

Chemické listy v roce 2004

Letošní rok mě poučil, že detailní plánování Chemických listů může být snadno zbořeno. Důvod je jednoduchý – časopis si na sebe sám nevydělá, myslím tím příjmy z předplatného a komerčních příloh, takže je a bude odkázán na sehnání dodatečných finančních zdrojů, myslím tím osobní nasazení členů představenstva ČSCH a redakčního kruhu CHL (což se může i nemusí podařit).

Představa, jak budou vypadat CHL v roce 2004, je jednak vydavatelská, jednak finanční. Ta první počítá s vydáním 12 čísel, z toho 4 členských (bulletinových) a s vydáváním paralelní edice Symposia (zatím je potvrzen sborník konference „Supramolekulární chemie“, pořadatelé: doc. Pavel Drašar, doc. Vladimír Král). Předpokládáme, že do čísla 5/2004 bude zanořen sborník konference Sigma-Aldrich, 7/2004 bude zemědělské číslo, 8/2004 bude tvořit sborník 56. Sjezdu chemických společností v Ostravě, 10/2004 bude věnováno životnímu prostředí, do 11/2004 budou zanořeny „Liblice“ a 12/2004 bude monotematicky věnováno farmacii. Se Svazem chemického průmyslu ČR jednáme o vytvoření rubriky průmyslové chemie. Od 2. čtvrtletí příštího roku se bude zalamování provádět v redakci, což zjednoduší a zlevní výrobu, protože se ušetří jeden výrobní mezičlánek.

V loňském prosincovém úvodníku jsem napsal, že očekávám výrazný nástup barevných příloh. Nestalo se tak. Snad jsou autoři rozčarováni, a my s nimi, jak vychází barevná příloha na jejich laserové či bublinkové tiskárně a jak pak vyjde na eukalyptovém papíře Chemických listů. Je to opět otázka peněz, na křídový papír nemáme, ale budeme jednat o technických vylepšeních, které by barvu více zpřístupnily.

Mám dojem, že dlužím vysvětlení vývoje naší ediční politiky od letošního dubnového čísla. Začátkem roku se zdálo být vše růžové a neotřesitelné, ale pak jsme se dostali do svízelné finanční situace neudělením institucionální podpory MŠMT ČR. Důsledkem toho bylo napsání úvodníku do čísla 4/2003, kde jsme se rozhodli nabídnout členům zbylá dvě bulletinová čísla (7 a 10) za předplatné. Ohlas na předplatné byl minimální, za to však v červenci přišla spousta telefonátů a dotazů, co je s členskou sedmičkou? Po řadě diskusí jsme se sjednotili v názoru, že je dost dobrých důvodů opět rozesílat bulletinová čísla všem členům, ovšem kde na to vzít? Finančně jsme si odlehčili vydáním čísla 6/2003 jako sborníku konference Biotrans Olomouc 2003, které uhradili pořadatelé (původně jsme

plánovali jeho zařazení do edice Symposia). Tím se zase dostávám k penězům, ale bez těch to dál nejde a nepůjde. Redukovali jsme rozsah bulletinu, snížili náklady, vyměnili technickou redaktorku a představenstvo Společnosti rozhodlo promítnout finanční schodek alespoň zčásti do členského příspěvku. Dovolte mi, abych ocenil mimořádné úsilí některých našich příznivců získat dodatečné finanční zdroje pro Chemické listy. Prof. Jiřímu Haníkovi děkuji za jeho vytrvalé jednání se Svazem chemického průmyslu ČR. Dále děkuji panu řediteli ÚOCHB AV ČR Dr. Zdeňku Havlasovi za realizaci myšlenky tzv. stránkovného. Panu Ing. Pavlu Švarcovi, generálnímu řediteli Unipetrolu a.s. a prezidentovi SCHP ČR a ostatním generálním ředitelům společností Chemopetrol a.s. Litvínov, Česká rafinářská a.s. Litvínov, Kaučuk a.s., Lovochemie a.s., Aliachem a.s., VÚOS a.s. a VÚANCH a.s., děkuji za poskytnutí jednorázové finanční dotace. Finanční schodek z jara letošního roku se nám tak podařilo vyrovnat. Jak však dál? Abychom ještě více CHL postavili na vlastní nohy, rozhodli jsme se od příštího roku vybírat poplatek za poděkování grantovým agenturám. Věřím, že autoři přijmou toto opatření s pochopením a podpoří nás. Problémy Chemických listů, zvláště ty finanční, se v historii časopisu opakují. Dokonce i zakladatel a první šéfredaktor, prof. Karel Preis, financoval určitou dobu Chemické listy ze svého. To však ode mě těžko můžete očekávat.

Nechme ale již peněz a věnujme se určitým zdarům, které nás letos potkaly. Impaktní faktor, který je zveřejňován v dubnu za uplynulý rok, opět zaznamenal růst. Od roku 1998 (IF=0,108) máme stoupající tendenci a za rok 2002 jsme dosáhli hodnoty IF=0,336, což je na časopis, který vychází převážně v češtině a slovenštině, pozoruhodný výkon. Také mám radost z toho, že spontánní příliv rukopisů do redakce nevysychá a tak máme, minimálně na půl roku dopředu, co tisknout.

Chemické listy jsme dovedli, snad zdárně, do konce roku 2003. Můj dík patří paní redaktorce Ing. Radmile Řápkové, pánům redaktorům, sekretariátu ČSCH – Ing. Markétě Bláhové a Ing. Janu Šimánkovi, představenstvu ČSCH, Ing. Jaroslavu Kahovcovi a všem dalším spolupracovníkům, autorům a příznivcům. Vám, čtenářům, přeji veselé svátky vánoční a mnoho úspěchů v roce 2004.

Bohumil Kratochvíl

TVORBA C-C A C-X VAZEB CROSS-COUPLING REAKCEMI KATALYZOVANÝMI KOMPLEXY PŘECHODNÝCH KOVŮ

MICHAL HOCEK

Ústav organické chemie a biochemie, Akademie věd České Republiky, Flemingovo nám. 2, 16610 Praha 6
e-mail: hocek@uochb.cas.cz

Došlo 14.3.03, přepracováno 22.6.03, přijato 26.6.03.

Klíčová slova: cross-coupling, katalýza, palladium, organokovy

1. Úvod
2. Mechanismy a katalyzátory
3. Obecné metody přípravy organokovových činidel
4. „Klasické“ C-C cross-coupling reakce
 - 4.1. Cross-coupling reakce organokuprátů
 - 4.2. Cross-coupling reakce Grignardových činidel (Kumada-Tamao-Corriu)
 - 4.3. Cross-coupling reakce organozinečnatých činidel (Negishi)
 - 4.4. Cross-coupling reakce stannanů (Stille)
 - 4.5. Cross-coupling reakce organoboranů a boronových kyselin (Suzuki-Miyaura)
 - 4.6. Cross-coupling reakce organokřemičitých činidel (Hiyama)
 - 4.7. Cross-coupling reakce organokovů odvozených od dalších prvků
 - 4.8. Cross-coupling reakce alkynů (Sonogashira)
 - 4.9. Cross-coupling reakce sp^3 - sp^3
 - 4.10. Cross-coupling reakce arylchloridů
5. Další typy C-C cross-coupling reakcí
 - 5.1. Cross-coupling reakce s inzercí a β -eliminací (Heck)
 - 5.2. Karbonylace

6. C-X cross-coupling reakce (Hartwig-Buchwald)
7. Arylace karbonylových sloučenin
8. Závěry

1. Úvod

Tvorba C-C vazeb byla vždy jedním z nejdůležitějších problémů organické chemie a uplatňuje se v klíčových stupních syntéz mnoha složitějších molekul. Během historie byla vyvinuta celá řada reakcí pro tvorbu vazeb C-C (adice, cykloadice, nukleofilní substituce atd.). Ovšem až do začátku sedmdesátých let nebyla k dispozici obecná metodika pro tvorbu vazeb C-C mezi sp či sp^2 uhlíkovými centry.

Teprve rozvoj reakcí katalyzovaných komplexy niklu či palladia mezi elektrofilem (obvykle alkyl/arylhalegenidem či sulfonátem) a nukleofilem (obvykle organokovem, popř. alkenem) umožnil opravdovou revoluci v organické syntéze (Schéma 1). Pro tuto obecnou a efektivní metodiku tvorby C-C vazeb je zaveden anglický termín *cross-coupling*¹. Protože neexistuje výstižný a obecně přijímaný český ekvivalent, bude pro tento typ reakcí v celém článku používán anglický výraz.



Schéma 1

2. Mechanismy a katalyzátory

Dle mechanismu rozdělujeme cross-coupling reakce do dvou hlavních tříd: *a*) „klasické“ cross-couplingy probíhající mechanismem: oxidativní adice, transmetalace a redukční eliminace (Schéma 2) a *b*) Heckova reakce probíhající mechanismem: oxidativní adice, inserce a redukční eliminace (Schéma 3). Reaktivita odstupující skupiny X klesá v pořadí $I > OTf \gg Br \gg Cl$, čehož se dá s výhodou využívat při chemoselektivních reakcích. Vhodné organokovy pro trans-

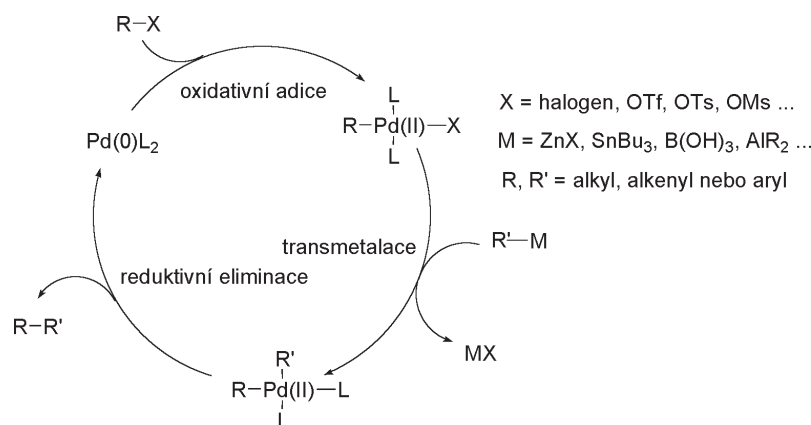


Schéma 2

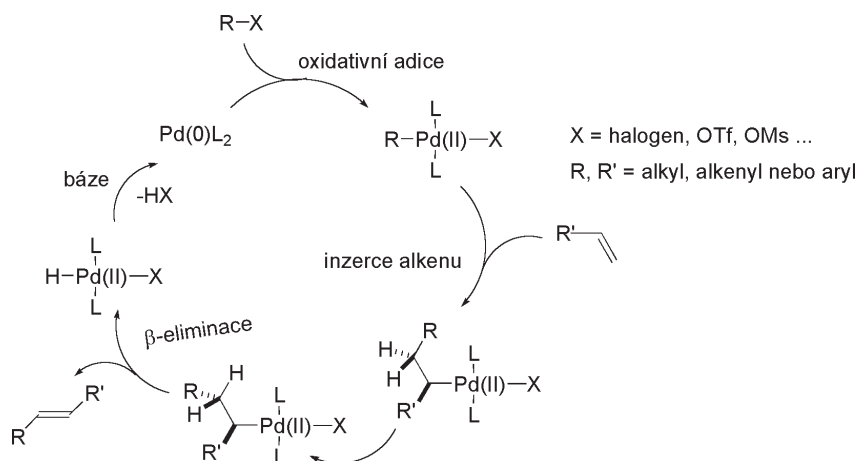
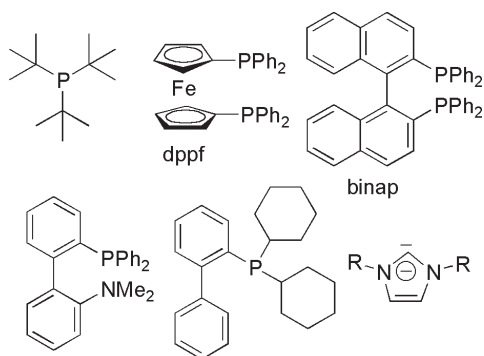


Schéma 3



Obr. 1. Příklady některých moderních ligandů

metalaci mohou být odvozeny od celé řady kovů a budou detailně probírány dále.

Cross-coupling reakce mohou být katalyzovány širokým spektrem komplexů Pd(0) či Ni(0), které jsou citlivé na přítomnost kyslíku (reakce je nutno provádět v inertní atmosféře). Nejpoužívanějším Pd(0) katalyzátorem je Pd(PPh₃)₄, který je v krystalickém stavu poměrně stabilní a při -20 °C pod Ar vydrží mnoho měsíců, zatímco Ni(PPh₃)₄ je extrémně citlivý. Často se využívá i stabilní komplex Pd(dba)₂, popř. Pd₂(dba)₃·CHCl₃ (dba = dibenzylidenaceton) s přidavkem fosfinového ligandu. Velmi výhodné je použití stabilních komplexů Pd(II), popř. Ni(II) (např. Pd(PPh₃)₂Cl₂, PdCl₂, Pd(OAc)₂, Ni(PPh₃)₂Br₂), ze kterých vzniká aktivní Pd(0) komplex redukcí přebytkem organokovu, fosfinu či trialkylaminu.

Aktivita katalytického systému je významně ovlivněna charakterem ligandů. Kromě standardního PPh₃ se velmi často s úspěchem využívají elektronově bohatší či stericky bráněné fosfiny (P(furyl)₃, P(tolyl)₃, P(*tert*-Bu)₃), popř. trifenyarsin. S výhodou jsou také používány bidentátní ligandy na bázi difosfinů (1,2-bis(difenylfosfanyl)ethan (dppe), 1,1'-bis(difenylfosfanyl)ferocen (dppf) či 2,2'-bis(difenylfosfanyl)-1,1'-binaftalen (binap)), dusíkatých heterocyklů (bipyridin, ferantrholin), aminofosfinů (2-(difenylfosfanyl)-2'-(dimethylamino)bifenyl) či P-C koordinující (2-(dicyklohexylfosfanyl)-bifenyl) (Obr. 1). Velice aktivní jsou i ligandy na bázi heterocyklických karbenů generovaných z kvartérních imidazolium-

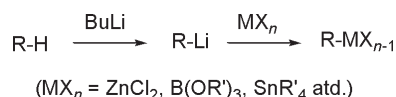
-halogenidů. V některých speciálních případech lze použít i „bezligandové“ katalyzátory typu PdCl₂, Pd/C, popř. Ni/C.

Přestože je tato oblast předmětem intenzivního výzkumu a je známo několik tisíc příkladů, výběr vhodného katalytického systému (prekurzor + ligand) pro novou cross-coupling reakci bývá často problematický a, nefunguje-li analogie s reakcemi podobných systémů, je nutná pracná optimalizace. Naštěstí jsou v dnešní době komerčně dostupné celé série užitečných ligandů, které se dají koupit i v sadách vhodných pro systematické i kombinatoriální testování. Pro většinu běžných reakcí ovšem lze použít buď Pd(PPh₃)₄ nebo Pd(PPh₃)₂Cl₂.

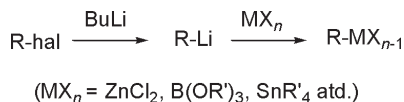
3. Obecné metody přípravy organokovových činidel

V současné době jsou komerčně dostupné velké série organostannanů, boronových kyselin a rovněž roztoky mnoha Grignardových, organozinečnatých a hlinitých činidel. Přesto je užitečné shrnout základní typy metod jejich přípravy.

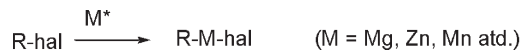
a) dehydrometalace následovaná transmetalací



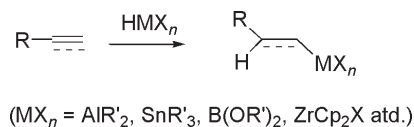
b) dehalometalace následovaná transmetalací



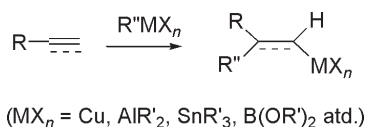
c) oxidativní adice na aktivovaný kov



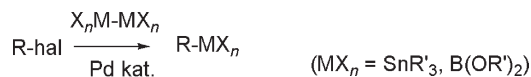
d) hydrometalace nenasyčených systémů



e) karbometalace nenasycených systémů



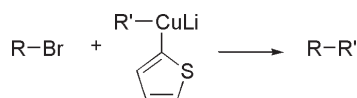
f) cross-coupling reakce



4. „Klasické“ cross-coupling reakce

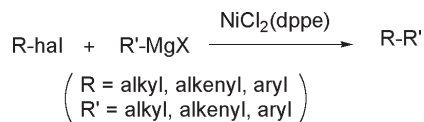
4.1. Cross-coupling reakce organokuprátů

Reakce organokuprátů s alkyhalogenidy zpravidla nepotřebují katalýzu a v minulosti to byla v podstatě jediná přímá metoda pro cross-coupling. Je možno použít Gilmanovy lithiokupráty R₂CuLi (ze kterých se ale přenesou pouze jedna R skupina) nebo směsné kupráty např. R(2-thienyl)CuLi nebo RCu(CN)Li (pokud je R skupina drahá či obtížně dostupná)³.



4.2. Cross-coupling reakce Grignardových činidel (Kumada-Tamao-Corriu)

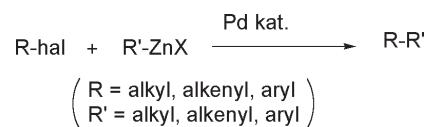
Reakce Grignardových činidel s alky-, alkenyl- a arylhalogenidy katalyzované komplexy Ni byly v roce 1972 první obecněji použitelnou aplikací cross-coupling reakcí⁴. Jejich výhodou je vysoká reaktivita a nízká chemoselektivita Grignardových činidel. V loňském roce byla vyvinuta efektivní metoda cross-coupling reakcí organoheřčnatých činidel katalyzovaných komplexy železa⁵.



4.3. Cross-coupling reakce organozinečnatých činidel (Negishi)

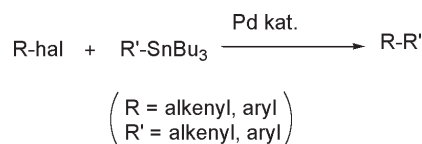
Pd-katalyzované reakce organozinečnatých činidel jsou jednou z nejpoužívanějších cross-coupling reakcí⁶. Jsou velmi obecné (vhodné pro alky-, alkenyl- i arylskupiny) a vysoce

efektivní. V některých případech jsou organozinečnatá činidla příliš reaktivní a netolerují přítomnost některých funkčních skupin.



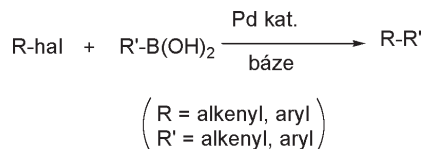
4.4. Cross-coupling reakce stannanů (Stille)

Stilleho reakce je další široce používanou metodou vhodnou zejména pro cross-couplingy aryl- a alkenylstannanů s aryl- či alkenylhalogenidy⁷. Alkylové skupiny se z cínu transmetalují poměrně neochotně, čehož se využívá u aryl- či alkenyl(tributyl)stannanů standardně používaných k selektivnímu zavedení alkenylových či aryllových skupin. Výhodou je tolerance k přítomnosti většiny funkčních skupin. Nevýhodou je toxicita stannanů, které je rovněž relativně obtížné oddělit z reakčních směsí.



4.5. Cross-coupling reakce organoboranů a boronových kyselin (Suzuki-Miyaura)

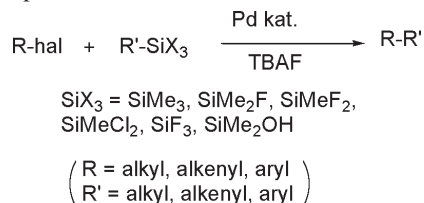
Reakce alkenyl- či arylboronových kyselin nebo jejich esterů s alkenyl- či arylhalogenidy katalyzované komplexy palladia v přítomnosti báze (Suzuki-Miyauraova reakce)⁸ jsou jedním z nejvýznamnějších typů cross-coupling reakcí. Jsou vhodné zejména pro couplingy sp²-hybridizovaných center. Výhodou je nízká toxicita vznikajících borátů a tolerance k funkčním skupinám. Reakce jsou často prováděny i ve vodných směsích. Méně využívané jsou cross-coupling reakce trialkylboranů⁹, které ovšem lze použít i pro zavedení alkylových skupin.



4.6. Cross-coupling reakce organokřemičitých činidel (Hiyama)

Cross-coupling reakce pentakoordinovaných halosilikátů vzniklých reakcí silanů či halosilanů s aktivátorem (většinou tetrabutylamonium-fluorid, TBAF), tzv. Hiyamova reakce¹⁰,

jsou další alternativní metodou. Tato reakce je relativně obecná (reagují alkyl-, alkenyl- i arylsilany) a výhodou jsou netoxické vedlejší produkty (silikáty). Praktické využití zatím nedosahuje významu Suzukiho nebo Stilleho reakce. Aplikace této metody je výhodná zejména pro zavedení perfluoralkylových skupin¹¹.

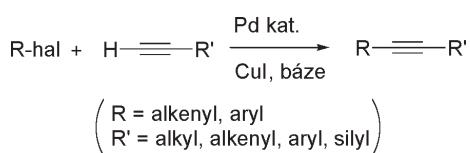


4.7. Cross-coupling reakce organokovů odvozených od dalších prvků

Organokovy odvozené od celé řady dalších prvků jsou rovněž použitelné pro cross-coupling reakce. Nejvýznamnější jsou trialkylhlinitky, které jsou často používány pro zavedení jednoduchých alkylových skupin (Me, Et, Pr). Organozirkoničité sloučeniny se používají ve speciálních případech v kaskádě s hydrozirkonací alkylnů. Organokademnaté, rtuťnaté či thallné reagenty jsou také občas používány, ovšem jejich nevýhodou je silná toxicita. Ostatní prvky mají jen velmi malý význam.

4.8. Cross-coupling reakce alkylnů (Sonogashira)

Sonogashirova reakce¹² terminálních alkylnů s aryl- nebo alkenylhalogenidy je v podstatě speciálním případem couplingu *in situ* vzniklých alkylnylkuprátů. Reakce probíhá za palladiové katalýzy v přítomnosti měďných solí a báze (zejména sekundárních a terciárních aminů). Vzniklé aryl- či alkenylacetyleny jsou mnohostranně využitelné intermediáty, a proto je Sonogashirova reakce jednou z nejpoužívanějších aplikací cross-coupling reakcí.



4.9. Cross-coupling reakce sp³-sp³

Přes obrovský rozvoj metodiky cross-coupling reakcí stále zůstává problémem obecná a jemná metodika pro palladiem katalyzované couplingy mezi dvěma sp³ centry. U alkylových zbytků s β-vodíky totiž často dochází k β-eliminaci, která konkuruje transmetalaci či reduktivní eliminaci v katalytickém cyklu. Úspěšným řešením byly aplikace niklem katalyzovaných reakcí alkylmagnesium- nebo alkylzinkhalogenidů v přítomnosti alkenů (4-fluorstyrenu či butadienu), které se koordinují k Ni a zabráňují nežádoucí β-eliminaci¹³ a palladiem katalyzované reakce alkyloboranů. Standardně se používají couplingy organokuprátů, u kterých k vedlejším reakcím nedochází.

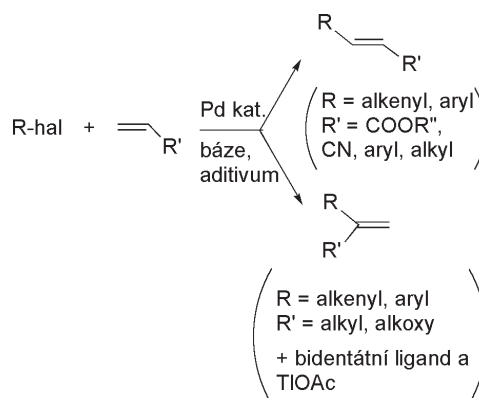
4.10. Cross-coupling reakce arylchloridů

Arylchloridy jsou obecně méně reaktivní než bromidy a jodidy a u neaktivovaných (elektronově bohatých) aromátů většinou za standardních podmínek reakce neprobíhají. Problematický je zejména první krok – oxidativní adice. Teprve v poslední době s rozvojem stericky bráněných a elektronově bohatých fosfinových a později zejména karbenových ligandů byly vypracovány obecné metodiky pro cross-coupling arylchloridů¹⁴. Nejčastěji používané ligandy jsou P(*tert*-Bu)₃, 2-(difenylfosfanyl)-2'-(dimethylamino)bifenyl, 2-(dicyklohexylfosfanyl)bifenyl a 1,3-diarylimidazolové karbeny.

5. Další typy C-C cross-coupling reakcí

5.1. Cross-coupling reakce s inzercí a β-eliminací (Heck)

Heckova reakce je nejdůležitějším příkladem druhého typu cross-coupling reakcí, které probíhají s inzercí nenasyčeného systému (v podstatě jde o karbopalladaci dvojně vazby následovanou β-eliminací). Reakce alkenů (mono- či disubstituovaných ethylenů) s aryl- nebo alkenylhalogenidy probíhají za katalýzy Pd(0) v přítomnosti báze, která regeneruje katalyzátor¹⁵. Velmi často je nutno použít stříbrné nebo thallné soli jako aditivum. Stereo- i regioselektivitu lze ovlivňovat volbou katalytického systému, báze a aditiva. Vzhledem k tomu, že k těmto reakcím není nutno předem generovat organokov a používají se stabilní alkeny, je Heckova reakce široce používána při syntéze komplexních molekul a v intramolekulární variantě i v mnoha kaskádových procesech.



