komplexaci fullerenu hodláme využít elektronově bohatých aromatických platforem (Ar) spojených vhodnými můstkami. Pro uvažovaný cíl je výhodné realizovat můstek z 4,5-bis(2-kyanoethylthio)-1,3-dithiol-2-thionu **I**, který má rovněž

výhodný elektronický charakter a lze z něj selektivně generovat monothiولاتový ion reakcí s 1 ekvivalentem báze¹ (CsOH). Po alkylationi bis-(halomethyl)aromátem² se získají zdvojené struktury (Schéma 1), v nichž se dalším přidáním báze uvolní koncové thiolátové skupiny. Opakováním těchto kroků a cyklizací lze tak dospět k elektronově bohatým makrocyklům **II** s dutinou velikostí odpovídající fullerenům (C₆₀, C₇₀).

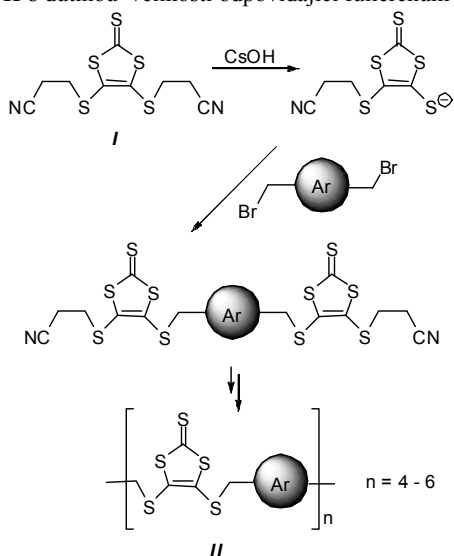


Schéma 1.

Práce byla provedena v rámci výzkumného záměru ZA 055 0506 a za finanční podpory GA AV ČR (grant č. A400550704).

LITERATURA

1. Simonsen K. B., Svenstrup N., Lau J., Simonsen O., Mørk P., Kristensen G. J., Becher J.: *Synthesis* 3, 407 (1996).
2. Rybáček J., Rybáčková M., Høj M., Bělohorský M., Holý P., Kilsá K., Nielsen M. B.: *Tetrahedron* 63, 8840 (2007).

JEDNODUCHÁ SYNTÉZA OPTICKY AKTIVNÍCH DERIVÁTŮ IMIDAZOLU

ALEŠ MAREK^a, JIŘÍ KULHÁNEK^a a FILIP BUREŠ^a

^aKatedra organické chemie, Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice, nám. Čs. legií 565, 532 10 Pardubice
filip.bures@upce.cz

Heterocyklické molekuly a jejich unikátní chemické a fyzikální vlastnosti stimulují snahu organických chemiků o jejich syntézu, izolaci a charakterizaci již od pradávna. Zatímco syntéza základních heterocyklických skeletů je již poměrně rutinní záležitostí, syntéza opticky aktivních analogů zůstává výzvou moderního chemika. Aplikace takových neracemických derivátů našla svoje mnohá uplatnění např. jako ligandy v koordinační chemii přechodných kovů.

4-Substituovaný pětičlenný heterocyklus se dvěma dusíky – imidazol, strukturně podobný histaminu, lze pak s výhodou

využít jako *N*-ligand a po komplexaci na vhodný přechodný kov aplikovat jako opticky aktivní katalyzátor vybraných asymetrických reakcí.

Syntéza takových derivátů vychází z komerčně dostupných chráněných (Cbz) aminokyselin ((*S*)-alanin, (*S*)-valin, (*S*)-leucin, (*S*)-isoleucin a (*S*)-fenylalanin), jejich transformací na diazoketony/bromoketony a následně kondenzační reakci v kapalném amoniaku za vzniku požadovaného opticky aktivního derivátu imidazolu (Schéma 1)¹.

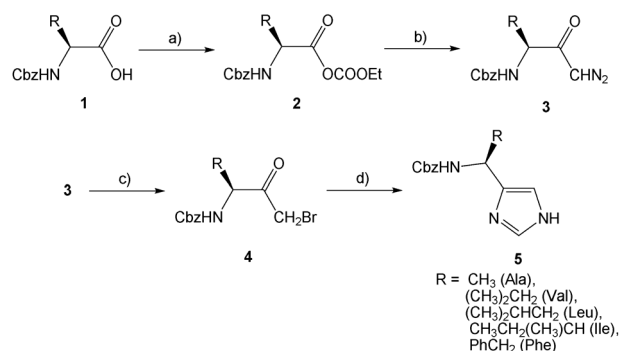


Schéma 1. a) ClCO₂Et/Et₃N/Et₂O/THF/-25°C/30min; b) CH₂N₂/Et₂O/-10°C/3h; c) HBr/AcOH/20°C/1h; d) formamidine acetate/NH₃ (l)/23 bar/70°C/20h.

Tento projekt je podporován GA ČR (203/07/P013).

LITERATURA

1. Marek A., Kulhánek J., Ludwig M., Bureš F.: *Molecules* 12, 1183 (2007).

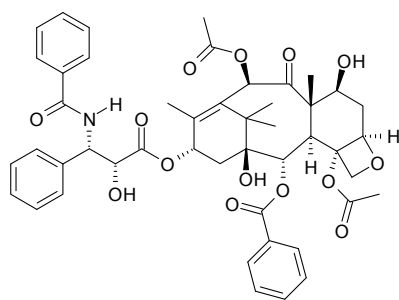
PACLITAXEL, IZOLACE NEBO SYNTÉZA

LADISLAV CVAK, MARTIN VALÍK a TOMÁŠ HOLAS

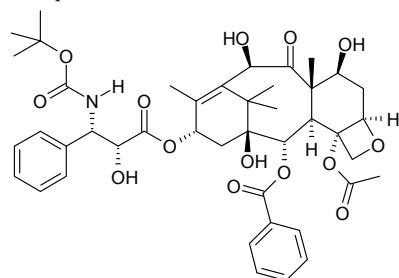
TEVA Opava, Ostravská 29, 747 70 Opava Komárov
ladislav_cvak @ivax-cz.com, martin_valik @ivax-cz.com,
tomas_holas @ivax-cz.com

Paclitaxel (Taxol[®]), diterpenoid izolovaný původně z kůry pacifického tisu (*Taxus brevifolia*) a jeho semisyntetický analog docetaxel (Taxoter[®]) jsou dnes nejuspěšnější léky proti rakovině.

Rychlejšímu a masovějšímu uvedení do terapeutické praxe bránil na začátku devadesátých let nedostatek substance – hovořilo se dokonce o tazolové krizi. Potřeba substance stimulovala vědecké kolektivy na celém světě k hledání zdrojů. Zkoumaly se jiné přírodní zdroje paclitaxelu, zejména pak jiné druhy rodu *Taxus* a bylo zjištěno, že paclitaxel lze izolovat i z jiného materiálu než je kůra pacifického tisu. Pracovalo se na parciální syntéze z jiných přírodních taxanů, zejména z relativně hojného baccatinu III.

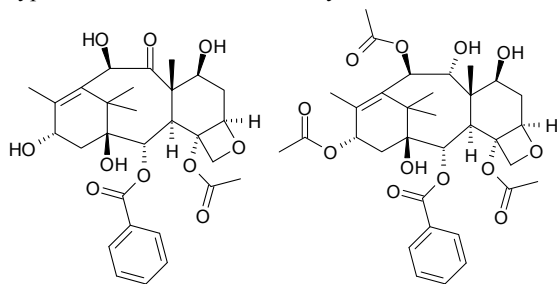


paclitaxel



docetaxel

Velmi intenzivně se pracovalo na produkci paclitaxelu a jiných taxanů v tkáňových kulturách. Zjistilo se, že paclitaxel produkují houby rostoucí na tisu a zkoušela se fermentační produkce paclitaxelu pomocí těchto hub. No a konečně byla vypracována celá řada totálních syntéz.



10-deacetylbaccatin III

13-acetyl-9-dihydrobaccatin III

Ze všech uvedených možností jsou dnes pro průmyslovou výrobu k dispozici dvě: Izolace z jehličí různých druhů tisu (*Taxus media*, *Taxus canadensis*, *Taxus wallichiana*) a parciální syntéza z některých přírodních taxanů, zejména z baccatinu III, 10-deacetylbaccatinu III a z 13-acetyl-9-dihydrobaccatinu III. Izolace z fermentační půdy získané kultivací určitých kmenů rodu *Taxus* byla rovněž vyřešena a čeká na povolení výroby. Lze tedy konstatovat, že nedostatek paclitaxelu už nehrozí a bylo dosaženo standardního tržního stavu. Začala soutěž, kdo vyrobí a nabídne maximální kvalitu (paclitaxel obsahující více než 0,5 % nečistot je dnes už neprodejný) za minimální cenu.

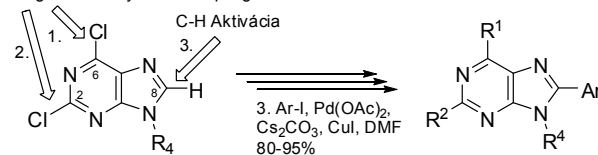
V přednášce budou diskutovány aspekty izolace paclitaxelu a jiných taxanů z jehličí *Taxus canadensis* a využití oněch jiných taxanů pro parciální syntézu paclitaxelu a docetaxelu. Přitom budou prezentovány vlastní zkušenosti, protože v závodě TEVA v Opavě paclitaxel vyrábíme.

SYNTEZA MODIFIKOVANÝCH PURÍNŮ POMOCÍ PŘÍAMÝCH C-H ARYLACÍ

IGOR ČERŇA a MICHAL HOCEK*

Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, Gilead Sciences & IOCB Research Center, Flenningovo 2, 166 10 Praha 6
cerigo@uochb.cas.cz, hocek@uochb.cas.cz

Regioselektivny cross-coupling



2,6,9-Tri- a 2,6,8,9-tetrasubstituované puríny sa vyznačujú širokým spektrom biologických aktivít¹, napr. inhibícia kináz alebo polymerizácie tubulínu, antagonistický efekt k receptoru, atď. Cross-coupling reakcie dihalogén-purínov s rozličným množstvom organokovu majú regioselektivny priebeh. Na druhej strane, cross-couplingy trihalogénpurínov sú málo regioselektivne výsledkom čoho je zmes izomérov². V snahe pripraviť 2,6,8-trisubstituované puríny sme sa rozhodli skombinovať dva regioselektivne cross-coupling reakcie a jednu C-H aktiváciu. Priama C-H arylácia purínov v polohe 8 rôznymi aryljodidmi bola dosiahnutá³ použitím Pd katalýzy v prítomnosti CuI a Cs₂CO₃. Metodika je univerzálna a efektívna a bola aplikovaná pri postupnej regioselektivnej syntéze 2,6,8-trisubstituovaných purínov nesúcich tri rôzne C-substituenty.

Tento projekt bol podporený: Centrum chemické genetiky LC06077 a Gilead Sciences.

LITERATÚRA

1. Legraverend M., Grierson D.S.: *Bioorg. Med. Chem.* 14, 3987 (2006).
2. Hocek M., Pohl R.: *Synthesis* 17, 2869 (2004).
3. Čerňa I., Pohl R., Klepetářová B., Hocek M.: *Org. Lett.* 8, 5389 (2006).

VYUŽITÍ ZÁSTUPNÉ NUKLEOFILNÍ SUBSTITUCE (VNS) V SYNTÉZE 3,5-DISUBSTITUOVANÝCH INDOLŮ

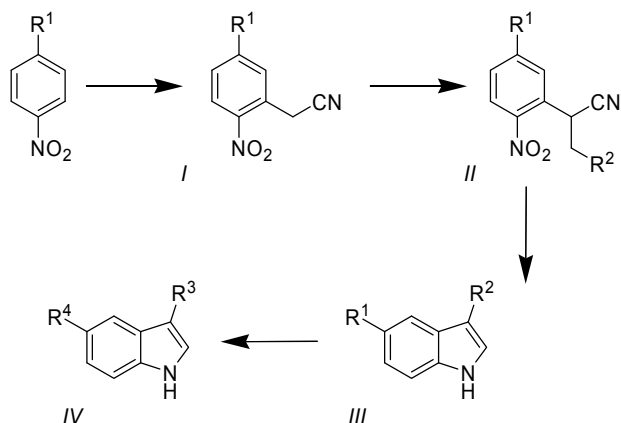
JOSEF ČERNÝ^a a STANISLAV RÁDL^b

ZENTIVA a.s., Dolní Měcholupy 130, 102 01 Praha 10
josef.cerny@zentiva.cz, stanislav.rادل@zentiva.cz

Pro řadu biologicky aktivních látek je společným rysem 3,5-disubstituovaný indolový skelet. Typickými představiteli těchto látek jsou antimigrenika ze skupiny triptanů a hormon melatonin.

Naším záměrem bylo vyvinutí syntetické cesty vedoucí k přípravě různých 3,5-disubstituovaných indolů. Některé z těchto látek jsou citlivé k reakčním podmínkám a jejich příprava nejběžnějším způsobem, pomocí Fisherovy indolové syntézy, poskytuje často velice nízké výtěžky.

Prvním krokem našeho postupu bylo využití zástupné nukleofilní substituce (VNS)¹ pro přípravu substituovaných acetonitrilových derivátů **I**. Následujícími kroky byla alkylace² za vzniku látek **II** a cyklizační reakce³ za vzniku 3,5-disubstituovaného indolového skeletu **III**. Konečným krokem byla derivatizace látek **III** za vzniku požadovaných produktů **IV** (cit.³).



Práce byla podpořena z grantu ministerstva průmyslu a obchodu ČR FI-IM/073.

LITERATURA

1. Makosza M., Danikiewicz W., Wojciechowski K.: *Liebigs Ann. Chem.* 1988, 203.
2. Macor, J. E.; Werner J. M.: *Heterocycles* 35, 349 (1993).
3. Revial G., Jabin I., Lim S., Pfau M.: *J. Org. Chem.* 67, 2252 (2002).

BIFUNCTIONAL HETEROGENEOUS CATALYSTS FOR HECK REACTION

JAN DEMEL^{a,b}, SANG-EON PARK^c, JIŘÍ ČEJKA^b, and PETR ŠTĚPNIČKA^a

^a Charles University, Fac. Nat. Sci., Dept Inorg. Chem., Hlavova 2030, 128 40 Prague 2; ^b Heyrovský Institute of Physical Chemistry, AS CR, v. v. i., Dolejškova 3, 182 23 Prague 8, Czech Republic; ^c Department of Chemistry, Inha University, Incheon 402-751, Republic of Korea; demel1@natur.cuni.cz

Cross-coupling reactions have attracted considerable attention for their wide applicability in organic synthesis. One of the most frequently utilized is the Heck reaction, which affords substitute alkenes. It requires a metal catalyst (typically palladium compound) and a base that binds the acid

byproducts. In a typical setup an external base such as inorganic salts or trialkyl amines are added to reaction mixture.

In order to prepare heterogeneous catalysts that combine both basic sites and palladium active centers, Corma *et al.* prepared Cs⁺-exchanged zeolites and modified those supports with PdCl₂. Such catalysts proved to be active in Heck and Suzuki reactions but large amounts of the catalyst were needed to achieve satisfactory conversions¹.

We have recently prepared two types of bifunctional heterogeneous catalysts that combine catalytically active palladium with basic centers. For the first type of our catalysts, we have prepared basic supports by alkali ion-exchange of Al-containing mesoporous molecular sieve (Al)MCM-41. Subsequently, the supports were modified by deposition of chemically generated palladium nanoparticles. The resulting catalysts were active in the reaction of bromobenzene with butyl acrylate to yield butyl cinnamate even without external base. However, the highest achieved conversion was 35% after 10 h of microwave irradiation. Therefore we have prepared another series of mesoporous molecular sieves modified by pendant amino groups and treated those materials with palladium(II) acetate. Thus prepared catalysts showed particularly high activity when combined with sodium acetate as an external base. In the absence of the external base, however, the *N*-[2-(diethylamino)ethyl]-3-aminopropyl groups acted as both the base and the support for palladium species yielding 14% of the coupling product after 30 minutes².

This work was financially supported by the Grant Agency of the Czech Republic (grant no. 104/05/0192) and is a part of the research project supported by the Ministry of Education of the Czech Republic (project no. LC06070).

LITERATURA

1. Corma A., García H., Leyva A., Primo A.: *Appl. Catal. A* 247, 41 (2003).
2. Demel J., Čejka J., Štěpnička P.: *J. Mol. Catal. A: Chem.* 274, 127 (2007). (b) Demel J., Park S.-E., Čejka J., Štěpnička P.: submitted for publication.

PŘÍPRAVA NANOSTRUKTURNÍHO KŘEMÍKU A JEHO FUNKCIONALIZACE LÁTKAMI S MOLEKULÁRNÍM ROZPOZNÁVÁNÍM.

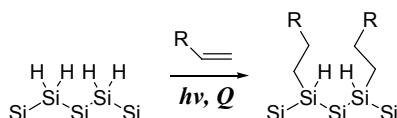
JURAJ DIAN^a, IVAN JELÍNEK^b a JINDŘICH JINDŘICH^b

^a Univerzita Karlova v Praze, MFF, Katedra chemické fyziky a optiky, Ke Karlovu 3, 121 16 Praha 2; ^b Univerzita Karlova v Praze, PřF, Hlavova 2030, 128 43 Praha 2 dian@karlov.mff.cuni.cz; ijelinek@natur.cuni.cz

Porézní křemík připravený elektrochemickým leptáním ve vhodném roztoku obsahujícím F⁻ ionty vykazuje řadu neobvyklých fyzikálních a chemických vlastností, které jsou důsledkem přítomnosti nanostrukturálních útvarů¹. Velký specifický povrch tohoto materiálu je příčinou velmi silné závislosti fyzikálních vlastností na přítomnosti chemických

látek, díky které našel porézní křemík uplatnění jako senzor chemických látek. Pro zlepšení dlouhodobé stability a selektivity senzorové odezvy je žádoucí funkcionalizovat povrch porézního křemíku látkami s vhodnými rozpoznávacími vlastnostmi.

Makroporézní křemík byl připraven elektrochemickým leptáním krystalického křemíku ve směsi HF a ethanolu. Povrch porézního křemíku byl poté funkcionalizován různými látkami s terminální dvojnou vazbou pomocí hydrosilylačních reakcí², při kterých dochází k nahrazení Si-H vazeb vazbami Si-C (Schema 1). Bylo testováno navazování, sledován výtěžek reakce pro různé reakční podmínky a pro různá výchozí činidla s terminální dvojnou vazbou – lineární alkeny, lineární alifatické aminy, estery lineárních nenasycených karboxylových kyselin, a rovněž porfyriny a cyklodextriny s vhodným raménkem.



Schema 1. Princip hydrosilylační reakce povrchu porézního křemíku

Závislost morfologie povrchu na podmínkách přípravy a výtěžek hydrosilylačních reakcí povrchu porézního křemíku pro různé typy činidel jsou diskutovány v souvislosti se sterickými možnostmi porézní struktury, typem vazeb na povrchu porézního křemíku a chemickou povahou látek použitých pro funkcionalizaci.

Autoři děkují za finanční podporu projektu grantovým agenturám GAČR (203/06/0786) a ministerstvu školství (MSM 0021 620 835).

LITERATURA

1. Canham L.T.: Appl. Phys. Lett. 57, 1046 (1990).
2. Buriak J.M.: Chem. Commun. 1999, 1051.

VÝVOJ POTENCIÁLNÍCH ANTITUBERKULOTIK ODVOZENÝCH OD PYRAZINU NA FARMACEUTICKÉ FAKULTĚ V LETECH 1997 - 2007

MARTIN DOLEŽAL^a, VERONIKA OPLETALOVÁ^a a DIANA KEŠETOVICHOVÁ^a

^a 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

Na přelomu 20. a 21. století se terapie tuberkulózy ocitla opět v krizi. V roce 2005 zemřely na tuberkulózu tři miliony lidí, tedy více než na vrcholu epidemie v 19. století, kdy nebyla k dispozici moderní antibiotika a chemoterapeutika. Během studia potenciálních antimykobakteriálních látek bylo na našem pracovišti připraveno několik sérií účinných látek. Připravené

sloučeniny byly zkoušeny na antimykobakteriální aktivitu v rámci programu vyhledávání nových antituberkulotik Tuberculosis Antimicrobial Acquisition and Coordinating Facility (TAACF - součást NIAID/NIH).

V rámci této spolupráce bylo z našeho pracoviště odesláno na testování antimykobakteriální aktivity do laboratoří Southern Research Institute (Frederick, USA) do konce června 2006 již 860 nově připravených látek, většina z nich odvozených od pyrazinu. Průběžné výsledky potvrzují velmi zajímavou aktivitu u řady derivátů. U sloučenin je studován vztah mezi strukturou, lipofilitou (vypočteným log P) a zkoumanými biologickými vlastnostmi. Cílem této přednášky je prezentace nejučinnějších skupin či látek.

Studie byla vypracována za podpory MŠM ČR (Výzkumný záměr č. MSM0021620822). Antimykobakteriální hodnocení látek provedl Tuberculosis Antimicrobial Acquisition and Coordinating Facility (TAACF) v rámci výzkumného a vývojového projektu U.S. National Institute of Allergy and Infectious Diseases.

LITERATURA

1. Doležal M., Miletín M., Kuneš J., Kráľová K.: Molecules 7, 363 (2002).
2. Krinková J., Doležal M., Hartl J., Pour M., Buchta V.: Farmaco 57, 71 (2002).
3. Doležal M., Jampílek J., Osička Z., Kuneš J., Buchta V., Vichová P.: Farmaco 58, 1105 (2003).
4. Opletalová V., Pour M., Kuneš J., Buchta V., Silva L., Kráľová K., Meltrová D., Peterka M., Posledníková M.: Collect. Czech. Chem. Commun. 71, 44 (2006).
5. Doležal M., Palek L., Vinšová J., Buchta V., Jampílek J., Kráľová K.: Molecules 11, 242 (2006).
6. Jampílek J., Doležal M., Palek L., Buchta V.: Med. Chem. 3, 277 (2007).
7. Doležal M., Čmedlová P., Palek L., Vinšová J., Kuneš J., Buchta V., Jampílek J., Kráľová K.: Eur. J. Med. Chem. 42, v tisku (2007); doi:10.1016/j.ejmech.2007.07.013.

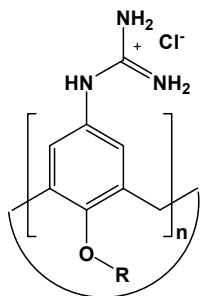
SYNTHESIS AND PROPERTIES OF WATER SOLUBLE CALIX[n]ARENE GUANIDINIUM DERIVATIVES

MIROSLAV DUDIČ^{*}, FRANCESCO SANSONE, GAETANO DONOFRIO, ALESSANDRO CASNATI, ROCCO UNGARO, MARTA KOPACZYNSKA[§], and JÜRGEN FÜHRHOP[§]

Dipartimento di Chimica Organica e Industriale, Università degli Studi di Parma, Parco Area delle Scienze 17/A, 43100 Parma, Italy; [§]Fachbereich Chemie, Pharmazie, Biologie, Freie Universität, Takustrasse 3, Berlin, Germany
miroslav.dudic@centrum.cz

Since calix[n]arenes are well known cavity containing compounds which can be easily functionalised both at the upper rim and the lower rim, they have attracted attention of many organic and bioorganic chemists.

With the aim of obtaining water soluble systems which, eventually, could be used in molecular recognition and *self*-assembly we synthesised and investigated several new cationic calix[n]arene ($n = 4, 6, 8$) derivatives having guanidinium groups at the upper rim and alkyl chains with a different length, at the lower rim. The synthesis started with the *ipso*-nitration ($\text{NaNO}_3/\text{CF}_3\text{COOH}$) of *p*-*tert*-butylcalix[n]arene. The nitro groups were reduced to amino and condensed with di-Boc-thiourea using different condition (mercury chloride, 2-chloro-1-methyl pyridinium iodide). The guanidinium groups were then deprotected by means of HCl in 1,4-dioxane.



We found that all prepared cationic derivatives are very well soluble either in water or in water containing small amount of organic solvent. The limiting solubility in water was determined by means of UV-vis spectroscopy and found to be in the range $4 \times 10^{-3} - 1 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$. A linear dependence of the absorbance on the concentration of the macrocycle was observed which, together with the clear and sharp peaks in the ^1H NMR spectra in water, rules out the formation of micellar aggregates, in the investigated concentration range.¹

The calix[n]arene guanidinium derivatives are able to bind plasmid DNA at 10-100 μM , and some of them perform cell transfection.

We have also investigated the interaction of these cationic derivatives with anionic porphyrins by means of AFM. We found that *p*-guanidiniumcalix[n]arenes alone or in the presence of DNA form different kind of aggregates.

This work was partially supported by M.I.U.R. (Supramolecular Device Project, COFIN 2003) and by EU (CARBONA, HPRN-CT-2002-00190). The authors thank the Centro Interdipartimentale Misura of Parma University for NMR and MS facilities.

REFERENCES

1. Dudič M., Colombo A., Sansone F., Casnati A., Donofrio G., Ungaro R.: *Tetrahedron* 21, 11613 (2005).
2. Kopaczynska M., Wang T., Schulz A., Dudic M., Casnati A., Sansone F., Ungaro R., Fuhrhop J.H.: *Langmuir* 60, 8460 (2004).
3. Sansone F., Dudic M., Donofrio G., Rivetti C., Baldini L., Casnati A., Cellai S., Ungaro R.: *J. Am. Chem. Soc.* 128, 14528 (2006).

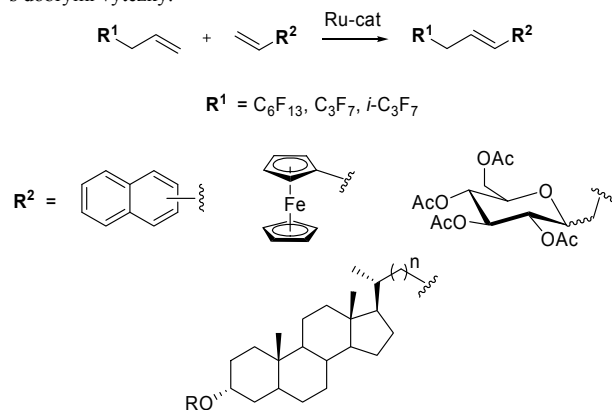
PERFLUORALKYLACE POMOCÍ CROSS-METATHEZE ALKENŮ

BARBARA EIGNEROVÁ^{a,b} a 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 2, 166 10 Praha 6
kotora@natur.cuni.cz

Sloučeniny s jednou či více molekulami fluoru vykazují zajímavé biologické aktivity a nalezly široké uplatnění především ve farmaceutickém průmyslu¹. Cílem našeho projektu je vypracovat flexibilní metodiku, která by umožnila zavedení perfluoralkylového řetězce do různých strukturálních typů molekul za mírných podmínek. Jednou z možností je rutheniem katalyzovaná cross-metatheze alkenů².

Naše práce je založena na metathezi snadno dostupných 3-(perfluoralkyl)propenů s terminálními alkeny katalyzované komplexy ruthenia. Touto metodou se podařilo syntetizovat celou řadu sloučenin nesoucích různé perfluoralkylové řetězce, např. areny, metalloceny, steroidy a sacharidy. 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. Imhof S., Randl S., Bleichert S.: *Chem. Commun.* 2001, 1692.

SYNTÉZA A VYUŽITÍ SULFANYLDERIVÁTŮ CALIX[4]ARENU V SUPRAMOLEKULÁRNÍ CHEMII

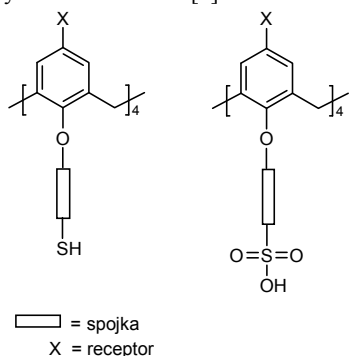
KAROLÍNA FLÍDROVÁ, MICHAL HIML a PAVEL LHOTÁK

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

Sulfanylovou skupinu lze v supramolekulární chemii využít mnoha různými způsoby. Jedním z nich je tvorba SAM (self-assembled monolayers) na povrchu zlata, kdy dolní okraj

calix[4]arenu je substituován dlouhým alkylovým řetězcem zakončeným –SH skupinou a horní okraj vhodným receptorem, zajišťujícím funkčnost SAM. Podobné deriváty by také mohly být použity pro tvorbu inter- a intramolekulárních disulfidů, které by mohly mít zajímavé komplexační vlastnosti.

Dalším možným využitím je oxidace –SH skupiny na sulfonovou kyselinu, což by mohla být cesta k užitečným vodorozpustným derivátům calix[4]arenu.



Společným krokem syntézy těchto různorodých derivátů je radikálová adice thiooctové kyseliny na dvojnou vazbu a následná hydrolyza vzniklého thioesteru.

LITERATURA

1. Iwamoto K., Araki K., Shinkai S.: J. Org. Chem. 56, 4955 (1991).
2. Nicolaou K.C., Cho S.Y., Hughes R., Winssinger N., Smethurst C., Labischinski H., Endermann R.: Chem. Eur. J. 7, 3798 (2001)

MOŽNOSTI ODSTRANĚNÍ ZBYTKOVÝCH KONCENTRACÍ IBUPROFENU Z POVRCHOVÝCH VOD METODOU FYTOEXTRAKCE

VĚRA HABARTOVÁ, STANISLAV SMRČEK, ŠÁRKA PŠONDROVÁ, MARTIN ŠTÍCHA a LENKA NESPĚŠNÁ

Univerzita Karlova v Praze, PŘF, Katedra organické a jaderné chemie, Albertov 6, 128 43 Praha
 smrcek@natur.cuni.cz, verahabartova@centrum.cz

Vstup farmak a jejich metabolitů do životního prostředí je v současné době aktuálním problémem jak z hlediska detekce těchto látek a jejich metabolitů v povrchových vodách, tak i z hlediska jejich odstranění a vstupu do potravních řetězců. Ve vyspělých zemích je v povrchových vodách běžně identifikována řada farmak a jejich metabolitů, které jsou močí vylučovány do komunálních odpadních vod, a které nejsou v dostatečné míře odstraňovány v čistírnách odpadních vod. Vzhledem k jejich možné další fyziologické aktivitě (endokrinní dysharmonizátory) je studium osudu a možnosti odstraňování těchto látek prioritní záležitostí.

Ibuprofen (2-(4-isobutylfenyl)-propionová kyselina, nesteroidní protizánětlivá látka, analgetikum a antipyretikum) je třetím nejoblíbenějším farmakem ve světovém měřítku. Jeho

celková produkce je několik kilotun a prodej není vázán na lékařský předpis. Látka se vylučuje močí v nezměněném stavu ze 70-80 % terapeutické dávky a stejně jako její metabolity (karboxyibuprofen, hydroxyibuprofen a karboxyhydratropová kyselina) vykazují vysokou mobilitu v ekosystému^{1,2}.

V práci byla studována možnost stanovení nízkých koncentrací ibuprofenu ve vodných roztocích a možnosti jeho fytoextrakce z důvodů možného použití jako extrakční agens a měřítka kontaminace potravních řetězců. Pro analytické stanovení byla použita metoda GC/MS spojená s prekoncentrací SPE a derivatizací diazomethanem. Výtěžnost prekoncentrační metody dosáhla po optimalizaci téměř 96 %, mez detekce při GC/MS měření byla 86 ng/l, mez stanovitelnosti 259 ng/l.

Fytoextrakční experimenty byly provedeny s rostlinnými druhy *Amaranthus caudatus*, *Vicia faba* a *Carthamus tinctorius* ve sterilní *in vitro* kultuře celých rostlin v oblasti koncentrací studované látky 5-20 mg/l ibuprofenu. Kultura amarantu vykazovala pokles koncentrace na 5-37 % vstupní hodnoty během pětidenní kultivace a extrakční účinnost 0,32 mg ibuprofenu/g čerstvé hmotnosti rostliny. *Vicia faba* snížila koncentraci studované látky o 97 % během šestidenní kultivace a inkorporovala 0,6 mg ibuprofenu na 1 gram čerstvé hmotnosti a *Carthamus sp.* snížil vstupní koncentraci průměrně na 8 % výchozí hodnoty při záchytu 4,7 mg ibuprofenu na 1g rostlinné tkáně. Z biologického materiálu byly získány extrakty pro stanovení extrahovatelných residuů a rostlinných metabolitů.

Tato práce je součástí grantového projektu COST 859.

LITERATURA

1. Buser H.R., Poiger T., Meuller M.D.: Environ. Sci. Technol. 33, 2529 (1999).
2. Antonic J., Heath E.: Anal. Bioanal. Chem. 387, 1337 (2007).

PŘÍPRAVA A REAKTIVITA HETEROCYKLIČKÝCH SLOUČENIN OBSAHUJÍCÍCH DUSÍK A SÍRU

JÍŘÍ HANUSEK

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

V rámci systematického výzkumu na Katedře organické chemie jsem se v letech 1997-2007 zabýval studiem vzniku, stability a reaktivity několika typů pěti a šestičlenných heterocyklických sloučenin, jejichž společným znakem byla přítomnost atomu dusíku nebo síry. Jednalo se především o deriváty chinazolinu¹⁻⁵, thiazolu⁶⁻⁸, imidazolu⁹⁻¹³ a dithiazolu^{14,15}. Při studiu vzniku a reaktivity těchto heterocyklů byl kladen důraz zejména na detailní porozumění mechanismu těchto dějů, protože na základě jejich znalostí lze často optimalizovat podmínky přípravy jak z hlediska použitých výchozích látek a vzniku nežádoucích vedlejších produktů, tak i z hlediska reakčního času. V neposlední řadě byl kladen důraz též na praktickou upotřebitelnost připravených sloučenin.

V poslední době jsem se ve spolupráci s Department of Chemical and Biological Sciences, University of Huddersfield intenzivně věnoval studiu reaktivity derivátů 1,2,4-dithiazolu s P(III) sloučeninami. Motivací tohoto výzkumu bylo prozkoumat mechanismus přenosu atomu síry z 1,2,4-dithiazolového kruhu na atom fosforu. Tato reakce má praktický význam při syntéze modifikovaných oligonukletidů¹⁶ nacházejících uplatnění v oblasti medicíny. Kromě studia detailního mechanismu bylo nutné identifikovat i vedlejší produkty této reakce, protože v tomto směru byly v literatuře nalezeny pouze rozporuplné informace.

Nejprve byla studována sulfurizace fosfinů a fosfitů 3-amino-1,2,4-dithiazol-5-thionem (xanthan hydridem), který je pro sulfurizaci komerčně používán. Bylo zjištěno, že během reakce vzniká¹⁴ vysoce reaktivní thiokarbamoylisothiokyanát a nikoliv v literatuře navrhovaný kyanamid a sirouhlik (Schéma 1). Přítomnost reaktivního thiokarbamoylisothiokyanátu může při syntéze polyfunkčních sloučenin, jakými jsou i oligonukleotidy, způsobovat komplikace.

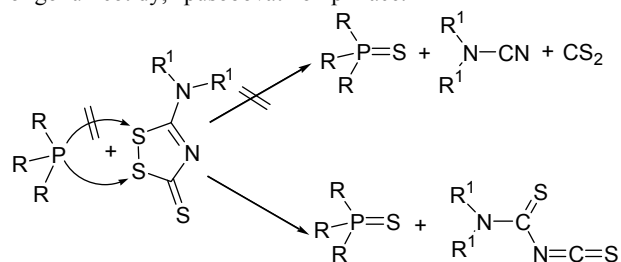


Schéma 1.

Detailním studiem kinetiky a mechanismu¹⁵ bylo zjištěno, že přenos atomu síry na fosfor je velmi rychlý (bimolekulární rychlostní konstanty této reakce se pohybují v rozmezí $2 \cdot 10^2 - 6 \cdot 10^4 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$) a reakce probíhá přes reaktivní intermediát vznikající atakem atomu fosforu na síru S-1 (Schéma 2).

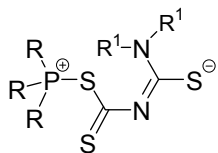


Schéma 2.

Vysoké negativní hodnoty aktivačních entropií spolu se skutečností, že rychlost reakce jen málo závisí na rozpouštědle ukazují, že rychlost určujícím krokem je vznik intermediátu uvedeného ve Schématu 2.

V současnosti¹⁷ jsou studovány další deriváty 1,2,4-dithiazolu, lišící se substitucí v poloze 3- resp. 5-. Konkrétně se jedná o 3-ethoxy-1,2,4-dithiazol-5-on, 3-methyl-1,2,4-dithiazol-5-on, 3-subst.fenyl-1,2,4-dithiazol-5-ony, 3-subst.fenyl-1,2,4-dithiazol-5-thiony a 1,2,4-dithiazol-3,5-diony. První výsledky ukazují dramatickou závislost rychlostí sulfurizace na substituci 1,2,4-dithiazolového skeletu.

Práce byla finančně podpořena Výzkumným záměrem MŠMT č. MSM 00162 75 01.