5.2. Karbonylace

Karbonylace probíhá formálně podobným mechanismem (Schéma 4): oxidativní adice, inserce CO, nukleofilní substituce a regenerace katalyzátoru.

Reakce se provádějí za přetlaku CO. Nukleofilem mohou být alkoholy za vzniku esterů, aminy za vzniku amidů, popř. organokov za vzniku ketonů (karbonylační cross-coupling)¹⁶. Alternativou ke karbonylačnímu cross-couplingu jsou přímé couplingy chloridů kyselin s organokovy (Zn, Sn, B), které rovněž poskytují ketony. Karbonylace jsou rovněž velmi často

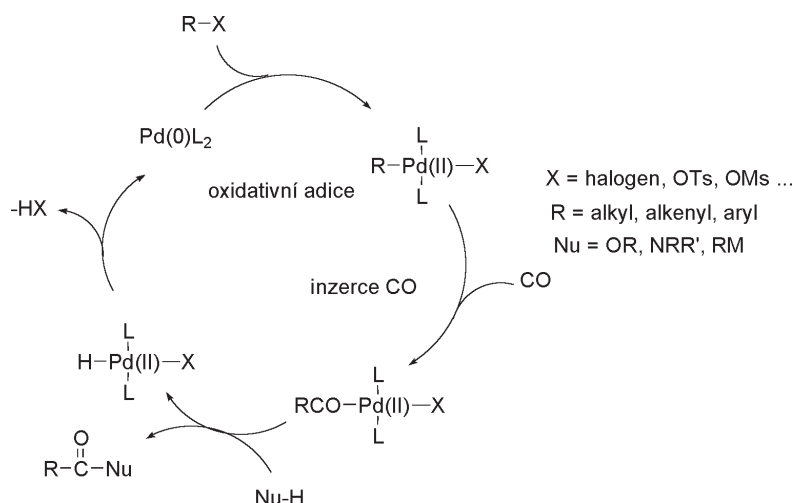
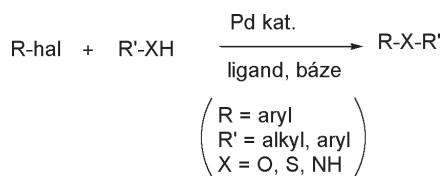


Schéma 4

uplatňovány při kaskádových reakcích a při totálních syntézách komplexních látek.

6. C-X cross-coupling reakce (Hartwig-Buchwald)

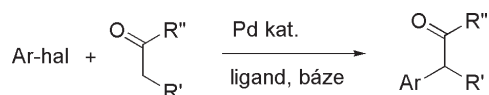
Aromatické nukleofilní substituce probíhají celkem dobře u aktivovaných (elektronově chudých) aryl- a zejména heterarylhalogenidů. Běžné arylhalogenidy ovšem s nukleofily nereagují ani za drastických podmínek. Proto byla v minulosti tvorba aryl-O, aryl-S či aryl-N vazeb velmi komplikovanou záležitostí. Až s rozvojem cross-coupling reakcí a zejména s novými generacemi bidentátních, stericky bráněných a elektronově bohatých ligandů byly vyvinuty efektivní metody přípravy diaryletherů, sulfidů a aminů, tzv. Hartwig-Buchwaldovy reakce^{17,18}. Jedná se o reakce arylhalogenidů s alkoholy, fenoly, thioley či aminy v přítomnosti solí Pd(II) a ligandu (např. P(*tert*-Bu)₃, 2-(difenylofosfanyl)-2'-(dimethylamino)bifenyl, 2-(dicyklohexylfosfanyl)bifenyl, 1,3-diarylimidazolové karbeny) a báze.



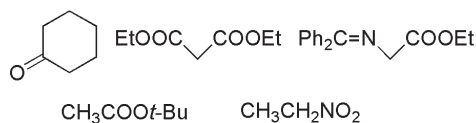
7. Arylace karbonylových sloučenin

α -Arylace karbonylových sloučenin (ketonů, esterů, chráněných aminokyselin) a nitrilů byly rovněž vyvinuty Hartwigem a Buchwaldem a probíhají za obdobných podmínek jako C-X cross-couplingy (jedná se v podstatě o analogickou reakci s C-nukleofily)¹⁹. Rovněž zde se uplatňují moderní ligandy a jako báze lze použít např. K₃PO₄ nebo sodnou sůl

hexamethyldisilazanu (NaHMDS). Tyto nedávno vyvinuté reakce nepochybně najdou významné uplatnění při syntéze důležitých typů látek, např. arylacetátů a arylglycinů.



příklady vhodných substrátů:



8. Závěry

Po více než dvaceti letech intenzivního rozvoje jsou dnes cross-coupling reakce jedním z nejmocnějších nástrojů moderní organické syntézy a jsou široce využívány při syntéze komplexních sloučenin včetně řady biologicky aktivních látek (příklady využití v syntéze purinových derivátů z naší laboratoře viz. cit.²⁰⁻²⁵). V poslední době byly také aplikovány cross-coupling reakce na pevné fázi²⁶ a s jejich pomocí připraveny knihovny látek. S rozvojem vysoce efektivních katalytických reakcí a netoxických organokovů se zvyšuje i průmyslové využití těchto reakcí.

LITERATURA

- Diederich F., Stang P. J. (Eds): *Metal-Catalyzed Cross-Coupling Reactions*. Wiley, New York 1998.
- Amatore C., Jutand A.: *J. Organomet. Chem.* 576, 254 (1999).
- Lipshutz B. H., Parker D., Kozlowski J. A., Miller R. D.: *J. Org. Chem.* 48, 3334 (1983).

- Tamao K., Sumitani K., Kumada M.: *J. Am. Chem. Soc.* **94**, 4374 (1972).
- Fürstner A., Leitner A., Mendez M., Krause H.: *J. Am. Chem. Soc.* **124**, 13856 (2002).
- Knochel P., Perea J. J. A., Jones P.: *Tetrahedron* **54**, 8275 (1998).
- Kosugi M., Fugami K.: *J. Organomet. Chem.* **653**, 50 (2002).
- Suzuki A., Miyaura N.: *Chem. Rev.* **95**, 2457 (1995).
- Suzuki A.: *J. Organomet. Chem.* **653**, 83 (2002).
- Hiyama T.: *J. Organomet. Chem.* **653**, 58 (2002).
- Urata H., Fuchikami T.: *Tetrahedron Lett.* **32**, 91 (1991).
- Sonogashira K.: *J. Organomet. Chem.* **653**, 46 (2002).
- Cardenas D. J.: *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **42**, 384 (2003).
- Littke A. F., Fu G. C.: *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **41**, 4176 (2002).
- Cabri W., Candiani I.: *Acc. Chem. Res.* **28**, 2 (1995).
- Skoda-Földes R., Kollar L.: *Curr. Org. Chem.* **6**, 1097 (2002).
- Hartwig J. F.: *Acc. Chem. Res.* **31**, 852 (1998).
- Muci A. R., Buchwald S. L.: *Top. Curr. Chem.* **219**, 131 (2002).
- Lloyd-Jones G.: *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **41**, 953 (2002).
- Hocek M., Holý A., Votruba I., Dvořáková H.: *J. Med. Chem.* **43**, 1817 (2000).
- Hocek M., Holý A., Votruba I., Dvořáková H.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **65**, 1683 (2000).
- Hocek M., Holý A., Votruba I., Dvořáková H.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **66**, 483 (2001).
- Hocek M., Holý A., Dvořáková H.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **67**, 325 (2002).
- Hocek M., Stará I. G., Starý I., Dvořáková D.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **67**, 1223 (2002).
- Hocek M., Dvořáková H., Císařová I.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **67**, 1560 (2002).
- Bräse S., Kirchoff J. H., Kobberling J.: *Tetrahedron* **59**, 885 (2003).

M. Hocek (*Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*): **C-C and C-X Bond Formation by Cross-coupling Reactions Catalyzed by Transition Metal Complexes**

A brief account on cross-coupling reactions is presented. Both their mechanisms and synthetic applications are discussed. The reactions are classified by the types of mechanism and of the organometallic reagent.

MEMBRÁNOVÉ DĚLENÍ SMĚSÍ PLYNŮ A PAR: TEORIE

MILAN ŠÍPEK, KAREL FRIESS a VLADIMÍR HYNEK

Ústav fyzikální chemie, Vysoká škola chemicko-technologická
v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6
e-mail: milan.sipek@vscht.cz

Došlo 6.2.03, přepracováno 24.3.03, přijato 9.4.03.

Klíčová slova: polymerní membrána, plyny, páry, propustnost, difuze, sorpce, selektivita

Obsah

1. Úvod
2. Typy separačních membrán
3. Mechanismus transportu plynů a par membránou
 - 3.1. Difuze v polymerních membránách
 - 3.2. Propustnost polymerních membrán
 - 3.3. Selektivita membrány
4. Závěr

1. Úvod

V druhé polovině minulého století prošly membránové separační procesy prudkým rozvojem a začaly se využívat v praxi. Až do této doby byla membránová věda (membranologie) jen úzkým oborem fyzikálních věd s dlouhou historií, ale omezenou praktickou aplikací. Vždyť Fickovy zákony byly publikovány v polovině 19. století, van't Hoffovy osmotické zákony jsou známy od roku 1887, ale s reverzní osmózou jako technologickým procesem získávání ultračisté vody se setkáváme až v šedesátých letech minulého století. Donnan svá studia o distribuci vysokomolekulárních a nízkomolekulárních nabitých částic polopropustnou membránou publikoval v roce 1911, praktické využití dialýzy k odstranění toxických látek z krve (hemodialýza) demonstroval Kolff v roce 1944. Velkého celosvětového uplatnění doznala dialýza až v posledních třiceti letech.

O tom, že gumová pryž propouští v různé míře kyslík a dusík, se přesvědčil Thomas Graham již v roce 1866, polymerních membrán se však k dělení plyných směsí začalo technologicky využívat až od konce sedmdesátých let minulého století. Filtraci, jako klasický membránový proces oddělení tuhých látek od kapalin, znali již staří Egypťané, nicméně nejrůznějších přírodních nebo syntetických látek v podobě membrán různých struktur a tvarů se k dělení kapalných i plyných směsí začalo technologicky používat v relativně nedávné době. Důvodů bylo a je mnoho. Podstatné jsou však důvody ekonomické a ekologické. Energetická krize z počátku sedmdesátých let si vynutila vývoj a použití energeticky méně náročných technologických procesů obecně, tedy i separačních procesů. I laik pochopí, že získat dusík ze vzduchu

pomocí separační polymerní membrány je energeticky podstatně výhodnější než použití kryogenní metody, tzn. jeho zkapalnění s následnou destilací. Elektrolýza NaCl s použitím iontově výměnných membrán představuje až 25 % úsporu elektrické energie proti klasické amalgámové metodě, která je navíc neekologická.

Vedle ekologických důvodů pro vznik nových membránových technologií jsou příčinou rychlého rozvoje membránových separačních procesů také požadavky chemického, petrochemického, farmaceutického i potravinářského průmyslu.

Zvyšující se nedostatek surovin je ekonomickým důvodem pro úsilí o jejich lepší využití a o znovuzískání cenných látek např. rekuperací vzácných kovů, zpětným získáváním vodíku a jiných plynů z „odplynů“, opětým získáváním barviv, rozpouštědel, přírodních látek, bílkovin, enzymů a podobně. To vede také k výzkumu, vývoji a výrobě dostatečně výkonných a efektivních separačních membrán a modulů pro membránové separační procesy. Ty lze využít k ochraně ovzduší separací par organických látek ze vzduchu, k čištění odpadních vod, k získávání pitné vody odsolováním mořské vody a pro zajištění zvyšujících se nároků na zdravotní nezávadnost potravin.

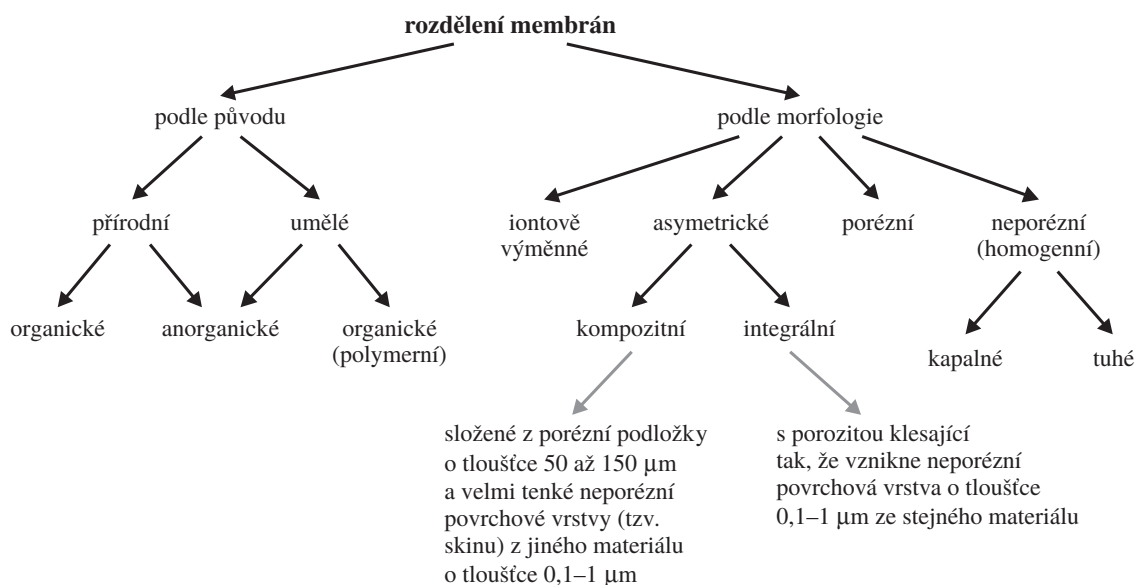
Rozvoj elektrotechnického průmyslu v sedmdesátých letech minulého století byl podmíněn vývojem reverzně osmotické technologie získání ultračisté vody. Rovněž rozvoj biotechnologií obecně není možný bez rozvoje membránových separačních procesů.

Srovnáme-li klasické separační metody – destilaci, krystalizaci, extrakci, sorpci či srážení následované filtrací či odstředováním – s membránovými separačními metodami, lze říci, že membránové procesy dělení, zkoncentrování či čištění jsou v mnohých případech rychlejší, účinnější a levnější. Pochopitelně je někdy výhodné kombinovat klasické metody s membránovými metodami, neboť záleží také na objemu dělené směsi, nárocích na stupeň rozdělení a čistotu rozdělených látek. Velká výhoda membránových separačních procesů spočívá v tom, že separace probíhá za nízkých teplot a děleným látkám citlivým na vyšší teplotu nehrozí tudíž změna nebo rozklad a hlavně, že separace nevyžaduje přísady jiných látek.

Tento přehledný článek je věnován dělení směsí plynů a par polymerními membránami jako jednomu ze základních separačních procesů.

2. Typy separačních membrán

Separací membránou je pasivní nebo aktivní bariéra oddělující dvě fáze a umožňující selektivní transport jednotlivých složek dělené směsi membránou jako důsledek rozdílné rychlosti jejich transportu membránou. Rychlost transportu závisí na velikosti hnacích sil, pohyblivosti a koncentraci jednotlivých složek v membráně. Hnacími silami mohou být gradienty chemického potenciálu (tlaku a koncentrace), elektrického potenciálu, teploty a tíhového zrychlení. Separací, tzn. semipermeabilní nebo permselektivní membrány se kla-



Obr. 1. Klasifikace separačních membrán

sifikuji podle původu a morfologie tak, jak je znázorněno na obr.1.

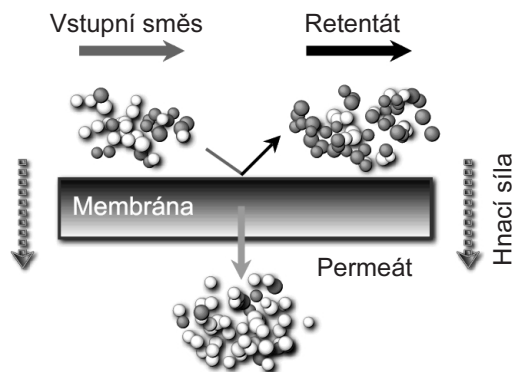
Separační membrány mohou být ve formě plochých listů (tabulární), tubic (tubulární), vinutých spirál nebo dutých vláken. Pro každý membránový separační proces je charakteristický fyzikální princip transportu nebo zadržení. Separační membrána musí mít určité specifické vlastnosti, tzn. dostatečnou mechanickou a chemickou stálost, hlavně však dostatečnou propustnost (výkon) a dělicí schopnost (selektivitu).

3. Mechanismus transportu plynů a par membránou

Propustnost, jako transportní vlastnost polymerních systémů, spočívá v přenosu hmoty skrze polymerní membránu vlivem gradientu chemického potenciálu, teploty a tlaku, případně vlivem vnějšího silového pole. Mechanismus tohoto procesu je složitý a závisí především na charakteru membrány a pronikající látky¹.

U porézních materiálů může mít mechanismus přenosu hmoty, v závislosti na velikosti pórů, charakter molekulárního (Knudsenova) toku nebo laminárního (Poiseuillova) toku². Předmětem naší pozornosti budou nadále izotropní, neporézní polymerní materiály, neboť při dělení směsí plynů a par se používají membrány asymetrické kompozitní nebo asymetrické integrální s neporézním skinem (viz obr.1) Mechanismus transportu plynů a par skrze tyto membrány lze popsat tzv. rozpustnostně-difuzním modelem^{1,3-5}. Tento model předpokládá, že transport je sumou několika následných kroků. Nejprve dochází k sorpci látky na povrchu membrány a jejímu rozpouštění v membráně. Pak následuje aktivovaná difuze látky membránou a posléze desorpce z povrchu na druhé straně membrány.

S touto představou o mechanismu propustnosti přišel již v roce 1866 Thomas Graham na základě studia propustnosti kaučukovitých materiálů pro plyny. Kvantitativně tuto propustnost popsal v roce 1879 Wroblewski pomocí Fickova



Obr. 2. Schéma membránové separace

difuzního zákona a Henryova zákona o rozpustnosti a jeho představy platí v podstatě dodnes.

Čtené Barrerovy práce ze čtyřicátých let minulého století představují podstatný přínos k problematice mechanismu přenosu hmoty v polymerních materiálech^{6,7}. Pozdější studie struktury makromolekulárních látek přispěly k dalšímu objasnění tohoto mechanismu a určení závislosti propustnosti polymerů na jejich složení, struktuře, fázovém stavu, orientaci a dalších vlastnostech.

Jak je patrné z obr. 2, směs látek, které membránou neprochází, tvoří tzv. retentát (nebo koncentrát), naopak směs pronikajících látek (tzv. permeantů) se obecně označuje jako permeát. Tok látky membránou je důsledkem příslušné hnací síly, kterou v případě dělení směsí plynů a par je gradient tlaku nebo koncentrace.

3.1. Difuze v polymerních membránách

Budeme-li při difuzi plynů nebo par v polymerních materiálech považovat polymer za rozpouštědlo a difundující plyn nebo páry za rozpouštěné látky, lze tento difuzní proces

popsat jediným parametrem a to difuzním koeficientem plyné nebo parní složky. Vektor hustoty molárního difuzního toku složky i (\mathbf{J}_i) je totiž vždy vztažen k určité referenční rychlosti⁸ \mathbf{v}_{ref}

$$\mathbf{J}_i = c_i (\mathbf{v}_i - \mathbf{v}_{\text{ref}}) \quad (1)$$

kde c_i je molární koncentrace složky i , \mathbf{v}_i je vektor makroskopické rychlosti složky i vzhledem k nehybným souřadnicím jako průměrná rychlost všech molekul složky i v daném místě. Jestliže vektor referenční rychlosti \mathbf{v}_{ref} je rychlost rozpouštědla (tzn. polymeru), která je při experimentu evidentně nulová, pak hustota molárního difuzního toku polymeru je podle (1) rovněž nulová a hustota molárního difuzního toku složky i je

$$\mathbf{J}_i = c_i \mathbf{v}_i \quad (2)$$

a podle 1. Fickova zákona⁹ za konstantní teploty T a tlaku p

$$\mathbf{J}_i = -D(c_i) \nabla c_i \quad [T, p] \quad (3)$$

kde ∇ je vektorový diferenciální operátor nabla, $D(c_i)$ je koncentračně závislý difuzní koeficient složky i vzhledem k nehybnému polymeru.

Omezíme-li se v dalším textu pouze na jednorozměrnou (ve směru osy z), jednosložkovou, stacionární difuzi v izotropních a neporézních polymerních membránách za stálého tlaku a teploty, pak místo vektorů lze použít jejich absolutních hodnot a vztah (3) přepsat na tvar

$$J = -D(c) \frac{\partial c}{\partial z} \quad [T, p] \quad (4)$$

kde J je hustota molárního difuzního toku, udávající látkové množství plynu (par) prošlé jednotkovou plochou membrány za jednotku času, $\partial c / \partial z$ je gradient molární koncentrace plynu v membráně.

Dosažením do rovnice kontinuity⁸ pro nereagující systémy lze pro nestacionární jednosměrnou difuzi psát

$$\frac{\partial c}{\partial \tau} = \frac{\partial}{\partial z} \left[D(c) \frac{\partial c}{\partial z} \right] = 0 \quad [T, p] \quad (5)$$

resp. pro konstantní difuzní koeficient

$$\frac{\partial c}{\partial \tau} = D \frac{\partial^2 c}{\partial z^2} \quad [T, p] \quad (6)$$

kde τ ve vztazích (5) a (6) je čas.

V souvislosti se vztahy (5) a (6) je nutno poznamenat, že v polymerních systémech jsou difuzní koeficienty plynů obvykle konstantní na rozdíl od difuzních koeficientů par organických látek. Uvažujeme-li difuzi membránou tloušťky l o stálých povrchových koncentracích plynů (par) c_1 a c_2 , ($c_1 > c_2$), pak po dosažení stacionárního stavu, kdy se koncentrace plynu v membráně s časem nemění [$\partial c / \partial \tau = 0$], musí podle vztahu (5) platit

$$\frac{\partial}{\partial z} \left[D(c) \frac{\partial c}{\partial z} \right] = 0 \quad (7)$$

Dvojití integrací vztahu (7) pro počáteční a okrajové podmínky ($c = c_1$ pro $z = 0$ a $c = c_2$ pro $z = l$, $\tau \geq 0$) a kombinací se vztahem (4) dostáváme pro hustotu stacionárního difuzního toku J_s vztah

$$J_s = -\frac{1}{l} \int_{c_1}^{c_2} D(c) dc = \bar{D} \left(\frac{c_1 - c_2}{l} \right) \quad (8)$$

kde integrální difuzní koeficient \bar{D} je definován vztahem

$$\bar{D} = \frac{1}{c_1 - c_2} \int_{c_1}^{c_2} D(c) dc \quad (9)$$

Ze vztahu (8) a (9) plyne, že pro $c_2 = 0$

$$D_{c=c_1} = \bar{D} + c_1 \frac{d\bar{D}}{dc_1} \quad (10)$$

Pro konstantní difuzní koeficient $\bar{D} = D$ je koncentrace plynu (par) v membráně lineární funkcí z

$$c = c_1 + \left(\frac{c_2 - c_1}{l} \right) z \quad (11)$$

a analogicky jako v (8) platí, že

$$J_s = D \left(\frac{c_1 - c_2}{l} \right) \quad (12)$$

Jak již bylo uvedeno, difuzní koeficient závisí – kromě na teplotě a tlaku – obecně také na koncentraci c , případně v anizotropních materiálech i na poloze z .

Pokud je difuzní koeficient funkcí i času, pak se difuze neřídí Fickovými zákony a jedná se o tzv. *nefickovskou difuzi*. Pokud difuzní koeficient explicitně na poloze nezávisí, můžeme vztah (5) přepsat na tvar

$$\frac{\partial c}{\partial \tau} = D(c) \frac{\partial^2 c}{\partial z^2} + \left(\frac{\partial D(c)}{\partial c} \right) \left(\frac{\partial c}{\partial z} \right)^2 \quad (13)$$

Při dostatečně malých koncentračních změnách, kdy hodnota $\partial D / \partial c$ je ve srovnání s D malá, lze druhý člen na pravé straně rovnice (13) zanedbat a diferenciální difuzní koeficient považovat za konstantní střední hodnotu. V reálných systémech není hustota difuzního toku úměrná gradientu koncentrace difundující látky, nýbrž gradientu chemického potenciálu, proto odvozené vztahy platí pouze v těch systémech polymer–plyn nebo polymer–páry, které se chovají ideálně.

3.2. Propustnost polymerních membrán

Průchod plynů nebo par skrze neporézní polymerní membránu vyvolaný difuzí se nazývá propustnost. Jestliže difundující plyn (páry) se v polymerní membráně rozpouští za vzniku velmi zředěného roztoku, lze tento systém považovat za ideální a podle Henryova zákona vyjádřit koncentraci plynu v membráně c jako lineární funkci vnějšího rovnovážného tlaku p vztahem

$$c = S p \quad (14)$$

Konstanta úměrnosti S je tzv. koeficient rozpustnosti. Po dosažení vztahu (14) do (4) dostaneme pro hustotu difuzního toku

$$J = -P \left(\frac{\partial p}{\partial z} \right) \quad (15)$$

kde P je koeficient propustnosti (permeability) definovaný vztahem

$$P = D S \quad (16)$$

Koeficient propustnosti je tedy součinem difuzního koeficientu a koeficientu rozpustnosti (sorpcce). Obecně je funkcí teploty a tlaku.