LITERATURA

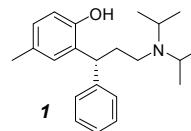
- Hanusek J., Hejtmánková L., Kubíčková L., Sedlák M.: *Molecules* 6, 323 (2001).
- Hanusek J., Sedlák M., Šimůnek P., Štěrbá V.: *Eur. J. Org. Chem.* 2002, 1855.
- Hanusek J., Sedlák M., Keder R., Štěrbá V.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 69, 2212 (2004).
- Hanusek J., Sedlák M., Jansa P., Štěrbá V.: *J. Phys. Org. Chem.* 19, 61 (2006).
- Hanusek J., Rosa P., Drabina P., Sedlák M.: *J. Heterocycl. Chem.* 43, 1281 (2006).
- Sedlák M., Hanusek J., Holčapek M., Štěrbá V.: *J. Phys. Org. Chem.* 14, 187 (2001).
- Sedlák M., Hanusek J., Hejtmánková L., Kašparová P.: *Org. Biomol. Chem.* 1, 1204 (2003).
- Hanusek J., Hejtmánková L., Štěrbá V., Sedlák M.: *Org. Biomol. Chem.* 2, 1756 (2004).
- Sedlák M., Hanusek J., Bína R., Kaválek J., Macháček V.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 64, 1629 (1999).
- Sedlák M., Drabina P., Císařová I., Růžička A., Hanusek J., Macháček V.: *Tetrahedron Lett.* 45, 7723 (2004).
- Sedlák M., Drabina P., Keder R., Hanusek J., Císařová I., Růžička A.: *J. Organomet. Chem.* 691, 2623 (2006).
- Drabina P., Hanusek J., Jirásko R., Sedlák M.: *Trans. Metal Chem.* 31, 1052 (2006).
- Hanusek J., Verner J., Potáček M.: *Heterocycles* 71, 903 (2007).
- Hanusek J., Russel M. A., Laws A. P., Page M. I.: *Tetrahedron Lett.* 48, 417 (2007).
- Hanusek J., Russell M. A., Laws A. P., Jansa P., Atherton J. H., Fettes K., Page M. I.: *Org. Biomol. Chem.* 5, 478 (2007).
- Tang J.-Y., Han Z., Tang J. X., Zhang Z.: *Org. Proc. Res. Dev.* 4, 194 (2000).
- Hanusek J.: doposud nepublikováno.

NOVÉ METODY PŘÍPRAVY ANTAGONISTY MUSCARINOVÝCH RECEPTORŮ, (R)-(+)-TOLTERODINU

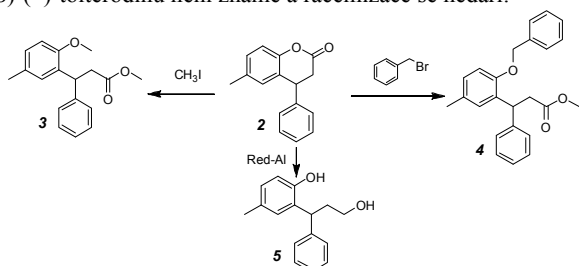
LUDMILA HEJTMÁNKOVÁ, PETR LUSTIG a LUDEK RIDVAN

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

(R)-(+)-Tolterodin (**1**) je nový vysoce účinný antagonist muscarinových receptorů. Je využíván k léčbě urgentní urinární inkontinence a nemocí spjatých s hyperaktivitou močového měchýře¹.



Do současné doby byla publikována řada syntetických cest přípravy API. Základní postup je spolu s látkovou ochranou uveden v patentové literatuře². Nejčastěji používanou surovinou v přípravě tolterodinu je 3,4-dihydro-6-methyl-2*H*-benzopyran-2-on (**2**). Laktonový kruh je otvírán methyljodidem za vzniku methyl-3-(2-methoxy-5-methylfenyl)-3-fenylpropionátu (**3**). Požadovaný optický izomer je touto cestou připraven až v posledním reakčním stupni štěpením racemického tolterodinu kyselinou L-vinnou přičemž využití (*S*)-(-)-tolterodinu není známo a racemizace se nedaří.



Zjistili jsme, že otevření laktonového cyklu je s výhodou možno provést také benzylbromidem za vzniku methyl-3-(2-benzyl-5-methylfenyl)-3-fenylpropionátu (**4**) (Schéma). V následujícím stupni lze připravený racemický ester převést alkalickou hydrolyzou na kyselinu a tu štěpit chirálním aminem, například (*R*)-(+)-1-fenylethylaminem. Krystalizací amonné soli se tak připraví meziprodukt s požadovanou enantiomerní strukturou v požadované kvalitě již na počátku syntetické cesty. Methoxyderivát **3** nemá požadovanou krystalizační schopnost.

Další možností je reduktivní otevření laktonu **2** za vzniku 3-(2-hydroxy-5-methyl)-3-fenylpropanolu (**5**) (Schéma). Obě hydroxyskupiny lze v jednom reakčním stupni tosylovat, ale pouze jedna z nich, umístěná na propanovém řetězci, podléhá S_N2 substituční reakci s diisopropylaminem. Tak dojde k podstatnému zkrácení a zjednodušení reakční cesty k cílové molekule racemického tolterodinu.

LITERATURA

- Andersson P.A., Schink H.E. and Österlund K.: *J. Org. Chem.*, **63**, 8067 (1998).
- Jönsson N.A., Sparf B.A., Mikiver L., Moses P., Nilvebrant L., Glas G.: EP 0325571 (1989); *Chem. Abstr.* **112**, 55211 (1991).

CROSS-COUPLOINGOVÁ REAKCE ORGANOSIRNÝCH LÁTEK. STUDIUM KATALÝZY TRANZITNÍMI KOVY ZA AEROBNÍCH PODMÍNEK

JIŘÍ ŠROGL a ADAM HENKE

Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, v.v.i., Flemingovo nám. 2, Praha
jsrogl@uochb.cas.cz

Na příkladu cross-couplingu thioesterů s organoboronovými kyselinami je studován proces, ve kterém je katalyzátor na bázi tranzitního kovu aktivován ze vznikající neaktivní

thiolátové formy oxidační cestou. Pozornost je věnována výběru a syntéze odstupující organosírné skupiny, která je v tomto procesu sama oxidována a umožňuje tak uvolnění kovového katalyzátoru v aktivní, redukované formě.

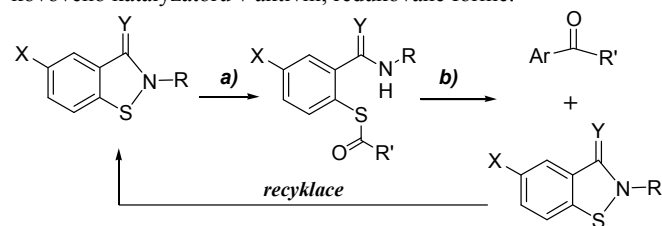


Schéma a) RCOOH, R³P, b) ArB(OH)₂, kat. oxidant

Autoři děkují Ústavu organické chemie a biochemie AV ČR v.v.i., za podporu tohoto projektu.

LITERATURA

- Oae S.: *Organic Sulfur Chemistry: Structure and Mechanism*, CRC Press, Inc., Boca Raton (1992).
- Liebeskind L.S., Srogl J.: *J. Am. Chem. Soc.* **122**, 11260 (2000).
- Chaudhuri P., Verani C.N., Bill E., Bothe E., Weyhermueller T., Wiegardt K.: *J. Am. Chem. Soc.* **123**, 2213 (2001).
- Barton D.H.R., Motherwell W.B., Simon E.S., Zard S.Z.: *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1984**, 337.

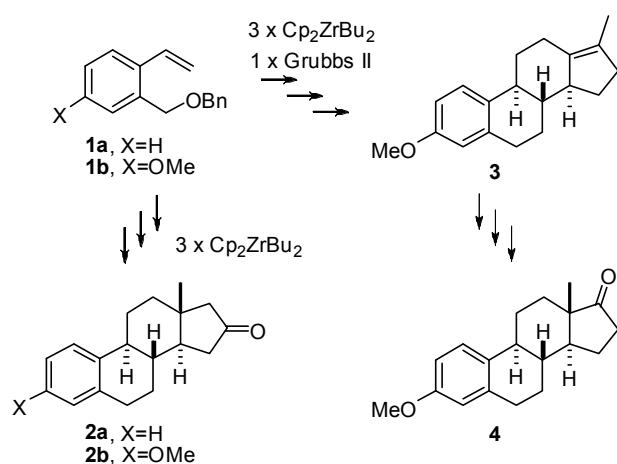
VYUŽITÍ ZIRKONOCENOVÉ CHEMIE V TOTÁLNÍ SYNTÉZE ESTRONU

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

^aKatedra organické a jaderné chemie, PřF UK v Praze, Havova 8, 128 43 Praha 2; ^bÚstav organické chemie a biochemie, AV ČR, Flemingovo 2, 166 10 Praha 6
herrmann@uochb.cas.cz

Cílem našeho projektu je vyvinout flexibilní syntetickou metodu pro přípravu isoprenoidů. Naše strategie je založena na opakované cyklizaci α,ω-dienů za použití Cp₂ZrBu₂ (dibutylzirkonocenu)¹ následované reakcemi s různými allylhalogenidy. Tímto způsobem byly připraveny estra-1,3,5(10)-trien-16-ony **2a** a **2b**^{2,3}.

Pomocí stejné strategie byla vypracována formální totální syntéza (±)-estronu **4**. Zásadním problémem se ukázalo být vyřešení tvorby kruhu C a D. Kruh C se podařilo uzavřít pomocí zirkonocenové chemie. Její použití v případě kruhu D vedlo ke vzniku žádaného produktu pouze v zanedbatelném množství, převládal produkt konkurenční reakce. Tento problém se podařilo vyřešit přípravou alternativního intermediátu, který metathetickou reakcí poskytl známý intermediát **3**⁴. Syntetické a stereochemické aspekty těchto transformací budou diskutovány.



Projekt byl financován z Centra pro nová antivirotika a antineoplastika MŠMT (Projekt č. 1M0508).

LITERATURA

1. Negishi E. in: *Comprehensive Organic Synthesis*; Eds Trost B. M., Paquette L. A., Vol. 5, 1163. Pergamon, 1991.
2. Herrmann P., Katora M., Buděšínský M., Šaman D., Císařová I.: *Org. Lett.* 8, 1315 (2006).
3. Herrmann P., Buděšínský M., Katora M.: *Chem. Lett.* 2007, in press.
4. Römer J., Steinbach J.: *J. Prakt. Chem.* 341, 574 (1999).

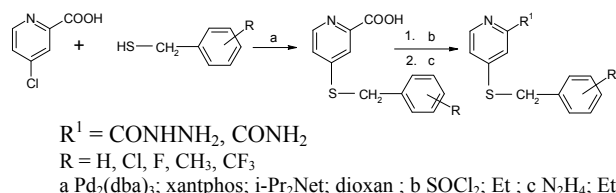
PŘÍPRAVA A ANTIMYKOBAKTERIÁLNÍ AKTIVITA 4-BENZYLSULFANYLDERIVÁTŮ PYRIDIN-2-KARBOHYDRAZIDU A PYRIDIN-2-KARBOXAMIDU

PETRA HERZIGOVÁ^a, VĚRA KLIMEŠOVÁ^a, KAREL PALÁT^a, JOSEF MATYK^a a JARMILA KAUSTOVÁ^b

^aUK v Praze, FarmF v Hradci Králové, Katedra anorganické a organické chemie, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové; ^bNárodní referenční laboratoř pro *Mycobacterium kansasii*, ZÚ, Partyzánské nám. 7, 702 00 Ostrava
jarmila.kaustova@zuova.cz; herzigovap@faf.cuni.cz

Stále se zhoršující celosvětový vývoj tuberkulózy nás motivuje k obměňování struktury látek, u kterých byla již dříve na našem pracovišti zjištěna antimykobakteriální aktivita^{1,2}. Cílem prezentované práce je příprava dalších derivátů pyridinu s benzylsulfanylou skupinou. Nově byly připraveny pyridinkarbohydrazidy a pyridinkarboxamidy.

Sulfidy byly připraveny palladiem katalyzovaným cross-couplingem z 4-chlorpyridin-2-karboxylové kyseliny a na fenylu substituovaných fenylmethanthiolů³. Následovala konverze karboxylové funkce na esterovou a dále amidolýzou, resp. hydrazidolýzou byly připraveny požadované amidy, resp. hydrazidy.



Konečné produkty syntézy, tj. hydrazidy a amidy byly testovány v podmínkách *in vitro* proti kmenům *Mycobacterium tuberculosis* a potenciálně patogenním kmenům mykobakterií - *M. avium* a *M. kansasii*, v Šulově půdě mikrometodou pro stanovení minimální inhibiční koncentrace (MIC). V příspěvku budou řešeny vztahy mezi strukturou a antimykobakteriální aktivitou funkčních derivátů 4-benzylsulfanylpýridin-2-karboxylové kyseliny.

Problematika byla řešena za podpory výzkumného záměru MSM 0021620822 a grantu GAUK 5680/B/2007.

LITERATURA

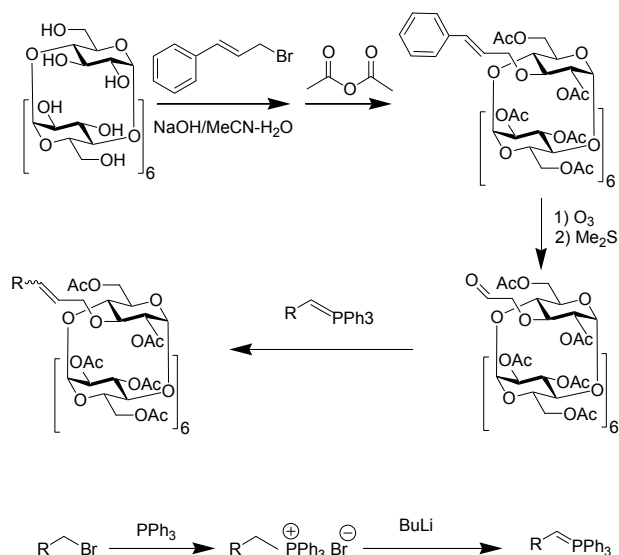
1. Klimešová V., Svoboda M., Waisser K., Pour M., Kaustová J.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 64, 417 (1999).
2. Klimešová V., Palát K., Waisser K., Klimeš J.: *Int. J. Pharm.* 207, 1 (2000).
3. Itoh T., Mase T.: *Org. Lett.* 6, 4587 (2004).

VYUŽITÍ WITTIGOVY REAKCE PRO PŘÍPRAVU 3¹-O-SUBSTITUOVANÝCH DERIVÁTŮ β-CYKLODEXTRINU

PETR HEZKÝ^a, JINDŘICH JINDŘICH^b a MICHAL KUSÁK^b

^aÚstav organické chemie a biochemie AV ČR, Flemingovo 2, 166 10, Praha 6; ^bKatedra organické a jaderné chemie PřF Univerzity Karlovy v Praze, Hlavova 8, 128 43 Praha 2
jindrich@natur.cuni.cz; hezky@uochb.cas.cz

Na základě již dříve popsaného postupu¹ pro regioselektivní monosubstituci β-cyklohextrinu v poloze 3¹-O cinnamylbromidem byla vyvinuta obecně použitelná metodika pro derivatizaci β-cyklohextrinu v uvedené poloze. Cinnamylovou skupinu lze snadno ozonolýzou převést na skupinu formylmethylovou, a tu dále transformovat Wittigovou reakcí. Tímto způsobem je možné získat sérii příslušných alkenylových derivátů. Využití a aplikace uvedeného postupu budou diskutovány.



R: β -naftyl, $\text{CH}_2\text{:CH-}$, NC- , $\text{NCCH}_2\text{-}$, $\text{H}_3\text{COCO-}$, $n\text{-C}_5\text{H}_{11}\text{-}$, $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{:CH-}$, $(\text{CH}_3)_3\text{COCO-}$, $4\text{-Br-C}_6\text{H}_4\text{-}$, $n\text{-C}_6\text{F}_{13}\text{-CH}_2\text{-}$

Tato práce vznikla díky podpoře grantem: MSM 0021620857.

LITERATURA

- Jindrich J., Tišlerová I.: J. Org. Chem. 70, 9054 (2005).

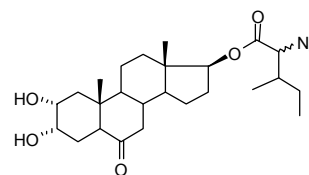
SYNTHESIS OF ANDROSTANE ANALOGUES OF CASTASTERON WITH ESTER GROUP IN POSITION 17 β DESIGNED BY MOLECULAR MODELING TECHNIQUES

JAROSLAVA HNILIČKOVÁ^a, MIROSLAV ŠIŠA^a, ISMAEL ZAMORA^b, CARME BROSA^b, and LADISLAV KOHOUT^{*a}

^a Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, AS CR, Flemingovo 2, 166 10 Prague 6, Czech Republic, ^b Dept Org. Chem. Biochem., Institut Químic de Sarrià, C.E.T.S., Universitat Ramon Llull, Via Augusta 390, 08017 Barcelona, Spain
kohout@uochb.cas.cz; brosa@iqs.url.esa

Brassinosteroids¹ (BRs) are plant growth promoting substances that induce cell elongation, cell division, increase plant yields and especially decrease plant stress evoked such conditions as i.a. dryness, herbicidal or pesticide damage, salinity, dry or low temperature². We described androstane types of brassinolide, either with 17 β hydroxyl group³ or with various ester groups in this position⁴ that elicited high activity in the bean second internode bioassay (BSIB) but did not show almost any activity in rice lamina inclination test (RLIT). To explain this low activity we used computational modeling. On this basis we designed new structures that would have activity in RLIT. The calculated new structures, such as ester of α -azido

acids of androstane derivative, e.g. have very good overlap of the ester side chain and brassinolide side chain.



This study was supported by projects Z4 055 0506 (IOCB) and IM06030 (MSMT).

REFERENCES

- Zullo M.A.T., Kohout L., de Azevedo M.B.M.: Plant Growth Regul. 39, 1 (2003).
- Sasse J.: Physiological Actions of Brassinosteroids, In Brassinosteroids - Steroidal Plant Hormones (Sakurai A., Yokota Y., Clouse S.D., ed.), Springer-Verlag, Berlin, p. 151-153 (2003).
- Kohout L., Kasal A., Chodounská H., Slavíková B., Hniličková J.: European patent No. 1 401 278 (28.9.2005).
- Strnad M, Kohout L.: Plant Growth Regul. 40, 39 (2003).

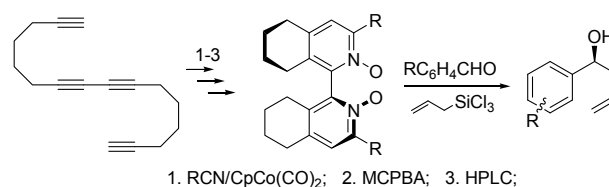
PŘÍPRAVA C2 SYMETRICKÝCH BIPYRIDIN-*N,N'*-DIOXIDŮ A JEJICH VYUŽITÍ V ORGANOKATALÝZE

RADIM HRDINA^a, IRENA VALTEROVÁ^b, JANA HODÁČOVÁ^b a MARTIN KOTORA^{a,b}

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

Chirální bipyridiny a jejich deriváty se využívají jako organokatalyzátory v řadě enantioselektivních reakcích. Zde bychom chtěli prezentovat nový přístup k C2 symetrickým bipyridinům, a to [2+2+2] ko-cyklotrimerizací nitrilů s hexadekatetraynem katalyzovanou $\text{CpCo}(\text{CO})_2$ za ozařování mikrovlnami. Vzniklé látky byly oxidovány na bipyridin-*N,N'*-dioxidy a některé z nich byly rozděleny na enantiomery. Enantiomerně čisté bipyridin-*N,N'*-dioxidy (Lewisovské báze) byly testovány jako katalyzátory v allylaci aldehydů allyltrichlorsilanem (schéma 1). Reakce probíhaly s vysokou konverzí a dobrou enantioselektivitou. Byl studován vliv substituentu R bipyridin-*N,N'*-dioxidu na katalytickou aktivitu a enantioselektivitu, stejně jako vliv rozpouštědla.

Schéma 1



Tato práce vznikla za podpory Centra základního výzkumu

MŠMT (projekt č. LC06070, *Struktura a syntetické aplikace komplexů přechodných kovů*) a GA ČR (projekt č. 203/05/0102).

LITERATURA

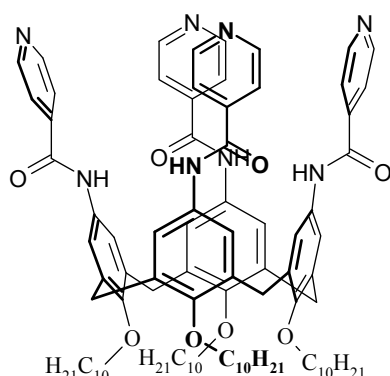
- Hrdina R., Stará I. G., Dufková L., Scott M., Císařová I., Katora M.: *Tetrahedron* 62, 968 (2006).
- Hrdina R., Kadlíčková A., Valterová I., Hodačová J., Katora M.: *Tetrahedron: Asymmetry* 17, 3185 (2006).
- Hrdina R., Valterová I., Hodačová J., Katora M.: *Adv. Synth. Catal.* 349, 822 (2007).

NOVÉ DERIVÁTY CALIX[4]ARENŮ

OLDŘICH HUDEČEK a PAVEL LHOTÁK

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

Zavedením vhodného substituentu (např. isonikotinoyl-amino skupiny) na horní okraj calix[4]arenu v konické konformaci lze připravit látky s možností tvorby vzájemných asociátů. Zkoumáno bylo především, na jakých faktorech závisí tvorba těchto supramolekulárních struktur a také jakými způsoby lze dané látky připravit. Hlavním cílem byla příprava takového derivátu, z jehož NMR spekter by bylo možné zjistit, jakým způsobem k tvorbě daných asociátů dochází.



Tento projekt je podporován Grantovou agenturou ČR (grant 104/07/1242) a MŠMT ČR (Centrum pro výzkum LC06070)

LITERATURA

- Palmer L.C., Rebek J. Jr.: *Org. Biomol. Chem.* 2, 3051 (2004).
- Lhoták P., Stibor I.: *Calix[n]arens and related molecules*, v: *Molecular design*, VŠCHT Praha, 1997.

HYDRAZONOVÉ DERIVÁTY NĚKTERÝCH ANTITUBERKULOTIK JAKO PROLÉČIVA A JEJICH STABILITA VE VODNÉM PROSTŘEDÍ

ALEŠ IMRAMOVSKÝ^{a,b}, JARMILA VINŠOVÁ^a
a JUANA MONREAL FÉRRIZ^a

^aFarmF UK, Katedra anorganické a organické chemie, Heyrovského 1203, 500 00 Hradec Králové; ^bUniverzita Hradec Králové, Pedagogická fakulta, Katedra chemie, Náměstí Svobody 301, Hradec Králové
ales.imramovsky@faf.cuni.cz

Neustálý nárůst počtu rezistence bakteriálních kmenů vůči běžným antituberkulotikům, používaným při léčbě tuberkulózy, vede k hledání nových či strategicky obměněných struktur molekul s antibakteriální aktivitou vůči rezistentním kmenům a pokud možno s odlišným mechanismem účinku. Příprava „prodrug“ forem je jednou z možných aplikací této myšlenky.

Isoniazid a pyrazinamid jako léčiva první volby jsou předmětem častých modifikací. Kombinací vhodných intermediátů vycházejících z těchto látek s dalšími antituberkuloticky aktivními molekulami (např. fluoro-chinolony, *p*-aminosalicylovou kyselinou) byly získány vysoce antimykobakteriálně aktivní deriváty, kde jednotlivé části byly spojeny „CH“ fragmentem¹. Získané produkty mohou svým rozpadem v místě účinku uvolňovat vázané aktivní molekuly a látky tak mohou být chápány jako nová skupina prolečiv.

Testy stability neaktivnějších derivátů ve vodném prostředí byly prováděny za využití HPLC. Testována byla stabilita vybraných neaktivnějších derivátů ve směsi acetonitril-voda při 37 °C, byl sledován průběh úbytku studovaných látek.

Ze získaných závislostí byl určen poločas rozpadu $\tau_{1/2}$ jako kvantifikace rozpadu vybraných látek. Grafický průběh, experimentální podmínky, stejně tak určení poločasů rozpadu $\tau_{1/2}$ budou součástí prezentace.

Autoři příspěvku děkují za finanční podporu grantu GA UK 285/2006/B-CH/FaF a Grantu specifického výzkumu Univerzity Hradec Králové (řešitel Aleš Imramovský).

LITERATURA

- Vinšová J., Imramovský A., Ferriz J.M.: *Chem. Listy* 100, 1045 (2006).

NATURAL PRODUCT SYNTHESIS VIA OXIDATIVE ELECTRON TRANSFER-INDUCED TANDEM REACTIONS

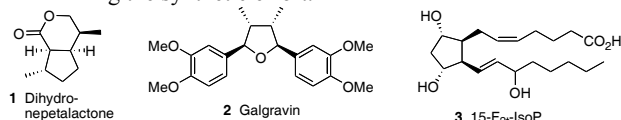
ULLRICH JAHN^{a,b*}, PHILIP HARTMANN^a,
EMMI KAASALAINEN^a, DMYTRO RUDAKOV^a,
and EMANUELA DINCA^a

^aInstitut für Organische Chemie, TU Braunschweig, Hagenring 30, D-38106 Braunschweig, Germany; ^bInstitute of Organic

Chemistry and Biochemistry AS CR, Flemingovo 2, 166 10 Praha, Czech Republic
 jahn@uochb.cas.cz, u.jahn@tu-bs.de

Tandem or domino reactions are of strongly growing importance in organic chemistry. In contrast to well-documented reaction sequences involving only intermediates of the same oxidation state, processes applying intermediates of different oxidation state are much less developed.

We report here new tandem reactions that allow the flexible use and combination of different intermediate types and reaction steps to approach several natural products and analogs such as cyclopentanoid monoterpenes like dihydronepetalactone **1**, tetrahydrofuran lignans like galgravin **2** or isoprostane **3**, respectively, in only a few steps, thus minimizing the synthetic effort.



SYNTEZA A HODNOCENÍ DERIVÁTŮ AMINOKYSELIN JAKO AKCELERANTŮ TRANSDERMÁLNÍ PERMEACE

BARBORA JANUŠOVÁ, KATEŘINA VÁVROVÁ
a ALEXANDR HRABÁLEK

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

Akceleranty transdermální permeace jsou látky usnadňující nebo umožňující transdermální podání léčiv, což je systémové podání léčiv přes kůži do krevního či lymfatického oběhu. K tomu, aby látky působily jako akceleranty, musí být schopné reverzibilně snížit kožní bariéru, jejíž podstatu představuje *stratum corneum*. Molekula akceleraantu se musí inkorporovat do lipidů lamel SC, čímž dojde k porušení kompaktnosti ceramidových lamel a dočasněmu zvýšení propustnosti kožní bariéry.

Na základě znalostí o biosyntéze ceramidů, vycházející z L-serinu, se jako vhodnými analogy ukázaly být deriváty aminokyselin, a to především jejich *N*-substituované estery.

Naším cílem bylo syntetizovat nové deriváty aminokyselin, zhodnotit jejich akcelerační aktivitu a získat tak nové poznatky o vztahu mezi jejich strukturou a účinkem.

Připravili jsme řadu *N*-acylovaných či *N*-alkylovaných dodecylesterů sarkozinu, serinu, prolinu, glycinu, α a β alaninu včetně jednotlivých enantiomerů. Akcelerační aktivita byla testována *in vitro* pomocí Franzovy difúzní cely. Jako modelové léčivo byl použit theofylin a modelová membrána prasečí kůže plně tloušťky. Látky byly testovány z prostředí tří vehikul různé polarity.

Nejvyšší akcelerační poměry vykazovaly deriváty sarkozinu a prolinu. U derivátů s dvěma hydrofobními řetězci je aktivita velmi nízká, zatímco u derivátů s jedním

hydrofobním řetězcem dochází k výraznému nárůstu aktivity. Záměna acetylu za ethyl na aminoskupině účinek významně snižuje. Rozdíl akceleračních aktivit enantiomerů není statisticky významný. Vzhledem k velkému rozptylu hodnot je však nutné srovnání zopakovat. Taktéž jsme zjistily, že akcelerační účinnost závisí na použitém vehikulu; z lipofilního prostředí jsou látky neaktivní, vodné prostředí s přidávkou PG pak aktivitu řádově zvyšuje.

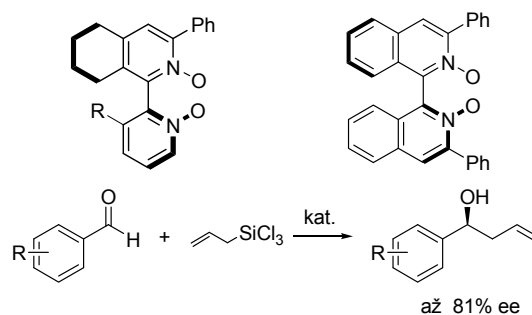
Práce vznikla s podporou grantu GAUK 92007/2007/B-CH/FaF a grantu Ministerstva školství MSM 0021620822.

NOVÉ DERIVÁTY BIPYRIDIN-*N,N*-DIOXIDŮ V ASYMETRICKÉ SYNTÉZE

ANETA KADLČÍKOVÁ^a, IRENA VALTEROVÁ^b, JANA HODAČOVÁ^b, RADIM HRDINA^a, PAVEL KOČOVSKÝ^c a MARTIN KOTORA^{a,b}

^a*Katedra organické a jaderné chemie, PřF UK v Praze, Hlavova 8, 128 43 Praha 2;* ^b*Ústav organické chemie a biochemie, AV ČR, Flemingovo 2, 166 10 Praha 6;* ^c*Dept Chem., WestChem, Joseph Black Building, University of Glasgow, Glasgow G12 8QQ, UK*
 daise@seznam.cz; kotora@natur.cuni.cz

Deriváty chirálních bipyridinů jsou často využívány jako katalyzátory v asymetrické syntéze, kde vystupují jako Lewisovské báze. V rámci vývoje nových katalyzátorů byly připraveny dva axiálně chirální bipyridin-*N,N'*-dioxidy. Nejprve byly připraveny nové bipyridiny, které pak byly oxidovány na *N,N'*-dioxidy a následovalo rozdělení na enantiomery. Syntéza prvního byla založena na [2+2+2] ko-cyklotrimerizaci 1-pyridyl-1,7-oktadiynu s benzonitrilem za použití katalyzátoru CpCo(CO)₂ následovaná. Při přípravě druhého, strukturálně odlišného bipyridinu, byl stěžejní reakcí homokaplink 1-chlorisochinolinu v přítomnosti stochiometrického množství sloučeniny niklu. Katalytická aktivita a schopnost asymetrické indukce výše uvedených bipyridin-*N,N'*-dioxidů byla vyzkoušena v allylačních reakcích s benzaldehydy.



Tato práce vznikla za podpory Centra základního výzkumu MŠMT (projekt č. LC06070, Struktura a syntetické aplikace komplexů přechodných kovů) a GAČR (projekt č. 203/05/0102).

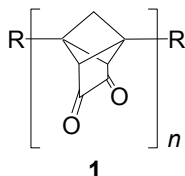
LITERATURA:

1. Hrdina R., Kadlčíková A., Valterová I., Hodačová J., Kotora M.: *Tetrahedron: Asymmetry* 17, 3185 (2006).
2. Kadlčíková A. Diplomová práce, 2007, PŘF. UK, Praha.

OD CYKLOPENTADIENU K 1,6-SUBSTITUOVANÝM TRICYKLO[3.2.0.0^{2,6}]HEPTAN-3,4-DIONŮMJIRÍ KALETA^a, CTIBOR MAZAL^a a JOSEF MICHL^b

^aÚstav chemie, PŘF, Masarykova univerzita, Kotlářská 2, 611 37 Brno; ^bDepartment of Chemistry and Biochemistry, University of Colorado, Boulder, 80309-0215 Colorado, U.S.A. kaleta@mail.muni.cz

Součástí výzkumu vedoucího v konečném důsledku k přípravě elektronických součástek na bázi jednoduchých molekul (jako např. molekulárních přepínačů a vodičů) je syntéza rigidních oligomerních polyketonů **1** ($n \geq 2$). Volbou vhodných substituentů „R“ v poloze 1 a 6 bude možné tato zařízení uchytit na povrch zlatých elektrod, změřit jejich elektronické vlastnosti a následně je začlenit do sofistikovanějších systémů.



Zvládnutím syntézy monomerního diketonu **2** (Schéma 1) se tak otevřela brána k celé řadě nových látek, u kterých lze předpokládat unikátní fyzikální a chemické vlastnosti. Klíčovým krokem se ukázala transformace již dříve známého a v několika krocích připraveného propelanu **3** (cit.¹⁻³) na požadovaný diketon **2**.

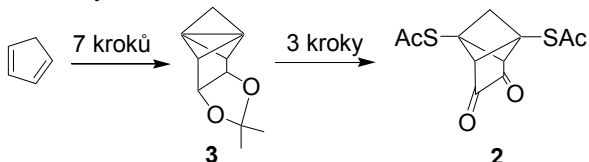


Schéma 1.

Přestože se souhrnný výtěžek této vícekrokové syntézy v současné době pohybuje kolem 1 %, je optimalizací této cesty věnována velká pozornost, protože cílové struktury jsou velmi zajímavé jak z teoretického hlediska, tak pro svůj aplikační potenciál.

Projekt KONTAKT ME 857 Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy a National Science Foundation (USA), s podporou SONY, GmbH.

LITERATURA

1. Katz T. J., Roth R. J., Acton N., Carnahan E. J.: *J. Org. Chem.* 64, 7663 (1999).
2. Christl M., Leninger H., Kemmer, P.: *J. Chem. Ber.* 117, 2963 (1984).
3. Stulgies B., Pigg D. P., Kaszynski P., Kudzin Z. H.: *Tetrahedron.* 61, 89 (2005).

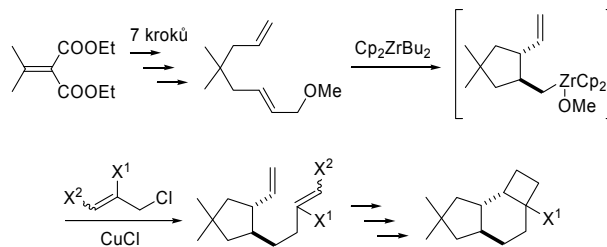
NOVÁ SYNTÉZA TRICYKlickÝCH TERPENOIDŮ

ALEŠ KOROTVIČKA^a a MARTIN KOTORA^{a,b}

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

Tricyklické terpenoidy s cyklobutanovým kruhem jsou biologicky aktivní látky potenciálně využitelné ve farmacii (cytostatické, fungicidní a antibakteriální vlastnosti)¹. Tyto tricyklické látky obsahující kondenzovaný systém složený ze 4-, 5- a 6-členného kruhu jsou velice zajímavým syntetickým cílem. Přitažlivost vývoje nových syntetických metod podtrhuje i jejich možná aplikace na přípravu příbuzných polycyklických látek.

Náš přístup k tomuto typu látek je založen na již dříve použitým postupu využitím při syntézu steroidních sloučenin². Klíčovým krokem je cyklizace 1-methoxy-2,7-oktadienu pomocí dibutylzirkonocenu za vzniku organozirkoničité sloučeniny a její následná reakce s různými elektrofilními (např. allylhalogenidy). Byla tak získána celá řada různě substituovaných α,ω -dienů. Jejich cyklizací za různých podmínek, v závislosti na funkčních skupinách navázaných na dvojnou vazbu, došlo k uzavření prostředního 6-členného cyklu a k vytvoření cyklobutanového kruhu za vzniku cílových tricyklických sloučenin.



Projekt byl financován z Centra pro nová antivirotika a antineoplastika MŠMT (Projekt č. 1M0508).

LITERATURA

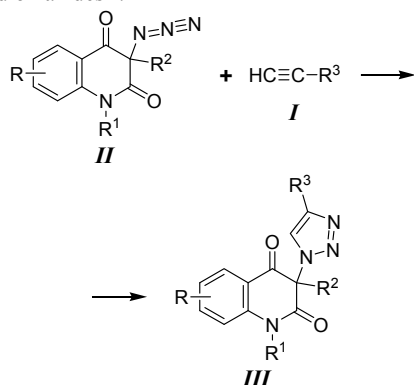
1. Abraham W. R.: *Curr. Med. Chem.* 8, 583 (2001).
2. Herrmann P., Kotora M., Buděšínský M., Šaman D., Císařová I.: *Org. Lett.* 8, 1315 (2006).

1,3-DIPOLAR CYCLOADDITIONS OF 3-AZIDOQUINOLINE-2,4(1H,3H)-DIONES

JANEZ KOŠMRLJ^a and STANISLAV KAFKA^b

^aFaculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana, 1000 Ljubljana, Slovenia; ^bFaculty of Technology, Tomas Bata University in Zlin, 762 72 Zlin, Czech Republic
kafka@ft.utb.cz; kimmel@ft.utb.cz; janez.kosmrlj@fkt.uni-lj.si

Within the scope of our systematic work in the field of chemistry of quinolones, we have prepared a series of 3-azidoquinoline-2,4(1H,3H)-diones^I, and in continuation, we have investigated their reactivity towards terminal alkynes^{II}. Employing copper(I) catalyst, 1,3-dipolar cycloaddition took place affording the corresponding 3-(1H-1,2,3-triazol-1-yl)quinoline-2,4(1H,3H)-diones^{III} in good yields. To the best of our knowledge, this is the first reaction of this kind performed on azides **I**.