Pro transportní parametry (P , D , S) obecně platí, že hodnoty koeficientů propustnosti a difuze se zvyšují s rostoucí teplotou, u koeficientu rozpustnosti (sorpcce) není závislost na teplotě jednoznačná. Je třeba zdůraznit, že transportní parametry, charakterizující přenos plynu (par) skrze polymerní membránu, závisí nejen na vlastnostech difundující látky, ale i vlastnostech polymeru.

Integrací vztahu (15) pro počáteční a okrajové podmínky ($p = p_1$ při $z = 0$ a $p = p_2$ při $z = l$) v čase $\tau \geq 0$ a po úpravě získáme pro koeficient P

$$P = \frac{J_s l}{p_1 - p_2} \quad (17)$$

kde J_s je stacionární hustota difuzního toku plynu, l je tloušťka membrány, p_1, p_2 jsou stálé, rovnovážné tlaky plynu (nebo par) po obou stranách membrány ($p_1 > p_2$).

Experimentálně bylo dokázáno, že ani difuzní koeficient, ani koeficient rozpustnosti v reálných systémech polymer-plyn nejsou konstantní, jak vyžaduje předpoklad ideality. Neidealita se projevuje především v nelineárním vzrůstu rozpustnosti plynu s jeho tlakem.

Koeficient propustnosti P udává množství látky v molech nebo m^3 za standardních podmínek (STP), tj. při teplotě 273,15 K a tlaku 101,325 kPa, prošlé jednotkovou plochou membrány za jednotku času při jednotkovém gradientu tlaku a má rozměr $\text{mol} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}$ nebo $\text{m}^3(\text{STP}) \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}$.

V americké a anglické literatuře se však propustnosti dodnes vyjadřují s rozměrem $\text{cm}^3(\text{STP}) \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \cdot (\text{cm Hg})^{-1}$, neboť Barrer definoval P jako difuzní tok plynu (par) v $\text{cm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ (měřeno za standardních podmínek) skrze membránu o ploše 1 cm^2 , kdy Δp má hodnotu 1 cm Hg a tloušťka membrány $l = 1 \text{ cm}$.

$$1 \text{ Barrer} = 10^{-10} \frac{\text{cm}^3(\text{STP})\text{cm}}{\text{cm}^2 \text{ s} (\text{cm Hg})} = 7,5 \cdot 10^{-18} \frac{\text{m}^3(\text{STP})\text{m}}{\text{m}^2 \text{ s Pa}} =$$

$$= 3.346 \cdot 10^{-16} \frac{\text{mol m}}{\text{m}^2 \text{ s Pa}}$$

Koeficient rozpustnosti vyjadřuje množství plynu (par) v m^3 (měřeno za standardních podmínek) rozpuštěné v 1 m^3 rozpouštědla (polymeru) za parciálního tlaku 1 Pa a při udané teplotě, proto má rozměr Pa^{-1} .

Experimentální stanovení transportních parametrů P , D a S je v membranologii významné z hlediska teoretického i praktického. Koeficienty propustnosti se obvykle stanovují diferenciální nebo integrální permeační metodou, koeficienty difuze lze získat buď z permeačních nebo sorpčních experimentálních dat^{10,11}. Jednou z metod stanovení koeficientu rozpustnosti (sorpcce) je použití McBainových spirálních vážek¹².

K pochopení vlastního mechanismu propustnosti je nutno odděleně znát difuzní koeficient, koeficient propustnosti i rozpustnost plynu (par) v polymeru, závislost těchto veličin na teplotě, tlaku, charakteru plynu, na typu, struktuře, fyzikálním stavu polymeru a na dalších faktorech^{4,13,14}. Například naše experimenty prokázaly, že při průchodu směsi par organických látek membránou dochází k vzájemnému ovlivňování propustnosti jednotlivých složek směsi a výslednou hodnotu difuzního toku směsi nelze předpovídat z difuzních toků jednotlivých čistých látek¹⁵.

Při transportu plynu nebo par organických látek zvláště polymery ve skelném stavu se sorpcce těchto látek v polymeru neřídí jen Henryovým zákonem, ale i Langmuirovou nebo Flory-Hugginsovou izotermou (viz obr. 3).

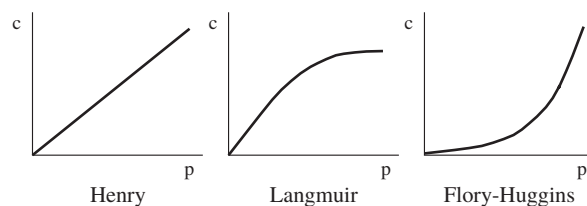
U polymerů ve skelném stavu dochází k tzv. dvojí sorpci (dual sorption mode)^{3-5,14}, kdy celková koncentrace plynu (par) v membráně je soumou dvou příspěvků

$$c = c_1 + c_2 \quad (18)$$

První člen ve vztahu (18) je totožný se vztahem (14) a představuje rozpouštění látky v membráně podle Henryova zákona, druhý člen, odpovídající Langmuirově izotermě, vyjadřuje sorpci látky v mikropórech nebo defektech membrány

$$c_2 = a \frac{bp}{1 + bp} \quad (19)$$

kde p je tlak plynu (par), a , b jsou konstanty. Souhrnně tedy



Obr. 3. Typy sorpčních izoterm

$$c = Sp + a \frac{bp}{1 + bp} \quad (20)$$

Lze dokázat, že i při dvojí sorpci za vysokých tlaků ($bp \gg 1$) je hustota difuzního toku plynu (par) dána také vztahem (15). Při nízkých tlacích ($bp \ll 1$) je hustota difuzního toku plynu (par) ve stacionárním stavu

$$J = -D_{\text{ef}} S \left(\frac{\partial p}{\partial z} \right) = -P \left(\frac{\partial p}{\partial z} \right) \quad (21)$$

kde koeficient propustnosti P je tentokrát součinem efektivního difuzního koeficientu a koeficientu rozpustnosti S . Efektivní difuzní koeficient je definován vztahem

$$D_{\text{ef}} = \left(\frac{DS}{S + ab} \right) \quad (22)$$

Na základě lineární nerovnovážné termodynamiky¹⁶ lze pro propustnost plynu nebo par ve vícesložkových systémech (1 – polymer, 2 a 3 – difundující složky) s ohledem na platnost vztahu (15) psát

$$J_2 = -P_{22} \frac{\partial p_2}{\partial z} - P_{23} \frac{\partial p_3}{\partial z} \quad (23)$$

$$J_3 = -P_{32} \frac{\partial p_2}{\partial z} - P_{33} \frac{\partial p_3}{\partial z} \quad (24)$$

kde P_{22} a P_{33} jsou vlastní koeficienty propustnosti a P_{23} a P_{32} jsou křížové koeficienty propustnosti složek 2 a 3.

3.3. Selektivita membrány

Dělicí schopnost (tzv. selektivita)¹⁷ membrány se kvantitativně nejčastěji vyjadřuje pomocí separačního faktoru α_{ij} definovaného vztahem

$$\alpha_{ij} = \left(\frac{y_i^{(2)}/y_j^{(2)}}{y_i^{(1)}/y_j^{(1)}} \right) \quad i \neq j \quad (25)$$

kde y_i a y_j jsou molární zlomky složek i a j v permeátu (plynná fáze 2) a ve vstupní směsi (plynná fáze 1).

Vzhledem k platnosti Daltonova zákona $p_i = y_i p$, kde p je celkový tlak, p_i je parciální tlak složky i , a skutečnosti, že poměr hustot molárních difuzních toků složek je roven poměru molárních zlomků těchto složek v permeátu

$$\left(\frac{J_i}{J_j} \right) = \frac{y_i^{(2)}}{y_j^{(2)}} \quad (26)$$

můžeme vztah (25) pro separační faktor upravit na výraz

$$\alpha_{ij} = \frac{J_i p_i^{(1)}}{J_j p_j^{(1)}} \quad (27)$$

Na základě vztahů (15), (16) a (17) můžeme pro poměr J_i/J_j psát

$$\frac{J_i}{J_j} = \Gamma_{ij} \left[\frac{1 - (p_i^{(2)}/p_i^{(1)})}{1 - (p_j^{(2)}/p_j^{(1)})} \right] \quad (28)$$

kde

$$\Gamma_{ij} = \frac{D_i S_i}{D_j S_j} \quad (29)$$

Jestliže tlaky plyných složek ve vstupní směsi jsou podstatně vyšší než v permeátu ($p_i^{(1)}, p_j^{(1)} \gg p_i^{(2)}, p_j^{(2)}$), což v praxi téměř vždy platí, pak tzv. ideální separační faktor je dán poměrem koeficientů propustnosti jednotlivých plyných složek

$$\alpha_{ij} = \Gamma_{ij} = \frac{P_i}{P_j} \quad i \neq j \quad (30)$$

4. Závěr

Tento přehledný článek se zabývá problematikou membránového dělení směsí plynů a par. Jsou uvedeny typy separačních membrán a popsán mechanismus transportu plynů a par neporézními polymerními membránami. Dále jsou definovány transportní parametry plynů a par v polymerních membránách, které závisí na teplotě, tlaku, charakteru plynu, na typu, struktuře, fyzikálním stavu polymeru a na dalších faktorech. Diskuse všech těchto faktorů ovlivňujících propustnost, difuzi a sorpci plynů a par v polymerních membránách překračuje rámec tohoto článku. Praktické využití polymerních membrán pro separaci směsí plynů a par bude předmětem dalšího přehledného článku.

Tato práce vznikla za podpory GA ČR (grant č. 104030388) a MŠMT (grant č. 223400008).

LITERATURA

1. Crank J., Park G. S.: *Diffusion in Polymers*. Academic Press, London 1968.
2. Mulder M.: *Basic Principles of Membrane Technology*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht 1998.
3. Vieth W. R.: *Diffusion In and Through Polymers*. Hanser Publishers, New York 1991.
4. Kesting R. E., Fritzsche A. K.: *Polymeric Gas Separation Membranes*. Wiley, New York 1993.
5. Koros W. J., Fleming G. K., Jordan S. M., Kom T. H., Hoen A. H.: *Prog. Polym. Sci.* 13, 339 (1988).
6. Barrer R. M.: *Nature* 140, 106 (1937).
7. Barrer R. M., Skirrow G.: *J. Polym. Sci.* 5, 549 (1948).

8. Bird R. B., Stewart W. E., Lightfoot E. N.: *Přenosové jevy* (český překlad). Academia, Praha 1968.
9. Crank J.: *The Mathematics of Diffusion*. Clarendon Press, Oxford 1975.
10. Šípek M., Jehlička V., Nguyen X. Q.: Chem. Listy 76, 273 (1982).
11. Hýnek V., Šípek M.: Chem. Listy 90, 938 (1996).
12. Hodek J., Šípek M., Šlechta O.: Collect. Czech. Chem. Commun. 54, 2919 (1989).
13. Hwang S. T., Kammermeyer K.: *Membranes in Separations*. Wiley, New York 1975.
14. Paul D. R., Yampolski Y. P.: *Polymeric Gas Separation Membranes*. CRC Press, Boca Ration 1994.
15. Friess K.: *Doktorská dizertační práce*. VŠCHT, Praha 2002.
16. Baranowski B.: J. Membr. Sci. 57, 119 (1991).
17. Osada Y., Nakagawa T.: *Membrane Science and Technology*. Marcel Dekker, Inc., New York 1992.

M. Šípek, K. Friess and V. Hýnek (*Department of Physical Chemistry, Institute of Chemical Technology, Prague*):
Membrane Separation of Mixtures of Gases and Vapors: Theory

The review deals with the separation of mixtures of gases and vapors using polymer membranes. Several types of separation membranes and mechanism of transport of gases or vapors through the membranes are described. The solubility-diffusion model together with the definition of transport parameters (permeability, diffusion and solubility coefficients) are explained.

3,5-DI-*terc*-BUTYL-1,2-BENZOCHINON JAKO MODELOVÁ LÁTKA PYRIDOXALU

JARMILA VINŠOVÁ^{a*} a VÁCLAV HORÁK^b

^aFarmaceutická fakulta Univerzity Karlovy, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové, Česká republika, ^bGeorgetown University, Washington DC 20057-1227, USA
e-mail: vinsova@faf.cuni.cz

Došlo 27.7.02, přepracováno 24.4.03, přijato 27.5.03.

Klíčová slova: 3,5-di-*terc*-butyl-1,2-benzochinon, pyridoxal, oxidativní deaminace, aminokyselina, retroaldolová reakce

Práce je věnována Doc. Milanovi Horákovi k jeho 75. narozeninám.

Obsah

1. Úvod
2. Charakteristika 3,5-di-*terc*-butyl-1,2-benzochinonu
3. Metody přípravy
4. Reaktivita
 - 4.1. Reakce s primární aminoskupinou
 - 4.2. Reakce se sekundárními aminy
 - 4.3. Reakce s terciárními aminy

1. Úvod

Studium modelových systémů biologicky aktivních látek hraje významnou roli jak v poznávání biologických procesů, tak ve vývoji nových reakčních látek pro organickou syntézu, prováděnou za mírných podmínek obvyklých v živém prostředí. Jednoduché sloučeniny vhodné struktury dokáží napodobit procesy biologických faktorů¹ a jejich častou výhodou je, že jsou stabilnější, snadněji přístupné a podstatně levnější. 3,5-Di-*terc*-butyl-1,2-benzochinon (DTBBQ), sloučenina jejíž reaktivitou se zabýváme, je v některých svých typech reakcí modelovou látkou pyridoxalu, jehož prekurzorem je pyridoxin, vitamin B₆. Úloha vitamínu B₆ je pro živé procesy nesmírně důležitá. Působí jako koenzym pro enzymy důležité v biosyntéze, metabolismu a regulačních funkcích. Jako ko-faktor se účastní řady enzymatických transformací zahrnujících také biosyntézu a metabolismus aminokyselin. V této oblasti bylo nalezeno 12 typů reakcí², z nichž vzhledem k tématu tohoto článku jsou nejaktuálnější oxidativní deaminace a transaminace (přeměna aminokyseliny na ketokyselinu), C–C-štěpení v α,β -poloze aminokyseliny (dealdolizace), α,β -eliminace, je-li v β -poloze elektronegativní substituent a dekarboxylace aminokyseliny v α -poloze.

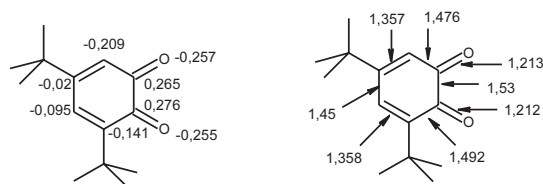
Doposud bylo zjištěno, že DTBBQ napodobuje pyridoxal v oxidativní deaminaci primární aminoskupiny vázané na sekundárním uhlíku, která vede k tvorbě ketonů^{3,4}, štěpení C–C vazby u vicinálních aminobenzylalkoholů⁵, retroaldolové reakci s tryptofanem⁶ a dekarboxylaci aminokyselin⁷. Přehledný článek je koncipován širěji, vedle zmíněných reakcí zahrnuje souhrnně reakce DTBBQ se sloučeninami majícími ve své molekule aminoskupinu.

2. Charakteristika 3,5-di-*terc*-butyl-1,2-benzochinonu

3,5-Di-*terc*-butyl-1,2-benzochinon tvoří temně červené jehlicovité krystaly dobře rozpustné ve všech organických rozpouštědlech. V UV-Vis spektru má charakteristické absorpční maximum s vlnovou délkou λ_{\max} 402 nm ($\epsilon = 821$) (měřeno v methanolu)⁴, což dovoluje jeho snadnou a rychlou detekci. Rentgenové spektrum⁸ molekuly DTBBQ ukazuje na rozdílné délky vazeb karbonylu, C1–O1 = $1,217(3) \cdot 10^{-10}$ m, C2–O2 = $1,214(3) \cdot 10^{-10}$ m; délky vazeb odpovídající dvojným vazbám jsou pro C3–C4 $1,340(4) \cdot 10^{-10}$ m, pro C5–C6 $1,344(4) \cdot 10^{-10}$ m, u jednoduchých C–C vazeb se pohybují mezi $1,439$ a $1,554(5) \cdot 10^{-10}$ m. Úhel C1–C2–C3 je $118,3(2)^\circ$ a C2–C1–C6 je $118,7(2)^\circ$. Námi optimalizovaná geometrie molekuly DTBBQ (obr. 1) vykazuje podobnost vzhledem k délkám dvojných a jednoduchých vazeb a udává hodnoty nábojů na atomech chinoidní struktury⁹. Toto elektronové rozložení je zodpovědné za typy reakcí, kterým DTBBQ podléhá.

3. Metody přípravy

DTBBQ byl získán oxidací celé řady výchozích sloučenin. K preparativní přípravě se však hodí pouze některé z nich, z nichž nejvhodnější a nejčastěji používanou sloučeninou je 3,5-di-*terc*-butylbenzen-1,2-diol. Jako činidla slouží oxid olovičitý, oxid stříbrný¹⁰, di-*terc*-butylperoxid za katalýzy chloridu bis(trifenylfosfin)ruthenatého¹¹, manganistan draselný za podmínek fázového přenosu¹², oxid seleničitý vázaný na polystyrenu¹³ nebo kyslík za katalýzy chloridu železitého na silikagelu jako nosiči¹⁴. Katalytické a fotochemické metody



Obr. 1. Geometrie molekuly 3,5-di-*terc*-butyl-1,2-benzochinonu

* Autor pro korespondenci

vedou většinou ke složitým směsím, kde vedle DTBBQ vznikají produkty štěpení kruhu¹⁵; pro ilustraci uvádíme schéma 1.

Jinou vhodnou výchozí látkou se osvědčil 2,4-di-*tert*-butylfenol při použití dimethyldioxiranu¹⁶ (schéma 2). Z dalších výchozích sloučenin lze jmenovat isomerní 3,5-di-*tert*-butylfenol¹⁷, 2-amino-3,5-di-*tert*-butylfenol¹⁸, 2,4,6-tri-*tert*-butylanilin¹⁹, 2,4-di-*tert*-butyl-6-[(dimethylamino)methyl]fenol²⁰, 2,4,6-tri-*tert*-butyl-4-nitro-cyklohexa-2,5-dien-1-on²¹ a 4-azido-2,4,6-tri-*tert*-butyl-cyklohexa-2,5-dien-1-on²².

4. Reaktivita

DTBBQ vykazuje bohatou a mnohostrannou reaktivitu, jejímž základem je obecná reaktivita *o*-chinonů. Reaktivita se týká na jedné straně karbonylových skupin, na druhé straně zbývajících uhlíků chinoidního systému. Významnou roli hrají objemné *tert*-butylové skupiny (s van der Waalsovými poloměry $3,43 \cdot 10^{-10} \text{ m}$)⁹ v poloze 3 a 5, které ovlivňují v mnoha případech průběh reakcí. Obecně zamezují reakcím v poloze 4 a způsobují preferenci nukleofilních útoků do polohy 1 a 6. Důsledkem je vysoká selektivita, např. reakce primární aminoskupiny s karbonylem v poloze 1 a siriých nukleofilů v poloze 6 (cit.²³). Jindy na základě příslušného mechanismu dochází k reakcím na dvou centrech DTBBQ, např. na obou karbonylech nebo na C1 karbonylu a sousedním uhlíku v poloze 6 (cit.²⁴). Konjugovaný π -elektronový uhlíkový systém se podílí na řadě 1,2- a 1,4-adičních reakcích. Je zajímavé, že objemné *tert*-butylové skupiny nezabrání průběhu Dielskovy-Alderovy reakce^{25,26}. Cyklický systém se zúčastňuje adičně-elimináčních a oxidačně-redukčních reakcí.

DTBBQ hraje často sekundární úlohu v tom, že reaguje s primárním reakčním produktem. Převážně jde o oxidační a dehydrogenační procesy, přičemž DTBBQ přejde na 3,5-di-*tert*-butylbenzen-1,2-diol. Příkladem je štěpení C–C vazby

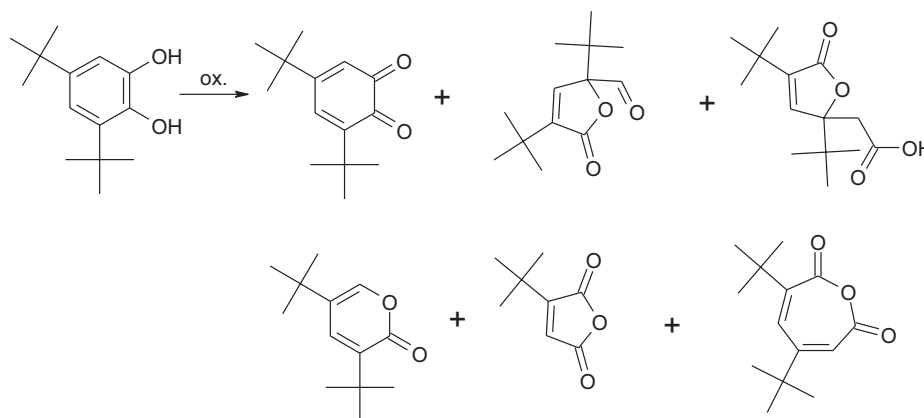


Schéma 1

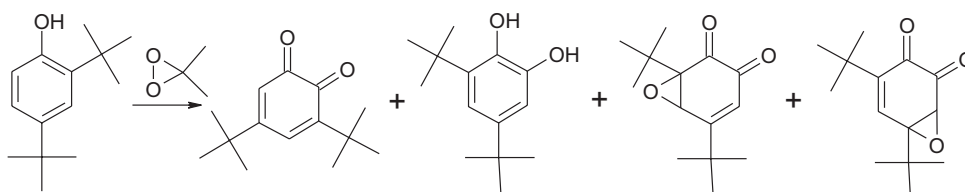


Schéma 2

u vicinálních aminoalkoholů, ke kterému dochází teprve v druhé fázi reakčního sledu působením druhé molekuly DTBBQ na benzoxazolin vzniklý v první fázi reakce⁵.

4.1. Reakce s primárními aminy

Primární aminoskupina reaguje selektivně na stericky méně stíněném karbonylu v poloze 1 za vzniku chinonmonoiminu. Podle substituce na dusíku často dochází k následným reakcím především k přeměně chinoidní struktury na termodynamicky výhodnější strukturu aromatickou.

Primární aminoskupina vázaná na primární uhlík reaguje s DTBBQ v prvním stupni na nestálý chinonmonoimin, ten se spontánně přesmykuje sigmatropním mechanismem na Schiffovu bázi. V případě nadbytku DTBBQ (DTBBQ/amin v poměru 2:1) nebo za přístupu vzdušného kyslíku je konečným produktem benzoxazol, který vzniká dehydrogenací benzoxazolinu existujícího v rovnováze s Schiffovou bází (schéma 3).

Takto zreagovala např. aminoskupina benzylaminu³ a ethanolaminu⁵. U ethan-1,2-diaminu se produkty reakce poněkud liší. U ruských autorů k cyklizaci nedošlo a získaným produktem byl *N,N'*-bis(3,5-di-*tert*-butyl-2-hydroxyfenyl)ethan-1,2-diamin²⁷ (schéma 4). Novější práce²⁸ popisuje odlišný výsledek reakce stejných komponent, kde vznikl 2-amino-4,6-di-*tert*-butylfenol v 75% výtěžku. Autoři článku reprodukcí reakce za stejných podmínek získali směs aminofenolu, modrého 2,4,6,8-tetra-*tert*-butylfenoxazin-1-onu a 5,5',7,7'-tetra-*tert*-butyl-2,2'-bi(benzoxazol)u⁷ (schéma 4).

4-(1,2,3,4-Tetrahydro-9*H*- β -karbolin-1-yl)-butylamin (nazlinin) reaguje s DTBBQ složitým mechanismem. Za ztráty dusíku primární aminoskupiny působením DTBBQ dochází k cyklizaci a za účasti sekundární aminoskupiny vzniká enaminiový kation. Ten redukcí borohydridem dal 1,2,3,4,6,7-hexahydro-12*H*,12*bH*-indolo[2,3-*a*]chinolizin. Prodloužení re-

akční doby a použití přebytku DTBBQ vedlo k cykloadici další molekuly DTBBQ²⁹ (schéma 5).

U primárních aminů, které mají aminoskupinu vázanou na sekundárním uhlíku je první krok reakce s DTBBQ stejný jako v případě primárních aminů s aminoskupinou vázanou na primární uhlík. Vzniklý chinonimin přesmykne na Schiffovu

bázi, která je hydrolyzována na příslušný keton (schéma 6). Tato tzv. Coreyho reakce³ je analogií oxidační deaminace způsobené pyridoxalem. Ekvimolární množství aminu s DTBBQ reaguje v polárním rozpouštědle (např. ethanol, methanol–tetrahydrofuran 6:1) za laboratorní teploty. Reakce je provázena vznikem intenzivně zbarveného 2,4,6,8-tetra-*tert*-butylfeno-

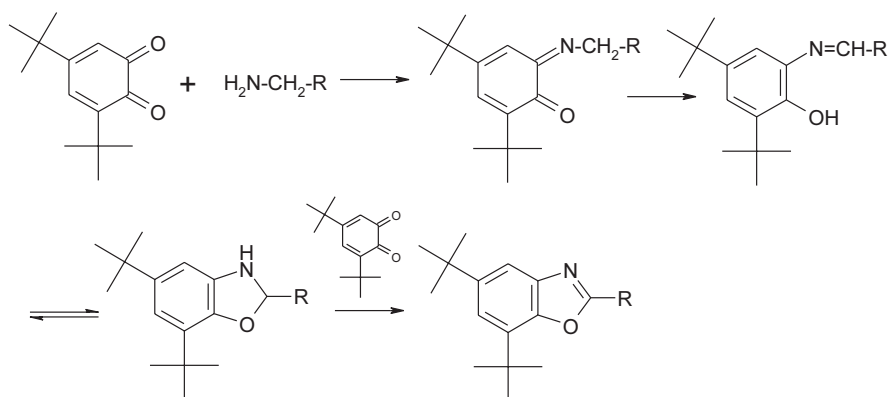


Schéma 3

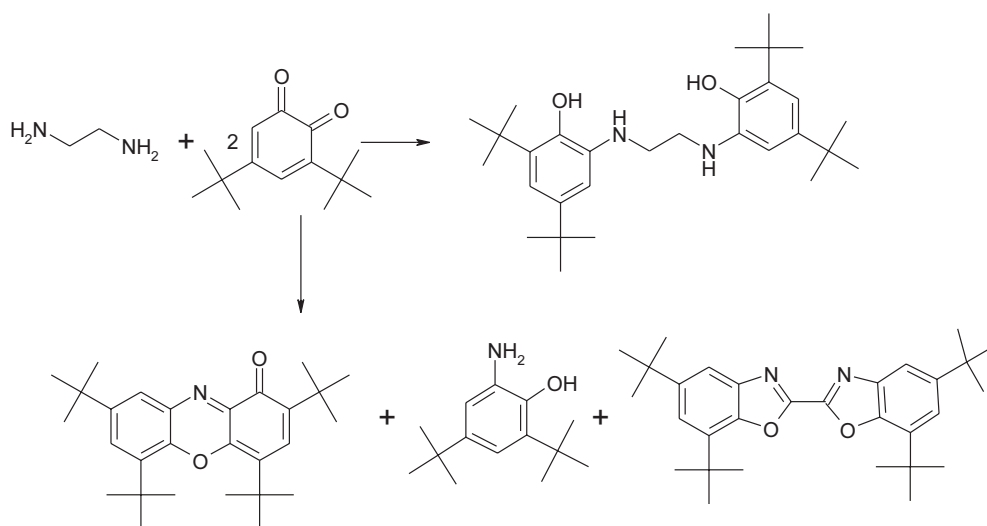


Schéma 4

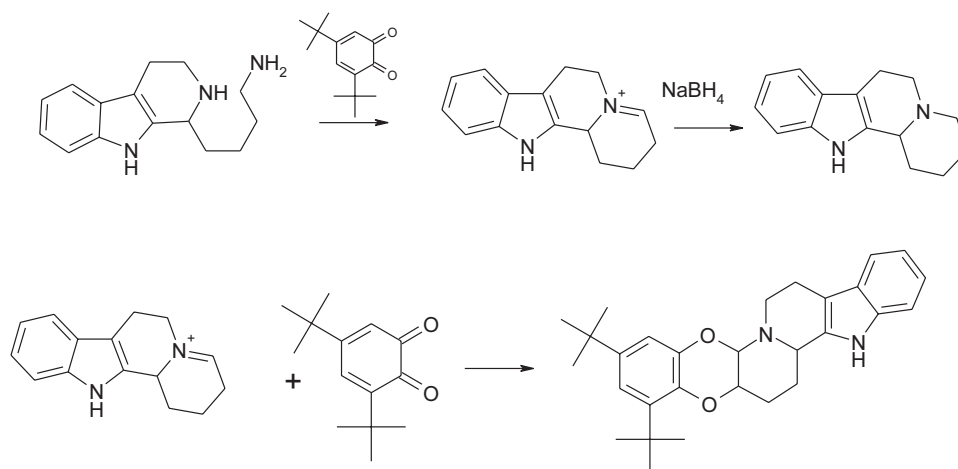


Schéma 5

xazin-1-onu jako vedlejšího produktu. Tento modrý vedlejší produkt, případně další vysoce barevné neidentifikované pigmenty, vzniká reakcí DTBBQ s 2-amino-4,6-di-*tert*-butylfenolem vzniklým rozkladem Schiffovy báze, nebo případně vzdušnou oxidací, a proto je vhodné provádět reakci v atmosféře dusíku. Příkladem použití Coreyho reakce je reakce DTBBQ s cyklopentylaminem, cyklohexylaminem, cykloheptylaminem a 2-aminobutanem³⁰.

Je zajímavé, že reakce 1,2,3,4-tetrahydro-2-naftylaminu s DTBBQ k oxidativní deaminaci nevede. Dochází k cyklokondenzaci Schiffovy báze a dehydrogenaci na 9,11-di-*tert*-butyl-5,6-dihydro-7*H*-benzo[*c*]fenoxazin³¹ (schéma 7).

Vicinální aminoalkoholy reagují s DTBBQ za štěpení C–C vazby mezi uhlíky nesoucími aminoskupinu a hydroxyskupinu. Reakce *L*-*threo*-2-amino-1-[4-(methylsulfanyl)fenyl]propan-1,3-diolu a 2-amino-1-fenylpropan-1,3-diolu při použití DTBBQ a aminoalkoholu v poměru 2:1 poskytla v dobrém výtěžku příslušné benzaldehydy spolu s 2-(hydroxymethyl)-

-5,7-di-*tert*-butylbenzoxazolem⁵, který byl připraven také reakcí DTBBQ s 2-aminoethan-1-olem) (schéma 8).

Ke štěpení C–C vazby dochází pravděpodobně působením druhé molekuly DTBBQ při dehydrogenaci benzoxazolinu na benzoxazol. Autoři³² navrhli jako intermediát následující komplex (schéma 9), v němž jsou DTBBQ a benzoxazolin vzájemně vázány dvěma vodíkovými vazbami. V případě, že hydroxyskupina není vázána na benzylový uhlík, ke štěpení nedochází.

3-Fenylserin reaguje jednak mechanismem charakteristickým pro vicinální aminoalkoholy, který vede ke štěpení C–C vazby, jednak mechanismem charakteristickým pro aminokyseliny, který vede ke vzniku benzoxazolového derivátu (viz dále) (schéma 10, cit.³²).

Reakcí DTBBQ s aminokyselinami, např. alaninem, fenylalaninem, 2-aminoadipovou kyselinou a s cefamycinem C (cit.³³) vznikly produkty připomínající reakci DTBBQ s primární aminoskupinou vázanou na primárním uhlíku. Několik

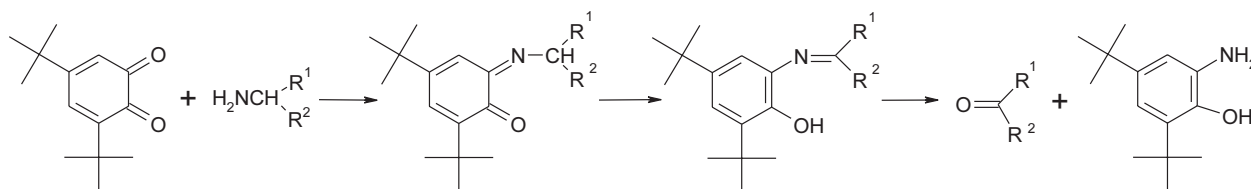


Schéma 6

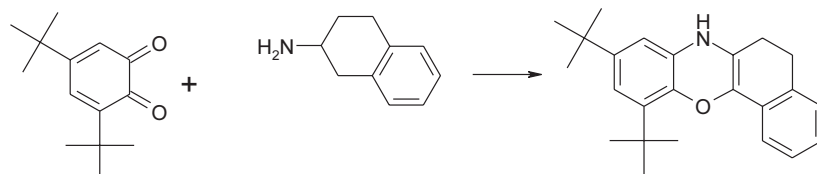


Schéma 7

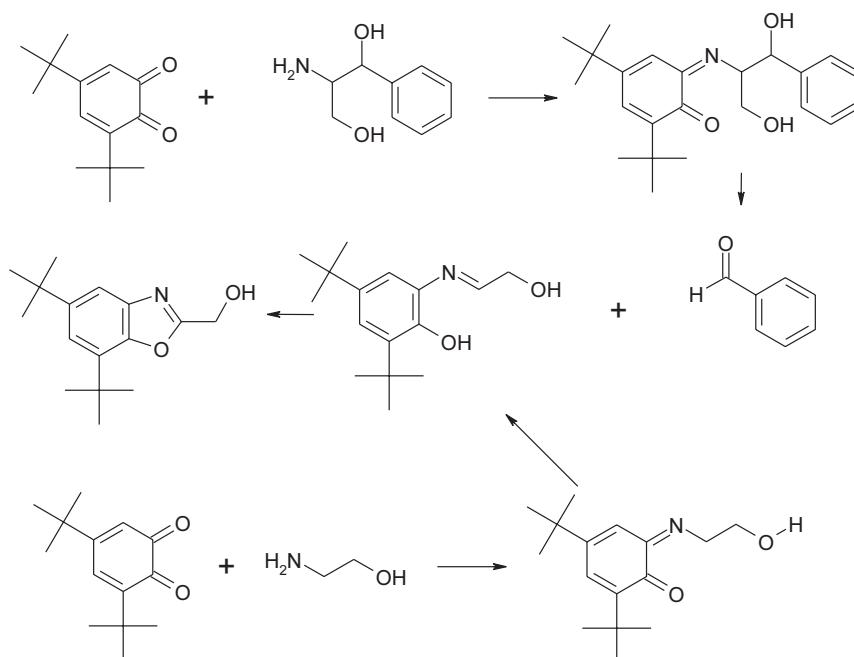


Schéma 8

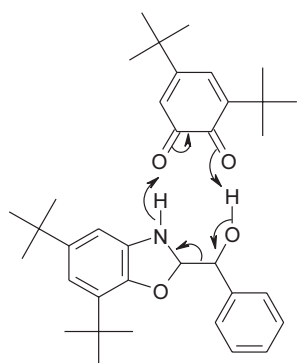


Schéma 9

kastupňový reakční mechanismus zahrnuje vznik chinoniminu, Schiffovy báze a cyklizaci na příslušný benzoxazolin za odštěpení oxidu uhličitého během dehydrogenace druhou molekulou DTBBQ a vzniku 2-substituovaného benzoxazolu (schéma 11). I když některé diony α -aminokyseliny oxidativně deaminují na aldehydy tak zvanou Streckerovou degradací³⁴, butan-2,3-dion, cyklohexan-1,2-dion, 1,2-naftochinon, 1,2-benzochinon a 4-*terc*-butylbenzochinon podobnou reakci neposkytují.

Reakce leucinamidu však vede ke vzniku 1,4-benzoxazinu, pro jehož vznik autoři³⁵ navrhuji následující mechanismus (schéma 12).

U některých derivátů α -aminokyselin, jako jsou estery, amidy a dipeptidy, u kterých je dekarboxylace vyloučena,

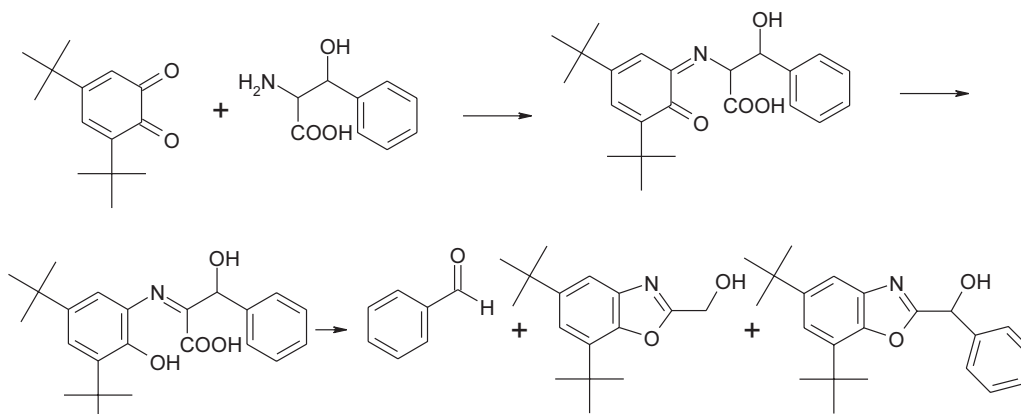


Schéma 10

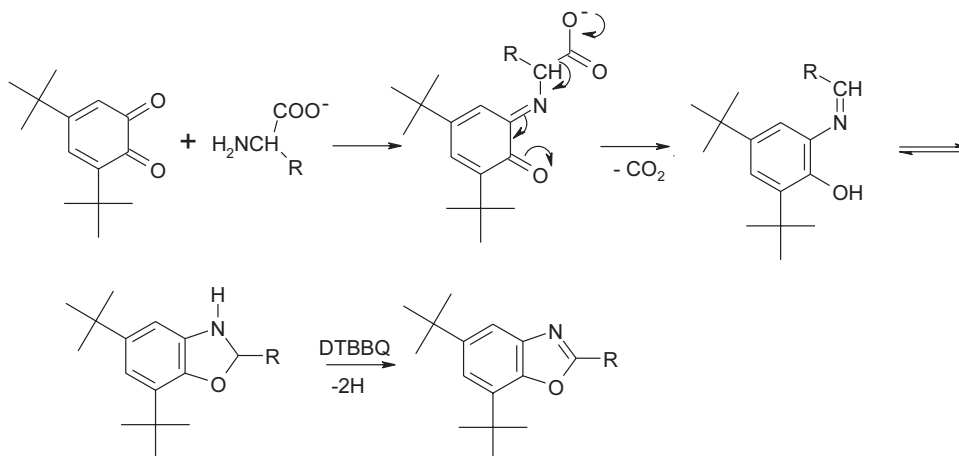


Schéma 11

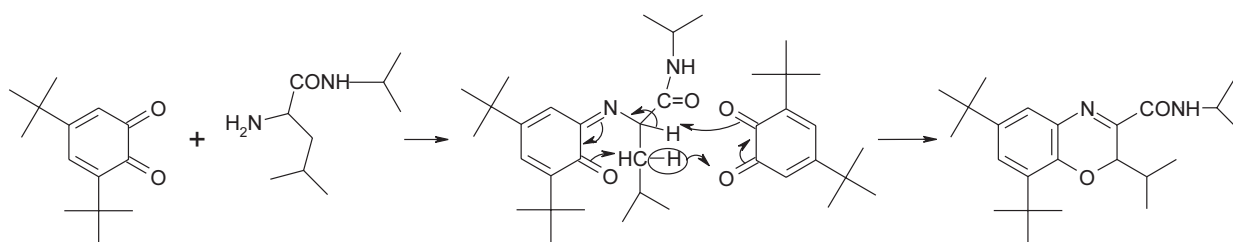


Schéma 12

probíhá s DTBBQ oxidativní deaminace za vzniku derivátů α -ketokyselin (schéma 13, cit.⁷).

Výjimku tvoří dipeptidy mající N-koncový glycin. Jejich reakce s DTBBQ probíhá podobně jako u primárních aminů substituovaných primární alkylskupinou, tj. za vzniku 5,7-di-*tert*-butylbenzoxazolů substituovaných v poloze 2 (schéma 14, cit.⁷).

U peptidů majících ještě další reaktivní skupiny jako např. u γ -glutamylcysteinylglycinu dochází nukleofilně adičním mechanismem ke vzniku pyrokatecholového derivátu. Thiolová skupina se aduje do polohy 6, částečně stericky stíněné *tert*-butylovou skupinou, aniž dochází ke konkurenčním reakcím

jako jsou oxidace $-SH$ na $-SS-$ nebo reakce primární aminoskupiny za vzniku benzoxazolového derivátu²³ (schéma 15).

Primární aminoskupina 1-fenylcyklopropylaminu, v němž je vázána na terciární uhlík, zahajuje reakci nukleofilní adicí na karbonyl DTBBQ v poloze 1. Cyklopropanový kruh chinoniminu se otevírá za recyklizace, která vede ke směsi dihydro-1,5-benzoxazepinu a azaspiro[4.5]dekatrienu³⁶ (schéma 16).

Aromatická primární aminoskupina 2-amino-4,6-di-*tert*-butylfenolu reaguje s C1-karbonylem DTBBQ v ethanolu, případně v přítomnosti pyridinu, na chinonimin jako primární produkt³⁷. V následných přeměnách vzniká 1-hydroxy-

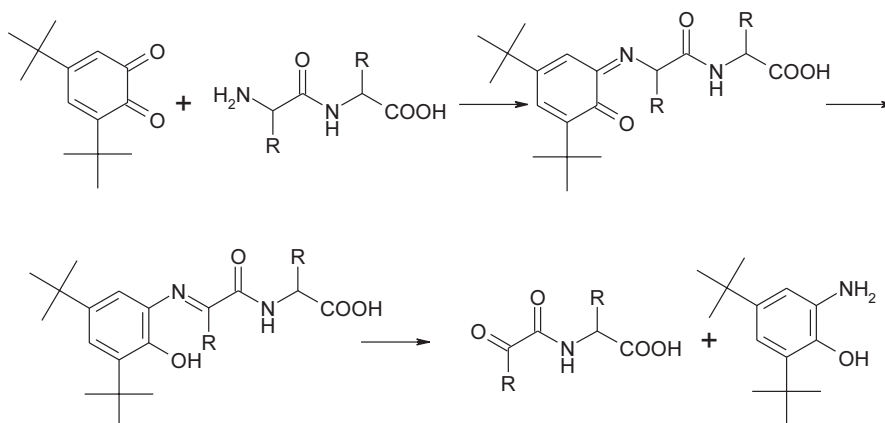


Schéma 13

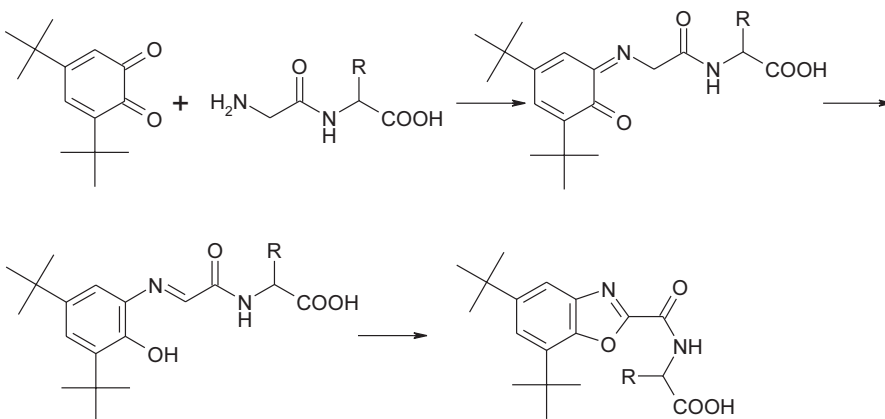


Schéma 14

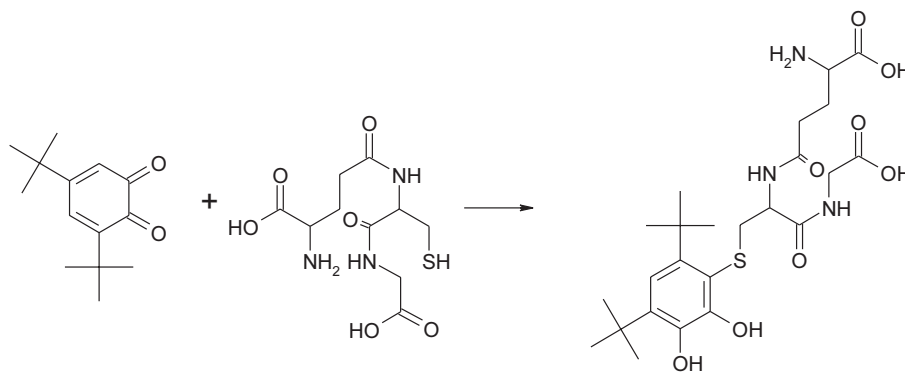


Schéma 15

2,4,6,8-tetra-*tert*-butylfenoxazin-10-yllový radikál, který za přístupu vzduchu dává modrý 2,4,6,8-tetra-*tert*-butylfenoxazin-1-on jako konečný produkt^{38,39} (schéma 17). Stejný produkt vzniká vzdušnou oxidací 2-amino-4,6-di-*tert*-butylfenolu⁴⁰ a reakcí směsi DTBBQ a 3,5-di-*tert*-butylbenzen-1,2-diolu s 25% vodným amoniakem⁴¹. V poslední reakci se uplatňují oxidačně redukční rovnováhy mezi chinoniminem a pyrokatecholem. Vznik těchto tmavě modrých derivátů často doprovází oxidační deaminace aminokyselin a peptidů a zneprůjemňuje čištění produktů.

2-Aminobenzen-1-thiol reaguje s DTBBQ podobně jako

γ -glutamylcysteinylglycin přednostně SH-skupinou v poloze 6 za vzniku 3-[(2-aminofenyl)sulfanyl]-4,6-di-*tert*-butylbenzen-1,2-diolu. V přítomnosti druhé molekuly 2-aminobenzen-1-thiolu a FeCl_3 při prodloužení reakční doby vzniká lineárně anelovaný pětijaderný chinoidní produkt²⁴ (schéma 18).

Při reakci amidinu s DTBBQ se účastní oba dusíky. Tak z benzamidinu vznikl kaskádou chemických přeměn 5,7-di-*tert*-butyl-2-fenylbenzoxazol⁴², když se jeden z dusíků odštěpil jako nestálý nitren (:NH), který případně dimeruje na diimid (HN=NH) (schéma 19).

Hydrazid 4-methylbenzen-1-sulfonové kyseliny reaguje

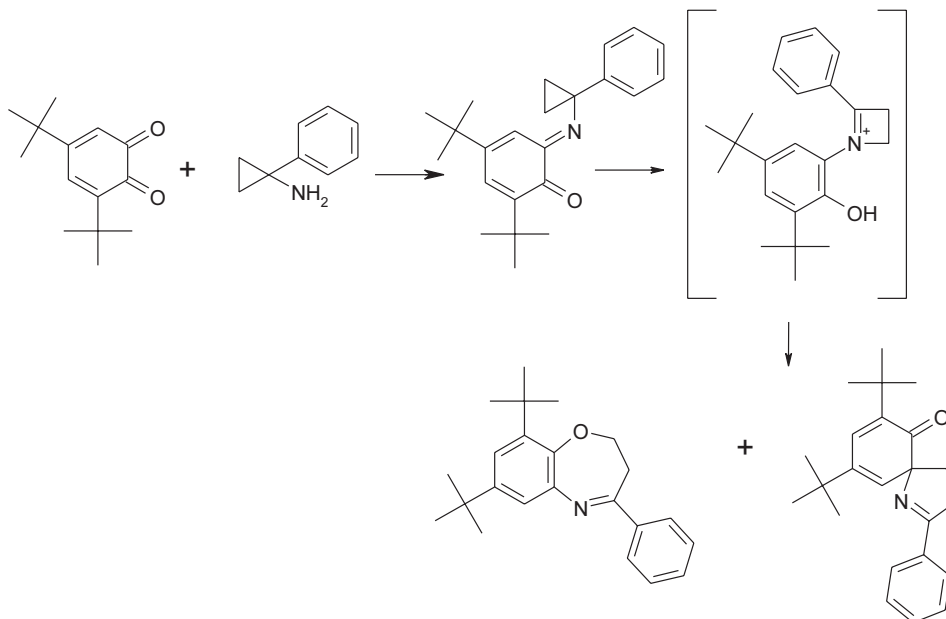


Schéma 16

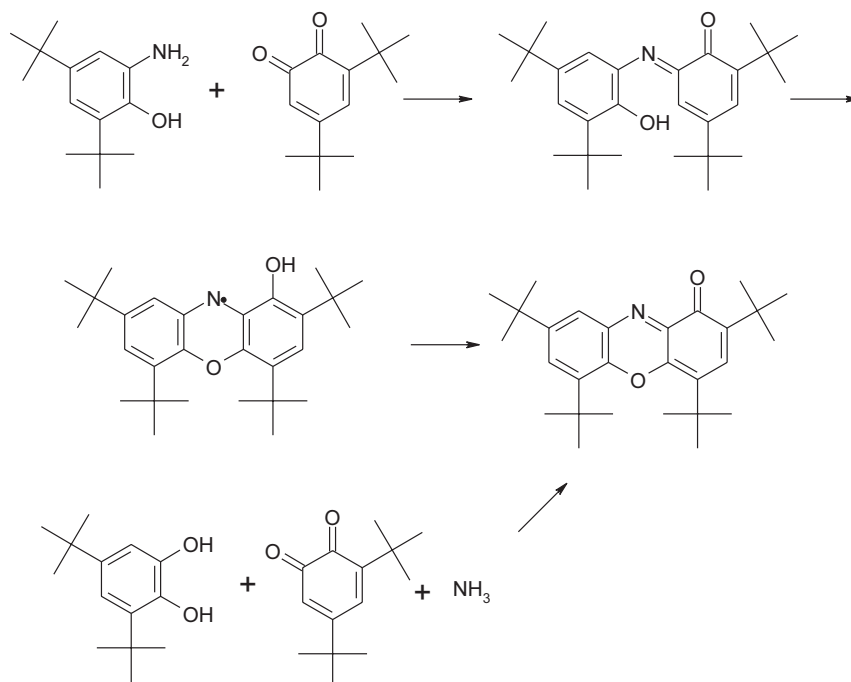


Schéma 17

s C1-karboxylovou skupinou DTBBQ za vzniku tosylhydrazonu^{43,44} (schéma 20).

3-Nitrobenzimidhydrazid zahříváním v ethanolu zreagoval s DTBBQ všemi dusíky na 5,7-di-*tert*-butyl-3-(3-nitrofenyl)benzo[*e*][1,2,4]triazin⁴⁵ (schéma 21).