This study was supported by the Czech Science Foundation (Grant No. 203/07/0320), by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (Project MSM7088352101 and Joint Project Nr 9-06-3 of Programme KONTAKT), and the Slovenian Research Agency (Projects P1-0230-0103, J1-6693-0103 and Joint Project BI-CZ/07-08-018).

LITERATURA

1. Kafka S., Klásek A., Poliš J., Košmrlj J.: *Heterocycles* 57, 1659 (2002).

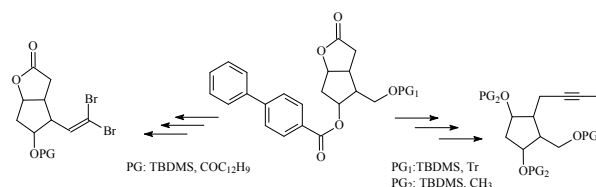
FUNKCIONALIZOVANÝ COREYHO LAKTON JAKO POTENCIÁLNÍ SUBSTRÁT PRO SYNTÉZU PROSTAGLANDINŮ

ROMAN KEDER a DALIMIL DVOŘÁK

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

Prostaglandiny (PGs)¹ patří mezi velmi významné signální sloučeniny, které jsou zodpovědné v lidském těle za celou řadu biologických funkcí, jako například ovládní

hladkého svalstva, rozmnožování, imunitní odpovědi a neuro-endokrinní procesy. Pro zavedení nenasyceného postranního řetězce do molekuly PGs byly vypracovány různé syntézy, které však zahrnují nestereoselektivní Wittigovy reakce² nebo nověji metatezi alkenů (CM a RCM)³. Nedávno vypracoval Fürstner syntézu založenou na metatezi alkyňů (RCM) a následně Lindlarově redukci na (Z)-alken⁴. Na rozdíl od této syntézy vycházející z vhodně substituovaných cyklopentanonových derivátů jsme se zaměřili na komerčně dostupný Coreyho lakton. S využitím Corey-Fuchsovy reakce, bážické debromace a následné alkylace alkyňu byl z Coreyho laktonu připraven potenciální substrát pro syntézu prostaglandinů s využitím metateze alkyňů.



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

LITERATURA

1. Collins P.W., Djuric W.: *Chem. Rev.* 93, 1533 (1993).
2. Corey E.J.: *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 30, 455 (1991).
3. Sheddan N.A., Arion V.B., Mulzer J.: *Tetrahedron Lett.* 47, 6689 (2006).
4. Fürstner A., Grela K., Mathes Ch., Lehmann Ch.W.: *J. Am. Chem. Soc.* 122, 11799 (2000).

GLUCOSIDATION OF 4-HYDROXYQUINOLIN-2(1H)-ONES

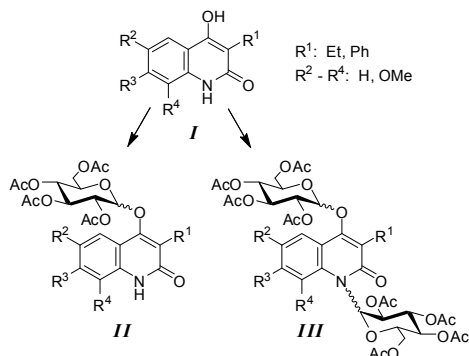
STANISLAV KAFKA^a, ROMAN KIMMEL^a, and JANEZ KOŠMRLJ^b

^aFaculty of Technology, Tomas Bata University in Zlin, 762 72 Zlin, Czech Republic; ^bFaculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana, 1000 Ljubljana, Slovenia
kafka@ft.utb.cz; kimmel@ft.utb.cz; janez.kosmrlj@fkt.uni-lj.si

Various quinolinone glycosides, which are interesting as they possess different biological activities, have been prepared till now (e.g. ref.^{1,2}). To the best of our knowledge, however, there are no literature reports for glycosidation of 3-alkyl- or 3-aryl-4-hydroxyquinoline-2(1H)-diones.

To this end, we have investigated glycosidation of 1-unsubstituted 3-ethyl- and 3-phenyl-4-hydroxyquinoline-2(1H)-diones using α -D-glucopyranosyl bromide tetraacetate as reagent. Depending on the reaction conditions, monoglucoside **II**, mixture of monoglucoside **II** and diglucoside **III**, or diglucoside **III**, respectively, were obtained. Configuration of

the compounds under investigation has been elucidated on the basis of 1D and 2D NMR experiments as well as MS spectra.



This study was supported by the Czech Science Foundation (Grant No. 203/07/0320), by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (Project MSM7088352101 and Joint Project Nr 9-06-3 of Programme KONTAKT), and the Slovenian Research Agency (Projects P1-0230-0103, J1-6693-0103 and Joint Project BI-CZ/07-08-018).

REFERENCES

1. Takagaki H., Nakanishi S., Kimura N., Yamaguchi S., Aoki Y.: Eur. Pat. Appl EP 933378, 4 August 1999; Chem. Abstr. 131, 116454 (1999).
2. Adams M.M., Bats J.W., Nikolaus N.V., Witvrouw M., Debyser Z., Engels J.W.: Collect. Czech. Chem. Commun. 71, 978 (2006).

MASTNÉ KYSELINY JAKO PREKURZORY PRO BIOSYNTÉZU SLOŽEK SAMČÍHO ZNAČKOVACÍHO FEROMONU ČMELÁKŮ

EDITA KOFRŮŽOVÁ^{a,b}, ADAM NEKOLA^c, JOSEF CVAČKA^a, PAVEL JIROŠ^{a,b} a IRENA VALTEROVÁ^a

^aÚstav organické chemie a biochemie AV ČR, v.v.i, Flemingovo 2, 166 10 Praha 6; ^bVysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6; ^cUniverzita Karlova v Praze, Hlavova 2030, 128 43 Praha 2
krafkova@uochb.cas.cz

Předchozí výzkum¹ poukázal na určitou podobnost mezi délkou řetězce a počtem dvojných vazeb u některých hlavních komponent samčího značkovacího feromonu čmeláka a mastných kyselin v jeho tukovém tělese. Proto jsme se zaměřili na charakterizaci triacylglycerolů (TAG) z tukového tělesa dvou vybraných druhů (*Bombus pratorum* a *Bombus ruderatus*).

Z tkáňových extraktů byla na tenké vrstvě izolována frakce TAG. Takto připravený vzorek byl analyzován metodou LC/MS s chemickou ionizací za atmosférického tlaku. Pro lepší separaci TAG byla optimalizována metoda s nevodným chromatografickým systémem s použitím dvou reverzních kolon C18 (15 cm a 30 cm) zapojených do série. Získaná data byla vyhodnocena pomocí nově vyvinutého softwaru

*TriglyAPCI*². Vzorky po analýze na LC/MS byly dále transesterifikovány pomocí již dříve vyvinuté metody³. Takto připravené methylestery mastných kyselin byly analyzovány na GC/MS s kvadrupolovým analyzátozem. Pozice dvojných vazeb mastných kyselin byla u *B. ruderatus* určována ze spekter při analýze na GC/MS s iontovou pastí s acetonitrilem jako činidlem pro chemickou ionizaci⁴. Pro určení pozic dvojných vazeb u *B. pratorum* byla použita derivatizace pomocí dimetyldisulfidu (DMS).

Hlavní složkou v samčím značkovacím feromonu *B. ruderatus* je nonadec-9-en. V tukovém tělese tohoto čmeláka bylo nalezeno poměrně velké množství kyseliny ikos-11-enové. *B. pratorum* má jako jednu ze složek samčího feromonu pentakosa-7,17-dien. Po analýze TAG z jeho tukového tělesa a po DMS derivatizaci byla identifikována kyselina pentakosa-9,19-dienová. Tato zjištění podporují naši hypotézu o biosyntéze alifatických složek samčího značkovacího feromonu z matných kyselin.

Práce byla provedena za podpory Grantové agentury AV ČR (grant číslo A4055403) a MŠMT (projekt číslo 2B06007).

LITERATURA

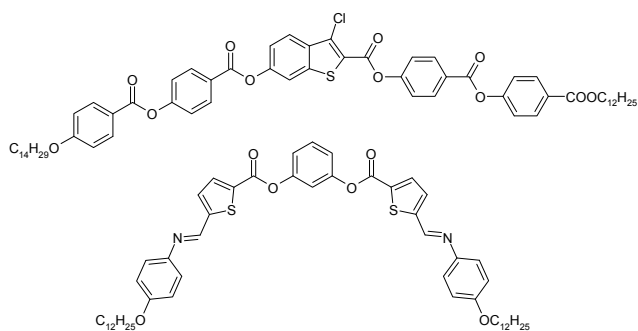
1. Luxová A., Valterová I., Stránský K., Hovorka O., Svatoš A.: Chemoeology 13, 81 (2003).
2. Cvačka J., Krafková E., Jiroš P., Valterová I.: Rapid Commun. Mass spectrom. 20, 3586 (2006).
3. Stránský K., Jursík T.: Fett/Lipid, 98, 65 (1996).
4. Oldham N.J., Svatoš A.: Rapid Commun. Mass spectrom. 13, 331 (1999).

NOVÉ TYPY LOMENÝCH KAPALNÝCH KRYSTALŮ – DESIGN, SYNTÉZA A MESOMORFNÍ VLASTNOSTI

**MICHAL KOHOUT^a, PETR POLÁŠEK^a,
PETR ŠPAČEK^a, ANNA KOVÁŘOVÁ^a,
VÁCLAV KOZMÍK^a, JIŘÍ SVOBODA^a,
VLADIMÍRA NOVOTNÁ^b a MILADA GLOGAROVÁ^b**

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

Oblast lomených kapalných krystalů patří mezi rychle se rozvíjející oblast supramolekulární chemie. V posledních letech byla velká pozornost věnována modifikacím prodlužujících postranních řetězců, případně různým typům centrálních jader a jejich substituce¹⁻³. Cílem této práce bylo připravit nové typy nesymetrických lomených kapalných krystalů obsahujících heterocyklický systém v molekulární struktuře (Obr. 1) a studovat jejich mesomorfní chování pomocí DSC, studií textur a rentgenostrukturní analýzou.



Budou diskutovány rozdíly způsobené záměnou centrálního jádra, vliv substituce tohoto jádra, délky postranních řetězců na celkové změny v mesomorfním chování jednotlivých kapalných krystalů. Dále pak bude posouzena vhodnost jednotlivých typů centrálních jader a prodlužujících postranních řetězců pro syntézu kapalně krystalických materiálů vhodných pro opto-elektronické aplikace.

Práce byla podporována vnitřním grantem VŠCHT Praha (č. 0015110) a Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy (projekt OC176 a MSM 6046137301).

LITERATURA

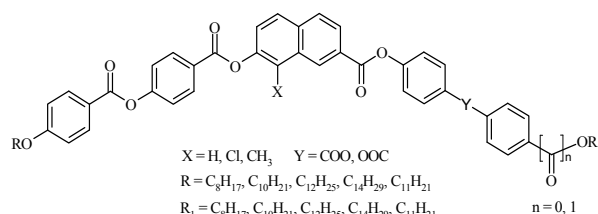
- Reddy R.A., Tschierske C.: J. Mater. Chem. 16, 907 (2006).
- Svoboda J., Novotná V., Kozmík V., Glogarová M., Weisslog W., Diele S., Pelzl G.: J. Mater. Chem. 13, 2104 (2003).
- Kozmík V., Kovářová A., Kuchař M., Svoboda J., Novotná V., Glogarová M., Kroupa J.: Liq. Cryst. 33, 41 (2006).

SYNTEZA A STUDIUM VLIVU PŘÍTOMNOSTI A ORIENTACE POLÁRNÍCH SPOJEK NA FYZIKÁLNÍ VLASTNOSTI LOMENÝCH KAPALNÝCH KRYSALŮ

**MICHAL KOHOUT^a, JIŘÍ SVOBODA^a,
VLADIMÍRA NOVOTNÁ^b, MILADA GLOGAROVÁ^b
a UTE BAUMEISTER^c**

^aÚstav organické chemie, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6; ^bFyzikální ústav AV ČR, Na Slovance 2, 182 21 Praha 8; ^cInstitut für Physikalische Chemie, Universität Halle-Wittenberg, Mühlpforte 1, D-06099 Halle, SRN
michal.kohout@email.cz

Studium lomených kapalných krystalů stále patří mezi intenzivně se rozvíjející oblast materiálové chemie. V naší laboratoři jsme nedávno využili pro syntézu nových kapalně krystalických materiálů zcela nový typ centrálního jádra¹. Cílem prezentované práce bylo připravit nové typy nesymetrických lomených kapalných krystalů odvozených od 7-hydroxynafthalen-2-karboxylové kyseliny (Obr. 1) a studovat jejich mesomorfní chování pomocí DSC, studiím textur a rentgenostrukturní analýzou.



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

Práce byla podporována Grantovou agenturou ČR (projekt č. 202/05/0431), Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy (projekt MSM 6046137301 a OC176) a vnitřním grantem VŠCHT Praha 0015110.

LITERATURA

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

OPTIMALIZACE SYNTEZY ŽÁDANÝCH KONGENERŮ TETRAPYRAZINOPORFYRAZINŮ

**KAMIL KOPECKÝ^a, DALIBOR ŠATINSKÝ^b,
PETR ZIMČÍK^a a ANTONÍN SVOBODA^b**

^aUniverzita Karlova, FarmF, Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv; ^bKatedra analytické chemie, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové
kamil.kopecky@faf.cuni.cz

Ftalocyaniny a tetrapyrazinoporfyraziny (TPP) jsou používány v mnoha různých aplikacích, např. v elektrotechnice, nelineární optice, jako katalyzátory nebo fotosensitizéry ve fotodynamické terapii (PDT). V mnoha případech je důležité zajistit definovaný počet funkčních skupin, které poskytují možnost následně modifikovat dané látky za kontrolovatelných podmínek a izolovatelných produktů. Nesymetricky substituované TPP mohou být připraveny statistickou tetramerizací směsí dvou rozdílně substituovaných výchozích pyrazindikarbonitrilů.

Pro zjištění optimálních poměrů výchozích pyrazindikarbonitrilů pro syntézu požadovaného TPP bylo vyzolováno z reakční směsi všech pět vznikajících kongenerů, které byly dále použity jako standarty pro analýzu metodou HPLC s UV-Vis detekcí. Ta byla následně použita k analýze směsí všech pěti kongenerů TPP vznikajících při reakci dvou rozdílně substituovaných pyrazindikarbonitrilů. Tyto směsi byly připraveny v různých poměrech dvou prekurzorů. Výsledná naměřená data byla následně porovnána s daty vypočítanými na základě matematického modelu pravděpodobnosti vzniku dané směsi. Zjištěná data dávají možnost optimalizace výtěžků požadovaných kongenerů

připravených statistickou kondenzací dvou srovnatelně reaktivních pyrazindikarbonitrilů.

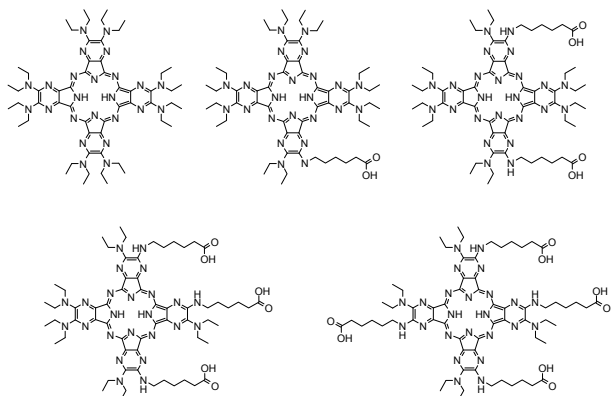


Schéma 1. Směs potenciálních kongenerů, mohou vznikat i různé polohové isomery.

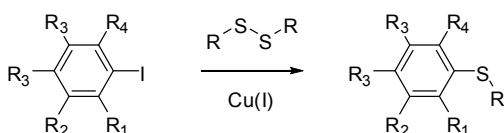
Tato práce vznikla za podpory grantu GAUK 41107/B/2007

KATALYTICKÝ OXIDATIVNÍ CROSS-COUPLING ARYL IODIDŮ S DISULFIDY: STUDIUM MECHANIZMU A SYNTETICKÉHO ROZSAHU REAKCE.

JIŘÍ ŠROGL a MICHAL KORF

Ústav organické chemie a biochemie AV ČR v.v.i., Flemingovo náměstí 2, Praha 6
Korf@uochb.cas.cz

Cross-couplingové¹ reakce aryl iodidů s organickými disulfidy²⁻⁶ je katalyzována měďnými solemi⁷. Syntetické a mechanistické aspekty reakce byly studovány v závislosti na druhu použitého elektro-donorního činidla/ redukovadla. Biomimetická ko-katalýza/ redukce askorbovou kyselinou je představena jako jako nová metoda k udržení Cu katalyzátoru v aktivním stavu.



Autoři děkují Ústavu organické chemie a biochemie AV ČR v.v.i. za podporu projektu.

LITERATURA

1. Beletskaya I. P., Cheprakov A. V.: *Coordination Chemistry Reviews* 248, 2337 (2004).
2. Huxtable R. J. Ed.: *Biochemistry of Sulfur*. Plenum Press, New York 1986.

3. Oae S., Okuyama T.: *Organic Sulfur Chemistry: Biochemical Aspects*. CRC Press, Inc. Boca Raton 1992.
4. Oae S.: *Organic Sulfur Chemistry: Structure and Mechanism*. CRC Press, Inc.: Boca Raton 1992.
5. Sinha P., Kundu A., Roy S., Prabhakar S., Vairamani M., Sankar A. R., Kunwar A. C.: *Organometallics* 20, 157 (2001).
6. Taniguchi N., Onami T.: *J. Org. Chem.* 69, 915 (2004).
7. Zhang S., Zhang D., Liebeskind L. S.: *J. Org. Chem.* 62, 2312 (1997).

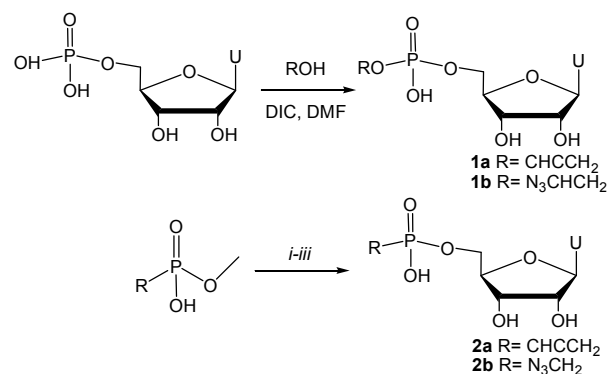
SYNTHESIS OF SUGAR-NUCLEOTIDE ANALOGS AS POTENTIAL GLYCOSYLTRANSFERASE INHIBITORS

IVANA KÓŠIOVÁ^{a,b}, PAVOL KOIŠ^b
a IVAN ROSENBERG^a

^a Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, AS CR, Flemingovo 2, 166 10 Praha 6; ^b Comenius University, Faculty of Natural Sciences, Dept of Organic Chemistry, Mlynska dolina, 842 15 Bratislava
kosiova@uochb.cas.cz; kois@fns.uniba.sk

Glycosylation reactions regulated by glycosyltransferases participate in modification of protein and lipid functions, that influence various molecular processes such as bacterial or viral infections and immune response. Development of selective glycosyltransferase inhibitors is of great interest for therapeutic applications.

We decided to develop new nucleotide analogs as a potential glycosyltransferase inhibitors. We prepared nucleoside-phosphates **1a-b** and nucleoside-phosphonates **2a-b** with alkyne or azide function, which we coupled with sugar moiety by Cu catalysed Huisgen 1,3-dipolar cycloaddition.



Scheme 1. Synthesis of nucleoside-phosphates **1a-b** and nucleoside-phosphonates **2a-b**; (i) 2',3'-O-isopropylideneuridine, TIPBSCl, *N*-methylimidazole, CH₃CN; (ii) 60% aqueous pyridine; (iii) DOWEX 50 (H⁺), aqueous methanol

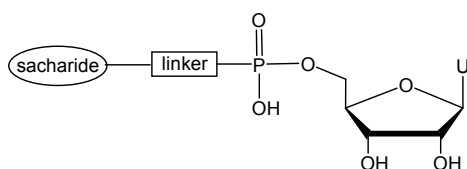


Figure 1. Common structure of prepared sugar-nucleoside analogs, sugar = arabinose or manose, linker = substituted triazole bridge

Study of inhibitory activity of prepared compounds is in progress.

The present work has been supported by the Project No. 202/05/0628 (Czech Science Foudation) and the Project No. APVV-51-046505 (Slovak Science and Technology Assistance Agency).

SYNTÉZA KONJUGÁTŮ DEWAROVÝCH BENZENŮ S FERROCENY

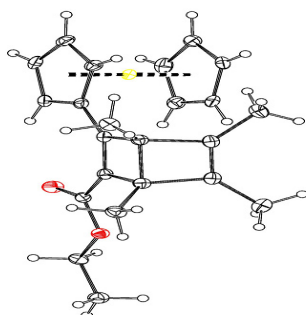
ŠTĚPÁNKA JANKOVÁ^a, PETR ŠTĚPNIČKA^b
a MARTIN KOTORA^{a,c}

^aKatedra organické a jaderné chemie, ^bKatedra anorganické chemie, PFF UK v Praze, Hlavova 8, 128 43 Praha 2; ^cÚstav organické chemie a biochemie AV ČR, Flemingovo 2, 166 10 Praha 6

JankovaS@seznam.cz; kotora@natur.cuni.cz.

Dewarovy benzeny jsou valenčními izomery benzenů a jako takové byly poprvé připraveny právě fotochemickým přesmykem derivátu benzenu¹. V naší dřívější práci jsme dokázali, že v přítomnosti vhodných substituentů, jako estery a aryly, jsou navíc takové látky i značně stabilní a přesmyku na benzen podléhají až při vysokých teplotách².

Z tohoto důvodu jsme se v naší další práci zaměřili na možnosti záměny těchto substituentů. Jako vhodným kandidátem za arylovou část se jevil právě ferrocen, který také obsahuje konjugovaný systém. V rámci tohoto projektu pak byly připraveny konjugáty Dewarových benzenů s ferroceny Dielsovou-Alderovou reakcí peralkylovaných cyklobutadienových komplexů AlCl_3 s různě substituovanými ethynylferroceny.



U takto připravených látek pak byly studovány jak možnosti jejich termického přesmyku na benzen tak jejich elektrochemické chování.

Tato práce byla podpořena projektem MŠMT č. LC 06070 *Struktura a syntetické aplikace komplexů přechodných kovů*.

LITERATURA

1. van Tamelen E.E., Pappas S.P.: J. Am. Chem. Soc. 84, 3789 (1962).
2. Janková Š., Dračínský M., Císařová I., Kotora M.: Eur. J. Org. Chem., přijato.

SYNTHESIS OF PIPERIDINE NUCLEOSIDES

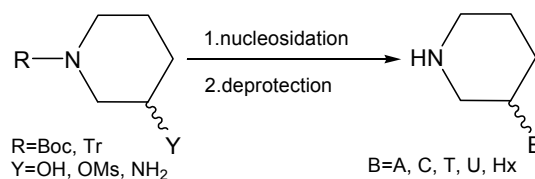
SOŇA KOVAČKOVÁ, MARTIN DRAČÍNSKÝ,
and DOMINIK REJMAN

Institute of Organic Chemistry and Biochemistry AS CR,
Flemingovo nám. 2, 166 10 Prague
kovackova@uochb.cas.cz rejman@uochb.cas.cz.

A novel series of racemic piperidine-3-yl derivatives of nucleobases was prepared. Synthesis started from commercially available (*RS*)-3-hydroxypiperidine. First step in the synthesis of piperidine nucleosides consisted in the introduction of nitrogen protecting group (Boc, Tr), followed by esterification of free hydroxyl with mesyl chloride.

Three general strategies for nucleobase introduction were investigated: **A**, Mitsunobu nucleosidation of (*RS*)-3-hydroxy-1-*N*-protected piperidine; **B**, Alkylation of (*RS*)-3-mesyloxy-1-*N*-protected piperidine and **C**, Nucleobase building-up starting from (*RS*)-3-amino-1-*N*-protected piperidine (pyrimidine nucleobases only). Final compounds were obtained after deprotection of *tert*-butoxycarbonyl or trityl group.

For now, nucleobase build-up procedure seems to be the most promising strategy. Comparison of methods, conditions and influence of nitrogen protecting group on reactivity and yields will be discussed.



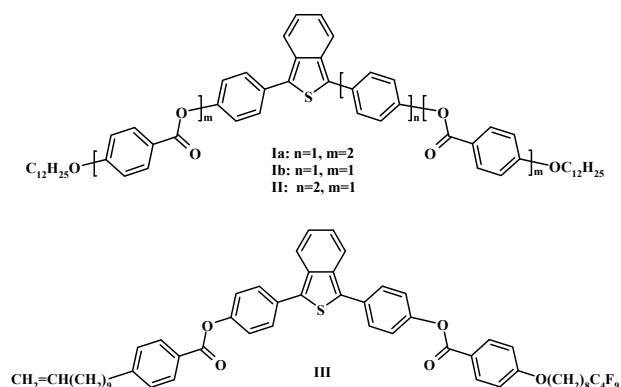
Support by grants #2B06065 (Ministry of Education, CR), # 203/02/D150 and #204/05/P510 (Czech Science Foundation), Research Centers LC-512, LC-06061, and LC-06077 (Ministry of Education, CR) under research project Z4055905 is gratefully acknowledged.

NOVÉ FLUORESCENČNÍ KAPALNÉ KRYSTALY ODVOZENÉ OD BENZO[c]THIOFENU

**A. KOVÁŘOVÁ^a, J. SVOBODA^a, V. NOVOTNÁ^b,
M. GLOGAROVÁ^b, M. SALAMONCZYK^c,
E. GORECKA^c a D. POCIECHA^c**

^aÚstav organické chemie, VŠCHT Praha., Technická 5, Praha 6, 166 28; ^bFyzikální ústav AV ČR, Na Slovance 2, Praha 8, 182 21; ^cChemistry Department, Warsaw University, Al. Zwirki i Wiguri 101, 02-089 Warsaw, Poland
kovarova@vscht.cz

V této práci bude představena syntéza a fyzikální vlastnosti nově připravených lomených kapalných krystalů odvozených od benzo[c]thiofenu¹. Základní materiály **Ia**, **Ib** vykazovaly pouze nematickou kapalně krystalickou fázi², zato však v širokém teplotním intervalu a s relativně nízkými přechodovými teplotami. Zavedení bifenylové jednotky s cílem zvýraznit lomený tvar molekuly **II** nevedlo k tvorbě žádoucí smektické fáze. Teprve přítomnost perfluoralkylového terminálního řetězce (**III**) iniciovala změnu mesomorfního chování.



Fyzikální vlastnosti nových materiálů byly studovány optickou polarizační mikroskopií, studiem textur a pomocí DSC. Všechny materiály vykazovaly silnou fluorescenci díky přítomnosti benzo[c]thiofenové jednotky.

Práce byla podporována Grantovou agenturou ČR (projekt č. 202/05/0431), Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy (projekt MSM 6046137301 a OC176) a vnitřním grantem VŠCHT Praha 0015110.

LITERATURA

- Mohanakrishnan A. K., Amaladass P.: *Tetrahedron Lett.* 46, 4225 (2005).
- Kovářová A., Svoboda J., Novotná V., Glogarová M., Salamonczyk M., Gorecka E., Pocięcha D.: Poster PA11, *ECLC 2007 – 9th European Conference on Liquid Crystals*, Lisbon, Portugal.

ROZMANITOST PEVNÝCH FARMACEUTICKÝCH SUBSTANCÍ (POLY MORFY, HYDRÁTY, SOLVÁTY, AMORFÁTY, SOLI, KOKRYSTALY)

BOHUMIL KRATOCHVÍL

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

Pevné lékové formy (tablety) mohou obsahovat aktivní substanci (API) ve formě anhydrátu, hydrátu, amorfni formy, soli nebo kokystalu. Řada těchto forem může vykazovat polymorfismus. Výběr optimální API pro zvolenou lékovou formulaci je určen aspekty farmakokinetickými, biologickými, chemickými, fyzikálními, technologickými a v případě generik velmi výrazně i patentovými. V prezentaci jsou probrány jednotlivé formy pevných API na příkladech z literatury a na základě vlastních výzkumů, které jsou prováděny ve spolupráci s farmaceutickými firmami (Ivax Pharmaceuticals, Zentiva).

U čistých polymorfů (anhydrátů, ansoolvátů) je zmíněn obdivuhodný oktamorfnismus sloučeniny s triviálním názvem ROY (red-orange-yellow)¹, polymorfismus námělového alkaloidu cabergolinu² a atorvastatinu³ ze skupiny statinů. V rámci amorfních a semikrystalických forem jsou probrány také nanokrystalické suspenze a jev polyamorfnismu. Dále jsou zmíněny příklady formulací z hydrátů a u námělového alkaloidu terguridu je ukázáno, jak lze obejít nepříjemný a bohatý solvatomorfismus terguridové báze převedením na sůl - monomorfní tergurid hydrogen maleát^{4,5}. Velká pozornost je věnována solím, které dnes představují asi 1/2 všech formulací. Nejrychleji se mezi pevnými formami rozvíjí výzkum kokystalů i když zatím především v akademické sféře. Je zmíněna např. modifikace disolučního profilu fluoxetinu jeho kokystalizací s organickými kyselinami⁶ a příklad kokystalu typu „molekula : ion“vinanu zolpidemu a zolpidemu báze⁷.

Tato práce byla podpořena grantem GA ČR 203/07/0040.

LITERATURA

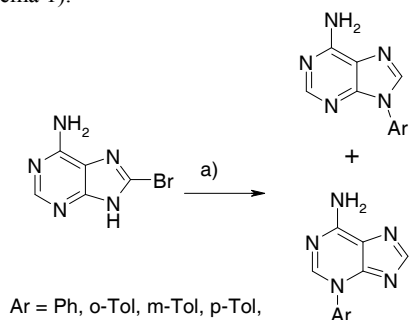
- Yu L., Stephenson G.A., Mitchell C.A., Bunnell C.A., Snorek S.V., Bowyer J., Borchardt T.B., Stowell J.G., Byrn S.R.: *J. Am. Chem. Soc.* 122, 585 (2000).
- Jegorov A., Cvak L., Bednář R., Čejka J., Hušák M., Kratochvíl B., Císařová I.: *Struct. Chem.* 17, 131 (2006).
- Hájková B., Kratochvíl B.: *Chem. Listy*, v tisku (2008).
- Hušák M., Kratochvíl B., Sedmera P., Stuchlík J., Jegorov A.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 58, 2944 (1993).
- Hušák M., Kratochvíl B., Císařová I., Cvak L., Jegorov A., Böhm S.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 67, 479 (2002).
- Childs S.L. *et al*: *J. Am. Chem. Soc.* 126, 13335 (2004).
- George P., Rossey G., Depoortere H., Mompon B., Allen J., Wick A. v knize: *Imidazopyridines in sleep disorders: A novel experimental and therapeutic approach* (Sauvanet J. P., Langer S. Z., Morselli P. L., eds.), str. 11., Raven Press, New York 1988.

PŘÍPRAVA 3- A 9-ARYLADENINU

**JAN KROUŽELKA^a, IGOR LINHART^a
a HANA DVOŘÁKOVÁ^b**

^aÚstav organické chemie; ^bCentrální laboratoře, VŠCHT
Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6
krouzelj@vscht.cz; hana.dvorakova@vscht.cz

Metody arylace purinových basí jsou důležitými nástroji ve vývoji léčiv¹ i ve studiu modifikací DNA². *N*-Arylace heterocyklických sloučenin lze dosáhnout za mírných podmínek arylboronovými kyselinami v přítomnosti měďnatých komplexů s dusíkatými ligandy^{3,4}. Samotný adenin se nám podařilo arylvat fenyloboronovou kyselinou za přítomnosti octanu měďnatého a fenanthrolinu. Reakce probíhala selektivně do polohy 9. Pro přípravu 3-aryladeninů, které jsou důležitými DNA adukty odvozenými od arenů, bylo třeba ovlivnit selektivitu arylace. 8-Bromadenin se ukázal jako vhodný substrát pro arylaci do poloh 3 a 9. Vzniklé 3- a 9-aryl-8-bromadeniny produkty byly převedeny na příslušné aryladeniny debromací vodíkem na palladiovém katalyzátoru (Schéma 1).



Ar = Ph, o-Tol, m-Tol, p-Tol,

Schéma 1. a) 1. ArB(OH)₂, Cu(OAc)₂, Fenanthrolin, DMF; 2. H₂/Pd

Při *S*-arylaci methyl-*N*-acetylcysteinátu arylboronovými kyselinami byl namísto fenanthrolinu použit pyridin jako ligand i rozpouštědlo a reakce byla prováděna v inertní atmosféře. Takto byly připraveny *S*-fenyl-*N*-acetylcysteinát a *S*-(4-vinylfenyl)-*N*-acetylcysteinát.

Autoři děkují za finanční podporu granty GA ČR 203/06/0888, MSM 6046137301 a LC06070 Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy.

LITERATURA

1. Simons C., Wu Q., Htar T.T.: *Curr. Top. Med. Chem.* 5, 1191 (2005).
2. Kool E.T.: *Chem. Rev.* 97, 1473 (1997).
3. Chan D.M.T., Monaco K.L., Wang R.-P., Winters M.P.: *Tetrahedron Lett.* 39, 2933 (1998).
4. Bakkestuen A.K., Gundersen L.-L.: *Tetrahedron Lett.* 44, 3359 (2003).

SYNTEZA POTENCIÁLNĚ BIOLOGICKY AKTIVNÍCH 2- A 6-SUBSTITUOVANÝCH PURINŮ

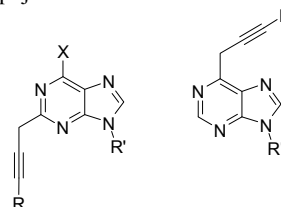
MARTIN KŘOVÁČEK^a a DALIMIL DVOŘÁK^a

^aÚstav organické chemie, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28, Praha 6
krovacem@vscht.cz

Deriváty purinu hrají důležitou roli v mnohých biologických procesech. Modifikace purinových bazí, nukleosidů a nukleotidů již vedla k objevu mnoha biologicky aktivních látek, z nichž některé jsou úspěšně využívány jako léčiva. Puriny nesoucí uhlikaté substituenty v polohách 2, 6 a 8 jsou tedy mimořádně zajímavé pro svou potenciální biologickou aktivitu¹.

V naší skupině jsme již dříve vypracovali metodiku pro zavedení elektronově chudých alkynů do poloh 2- a 6- purinu a získali tak nové látky, z nichž některé vykazují cytostatickou aktivitu.

Naši pozornost jsme dále zaměřili na syntézu derivátů, majících mezi purinovým jádrem a trojnou vazbou methylenovou spojku.



Molekula se stane méně rigidní a rovněž zanikne konjugace. Lze předpokládat, že takováto změna ve struktuře bude mít vliv i na případnou biologickou aktivitu.

Práce byla podporována Centrem základního výzkumu LC06070 "Struktura a syntetické aplikace komplexů přechodných kovů" Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy ČR.

LITERATURA

1. Legrauerend M., Grierson D. S.: *Bioorg. Med. Chem.* 14, 3987 (2006).

SYNTEZA B-FUNKCIONALIZOVANÝCH 6-ALKYLPURINŮ NUKLEOFILNÍMI ADICEMI NA 6-VINYL NEBO 6-ETHYNYLPURINY

MARTIN KUCHAR^a a MICHAL HOCEK

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

Puriny, substituované v poloze 6 vykazují široké spektrum biologické aktivity¹. Známé jsou antimykobakteriální, antibakteriální a cytotoxické vlastnosti 9-benzyl-6-arylpurinů. Stále se ovšem málo ví o biologické aktivitě purinů, které mají

v poloze 6 funkcionalizované substituenty. Jako vhodná metoda k jejich přípravě se ukázala nukleofilní adice na dvojnou nebo trojnou vazbu^{2,3}.

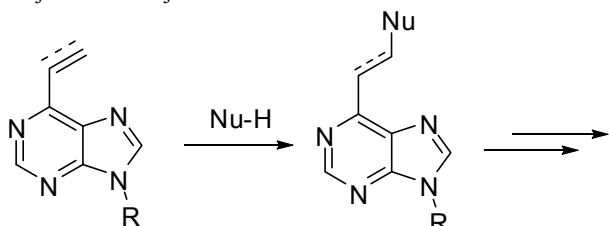


Schéma 1. Nukleofilní adice na nasobnou vazbu

Tato vypracovaná metodika dosahuje výborných výtěžků a byla úspěšně použita k syntéze velké série nových látek, z nichž některé vykazují zajímavou cytotatickou aktivitu.