Reakcí 2-hydrazino-2-methylpropanové kyseliny s DTBBQ vznikl nejprve příslušný hydrazon, který sigmatropním přesmykem přešel na stabilnější methyl-2-[(*E*)-2-(3,5-di-*tert*-bu-

tyl-2-hydroxyfenyl)diazenyl]-2-methylpropanoát⁴⁶. Mechanismus přesmyku je podobný shora diskutovaným přesmykům chinoniminů na Schiffovy báze, přičemž hnací silou přeměny je energie získaná aromatizací (schéma 22).

1,2-Didehydrobenzen vzniklý z 2-aminobenzoové kyseliny reaguje s DTBBQ Dielsovou-Alderovou reakcí za vzniku 1,12-di-*tert*-butyltricyklo[6.2.2.0^{2,7}]dodeka-2,4,6,11-tetraen-9,10-dionu⁴⁷ (schéma 23).

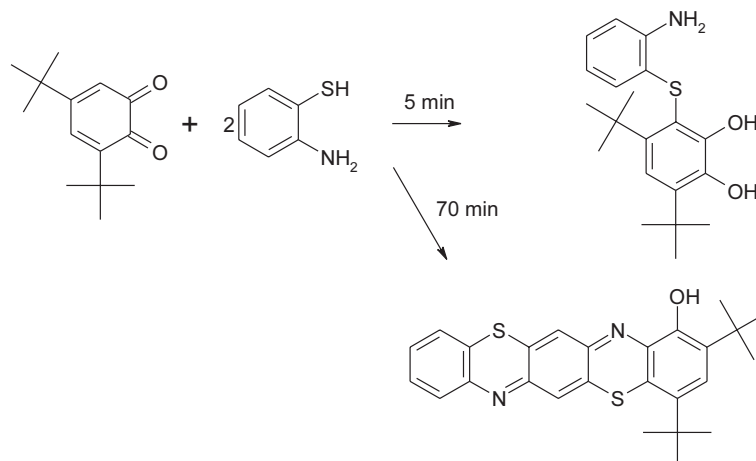


Schéma 18

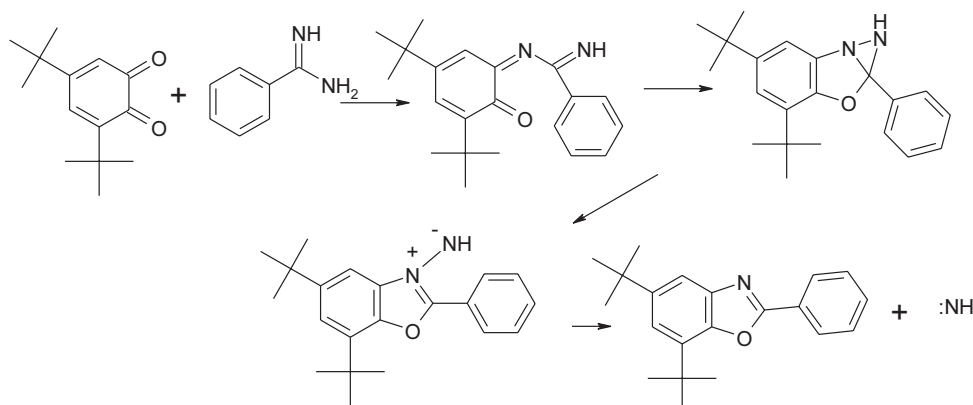


Schéma 19

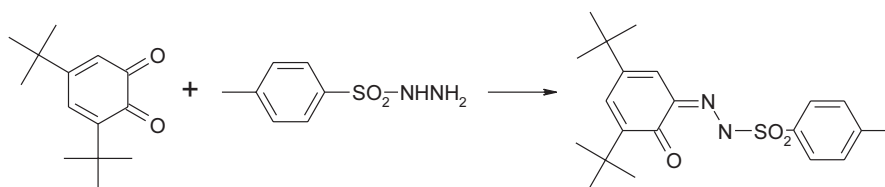


Schéma 20

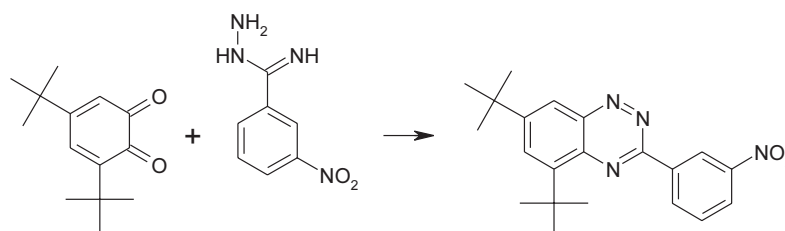


Schéma 21

4.2. Reakce se sekundárními aminy

Reakce DTBBQ s látkami nesoucími sekundární aminoskupinu jsou méně obvyklé nežli s látkami nesoucími primární

aminoskupinu. Tak z piperazinu nebo morfolinu zahříváním ve vodě vznikají blíže neobjasněným mechanismem *N,N'*-bis(3,5-di-*tert*-butyl-2-hydroxyfenyl)piperazin a 2,4-di-*tert*-butyl-6-morfolinofenol⁴⁸ (schéma 24).

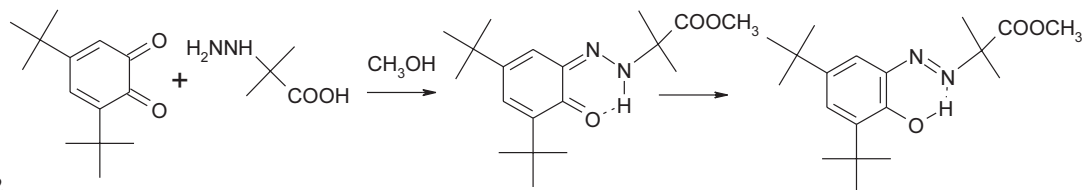


Schéma 22

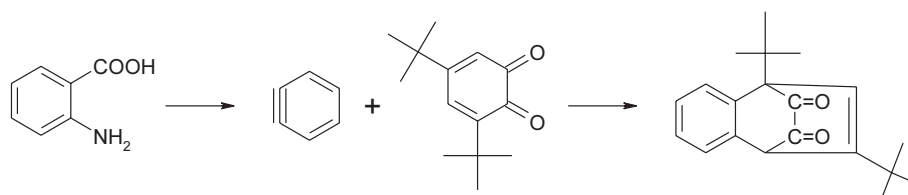


Schéma 23

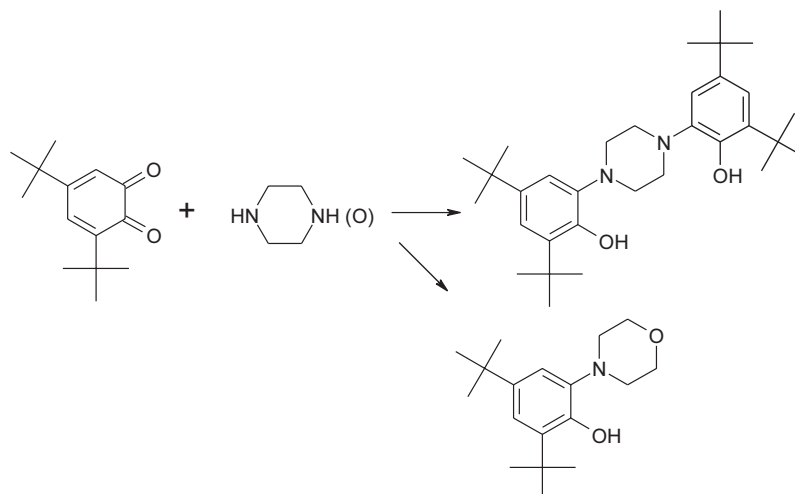


Schéma 24

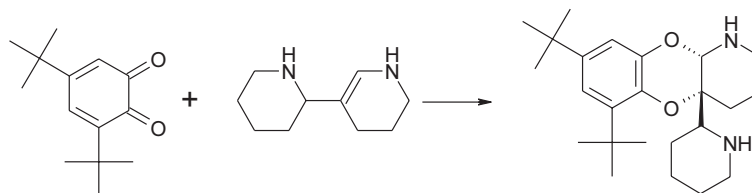


Schéma 25

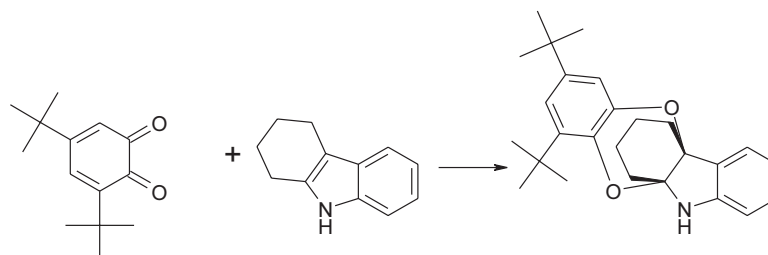


Schéma 26

Je zajímavé, že 3,4,5,6-tetrahydro-3(2-piperidinyl)pyridin (tetrahydroanabazin) zmíněnou reakci neposkytuje, podléhá [4+2] cykloadici⁴⁹ (schéma 25).

Reakce s tetrahydrokarbazolem vede rovněž k adici na dvojnou vazbu enamínu, nikoli k reakci sekundární aminoskupiny⁵⁰ (schéma 26).

Analogicky reaguje i 2,5-dimethylpyrrol, i když v tomto případě jde o dvojnou vazbu aromatického kruhu. Vzniká tricyklický 6,8-di-*tert*-butyl-2,9a-dimethyl-3a,9a-dihydro-3H-[1,4]benzodioxino[2,3-*b*]pyrrol⁵¹ (schéma 27).

4.3. Reakce s terciárními aminy

Terciární aminoskupina do reakce s DTBBQ obvykle nevstupuje, ale aktivuje mnohé transformace v jejím sousedství. Tak např. methylová skupina 4-brom-*N,N*-dimethylanilinu se účastní reakce za vzniku 2-{{(4-bromfenyl)methylamino}methoxy}-4,6-di-*tert*-butylfenolu⁵² (schéma 28).

Pokud je aminoskupina v sousedství trojné vazby, napomáhá svým elektronovým párem konjugaci elektronů s násobnou vazbou, na které dochází k adici. Například reakcí s 1-(di-

isopropylamino)-2-fenylacetylenem vznikají při adici *E* a *Z* izomery⁵³ (schéma 29).

Terciární aminoskupina se vyskytuje také často v kombinaci s fosforem. Do reakcí se zapojuje vždy fosfor, za tvorby různých chelátů. Např. *N*⁴,*N*⁴,*N*⁶,*N*⁶-tetraethyl-1,6a-dihydro-pyrrolo[3,4-*d*][1,3,2]diazafosfol-4,6-diamin reaguje s DTBBQ oxidativně adičním mechanismem za vzniku komplexního aniontu⁵⁴ (schéma 30).

V literatuře lze nalézt celou řadu podobných reakcí^{55,56}.

Práce vznikla za finanční podpory grantu GAČR 203/01/0442, FRVŠ 2261(2002) a MSM 11600001.

LITERATURA

1. Dugas H.: *Bioorganic Chemistry*. Springer-Verlag, New York 1996.
2. Martell A. E.: *Acc. Chem. Res.* 22, 115 (1989).
3. Corey E. J., Achiawa K.: *J. Am. Chem. Soc.* 91, 1429 (1969).
4. Klein R. F. X., Bargas L. M., Horak V.: *J. Org. Chem.* 53, 5994 (1988).

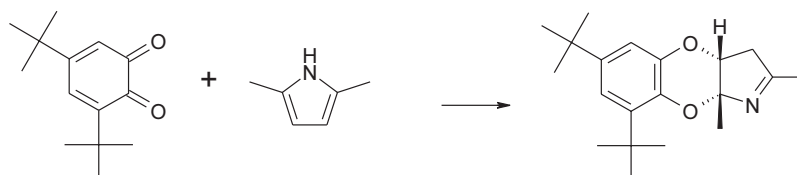


Schéma 27

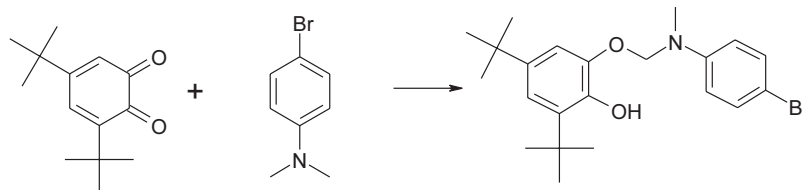


Schéma 28

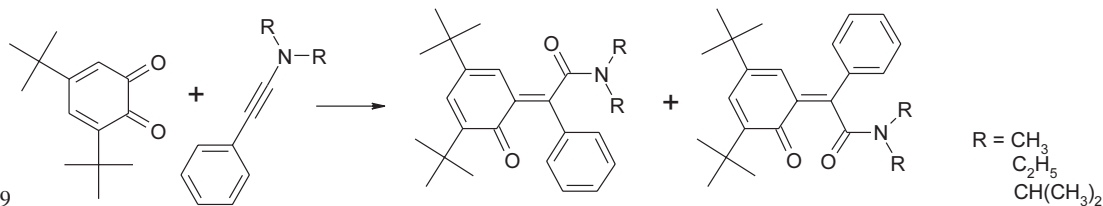


Schéma 29

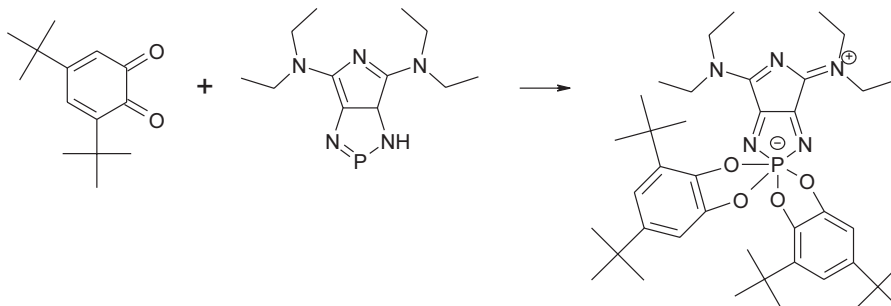


Schéma 30

5. Horák V., Mermersky Y., Guirguis D. B.: Collect. Czech. Chem. Commun. 59, 227 (1994).
6. Mermersky Y.: *Doktorandská práce*. Georgetown University, Washington 1994.
7. Vinšová J., Horák V.: nepublikované výsledky.
8. Horng D. N., Chyn J. P., Shieh K. J., Chou J. L., Wen Y. S.: Acta Crystallogr., Sect. C: Cryst. Struct. Commun C55, 652 (1999).
9. Horák V.: nepublikované výsledky.
10. Flaig W., Ploetz T., Biergans H.: Justus Liebig's Ann. Chem. 597, 196 (1955).
11. Tsuji Y., Ohta T., Ido T., Minbu H., Watanabe Y.: J. Organomet. Chem. 270, 333 (1984).
12. McKillop A., Mills L. S.: Synth. Commun. 17, 647 (1987).
13. Hu N. X., Aso Y., Otsubo T., Ogura F.: Chem. Lett. 1985, 603.
14. Funabiki T., Sugimoto T., Yoshida S.: Chem. Lett. 1982, 1097.
15. Funabiki T., Konishi T., Kobayashi S., Mizoguchi A., Takano M., Yoshida S.: Chem. Lett. 1987, 719.
16. Crandall J. K., Zucco M., Kirsh R. S., Coppert D. M.: Tetrahedron Lett. 32, 5441 (1991).
17. Krohn K., Rieger H., Khanbabaee K.: Chem. Ber. 122, 2323 (1989).
18. Harmalker S. P., Sawyer D. T.: J. Org. Chem. 49, 3579 (1984).
19. Knaudt J., Foerster S., Bartsch U., Rieker A., Jaeger E. G.: Z. Naturforsch. B 55, 86 (2000).
20. Belostotskaya I. S., Voleva V. B., Komissarova N. L., Dekaprilievich M. O., Khrustalev V. N.: Russ. Chem. Bull. 46, 1272 (1997).
21. Hartshorn M. P., Kennedy J. A., Simpson R. W., Vaughan J., Wright G. J.: Aust. J. Chem. 38, 735 (1983).
22. Fukata G., Sakamoto N., Tashiro M.: J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1 12, 2841 (1982).
23. Maslovskaya L. A., Petrikevich D. K., Timoshchuk V. A., Shadyro O. I.: Russ. J. Gen. Chem. 66, 1847 (1996).
24. Mackenzie N. E., Surendrakumar S., Thomson R. H., Cowe H. J., Cox P. J.: J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1 1986, 2233.
25. Thomas A., Anilkumar G., Nair V.: Tetrahedron 52, 2481 (1996).
26. Verboom W., Bos H. J. T.: Rec. Trav. Chim. Pays-Bas 98, 559 (1979).
27. Komissarov V. N., Ukhin L. Yu., Vetoshkina L. V.: J. Org. Chem. USSR 26, 1888 (1990); Zh. Org. Khim. 26, 2188 (1990).
28. Jiménez-Perez V. M., Camacho-Camacho C., Gueizado-Rodrigues M., Noeth H., Contreras R.: J. Organomet. Chem. 614, 283 (2000).
29. Cheng E., Botzem J., Wanner M. L., Burm B. E. A., Koomen G. J.: Tetrahedron 52, 6725 (1996).
30. Klein R. F. X., Bargas L. M., Horák V., Navarro M.: Tetrahedron Lett. 29, 851 (1988).
31. Danieli B., Lesma G., Passarella D., Prosperi D., Silvani A., Bombardelli E.: Helv. Chim. Acta 82, 1502 (1999).
32. Vinšová J., Mermersky Y., Horák V.: Collect. Czech. Chem. Commun., v tisku.
33. Zwan M. C. V., Hartner F. W., Reamer R. A., Tull R.: J. Org. Chem. 43, 509 (1978).
34. Strecker A.: Justus Liebig's Ann. Chem. 123, 363 (1862).
35. Lourak M., Vanderesse R., Vicherat A., Jamal-Edrine J., Maurad M.: Tetrahedron Lett. 41, 8773 (2000).
36. Sayre L. M., Singh M. P., Kokil P. B., Wang F.: J. Org. Chem. 56, 1353 (1991).
37. Ivakhnenko E. P.: J. Org. Chem. USSR 19, 784 (1983).
38. Ivakhnenko E. P., Karsanov I. V., Khandrakova V. S., Rubeshov A. Z., Okhlobystin O. Yu.: Dokl. Akad. Nauk SSSR, Otd. Khim. Nauk 35, 2526 (1986).
39. Voleva V. B., Prokofeva T. I., Prokofev A. I., Belostotskaya I. S., Komissarova N. L., Ershov V. V.: Russ. Chem. Bull. 44, 1720 (1995).
40. Olekhnovich L. P., Lyubchenko S. N., Simakov V. I., Shif A. I., Kurbatov S. V., Lesin A. V., Borodkin G. S., Ivakhnenko E. P., Zhadanov Yu. A.: Dokl. Chem. 369, 292 (1999).
41. Zaletov V. G., Shiff A. I., Ivakhnenko E. P., Prokof'ev A. I.: Russ. Chem. Bull. 44, 867 (1995).
42. Gilchrist T. L., Harris C. J., King F. D., Peek M. E., Rees Ch. W.: J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1 1988, 2169.
43. Ivakhnenko E. P., Prokofev A. I., Olekhnovich L. P.: J. Org. Chem. USSR 21, 2347 (1985).
44. Ried W., Dietrich R.: Chem. Ber. 94, 387 (1961).
45. Repic O., Mattner P. G., Shapiro M. J.: J. Heterocycl. Chem. 19, 1201 (1982).
46. Ried W., Junker P.: Justus Liebig's Ann. Chem. 709, 85 (1967).
47. Ried W.: Justus Liebig's Ann. Chem. 727, 219 (1969).
48. Komissarov V. N., Ukhin L. Yu., Vetoshkina L. V.: J. Org. Chem. USSR 26, 1888 (1990).
49. Wanner M., Koomen G. J.: J. Org. Chem. 61, 5581 (1996).
50. Omote Y., Harada K., Tomotake A., Kashima Ch.: J. Heterocycl. Chem. 21, 1841 (1984).
51. Nair V., Kumar S.: Synth. Commun. 26, 217 (1996).
52. Abakumov G. A., Chesnokov S. A., Cherkasov V. K., Razuvaev G. A.: Dokl. Akad. Nauk SSSR, Otd. Khim. Nauk 34, 700 (1985).
53. Verboom W., Bos H. J. T.: Rec. Trav. Chim. Pays-Bas 98, 559 (1979).
54. Schmidpeter A., Bansal R. K., Karaghiosoff K., Steinmueller F., Spidler C.: Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem. 49/50, 349 (1990).
55. Maziers M. R., Kim T. C., Wolf R., Sanchez M.: Bull. Soc. Chim. Fr. 1, 79 (1990).
56. Moriarty R. M., Hiratake J., Liu K.: J. Am. Chem. Soc. 112, 8575 (1990).

J. Vinšová^a and V. Horák^b (^aFaculty of Pharmacy, Charles University, Hradec Králové, Czech Republic, ^bGeorgetown University, Washington, USA): **3,5-Di-*tert*-butyl-1,2-benzoquinone as Model Substance of Pyridoxal**

Characteristics of 3,5-di-*tert*-butyl-1,2-benzoquinone, studied as a pyridoxal-mimicking substance, is given. Its rich reactions remind of the general reactivity of *o*-quinones. Attention is paid to the reactions with primary amino groups bonded to the primary, secondary and tertiary carbon as well as with secondary and tertiary amines. Bulky *tert*-butyl groups in positions 3 and 5 play an important role as they affect the reaction course in many cases. They generally hinder the reactions in position 4 causing the preference given to nucleophilic attacks in positions 1 and 6. Main consideration is given to oxidative deaminations of amino acids and peptides.

PŘÍRODNÍ LÁTKY OVLIVŇUJÍCÍ MEZIBUNĚČNOU KOMUNIKACI

HANA FOREJTŇÍKOVÁ a RENATA KUBÍNOVÁ

Ústav přírodních léčiv, Farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita, Palackého 1/3, 612 42 Brno
 haforej@hotmail.com

Došlo 29.10.02, přepracováno 21.8.03, přijato 18.9.03.

Klíčová slova: mezibuněčná komunikace, mezerové spoje, konexiny, přírodní modulátory mezibuněčné komunikace

Obsah

1. Úvod
2. Mezerové spoje
 - 2.1. Struktura mezerového spojení
 - 2.2. Regulace mezerových spojů a endogenní modulátory
 - 2.3. Experimentální metody měření funkčnosti
3. Vnitřní a vnější vlivy na kvalitu mezibuněčné komunikace
4. Exogenní modulátory mezibuněčné komunikace
5. Závěr

1. Úvod

Počet nádorových onemocnění stále stoupá. V současnosti v rozvinutých státech představují druhou hlavní příčinu smrti za kardiovaskulárními onemocněními. Existují předpoklady, že v nejbližší době odsunou kardiovaskulární úmrtí a stanou se hlavní příčinou, neboť preventivní i terapeutické postupy jsou u kardiovaskulárních chorob stále efektivnější. Již nyní onemocní v rozvinutých státech některým typem malignity v průběhu života každý třetí jedinec a u poloviny z postižených je nádorové onemocnění hlavní příčinou smrti.

Dřívější studie kancerogeneze ukázaly, že vznik nádoru probíhá ve třech relativně dobře charakterizovaných etapách: iniciaci, promoci a progresi. Dlouhou dobu se předpokládalo, že kancerogeneze je především výsledkem mutagenního (genotoxického) působení xenobiotik (např. nitrosaminů, onkogenů, UV záření). Později se ukázalo, že vývoj nádoru je podporován i epigenetickými (negenotoxickými) účinky látek. Tato xenobiotika mění expresi genů vedoucí ke změnám parametrů proliferace, diferenciace a programované buněčné smrti – apoptózy. Účinkem cizorodých látek mohou být ovlivněny hladiny hormonů, signálních molekul a přímo regulace transkripce a translace. Expozice negenotoxickým kancerogenem se tak projevují především v promoční fázi kancerogeneze zvýšenou proliferací transformovaných buněk, inhibicí apoptózy a mezibuněčné komunikace, tedy procesů regulujících

buněčný růst¹. Buňky ztrácí svou schopnost udržovat homeostasu a získávají možnost rozvoje kancerogenních procesů. Ukázalo se, že rozvoj kancerogeneze je zřejmě spjat se změnami intercelulárních a intracelulárních cest přenosu signálu a buněčných pohybů v cílových tkáních².

Jedním z biomarkerů promoce kancerogeneze je inhibice mezibuněčné komunikace zprostředkované mezerovými spoji (gap junctional intercellular communication – GJIC). Tyto spoje hrají důležitou integrující roli v udržování homeostasy v organismu. Jde o kanálky zajišťující koordinaci aktivity sousedících buněk; jimi je v dané tkáni řízen růst, vývoj a diferenciace buněk. Vzhledem k důležitému postavení GJIC ve fyziologických procesech není překvapující, že jejich porušení je spojováno s mnoha patologickými procesy, ke kterým patří např. chronická srdeční onemocnění, osteoporóza, epilepsie, artritida, poruchy imunity a také mnoho druhů zhoubných nádorových onemocnění. Inhibice (tzv. down-regulace) mezerových spojů je integrujícím znakem tkáňového poškození³.

V rostlinné říši byla objevena řada látek, které patří mezi významné tumorové inhibitory podílející se na otvírání mezerových spojů. Jsou to zejména sekundární metabolity ze skupiny flavonoidů, resveratrol, některé karotenoidy, retinoidy a ginsenosidy.

2. Mezerové spoje

Aby se mohl mnohobuněčný organismus rychleji přizpůsobovat změnám životního prostředí, byl vytvořen systém, který umožňuje skupinám propojených buněk vzájemnou koordinaci svého chování a buněčnou odpověď na mimobuněčné stimuly. Tuto koordinaci umožňují specializované mezibuněčné kanálky, zvané mezerové spoje (gap junctions). Tyto kanálky jsou přítomny u všech mnohobuněčných organismů, a to téměř ve všech tkáních. Výjimku tvoří buňky kosterních svalů a krevní elementy. Funkčně jde o totožné struktury, liší se na molekulární úrovni strukturních bílkovinných komponent. Mezerové spoje usnadňují přímou výměnu iontů a nízkomolekulárních látek o molekulové hmotnosti menší než 2000 Da (např. Ca²⁺, cAMP, glutathion), ale i některých dalších molekul do velikosti 1,5 nm (např. aminokyselin, cukrů, nukleotidů). Výměna se uskutečňuje z cytoplazmy do cytoplazmy mezi sousedícími buňkami.

Z funkčního hlediska patří mezerové kanálky spolu s chemickými synapsemi mezi komunikační spoje, které zprostředkovávají přenos chemických nebo elektrických signálů mezi interagujícími buňkami.

Mezibuněčné spoje jsou citlivé ke spouštěcím signálům ze životního prostředí (např. polycyklickým aromatickým uhlovodíkům), které mohou zablokovat buněčnou komunikaci uzavřením mezerových kanálků. Toto potlačení GJIC nastane do několika minut po vystavení účinkům xenobiotik a je reverzibilní. Na základě řady *in vitro* a *in vivo* studií bylo zjištěno, že narušení GJIC se pravděpodobně podílí na vzniku nádoru¹.

Funkce mezerových spojů:

- udržování homeostasy v tkáních (rychlá distribuce živin, iontů, tekutin a signálních molekul, podílejících se na modulaci buněčného růstu, apoptózy a diferenciaci);
- elektrické spojení (mezerové spoje slouží jako elektrické synapse u elektricky excitovatelných buněk, např. neuronů, srdečních myocytů, buněk hladkého svalstva);
Tím se podílejí na regulaci;
- tkáňové odpovědi na hormony (GJIC zvyšují schopnost tkáně rychle reagovat na vnější stimuly);
- embryonálního vývoje (mezibuněčná cesta pro chemické a elektrické signály potřebné pro embryonální vývoj).

2.1. Struktura mezerového spojení

Mezibuněčné kanálky obratlovců jsou složeny z bílkovin nazývaných konexiny. Ve tkáních savců bylo dosud identifikováno 15 genů pro konexiny⁴. Šest konexinů se sdružuje do proteinového kanálku zvaného konexon. Jde v podstatě o kanálek v cytoplazmatické membráně buňky, který se těsně přibližuje (na vzdálenost 2–3 nm) ke konexonu sousední buňky, aby společně vytvořily kontinuální průchod pro hydrofilní molekuly. Konexinový protein překlenuje membránu čtyřikrát a vytváří tak strukturu připomínající tvarem písmeno M, přičemž aminové a karboxylové konce proteinu jsou umístěny v cytoplazmě. Domény procházející membránou jsou kritickými determinanty správného umístění konexinu. Asociací třetích transmembránových domén konexinů, které obsahují velké množství hydrofilních aminokyselin, vzniká vnitřní „stěna“ póru.

Struktura čtyř transmembránových domén, dvou mimobuněčných smyček i aminového konce je u všech konexinů do značné míry zachována. Více odlišné jsou v ostatních úsecích, které se nacházejí v cytoplazmě. Tyto úseky se účastní regulace vzniku a permeability kanálku. Skládání konexinu i interakce konexin–konexin a konexon–konexon se uskutečňují disulfidovými vazbami, interakcí hydrofóbních částí proteinů, ale i pomocí dalších, dosud ne zcela objasněných sil¹.

Konexiny (Cx) se liší molekulovou hmotností vyjádřenou v kDa (např. Cx32, Cx43), uspořádáním aminokyselin a rozdílnou délkou karboxylového konce⁵. Expres konexinů je buněčně, tkáňově a vývojově specifická, ve většině tkání dochází k expresi více různých konexinů. Přehled některých hlavních konexinů a jejich lokalizace v organismu je uveden v tabulce I.

Neoplastické buňky mají mezerových kanálků méně nebo menší velikosti, exprimují méně konexinu ve srovnání se zdravými buňkami¹. Defekty GJIC se objevují na různých úrovních. Nádorové buňky mohou buď postrádat funkční (permeabilní) mezerové spoje anebo mají funkční homologní GJIC (pouze v nádorové tkáni), ale nejsou schopny vytvořit fungující kanálek s nenádorovou buňkou (heterologní GJIC). Nádorové buňky jsou tak vyvázány z homeostatické kontroly růstu a nemohou komunikovat s okolními buňkami⁶.

2.2. Regulace mezerových spojů a endogenní modulátory

Počet a velikost mezerových spojů závisí na buněčném cyklu, fyziologickém stavu organismu/tkáně a vlivu faktorů životního prostředí¹.

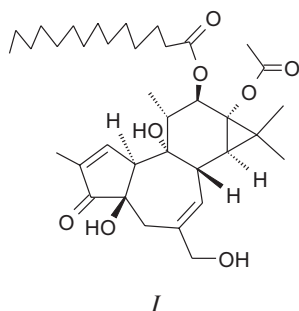
Tabulka I
Přehled nejznámějších savčích konexinů a jejich lokalizace v organismu

Konexin	Tkáň
Cx26	hepatocyty, pankreas, endometrium
Cx30	mozek, kůže
Cx30.3	kůže
Cx31	kůže, placenta
Cx31.1	kůže
Cx32	hepatocyty, ledviny, pankreas
Cx33	varlata
Cx37	plice, vaječníky, endotel
Cx40	endotel, hladké svalstvo, myokard, plíce
Cx43	epitel, srdce, děloha, mozek
Cx45	ledviny, kůže
Cx46	čočka
Cx50	čočka

Transport látek mezerovými spoji se děje pasivní difuzí a je regulován vrátkovým mechanismem. Selektivita a permeabilita kanálku závisí na typu konexinu tvořícího mezerový spoj³. Je známo asi 15 typů konexinů s molekulovou hmotností od 26 do 57 kDa (cit.⁴). Konexiny byly nalezeny nejen u savců a dalších obratlovců, ale také u bezobratlých, jako je např. medúza či nezmar. Podobné struktury, známé jako plazmodesmata, byly nalezeny u rostlin. Mnoho buněk exprimuje více než jeden typ konexinu. První klonovaný konexin 43 byl objeven u buněk srdečního svalstva. Tento typ buněk exprimuje také konexiny 40, 45 a 46. V parenchymatických buňkách jsou exprimovány především konexiny 32 a 26 (cit.¹).

Mechanismy regulace mezerových spojů nejsou doposud plně objasněny. Nejvíce informací o sestavování těchto kanálků je shromážděno pro konexin 43 (cit.⁷). Šest podjednotek konexinu 43 oligomerizuje v Golgiho aparátu a jsou transportovány do plazmatické membrány. V této fázi jsou konexony uzavřeny, aby nedocházelo k úniku buněčných komponent nebo vstupu mimobuněčných složek. V plazmatické membráně jsou pak konexony sousedících buněk přitahovány silami, které nejsou doposud plně objasněny. Koncevé části konexonů se k sobě připojí a vytvoří kompletní mezerový kanálek. Následně kanálky agregují do větších shluků (tzv. plaku), otevrou se a propojí vnitřní prostředí sousedících buněk⁸. Posloupnost těchto dvou posledních stupňů je však diskutabilní. Souhra mezi utvářením otevřených kanálků a agregací částí kanálků do plaku je způsobena fosforylací konexinu 43 nejméně na dvou místech. Kinasou provádějící tuto fosforylací je s největší pravděpodobností proteinkinasa A (cit.¹). Fosforylace zvyšuje agregaci konexonů, permeabilitu kanálků a stabilitu konexinu 43. Utváření kanálků vyžaduje také patřičnou buněčnou adhezi. Zdá se, že zvláště důležitými molekulami umožňujícími tuto adhezi jsou transmembránové vazebné proteiny kadheriny⁹.

Otvírání a zavírání mezerových kanálků je řízeno několika různými mechanismy. Jde o reverzibilní přechod mezi otevřenou a uzavřenou konformací kanálku, který může být výsledkem nekovalentních (např. elektrostatických nebo van



der Waalsových sil) nebo kovalentních (např. fosforylace) modifikací struktury kanálku. Vrátkování může být řízeno i farmakologicky nebo pomocí extra- i intracelulárních mediátorů⁸.

Mechanismy regulace mezerových spojů zahrnují zejména vliv nízké koncentrace vodíkových iontů či vyšší hladinu vápenatých iontů v buňce, rozdíl napětí mezi kanálky¹⁰ nebo působení volných radikálů¹¹. Vysoké buněčné hladiny radikálů snižují permeabilitu mezerových kanálků. Tento mechanismus je pravděpodobně složitý. Radikály mohou přímo ovlivňovat konexiny a další plazmatické komponenty (např. lipidy), aktivovat proteinkinasu C a také mohou regulovat hladinu vápenatých iontů v buňce¹².

Zajímavé poznatky přicházejí především ze studií řízení vrátkování fosforylací. Mnoho proteinkinas má schopnost fosforylovat konexiny a tím měnit jejich terciární strukturu, která podmiňuje otevření nebo uzavření kanálku. Jediný konexin, který nemůže být fosforylován, je Cx26 (cit.⁸). Aktivace proteinkinasy A indukuje fosforylaci konexinu 32 a konexinu 42 na serinových zbytcích karboxylového konce kanálku lokalizovaného v cytoplazmě. Tato fosforylace je spojena se zvýšením počtu mezerových kanálků a jejich průchodnosti¹⁰.

Fosforylace konexinů je však také předpokládaným mechanismem účinku mnoha negenotoxicky působících karcinogenů. Většina nádorových promotorů, které byly dosud prozkoumány (více než 100 sloučenin), má schopnost snižovat permeabilitu nebo zcela uzavírat mezerové spoje v testech *in vitro* i *in vivo*. V mnoha případech jde o buněčně-specifický účinek¹.

Nejlépe je prostudována inhibice mezerových spojů působením forbolesterů, jakým je např. forbol-12-myristát-13-acetát (PMA) (I). PMA uzavírá mezerové spoje v celé řadě buněčných kultur¹³. Inhibiční účinek PMA spočívá v aktivaci proteinkinasy C (PKC), která následně fosforyluje konexin 43. Zvýšení hladiny celkové PKC může citlivost buněk zvýšit. Pomocí specifických inhibitorů různých isoenzymů PKC bylo zjištěno, že za fosforylaci konexinu 43 odpovídá především isoenzym PKC α (kalcium-dependenční proteinkinasa C) (cit.⁴).

Kromě přímé fosforylace konexinu 43 proteinkinásou C (cit.¹⁴) existuje ještě druhá možná dráha regulace konexinu 43 v buňce vystavené PMA. Trosko a Ruch¹⁵ ve své studii popsali nepřímou fosforylaci konexinu 43 proteinkinásou C. Tato fosforylace je zprostředkována kinásami regulovanými mimobuněčnými signály (ERKs), které patří do širší skupiny proteinkinasy aktivovaných mitogeny (MAPKs). ERKs jsou aktivovány mitogeny, stresem a také již zmiňovaným PMA. Podílejí se na buněčném růstu, diferenciaci, odpovědi na stres

a na dalších fyziologických funkcích buňky¹⁶. Cílovými místy ERKs jsou cytosolové proteiny a jaderné transkripční faktory¹⁵.

Příkladem další látky podléjící se na inhibici mezibuněčné komunikace je fenobarbital. Byly prováděny testy *in vivo* a výsledky ukazují, že fenobarbital blokuje konexin 32 lokalizovaný v hepatocytech, ale neovlivňuje konexin 43 nacházející se zejména v epiteliálních buňkách a fibroblastech. Mechanismem inhibice GJIC je snížení hladiny mRNA pro konexin 32 (cit.¹³).

Pesticid DDT [1,1,1-trichlor-2,2-bis(4-chlorofenyl)ethan] blokuje GJIC v epiteliálních buňkách i hepatocytech. DDT způsobuje rychlou inhibici permeability mezerových spojů s následnou internalizací a degradací v lysozomech. Internalizace a degradace se však týká pouze epiteliálních buněk exprimujících Cx43, u Cx32 nebyly tyto účinky pozorovány. Z dalších pesticidů působí inhibici GJIC např. dieldrin, heptachlor nebo lindan¹⁷.

Též aktivace některých onkogenů (v-Src nebo v-Ha-Ras) je spojována s inhibicí GJIC. Produkt Src genu je zodpovědný za fosforylaci tyrosinových zbytků konexinu 43, což vede k uzavírání mezerových spojů¹⁸.

Přítomnost řady růstových faktorů např. epidermálního růstového faktoru (EGF) či fibroblastického růstového faktoru, vede k inhibici GJIC. Inhibice souvisí s fosforylací konexinu 43 na serinových zbytcích proteinkinásami aktivovanými mitogeny (MAPKs) (cit.¹⁹). EGF stimuluje MAPKs v závislosti na délce působení a dávce. EGF též stimuluje fosfolipasu C, jejímž působením vznikají druží poslové inositol-1,4,5-trifosfát a diacylglycerol, kteří stimulují uvolnění intracelulárního vápníku a aktivaci PKC (cit.²⁰).

Početnou skupinu inhibitorů mezerových spojů také tvoří polycyklické aromatické uhlovodíky (PAHs). Nejsilnější inhibici vykazují zejména PAHs s relativně malými molekulami, jako jsou fluoranthen, fenantren, fluoren²¹.

Na druhé straně též existuje celá řada látek podléjících se na stimulaci GJIC. Obnovení permeability mezerových spojů v tumorových buňkách může vést k navrácení regulace růstu, a tak k redukci nádorového bujení. Mechanismus účinku těchto látek není zatím zcela jasný, ale nejčastěji jde, podobně jako u mechanismu inhibice, o ovlivnění konexinů 32 a 43. Je zajímavé, že řada těchto látek patří mezi antioxidanty (např. resveratrol, superoxidodismutasa, polyfenoly zeleného čaje), dále jsou to látky ovlivňující signální přenos a aktivitu některých proteinkinasy (cAMP) (cit.¹). Obnovy GJIC se mohou účastnit též antionkogenní látky, které snižují aktivaci onkogenů podléjících se na inhibici GJIC v nádorově transformovaných buňkách. Příkladem je lovastatin²², thalidomid²³ či 2-fenylethylester kyseliny kávové²⁴. Antionkogenní efekt byl pozorován též u dexamethazonu na potkaních hepatocytech¹⁷.

Prevence inhibice GJIC během promoční fáze karcinogeneze a obnovení mezibuněčné komunikace po nádorové konverzi může být základem chemoprevence.

2.3. Experimentální metody měření funkčnosti

Inhibice GJIC *in vitro* ve vhodné modelové buněčné linii je považována za parametr detekující velmi pravděpodobně tumor-promoční vlastnosti testované látky.

Modulace mezerových spojů může být měřena několika způsoby. Nejčastěji je to sledování transportu barviva kanálky metodou SL/DT (scrape loading/dye transfer)²⁵. Sleduje se průnik nízkomolekulárního fluorescenčního barviva mezerovými kanálky od místa řezu skalpelem. Barvivo je schopno procházet pouze těmito kanálky. Délka jeho transportní dráhy závisí na průchodnosti kanálků, která je ovlivněna expozicí testovaným látkám.

Alternativou k metodě SL/DT je sledování průniku fluorescenčního barviva, které difunduje mezerovými kanálky po mikroinjekci do vybraných buněk²⁶.

Další možností je detekce konexinů. Western blot je technika sloužící k určení typu, množství a velikosti post-translačních změn (např. fosforylace) konexinů. Po elektroforetické separaci konexinů v gelové matici následuje elektroforetický přenos z gelu na membránu. Tato matrice je přístupnější pro metody využívající imunisorbentů s navázaným enzymem. K identifikaci typu konexinu se využívají specifické protilátky²⁷.

Semikvantitativní metoda RT-PCR (reverse transcription polymerase chain reaction – reverzně transkripční polymerasová řetězová reakce) je velmi citlivá pro analýzu mRNA. Slouží pro studium regulace transkripce²⁷. Imunofluorescenční technika značení konexinů přímo zobrazuje mezerový kanálek. Fixované buňky jsou značeny králičími polyklonálními protilátkami proti určitému typu konexinu. Následuje lokalizace komplexu antigen–protilátka pomocí IgG proti králičí protilátce; IgG je značeno zeleným fluorescenčním proteinem, který umožní přímou fluorescenční detekci²⁸.

Analýza FRAP (fluorescence redistribution after photobleaching) je vhodná pro studium buněčného individua uvnitř populace. Buňky se obarví karboxyfluorescein diacetátem a po selektivním odbarvení buňky působením laseru se sleduje průnik fluorescenční barvy ze sousedních značených buněk zpět do odbarvené buňky²⁷.

Existují také další méně používané metody, např. sledování průniku radioaktivního metabolitu, metabolická kooperace buněk s enzymatickým deficitem v určitých metabolických drahách nebo měření elektrické vodivosti mezerových kanálků.

3. Vnitřní a vnější vlivy na kvalitu mezibuněčné komunikace

V organismu se mohou vyskytnout různé typy nádorového bujení. I při jejich variabilitě existují určité společné znaky. Kancerogenní buňky nereagují na kontaktní inhibici růstu, vymykají se homeostatické kontrole okolních buněk, nejsou schopny terminální diferenciace, dochází u nich ke zvýšení proliferace a naopak k inhibici apoptických procesů²⁹. V průběhu dalšího růstu tumoru podléhají buňky opětovným genotypovým a fenotypovým změnám. S těmito buněčnými procesy úzce souvisí modulace klíčových buněčných pochodů: signální transdukce, aktivace transkripčních faktorů, modulace komponent buněčného cyklu atd.¹

Promotory kancerogeneze působí na celou řadu klíčových buněčných procesů²:

- modulaci hladin endogenních extracelulárních signálních molekul, indukci nebo inhibici enzymů biosyntézy a metabolismu těchto látek (především cytochromů P450);

- oxidační poškození membránových lipidů, nukleových kyselin a intracelulárních proteinů;
- změnu buněčných signálních drah a genové exprese (modulace cytosolových a jaderných receptorů a aktivity dalších transkripčních faktorů, aktivace proteinkinas);
- epigenetické efekty na DNA (methylace, acetylac apod.).

Modulace buněčných pochodů promotory kancerogeneze může vést jednak ke stimulaci buněčné proliferace, změnám diferenciace a apoptózy buněk anebo k inhibici mezibuněčné komunikace.

4. Exogenní modulatory mezibuněčné komunikace

Látky blokující účinky nádorových promotorů a stimulační mezibuněčnou komunikaci v nádorových buňkách jsou velmi různorodé a zahrnují dietní komponenty, hormony, vitaminy a léčiva. Vzhledem k tomu, že buňky nádoru jsou velmi heterogenní a vytvářejí subpopulace buněk s různými typy poškození, není možné, aby pouze jedna látka účinně modulovala mezibuněčnou komunikaci v celém nádoru. Proto je nutné kombinovat jednotlivé látky stimulující GJIC, případně i s dalšími terapeutickými metodami¹. Vhodné je hledat stimulatory mezibuněčné komunikace mezi látkami biogenního původu, které jsou součástí běžné stravy člověka.

Látky přírodního původu patří v současnosti mezi jedny z nejvíce prozkoumaných inhibitorů promoční fáze nádorového bujení. Efekty těchto látek můžeme rozdělit na dvě skupiny. Jednak jsou to látky, které mohou blokovat inhibiční účinek promotorů na GJIC (tabulka II). Mechanismus působení těchto látek není zatím zcela objasněn, ale často jde o látky se silným antioxidačním účinkem, který by se pravděpodobně mohl podílet na regulaci GJIC. Kromě látek rostlinného původu jsou to např. superoxidodismutasa nebo *N,N'*-difenyln-1,4-fenylendiamin (DPPD) (cit.¹). Druhou skupinu tvoří látky schopné indukovat GJIC v nádorových buňkách (tabulka III). Obnovení mezibuněčné komunikace v nádorových buňkách je poměrně složitá otázka, ale i přesto byli v rostlinné říši nalezeni úspěšní zástupci.

Flavonoidy jsou hojně rozšířenou skupinou přírodních polyfenolů. Řada z nich vykazuje silné antioxidační účinky, je známa též jejich antivirová, antibakteriální, antimutagenní a protizánětlivá aktivita. V současné době se flavonoidním látkám připisuje prominentní role v prevenci nádorových onemocnění⁴⁶.

V experimentech *in vitro* byla testována řada flavonoidů, z nichž nejúčinnějšími stimulatory GJIC byly shledány apigenin (II) nacházející se v celé řadě léčivých rostlin (př. *Achillea millefolium*, *Ginkgo biloba*, *Glycyrrhiza glabra*) a tangeretin (III) přítomný zejména v citrusech. Bylo zjištěno, že oba zabraňují inhibici GJIC v hepatocytech potkanů indukovanou tumorovými promotory PMA a 2-*terc*-butyl-4-methylfenolem (BHT) (cit.³¹). Stimulace GJIC apigeninem je spjatá s ovlivněním množství mRNA pro konexin 43, a to stimulací transkripce konexinu 43 anebo stabilizací mRNA.

Tangeretin neovlivňuje množství mRNA pro konexin 43, stimulace GJIC se pravděpodobně děje translačním nebo post-translačním mechanismem³⁰.

Dalšími flavonoidy testovanými jako možné stimulatory GJIC byly naringenin, myricetin³¹ a chrysin⁴⁷, avšak jejich stimulační účinky se neprokázaly.

Tabulka II

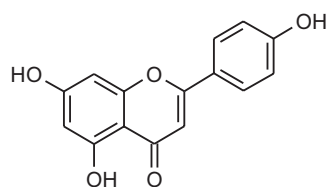
Látky přírodního původu preventivně zabraňující inhibici GJIC způsobené kancerogeny

Kancerogen	Blokující látka	Buněčná tkáň	Konexin	Lit.
BHT	apigenin, tangeretin	jaterní epiteliální buňky potkanů	Cx43	30,31
DDT	resveratrol, α -tokoferol, epikatechin	jaterní epiteliální buňky myši a potkanů	Cx32, Cx43	32,33
H ₂ O ₂	epikatechin, ginsenosid Rb ₂	jaterní epiteliální buňky potkanů	Cx43	34,35
Lindan	α -tokoferol	potkaní myocyty	Cx43	36
Fenobarbital	α -tokoferol	jaterní epiteliální buňky myši	Cx32	37
PMA	apigenin, epikatechin, ginsenosid Rb ₂ , karotenoidy, retinoidy, resveratrol, tangeretin	jaterní epiteliální buňky potkanů, fibroblasty myši a křečků	Cx43	30,31, 32,34, 37
Pentachlorfenol	extrakt ze zeleného čaje	myši játra	Cx26, Cx32	38

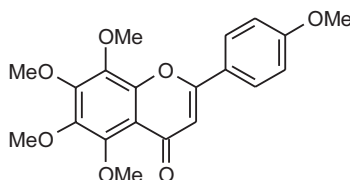
Tabulka III

Látky přírodního původu stimulující GJIC v normálních nebo neoplastických buňkách

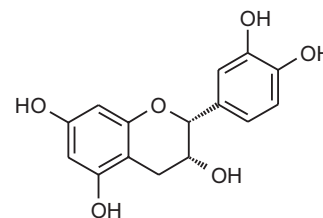
Buněčná tkáň	Látka	Konexin	Lit.
Lidské bronchiální epiteliální buňky	kyselina retinová	Cx32	39
Lidské fetální fibroblasty	lykopen, kyselina retinová	Cx43	40
Lidský neuroblastom	kyselina retinová	Cx43	41
Lidský karcinom prostaty	lykopen	Cx43	42
Myši sarkom, myši fibroblasty	retinoidy, karotenoidy	Cx43	43
Ras-transformované jaterní epiteliální buňky potkanů	2-fenylethylester kyselina kávové	Cx43	24
Jaterní epiteliální buňky potkanů	α - a β -karoten, lykopen	Cx26, Cx32	44
Lidské kožní fibroblasty	vitamin D ₃	Cx43	45



II



III



IV

Bohatým zdrojem polyfenolů tzv. katechinů je zelený čaj (*Camellia sinensis*). Obsahuje celou škálu látek s chemoprotektivní aktivitou působících proti rozvoji řady nádorů. Protektivní efekt je zprostředkován zejména silnou antioxidační aktivitou čajových polyfenolů, které jsou schopny redukovat superoxidový a hydroxylový radikál. Složky čaje jsou schopny, kromě iniciační, ovlivňovat také promoční fázi karcinogenního procesu. Snižují proliferaci buněk, podporují mezibuněčnou komunikaci, inhibují telomerasu, indukují apoptózu a z mnoha dalších účinků byla popsána i inhibice angiogeneze. Také zvyšují hladinu některých enzymů a indukují cytochrom P450, což hraje důležitou roli v buněčné detoxikaci některých kancerogenů⁴⁸.