Tato práce je součástí výzkumného projektu Z4 055 0506, který byl podporován „Centrum Nová antivirotika a antineoplastika“ IM0508 a „Program of Targeted Projects of Academy of Sciences of the Czech Republic (IQS400550501)“ a společností Gilead Sciences, Inc.

LITERATURA

- (a) Hocek M., Holý A., Votruba I., Dvořáková H.: J. Med. Chem. 43, 181 (2000). (b) Hocek M., Holý A., Votruba I., Dvořáková H.: Collect. Czech. Chem. Commun. 66, 483 (2001). (c) Hocek M., Holý A., Dvořáková H.: Collect. Czech. Chem. Commun. 67, 325 (2002).
- (a) Øverås A.T., Bakkestuen A.K., Gundersen L.L., Rise F.: Scan. Chem. Acta 54, 1116 (1997). (b) Liu F., Dalhus B., Gundersen L.L., Rise F.: Scan. Chem. Acta 53, 269 (1999). (c) Kawasaki T., Nagatsugi F., Ali M., Maeda M., Sugiyama K., Hori K., Sasaki S.: J. Org. Chem. 70, 14 (2005). (d) Nagatsugi F., Kawasaki T., Usui D., Maeda M., Sasaki S.: J. Am. Chem. Soc. 121, 6753 (1999).
- Kuchař M., Pohl R., Votruba I., Hocek M.: Eur. J. Org. Chem. 2006, 5083.

FORMYLATIONS OF THICALIX[4]ARENES

**ONDREJ KUNDRAT^a, HANA DVORAKOVA^b,
IVAN STIBOR^a, and PAVEL LHOTAK^a**

^aDepartment of Organic Chemistry, ^bLaboratory of NMR spectroscopy, Prague Institute of Chemical Technology, Technická 5, 166 28 Prague 6
kundrato@vscht.cz

Upper rim formyl-substituted thiacalixarenes could serve as valuable synthetic intermediates in the design and synthesis of more elaborate thiacalixarene-based derivatives. Tetraformyl-tetrapropoxythiacalixarene was prepared by reaction of the corresponding tetrabromo derivative with *tert*-BuLi in THF (-78 °C) and subsequent reaction with *N*-formylpiperidine. However, the same procedure failed in the attempted synthesis of diformyl-dipropoxy derivative. As direct formylation of thiacalixarene skeleton has not been

described we have focused our attention to this kind of transformations. Thus, systematic research on direct formylation reactions of thiacalix[4]arene, its dipropoxy- and tetrapropoxy-derivatives (immobilized in several different conformations) has been carried out. Depending on the conformation of starting thiacalixarene, several interesting formylated compounds were obtained, e.g. 5,17-diformyl-25,27-dipropoxythiacalixarene. The results of various formylation reactions as Vilsmeier-Haack reaction (PhN(CH₃)CHO, POCl₃), Duff reaction (hexamethylene-tetraamine, TFA) or Gross reaction (Cl₂CHOCH₃, SnCl₄ or TiCl₄) will be presented.



This research was supported by Czech Science Foundation (grant 104/07/1242) and the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (Research Centre LC06070).

REFERENCES

- Morohashi N., Narumi F., Iki N., Hattori T., Miyano S.: Chem. Rev. 106, 5291 (2006).
- Lhotak P.: Eur. J. Org. Chem. 2004, 1675.
- Himl M., Pojarova M., Stibor I., Sykora J., Lhotak P.: Tetrahedron Lett. 46, 461 (2005).

VÝPOČTY KOMPLEXŮ ZLATA S THIOLY

JAROSLAV KVIČALA a PETR BEČVAŘÍK

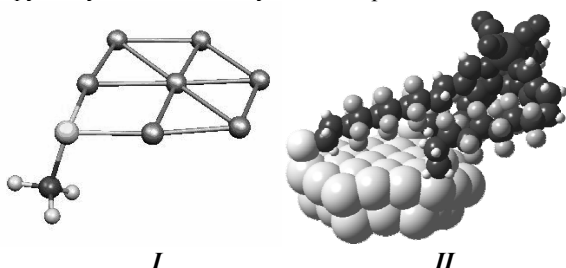
Ústav organické chemie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6
kvicaj@vscht.cz

Prudký nástup nanotechnologických oborů se nevyhnul ani chemii. Jedním z důsledků je rychle rostoucí zájem o syntézu a studium struktur a vlastností organizovaných povrchů. Jednou z nejlépe studovaných oblastí jsou monovrstvy získané pomocí samoskladby (self-assembled monolayers, SAM) thiolů na extrémně hladké zlaté povrchy – Au(111). SAM na bázi fluorovaných thiolů jsou novou skupinou povrchů umožňující využití specifických fluorofilních vlastností vysoce fluorovaných molekul¹.

Přes intenzivní experimentální studium SAM na bázi thiolů a Au(111) není stále zcela jasné, jakým způsobem jsou molekuly thiolů vázány ke zlatému povrchu. Tato oblast je

proto v současné době cílem intenzivního studia pomocí výpočetních metod (např. cit. 2,3).

V souvislosti s experimentálním i teoretickým zájmem o polyfluoralkylované tripyrazolylmethany a jejich koordinaci ke zlatým povrchům jsme se rozhodli studovat jednak pomocí DFT metod malé klastry Au – thiol (např. **I**), jednak s využitím vícevrstevných výpočetních metod ONIOM složitější systémy Au(111) – fluorované thioly a jejich deriváty (např. **II**). Jak ukazují DFT výpočty metodou PBE1PBE/6-311G(d), energeticky nejvýhodnější jsou klastry [(Au_n)⁺ - (MeS)] s charakteristickou koordinací thiolátu k dvěma atomům zlata (např. komplex **I**) v souladu s publikovanými výpočty. Předběžné výpočty metodou ONIOM HF/3-21G*:UFF ukazují, že daná metodika je schopná jak zpracovat značně rozsáhlý systém zahrnující koordinaci ke zlatému povrchu, tak dostatečně přesně popsat komplexaci kovu ke studovanému tripyrazolylmethanovému systému v supermolekule **II**.



Děkujeme Ministerstvu školství, mládeže a tělovýchovy České republiky (Program KONTAKT č. ME 857, Výzkumné centrum LC06070) za finanční podporu tohoto projektu.

LITERATURA

1. Barriet, D.; Lee, T. R.: *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 8, 236 (2003).
2. Andreoni, W.; Curioni, A.; Grönbeck, H.: *Int. J. Quant. Chem.* 80, 598 (2000).
3. Häkkinen, H.; Walter, M.; Grönbeck, H.: *J. Phys. Chem.* 110, 9927 (2006).

NOVÁ METODA PRO PŘÍPRAVU 8-(ALKYL-AMONIO)-COSANŮ

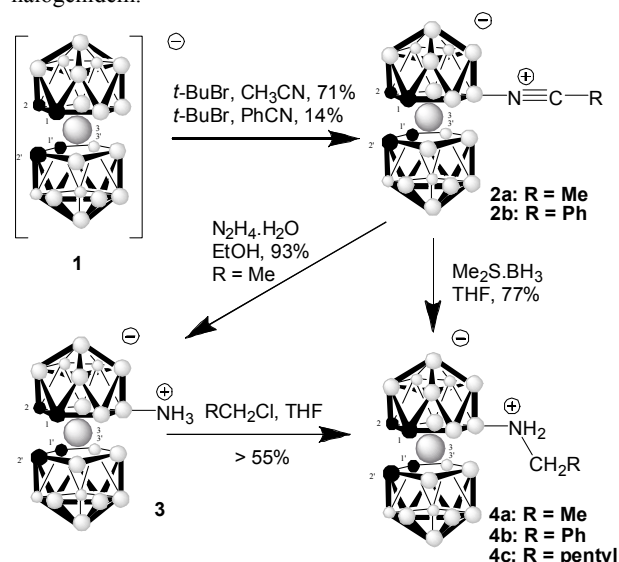
**MAGDALENA KVÍČALOVÁ^a, JAROMÍR PLEŠEK^a,
IVANA CÍSAŘOVÁ^b, VÁCLAV ŠÍCHA^a
a BOHUMÍR GRÜNER^a**

^a Ústav anorganické chemie AVČR, v.v.i., 250 68 Řež; ^b Sekce anorganické chemie, PřF UK v Praze, Hlavova 2030, 128 42 Praha 2
magda@iic.cas.cz

Deriváty [(1,2-C₂B₉H₁₁)₂-3,3'-Co]⁺, COSANu (**1**), jsou používány jako extrakční činidla Cs⁺ a Sr²⁺. Analogické anionty obsahující chelatující skupinu velmi dobře extrahují lanthanoidy a aktinoidy¹. V současné době se COSAN a jeho deriváty úspěšně testují jako inhibitory HIV-proteasy.

Při syntéze nových typů COSANových derivátů se nejvíce uplatňuje tzv. "elektrofilem indukovaná nukleofilní substituce" (EINS)². Nejvhodnějším elektrofilem pro přípravu 8-N-nitrilátů COSANu **2a,2b** je *tert*-butylbromid. Zatímco 8-N-acetonitrilát (**2a**) lze připravit ve vysokém výtěžku, jiné nitriláty (např. **2b**) vznikají jen obtížně.

Nově vyvinutou obecnou metodou pro syntézu substituovaných 8-(alkylamonio)Cosanů je redukce sloučeniny **2a** hydrazinem a následná alkylace intermediátu **3** vhodným halogenidem.



Autoři děkují Grantové agentuře Akademie věd ČR (grant IAA400310613) a MŠMT ČR (projekt LC 523) za finanční podporu.

LITERATURA

1. Grüner B., Plešek J., Báča J., Císařová I., Dozol J.F., Rouquette H., Viñas C., Selucký P., Rais J.: *New J. Chem.* 26, 1519 (2002).
2. Plešek J., Heřmánek S., Franken A., Císařová I., Nachtigal C.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 62, 47 (1997).

CHIRÁLNÍ FERROCENOVÉ FOSFINKARBOXYLOVÉ KYSELINY A JEJICH AMIDY JAKO LIGANDY PRO ENANTIOSELEKTIVNÍ ALLYLOVOU SUBSTITUCI

**MARTIN LAMAČ, IVANA CÍSAŘOVÁ
a PETR ŠTĚPNIČKA**

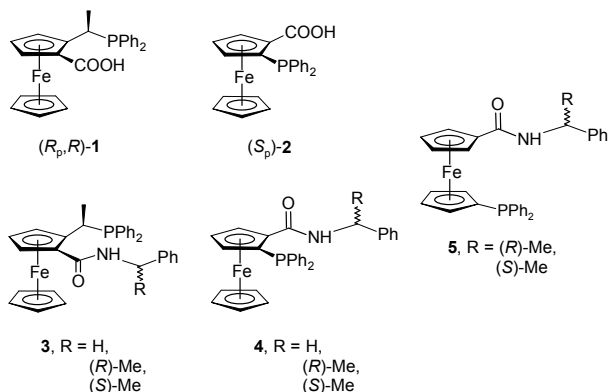
Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra anorganické chemie, Hlavova 2030, 128 40 Praha
lamac@natur.cuni.cz

V našem výzkumu se zabýváme studiem ferrocenových fosfinů modifikovaných dalšími donorovými skupinami, zejména pak ferrocenovými fosfinkarboxylovými ligandy¹.

S cílem prozkoumat koordinační chování a potenciál v enantioselektivní katalýze byl v opticky čisté formě připraven

nový chirální ligand (R,R)-2-[1-(difenylfosfino)ethyl]ferrocenkarboxylová kyselina (**1**) a její amidy s achirálním i chirálními substituenty na atomu dusíku (**3**). Ligandy byly testovány v palladiem katalyzované asymetrické allylové alkylyci 1,3-difenylallyl-acetátu dimethyl-malonátem².

Spektrum ligandů testovaných v uvedené katalytické reakci bylo později rozšířeno o (S_p)-2-(difenylfosfino)ferrocenkarboxylovou kyselinu (**2**) a její nově připravené amidy (**4**) a také dva chirální amidy (**5**) odvozené od 1'-(difenylfosfino)-ferrocenkarboxylové kyseliny (Hdpf). Modifikaci podmínek reakce byla s ligandem **4** ($R = H$) dosažena hodnota *ee* až 90%. Mechanismus alkylační reakce s uvedeným ligandem byl konfrontován s údaji získanými NMR spektroskopii v roztoku a rentgenostrukturní analýzou připraveného modelového komplexu $[Pd(\eta^3-1,3-Ph_2C_3H_3)\{\{S_p\}-4-\kappa^2O,P\}ClO_4]$ (cit.³).



Tato práce vznikla za podpory Grantové agentury UK (č. grantu 318/2005/BCH/PřF) a je součástí projektů podporovaných MŠMT ČR (LC06070 a MSM0021620857).

LITERATURA

1. Štěpnička P.: Eur. J. Inorg. Chem. 2005, 3787.
2. Lamač M., Císařová I., Štěpnička P.: Eur. J. Inorg. Chem. 2007, 2274.
3. Lamač M., Tauchman, J., Císařová I., Štěpnička P.: Organometallics, v tisku.

IMUNOCHEMICKÁ DETEKCE ISOFLAVONOIDŮ V ŠIŠÁKU BAJKALSKÉM (*Scutellaria baicalensis*) A MATEŘIDOUŠCE VEJČITÉ (*Thymus pulegioides*)

PETRA LANKOVÁ^a, JELENA A. PROKUDINA^a, VÁCLAV ZELENÝ^b a OLDŘICH LAPČÍK^a

^aFakulta potravinářské a biochemické technologie, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6; ^bČeská zemědělská univerzita v Praze, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Kamýcká 129, 165 21 Praha 6

Isoflavonoidy (3-fenylchromony) jsou charakteristické sekundární metabolity bobovitých rostlin (Leguminosae), postupně ale narůstá evidence o jejich výskytu v řadě dalších taxonů¹.

V této studii jsme testovali dva zástupce čeledi Lamiaceae (hluchavkovité). Listy šišáku bajkalského (*Scutellaria baicalensis*) a mateřidoušky vejčité (*Thymus pulegioides*) byly lyofilizovány, rozemlety a extrahovány směsí methanol – voda 70 : 30. Extrakty byly frakcionovány semipreparativní HPLC na reverzní fázi a poté analyzovány ELISA metodami specifickými pro daidzein, genistein, biochanin A a jejich deriváty v polohách 7 a 4'. V obou rostlinách byly zaznamenány frakce, jejichž imunochemické charakteristiky a retenční časy odpovídaly standardům daidzinu, sissotrinu, daidzeinu, genisteinu, formononetinu, biochaninu A a prunetinu.

Práce vznikla za podpory projektů 525/06/0864 GAČR a MSM 6046137305.

LITERATURA

1. Macková Z., Koblovská R., Lapčík: Phytochemistry 67, 849 (2006).

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF METHYLTHIOSALICYLANILIDES

MILOŠ MACHÁČEK^a, LENKA KUBICOVÁ^a, PAVEL SKÁLA^a, MARTIN ŠUSTR^a, and VLADIMÍR BUCHTA^b

^aCharles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Heyrovského 1203, CZ-500 05 Hradec Králové; ^bDepartment of Clinical Microbiology, University Hospital Hradec Králové, Sokolská 581, CZ-500 05 Hradec Králové
buchtav@lfhk.cuni.cz; machacek@faf.cuni.cz

Antifungal activity of thiosalicylanilides has been known since mid 1960's (ref.¹). Only recently we reported their high *in vitro* activity against *Absidia corymbifera*, one of the organisms associated with human infection called zygomycosis^{2,3}.

In this paper antifungal activity of 3-, 4-, and 5-methylthiosalicylanilides is studied. Starting salicylanilides were converted into pyridinium-3-phenyl-2,4-dithio-3,4-dihydro-1,3,2λ⁵-benzoxazaphosphinine-2-thiolates by treatment with P₂S₅ in pyridine. Acidic hydrolysis afforded the required products⁴.

Minimum inhibitory concentrations (MICs) of compounds were determined by the broth microdilution method against *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *Trichosporon asahii*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Aspergillus fumigatus*, and *Absidia corymbifera*.

Methylthiosalicylanilides prepared displayed significant *in vitro* effect against *A. corymbifera*. The compounds were more active than amfotericin B (MIC = 4 μmol.dm⁻³), or at least comparatively active as this standard. The most effective compounds were found among 3-methylthiosalicylanilides (MIC = 0.25 μmol.dm⁻³ for 4'-methyl, 4'-ethyl, and 4'-isopropyl derivative) and 4-methylthiosalicylanilides (MIC = 0.25 μmol.dm⁻³ for 4'-chloro derivative). Substitution in the

anilide moiety of 5-methylthiosalicylanilide did not result in any improvement of antifungal activity. High activity was found also against *T. mentagrophytes*.

This work was supported by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (MSM 0021620822).

REFERENCES

1. Weuffen W., Wagner G., Singer D., Petermann M.: *Pharmazie* 21, 613 (1966).
2. Šustr M., Macháček M., Kubicová L., Kubanová P.: *Chem. Listy* 95, 760 (2001).
3. Kubicová L., Pravda M., Macháček M., Buchta V.: *Chem. Listy* 100, 1027 (2006).
4. Kubicová L. et al.: CZ, 297581 (2006).

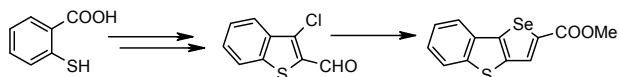
PŘÍPRAVA SELENOLO[3,2-*b*]BENZOTHIOFENU A REAKTIVITA JEHO DERIVÁTŮ

ALEŠ MACHARA^a a JIŘÍ SVOBODA^a

^a*Ústav organické chemie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 16628 Praha 6 ales.machara@vscht.cz*

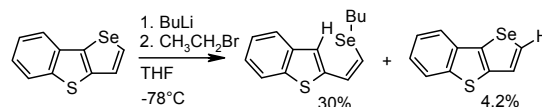
Organoselenová chemie se rychle rozvíjí především v oblasti selenosacharidů, selenoaminokyselin a selenopeptidů. Chalkogenofeny (thiofen a selenofen) dále ve strukturách organických polovodičů získaly výraznou pozornost pro jejich použití jako aktivní vrstvy v různých optoelektronických a elektronických zařízeních jako OLED či OFET (organic field effect transistors). Chemie a vlastnosti selenofenu je blízká thiofenu, v mnoha aplikacích jej však převyšuje a má tak větší potenciál využití. V naší pracovní skupině se systematicky zabýváme syntézou, reaktivitou a materiálovými aplikacemi kondenzovaných heterocyklů na bázi furanu, indolu a thiofenu.

Vypracovali jsme spolehlivou metodu syntézy derivátů selenolo[3,2-*b*]benzothiofenu využitím obecné Fiesselmannovy metody¹ výstavby kruhů. Výchozí látkou byla kyselina thiosalicyllová. Klíčový krok přípravy, zabudování atomu selenu a uzavření selenofenového kruhu, dosahuje výtěžku 94 % a přitom nedochází k nežádoucímu vzniku nepříjemně vonících látek. Optimalizovaný postup je vhodný i pro multigramové množství (50 g a více).



Jak známo, topologie kondenzovaných systémů podstatně ovlivňuje jejich stabilitu a reaktivitu. Stejně tak i záměna atomu síry za atom selenu. Zjistili jsme, že deriváty 2-vinyl-selenofenů při reakci s dimethyl-acetylendikarboxylátem poskytují produkty s dosud neznámým selenalenovým systémem. K jeho vzniku dochází složitým mechanismem, kterého se účastní volné elektronové páry chalkogenu; více polarizovatelný selen jej významně usnadňuje.

Při studiu metalačních reakcích tituliného heterocyklu jsme navzdory publikovaným pracem² pozorovali proces otevření selenofenového kruhu. Tuto heterofilní reakci jsme blíže prozkoumali a v příspěvku bude diskutován vliv podmínek a způsob, jak ji v syntézách vyloučit.



Práce byla podporována grantem MŠMT (projekt č. MSM 604613701) a GA ČR (projekt č. 202/05/0431).

LITERATURA

1. Patai S., Rappoport Z.: *The Chemistry of Organic Selenium and Tellurium Compounds*, Volume 1 (1986).
2. Iteke F. B., Christiaens L., Renson M.: *Tetrahedron* 32, 689 (1976).

NUKLEOFILNÍ ADICE DUSÍKATÝCH HETEROCYKLŮ NA SKELET KVARTÉRNÍCH PROTOBERBERINOVÝCH ALKALOIDŮ

LUKÁŠ MAIER^a, LENKA GRÝCOVÁ^a a RADEK MAREK^a

^a*Národní centrum pro výzkum biomolekul, Masarykova Univerzita Brno, Kamenice 5/A4, 625 00 Brno 150516@mail.muni.cz*

Kvartérní protoberberinové alkaloidy (KPA) patří do velmi početné skupiny isochinolinových alkaloidů. Vyskytují se v rostlinách čeledi *Papaveraceae*, *Berberidaceae*, *Ranunculaceae* a *Fumariaceae*¹. Významnými zdroji těchto alkaloidů jsou rostliny *Berberis vulgaris* L. (dříšťál obecný) a *Chelidonium majus* L. (vlastovičník větší).

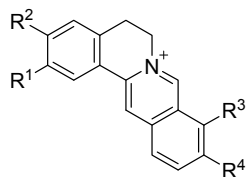
Kvartérní protoberberinové alkaloidy jsou sekundárními metabolity aminokyseliny L-tyrosinu. Vykazují významné biologické účinky např. protibakteriální, protizánětlivé a protivirové². Z těchto důvodů se velmi důležitou oblastí studia biologické aktivity stalo objasnění interakcí alkaloidů s biomolekulami zejména s nukleotidy a nukleovými kyselinami³.

Základní strukturu KPA tvoří kationt 5,6-dihydrodibenzo[*a,g*]chinolizinium, který je v rostlinách asociován s aniontem organické kyseliny (chelidonová, fumarová). Kvartérní kationt je v různých pozicích substituován nejčastěji methoxy nebo methyldioxy skupinou. Hlavními zástupci jsou alkaloidy berberin **I**, palmatin **II** a koptisin **III** (cit.¹).

Chemické vlastnosti a reaktivita alkaloidů jsou ovlivněny přítomností iminiové vazby C=N⁺. Vlivem rozložení elektronové hustoty může být atom uhlíku snadno atakován nukleofilní částicí, za vzniku substituovaných derivátů alkaloidů.

Práce se zabývá nukleofilní adicí modelových reagentů obsahujících NH vazbu (pyrrol, pyrazol, indol, karbazol aj.) na vybrané alkaloidy. Diskutována je především struktura

připravených derivátů s využitím metod NMR, MS a RTG difrakční analýzy.



I: $R^1 = R^2 = \text{OCH}_2\text{O}$, $R^3 = R^4 = \text{OCH}_3$

II: $R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = \text{OCH}_3$

III: $R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = \text{OCH}_2\text{O}$

Studium nukleofilní adice a strukturní charakterizace připravených derivátů může přinést nové poznatky nutné k pochopení významné biologické aktivity alkaloidů.

Tato práce byla podpořena granty MŠMT (MSM0021622413 a LC06030).

LITERATURA

1. Grycová L., Dostál J., Marek R.: *Phytochemistry* 68, 150 (2007).
2. Colombo M. L., Bosisio E.: *Pharmacol. Res.* 33, 127 (1996).
3. Maiti M., Kumar G. S.: *Med. Res. Rev.* 27, 649 (2007).

HYDROFORMYLAČNÍ A ALDOLIZAČNÍ REAKCE JAKO TANDEMOVÉ REAKCE, SYNTÉZA CHIRÁLNÍCH BIFOSFITOVÝCH LIGANDŮ

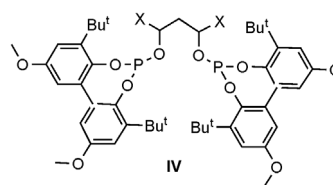
ALEŠ MAREK^a, SERGHEI CHERCHEJA^b
a PETER EILBRACHT^b

^aKatedra organické chemie, FCHT, Univerzita Pardubice, nám. Čs. Legií 565, Pardubice, 53210; ^bUniversität Dortmund, Fachbereich Chemie, Lehrstuhl für Organische Chemie I, Otto-Hahn-Str. 6, D-44221 Dortmund, Deutschland chercheja_s@yahoo.co.uk; ales.marek@centrum.cz

Opticky aktivní aldehydy jsou velmi významné prekurzory nejen pro rozmanité farmaceutické¹, agrochemické, biologicky aktivní sloučeniny, ale také pro nové materiály jako biodegradabilní polymery a tekuté krystaly.

Existuje rozsáhlá snaha po vyvinutí nových ligandů^{2,3}. Rozmanité chirální ligandy jsou užívány v kombinaci s přechodnými kovy, především Pt(II) a Rh(I). Byl syntetizován a charakterizován nový bifosfitový ligand strukturně podobný (*R,R*)-Chiraphitu.

Vliv různých bifosfitových ligandů (Biphephos, (*R,R*)-Chiraphit, dva Fehrlingovy ligandy, nového ligandu) na regio- a stereoselektivní průběh hydroformylačních reakcí katalyzovaných pomocí Rh(acac)(CO)₂ byl testován na 1-oktenu nebo styrenu.



X = CH₃ (*R,R*) Chiraphite
X = H NEW ligand

Tandemové reakce byly prováděny v přítomnosti připraveného (*2R,4R*)-Chiraphitu a Rh(acac)(CO)₂, následná aldolizační reakce s acetonem (zároveň jako rozpouštědlo) byla katalyzována pomocí opticky čisté α -aminokyseliny (L-prolin).

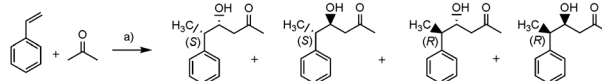


Schéma 2. a) a) 0,3-2 mol% fosfit ligand; 0,25-0,5 mol% Rh(acac)(CO)₂, 20/20 H₂/CO, 3 dny, 40 °C, aceton, L-prolin

Autoři děkují Ministerstvu školství, mládeže a tělovýchovy ČR za finanční podporu projektu MSM 0021627501.

LITERATURA

1. Rieu J. P., Bouchelere A., Cousse H., Mouzin G.: *Tetrahedron* 42, 4095 (1986).
2. Nozaki K., Sakai N., Nanno T., Higashijima T., Nano S., Takaya H.: *J. Am. Chem. Soc.* 119, 4413 (1997).
3. van Leeuwen P. W. N. M., Buisman G. J. H., Vos E. J., Kramer P. C. J.: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* 1995, 409.

DETERGENTY NA BÁZI KVARTERNIZOVANÝCH DUSÍKATÝCH HETEROCYKLŮ – JEJICH PŘÍPRAVA, ANALÝZA A BIOLOGICKÁ AKTIVITA

JAN MAREK^{a,c}, KAMIL MUSÍLEK^a, PETR ŠTODŮLKA^b, DANIEL JUN^b, and KAMIL KUČA^{a,b}

^aKatedra toxikologie, ^bCentrum pokročilých studií, Fakulta vojenského zdravotnictví, Univerzita Obrany, Hradec Králové, ^cVakos XT, Praha marekjanmgr@seznam.cz

Detergenty na bázi kvarternizovaných dusíkatých heterocyklů našly uplatnění jako desinficiencia či micelární katalyzátory. V naší práci jsme se zabývali syntézou tří homologických řad (pyridinu, chinolinu a isochinolinu) lišící se délkou alkylačního řetězce. Počet uhlíků v postraním řetězci se pohyboval od C₈ do C₂₀. K identifikaci připravených látek jsme vyvinuli metodiku TLC a HPLC. Dále jsme naměřili pomocí spektrálních metod kritické micelární koncentrace všech syntetizovaných látek. Rovněž jsme testovali schopnost připravených substancí inhibovat krysí mozkovou cholinesterázu. Jelikož jsou látky strukturně podobné široce

užívaným benzalkoniím, budeme v budoucnu zjišťovat i jejich antimikrobiální aktivity.

Práce byla podporována projektem Ministerstva obrany České republiky FVZ 0000501

LITERATURA

1. Kuca K., Kivala M., Dohnal V.: J. Appl. Biomed. 2, 195 (2004).
2. Kuca K., Dohnal V., Bielavska M., Cabal J.: Anal. Lett. 38, 673 (2005).

OPTIMALIZACE SYNTÉZY PRALIDOXIMU

**JAN MAREK^{a,c}, KAMIL KUČA^{a,b}, DANIEL JUN^b,
PETR STODŮLKA^b a BOHUSLAV DOLEŽAL^c**

^aKatedra toxikologie, ^bCentrum pokročilých studií, Fakulta vojenského zdravotnictví, Hradec Králové, ^cVakos XT, Praha
marekjanmgr@seznam.cz

Pralidoxim (2-PAM, 2-hydroxyiminomethyl-1-methylpyridinium jodid) se již řadu let užívá jako antidotum nervově paralytických látek či organofosforových pesticidů. V této práci jsme se zabývali optimalizací podmínek přípravy pralidoximu (Schéma 1). Syntéza byla provedena v sedmi různých rozpouštědlech. Dále byly měněny poměry reagujících složek. Cílem bylo maximalizovat výtěžek reakce, stejně tak jako čistotu získaného produktu. Byl také sledován nárůst procentuelního výtěžku s rostoucí navázkou výchozí látky. Jako nejvhodnější rozpouštědlo pro přípravu pralidoximu se jevil acetonitril. Ve vyšších navázkách se rovněž osvědčil aceton, který se svým výtěžkem nejvíce blížil acetonitrilu. Kontrola identity byla prováděna měřením bodu tání a za pomoci TLC, NMR a HPLC. Po těchto analýzách byla provedena iontovýměnná chromatografie a bylo připraveno sedm různých solí pralidoximu, u kterých byla změněna rozpustnost.

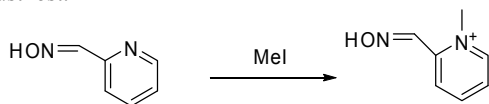


Schéma 1. Příprava pralidoximu

Tato práce vznikla za podpory ministerstva průmyslu a obchodu projekt č. FI-IMZ/104.

LITERATURA

1. Kuča K., Bielavský J., Cabal J., Bielavská M.: Tetrahedron Lett. 44, 3123 (2003).
2. Musílek K., Lipka L., Račáková V., Kuča K., Jun D., Dohnal V., Doležal M.: Chem. Pap. 60, 48 (2006).

STEREOSPECIFIC ROUTE TO KEY MIVACURIUM PRECURSOR

**VÁCLAV MATOUŠEK^a, PETR KAČER^a,
MAREK KUZMA^b, and LIBOR ČERVENÝ^c**

^aDepartment of Organic Technology, ICT Prague Technicka 5, 166 28 Prague 6; ^bLaboratory of Molecular Structure Characterization, Institute of Microbiology AS CR, Videnska 1083, 142 20 Prague 4
kuzma@biomed.cas.cz; vaclav.matousek@vscht.cz

Mivacurium is a bisbenzylisoquinolinium based neuromuscular blocker used in medicine as a muscle relaxant.

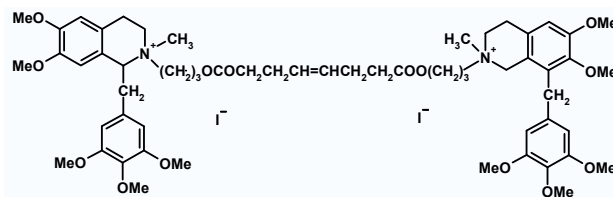


Figure. Mivacurium - neuromuscular blocker

The total synthesis of Mivacurium comprises several steps. The crucial one is preparation of (*R*)-(+)-1,2,3,4-tetrahydro-6,7-dimethoxy-2-methyl-1-(3,4,5-trimethoxybenzyl)isoquinoline as a key intermediate. One attractive method for preparation of mentioned compound is asymmetric hydrogenation over TsDPEN-Ru(II) complex (TsDPEN = *N*-(*p*-toluenesulfonyl)-1,2-diphenylethylenediamine) under transfer hydrogenation conditions. A mixture of formic acid/triethylamine (2.5 HCOOH/TEA molar ratio) is employed as hydrogen donor. In this work main interest was focused on the study of the reaction pathway of HCOOH/base mediated transfer hydrogenation and especially on a mechanism involved in the hydride transfer where direct *in situ* NMR experiments with deuterated formic acid were arranged. Furthermore the attempts for Ru(II)-homogeneous ruthenium catalyst heterogenization are reported - covalent grafting with 3-aminopropyl-triethoxysilane onto molecular sieve MCM-41 as well as immobilisation through ligand modification. All heterogenized catalysts were characterized by low leaching of Ru(II)-complex in the first reaction cycle, almost equal enantioselectivity (compared to homogeneous catalyst) and activity. Such enantioselective procedures were compared with racemate preparation followed by enantioseparation and racemization steps. Technological aspects are also discussed.

The authors wish to acknowledge the Grant Agency of the Czech Republic (Grant 104/06/0684) and Ministry of Education of the Czech Republic (Grant No. CEZ:MSM 604 613 7301).

PŘÍPRAVA *N*-SUBSTITUOVANÝCH ALLOXANŮ A JEJICH VYUŽITÍ PŘI PŘÍPRAVĚ FLAVINŮ

VIKTOR MOJR, BAPTISTE PLANCO, SERKAN SAYIN a RADEK CIBULKA

*Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 b28 Praha 6
mojrv@vscht.cz; cibulka@vscht.cz.*

Lipofilní deriváty flavinů představují potenciální oxidační činidla pro reakce v organizovaných prostředích¹ (micely, vesikly apod.). Vhodným postupem pro syntézu flavinů s lipofilní skupinou v poloze 3- (isoalloxazinů **1** i alloxazinů **2**) by mohla být kondenzace *N*-alkylalloxanů s příslušným benzen-1,2-diaminem (Schéma 1). V literatuře je běžně používán *N*-methylalloxan, který je připravován oxidací theobrominu². Doposud však nebyla publikována obecná metoda pro přípravu monosubstituovaných alloxanů.

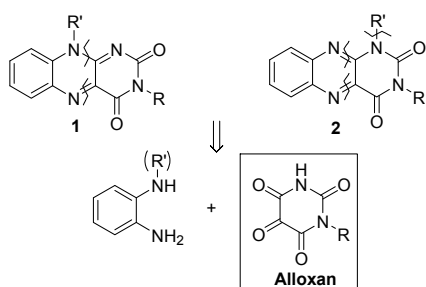


Schéma 1.

Navrhli jsme přípravu *N*-substituovaných alloxanů založenou na oxidaci příslušných *N*-substituovaných barbiturových kyselin s využitím PDC a PCC. Tento postup je využitelný jak pro *N*-alkyl-, tak pro *N*-arylalloxany, které umožňují přípravu jinak obtížně dostupných 3-arylflavinů.

Autoři děkují Grantové agentuře České republiky (projekt č. 203/07/1246) a Ministerstvu školství, mládeže a tělovýchovy (projekt č. 1K04105) za finanční podporu.

LITERATURA

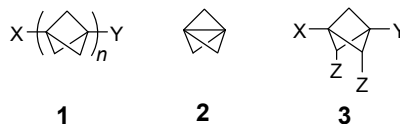
1. Baxová L., Cibulka R., Hampl F.: J. Mol. Catal. A, v tisku.
2. Li W-S., Zhang N., Sayre L. M.: Tetrahedron 57, 4507 (2001).

POKROKY V SYNTÉZE TYČINKOVITÝCH MOLEKUL ODVOZENÝCH OD BICYKLO[1.1.1]PENTANU

ANDREJ JANČAŘÍK, PETR BARTOŠ, KLÁRA KOPŘIVOVÁ a CTIBOR MAZAL

*^aÚstav chemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Kotlářská 2, 611 37 Brno
mazal@chemi.muni.cz*

Vnitřně napnutá klicka bicyklo[1.1.1]pentanové (BCP) struktury (**1**) přitahuje stále chemiky syntetiky svými unikátními geometrickými a strukturálními rysy. Využití BCP motivu v syntéze tyčinkovitých molekul, které by našly uplatnění při konstrukci složitějších “obřích” molekul nebo supramolekulárních celků, je nasnadě. Zvláště pak při existenci oligomerů tricyklo[1.1.1.0^{1,3}]pentanu (**2**), jinak označovaných jako [*n*]staffany, spojujících *n* BCP jednotek v pozicích 1 a 3. Pro tyto účely je však třeba dostatečná zásoba různorodých derivátů BCP lišících se jednak v délce, počtu BCP jednotek, a také v koncových, případně laterálních substituentech (**3**).



Syntézy koncově substituovaných bicyklo[1.1.1]pentanů a staffanů vycházejí z relativně snadno dostupného¹ propellanu **2**, na jehož „vnitřní“ vazbu lze adovat radikálová nebo organokovová činidla². Hlavním zdrojem [*n*]staffanů je pak oligomerace probíhající u některých radikálových reakcí. Lze také využít homocoupling bicyklo[1.1.1]pentan-1-yl organokovových sloučenin³. Přestože BCP klicka je relativně stabilní, je třeba mít při její funkcionalizaci stále na paměti její sterické vlastnosti a vysoké vnitřní pnutí, které může i u jinak běžných reakcí vyústit v nežádoucí přesmyky.