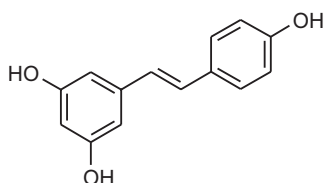
Kang a spol.³⁴ sledovali vliv epikatechinu, epikatechin-gallátu a epigallocatechin-gallátu na uzavření mezerových spojů vyvolané PMA a H₂O₂ v potkaních epiteliálních buň-

kách WB-F344 v modelu *in vitro*. Ačkoliv se již dříve objevilo několik zmínek o antikancerogenních účincích testovaných katechinů, pouze epikatechin (IV) obnovoval permeabilitu GJIC. Silnější účinek se projevil při inhibici GJIC vyvolanou PMA nežli H₂O₂. Epikatechin brání fosforylaci konexinu 43 v buněčné linii WB-F344 s vysokou hladinou mezerových spojů tvořených konexinem 43 (cit.⁴⁹). Jiná studie potvrzuje též preventivní účinek epigallocatechin-gallátu a epikatechin-gallátu na uzavření mezerových spojů indukovaných dalším modelovým inhibitorem DDT v buňkách WB-F344, jehož efekt souvisí s fosforylací konexinu 32 i 43 (cit.³⁵).

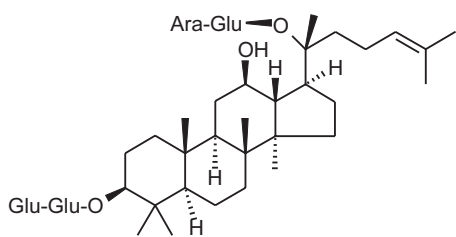
Vliv zeleného čaje na GJIC byl rovněž studován *in vivo*³⁸. Modelovým tumorovým promotorem byl v tomto případě pentachlorfenol (PCP), který byl aplikován myším po dobu 2 týdnů. PCP způsobuje oxidační poškození jaterní DNA spojené s redukcí počtu konexinů 32 v jaterní tkáni. Extrakt ze

zeleného čaje byl myším aplikován v infuzi po dobu 3 týdnů. Současná aplikace PCP a čajového extraktu vykazovala nižší inhibici mezibuněčné komunikace. Autoři se též domnívají, že inhibice mezerových spojů může být vyvolána oxidačním stresem způsobeným PCP a aplikace antioxidantů tak chrání konexiny před oxidačním poškozením.

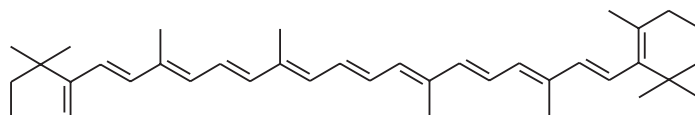
V současnosti je velice diskutovanou látkou *trans*-resveratrol (V). Jde trihydroxystilben patřící mezi rostlinné fytoalexiny. Vyskytuje se ve vysoké koncentraci v oplodí hroznů révy vinné (*Vitis vinifera*), řadě druhů zeleniny a ořechách. Vykazuje silné antioxidační a antimutagenní účinky, působí protizánětlivě, zabráňuje agregaci trombocytů⁵⁰. Antikancerogenní efekt je způsoben inhibicí celé řady markerů účastnících se procesu kancerogeneze⁵¹. Resveratrol blokuje proliferaci promyelomatózní buněčné linie HL-60 a indukuje diferenciaci myelomonocytárního fenotypu. Inhibuje několik biomarkerů indukovaných PMA jako je proteinkinasa C, inhibuje cyklooxygenasu-2 a vyvolává tvorbu volných radikálů v nádorových buňkách HL-60 (cit.⁵²). Resveratrol je silným inhibitorem cytochromu P450 (izoformy 1A1) zodpovědného za oxidativní metabolismus mnoha kancerogenů. Indukuje enzymy II. fáze detoxikace jako jsou NAD(P)H nebo chinonoxidoreduktasa⁵³. Vliv resveratrolu na GJIC byl sledován v nenádorové buněčné linii WB-F344 *in vitro*. Uzavření mezerových spojů bylo vyvoláno dvěma typy promotorů kancerogeneze PMA, jak už bylo zmíněno; jeho účinek souvisí s fosforylací konexinu 43 a DDT, který způsobuje snížení hladiny fosforylované formy konexinu 43. Resveratrol v koncentraci nad 10 μM statisticky významně potlačoval inhibici GJIC vyvolanou oběma typy promotorů³².



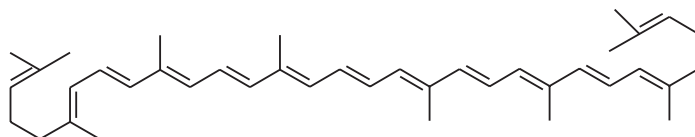
V



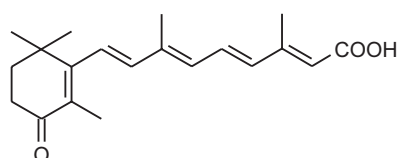
VI



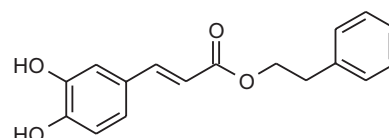
VIII



IX



VII



X

Další látkou přírodního původu, která vykazuje antitumorogenní aktivitu, je ginsenosid Rb₂. Ginsenosidy jsou sekundární metabolity ze skupiny triterpenoidních saponinů, izolované z *Panax ginseng* (Araliaceae). Zejména ginsenosidy Rb₁, Rb₂ či Rc jsou označovány jako antikancerogeny, ale jejich mechanismus účinku nebyl plně objasněn. U celé řady ginsenosidů byl studován vliv na GJIC. Pouze ginsenosid Rb₂ (VI) jevil tumorprotektivní účinek na mezerové spoje inhibované PMA a H₂O₂ v epiteliálních buňkách WB-F344 (cit.³⁴). Naopak řada ginsenosidů např. Rd₂, Rh₂, Ra₁ inhibovala GJIC v lidské endoteliální buněčné linii (HÜVEC)³⁵.

Významné antikancerogenní působení vykazují také karotenoidy. Jde o velkou skupinu přírodních lipofilních pigmentů nacházejících se zejména v ovoci, zelenině, léčivých rostlinách, ale sekundárně se vyskytujících i v živočišné říši⁵⁴. V organismu jsou karotenoidy metabolizovány 15,15'-dioxygenasou na retinoidy, rozštěpením dvojné vazby v poloze 15. Jak karotenoidy, tak retinoidy ovlivňují mezibuněčnou komunikaci skrze mezerové spoje⁵⁵. Strukturně rozdílné karotenoidy mají rozdílné účinky na GJIC. Karotenoidy s šestičlenným kruhem jsou obvykle dvakrát aktivnější než jejich pětičlenné analogy. Poloha a charakter substituentů na šestičlenném kruhu se zdají mít malý vliv na jejich aktivitu⁵⁶.

Zhang a spol.⁴³ testovali vliv karotenoidů na chemicky indukovanou neoplastickou transformaci v myších fibroblastech 10T1/2. Nejsilnější stimulace GJIC se projevila u α -tokoferolu, ale také u β -karotenu, kanthaxanthinu, luteinu, lykopenu a α -karotenu.

Studie Stahla a Siese³⁷ potvrzuje stimulační účinek β -karotenu, kanthaxanthinu a navíc připojují echinenon, kryptoxanthin a 4-hydroxy- β -karoten jako schopné induktory GJIC v myších fibroblastech. Zejména kanthaxanthin, nacházející se v mořských plodech a některých houbách, a jeho rozkladné produkty (zejména kyselina 4-oxoretinová, VII), stimulují GJIC a expresi konexinu 43 mRNA⁴⁰. Další práce poukazuje zvláště na lykopen obsažený v rajčatech, melounech a rostlinných olejích jako potenciální inhibitor nádorového bujení⁵⁷.

Konzumace rajčat a rajčatových produktů byla epidemiologicky spojována s preventivním účinkem proti rakovině prostaty. Studie *in vitro* potvrzují tento předpoklad, lykopen jednak stimuluje mezerové spoje⁴², dále působí na buněčný růst a v kombinaci s α -tokoferolem inhibuje proliferaci buněk karcinomu prostaty⁴⁰.

Vliv některých karotenoidů na mezerové spoje byl testován i *in vivo*. β -Karoten (*VIII*) a lykopen (*IX*) účinkovaly v závislosti na dávce. V dávce 50 mg.kg⁻¹ tělesné váhy vyvolávaly inhibici GJIC, zatímco dávka 5 mg.kg⁻¹ vedla ke stimulaci GJIC v jaterní tkáni laboratorních potkanů⁴⁴.

Další látkou přírodního původu, u které byl zjištěn stimulační efekt na GJIC, je 2-fenylethylester kyseliny kávové (*X*) (CAPE)²⁴. CAPE je aktivní složkou propolisu vykazujícího protizánětlivé, antivirové a antikancerogenní vlastnosti. Byl zjišťován vliv CAPE na tumorové jaterní GJIC-deficientní buňky transformované ras onkogenem (WB-ras2). Výsledky ukazují, že CAPE regeneruje mezerové spoje na základě fosforylace konexinu 43. Normální lokalizace mezerových spojů v plazmatické membráně WB-ras2 buněk byla sledována třetí den po aplikaci této látky v koncentraci 5 μ g.ml⁻¹.

Mezi další biogenní inhibitory promoce kancerogeneze patří také vitamin D₃ (cholecalciferol) stimulující GJIC v liniích lidských kožních fibroblastů 161BR (cit.⁴⁵). Vitamin E (α -tokoferol) brzdí inhibici GJIC navozenou volnými kyslíkovými radikály, DDT, lindanem i fenobarbitalem v jaterních epitelálních buňkách myši a potkanů a děložních myocytech potkanů¹.

5. Závěr

Vzhledem k tomu, že v dnešní době existuje velké riziko vzniku nádorových onemocnění, rozvíjí se snaha o nalezení nových, bezpečných látek s chemopreventivní aktivitou. Pozornost se také obrací do oblasti přírodních látek, z nichž řada má schopnost modulovat GJIC. Stimulace GJIC v nádorových buňkách má několik užitečných terapeutických účinků zahrnujících snížení buněčné proliferace, vzrůst diferenciaci, zvýšení schopnosti apoptózy a též podporu radiační terapie a chemoterapie. I když je zde stále ještě řada nevyřešených otázek, zdá se, že prevence inhibice GJIC může být jednou z možností racionální preventivní terapie nádorového bujení.

LITERATURA

- Trosko J. E., Ruch R. J.: *Front. Biosci.* 3, 208 (1998).
- Hofmanová J., Machala M., Kozubík A.: *Folia Biol. (Prague)* 46, 165 (2000).
- De Maio A., Vega V. L., Contreras J. E.: *J. Cell. Physiol.* 191, 269 (2002).
- Husoy T., Cruciani V., Sanner T., Mikalsen S.: *Carcinogenesis* 22, 221 (2001).
- Kidder G. M., Winterhager E.: *Front. Biosci.* 6, 53 (2001).
- Yamasaki H., Krutovskikh V., Mesnil M., Tanaka T., Zaidan-Dagli M. L., Omori Y.: *C. R. Acad. Sci., Vie Sci.* 322, 151 (1999).
- Musil L. S., Goodenough D. A.: *Cell* 74, 1065 (1993).
- Bruzzone R., White T. W., Paul D. L.: *Eur. J. Biochem.* 238, 1 (1996).
- Jongen W. M. F., Fitzgerald D. J., Asamoto M., Piccoli C., Slaga T. J., Gros D., Takeichi M., Yamasaki H.: *J. Cell Biol.* 114, 545 (1991).
- Saez J. C., Berthoud V. M., Moreno A. P., Spray D. C.: *Adv. Second Messenger Phosphoprotein Res.* 27, 163 (1993).
- Upham B. L., Kang K. S., Cho H. Y., Trosko J. E.: *Carcinogenesis* 18, 37 (1997).
- Ruch R. J., Klaunig J. E.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 94, 427 (1988).
- Yamasaki H.: *Mutat. Res.* 365, 91 (1996).
- Lampe P. D., Lau A. F.: *Arch. Biochem. Biophys.* 384, 205 (2000).
- Ruch R. J., Trosko J. E.: *J. Cell Biochem.* 83, 163 (2001).
- Tian W., Zhang Z.: *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 279, 593 (2000).
- Ren P., Mehta P. P., Ruch R. J.: *Carcinogenesis* 19, 169 (1998).
- Combes R. D.: *Toxicol. in Vitro* 14, 387 (2000).
- Warn-Cramer B. J., Cottrell G. T., Burt J. M., Lau A. F.: *J. Biol. Chem.* 273, 9188 (1998).
- Lau A. F., Kanemitsu M. Y., Kurata W. E., Danesh S., Boynton A. L.: *Mol. Biol. Cell* 3, 865 (1992).
- Upham B. L., Weis L. M., Trosko J. E.: *Environ. Health Perspect.* 106, 975 (1998).
- Ruch R. J., Madhukar B. V., Trosko J. E., Klaunig J. E.: *Mol. Carcinog.* 7, 50 (1993).
- Nicolai S., Sies H., Stahl W.: *Biochem. Pharmacol.* 53, 1553 (1997).
- Na H. K., Wilson M. R., Kang K. S., Chang C. C., Grunberger D., Trosko J. E.: *Cancer Lett.* 157, 31 (2000).
- El-Fouly M. H., Trosko J. E., Chang C. C.: *Exp. Cell Res.* 168, 422 (1987).
- Rivedal E., Mikalsen S. O.: *Toxicol. in Vitro* 14, 185 (2000).
- Trosko J. E., Chang C. C.: *Mutat. Res.* 480, 219 (2001).
- Ren P., De Feijter A. W., Paul D. L., Ruch R. J.: *Carcinogenesis* 15, 1807 (1994).
- Trosko J. E., Goodman J. I.: *Mol. Carcinog.* 11, 8 (1994).
- Chaumontet C., Bex V., Gaillard-Sanchez I., Seillan-Heberden C., Suschetet M., Martel P.: *Carcinogenesis* 15, 2325 (1994).
- Chaumontet C., Droumaguet C., Bex V., Heberden C., Gaillard-Sanchez I., Martel P.: *Cancer Lett.* 114, 207 (1997).
- Nielsen M., Ruch R. J., Vang O.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 275, 804 (2000).
- Sigler K., Ruch R. J.: *Cancer Lett.* 69, 15 (1993).
- Kang K. S., Kang B. C., Lee B. J., Che J. H., Li G. X., Trosko J. E., Lee Y. S.: *Cancer Lett.* 152, 97 (2000).
- Zhang Y. W., Dou D. Q., Zhang L., Chen Y. J., Yao X. S.: *Planta Med.* 67, 417 (2001).
- Krieger T. R., Loch-Carusio R.: *Biol. Reprod.* 64, 537 (2001).
- Stahl W., Sies H.: *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 68, 354 (1998).
- Sai K., Kanno J., Hasegawa R., Trosko J. E., Inoue, T.: *Carcinogenesis* 21, 1671 (2000).
- Albright C. D., Grimley P. M., Jones R. T., Resau J. H.: *Exp. Mol. Pathol.* 72, 62 (2002).
- Stahl W., Laar J., Martin H.-D., Emmerich T., Sies H.: *Arch. Biochem. Biophys.* 373, 271 (2000).

41. Carystinos G. D., Alaoui-Jamali M. A., Phipps J., Yen L., Batist G.: *Cancer Chemother. Pharmacol.* 47, 126 (2001).
42. Kucuk O., Sarkar F. H., Sakr W., Djuric Z., Pollak M. N., Khachik F., Li Y. W., Banerjee M., Grignon D., Bertram J. S., Crissman J. D., Pontes E. J., Wood D. P.: *Cancer Epidemiol. Biomarkers* 10, 861 (2001).
43. Zhang L. X., Cooney R., Bertram J. S.: *Carcinogenesis* 12, 2109 (1991).
44. Krutovskikh V., Asamoto M., Takasuka N., Murakoshi M., Nishino H., Tsuda H.: *Jpn. J. Cancer Res.* 88, 1121 (1997).
45. Clairmont A., Tessmann D., Stock A., Nicolai S., Stahl W., Sies H.: *Carcinogenesis* 17, 1389 (1996).
46. Surh Y. J.: *Mutat. Res.* 428, 305 (1999).
47. Chaumontet C., Suschetet M., Honikman-Leban E., Krutovskikh V. A., Berges R., Le Bon A. M., Heberden C., Shahin M. M., Yamasaki H., Martel P.: *Nutr. Cancer* 26, 251 (1996).
48. Kuroda Y., Hara Y.: *Mutat. Res.* 436, 69 (1999).
49. Ale-Agha N., Stahl W., Sies H.: *Biochem. Pharmacol.* 63, 2145 (2002).
50. Gehm B. D., McAndrews J. M., Chien P. Y., Jameson J. L.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 94, 14138 (1997).
51. Jang M., Pezzuto J. M.: *Drugs Exp. Clin. Res.* 25, 65 (1999).
52. Jang M., Cai L., Udeani G. O., Slowing K. V., Thomas C. F., Beecher C. W., Fong H. H., Farnsworth N. R., Kinghorn A. D., Mehta R. G., Moon R. C., Pezzuto J. M.: *Science* 275, 218 (1997).
53. Surh Y. J.: *Mutat. Res.* 428, 305 (1999).
54. Mangels A. R., Holden J. M., Beecher G. R., Forman M. R., Lanza E.: *J. Am. Diet. Assoc.* 93, 284 (1993).
55. Teicher V. B., Kucharski N., Martin H.-D., Saag P., Sies H., Stahl W.: *Arch. Biochem. Biophys.* 365, 150 (1999).
56. Stahl W., Ale-Agha N., Polidori M. C.: *Biol. Chem.* 383, 553 (2002).
57. Gerster H.: *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 63, 93 (1993).

S e z n a m z k r a t e k

Ara	arabinoza
CAPE	2-fenylethylester kyseliny kávové
Cx	konexin

DDT	1,1,1-trichlor-2,2-bis(4-chlorofenyl)ethan
DPPD	<i>N,N'</i> -difenyl-1,4-fenyldiamin
ERKs	kinasy regulované mimobuněčnými signály
FRAP	(fluorescence redistribution after photobleaching)
GJIC	(gap junctional intercellular communication) – mezibuněčná komunikace mezerovými spoji
Glu	glukosa
HUVEC	lidská endoteliální buněčná linie
MAPKs	kinasy aktivované mitogeny
PAHs	polycyklické aromatické uhlovodíky
PCP	pentachlorfenol
PKC	proteinkinasa C
PMA	forbol-12-myristát-13-acetát
RT-PCR	reverzně transkripční polymerasová řetězová reakce
SL/DT	(scrape loading/dye transfer)

H. Forejtníková and R. Kubínová (*Department of Natural Drugs, Faculty of Pharmacy, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno*): **Natural Compounds as Stimulators of Gap-junctional Intercellular Communication**

Both epigenetic and mutagenic events influence the process of carcinogenesis. Any mutagenic event irreversibly alters the genomic information of the cell. Epigenetic activities of compounds do not damage genes directly, but they can alter the gene expression. The most important consequences include alteration of cell proliferation, differentiation, or apoptosis. One of them, which apparently link to the promotion of carcinogenesis is the inhibition of gap-junctional intercellular communication (GJIC) *in vitro*. These gap junctions allow ions and low-molecular-weight molecules to move between coupled cells, thereby facilitating synchronization of electrotonic or metabolic cooperation. Transient down-regulation by endogenous or exogenous chemicals can bring about adaptive or maladaptive consequences depending on circumstances. Tumor promoters (e.g. DDT) and growth factors reduce GJIC, whereas anticarcinogens and growth inhibitors (e.g., flavonoids, resveratrole, carotenoids) enhance GJIC. Prevention of inhibition of GJIC could be an important chemopreventive strategy of cancer therapy.

INTENZIFIKACE PYROLÝZNÍCH PECÍ V CHEMOPETROLU LITVÍNOV

JAN DOSKOČIL^a, ZDENĚK BĚLOHLAV^b,
TOMÁŠ HERINK^a a PETR ZÁMOSTNÝ^b

^aChemopetrol a.s., 436 70 Litvínov, ^bVysoká škola chemicko-
-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6
e-mail: doskocij@chemopetrol.cz

Došlo 7.1.03, přijato 18.4.03.

Klíčová slova: pyrolýza uhlovodíků, ethylenová jednotka,
ethylen

Obsah

1. Úvod
2. Produkce ethylenu v západní a střední Evropě
3. Intenzifikace ethylenové jednotky
v Chemopetrolu Litvínov
 - 3.1. Rekonstrukce pyrolýzních pecí
 - 3.2. Pyrolýzní reaktor Gradient Kinetics GK 6
4. Provoz rekonstruovaných pecí
5. Závěr

1. Úvod

Pyrolýzou uhlovodíků (ethylenovou pyrolýzou) se označuje tepelný rozklad celého spektra ropných frakcí na nízkomolekulární alkenové produkty, především ethylen a propylen. Rozkladné pyrolýzní reakce probíhají hlavně radikálovým mechanismem. Protože rozkladné reakce jsou velmi rychlé a silně endotermní, je pro dokonalé, selektivní štěpení suroviny třeba dodat do reakční směsi v krátkém časovém intervalu značné množství tepla. Pyrolýzní reaktory jsou proto konstruovány jako tenké trubky s velmi vysokým průtokem reakční směsi ohříváné radiací v komoře se žhavými spaliny. Případné zvýšení produkce průmyslové jednotky zpracováním většího množství surovin při zachování původního objemu pyrolýzních reaktorů a původní konverze surovin vyžaduje zvýšit zatížení reaktorů (a tím zkrátit dobu zdržení pyrolýzované směsi v reaktorech) a zároveň zvýšit teplotu v reaktorech. Základem řešení intenzifikace pyrolýzní jednotky je proto změna architektury pyrolýzních vlásenek s cílem zvýšit plochu reaktorů pro intenzivnější přenos tepla z radiální komory.

Pyrolýza ropných frakcí je základním procesem petrochemického průmyslu. Na území České republiky je jediná významná ethylenová jednotka v Chemopetrolu Litvínov a. s., která byla uvedena do provozu v roce 1980. Jednotka zahrnující deset pyrolýzních pecí byla postavena na základě projektu firmy Lummus s kapacitou 453 kt ethylenu ročně a s vysokou flexibilitou z hlediska využívaných surovin (recyklovaný ethan, LPG – zkapaněné rafinérské plyny, primární benziny,

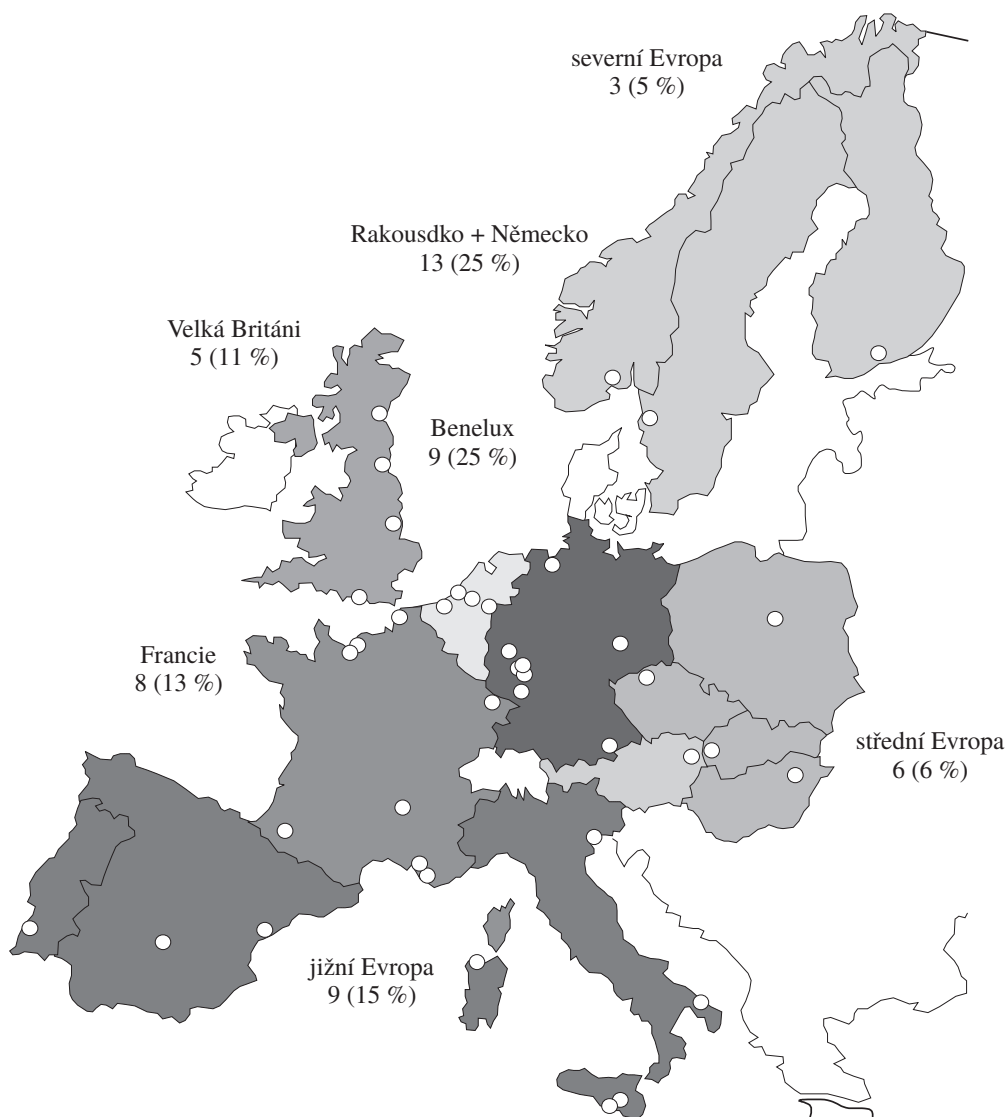
petrolej a nafta). Náhrada petroleje destilačním zbytkem z hydrokrakování vakuových destilátů (HCVD) si vyžádala úpravy konvekčních částí poloviny pyrolýzních pecí. Kapacita jednotky se tak snížila asi na 428 kt ethylenu ročně. Posledním významnějším zásahem do původního projektu byla v roce 1994 celková rekonstrukce jedné z pecí používané pro pyrolýzu HCVD firmou Chempex Brno. Maximální výroby 466 kt ethylenu ročně bylo dosaženo v roce 1999.