Byly syntetizovány BCP deriváty s koncovými skupinami vhodnými pro přípravu koordinačních polymerů a také pro snadné využití BCP jednotek jako stavebních modulů větších kovalentních struktur. Využití heterocyklů k propojení BCP jednotek vede k novému typu molekulárních tyčinek s alternujícími σ a π segmenty. Pro supramolekulární aplikace jsou studovány komplexace BCP derivátů s cyklodextriny a cucurbiturily.

Grantové projekty č. 203/05/0961, Grantová agentura AV ČR, a MSM0021622410, Ministerstvo školství, mládeže a tělovýchovy.

LITERATURA

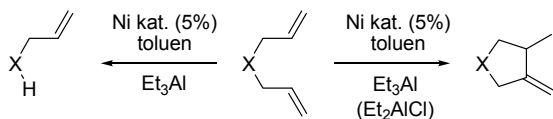
1. Lynch K. M., Dailey W. P.: Org. Synth. 75, 98 (1997).
2. Levin M. D., Kaszynski P., Michl J.: Chem. Rev. 100, 169 (2000).
3. Mazal C., Paraskos J., Michl J.: J. Org. Chem. 63, 2116 (1998). Rehm J. D. D., Ziemer B., Szeimies G.: Eur. J. Org. Chem. 1999, 2079.

ŠTĚPENÍ C-C VAZBY V CYKLOALKENECH

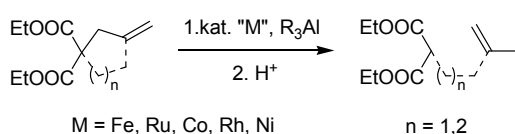
DAVID NEČAS^a a MARTIN KOTORA^{a,b}

*^aKatedra organické a jaderné chemie, PŘF UK v Praze, Havova 8, 128 43 Praha 2; ^bÚstav organické chemie a biochemie, AV ČR, Flemingovo 2, 166 10 Praha 6
david.necas@seznam.cz; kotora@natur.cuni.cz*

V dnešní době je tvorba a štěpení C-C vazeb pomocí katalytických systémů na bázi komplexů přechodných kovů intenzivně studovanou oblastí v oboru organických syntéz¹. V předchozích letech jsme publikovali jednoduchý katalytický systém založený na fosfinových komplexech niklu a organických sloučeninách hliníku (Et₃Al, Et₂AlCl) umožňující jak štěpení^{2,3} tak tvorbu⁴ C-C vazeb.



V další části projektu jsme se zaměřili na možnost štěpení C-C vazby v pěti- a šesti-členných kruzích, obsahujících v molekulách nezbytný allylový strukturální motiv, jehož výsledkem je molekulární přesmyk. Budou diskutovány mechanistické a strukturální aspekty této reakce stejně jako vztah k tvorbě C-C vazeb (cyklizaci).



Tato práce vznikla za podpory Centra základního výzkumu MŠMT (projekt č. LC 06070, Struktura a syntetické aplikace komplexů přechodných kovů).

LITERATURA

- Gossage R.A., van Koten G.: Top. Organomet. Chem. 3, 1 (1999).
- Nečas D., Turský M., Kotora M.: J. Am. Chem. Soc. 126, 10222 (2004).
- Turský M., Nečas D., Drabina P., Sedlák M., Kotora M.: Organometallics 25, 901 (2006).
- Nečas D., Turský M., Kotora M.: New. J. Chem. 30, 671 (2006).

SYNTÉZA SPIROANELOVANÝCH OLIGOPYRROLOVÝCH MACROCYKLŮ ODVOZENÝCH OD LITHOCHOLOVÉ KYSELINY

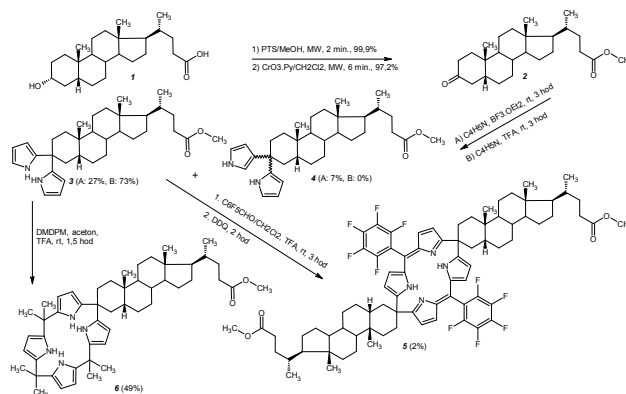
NGUYEN THI THU HUONG^a, PETRA KLÍMKOVÁ^a, a PAVEL DRAŠAR^b

^aKatedra chemie, PŘF UJEP v Ústí nad Labem, České mládeže 8, 400 96 Ústí nad Labem; ^bVysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6 Pavel.Drasar@vscht.cz; nguyen@sci.ujep.cz

U systémů tetrapyrrolového makrocyklu se spiroanelovaným steroidním substituentem lze očekávat nové a velmi cenné vlastnosti, např. komplexotvorné, případně schopnost selektivní molekulární interakce, zajímavou fluorescenční aktivitu a schopnost podílet se na elektronové výměně v

excitovaných tripletových stavech. Tyto molekuly se mohou využít jako selektivní molekulární receptor pro organické i anorganické sloučeniny, dále např. v oblastech molekulového rozpoznání, ve výstavbě iontových kanálů pro přenos iontů a nebo ve fotodynamické terapii (PDT). Příbuzný konjugát steroidu s porfyrinem je také mj. používán na komplexaci sacharidů v protickém prostředí¹.

Práce předkládá syntézu spiroanelovaného tetrapyrrolového derivátu lithocholové kyseliny v několika krocích. Studium vlastností konečného produktu bude předmětem další práce. Cílem další práce bude mj. také studium stereochemie spiroanelovaných makrocyklů.



Práce na projektu byla financována grantem GA ČR 203/06/0006 a projektem MSM 6046137305.

LITERATURA

- Dukh M., Šaman D., Lang K., Pouzar V., Černý I., Drašar P., Král V.: Org. Biomol. Chem. 1, 3458 (2003).

SYNTÉZA MODIFIKOVANÝCH BUTENOLIDŮ

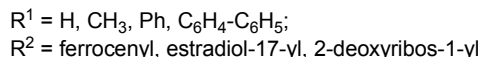
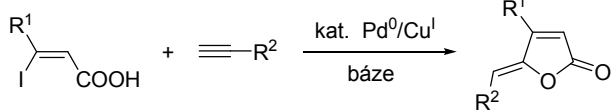
PETR NOVÁK^a a MARTIN KOTORA^{a,b}

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

γ -Alkylidenbutenolidy se obecně vyznačují zajímavými biologickými vlastnostmi^{1,2}, mezi které patří baktericidní a insekticidní chování. Proto jednou ze snah organické syntézy je zlepšení jejich vlastností pomocí připojení různých molekulových fragmentů.

Jedna z metod syntézy γ -alkylidenbutenolidů je založena na tandemové reakci, která začíná Sonogashirovým couplingem mezi β -iodpropenovou kyselinou a terminálním alkyne a pokračuje intramolekulární laktonizací³ (schéma 1). Tímto způsobem byla připravena sada γ -alkylidenbutenolidů, které ve své molekule obsahovaly α - a β -deoxyribosid, ferrocen nebo estradiol. Efekt reakčních podmínek na regioselektivitu laktonizace (tvorba 5- vs 6-ti členného kruhu) a také biologická aktivita připravených sloučenin bude předmětem diskuze.

Schéma 1.



Tento projekt byl podpořen grantem IM0508 MŠMT ČR (Centrum pro nová virostatika a antineoplastika).

LITERATURA

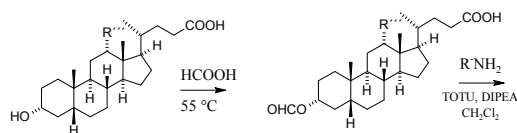
1. Rao Y. S.: Chem. Rev.: 76, 625 (1976).
2. Brückner R.: Curr. Org. Chem 5, 679 (2001).
3. Negishi E., Kotora M.: Tetrahedron 53, 6707 (1997).

AMIDY ŽLUČOVÝCH KYSELIN VYTVOŘENÉ Z RŮZNÝCH AMINŮ

ZDENA NOVÁKOVÁ, BEATA JONŠTOVÁ
a **PAVEL DRAŠAR**

Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5,
166 28 Praha 6

zdena.novakova@vscht.cz

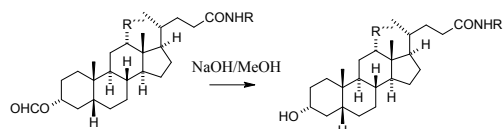


1a) R''=OH

1b) R''=H

2a) R''=OCHO

2b) R''=H

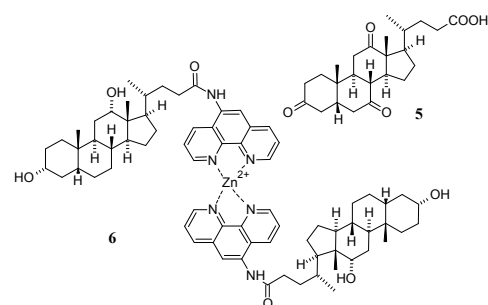


3a) R''=OCHO

3b) R''=H

4a) R''=OH

4b) R''=H



Žlučové kyseliny jsou konečným produktem metabolismu cholesterolu v játrech. V přírodě nejrozšířenější žlučové

kyseliny jsou deriváty kyseliny cholové nebo cholan-24-ové kyseliny. Hlavním znakem jejich struktury je steroid s 5 β anelací a nejméně jednou α orientovanou hydroxyskupinou.

Byla zveřejněna schopnost některých žlučových kyselin, substituovaných aromatickými donory na pozici 3, vytvářet gel z určitých organických rozpouštědel^{1,2}.

Cílem naší práce je syntéza amidů žlučových kyselin a jejich následné testování na potenciální gelační schopnosti. Příprava vychází z publikované literatury¹, postupně byla optimalizována a zjednodušena především díky využití činidla pro peptidovou syntézu, tzv. TOTU (*O*-[(ethoxykarbonyl)kvanomethylenamino]-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium tetrafluoroborát).

Reakce vychází z kyseliny lithocholové **1b**, deoxycholové **1a**, zavedením chránicích skupin na volné hydroxyly (**2a**, **2b**), následnou reakcí s aminem (**3a**, **3b**) a končí odstraněním formiatových skupin ze steroidního řetězce za vzniku amidů **4a**, **4b**. Reakce byly prováděny i s kyselinou dehydrocholovou **5**. Některé amidy byly komplexovány s kovy **6**.

Příklady používaných aminů: 5-amino-1,10-fenanthrolin, anilin, oktadecylamin, 5-aminofenanthren, 1-(2-aminofenyl)pyrol.

Dále jsme zkoumali možnosti redukce amidové vazby³ pomocí různých činidel (LiAlH₄, [(CH₃OCH₂CH₂O)₂AlH₂]Na, BH₃).

Práce byla podporována projekty MŠMT MSM6046137305, IP04OCD31.001, NVP-II Suprafyt a GA ČR 203/06/0006.

LITERATURA

1. Dukh M., Šaman D., Kroulík J., Černý I., Pouzar V., Král V., Drašar P.: Tetrahedron 59, 4069 (2003).
2. Virtanen E., Kolehmainen E.: Eur. J. Org. Chem. 16, 3385, (2004).
3. Pistia G.: Carb. Res. 328, 467 (2000).

DERIVÁTY DIKARBOXYLOVÝCH KYSELIN JAKO AKCELERANTY TRANSDERMÁLNÍ PERMEACE: VLIV STRUKTURY NA PERMEAČNÍ ÚČINEK

MICHAL NOVOTNÝ^a, KATEŘINA VÁVROVÁ^a
a **ALEXANDR HRABÁLEK^a**

^a UK 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. Jen omezené množství léčiv je schopno projít přes kůži v dostatečném množství k dosažení terapeutické koncentrace. Příčinou je velmi málo propustná kožní bariéra, lokalizovaná ve stratum corneum. Jedna z možností překonání této bariéry je použití akceleračních transdermálních penetračních činidel. Předpokládá se, že molekula akceleračního činidla musí být strukturálně podobná ceramidům.

Cílem práce byla syntéza a studium akceleračních aktivit série derivátů dikarboxylových kyselin. Tyto struktury byly zvoleny na základě předchozí práce, v níž byly studovány syntetické analogy ceramidů¹. Jako základ jsme v této studii navrhli zjednodušené struktury – estery dikarboxylových kyselin – kyseliny maleinové, fumarové, jantarové, L-vinné a mesovinné. Syntetizovali jsme 15 látek s cílem ověřit vliv prostorového uspořádání akceleraantu na jeho účinek. Připravili jsme didodecylestery, monododecylestery a dodecyl(methyl) estery příslušných kyselin. U hydroxykyselin jsme dále syntetizovali jejich cyklické deriváty – acetonidy a karbonáty.

U připravených sloučenin jsme studovali jejich schopnost urychlit vstup modelového léčiva theofylinu přes prasečí kůži plně tloušťky. Experimenty byly prováděny *in vitro* pomocí Franzovy difúzní cely z prostředí tří vehikul různé polaritě - vody, 60% propylenglykolu a isopropylmyristátu.

Ze získaných akceleračních poměrů jsme odvodili následující vztahy mezi strukturou látek a jejich účinností. Látky s dvojnou vazbou jsou účinnějšími akceleraanty než látky s vazbou jednoduchou. *cis*-Deriváty v porovnání s látkami s *trans*-isomerií na dvojně vazbě vykazují vyšší akcelerační aktivity. Největších změn v akcelerační účinnosti jsme zaznamenali při změně struktury z diesteru na monoester. Odstranění jednoho hydrofobního řetězce v molekule statisticky významně zvyšuje akcelerační účinnost. Co se týče vlivu prostorového uspořádání u derivátů kyseliny L-vinné a mesovinné, jejich aktivity jsou ve studovaných prostředích různé. Z toho lze tedy spíše usuzovat na rozdílnou interakci ve vehikulu, než při vlastním mechanismu účinku ve stratum corneum.

Práce vznikla s podporou grantu GAUK 79607/2007/B-CH/FaF a grantu ministerstva školství MSM 0021620822.

LITERATURA

- Vávrová K., Hrabálek A., Doležal P., Šámalová L., Palát K., Zbytovská I., Holas T., Klimentová J.: *Bioorg. Med. Chem.* 11, 5381 (2003).

NUKLEOFILNÍ SUBSTITUCE NA PENTAFLUORBIFENYLU: MODEL PRO SUPRAMOLEKULÁRNÍ CHEMII

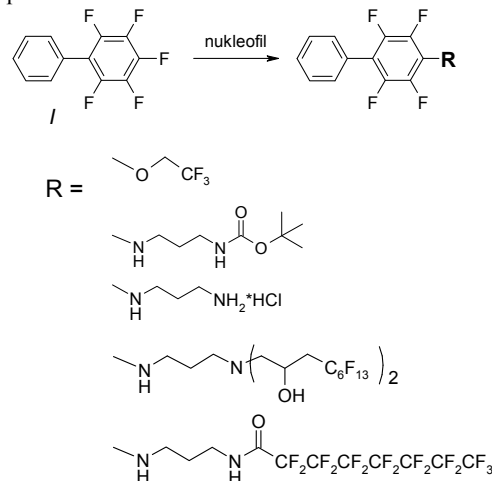
MICHAL BENEŠ^a, JAROSLAV KVÍČALA^a, VLADIMÍR KRÁL^b a OLDŘICH PALETA^a

^aÚstav organické chemie; ^bÚstav analytické chemie, VŠCHT Praha, Technická 5, 16628 Praha 6
jaroslav.kvicala@vscht.cz, oldrich.paleta@vscht.cz;
vladimir.kral@vscht.cz

V supramolekulární chemii lze použít pentafluorfenylové skupiny (C₆F₅) jako reaktivní substituenty, resp. můstky k rozšíření struktury a rovněž k modifikaci biofyzikálních vlastností systému, např. v chemii porfyrinových derivátů¹. Pentafluorfenylované supramolekulární sloučeniny jsou velmi nákladné, a proto bylo naším záměrem nalézt vhodnou

modelovou sloučeninu pro základní výzkum reakcí, které by pak byly aplikovatelné na porfyrinovém skeletu.

Vhodnou sloučeninou k tomuto účelu se ukázal 2,3,4,5,6-pentafluorbifenyl (**I**), v němž porfyrinový skelet modeluje benzenový cyklus. Nukleofilní substitucí se podařilo připravit řadu derivátů. Některé z reakcí byly aplikovány na *meso*-5,10,15,20-tetrakis(pentafluorfenyl)porfyrin. Výpočty energetického profilu substituce fluoru ukazují, že reakce může být jednostupňová.



Za podporu výzkumu děkujeme VŠCHT Praha a Ministerstvu školství ČR (projekt MSM 6046137302).

LITERATURA

- Even S., Smith J.R.: *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* 2000, 1993.

(1→3)-C-GLUKOSYLGLUKAL, NOVÝ SYNTON PRO PŘÍPRAVU C-ANALOGU OLIGOSACHARIDŮ

KAMIL PARKAN a LADISLAV KNIEŽO

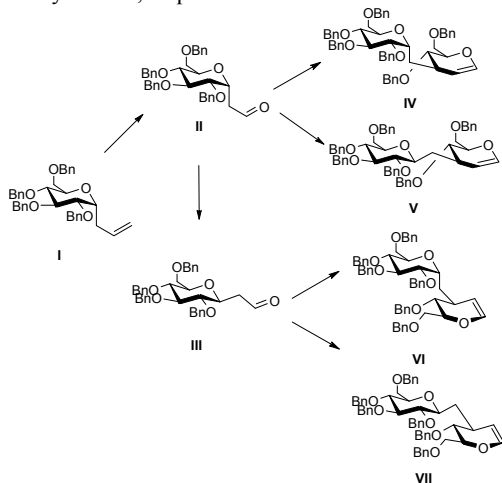
Ústav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28, Praha 6; e-mail: parkank@vscht.cz

V posledních letech je věnováno velké úsilí nalezení nových syntetických cest směřujících k C-disacharidům, analogům přírodních disacharidů¹, vyskytujících se v oligomerních epitopech různých antigenů. Dalším potenciálem je jejich inhibice glykosidas a glykosyltransferas. Spojení dvou monosacharidů přes methylenový můstek, kterým se C-disacharady liší od přírodních disacharidů, způsobuje jejich rezistenci jak ke kyselému, tak i enzymatickému hydrolyze.

Námi navrženou syntézou je možné připravit ze snadno dostupného α -glukopyranosylpropenu **I** s vysokou stereoselektivitou až čtyři diastereomerní (1→3)-C-disacharidy, ve kterých je příslušný α -glukopyranosylový nebo β -glu-

kopyranosylový zbytek vázán přes methylenový můstek s glukalem v D- nebo L-konfiguraci.

Výchozí α -glukopyranosylpropan **I** byl ozonolýzou snadno transformován na chráněný α -glykopyranosylacetaldehyd **II**, který jednoduchou epimerizací poskytl β -glykopyranosylacetaldehyd **III**. Z obou aldehydů **II** a **III** byly po Wittigově reakci a následně stereoselektivní cykloadiční reakci² získány čisté stereoisomery substituovaného dihydropyranu, které ve dvou dalších krocích poskytly čisté C-disacharidy **IV** a **V**, resp. **VI** a **VII**.



Práce byla provedena v rámci řešení výzkumného záměru MŠMT č. 6046137305.

LITERATURA

1. Dondoni A., Marra A.: Chem. Rev. 104, 2557 (2004).
2. Vích O., Kniežo L., Dvořáková H., Raich I., Valenta Š.: Collect. Czech. Chem. Commun. 70, 2086 (2005).

CHEMICAL COMPOSITION OF THE FRONTAL GLAND SECRETION OF TERMITE *Prorhinotermes* GENUS

RAFAL PISKORSKI, ROBERT HANUS, JAN ŠOBOTNÍK, BLANKA KALINOVÁ, and IRENA VALTEROVÁ

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

Secretion of soldier frontal gland, which is known to be the source of defensive compounds, in three *Prorhinotermes* species (*P. simplex*, *P. canalifrons*, and *P. inopinatus*) consists of nitroalkenes and sesquiterpene hydrocarbons¹, with (*E*)-1-nitropentadec-1-ene being the major component (means between 150 and 290 $\mu\text{g}/\text{indiv.}$). The sesquiterpene composition is species-specific: *P. simplex* contains (3*Z*,6*E*)- α -farnesene (mean of 39 $\mu\text{g}/\text{indiv.}$), while *P. canalifrons* and *P. inopinatus* contains the same compound (0.5 and 1.5 $\mu\text{g}/\text{indiv.}$, resp.) and

well as the (3*E*,6*E*) isomer (1.8 and 0.7 $\mu\text{g}/\text{indiv.}$, resp.). Two other sesquiterpenes, *trans*- β -bergamotene and (*Z*)- γ -bisabolene, were also found in *P. canalifrons*.

Our study with *P. simplex* and *P. canalifrons* shows that nitroalkenes and sesquiterpenes are also present in the frontal gland of imagoes during swarming. Analysis by gas chromatography – mass spectrometry (GC-MS) has shown that the same (*E*)-1-nitropentadec-1-ene is the major component of the secretion (though with means of only 3.6 and 2.5 $\mu\text{g}/\text{indiv.}$ for male and female, resp.), with smaller amounts of (*E*)-1-nitroheptadec-1-ene and a mixture of ca 20 sesquiterpenes.

The composition of the sesquiterpene mixture is stable between individuals within weeks of a single swarming (and not sex-dependent), however, it varies between different swarmings of closely related subcolonies or between two species. The ratio between nitropentadecene and sesquiterpenes has revealed to be sex-specific. Functional reproductive (imaginal kings and queens) lose the ability for biosynthesis within months after colony foundation; the frontal gland does not contain compounds found in swarming imagoes.

Analysis with GC-electroantennographic detection (EAD) has shown physiological responses of the insect antennae to sesquiterpenes in both soldiers and imagoes. In addition behavioural tests with soldiers and pseudergates proves that (3*E*,6*E*)- α -farnesene is the alarm pheromone in *P. canalifrons*. The toxicity of (*E*)-1-nitropentadec-1-ene for other insect species has been verified previously².

Financial support was provided by the Grant Agency of the Academy of Sciences of the Czech Republic (A600550614), and the Z4 055 0506 project realized in the IOCB AS CR, Prague.

REFERENCES

1. Piskorski R., Hanus R., Vašíčková S., Cvačka J., Šobotník J., Svatoš A., Valterová I.: J. Chem. Ecol. 33, 1787 (2007).
2. Kuldová J., Hrdý I., Svatoš A.: J. Chem. Ecol. 25, 657 (1999).

NOVÁ METODA OXIDATIVNÍ PŘÍPRAVY BENZOISOTHIAZOLONŮ VYCHÁZEJÍCÍ Z DISULFIDŮ

JIŘÍ ŠROGL a MARTIN PLUSKAL

Ústav organické chemie a biochemie, AV ČR v.v.i., Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6

Ačkoliv jsou oxidační vlastnosti disulfidů v biologických systémech známy již dlouhou dobu^{1,2} (např. pyruvát dehydrogenázový systém), jejich syntetické využití bylo až donedávna opomíjeno navzdory jejich snadné přípravě z komerčně dostupných surovin.

Tradičně je sira díky své schopnosti vytvářet pevnou vazbu s přechodnými kovy považována za "katalytický jed"³. Navzdory tomu však umožňuje použití katalyzátorů založených na sloučeninách mědi velký rozvoj reakcí sirmých sloučenin⁴⁻⁶.

Bylo zjištěno, že u iminů odvozených od 2,2'-dithio-dibenzaldehydu, připraveného z komerčně dostupného 2-chlorbenzaldehydu za přítomnosti *katalytického* množství měďné soli na vzduchu dochází ke vzniku benzoizothiazolonů (Schéma 1).



Schéma 1.

Autoři děkují Ústavu organické chemie a biochemie AV ČR, v.v.i za podporu projektu.

LITERATURA

- Oae S., Okuyama T.: *Organic Sulphur Chemistry: Biochemical aspects*, CRC Press, Boca Raton 1992.
- Huxtable R.: *Biochemistry of Sulphur*, Plenum Press, New York 1986.
- Stiefel E. I., Matsumoto K.: ACS Symposium Series 653, 1996.
- Savarin C., Srogl J., Liebeskind L. S.: Org. Lett. 3, 91 (2001).
- Liebeskind L. S., Srogl J.: J. Am. Chem. Soc. 122, 11260 (2000).
- Itoh S., Nagagawa M., Fukuzumi S.: J. Am. Chem. Soc. 129, 4087 (2001).

**FLUORENYLETHOXYCARBONYL
2-AMINO(ETHOXYOCTOVÁ) KYSELINA STAVEBNÍ
BLOK NOVÉHO HYDROFILNÍHO
POLYAMIDICKÉHO SPACERU**

V. PROKS a F. RYPÁČEK

Ústav makromolekulární chemie AV ČR, v. v. i. Heyrovského nám. 2, 162 06 Praha 6
proks@imc.cas.cz

Pro spávnou funkci biomateriálu je často nezbytné nastavení přesné vzdálenosti¹ mezi bioaktivními skupinami². Pro tyto účely se využívají spojky na bázi 6-aminohexanové kyseliny, sekvence α -aminokyselin, krátký heterobifunkční derivát polyethylenoxidu³ apod. Všechny výše zmíněné systémy mají bohužel nějakou nevýhodu. Například α -aminokyselinový blok je relativně krátký a pro přípravu spojky požadované délky je třeba vyrobit oligopeptidovou sekvenci o značném počtu aminokyselinových jednotek, α -aminohexanová kyselina je z důvodu své hydrofobní povahy obtížně použitelná pro přípravu vodorozpustných materiálů, navíc hydrofobní interakce mezi olefinickými řetězci vedou ke komplikacím při syntéze na pevné fázi.

Z důvodu vyhnout se výše zmíněným komplikacím byla jako stavební blok spaceru zvolena 2-amino(ethoxy-octová) kyselina (AEA) připravená dle Vielse⁴. ω -Koncová skupina byla dále ochráněna reakcí s fluorenylmethoxycarbonyl succinimidovým esterem. Získaná chráněná Fmoc-AEA může

být snadno přečištěna krystalizací a je stabilní při dlouhodobém skladování (3 měsíce v laboratoři). Užitím techniky peptidové syntézy na pevné fázi (Fmoc/tBu strategie, chlortrihylová pryskyřice, standardní protokol) byl připraven vzorový Fmoc-(AEA)₅-OH pentamer. Účinnost každého reakčního kroku byla monitorována vizuálním testem na bromfenolovou modř⁵. Doba navázání další Fmoc-AEA jednotky byla pod 10 minut a nebyl pozorován žádný problém agregace rostoucího řetězce s pryskyřicí. Konečný produkt byl odstraněn z nosiče 25 % roztokem hexafluoropropan-2-olu v dichlormethanu. Výsledný Fmoc-(AEA)₅-OH pentamer je dobře rozpustný v methanolu a dichlormethanu a jeho konstituce byla potvrzena na základě NMR, MALDI-TOF a elementární analýzy.

Práce vznikla za finanční podpory Grantové agentury AV ČR č. 1QS00110564 a Centra buněčné terapie a tkáňových náhrad (MŠMT, grant č. 1M0021620803).

LITERATURA

- Mardilovich A., Kokkoli E.: Biomacromolecules 2004, 50.
- Leahy D.J., Aukhil I., Erickson H.P.: Cell 84, 155 (1996).
- Kumar V., Aldrich J.: Org. Lett. 5, 613 (2003).
- Viele P., Seguin J.: J. Bull. Soc. Chim. Fr. 1953, 287.
- Krchňák V., Vágner J., Lebl M.: Int. J. Pept. Prot. Res. 32, 415 (1988).

IMUNOAFINITNÍ SORBENTY PRO ISOFLAVONOIDY**JELENA A. PROKUDINA a OLDŘICH LAPČÍK**

Fakulta potravinářské a biochemické technologie, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

Isoflavonoidy (3-fenylchromony) jsou sekundární metabolity rostlin zajímavé z hlediska svých biologických účinků. Nejvýznamnějším zdrojem isoflavonoidů jsou bobovité rostliny (Leguminosae), ale přítomnost těchto látek byla zjištěna v řadě dalších taxonů^{1,2}. Mimo čeleď Leguminosae jsou zastoupeny v nižších koncentracích, což znesnadňuje jejich detekci a identifikaci. Proto bylo k zakoncentrování a přečištění rostlinných extraktů před analýzou pomocí HPLC-MS navrženo použití imunoafinitních sorbentů.

Imunoafinitní sorbenty byly připraveny imobilizací polyklonálních králíčích protilátek proti vybraným isoflavonoidům (biochanin A, genistein, daidzein) na pevný nosič Affi-Gel 10 (Bio-Rad laboratories)³. Kapacita stanovená vyhodnocením kompetice standardu příslušného isoflavonoidu s jeho ¹²⁵I značeným analogem dosahovala u jednotlivých sorbentů hodnot řádu desetin až jednotek mikrogramů analytu na mililitr gelu. Byly zjištěny optimální podmínky eluce a vyvinut postup imunoafinitní extrakce. Připravené sorbenty byly využity ke studiu isoflavonoidů v extraktech vybraných druhů rostlin čeledi Moraceae, Cannabaceae a Lamiaceae.

Práce vznikla za podpory projektů 525/06/0864 GAČR a MSM 6046137305.

LITERATURA

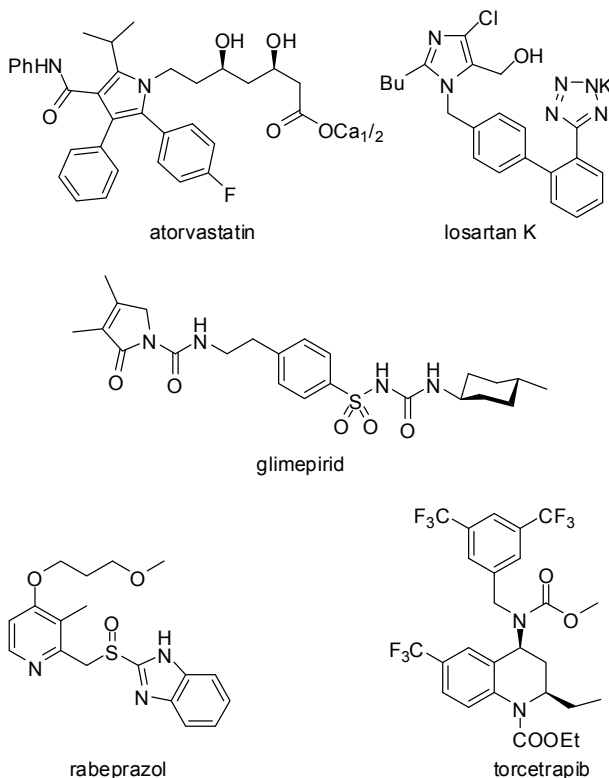
1. Macková Z., Koblavská R., Lapčík: *Phytochemistry* 67, 849 (2006).
2. Reynaud J., Guilet D., Terreux R., Lussignol M., Walchshofer N.: *Nat. Prod. Rep.* 67, 849 (2005).
3. Vanková R., Gaudinová A., Sussenbeková H., Dobrev P., Strnad M., Holík J., Lenfeld J.: *J. Chromatogr., A* 811, 77 (1998).

SYNTECKÉ ASPEKTY VÝVOJE GENERICKÝCH LÉČIV

STANISLAV RÁDL

Zentiva, U kabelovny 130, 102 37 Praha 10
stanislav.radl@zentiva.cz

V úvodní části přednášky budou osvětleny základní principy, které charakterizují generická léčiva a odlišují jejich vývoj od léčiv originálních¹. Stručně bude zmíněna historie legislativy v oblasti generik a to hlavně v souvislostech se současným stavem v této oblasti. Diskutovány budou otázky patentové ochrany i ochrany registračních dat.



V hlavní části příspěvku pak budou formou případových studií generik vyvíjených v bývalém Výzkumném ústavu pro farmacii a biochemii a v současné době v R&D Zentiva jednak

ilustrovány v úvodu diskutované obecné principy, jednak budou zmíněny některé obecné problémy spojené s vývojem generických substancí, se kterými jsme se během posledních let setkali.

Případové studie budou zaměřeny hlavně na preparáty vyvíjené na našem oddělení. Důraz bude kladen na léčiva, která byla již firmou Zentiva uvedena na trh, jako například atorvastatin²⁻⁵ (Torvacard), glimepirid^{6,7} (Amyx) a losartan⁸ (Lozap). V rámci možností budou zmíněna i další generika v různém stadiu vývoje a opomenuty nebudou ani případy, kdy byl vývoj z různých důvodů ukončen, například rabeprazol⁹ nebo torcetrapib¹⁰.

Jednotlivé případové studie se zaměří hlavně na syntetické aspekty vývoje generických léčiv, budou diskutovány ty stránky daného generika, které se autorovi jeví ze syntetického hlediska zajímavými pro širší okruh organických a farmaceutických chemiků. To se bude týkat jak vlastní syntézy vybraných aktivních substancí (API = Active Pharmaceutical Ingredient) generických léčiv, tak zlepšení jejich výrobního postupu včetně izolace a čištění, a v neposlední řadě i identifikace a syntézy standardů nečistot.

Vzhledem k předchozímu zaměření autora na vyhledávací výzkum budou během výkladu doloženy i výhody a nevýhody práce ve vývoji generické společnosti.

LITERATURA

1. Rádl S.: *Chem. Listy* 98, 1073 (2004).
2. Rádl S., Stach J., Hájiček J.: *Tetrahedron Lett.* 43, 2087 (2002).
3. Rádl S.: *Synth. Commun.* 33, 2275 (2003).
4. Rádl S., Stach J.: WO 2003/068739; EP 1470106; US 2005/131055.
5. Rádl S., Stach J., Šimek S., Kirschdorf E.: CZ 2003/0408.
6. Rádl S., Jarrah K.: WO 2004/073585; EP 1594839; US 2007/054954.
7. Rádl S., Jarrah K.: CZ 296344.
8. Rádl S., Stach J., Klecán O.: WO 2005/021535; EP 1658281.
9. Rádl S., Klecán O., Havlíček J.: *J. Heterocyclic Chem.* 43, 1447 (2006).
10. Sikorski J. A.: *J. Med. Chem.* 49, 1 (2006).

AB INITIO/DFT STUDIE REAKČNÍHO MECHANISMU ACETYLACE METHYLTHREOFURANOSIDŮ

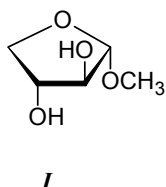
IVAN RAICH^a a JIŘÍ ŠRAJER^a

^aÚstav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6
Ivan.Raich@vscht.cz.

Při syntéze řady přírodních látek s polyfunkční molekulou hrají selektivní reakce velmi důležitou roli. K nejběžnějším takovým reakcím patří acetylace a deacetylace, avšak jejich selektivita není vždy snadno předvídatelná, přestože byla těmto reakcím např. v chemii sacharidů věnována značná pozornost¹.

Pomocí výpočetních metod na *ab initio* a DFT úrovni v Gaussianu 03W (cit.²) byla na příkladu methanolu a methyl-

- α -D-threofuranosidu (*I*) jakožto modelovém sacharidu studována acetylace s použitím acetylchloridu a acetanhydridu v pyridinu. Geometrie tranzitního stavu při reakci s methanolem byla použita jako výchozí bod při hledání dalších tranzitních stavů v případě modelového sacharidu. Detailně byly propočítány reakční koordináty výše uvedených acetylačních reakcí v plynné fázi a dále rozšířeny o explicitně zahrnutou molekulu pyridinu. Na základě aktivačních energií jednotlivých acetylačních reakcí byl vypočten očekávaný poměr produktů acetylace v polohách 2 a 3, který se v případě acetylchloridu v plynné fázi dobře shoduje s dostupnými experimentálními daty. Zahnutí pyridinu formou implicitního solvatačního modelu nevedlo k lepší shodě s experimentálními údaji.



Tato studie byla podpořena výzkumným záměrem MŠM č. 604 613 7305.

LITERATURA

- Haines A. H.: Adv. Carbohydr. Chem. Biochem. 33, 11 (1976).
- Frisch M. J. et al.: Gaussian 03, Revision D.01, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2004.

PYRROLIDINOVÉ ANALOGY NUKLEOSIDŮ, NUKLEOTIDŮ A OLIGONUKLEOTIDŮ

DOMINIK REJMAN

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

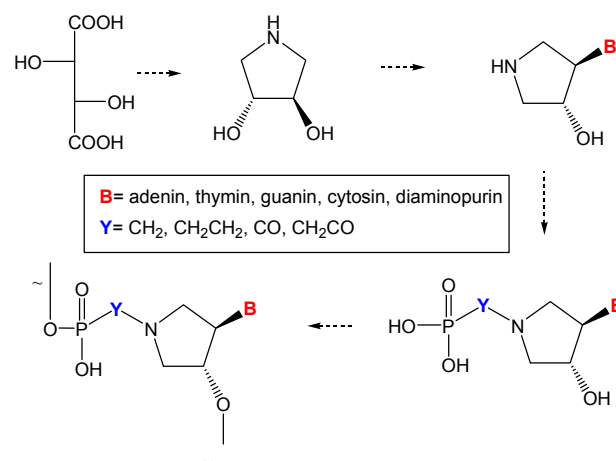
Nukleové kyseliny a jejich složky hrají významnou roli ve všech biologických systémech. Není proto divu, že mnoho jejich analogů našlo uplatnění jako léčiva či jako diagnostické nástroje.

Tato práce popisuje přípravu analogů nukleosidů, kde je ribózový kruh nahrazen pyrrolidinem. Od těchto pyrrolidinových nukleosidů byla připravena série fosfonátových derivátů jako analogů nukleotidů. Některé fosfonátové pyrrolidinové nukleotidy byly transformovány na vhodně chráněné aktivované monomery a použity pro syntézu oligonukleotidů na pevné fázi.

Nejprve byla vypracována třístupňová syntéza, vycházející z kyseliny vinné dávající opakovaně vysoké výtěžky dihydroxypyrrolidinu. Ten byl následně opatřen chránicími skupinami (Boc na dusíkovém atomu a DMTr na jedné z hydroxylových skupin) a použit pro kruciální krok syntézy: nukleosidaci. Ta byla uskutečněna přímou alkylací volné nukleobáze mesylderivátem chráněného dihydroxy-

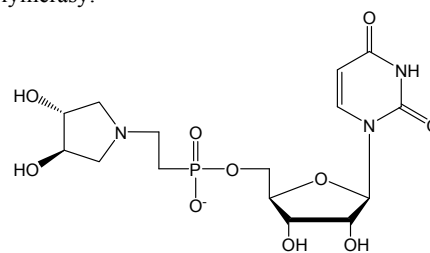
pyrrolidinu. Tato metoda se ukázala jako velmi vhodná pro purinové báze, nižší výtěžky poskytovala s bázemi pirimidinovými¹. Z toho důvodu se v současné době zabýváme metodami výstavby nukleobází. Po odstranění chránicích skupin byly získány požadované analogy nukleosidů.

Tyto pyrrolidinové nukleosidy byly poté převedeny na čtyři typy fosfonátových analogů nukleotidů: fosfonomethyl (reakce s diisopropylfosfitem a formaldehydem), fosfoethyl (reakce s diisopropylvinylfosfonátem), fosfonoformiát – karboxamid fosfonomravenčí kyseliny (reakce s fenyl-diisopropylfosfonoformiátem) a fosfonoacetát- karboxamid fosfonoctové kyseliny (reakcí s fosfonoctovou kyselinou). Obě *iso*-propylové chránicí skupiny byly odstraněny pomocí TMS-Br.



Pyrrolidinové nukleotidy (Y = fosfonomethyl, fosfoethyl a fosfonoacetyl) nesoucí jako nukleobázi adenin byly po ochránění (DMTr na hydroxylové skupině a dibutylaminomethylen na exocyklické aminoskupině adeninu) převedeny na aktivní 4-methoxy-1-*N*-oxido-2-pyridylmethyllestery^{2,3}. Tyto aktivní monomery byly použity pro syntézu oligonukleotidů na pevné fázi.

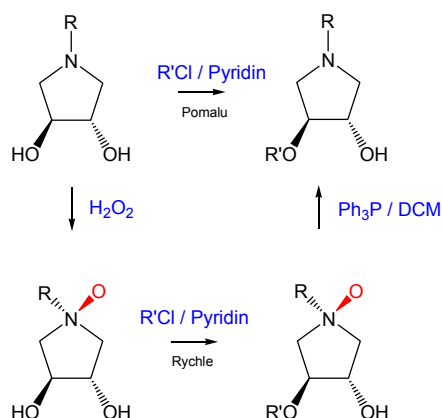
Připravené analogy nukleosidů a nukleotidů jsou testovány na potenciální cytostatické, virostatické a antimikrobiální účinky. Dále probíhají *in vitro* testy inhibice thymidin fosforylasy, purin nukleosid fosforylasy a bakteriální RNA polymerasy.



Připravené modifikované oligonukleotidy byly testovány na jejich schopnost tvořit stabilní duplex s komplementárním řetězcem.

Dihydroxypyrrolidinová struktura byla též použita k syntéze pyrrolidinylfosfonových kyselin a jejich aduktů s uridinem. V této sérii látek byla objevena molekula se silnými účinky proti prvku *Giardia lamblia*⁴.

V průběhu práce s dihydroxypyrrolidinovým systémem bylo zjištěno, že syntéza *O*-monosubstituovaných 1-*N*-alkyl-*trans*-3,4-dihydroxypyrrolidinů, naráží na značné obtíže kvůli ne příliš reaktivním hydroxylovým skupinám. Mohou být ovšem získány v excelentním výtěžku transformací 1-*N*-alkyl-*trans*-3,4-dihydroxypyrrolidinů na odpovídající *N*-oxidy. *N*-oxidace vedla ke ztrátě bazicity pyrrolidinového dusíkového atomu a k výraznému rozlišení reaktivit původně ekvivalentních hydroxylových skupin. Reakce *N*-oxidových derivátů s DMTrCl nebo TBDPSCl proběhla rychle, takřka kvantitativně a stereospecifiicky na hydroxylové skupině v *cis* pozici k *N*-oxidovému kyslíkovému atomu. DMTR derivát na rozdíl od TBDPS derivátu může být snadno deoxygenován reakcí s trifenylnosfinem⁵.



V první řadě bych rád poděkoval svému školiteli I. Rosenbergovi a svým kolegům a spolupracovníkům: P. Kočalkovi, R. Pohlovi, S. Kovačkové, L. Krásnému, H. Šanderové, I. Barvikovi, G. M. Blackburnovi, K. Pankiewiczovi a S. Pattersonovi. Práce byla podpořena granty: #203/02/D150 (GAČR) #2B06065 (Ministerstvo školství ČR), Výzkumná centra LC-512, LC-06061 a LC-06077 (Ministerstvo školství ČR) pod výzkumným záměrem Z4055905.

LITERATURA

1. Rejman D., Kočalka P., Buděšínský M., Pohl R., Rosenberg I.: *Tetrahedron* 63, 1243 (2007).
2. Rejman D., Masojídková M., Rosenberg I.: *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids* 23, 1683 (2004).
3. Rejman D., Erbs J., Rosenberg I.: *Organic Process Research & Development* 4, 473 (2000).
4. Suk D.H., Rejman D., Dykstra C., Pohl R., Pankiewicz K. W. and Patterson S.E.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17, 2811 (2007).
5. Rejman D., Kočalka P., Buděšínský M., Barvik I., Rosenberg I.: *Tetrahedron: Asymmetry*, accepted 2007.

SYNTÉZA MONODERIVÁTU β -CYKLODEXTRINU A JEHO IMOBILIZACE NA NANOČÁSTICÍCH KOVŮ

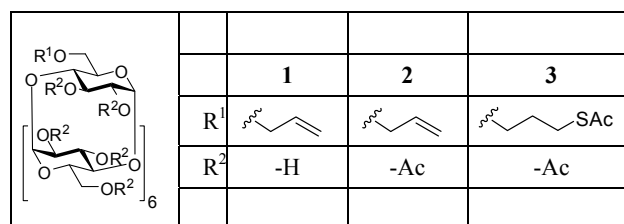
MICHAL ŘEZANKA^a, PAVEL ŘEZANKA^b,
JINDŘICH JINDŘICH^a a VLADIMÍR KRÁL^b

^a Katedra organické a jaderné chemie, PŘF UK v Praze, Hlavova 8, 128 40, Praha 2; ^b VŠCHT v Praze, Fakulta chemicko-inženýrská, Ústav analytické chemie, Technická 5, 166 28, Praha 6 - Dejvice
rezanka@natur.cuni.cz

Modifikované nanočástice zlata a stříbra lze díky jejich unikátním vlastnostem (například povrchová plasmonová rezonance) použít pro detekci sloučenin s velmi nízkou mezí detekce¹.

Modifikace nanočástic může být provedena cyklohexytriny² (CD), které mají dobré komplexační vlastnosti díky jejich rigidní kavitě tvořené D-glukopyranosovými jednotkami spojenými $\alpha(1\rightarrow4)$ glykosidickou vazbou. Náš výzkum je zaměřen na přípravu monoderivátu β -CD, jeho imobilizaci na nanočásticích zlata a stříbra a použití těchto modifikovaných nanočástic pro analytické aplikace¹.

Pro navázání na nanočástice byl připraven sirmý derivát **3**, jež byl syntetizován z β -CD přes meziprodukty **1** a **2** (obrázek 1). Při navázání na povrchu nanočástic zlata dochází k odštěpení acetylů a tvorbě vazby S-Au³.



Obrázek 1. Připravené monoderiváty β -CD

β -CD tvoří komplexy s aromáty, a proto se nabízí možnost jeho imobilizace na nanočástice a za využití výše zmíněných vlastností nanočástic sledovat nízké koncentrace polyaromatických uhlovodíků ve vodě.

Tento projekt je podporován granty MSM 0021620857 a KAN200200651.

LITERATURA

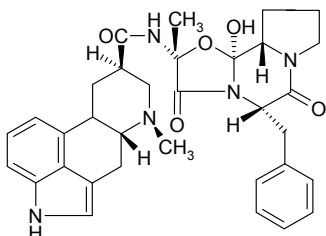
1. Cao, R.; Villalonga, R.; Frago A.: *IEE Proc.- Nanobiotechnol.* 152, 159 (2005).
2. Szejtli, J.: *Chem. Rev.* 98, 1743 (1998).
3. Gryko, D. T.; Clausen, C.; Roth, K. M.; Dontha, N.; Bocian, D. F.; Kuhr, W. G.; Lindsey, J. S.: *J. Org. Chem.* 65, 7345 (2000).

POLYMORFIE DIHYDROERGOTAMINU

MICHAELA RÖBSTECKOVA^a, JAN ČEJKA^a
a ALEXANDR JEGOROV^b,

^aÚstav chemie pevných látek, FCHT, Technická 5, 166 28 Praha 6; ^bTEVA Pharmaceuticals s.r.o., Branišovská 31, 370 05 České Budějovice
robstecm@seznam.cz, cejkaj@vscht.cz,
Alexandr.Jegorov@ivax-cz.com

Dihydroergotamin (DHE) je jako řada námelových alkaloidů produkován parazitickou houbou paličkovici nachovou (*Claviceps purpurea*). Jako antidepresivum 1. generace působí nepříliš selektivně na zpětné vychytávání noradrenalinu, dopaminu a serotoninu.



Budou presentovány dvě struktury solvátů soli dihydroergotaminu. (methanol a ethanol solvát) Strukturální parametry budou srovnány s novou strukturou báze dihydroergotaminu.

Tato práce byla řešena jako součást výzkumného záměru MSM 6046137302 Příprava a výzkum funkčních materiálů a materiálových technologií s využitím mikro- a nanoskopických metod.

RYCHLÁ A EFEKTIVNÍ PŘÍPRAVA 5-SUBSTITUOVANÝCH TETRAZOLŮ V PODMÍNKÁCH MIKROVLNĚ AKTIVACE

JAROSLAV ROH^a, ALEXANDR HRABÁLEK^a,
TATJANA V. ARTAMONOVA^b
a GRIGORII I. KOLDOBSKII^b

^aFarmaceutická fakulta UK v Hradci Králové, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové, ČR; ^bSankt-Peterburský státní technologický institut, Moskevský prospekt 26, St.-Peterburg, 190013, Ruská federace
rohj@faf.cuni.cz

V posledních letech se objevuje stále více léčiv, ať už ve fázi výzkumu či úspěšně zavedených do klinické praxe, které obsahují jako strukturální fragment 5-substituovaný tetrazol. Ten v nich figuruje jako izosterní náhrada karboxylové skupiny, a to díky blízkým fyzikálně-chemickým vlastnostem. Navíc jsou léčiva s tetrazolovým uskupením odolnější vůči metabolické degradaci a mají tedy, na rozdíl od léčiv obsahujících karboxylovou skupinu, výrazně odlišné farmakokinetické parametry.

V naší práci jsme se zaměřili na syntézu 5-substituovaných tetrazolů. Vycházeli jsme z původní práce K.

Kogury, spočívající v přípravě 5-substituovaných tetrazolů reakcí odpovídajících nitrilů s azidem sodným v toluenu za přítomnosti amoniových solí¹.

Reakci jsme na rozdíl od Kogury provedli za MW aktivace v nitrobenzenu (schéma 1), který je díky svému dipólovému momentu pro toto uspořádání reakce daleko vhodnější než toluen. Reakci jsme provedli se širokou škálou aromatických i alifatických nitrilů, včetně nitrilů velmi málo reaktivních (-CN skupina stericky bráněna a +M a +I efekty deaktivována). Reakce byly provedeny v MW reaktoru MicroSYNTH Ethos 1600 URM.

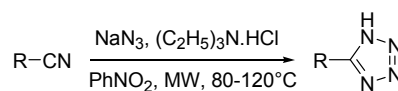


Schéma 1.

Pomocí této metody byly připraveny 5-substituované tetrazoly ve vysokých výtěžcích se současným několikanásobným zkrácením reakčního času. Tak byly připraveny při relativně vysokém výtěžku také tetrazoly, jejichž příprava je za klasických podmínek časově velmi náročná, neboť se reakční časy pohybují v řádu dní.

Díky vysoké teplotě varu nitrobenzenu je možné reakci provést v širokém rozmezí teplot (od 80 do 150 °C). Další výhody metody spočívají v jednoduchém provedení reakce za normálního tlaku, v krátkém reakčním čase a v jednoduché izolaci čistého produktu.

Práce vznikla za podpory VZ Ministerstva školství ČR (MSM 0021620822).

LITERATURA

1. Koguro K., Oga T., Mitsui S., Orita R.: *Synthesis* 1998, 910.

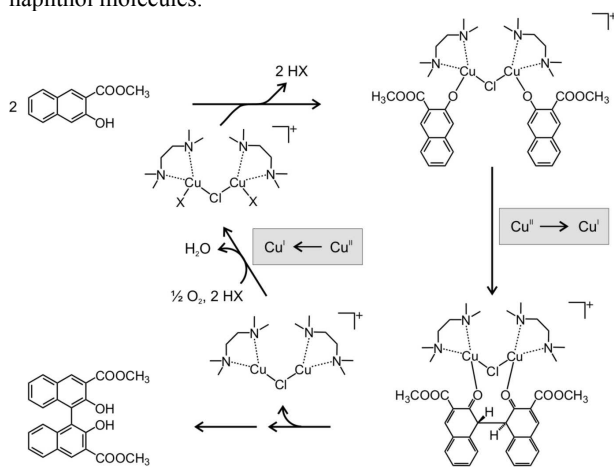
GAS-PHASE STUDY OF THE C-C COUPLING OF NAPHTHOL CATALYZED BY Cu^{II}•TMEDA

JANA ROITHOVÁ^{a,b} and DETLEF SCHRÖDER^b

^aCharles University in Prague, Faculty of Science, Department of organic chemistry, Hlavova 2030, 128 43 Praha; ^bInstitute of Organic Chemistry and Biochemistry, AS CR, Flemingovo 2, 166 10 Praha 6

The proposed reaction mechanisms for the metal-mediated coupling of two naphthol molecules to yield BINOL span from a suggested involvement of carbon-centered radicals via reactions occurring in mononuclear metal complexes up to a concerted coupling in binuclear metal complexes¹⁻³. Here, we contribute to the discussion with a model study of Cu^{II}•TMEDA-mediated (TMEDA = *N,N,N',N'*-tetramethylethylenediamine) coupling of naphthol in the gas phase. The experiments provide a solid evidence that the coupling proceeds in binuclear bi(naphtholatocopper) clusters (Scheme 1). In addition, there are indications that the presence of diamine ligands like TMEDA supports the formation of the

copper clusters and therefore enhances the coupling reaction. Two coupling mechanisms are suggested: (i) the cluster can be either loosely bound via one bridging counterion, then the coupling reaction is followed by cluster cleavage, or (ii) the cluster is fortified by TMEDA presumably acting as a chelating or bridging ligand, which results in a more efficient coupling of naphthol molecules.



Scheme 1.

This work was supported by the Grant Agency of the Czech Academy of Sciences (KJB400550704).

LITERATURE

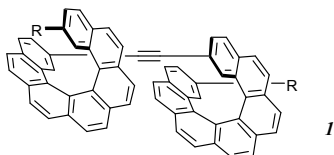
- Hovorka M., Závada J.: *Tetrahedron* 48, 9517 (1992).
- Li X., Hewgley J. B., Mulrooney C. A., Yang J., Kozlowski M. C.: *J. Org. Chem.* 68, 5500 (2003).
- Luo Z., Liu Q., Gong L., Cui X., Mi A., Jiang, Y.: *Angew. Chem. Int. Ed.* 41, 4532 (2002).

POKROKY V SYNTÉZE MOLEKULÁRNÍCH VODIČŮ NA BÁZI HELICENOVÝCH KONJUGÁTŮ

JIŘÍ RYBÁČEK, IRENA G. STARÁ* a IVO STARÝ

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

Chirální helicénové konjugáty (např. **1**) představují zajímavou alternativu funkčních molekulárních vodičů z hlediska delokalizace π -elektronů i potenciálních aplikací v molekulární elektronice.



Z komerčně dostupného 7-methoxy-2-naftolu byl v deseti reakčních krocích připraven triyn **2**, ze kterého klíčovou

cykloisomerizační reakcí¹ vznikl symetrický tetrahydro[7]-helicén **3**. Jedna z jeho methoxylových skupin byla selektivně převedena na aktivní ester nonafluorbutansulfonové kyseliny **4** (Schéma 1). Sonogashirovou reakcí za přítomnosti stericky objemného fosfinového ligandu² pak byla připojena acetylenická spojka pro vytvoření vodivého spojení s další molekulou helicenu (**4** \rightarrow **5**, resp. **6**).

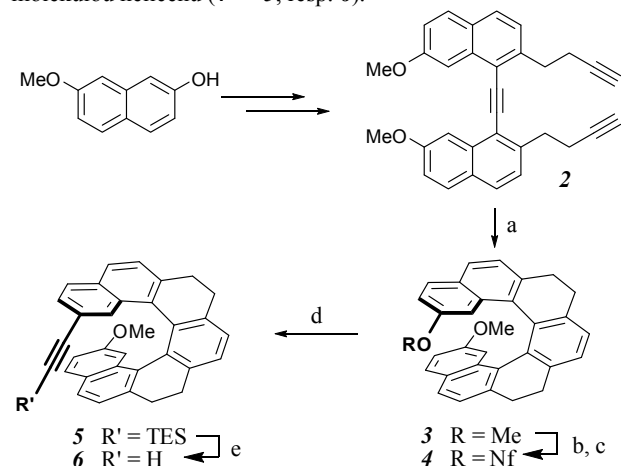


Schéma 1. a) $\text{CpCo}(\text{CO})_2$, PPh_3 , dekan, 140 °C, 80%; b) NaSEt , DMF, 130 °C, 64%; c) NaH , NfF , DMF, 20 °C, 99%; d) $\text{TES-C}\equiv\text{CH}$, $\text{PdCl}_2(\text{MeCN})_2$, X-Phos, Cs_2CO_3 , MeCN, 90 °C, 59%; e) TBAF, THF, 20 °C, 77%.

Autoři děkují za finanční podporu FP6 – Pico-Inside (reg. č. 015847), GA ČR (reg. č. 203/06/1792) a Centru pro biomolekuly a komplexní molekulární systémy (projekt LC512).

LITERATURA

- Starý I., Stará I. G., Alexandrová Z., Sehnal P., Teplý F., Šaman D., Rulišek L.: *Pure. Appl. Chem.* 78, 495 (2006).
- Gelman D., Buchwald S. L.: *Angew. Chem. Int. Ed.* 42, 5993 (2003).

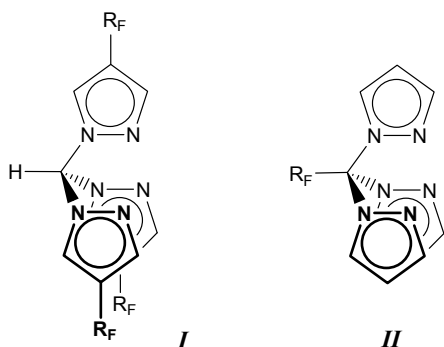
POLYFLUOROVANÉ TRIPYRAZOLYLMETHANY

MARKÉTA RYBÁČKOVÁ, KRYŠTOF ŠIGUT,
MARTIN HOLAN, VERONIKA FRAŇKOVÁ
a JAROSLAV KVÍČALA

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

Tripyrazolylboráty (šcorpionáty)¹ a jejich uhlíkatá analoga – tripyrazolylmethany jsou poměrně novou skupinou heterocyklických ligandů, které jsou isoelektronické s cyklopentadienylovými ligandy, studovanými dříve v naší pracovní skupině^{2,3}.

Cílem této práce bylo připravit tripyrazolylmethany modifikované polyfluoralkylovými substituenty v poloze 4 pyrazolových jader (**I**) nebo na centrálním atomu uhlíku (**II**).



Vhodnými intermediáty pro syntézu sloučenin **I** jsou deriváty pyrazolu substituované různými polyfluoralkylovými řetězci. Tripyrazolymethan lze pak regioselektivně modifikovat na centrálním uhlíkovém atomu za vzniku sloučenin typu **II**.

Děkujeme Ministerstvu školství, mládeže a tělovýchovy České republiky (Centrum základního výzkumu LC06070, Program KONTAKT, č. ME 857) za finanční podporu tohoto projektu.

LITERATURA

1. Trofimenko S.: Chem. Rev. 93, 943 (1993).
2. Bříza T., Kvičala J., Paleta O., Čermák J.: Tetrahedron 58, 3841 (2002).
3. Kvičala J., Bříza T., Paleta O., Auerová K., Čermák J.: Tetrahedron 58, 3847 (2002).

SYNTEZA (R)- a (S)-2-(4-ISOPROPYL-1,4-DIMETHYL-4,5-DIHYDRO-1H-IMIDAZOL-4-ON-2-YL)PYRIDINŮ

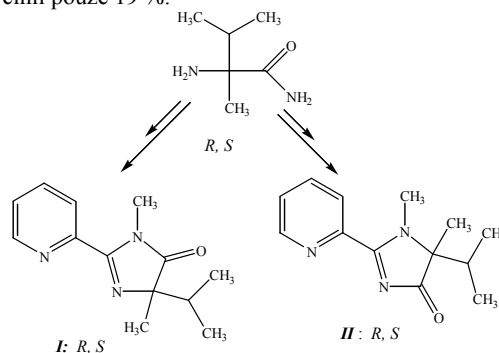
PAVEL DRABINA, JIŘÍ HANUSEK a MILOŠ SEDLÁK

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

V předchozích pracích¹⁻⁵ jsme se zabývali syntézou a charakterizací substituovaných 2-(4-isopropyl-1,4-dimethyl-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-on-2-yl)pyridinů (**I**), které byly využity jako ligandy vytvářející koordinační sloučeniny s vybranými ionty kovů (Fe^{3+} , Fe^{2+} , Rh^{3+} , Cu^{2+}). Kromě charakterizace těchto koordinačních sloučenin pomocí spektrálních metod a RTG analýzy^{1,3}, byla také u vybraných komplexů studována hydrolytická stabilita⁴ a také možnost jejich uplatnění v katalýze^{2,3,5}. Jako značně účinné katalyzátory deallylačních reakcí diallylmalonátů se ukázaly rhodiové komplexy substituovaných 2,6-bis(1-benzyl-4-isopropyl-4-methyl-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-on-2-yl)-pyridinů².

Koordinační sloučeniny Cu^{2+} opticky čistých substituovaných 2-(4-isopropyl-4-methyl-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-on-2-yl)pyridinů byly aplikovány³ jako enantioselektivní katalyzátory nitroaldolizační reakce s chemickými

výtěžky 41 až 100 %, maximální enantioselektivní přebytek však činil pouze 19 %.



Předmětem prezentované práce byla syntéza a charakterizace obou opticky čistých forem nových ligandů tj. (*R*)- a (*S*)-2-(4-isopropyl-1,4-dimethyl-4,5-dihydro-1H-imidazol-4-on-2-yl)pyridinů (**II**), které se od předchozích ligandů **I** liší polohou asymetrického atomu uhlíku a oxoskupiny na imidazolovém skeletu. Koordinační sloučeniny takto strukturně obměněných ligandů budou následně použity k porovnání účinnosti obou typů katalyzátorů a k posouzení vlivu vzdálenosti chirálního centra ke koordinovanému iontu kovu na enantioselektivitu studovaných reakcí. Klíčovou syntézou ligandů **II** byla příprava (*R*) a (*S*)-*N*-methyl-2,3-dimethylbutanamidů, které po acylaci pikolinchloridem a následné cyklizaci poskytují imidazolinony **II**.

Práce byla podpořena projektem Ministerstva školství mládeže a tělovýchovy (MSM 0021627501).

LITERATURA

1. Sedlák M., Drabina M., Císařová I., Růžička A., Hanusek J., Macháček V.: Tetrahedron Lett. 45, 7723 (2004).
2. Turský M., Nečas D., Drabina P., Sedlák M., Kotora M.: Organometallics 25, 901 (2006).
3. Sedlák M., Drabina P., Keder R., Hanusek J., Císařová I., Růžička A.: J. Organomet. Chem. 691, 2623 (2006).
4. Drabina P., Hanusek J., Jirásko R., Sedlák M.: Transition Met. Chem. 31, 1052 (2006).
5. Nečas D., Drabina P., Sedlák M., Kotora M.: Tetrahedron Lett. 48, 4539 (2007).

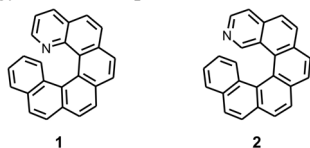
THE CHEMISTRY OF GASEOUS IONS: FROM SIMPLE PROTON TRANSFER VIA C-C COUPLING TO COMPLEX CARBON SKELETONS

JANA ROITHOVÁ^{a,b} and DETLEF SCHRÖDER^a

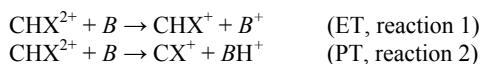
^aInstitute of Organic Chemistry and Biochemistry, AS CR, Flemingovo 2, 166 10 Praha 6; ^bCharles University in Prague, Faculty of Science, Department of Organic Chemistry, Hlavova 2030, 128 43 Praha

From a curiosity in analytical applications of mass spectrometry, gas-phase ion chemistry developed as a major

tool in physical organic and inorganic chemistry. Particular strengths of this method are (i) the investigation of ion structures¹, (ii) detailed kinetic and mechanistic studies^{2,3}, (iii) the precise elucidation of thermochemical quantities⁴, and (iv) the close synergy between experiment and theory⁵.

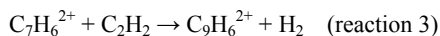


Examples include the determination of the proton affinities of 1- and 2-azahelicene (**1** and **2**) by a combined experimental and theoretical approach⁶. With proton affinities of about 1000 kJ mol⁻¹, **1** and **2** can be termed as superbases, which moreover offer perspectives for chiral proton-transfer reactions due to their asymmetrical helices. A completely different facet of proton transfer is uncovered in the reactions of hydrogen containing dications CHX²⁺ (X = halogen) with neutral reagents *B*. Thus, the competition between electron-transfer (ET) from *B* to CHX²⁺, reaction (1), and proton-transfer (PT) from CHX²⁺ to *B*, reaction (2), is not only influenced by the associated reaction enthalpies (thermodynamic control), but crucially depends on the existence of a permanent dipole moment of the neutral reagent *B* (kinetic control)⁷.

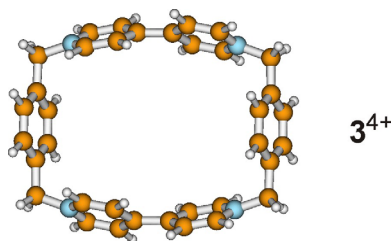


Continuation of this research to reactions of small, gaseous dications with molecular hydrogen⁸ recently led to discovery of species relevant for bond-forming reactions of molecular dications⁹ in superacidic media, e.g. doubly protonated methyl bromide CH₃Br²⁺.

A particularly interesting case of bond-forming processes takes place between hydrocarbon dications C_{*m*}H_{*n*}²⁺ (*m* = 6 - 14, *n* = 4 - 10) and unsaturated hydrocarbons such as acetylene^{10,11} or benzene¹², e.g. reaction (3).



Occurrence of reaction (3) as a genuine thermal process provides as a possible scenario for the formation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) under extreme conditions, such as they exist in interstellar media or extraterrestrial atmospheres. Once again, the combination with modern theoretical methods provides detailed insight into the competing mechanisms of these coupling reactions, which lead to the formation of an indene skeleton in the particular case of reaction (3)^{11,13}.



In addition to the above examples from mostly basic research, the performance of modern mass spectrometric techniques is demonstrated in a recent investigation of tetrapyrindinium ions (e.g. **3**⁴⁺) by means of electrospray ionization (ESI).¹⁴ A key issue in this respect is the choice of the adequate ionization conditions in ESI, because adduct formation or charge separation reactions otherwise predominate. In addition to the fact that reasonably small species such as **3**⁴⁺ can exist as long-lived, free tetracations in the gas phase, this type of compounds enables molecular recognition of ionic as well as neutral substrates. As a perspective, the investigations might lead to methods for a more facile and rapid determination of the enantiomeric excess of organic compounds⁶.

REFERENCES

- Schröder D.: In *Encyclopedia of Mass Spectrometry*, Vol. 1, (Armentrout P.B., ed.) p. 460, Elsevier, Amsterdam 2003.
- Anicich V. G.: *J. Phys. Chem. Ref. Data* 22, 1469 (1993).
- Schröder D., Heinemann C., Koch W., Schwarz H.: *Pure Appl. Chem.* 69, 273 (1997).
- Ervin K. M.: *Chem. Rev.* 101, 391 (2001).
- Alcami M.; Mo O., Yanez, M.: *Mass Spectrom. Rev.* 20, 195 (2001).
- Roithová J., Schröder D., Míšek J., Stará I. G., Starý I.: *J. Mass Spectrom.* 42, 1233 (2007).
- Roithová J., Herman Z., Schröder D., Schwarz H.: *Chem. Eur. J.* 12, 2465 (2006).
- Roithová J., Žabka J., Herman Z., Thissen R., Schröder D., Schwarz H.: *J. Chem. Phys. A* 110, 6447 (2006).
- Roithová J., Schröder D.: *Phys. Chem. Chem. Phys.* 9, 2341 (2007).
- Roithová J., Schröder D.: *J. Am. Chem. Soc.* 128, 4208 (2006).
- Roithová J., Schröder D.: *Chem. Eur. J.* 13, 2893 (2007).
- Roithová J., Schröder D.: *Phys. Chem. Chem. Phys.* 9, 731 (2007).
- Roithová J., Žabka J., Ascenzi D., Franceschi P., Ricketts C. L., Schröder D.: *Chem. Phys. Lett.* 423, 254 (2006).
- Roithová J., Milko P., Ricketts C. L., Schröder D., Besson T., Dekoj V., Bělohorský M.: *J. Am. Chem. Soc.* 129, 10141 (2007).

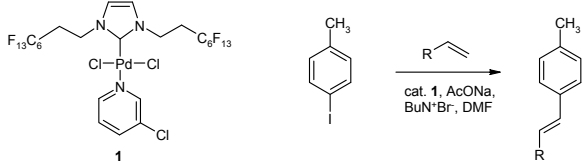
POLYFLUOROVANÉ IMIDAZOLY

**MARTIN SKALICKÝ, ONDŘEJ KYSILKA,
JAKUB POLONSKÝ a JAROSLAV KVÍČALA**

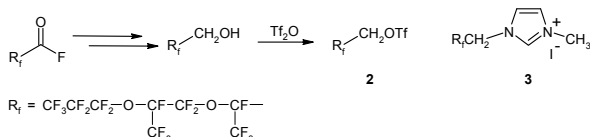
*Ústav organické chemie, Vysoká škola chemicko-technologická
v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6
martin.skalicky@vscht.cz*

Cílem této práce je příprava různých fluorovaných imidazoliniových solí, které mohou být použity jako ligandy v komplexech přechodných kovů, nebo jako nové iontové kapaliny. Připravené polyfluorované imidazoliniové soli¹ byly transformovány na stabilní karbeny – novou skupinu

fluorových ligandů pro katalýzu přechodnými kovy (komplex **1**). Tato látka byla úspěšně použita jako katalyzátor Heckovy reakce. Mechanismus této reakce byl studován teoreticky pomocí *ab initio* výpočtů.



Ve druhé části naší práce byla vyvinuta syntéza nového rozvětveného polyfluorovaného triflátu **2**. Aplikace tohoto stavebního bloku byly studovány v různých nukleofilních substitucích. Sloučenina **2** byla dále reakcí s imidazolem a následnou methyací převedena na polyfluorovanou iontovou kapalinu **3**.



LITERATURA

- Xu L., Chen W., Bickley J.F., Steiner A., Xiao J.: *J. Organomet. Chem.* 598, 409 (2000).

ESTERIFIKACE β -CYKLODEXTRINU V PROSTŘEDÍ IONTOVÝCH KAPALIN

JAKUB SMRČEK a **JINDŘICH JINDŘICH**

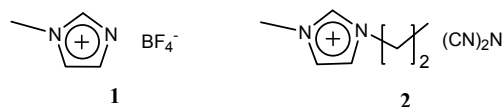
Katedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze, Hlavova 8, 128 40, Praha 2 jindrich@natur.cuni.cz

Iontové kapaliny jsou soli odvozené od organických bází, jako jsou například imidazol nebo pyridin, a jejich derivátů. Volbou kationtu a aniontu můžeme výrazně ovlivňovat vlastnosti iontových kapalin a mohou tedy být využity jako náhrada klasických rozpouštědel. Zajímavé jsou zejména ty iontové kapaliny, jejichž bod tání je nižší či blízký pokojové teplotě. Výhodou iontových kapalin je termostabilita, nehořlavost, netěkavost, možné opakované použití a některé mají též katalytické vlastnosti¹. Vyznačují se také tím, že dobře rozpouštějí mnoho organických i anorganických sloučenin.

Pro úspěšné esterifikace (s vysokými výtěžky) řady kyselin a alkoholů bylo popsáno¹ využití iontové kapaliny [HMIm]⁺BF₄⁻ **1**. V této kapalině je ovšem β -cyklohextrin (β -CD) špatně rozpustný a při obvyklých podmínkách popsaných reakcí (110 °C, 2 h) dochází k jeho rozkladu. Jako výborné rozpouštědlo β -CD byla v literatuře² uvedena iontová kapalina [BMIm]⁺(dca)⁻ **2** (750g β -CD v 1 dm³ při 75 °C). Díky těmto skutečnostem byla pro reakci β -CD s kyselinou palmitovou

použita směs těchto dvou iontových kapalin **1** a **2** v různých poměrech. Reakční podmínky byly obdobné těm uvedeným v literatuře¹. Všechny reakce vykazovaly tvorbu hydrofilnějšího produktu, ten byl z reakční směsi separován vysrážením acetonem a přečištěn rekrystalizací z vody. Pomocí hmotnostní spektrometrie byl produkt určen jako monoester kyseliny palmitové a β -CD.

Vzhledem k těmto slibným předběžným výsledkům bude dále studována použitelnost této metody pro přípravu esterů dalších karboxylových kyselin a možnosti regioselektivní vícenásobné esterifikace.



- [HMIm]⁺BF₄⁻, tetrafluoroboritan 1-metylimidazolu
- [BMIm]⁺(dca)⁻, dikyanamid 1-butyl-3-metylimidazolu

LITERATURA

- Zhu H.-P., Yang F., Tang J., He M.-Y.: *Green. Chem.* 5, 38 (2003).
- Liu Q., Janssen M. H. A., van Rantwijk F., Sheldon A.: *Green.Chem.*, 7, 39 (2005).

NOVÉ REAKTIVÁTORY ACETYLCHOLINESTERASY S XYLENOVÝM ŘETĚZCEM – SYNTÉZA A *IN VITRO* TESTOVÁNÍ

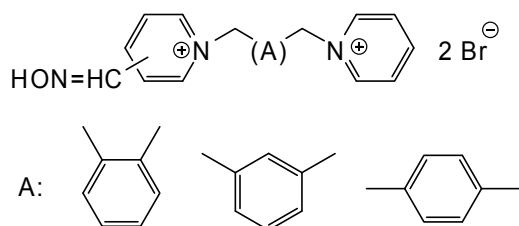
**JAN HAMBÁLEK^c, ONDŘEJ HOLAS^c,
ONDŘEJ SOUKUP^a, VERONIKA OPLETALOVÁ^c,
MARTIN DOLEŽAL^c, KAMIL KUČA^{a,b},
a KAMIL MUSÍLEK^{a,c}**

^aKatedra toxikologie; ^bCentrum pokročilých studií, Fakulta vojenského zdravotnictví Univerzity obrany Hradec Králové, Třebešská 1575, 500 01 Hradec Králové; ^cKatedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv, FarmF UK v Praze, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové musilek@pmfhk.cz

Organofosforové sloučeniny (OF) jsou dobře prozkoumanou skupinou látek. V minulosti byly používány pro vojenské účely jako nervově paralytické látky (NPL; např. tabun, sarin, soman, VX), v současnosti mají význam zejména v průmyslu (změkčovadla) a zemědělské výrobě jako pesticidy (např. paraoxon, chlorpyrifos, diazinon). Hrozba intoxikací těmito látkami neustále stoupá v souvislosti s rostoucím počtem živelných katastrof nebo teroristických útoků. Tyto látky inhibují ireverzibilně enzym acetylcholinesterasu (AChE, EC 3.1.1.7).

Jako účinná antidota se při těchto intoxikacích užívají oximové reaktivátory ve spojení s anticholinergikem atropinem. K nejčastěji používaným reaktivátorům AChE lze zařadit pralidoxim, trimedoxim, obidoxim, HI-6 a methoxim. Žádný z dosud známých reaktivátorů však není schopen uspokojivě reaktivovat AChE inhibovanou všemi typy OF.

Cílem práce byla příprava několika sérií nových látek jako potenciálních reaktivátorů AChE. Na základě rešeršní práce byl zvolen model bispyridiniové sloučeniny (Obr. 1) s jednou oximovou skupinou a xylenovým spojovacím řetězcem¹. U nových látek byla testována aktivita při *in vitro* pokusech.



Obr.1. Struktura nově připravených reaktivátorů AChE

Autoři děkují za finanční pomoc Ministerstvu obrany České republiky (grant č. FVZ0000604).

LITERATURA

- Musílek K., Holas O., Kuča K., Jun D., Dohnal V., Doležal M.: *J. Enzym. Inhib. Med. Chem.* 22, 425 (2007).

PŘÍPRAVA TRITERPENOIDNÍCH 2-DEOXYGLYKOSIDŮ S VÍCE SACHARIDOVÝMI JEDNOTKAMI

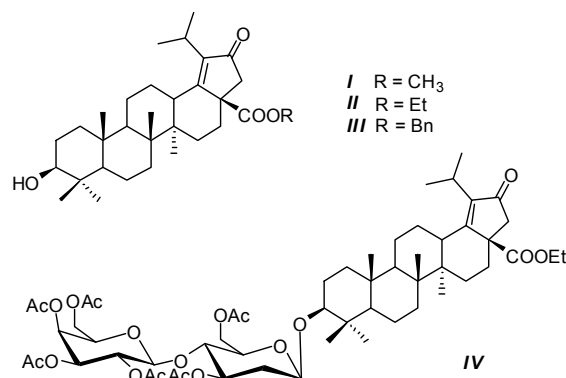
P. SPÁČILOVÁ^a, J. ŠAREK^a, M. HAJDÚCH^b a X. SVOBODOVÁ^c

^aKatedra organické a jaderné chemie, PšF UK v Praze, Hlavova 8, 128 43, Praha; ^bLab. experiment. medicíny, Dětská a Onkologická klinika, LF UP a FN Olomouc, Puškinova 6, 775 20 Olomouc; ^cI.Q.A., a.s. Jindřicha Plachty 16, 150 00 Praha 5
pavla.spacilova@gmail.com

Naše výzkumná skupina se dlouhodobě věnuje studiu triterpenoidních derivátů s protinádorovými účinky¹. V nedávné době byl zahájen výzkum sacharidových derivátů triterpenoidů. V rámci tohoto projektu byly již dříve připraveny² 2-deoxygalaktosidy a 2-deoxyglukosidy vybraných triterpenoidních hydroxyderivátů, které se ukázaly jako perspektivní co se týče jejich cytotoxických účinků, tak i rozpustnosti v médiích založených na vodné bázi³.

V rámci této práce byly adicí acetylovaného laktalu na 3 β -hydroxyestery *I*, *II* a *III* připraveny acetylované 2-deoxylaktosidy (např. *IV*). Dále byly zkoušeny adice acetylovaného galaktalu na volné glukosidy lupanových triterpenoidů. Ze všech 2-deoxyglykosidů byly Zemplénovou deacetylací připraveny volné 2-deoxyglykosidy.

U všech nových sloučenin byla testována cytotoxická aktivita vůči buněčné linii CEM. U volných 2-deoxyglykosidů byla prokázána též výrazně lepší rozpustnost v médiích založených na vodné bázi. Struktury všech nově připravených sloučenin byly potvrzeny spektrálními daty.



Režijní náklady byly hrazeny z výzkumného záměru MSM0021620857, chemikálie a rozpouštědla byly financovány z grantů MPO FT-TA 027 a GA UK 50807.

LITERATURA

- Dzubak P., Hajduch M., Vydra D., Hustova A., Kvasnica M., Biedermann D., Markova L., Urban M., Sarek J.: *Nat. Prod. Rep.* 23, 394 (2006).
- Spáčilová P.: *Bakalářská práce*. Univerzita Karlova v Praze, Praha 2006.
- Šarek J., Hajdúch M., Svoboda M., Nováková K.: *PV* 2006-606.

DEPROTEKCE TRITYLOVÉ CHRÁNÍCÍ SKUPINY 5-SUBSTITUOVANÝCH-1H-TETRAZOLŮ

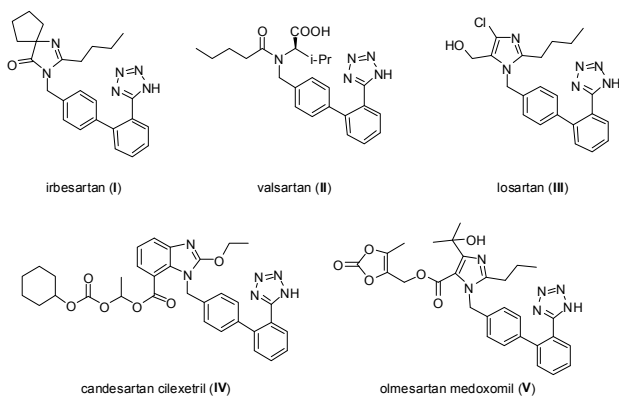
JAN STACH, STANISLAV RÁDL a ROBERT KLVAŇA

Zentiva, a.s., U kabelovny 130, 102 37 Praha 10
jan.stach@zentiva.cz, stanislav.radl@zentiva.cz

Chránění 5-substituovaných-1H-tetrazolů tritylovou skupinou se využívá při výrobě některých významných antihypertenziv ze skupiny selektivních antagonistů angiotensinu II, takzvaných sartanů. Tradiční způsob deprotektce spočívá v působení minerální kyseliny za vzniku volného tetrazolového derivátu a tritylalkoholu¹.

V rámci vývoje některých generických léčiv ze skupiny sartanů byly nalezeny nové postupy, které usnadňují výrobu v průmyslovém měřítku a také umožňují vyhnout se vedlejším reakcím. Deprotekce methanolýzou, při níž je tritylová skupina převedena na methyltritylether, byla použita v přípravě irbesartanu (*I*), valsartanu (*II*) a draselné soli losartanu (*III*). V případě přípravy proléčiv candesartanu cilexetilu (*IV*) a olmesartanu medoxomilu (*V*), které obsahují labilní metabolicky odbouratelné funkční skupiny, byla k deprotektce použita reakce s vodou v dipolárních aprotických rozpouštědlech nebo reakce v acetonitrilu s obsahem ekvivalentu vody katalyzovaná chloridem zinečnatým.

V příspěvku bude diskutována použitelnost jednotlivých metod a podmínky provedení reakce a následné izolace.



LITERATURA

- Greene T. W., Wuts P. G. M.: *Protecting Groups in Organic Synthesis*, 3rd ed. John Wiley, NY 1999.

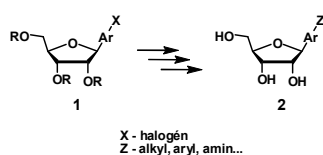
SUBSTITUOVANE ARYL C-RIBONUKLEOZIDY

MARTIN ŠTEFKO a **MICHAL HOCEK***

Gilead Sciences & IOCB Research Center, Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, Flemingovo 2, 166 10 Praha 6
 stefko@uochb.cas.cz, hocek@uochb.cas.cz

C-Ribonukleozidy predstavujú skupinu látok, v ktorých je glykozidická C-N väzba nahradená väzbou C-C, čím sa takéto zlúčeniny stávajú stabilnejšie voči chemickej a enzymatickej hydrolyze. C-Nukleozidy sú taktiež dôležité analógy prírodných nukleosidov, ktoré majú zaujímavé antivírové a proti nádorové vlastnosti a ich inkorporácia do molekuly RNA umožňuje študovať zmeny v stabilite takto modifikovaného RNA reťazca.

Príprava C-nukleozidov predstavuje komplexný problém, riešenie ktorého vedie vo väčšine prípadov ku komplikovanej syntéze¹, vyznačujúcej sa nízkou selektivitou (β -anomér), výťažkami a nutnosťou používať komplikované reagenty. V našej skupine vyvíjame všeobecnú modulárnu metodiku ich syntézy². Budú prezentované pokroky vo vývoji tejto metodiky, vedúcej k aryl-C-ribonukleozidom.



Táto práca je súčasťou výskumného projektu Z4 055 905 a bola podporená Centrom Biomolekúl a komplexných molekulárných systémov (LC512), NIH, Fogarty International Center (grant 1R03TW007372-01) a Gilead Sciences, Inc (Foster city, CA, USA).

LITERATURA

- Wu Q. P., Simons C.: *Synthesis* 2004, 1533.

- (a) Hocek M., Pohl R., Klepetářová B.: *Eur. J. Org. Chem.* 2005, 4525. (b) Urban M., Pohl R., Klepetářová B., Hocek M.: *J. Org. Chem.* 71, 7322 (2006). (c) Joubert N., Pohl R., Klepetářová B., Hocek M.: *J. Org. Chem.* 72, 6797 (2007).

AN EXPLANATION OF THE DIFFERENT GENOTOXICITY OF THE URBAN AIR POLLUTANTS 3-NITROBENZANTHRONE AND 2-NITROBENZANTHRONE

M. STIBOROVÁ^a, V. MARTÍNEK^a, V.M. ARLT^b, M. SVOBODOVÁ^a, J. ŠÍSTKOVÁ^a, E. FREI^c, H.H. SCHMEISER^c, and D.H. PHILIPS^b

^aDept Biochem., Fac. Sci., Charles University Prague, Albertov 2030, 12840 Prague 2, Czech Republic; ^bSection of Molecular Carcinogenesis, Institute of Cancer Research, Sutton, Surrey SM2 5NG, UK; ^cDiv. Mol. Toxicol., German Cancer Research Center, D-69120 Heidelberg, Germany
 stiborov@natur.cuni.cz

3-Nitrobenzanthrone (3-NBA), a carcinogen causing development of lung cancer in rats, was identified in diesel exhaust and ambient air particulate matter¹. An isomer of this compound, 2-nitrobenzanthrone (2-NBA), can be formed under atmospheric conditions from benzanthrone, a widely distributed contaminant in the atmosphere, and nitrogen oxides¹. In contrast to similarities of the structures of both pollutants, the genotoxic potential of 2-NBA is much lower than that of 3-NBA². The different mutagenicity might follow from a lower potential of 2-NBA than 3-NBA to form DNA adducts. While 3-NBA is reductively activated to species forming DNA adducts by NAD(P)H:quinone oxidoreductase (NQO1), xanthine oxidase and NADPH:P450 reductase, no 2-NBA-DNA adducts were detectable under the same conditions. Since 3-NBA is predominately activated by NQO1, the efficiency of this enzyme to reduce 3-NBA and 2-NBA was investigated. While 3-NBA is effectively reduced to form DNA adducts and a final reduction metabolite, 3-aminobenzanthrone, no reduction by this enzyme was detectable for 2-NBA. To examine the molecular basis of the differences in the reductive activation of both nitrobenzanthrones by NQO1, the binding of 3-NBA and 2-NBA to the active centre of NQO1 was modelled. The calculated model structures for the NQO1-3-NBA- and NQO1-2-NBA complexes indicate that both compounds fit well into the active site of NQO1, having similar binding affinities. However, the nitro group of 2-NBA is oriented far from the redox centres of the isoalloxazine skeleton of the NQO1 flavin prosthetic group, while that of 3-NBA is located close to hydrogens of the middle ring of this molecule. This allows an electron transfer during the reduction of 3-NBA but not of 2-NBA.

Supported by Grant Agency of CR (303/05/2195) and by Ministry of Education of Czech Republic (MSM 0021620808).

REFERENCES

1. Arlt V.M.: *Mutagenesis* 20, 399 (2005).
2. Arlt V.M., Glatt H., Gamboa da Costa G., Reynisson J., Takamura-Enya T., Phillips D.: *Toxicol. Res.* 98, 445 (2007).

LC-NMR, HPLC S NMR DETEKČÍ

**JAN SÝKORA, MILAN KURFÜRST,
VRATISLAV BLECHTA a JAN SCHRAML**

*Ústav chemických procesů AV ČR, v.v.i., Rozvojová 135,
165 02 Praha 6 – Suchbátka
sykora@icpf.cas.cz*

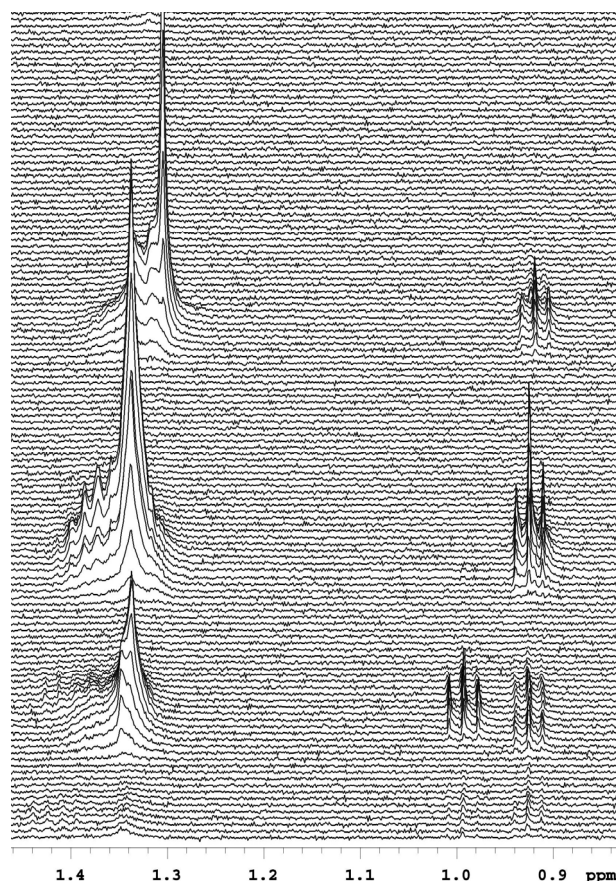
LC-NMR je experimentální metoda, která kombinuje HPLC a (¹H) NMR spektroskopii¹. Pomocí této metody můžeme určit jednotlivé složky i v komplikované směsi. Princip je velice prostý, směs je nastříknuta do HPLC, kde se látky na vhodné koloně rozdělí a již separované se tenkou kapilárou převedou do NMR spektrometru. NMR spektra se měří ve speciální sondě s průtočnou celou. Aktivní objem naší cely je 60 μl, což umožňuje detekovat organické látky v mikrogramových množstvích. Důležité je potlačování signálu rozpouštědla, to se provádí pomocí standardní pulsní sekvence (např. WET²), která umožňuje rutinní potlačení až sedmi signálů rozpouštědel. Je ovšem možné nahradit běžná rozpouštědla deuterovanými, tím docílíme dalšího snížení nežádoucího signálu rozpouštědla.

LC-NMR můžeme provádět ve dvou základních experimentech, prvním je tzv. „on-flow“ experiment, kdy během HPLC separace opakovaně měříme a ukládáme ¹H NMR spektra. Výsledkem je pak pseudo-2D spektrum, ve kterém máme ¹H chemický posun na horizontální a eluční čas s chromatogramem na vertikální ose. Detekčním limitem jsou desítky mikrogramů látky. Druhým typem experimentu je tzv. „stop-flow“ experiment, kdy je oddělená frakce zastavena v sondě a NMR spektrum pak může být změřeno s dostatečným počtem průchodů, případně se mohou změřit i 2D experimenty jako COSY nebo HSQC, které ještě více napoví o struktuře zachycené látky. Detekčním limitem jsou v takovém případě stovky nanogramů látky v nástřiku.

Vedle koncentrací analyzovaných látek je účinnost metody limitována hlavně čistotou používaných rozpouštědel z hlediska NMR, problémem jsou většinou stabilizátory v běžných HPLC rozpouštědlech, které sice neabsorbují v UV oblasti, jsou ale patrné v ¹H spektrech. Často je tak třeba zaběhanou HPLC metodu přepracovat podle nároků NMR.

I přes uvedená omezení nachází LC-NMR uplatnění při analýzách přírodních extraktů, zejména při identifikaci různých isomerů³, kontrole čistoty léčiv a analýzách metabolitů v tělních tekutinách⁴, identifikaci jednotlivých reakčních produktů⁵. Poslední skupinou látek vhodných k LC-NMR analýze jsou sloučeniny sice s nízkou UV absorpcí, ale s větším počtem ekvivalentních vodíkových atomů, které v ¹H NMR spektrech poskytují dostatečný signál k detekci již v „on-flow“ módu (mastné kyseliny⁶, dimethylsiloxany⁷). V takovém případě můžeme NMR spektrometr použít nejen pro

identifikaci jednotlivých látek, ale i jako detektor pro kontrolu jejich separace.



Obr. 1. Pseudo-2D spektrum separace volných mastných kyselin. Od spodu: koeluce α - a γ -linolenové kyseliny, linoleová kyselina, koeluce olejové a stearové kyseliny. On-flow mód.

Práce je podporována grantem GA ČR 203/06/0738.

LITERATURA

1. Albert K. (ed): *On-line LC-NMR and Related Techniques*. John Wiley & Sons, Chichester 2002.
2. Smallcombe S.H., Patt S.L., Keifer P.A.: *J. Magn. Reson.* 117, 295 (1995).
3. Albert K.: *J. Chromatogr., A* 856, 199 (1999).
4. Shockcor J.P., Unger S.E., Savina P., Nicholson J.K., Lindon J.C.: *J. Chromatogr., B* 748, 269 (2000).
5. Maiwald M., Fischer H.H., Kim Y.K., Albert K., Hasse H.: *J. Magn. Reson.* 166, 135 (2004).
6. Sýkora J., Bernášek P., Zarevúcká M., Kurfürst M., Sovová H., Schraml J.: *J. Chromatogr., A* 1139, 152 (2007).
7. Blechta V., Sýkora J., Heflejš J., Šabata S., Schraml J.: *Magn. Reson. Chem.* 44, 7 (2006).

SYNTEZA C-GLYKOSYLOVANÝCH DIPYRROLŮ A DIPYRRINŮ

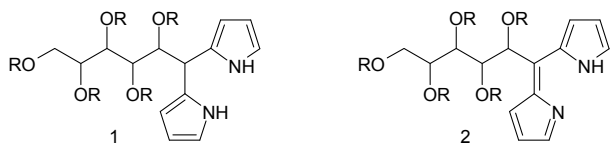
ONDŘEJ ŠIMÁK a PAVEL DRAŠAR

Ústav chemie přírodních látek, VŠCHT Praha, Technická 5,
166 28 Praha 6
Ondrej.Simak@vscht.cz, Pavel.Drasar@vscht.cz

Naše práce se zabývá přípravou chirálních dipyrrolů a dipyrinů odvozených od sacharidů. Komplexy dipyrrolů s přechodnými kovy jsou známy jako katalyzátory organických reakcí¹. Jejich spojení s chirální molekulou sacharidu by mohlo vést k jejich využití v enantioselektivní katalýze.

Konjugované dipyrroly (dipyriny) a jejich schopnost komplexovat různé kovy je známa od roku 1924, kdy byla publikována práce Fishera a Schuberta². V ní jsou popsány první oxidace dipyrrolových systémů, které se předtím využívaly hlavně pro přípravu porfyrinů. Tyto látky mají stejně jako porfyriny schopnost vázat různé atomy kovů. Narozdíl od planárních porfyrinů, kde kov zapadne do prostoru uvnitř porfyrinového jádra, jsou dipyrrolové jednotky orientovány na většině atomů kovů rovinami kolmo vůči sobě³.

Naše práce je zaměřena na přípravu, podrobný analytický popis dipyrrolů a dipyrinů substituovaných v *meso* poloze „C-glykosidy“⁴. Sacharidy jsou k molekule připojeny nehydrolyzovatelnou C-C vazbou. Sacharidová složka nám poskytne nejen chirální vektory pro naše látky, ale díky snadné derivatizaci hydroxylových skupin nám umožní získat látky se stejnou chiralitou, ale různou polaritou. Porovnání různě substituovaných dipyrinů z hlediska předpokládaných samoskladných vlastností v roztoku by mohlo přispět k odhalení procesů, které se při tomto fenoménu uplatňují.



Práce je podporována projekty MŠMT MSM6046137305, IP04OCD31.001, NVP-II Suprafyt a GA ČR 203/06/0006.

LITERATURA

1. Fu G. C.: Acc. Chem. Res. 39, 853 (2006); Maier T. C., Fu G. C.: J. Am. Chem. Soc. 128, 4594 (2006)
2. Fischer H., Schubert M.: Ber. Dtsch. Chem. Ges. 57, 610 (1924).
3. Cotton F. A., DeBoer B. G., Pipal J. R.: Inorg. Chem., 9, 783 (1970).

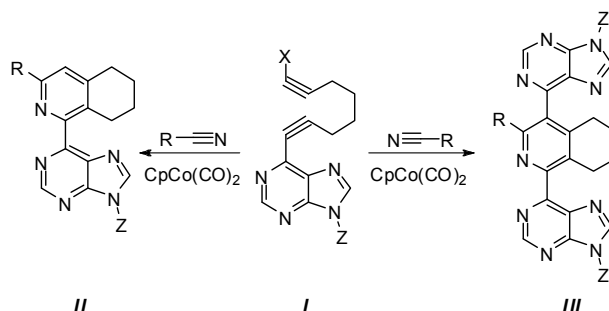
PŘÍPRAVA 6-(TETRAHYDROISOCHINOLINYL) PURINOVÝCH DERIVÁTŮ KOCYKLOTIMERIZACÍ 6-DIYNYLPURINŮ S NITRILY

PAVEL TUREK^{a,b}, MICHAL HOCEK^b
a MARTIN KOTORA^{a,b}

^aKatedra organické a jaderné chemie, PŘF UK v Praze, Hlavova 8, 128 43 Praha 2; ^bÚstav organické chemie a biochemie AV ČR, Flemingovo 2, 166 10 Praha 6
katora@natur.cuni.cz; turpav@uochb.cas.cz

6-Arylpurinové báze a nukleosidy vykazují zajímavé biologické vlastnosti (cytostatická, antibakteriální a antimykobakteriální aktivita)¹. Nedávno jsme ukázali, že [2+2]-cyklotrimerizace 6-alkynylpurinů s dalšími s diyny katalyzovaná komplexy přechodných kovů (zejména komplexy Ni a Co) je vhodným postupem pro syntézu celé řady substituovaných 6-arylpurinů².

Dalším cílem naší práce bylo vypracovat metodu pro přípravu nových potenciálně biologicky aktivních heterocyklických derivátů purinů **II** a **III**, které byly připraveny kocyklotrimerizací 6-diylnylpurinů **I** s řadou různých nitrilů.



Na modelové reakci cyklotrimerizace 6-oktadiynylpurinů s nitrily v přítomnosti stechiometrického množství komplexu CpCo(CO)₂ byly zkoumány různé reakční podmínky (zahřívání, ozařování světlem, mikrovlnné záření). V další části byly porovnávány stechiometrické a katalytické reakce. Tytéž reakční podmínky byly použity pro cyklotrimerizace 1,7-bis(purinyldiynů s nitrily, které vedly k tvorbě 1,4-bis(purinyldiynů)isochinolinů (**III**). Získané deriváty byly testovány *in vitro* na cytostatickou aktivitu.

Práce byla provedena za podpory grantu MŠMT (1M0508).

LITERATURA

1. Hocek M., Holý A., Votruba I., Dvořáková H.: J. Med. Chem. 43, 1817 (2000).
2. (a) Turek P., Katora M., Hocek M., Císařová I.: Tetrahedron Lett. 44, 785 (2003). (b) Turek P., Katora M., Tišlerová I., Hocek M., Votruba I., Císařová I.: J. Org. Chem. 69, 9224 (2004). (c) Turek P., Novák P., Pohl R., Hocek M., Katora M.: J. Org. Chem. 71, 8978 (2006).

SLOŽENÍ SEKRETŮ EXOKRINNÍCH ŽLÁZ KRÁLOVEN ČMELÁKA ZEMNÍHO (*Bombus terrestris*) A ZMĚNY V PRŮBĚHU ŽIVOTA

KLÁRA URBANOVÁ^{a,b}, LUCIE CAHLÍKOVÁ^{a,b},
OLDŘICH HOVORKA^a, VLADIMÍR PTÁČEK^c,
a IRENA VALTEROVÁ^a

^aÚstav organické chemie a biochemie AVČR, Flemingovo 2, 166 10 Praha 6; ^bVŠCHT, Technická 5 166 28 Praha 6; ^cMasarykova Univerzita, Žerotínovo nám. 9, 601 77 Brno
urbanova@uochb.cas.cz

Chemická komunikace má důležitou úlohu při rozmnožování většiny druhů hmyzu. Čmeláci komunikují pomocí sekretů produkovaných exokrinními žlázami. Jedním z těchto sekretů je značkový feromon samců. Od dob, kdy bylo poprvé popsáno jeho složení^{1, 2}, byly studovány také ostatní chemické signály čmeláků. Nejvíce popsaných druhů bylo ze Skandinávie^{3, 4}. Z chemického hlediska existuje méně informací o sexuálním feromonu královen. Van Honk et al.⁵ popsal, že sekret mandibulární žlázy obsahuje sexuální feromon, který vyvolává pářící chování u samců stejného druhu.

Byl analyzován sekret tří žláz (mandibulární, labiální a Dufourový žlázy) panenských královen *Bombus terrestris* v různém stáří jedinců (1-18 dní). V extraktech těchto tří žláz bylo identifikováno více než 100 látek. Tyto látky zahrnují široké spektrum sloučenin: nasycené i nenasycené uhlovodíky, alifatické alkoholy, aldehydy, mastné kyseliny a jejich estery a isoprenoidy. Mnoho látek je přítomno pouze v minoritním nebo stopovém množství. Velmi mladé královny (1-2 dny staré) produkují jen malé množství sekretu ve všech žlázách. Množství sekretu, stejně jako počet látek roste do jisté míry s věkem královen. EAG-aktivní látky, známé z literatury⁶, byly identifikovány v mandibulární a labiální žláze. V Dufourově žláze byly tyto látky nalezeny pouze ve stopovém množství. Změny obsahu těchto látek v závislosti na věku královen budou diskutovány.

Práce byla provedena za podpory Grantové agentury Akademie věd České republiky (# IAA 4055403) a Ministerstva školství České republiky (#2B06007).

LITERATURA

1. Calam D. H.: *Nature* 221, 856 (1969).
2. Kullenberg B., Bergström G., Ställberg-Stenhagen S.: *Acta Chem. Scand.* 24, 1481 (1970).
3. Bergström G., Svensson B.G., Appelgren M., Groth I. in: *Biosystematics of social insects*. pages 175-183 (Howse P.J., Clément J.-L., ed.) Academic Press, London, New York 1981.
4. Valterová I., Urbanová K.: *Chem. Listy* 91, 846 (1997).
5. Van Honk C.G.J., Velthuis H.H.W., Röseler P.-F.: *Experientia* 34, 838 (1978).
6. Krieger G.M., Duchateau M.-J., Van Doorn A., Ibarra F., Francke W., Ayasse M.: *J. Chem. Ecol.* 32, 453, (2006).

(TRANS)DERMÁLNÍ PODÁNÍ A METABOLISMUS cPr-PMEDAP

**KATEŘINA VÁVROVÁ^a, PETRA KOVAŘÍKOVÁ^b
a ALEXANDR HRABÁLEK^a**

^a Výzkumné centrum Nová antivirotika a antineoplastika;
^b Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv, FarmF UK, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové
katerina.vavrova@faf.cuni.cz

9-(2-Fosfonomethoxy)ethyl-*N*⁶-cyklopropyl-2,6-diaminopurin (cPr-PMEDAP) je látka ze skupiny acyklických nukleosidfosfonátů s vysokou protinádorovou aktivitou¹⁻⁴. cPr-PMEDAP je proléčivem 9-(2-fosfonomethoxy)ethylguaninu (PMEG)⁵; tato aktivace je zřejmě specifická pro určité typy nádorů².

Cílem naší práce bylo studovat vstup cPr-PMEDAP přes kožní bariéru a) do epidermis a dermis a b) do systémové cirkulace a pokusit se jeho absorpci zvýšit pomocí permeačních akceleračních látek.

Flux cPr-PMEDAP přes živou lidskou kůži i jeho průnik do hlubších kožních vrstev jsou velmi nízké; látka se kumuluje ve *stratum corneum*. Přídavek 1 % permeačního akceleračního dodecyl-6-(dimethylamino)hexanoátu (DDAK) zvýšil hodnoty fluxu cPr-PMEDAP 56krát a jeho koncentraci v epidermis a dermis 20-40krát. V kůži jsme nepozorovali deaminaci na PMEG; majoritní rozkladná reakce byla identifikována jako *N*⁶-dealkylace.

Práce byla podpořena Výzkumným centrem Nová antivirotika a antineoplastika IM0508 a Výzkumným záměrem MSM0021620822.

LITERATURA

1. Holy A., Zidek Z., Votruba I.: *Collect. Czech Chem. Commun.* 61, S182 (1996).
2. Naesens L., Hatse S., Segers C., Verbeke E., De Clercq E., Waer M., Balzarini J.: *Oncology Res.* 11, 195 (1999).
3. Compton M.L., Toole J.J., Paborsky L.R.: *Biochem. Pharmacol.* 58, 709 (1999).
4. Hatse S., Naesens L., De Clercq E., Balzarini J.: *Biochem. Pharmacol.* 58, 311 (1999).
5. Schinkmanova M., Votruba I., Holy A.: *Biochem. Pharmacol.* 71, 1370 (2006).

HYDROPHOBIC PROPERTIES OF SUBSTITUTED SALICYLANILIDE ESTERS OF AMINO ACIDS

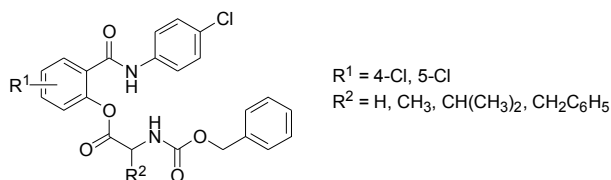
**JOSEF JAMPÍLEK^{a,c}, JARMILA VINŠOVÁ^b,
ALEŠ IMRAMOVSKÝ^b, JUANA MONREAL-FÉRRIZ^b
a JIŘÍ DOHNAL^{a,c}**

^aZentiva a.s., U kabelovny 130, 102 37 Prague 10; ^bDept Inorg. Org. Chem., Faculty of Pharmacy, Charles University in Prague, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové; ^cDept Chem. Drugs, Faculty of Pharmacy, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Palackého 1/3, 612 42 Brno
vinsova@faf.cuni.cz; josef.jampilek@zentiva.cz

One of the major prerequisites for the drug development is the transport of a molecule through cellular membranes. The drugs cross biological barriers most frequently through passive transport, which strongly depends on the lipophilicity.

Therefore hydrophobicity is the most important physical property of biologically active compounds.

Some substituted salicylanilide esters of acetic acid showed significant antimicrobial activities¹. The lipophilicity of various substituted salicylanilide esters was determined by means of the RP-HPLC method^{2,3}. Another series of fourteen substituted salicylanilide esters of amino acids were prepared and analyzed using the RP-HPLC method for the lipophilicity measurement. The procedure was performed under isocratic conditions with methanol as an organic modifier in the mobile phase using end-capped non-polar C₁₈ stationary RP column.



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

This study was supported by MSM 0021620822 and FRVŠ 231/2007/G6.

REFERENCES

1. Vinšová J., Imramovský A., Buchta V., Čečková M., Štaud F., Jampilek J., Kaustová J.: *Molecules* 12, 1 (2007).
2. Jampilek J., Vinšová J., Imramovský A., Dohnal J.: *Chem. Listy* 95, 846 (2005).
3. Jampilek J., Vinšová J., Imramovský A., Monreal-Ferriz J., Dohnal J.: *ChemZi* 3, 212 (2007).

FARMACEUTICKÉ APLIKACE CHITOSANU

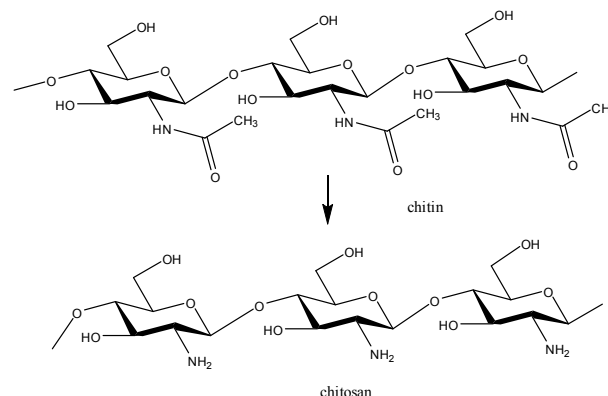
JARMILA VINŠOVÁ a EVA VAVŘÍKOVÁ

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

Modifikace molekul za účelem zlepšení jejich biologické aktivity, dosažení vyšší selektivity, prodloužení účinku, snížení toxicity, zlepšení chemické stability a zdokonalení formy podání (např. vzrůst hydrosolubility) je základním obsahem prodrug designu. Design proléčiv je cílen na překonání četných bariér, které musí látka zdolat dříve, než se dostane na místo účinku. V místě svého působení se uvolňuje enzymatickou či chemickou cestou.

Jako vhodné biodegradabilní nosiče léčiv jsou v dnešní době stále častěji využívány polymerní typy látek. Používají se k pomalému uvolňování účinné složky tedy jako depotní látky, ke zvyšování rozpustnosti a lepší možnosti podání. Mezi

přirodní polymery typu polysacharidů patří chitosan, který se připravuje z chitinu alkalickou či enzymovou hydrolyzou¹.



Má vynikající vlastnosti, je netoxický, biokompatibilní a biodegradabilní². Díky volným hydroxylovým skupinám a aminoskupinám dovoluje přípravu mnoha ve vodě rozpustných či nerozpustných forem. Používá se v celé řadě oborů zahrnujících biomedicínu, kosmetiku, zemědělství, textilní průmysl, v potravinářství pro konzervace potravin, při čištění vody apod. V prezentaci bude věnována pozornost především jeho antibakteriální, antioxidační a protinádorové aktivitě.

Tato práce vznikla s finanční podporou MSM 0021620822 a GAUK 76807/2007.

REFERENCES

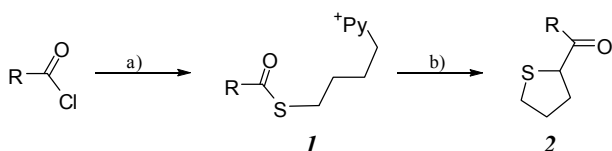
1. Uraganu T., Tokata S (ed.): *Material Science of Chitin and Chitosan*, p. 165, Springer, New York 2006.
2. Shibata Y., Metzger W.J., Myrvik Q.N.: *J. Immunol.* 159, 2462 (1997).

PYRIDINIOVÉ YLIDY – VYUŽITÍ K PŘÍPRAVĚ TETRAHYDROTHIOFENU

JIŘÍ ŠROGL a SVATAVA VOLTROVÁ

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

Príspevek popisuje nový způsob přípravy derivátů 2-acyltetrahydrothiofenu **2** ze snadno dostupných pyridiniových kvarterních solí působením báze. Kvarterní soli **1**, kde R = methyl, (subst.) fenylyl, 2-furylyl, 2-thienylyl apod., byly připraveny reakcí chloridů kyselin a alkylsulfidu získaného *in situ* z příslušné isothiuroniové soli (Schéma 1).

Schéma 1. a) $\text{Py}^+(\text{CH}_2)_4\text{SH}$, H_2O , b) báze, DMA

Působením báze K_2CO_3 nebo Cs_2CO_3 vzniká ylid, jehož intramolekulární adicí na karbonylovou skupinu thioesteru a následným přesmykem spolu s odštěpením pyridinu dochází k uzavření tetrahydrothiofenového kruhu.

Autoři děkují Ústavu organické chemie a biochemie AV ČR, v.v.i., za podporu tohoto projektu.

LITERATURA

1. Litvinov V.P., Shestopalov A.M.: Russ. J. Org. Chem. 33, 903 (1997).

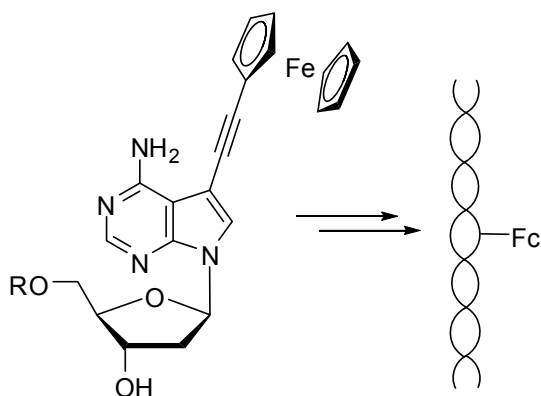
PRÍPRAVA MODIFIKOVANÝCH NUKLEOZIDOV A OLIGONUKLEOTIDOV NESÚCICH KOMPLEXY KOVOV A ICH VYUŽITIE V BIOANALÝZE

MILAN VRÁBEL^a, MICHAL HOCEK^{a*}
a **MIROSLAV FOJTA^b**

^aÚstav organické chemie a biochemie AV ČR, Gilead Sciences & IOCB Research Center, Flemingovo 2, 166 10 Praha 6,;

^bBiofyzikální ústav AV ČR, Královopolská 135, 612 65 Brno
vrabel@uochb.cas.cz, hocek@uochb.cas.cz

Oligonukleotidy nesúce elektrochemické alebo luminesenčné markery sú často používaným bioanalytickým nástrojom v chemickej biológii a biofyzike. Ich využitie pri štúdiu procesov akými sú hybridizácia DNA alebo prenos náboja v nukleových kyselinách si vyžadujú vývin efektívnych metód prípravy takto značených oligonukleotidov. Práca sa zaoberá prípravou nukleozidov¹ a oligonukleotidov² nesúcich komplexov kovov a ich využitím v bioanalytických aplikáciách.



Schéma

Použitím paládiom katalyzovaných cross-coupling reakcií je možné efektívne pripraviť takto modifikované nukleozidy a nukleotidy a ich následnou inkorporáciou príslušne značené oligonukleotidy (Schéma).

Tento projekt bol podporený: EC Specific Targeted Research Project, Control of Assembly and Charge Transport Dynamics of Immobilized DNA (CIDNA), GAČR (grant number No. 203/05/0043 a 203/05/H001), Ministerstvom školstva LC 512 a LC06035 a Gilead Sciences.

LITERATURA

1. Vrábel M., Hocek M., Havran L., Fojta M., Votruba I., Kepetářová B., Pohl R., Rulišek L., Zendlová L., Hobza P., Shin I-Hung, Mabery E., Mackman R.: Eur. J. Inorg. Chem. 2007, 1752.
2. Vrábel M., Pohl R., Kepetářová B., Votruba I., Hocek M.: Org. Biomol. Chem. 5, 2849 (2007).
3. Brázdilová P., Vrábel M., Pohl R., Pivoňková H., Havran L., Hocek M., Fojta M.: Chem. Eur. J., in press.

NOVÝ POSTUP SYNTÉZY *N,N*-DIMETHYLAMIDŮ SKOŘICOVÝCH KYSELIN A VYUŽITÍ HUMINOVÝCH LÁTEK PŘI ČIŠTĚNÍ VZNIKAJÍCÍCH ODPADNÍCH VOD

PETR VAREČKA^a, LIBOR DUŠEK^a
a **TOMÁŠ WEIDLICH^a**

^aÚstav ochrany životního prostředí, Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice, 532 10 TP Doubravice 41
VareckaPetr@seznam.cz; libor.dusek@upce.cz;
tomas.weidlich@upce.cz

Skořicové kyseliny a jejich deriváty, například amidy, jsou důležitými chemickými specialitami používanými jako složky kosmetických přípravků a léčiv¹. Nejznámější metodou syntézy skořicových kyselin je tzv. Perkinova syntéza², tedy reakce aromatického aldehydu s acetanhydridem v přítomnosti báze. Pro přípravu odpovídajících amidů je nutné převedení skořicových kyselin na chloridy a reakce s příslušným aminem. Syntéza je tedy třístupňová a vzniká při ní značné množství vedlejších produktů, jako jsou anorganické soli, případně oxid siřičitý.

Jinými způsoby syntézy skořicových kyselin, které vycházejí z aromatických aldehydů je Horner-Wadsworth-Emmons reakce, ve které reagují aromatické aldehydy s alkylofosfonáty v přítomnosti silné báze³, Petersonova reakce⁴, reakce substituovaných benzaldehydů se silylovanými deriváty kyseliny octové. Jako výchozí látky mohou posloužit i substituované styreny⁵ a fenylacetyleny⁶, tyto reakce jsou katalyzovány komplexy přechodných kovů, niklu⁶ a ruthenia⁵. Hlavní nevýhodou uvedených reakcí je, že pracují s drahými katalyzátory na bázi těžkých kovů^{5, 6}, produkují stechiometrická množství vedlejších produktů (Horner-Wadsworth-Emmons reakce a Petersonova reakce) a používají stechiometrického množství drahých a z požárně-bezpečnostního hlediska

nebezpečných bazí. Tato alkylační činidla jsou toxická, ethylhalogenidů se jedná o nízkovroucí a v přírodě špatně odbouratelné sloučeniny.

Vyvinuli jsme metodu syntézy *N,N*-dimethylamidů skořicových kyselin založenou na kondenzaci *N,N*-dimethylacetamidu s aromatickými aldehydy v přítomnosti uhličitanu draselného jako báze. Reakce probíhá za normálního tlaku při teplotě 135 °C, úplné konverze je dosaženo po asi 48 hodinách reakce, viz. schéma 1.

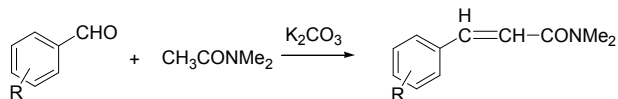


Schéma 1.

N,N-Dimethylamidy skořicových kyselin lze snadno izolovat po vakuovém oddestilování *N,N*-dimethylacetamidu promytím vodou a rafinovat krystalizací z vhodného rozpouštědla. Použitý *N,N*-dimethylacetamid lze bez problémů regenerovat a znovu použít, pro čištění vznikajícího proudy odpadní vody jsme použili sorbenty na bázi oxyhumolitu a soli huminových kyselin.

Tato práce byla uskutečněna s finanční podporou projektu MPO (2A/ITP1/130).

LITERATURA:

1. a) Huglin D., Luther H., Reinehr D.: PCT Int. Appl. WO 9908653 (1999); Chem. Abstr. 130, 187013 (2000).
b) Isozaki M., Kasukawa H., Nakazawa K., Houki K.: PCT Int. Appl. WO 9513264 (1995) Chem. Abstr. 123, 340182 (1995).
2. Thayer F.K.: Org. Synth. Coll. Vol. 1, 398 (1941).
3. A. Ianni, S. R. Waldvogel: Synthesis 2006, 2103.
4. Kojima S., Inai H., Hidaka T., Fukuzaki T., Ohkata K.: J. Org. Chem. 67, 4093 (2002).
5. Choi T.-L., Chatterjee A.K., Grubbs R.H.: Angew. Chem. Int. Ed. 40, 1277 (2001).
6. Fukuoka, S. Ryang M., Tsutsumi S.: J. Org. Chem. 33, 2973 (1968).

SYNTÉZA DERIVÁTU CALIX[4]ARENU PRO PŘÍPRAVU SELF-ASSEMBLY SYSTÉMU NA POVRCHU ZLATA

MARKÉTA ZAJÍCOVÁ, JAN BUDKA, IVAN STIBOR a PAVEL LHOTÁK

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

Calixareny jsou makrocyclické sloučeniny, které jsou využívány v supramolekulární chemii jako základní prvky pro konstrukci receptorů, senzorů, self-assembly systémů apod.

Připravili jsme derivát calix[4]arenu (schéma 1), který by mohl být dále modifikovatelný tak, aby po zavedení -SH

skupiny na alkyly na spodním okraji molekuly a po vhodné derivatizaci horního okraje, mohl vytvořit SAM na povrchu zlata.

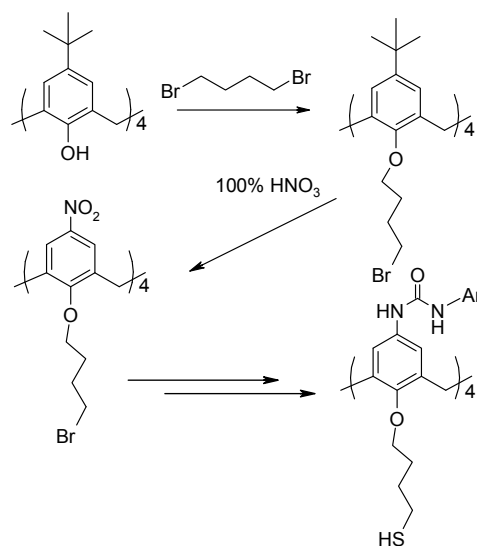


Schéma 1. Příprava derivátu calixarenu pro tvorbu SAM na zlatě

Tento projekt je podporován Grantovou agenturou ČR (grant 104/07/1242) a MŠMT ČR (Centrum pro výzkum LC06070)

LITERATURA

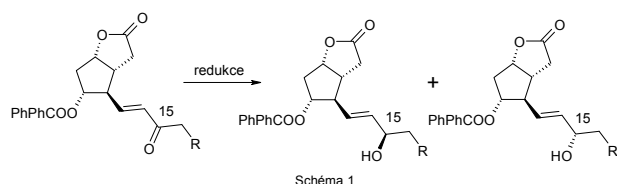
1. Iwamoto K., Araki K., Shinkai S.: J. Org. Chem. 56, 4955 (1991).
2. Kelderman E., Derhaeg L., Heesink G. J. T., Verboom W., Engbersen J. F. J., van Hulst N. F., Persoons A., Reinhoudt D. N.: Angew. Chem., Int. Engl. 31, 1075 (1992).

DESIGN NOVÝCH KATALYZÁTORŮ PRO STUDIUM STEREOSELEKTIVNÍCH REDUKCÍ

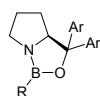
JIŘÍ ŽUREK, VÁCLAV KOZMÍK, JIŘÍ SVOBODA a IVAN STIBOR

^aÚstav organické chemie, Vysoká škola chemicko-technologická, 166 28 Praha 6
zurekj@vscht.cz

V rámci spolupráce Ústavu organické chemie VŠCHT Praha s firmou Cayman Pharma, s.r.o. byly prověřovány některé syntetické stupně stávající výroby prostanoidů a studovány nové netradiční syntézy účinných substancí. Důležitým krokem ve stávajícím postupu výroby je redukce C15-oxoskupiny v enonovém seskupení (Schéma 1), která přináší nemalé finanční a technické problémy, protože separace vzniklých diastereoisomerů se provádí sloupcovou chromatografií a nežádoucí diastereoisomer se zpětně oxiduje.



Zaměřili jsme se proto na stereoselektivní redukční činidla použitelná v průmyslové výrobě, zejména pak na CBS proces¹, na kterém jsme zmapovali vliv reakčních podmínek a druhu použitého redukčního činidla tj. komplexu boranu na stereoselektivitu redukce. Dále jsme sledovali vliv prostorových nároků chirálního redukčního činidla na stereoselektivitu volbou objemnějšího R a aromatického zbytku oxazaborolidinového katalyzátoru (Obr. 1).



Obr. 1

Autoři děkují Ministerstvu průmyslu a obchodu za finanční podporu (projekt FT-TA2/083).

LITERATURA

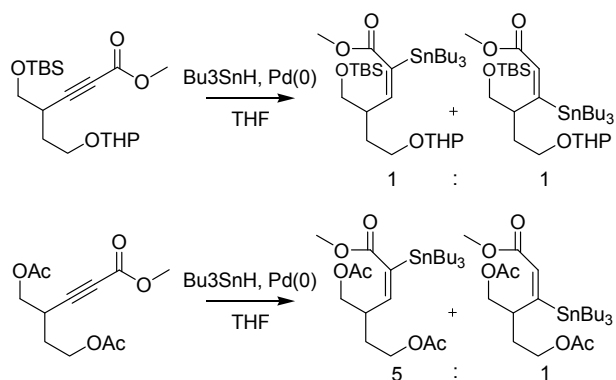
1. Corey E. J., Bakshi R. K., Shibata S., Chen C. P., Singh V.K.: *J. Am. Chem. Soc.* 109, 7925 (1987).

Pd-KATALYZOVANÁ REGIOSELEKTIVNÍ HYDROSTANNYLACE TROJNÉ VAZBY ŘÍZENÁ HYDROXYLOVOU SKUPINOU

JAN PAVLÍK^a, JIŘÍ KUNEŠ^a a MILAN POUR^a

^aCentrum pro výzkum nových antivirotik a antineoplastik, Katedra organické a anorganické chemie, Karlova Universita v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové
jan.pavlik@faf.cuni.cz

Při vývoji syntézy MMP inhibitorů gelastatinů A a B jsme při adicích tributylcínhydridu na enynoly pozorovali značný vliv hydroxylové skupiny na regioselektivitu dané reakce^{1,2}. Stereoselektivita je daná použitím Pd jako katalyzátoru jenž prakticky vylučně dává *cis*-adici. V případě volné hydroxylové skupiny, eventuelně OH chráněného acetalem nebo silylovou skupinou řídí hydroxylová skupina regioselektivitu procesu. Doposud se tento efekt dal odstranit pouze zvýšením sterických nároků. Použitím acylové chránicí skupiny, která redukuje participační schopnost etherově vázaného kyslíku, lze rovněž úspěšně zvrátit průběh adice.



Za finanční podporu děkujeme „Centru pro výzkum nových virostatik a antineoplastik“, podporovanému Ministerstvem Školství ČR (1M0508), Grantové agentuře ČR (203/07/1302), výzkumnému záměru MSM0021620822 a Grantové agentuře UK (289/2006/B-CH/FaF).

LITERATURA

1. Lee H.J., Chung M.C., Lee C.H., Yun B.S., Chun H.K., Kho Y.H.: *J. Antibiotics* 50, 357 (1997).
2. Smith N.D., Mancuso J., Lautens M.: *Chem.Rev.* 100, 3257 (2000).

ANTIFUNGÁLNĚ UČINNÉ 3,5-DISUBSTITUOVANÉ BUTENOLIDY

PETR ŠENEL^a, MILAN POUR^a a JIŘÍ KUNEŠ^a

^aCentrum pro výzkum nových virostatik a antineoplastik, UK v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, katedra anorganické a organické chemie, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové
petr.senel@faf.cuni.cz

Podrobnější studium mechanismu antifungálního účinku látek typu 3-halogenfenyl-5-acyloxymethyl-2,5-dihydrofuran-2-onů **1** (*in vitro* aktivita srovnatelná s amfotericinem B) vedlo k závěru, že vlastní antifungálně aktivní látkou je pravděpodobně reaktivní γ -methylidenbutenolid **2**, který vzniká eliminací karboxylové kyseliny¹ (Schéma 1) a způsobuje destrukci buněčné membrány hub².

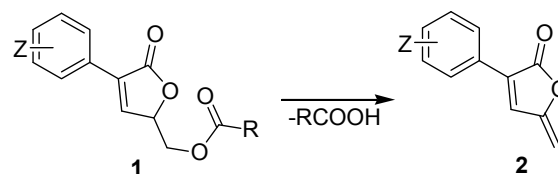
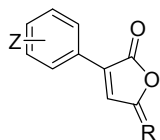
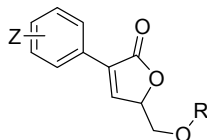


Schéma 1

Cílem další práce byla 1. syntéza nových 3,5-disubstituovaných butenolidů s dalšími typy substituentů v poloze 5 a 2. vyhodnocení změn antifungální aktivity v porovnání s předlohou strukturou (1) s cílem potvrdit domněnku o možném mechanismu účinku. Pozornost jsme zaměřili především na substituenty alkylidenového typu (již obsahující dvojnou vazbu napojenou na laktonový kruh v poloze 5) a alkyl- resp. aryloxymethylového typu.



5-alkyliden analoga



5-alkyl/aryloxymethylanaloga

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

- Vale-Silva L.A., Buchta V., Vokurková D., Pour M. : Bioorg. Med. Chem. Lett. 16, 2492 (2006).
- Nobilis M., Pour M., Šenel P., Pavlík J., Kuneš J., Vopršalová M., Kolářová L., Holčapek M. : J. Chromatogr., B 853, 10 (2007)

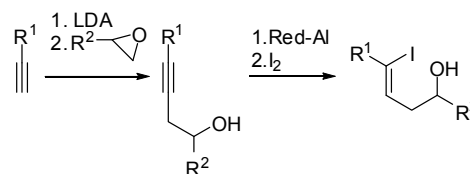
SYNÉZA 3,6-DISUBSTITUOVANÝCH PYRANONŮ JAKO ANALOG ANTIFUNGÁLNĚ AKTIVNÍCH BUTENOLIDŮ A NEOČEKÁVANÁ ZTRÁTA JEJICH BIOLOGICKÝCH ÚČINKŮ

**IVAN ŠNAJDR^a, JAN PAVLÍK^a, JIŘÍ KUNEŠ^a
a MILAN POUR^a**

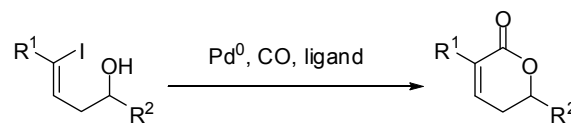
^aCentrum pro výzkum nových antivirotik a antineoplastik, Katedra organické a anorganické chemie, Karlova Universita v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové
ivan.snajdr@faf.cuni.cz

V přírodě se vyskytující pentenolidy (5,6-dihydro-2H-pyran-2-ony) vykazují řadu zajímavých biologických aktivit jako je fytotoxicita, cytotoxicita proti nádorovým buňkám a antifungální a antimikrobiální účinky¹ (podolaktony² a CR 377³).

Naším cílem bylo připravit 3,6-disubstituované šestičlenné nenasycené laktony a zjistit jejich biologické účinky. Prvním krokem syntézy je Yamagouchi-Hiraova alkylace⁴ po které následuje hydroaluminace a jodace (Obr. 1). Finálním krokem syntézy je karbonylativní laktonizace (Obr. 2).



Obr. 1.



Obr. 2.

Za finanční podporu děkujeme „Centru pro výzkum nových virostatik a antineoplastik“, podporovanému Ministerstvem školství ČR (1M0508), Grantové agentuře ČR(203/07/1302), výzkumnému záměru MSM0021620822 a Grantové agentuře UK (289/2006/B-CH/FaF).

LITERATURA

- Collett L.A., Davies-Coleman M.T., Rivett D.E.A.: Fortschr. Chem. Org. 75, 181 (1998).
- Hosoe T., Nozawa K., Lumley T. C., Currah R. S., Fukushima K., Takizawa K., Miyaji M., Kawai K.: Chem. Pharm. Bull. 47, 1591 (1999).
- Brady S. F., Clardy J.: J. Nat. Prod. 63, 1447 (2000).

LC-NMR ANALÝZA ORGANOKŘEMIČITÝCH SLOUČENIN

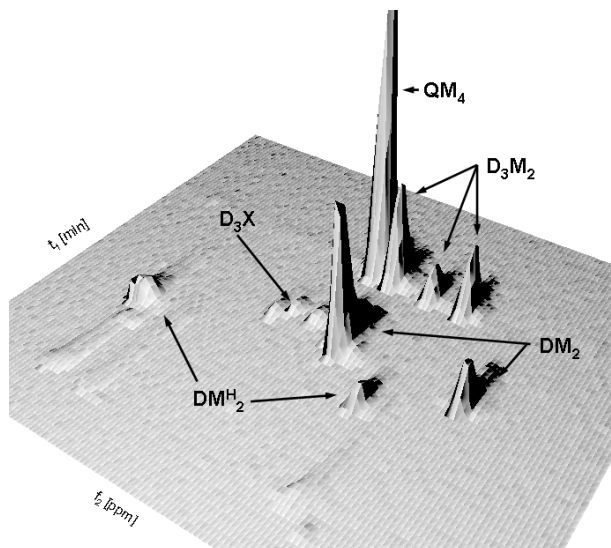
**MILAN KURFÜRST, JAN SÝKORA,
VRATISLAV BLECHTA a JAN SCHRAML**

ÚCHP AV ČR v.v.i., Rozvojová 135, Praha 6.
kurfurst@icpf.cas.cz

Kombinace HPLC a ¹H NMR, popř. ¹³C NMR získává stále větší význam při identifikaci složek různých typů směsí, zejména biologického původu.

Pro analýzu směsí organokřemičitých sloučenin, především polymerů, je HPLC, zejména ve variantě GPC(SEC) často využívána, značným omezením je však výběr vhodného detektoru. Nejběžnější UV detekce je prakticky nepoužitelná, neboť tyto látky zpravidla neobsahují chromofory, a některé jiné typy detekce, např. refraktometrická, nejsou kompatibilní s gradientovou LC.

Zásadní výhodou NMR detekce je, že přímo poskytuje strukturální informace o chemickém složení dělené směsi. Díky tomu je zpravidla možno spolehlivě identifikovat i složky s velmi blízkými retenčními časy.



Použití metody je poměrně univerzální a v mezích citlivosti je limitováno pouze přítomností NMR-aktivních jader a nutností používat deuterované nebo vysoce čisté eluenty.

Práce je podporována GA ČR prostřednictvím grantu č. 203/06/0738.

LITERATURA

1. Blechta V., Sýkora J., Hetflejš J., Šabata S., Schraml J.: *Magn. Reson. Chem.* 44, 7 (2006).
2. Blechta V., Kurfurst M., Sýkora J., Schraml J.: *J. Chromatogr. A* 1145, 175 (2007).

KVANTOVĚ CHEMICKÉ STUDIUM STRUKTURY FENYLGUANIDINU A JEHO ACIDOBAZICKÝCH VLASTNOSTÍ

**KAREL PALÁT, JAN KORÁBEČNÝ,
EVGHENIA EMELIN a GABRIELA BRAUNEROVÁ**

*Farmaceutická fakulta UK, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové
palat@faf.cuni.cz.*

Deriváty fenyloguanidinů vykazují některé zajímavé biologické aktivity, např. tuberkulostatickou a fungicidní¹. Guanidinová skupina obsahující tři dusíkové atomy má silné bazické vlastnosti, které se určitě výrazně účastní při jejím biologickém působení.

Cílem práce bylo vypočítat nejstabilnější konformaci molekuly fenyloguanidinu, která může mít několik tautomerních forem. A poté zjistit v jakém pořadí budou při acidobazické reakci protonizovány dusíkové atomy této dvojsytné báze.

Prvotní modely byly vytvořeny za pomoci semiempirické AM1 metody, kdy byly molekuly podrobeny kompletní konformační analýze. Energeticky nejvýhodnější konformace byly poté optimalizovány na B3LYP/6-311+G(d,p) úrovni.

Na základě vypočtených energií byl popsán postup vázání protonů na dusíkové atomy v molekule. Dále byla vypočtena na základě změny entalpie protonová afinita protonizace do prvního, druhého a případně třetího stupně jak z údajů ze semiempirických výpočtů², tak z modelů počítaných na DFT úrovni. Obdobně byly na základě změn Gibbsovy energie vypočteny hodnoty absolutní bazicity.

Práce navazuje na dříve prezentované studie alkoxykarbonylace a protonizace guanidinové skupiny^{3,4}, jejichž závěry podporuje.

Práce byla podpořena grantem GAUK 299/2006/B-CH/FaF a výzkumným záměrem MSM 0021620822; vznikla za přispění superpočítačového centra Univerzity Karlovy.

LITERATURA

1. G. Braunerová, V. Buchtá, L. Silva, J. Kuneš, K. Palát, *Farmaco* 59, 443 (2004).
2. M. J. S. Dewar, K. M. Dieter: *J. Am. Chem. Soc.* 108, 8075 (1986).
3. K. Palát: *Chem. Listy* 93, 747 (1999).
4. K. Palát, G. Braunerová: *Chem. Listy* 96, 408 (2002).

LibCon 07

Seznam autorů

Arlt, V.M.	974	Herrmann, Pavel	940
Artamonova, Tatjana V.	968	Herzigová, Petra	941
Babiak, Peter	929	Hezký, Petr	941
Bárta, Jan	929	Himl, Michal	937
Bartoš, Petr	959	Hnilíčková, Jaroslava	942
Baumeister, Ute	948	Hocek, Michal	929, 934, 952, 974, 976, 979
Bečvařík, Petr	953	Hodačová, Jana	942, 944
Bednaříková, Tereza	929	Holan, Martin	969
Beier, Petr	929	Holas, Ondřej	972
Bělohradský, Martin	932	Holas, Tomáš	933
Beneš, Michal	962	Holý, Petr	932
Beran, Antonín	930	Hovorka, Oldřich	976
Betík, Robert	930	Hrabálek, Alexandr	944, 961, 968, 977
Biedermann, D.	931	Hrdina, Radim	942, 944
Binder, Jiří	931, 932	Hudeček, Oldřich	943
Blechta, Vratislav	975, 982	Hudlický, Jason	932
Bobula, Tomáš	932	Chercheja, Serghei	957
Braunerová, Gabriela	983	Imramovský, Aleš	943, 977
Brosa, Carme	942	Jahn, Ullrich	943
Budka, Jan	980	Jampilek, Josef	977
Buchta, Michal	932	Jančařík, Andrej	959
Buchta, Vladimír	955	Janková, Štěpánka	950
Bureš, Filip	933	Janušová, Barbora	944
Cahlíková, Lucie	976	Jegorov, Alexandr	967
Casnati, Alessandro	936	Jelínek, Ivan	935
Cibulka, Radek	959	Jindřich, Jindřich	929, 930, 935, 941, 967, 972
Císařová, Ivana	954	Jiroš, Pavel	947
Cvačka, Josef	947	Jonsztová, Beata	961
Cvak, Ladislav	933	Jun, Daniel	931, 932, 957, 958
Čejka, Jan	967	Kaasalainen, Emmi	943
Čejka, Jiří	935	Kačer, Petr	958
Čerňa, Igor	934	Kadlíková, Aneta	944
Černý, Josef	934	Kafka, Stanislav	946
Červený, Libor	958	Kaleta, Jiří	945
Demel, Jan	935	Kalinová, Blanka	963
Dian, Juraj	935	Kaustová, Jarmila	941
Dinca, Emanuela	943	Keder, Roman	946
Dohnal, Jiří	977	Kešetovičová, Diana	936
Doležal, Martin	936, 958, 972	Kimmel, Roman	946
Donofrio, Gaetano	936	Klimešová, Věra	941
Drabina, Pavel	970	Klímková, Petra	960
Dračínský, Martin	950	Klvaňa, Robert	973
Drašar, Pavel	960, 961, 976	Kniežo, Ladislav	962
Dudič, Miroslav	936	Kočovský, Pavel	944
Dušek, Libor	979	Kofroňová, Edita	947
Dvořák, Dalimil	946, 952	Kohout, Ladislav	942
Dvořáková, Hana	952, 953	Kohout, Michal	947, 948
Eignerová, Barbara	937	Koiš, Pavol	949
Eilbracht, Peter	957	Koldobskii, Grigorii I.	968
Emelin, Evghenia	983	Kopaczynska, Marta	936
Flídová, Karolína	937	Kopecký, Kamil	948
Fojta, Miroslav	979	Kopřivová, Klára	959
Fraňková, Veronika	969	Korábečný, Jan	983
Frei, E.	974	Korf, Michal	949
Führhop, Jürgen	936	Korotvička, Aleš	945
Glogarová, M.	951	Košiová, Ivana	949
Glogarová, Milada	947, 948	Košmrlj, Janez	946
Gorecka, E.	951	Kotora, Martin	930, 932, 937, 940, 942, 944, 945, 950, 959, 960, 976
Grüner, Bohumír	954	Kovačková, Soňa	950
Grycová, Lenka	956	Kovářiková, Petra	977
Habartová, Věra	938	Kovářová, A.	951
Hajdúch, M.	931, 973	Kovářová, Anna	947
Hambálek, Jan	972	Kozmík, Václav	947, 980
Hanus, Robert	963	Král, Vladimír	962, 967
Hanusek, Jiří	938, 970	Kratochvíl, Bohumil	951
Hartmann, Philip	943	Krouželka, Jan	952
Hejtmánková, Ludmila	939	Křováček, Martin	952
Henke, Adam	940		

Kubicová, Lenka	955	Rybáček, Jiří	932, 969
Kuča, Kamil	931, 932, 957, 958, 972	Rybáčková, Markéta	969
Kuchař, Martin	952	Rypáček, F.	964
Kulhánek, Jiří	933	Řezanka, Michal	967
Kundrat, Ondřej	953	Řezanka, Pavel	967
Kuneš, Jiří	981, 982	Salamonczyk, M.	951
Kurfürst, Milan	975, 982	Sansone, Francesco	936
Kusák, Michal	941	Sayin, Serkan	959
Kuzma, Marek	958	Sedlák, Miloš	970
Kvíčala, Jaroslav	953, 962, 969, 971	Schmeiser, H.H.	974
Kvíčalová, Magdalena	954	Schraml, Jan	975, 982
Kysilka, Ondřej	971	Schröder, Detlef	968, 970
Lamač, Martin	954	Skála, Pavel	955
Lanková, Petra	955	Skalický, Martin	971
Lapčík, Oldřich	955, 964	Smrček, Jakub	972
Lhoták, Pavel	937, 943, 953, 980	Smrček, Stanislav	938
Linhart, Igor	952	Soukup, Ondřej	972
Lipnická, Šárka	932	Spáčilová, P.	973
Lustig, Petr	939	Stach, Jan	973
Macháček, Miloš	955	Stará, Irena G.	969
Machara, Aleš	956	Starý, Ivo	969
Maier, Lukáš	956	Stibor, Ivan	953, 980
Marek, Aleš	933, 957	Stiborová, M.	974
Marek, Jan	957, 958	Stodůlka, Petr	957, 958
Marek, Radek	956	Svoboda, Antonín	948
Martínek, V.	974	Svoboda, J.	951
Matoušek, Václav	958	Svoboda, Jiří	947, 948, 956, 980
Matyk, Josef	941	Svoboda, M.	931
Mazal, Ctibor	945, 959	Svobodová, M.	974
Michl, Josef	945	Svobodová, X.	973
Mojr, Viktor	959	Sýkora, Jan	982
Monreal-Férriz, Juana	943, 977	Sýkora, Jan	975
Musílek, Kamil	957, 972	Šarek, J.	931, 973
Nečas, David	959	Šatinský, Dalibor	948
Nekola, Adam	947	Šenel, Petr	981
Nespěšná, Lenka	938	Šigut, Kryštof	969
Nguyen, Thi Thu Huong	960	Šícha, Václav	954
Novák, Petr	932, 960	Šimák, Ondřej	976
Nováková, Zdena	961	Šístková, J.	974
Novotná, V.	951	Šiša, Miroslav	942
Novotná, Vladimíra	947, 948	Šnajdr, Ivan	982
Novotný, Michal	961	Šobotník, Jan	963
Opletalová, Veronika	931, 932, 936, 972	Špaček, Petr	947
Palát, Karel	941, 983	Šrajfer, Jiří	965
Paleta, Oldřich	962	Šrogl, Jiří	940, 949, 963, 978
Park, Sang-Eon	935	Štefko, Martin	974
Parkan, Kamil	962	Štěpnička, Petr	935, 950, 954
Pavlík, Jan	981, 982	Štícha, Martin	938
Philips, D.H.	974	Šustr, Martin	955
Piskorski, Rafal	963	Turek, Pavel	976
Plancq, Baptiste	959	Ungaro, Rocco	936
Plešek, Jaromír	954	Urbanová, Klára	976
Pluskal, Martin	963	Valík, Martin	933
Pociecha, D.	951	Valterová, Irena	942, 944, 947, 963, 976
Polášek, Petr	947	Varečka, Petr	979
Polonský, Jakub	971	Vávrová, Kateřina	944, 961, 977
Pour, Milan	981, 982	Vavříková, Eva	978
Proks, V.	964	Vinšová, Jarmila	943, 977, 987
Prokudina, Jelena A.	955, 964	Voltrová, Svatava	978
Pšondrová, Šárka	938	Vrábel, Milan	979
Ptáček, Vladimír	976	Weidlich, Tomáš	979
Rádl, Stanislav	934, 965, 973	Wiesner, Jiří	931
Raich, Ivan	965	Zajícová, Markéta	980
Rejman, Dominik	950, 966	Zamora, Ismael	942
Ridvan, Luděk	939	Zelený, Václav	955
Röbsteckova, Michaela	967	Zimčík, Petr	948
Roh, Jaroslav	968	Žurek, Jiří	980
Roithová, Jana	968, 970		
Rosenberg, Ivan	949		
Rudakova, Dmytro	943		

OBSAH		CONTENTS	
ÚVODNÍK	871	EDITORIAL	871
REFERÁTY		REVIEW ARTICLES	
β-Glukany, historie a současnost	872	β-Glucan, Its History and Present	872
M. Novák		M. Novák	
Potenciál modifikovaných nanočástic v analytické chemii	881	Application of Modified Nanoparticles in Analytical Chemistry	881
P. Řezanka, K. Záruba a V. Král		P. Řezanka, K. Záruba, and V. Král	
studium využití některých N-donorových ligandů a jejich komplexů s ionty přechodných kovů	886	Study of Applications of Some N-Donor Ligands and Their Transition Metal Ion Complexes	886
R. Cibulka, E. Svobodová, B. König, J. Ludvík, F. Hampl a F. Liška		R. Cibulka, E. Svobodová, B. König, J. Ludvík, F. Hampl, and F. Liška	
Přírodní látky hořké chuti	895	Naturally Occurring Bitter Compounds	895
L. Opletal, J. Čopíková, M. Uher, O. Lapčík, J. Moravcová a P. Drašar		L. Opletal, J. Čopíková, M. Uher, O. Lapčík, J. Moravcová, and P. Drašar	
LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY		LABORATORY EQUIPMENT AND METHODS	
Využití HPLC ke stanovení produktu exprese genu pro mikrobiální tyrosindekarboxylasu	907	The Use of HPLC for Determination of Expression Product of Microbial Tyrosine Decarboxylase	907
R. Burdychová a V. Dohnal		R. Burdychová and V. Dohnal	
Fermentace směsí laktosy a laktulose kmenem <i>Lactobacillus acidophilus</i>	911	Fermentation of Lactose and Lactulose Mixtures with <i>Lactobacillus acidophilus</i> Strain	911
I. Boháčenko, J. Pinkrová, J. Peroutková a M. Pechačová		I. Boháčenko, J. Pinkrová, J. Peroutková, and M. Pechačová	
Možnosti diagnostiky intoxikací antidepresiv	916	The Possibilities of Diagnostics in Antidepressant Intoxications	916
M. Staňková, P. Ondra a P. Kurka		M. Staňková, P. Ondra, and P. Kurka	
RECENZE	923	BOOK REVIEWS	923
DISKUSE	924	DISCUSSION	924
ZPRÁVY	925	NEWS	925
LIBLICE 2007	927	LIBLICE 2007	927

CHEMICKÉ LISTY • ročník/volume 101 (2007), čís./no. 11 • LISTY CHEMICKÉ, roč./vol. 131, ČASOPIS PRO PRŮMYSL CHEMICKÝ, roč./vol. 117 • ISSN 0009-2770, ISSN 1213-7103 (e-verze) • evidenční číslo MK ČR E 321 • Vydává Česká společnost chemická jako časopis Asociace českých chemických společností ve spolupráci s VŠCHT v Praze, s ČSPCH a ÚOCHB AV ČR za finanční podpory Nadace Český literární fond a kolektivních členů ČSCH • IČO 444715 • Published by the Czech Chemical Society • VEDOUCÍ REDAKTOR/EDITOR-IN-CHIEF: B. Kratochvíl • REDAKTOŘI/EDITORS: J. Barek, Z. Bělohav, P. Drašar, J. Hetflejš, P. Holý, J. Horák, P. Chuchvalec, J. Podešva, P. Rauch, J. Volke; Bulletin: I. Valterová; Webové stránky: R. Liboska, P. Zámstný • ZAHRANIČNÍ A OBLASTNÍ REDAKTOŘI/FOREIGN AND REGIONAL EDITORS: F. Švec (USA), V. Větvíčka (USA), L. Opletal (Hradec Králové), P. Tarkowski (Olomouc) • KONZULTANT/CONSULTANT: J. Kahovec • VÝKONNÁ REDAKTORKA/EDITORIAL ASSISTANT: R. Rápková • REDAKČNÍ RADA/ADVISORY BOARD: E. Borsig, M. Černá, L. Červený, E. Dibuszová, J. Hanika, Z. Havlas, I. Kadlecová, J. Káš, J. Koubek, T. Mišek, 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://chemicke-listy.vscht.cz> • TISK: České Tiskárny, s.r.o., Ráby 14, 533 52 Staré Hradiště; SAZBA, ZLOM: ČSCH, Chemické listy • Copyright © 2007 Chemické listy/Česká společnost chemická • Cena výtisku 147 Kč, roční plně předplatné 2007 (12 čísel) 1512 Kč, individuální členské předplatné pro členy ČSCH 756 Kč. Roční předplatné ve Slovenské republice 80 EUR (doručování via SCHS), individuální členské předplatné pro členy ČSCH 60 EUR (doručování via SCHS), 225 EUR (individuální doručování) • DISTRIBUTION ABROAD: KUBON & SAGNER, POB 34 01 08, D-80328 Munich, FRG; Annual subscription for 2007 (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: M. Pojarová • Dáno do tisku 30.10.2007.