Vzhledem k intenzifikaci a modernizaci ethylenových jednotek v sousedních zemích nemohl ani Chemopetrol, pokud nechtěl pozbyť svého postavení v regionu, dále odkládat zvýšení kapacity své jednotky. V souvislosti s výstavbou nových výroben polyolefinů byla proto na rok 2000 naplánována první etapa intenzifikace a modernizace ethylenové jednotky. Výběrovým řízením, které proběhlo v roce 1999, byla pro intenzifikaci určena mezinárodní firma TECHNIP – COFLEXIP (dříve KTI). Plánovaná kapacita ethylenové jednotky po ukončení první etapy intenzifikace byla stanovena na 485 kt ethylenu při fondu pracovní doby 8000 hodin.

2. Produkce ethylenu v západní a střední Evropě

Z přehledu o současném stavu a možnostech výroby ethylenu v západní a střední Evropě¹ (obr. 1) je patrné zcela dominantní postavení výrobců z Beneluxu a Německa, kteří těží z logistických výhod spojených s vysokou kapacitou jednotek. Trojice největších evropských producentů (Enichem, Dow Chemicals a BASF) má své velké ethylenové jednotky situované v blízkosti velkých přístavů (Antverpy, Rotterdam, přístavy v Itálii), další výrobci umísťují ethylenové jednotky do blízkosti velkých přístavů nebo do míst s dobrou dopravní dostupností, např. Porúří. Značná kapacita spolu s intenzifikací jednotek umožňuje producentům z těchto zemí získat téměř padesátiprocentní podíl na produkovaném množství ethylenu. Více než třetina ethylenu pak připadá na Velkou Británii, Francii a země jižní Evropy. Středoevropský region produkuje množství ethylenu srovnatelné s výrobci z Rakouska a zemí severní Evropy. Až na výjimky je ethylen v západní a střední Evropě vyráběn pyrolýzou primárních benzinů. Současné zpomalování hospodářského růstu v Evropě se promítlo i do produkce ethylenových jednotek. Meziroční nárůst produkce ethylenu byl tak zaznamenán pouze britskými, německými a středoevropskými výrobci. Není bez zajímavosti, že v relativním nárůstu množství vyráběného ethylenu předstihli středoevropské producenti německé výrobce.

Ethylenová jednotka Chemopetrolu Litvínov patří v porovnání s evropskými jednotkami mezi větší zařízení. Mezi více než šedesáti západoevropskými a středoevropskými jednotkami zaujímá v současné době litvínovská jednotka sedmácté místo z hlediska dosahované kapacity. I když produkční možnosti jednotky Chemopetrolu Litvínov nedosahují v evropském měřítku nejvýznamnějších jednotek belgických, nizozemských a německých, v prostoru střední Evropy jde o zařízení s největší kapacitou. Zcela unikátní je však možnost



Obr. 1. Současný stav výroby ethyleny v západní a střední Evropě. První údaj – počet jednotek, údaj v závorce – podíl na celkové produkci regionu

zpracovávat s výjimkou plynových kondenzátů všechny v současnosti využívané suroviny. Výhodou jednotky je také její propojení 137 km dlouhým ethylenovodem s ethylenovou jednotkou v německém Böhleu (nedaleko Lipska).

3. Intenzifikace ethylenové jednotky v Chemopetrolu Litvínov

Ethylenová jednotka Chemopetrolu Litvínov byla při svém uvedení do provozu vybavena celkem deseti pyrolýzními pecemi. Před zahájením přípravných prací pro první etapu intenzifikace bylo zřejmé, že dosavadní pece nedisponují dostatečnou provozní rezervou pro dosažení cílové roční kapacity 485 kt ethyleny. Na základě provedených studií bylo rozhodnuto rekonstruovat čtyři pece zpracovávající primární benzin.

Úprava těchto pecí představovala hlavní náplň intenzifikace jednotky. Cílem ostatních prací bylo odstranění technologicky úzkých míst zjištěných předchozími studiemi, které by zneumožnily dosáhnout plánované výroby ethyleny. Např. původní vodní pračka zajišťující chlazení plyných produktů pyrolýzy vstupujících do sání prvního stupně kompresoru by při zvýšení kapacity svým výkonem nezajistila jejich dostatečné ochlazení. Nedostatečný výkon pračky se podařilo odstranit její rekonstrukcí, která zahrnovala demontáž původních pater, prodloužení hlavové části kolony a především montáž tří vrstev orientované výplně a přídavného výměníku pro dodatečné snížení teploty chladicí vody zaváděné na vrchní lože výplně. Dále byly vyměněny opotřebované hnací turbíny kompresoru plyných produktů pyrolýzy a kompresoru ethylenového chladicího okruhu. Také problémy s nedostatečnou kapacitou demethanizéru (separace methanu z plyných pro-

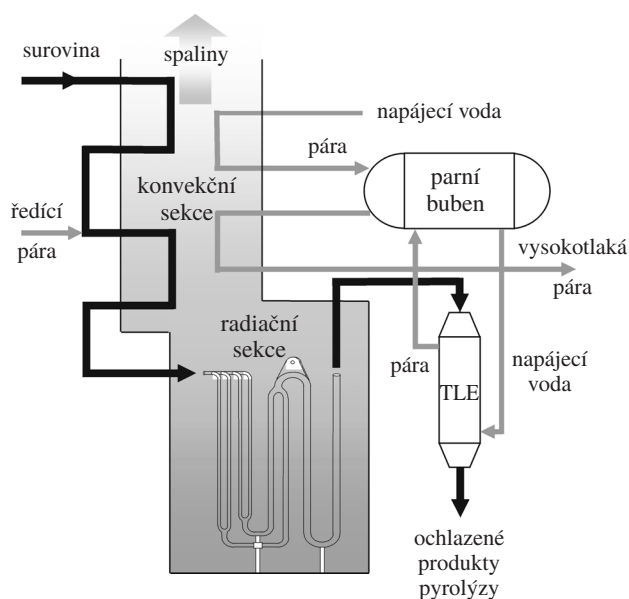
duktů pyrolýzy), která by při provozu na maximální výkon vedla k zahlcování kolony, byly odstraněny instalací přidavné kolony – predemethanizéru. Predemethanizér odlehčil původnímu zařízení rozdělením proudu plynných produktů. Výševroucí uhlovodíky tak odcházejí přímo do deethanizéru (separace ethanu z plynných produktů), zatímco proud bohatý na methan je zaváděn předchozí technologickou cestou do demethanizéru. Technologie ethylenové jednotky byla rovněž rozšířena o jednotku, která odstraňuje z vodíku zbytky methanu a zajišťuje tak zdroj čistého vodíku pro hydrogenační procesy.

3.1. Rekonstrukce pyrolýzních pecí

Pyrolýzní pec představuje zařízení, jehož výkon je limitován celou řadou faktorů. Každá pyrolýzní pec (obr. 2) se skládá z konvekční a radiační části. V radiační části je umístěna soustava pyrolýzních reaktorů – vlásenek, ve kterých probíhá vlastní štěpení suroviny. Vysoká teplota v radiační komoře je zajišťována spalováním topného plynu. Spaliny o vysoké teplotě odcházejí do konvekční části pece, kde předávají své teplo postupně směsi suroviny a procesní páry, vyrobené supervysokotlaké páře, napájecí vodě a samotné surovině. Tah v peci zajišťuje ventilátor kouřových plynů, který odsává spaliny do komínu. Produkty pyrolýzy jsou ochlazovány v kotlích na odpadní teplo (TLE – transfer line exchanger), kde předávají své teplo napájecí vodě, která se přeměňuje na supervysokotlakou páru. Napájecí voda predehřátá v konvekční části pece vstupuje do parního bubnu, který má zároveň funkci zásobníku napájecí vody a vyrobené supervysokotlaké páry. Supervysokotlaká pára odchází z parního bubnu na přehřátí do konvekční části pece a odtud do parovodu. Následné chlazení reakční směsi je zajištěno jejím zkrácením pracím olejem. Ochlazená směs pak opouští pec soustavou hraničních armatur umožňujících odpojení pece od ostatního zařízení ethylenové jednotky.

Z původních deseti pyrolýzních pecí bylo devět vybaveno reaktory typu Lummus SRT III, zbylá, používaná na pyrolýzu recyklovaného ethanu, byla osazena reaktorem typu Lummus SRT I. Podstatou rekonstrukce pyrolýzních pecí byla výměna vlásenek umístěných v radiační části pece za nové vlásenky typu Gradient Kinetics GK6 spojená s úpravou stropu a podlahy radiační části pece. Významným přínosem byla montáž Venturiho trubice zajišťující stejné průtok každou ze 48 samostatných vlásenek. Odlišný tvar vlásenek spolu s jinou soustavou vodících tyčí si vyžádal montáž nových závěsů radiační sekce a přechodových potrubí a rovněž instalaci nových průvlaků ve sníženém středovém kanálu dna radiační části pece. Prováděné úpravy byly spojeny se zásahem do nosné konstrukce pece, demolicí a obnovou vyzdívky radiační části pece, úpravou potrubí rozvodu topného plynu a instalací nových prvků měření a regulace. Modifikací pyrolýzních pecí bylo rovněž zabezpečeno další zvýšení flexibility ethylenové jednotky z hlediska zpracování surovin. Jedna z rekonstruovaných pecí je po vybavení novými regulačními ventily na potrubí řídící páry schopna zpracovávat plynový olej v množství o třetinu vyšším než před rekonstrukcí. U jiné rekonstruované pece bylo umožněno zpracovávat směsný nástřik, tedy směs plynného propanu, LPG a kapalného primárního benzínu.

Rekonstruované pyrolýzní pece však nedosahovaly tepel-



Obr. 2. Schéma pyrolýzní pece

ného výkonu a objemu výroby garantované kontraktorem. Proto bylo nutno provést další úpravy – výměnu všech spodních hořáků, výměnu části bočních hořáků, montáž větších oběžných kol ventilátorů kouřových plynů a vsazení mezikusu do kouřovodu nad komínovou klapkou zabezpečující její plné otevření. Zlepšení přestupu tepla v konvekční části pece bylo docíleno omytím vnější strany potrubí a žeber potrubí všech přehříváků umístěných v konvekci. Jednotlivé úpravy pyrolýzních pecí byly prověřovány provozními testy spojenými se vzorkováním horké reakční směsi na výstupu z reaktoru. Intenzifikace pecí byla poté ukončena garančními testy a oficiálním převzetím pecí. Po převzetí jsou rekonstruované pyrolýzní pece zatěžovány obvykle blízko svého maximálního výkonu. Provoz pecí je řízen systémem vyššího řízení², uvedeným do provozu v roce 2001.

3.2. Pyrolýzní reaktor typu Gradient Kinetics GK 6

Rozsáhlým výzkumem a hodnocením provozních zkušeností bylo potvrzeno, že výtěžky žádaných produktů pyrolýzy ovlivňují vlastnosti použité suroviny, technologický režim zařízení a geometrie (uspořádání) vlásenek pyrolýzní pece³. Vývoj užívaných typů pyrolýzních vlásenek vychází ze základního požadavku dodat dostatečné množství tepla do suroviny uvnitř trubkového reaktoru. Tento požadavek vedl k přechodu od dlouhých jednoduchých vlásenek velkého průměru (např. Lummus SRT I) k soustavám rozvětvených vlásenek o proměnném průměru trubek (Lummus SRT III, cit.⁴) a dále k soustavám jednoduchých U-trubek menšího průměru, popřípadě až ke zcela rovným krátkým trubkám malého průměru u tzv. milisekundových pecí.

Základem rekonstrukce pyrolýzních pecí byla náhrada dosavadního reaktoru typu Lummus SRT III pyrolýzní vlásenkou typu Gradient Kinetics GK 6. Nově zavedený typ

představuje v současnosti nejučinnější systém s režimem podobným milisekundovým pecím (například Lummus SRT V a SRT VI, popřípadě předchozí typ vlásenek Gradient Kinetics GK 5, cit.^{5,6}). Rozdíl geometrie předchozího a nového typu reaktoru intenzifikovaných pecí je znázorněn na obr. 3. Z obrázku je patrné, že původní uspořádání trubek (rozvětvený systém 4-2-1) o různém průměru je nahrazeno soustavou 8 U-trubek stejného průměru poloviční délky. Jediný výstup z vlásenek je zabezpečen soustavou Y-kusů, spojujících vždy dvě sousední trubky. Mechanická stabilita celého systému v radiační komoře je zajištěna složitou soustavou závěsů a vodících tyčí. Celý systém je tak mnohem stabilnější než starý typ reaktoru s jedním závěsným okem a dvojicí vodících tyčí. Vzhledem k tomu, že původní počet šesti nastříkovaných proudů suroviny zůstává nezměněn, tvoří nový reaktorový systém soustava 48 samostatných U-trubic. Každá z těchto trubic je vybavena Venturiho trubicí spojenou se vstupním kolektorem společným vždy pro čtveřici vlásenek. Uspořádání vlásenek uvnitř radiační komory je obdobné původnímu projektu – výstupní potrubí umístěné na podélné ose radiační sekce je napojeno na vstup do kotle na odpadní teplo, avšak na rozdíl od původního typu reaktoru je udržováno vlastní dvojicí závěsů. Jednotlivé čtveřice U-trubic každého z proudů jsou umístěny symetricky s podélnou osou radiační komory.

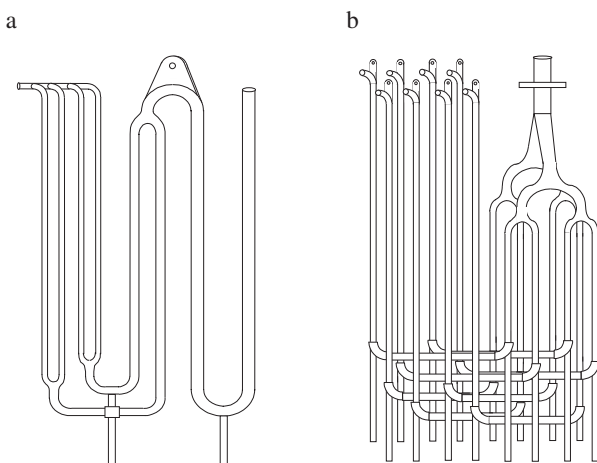
Porovnání vybraných technologických parametrů obou typů reaktorů je uvedeno v tabulce I. Hodnoty v tabulce jsou vzhledem k uzavření dohody o utajení mezi Chemopetroleum a kontraktorem normovány na původní typ reaktoru SRT III. Uvedená data potvrzují výhody nového typu reaktoru. Při poloviční délce a menším průměru trubek vykazuje nový reaktor nejenom kratší dobu zdržení pyrolyzované směsi, ale i o třetinu větší teplosměnnou plochu. Doba zdržení reakční směsi v reaktoru dosahuje méně než dvou třetin doby zdržení v reaktorovém systému SRT III. Maximální trvale provozovaný nástřík ukazuje způsob, jakým bylo dosaženo zvýšené kapacity ethylenové jednotky – při provozu tří intenzifikovaných pecí představuje zvýšení prosazení asi 85 % kapacity původní pece, při provozu všech čtyř intenzifikovaných pecí představuje zvýšení více než 100 % kapacity neinten-

zifikované pece. V provozní praxi je vzhledem k různým typům nastříkovaných surovin situace samozřejmě složitější, řešení použité kontraktorem však ve všech případech umožňuje navýšení produkce při menším počtu provozovaných pyrolyzních pecí. Zavedení těchto typů reaktoru spojené s rekonstrukcí pecí je tak kromě výstavby zcela nové pece jediným způsobem jak navýšit produkci jednotky. V porovnání s výstavbou nové pece je to však přístup méně investičně náročný.

Pro ilustraci základních vlastností nové a původní vlásenky byly počítačově simulovány teplotní a tlakové profily a distribuce výtěžků v obou typech reaktorů (obr. 4 až 6). Pro simulační výpočty byl použit matematický model pyrolýzy uhlovodíků vyvinutý na Ústavu organické technologie Vysoké školy chemicko-technologické v Praze⁷. Teplotní profil podél vlásenek u obou porovnávaných reaktorů v závislosti na době zdržení ukazuje obrázek 4. U reaktoru GK 6 je dobře patrný strmější nárůst teploty a podstatně kratší celková doba zdržení v porovnání s reaktorem SRT III. Relativně krátká vlásenka typu GK 6 s méně ohyby a Y kusy než vlásenka typu SRT III vykazuje při srovnatelných rychlostech proudění reakční směsi podstatně nižší tlakovou ztrátu (obr. 5). Nižší tlak ve vlásence GK 6 tak snižuje vliv nežádoucích kondenzačních reakcí a v konečném důsledku se tak podílí na vyšších výtěžcích plynných produktů pyrolýzy na úkor nežádoucích vyšších nenasycených a aromatických uhlovodíků. Na obr. 6 jsou vyneseny hodnoty výtěžků vybraných produktů pyrolýzy na konci vlásenek. Při běžném provozním režimu je zejména produkce ethylenu a propylenu vyšší u reaktoru GK 6 než u původního typu SRT III. Vyšší výtěžek butadienu a výrazně nižší výtěžek benzenu ve vlásence GK 6 je především důsledkem potlačení cykloadiční reakce butadienu s ethylenem, jejíž konečným produktem je benzen.

4. Provoz rekonstruovaných pecí

Po ukončení garančních testů jsou rekonstruované pece provozovány s maximálním zatížením. Po uvedení všech pecí do provozu se však objevila určitá provozní omezení, která nebyla před intenzifikací uvažována. Jde zejména o problémy s regulačními nástříkovými ventily a fyzické opotřebení materiálu trubek konvekčních částí pecí. Nejvíce problémů během dvouletého používání intenzifikovaných pecí způsobila prokazatelně vyšší citlivost zařízení na mimořádné provozní stavy. Při nouzových odstaveních ethylenové jednotky spoje-



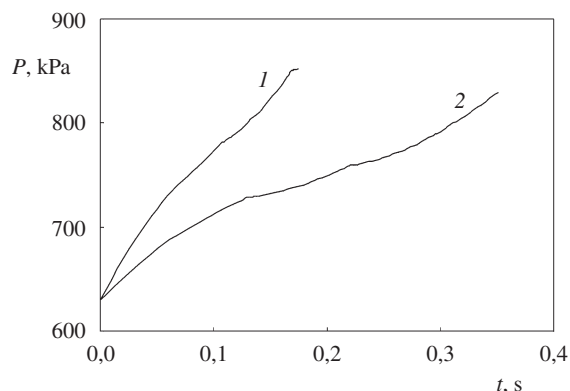
Obr. 3. Pyrolyzní vlásenky typu SRT III (a) a GK 6 (b)

Tabulka I

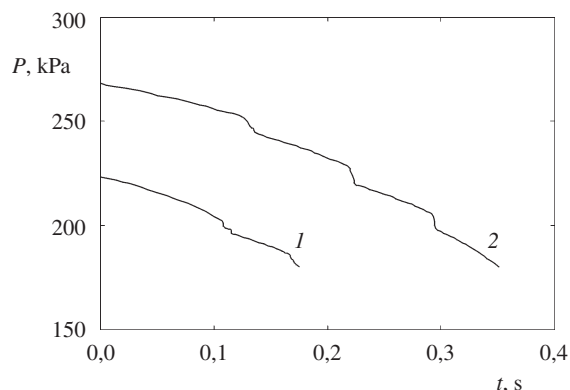
Relativní hodnoty parametrů reaktoru GK 6 (vztažené na reaktor SRT III) pro pyrolýzu primárních benzinů

Parametr	Hodnota
Délka vlásenky	0,50
Teplosměnná plocha vlásenky	1,4
Průměrná doba zdržení (vlásenka včetně TLE)	0,61
Průměrná výstupní rychlost z vlásenky	0,64
Maximální provozovaný nástřík	1,3
Maximální provozní teplota	+20 °C

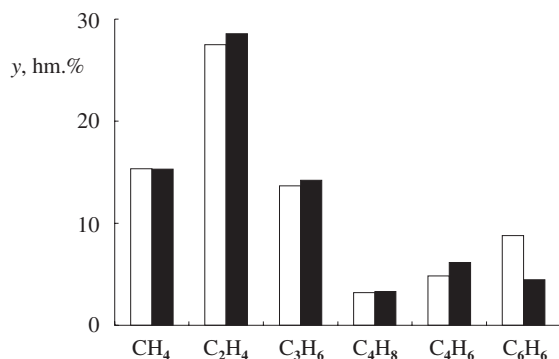
ných s výpadkem dodávky energií došlo k úplnému zanesení několika U-trubic rekonstruovaných pecí uhlíkatými úsadami, které vznikly rychlým ochlazením vlásenek. Uvolněné úsady nebylo možno odstranit oxidací, pece musely být ochlazeny, vlásenky rozříznuty a mechanicky vyčištěny. Nebezpečí zanesení vlásenek lze však částečně potlačit oxidacemi vlásenek



Obr. 4. Teplota reakční směsi T v závislosti na době zdržení t ve vlásenkách GK 6 (1) a SRT III (2)



Obr. 5. Celkový tlak P reakční směsi v závislosti na době zdržení t ve vlásenkách GK 6 (1) a SRT III (2)



Obr. 6. Výťažky vybraných produktů (y) při pyrolýze primárního benzínu ve vlásenkách GK 6 (■) a SRT III (□)

pokaždé, mění-li se typ suroviny nastříkované do pece. Výraznou změnou prošel také způsob vlastní oxidace vlásenek. V porovnání s postupem užívaným u pecí s původním typem reaktoru jde o komplikovaný a delší postup skládající se z několika etap. Optimalizace procesu oxidace si proto vyžádala další investice do nového rozvodu procesního vzduchu spojeného s montáží analyzátoru spalin na společném potrubí pro odvod produktů oxidace.

5. Závěr

Rekonstrukce čtyř pyrolýzních pecí umožnila dosáhnout plánovanou cílovou kapacitu I. etapy intenzifikace ethylenové jednotky Chemopetrolu Litvínov. Zvýšení prosazovaného množství suroviny a zavedení směšného nástřiku na jedné z pecí rovněž zvýšilo flexibilitu ethylenové jednotky.

Nový typ reaktoru Gradient Kinetics GK 6 použitý při rekonstrukci pecí představuje kvalitativně odlišnou technologii v porovnání se stávajícími pyrolýzními vlásenkami typu Lummus SRT III. Vyšší výkon rekonstruovaných pecí je však spojen se značnou citlivostí zařízení na mimořádné provozní stavy.

LITERATURA

1. Cefic Statistic Service: *Monthly Report*. London 2001.
2. Malecký M., Doskočil J., Doskočilová L.: *Konference Aprochem 2001, Rožnov p. Radhoštěm, 22.– 24. října 2001*, sborník přednášek, str. 69.
3. Dente M., Ranzi E., v knize: *Pyrolysis – Theory and Industrial Practice* (Albright L. F., ed.), str. 256. Academic Press, New York 1983.
4. Fernandez J.: *Lummus 4th Seminar on Safety and Reliability of Large Single Train Ethylene Plants*, sborník, str. 1. Lummus Company, New York 1974.
5. Albright L. F., Marek J. C.: *Ind. Eng. Chem. Res.* 27, 743 (1988).
6. Erkelens L.: *Ethylene – KTI Group Presentation*, str. 4. KTI Public Relations Department, Hengelo 1991.
7. Bělohav Z., Zámstný P., Herink T.: *Chem. Eng. Process.* 42, 461 (2003).

J. Doskočil, Z. Bělohav, T. Herink and P. Zámstný (Chemopetrol Co., Litvínov and Institute of Chemical Technology, Prague): **Improvement of Pyrolysis Reactors in Chemopetrol Co. Litvínov**

The results of intensification of pyrolysis reactors in Chemopetrol Litvínov are evaluated. The reasons for intensification are analyzed on the basis of current production of ethylene in Western and Central Europe. Basic technological description of equipment and the performed modifications are given. Special attention is paid to comparison of original pyrolysis reactors SRT III and new reactors GK 6. A comparison of basic construction parameters is supplemented by the results of simulation calculations performed for both reactors using a mathematical model. Finally, complex evaluation of the intensification results is given.

50 LET VÚFB – 50 LET ČESKÉHO VÝZKUMU A VÝVOJE VE FARMACII

MIROSLAV KUCHAR a ZDENĚK NOVOTNÝ

Výzkumný ústav pro farmacii a biochemii, U Kabelovny 130,
102 01 Praha 10
e-mail: kuchar@vufb.cz

Došlo 5.11.03, přijato 18.11.03.

Klíčová slova: Zentiva, výzkum

Výzkumný ústav pro farmacii a biochemii (VÚFB) vznikl v r. 1951 z Výzkumného a kontrolního ústavu Spofa, který byl vytvořen z výzkumných pracovišť několika výrobních závodů převážně v pražském regionu. V témže období byla dokončena výstavba nové budovy v Kouřimské ul. v Praze – Vinohradech, kde byl provoz ústavu zahájen 28. listopadu 1951. Postupně byly vybudovány další pobočky v Rosicích a Konárovicech, kam se soustředily především aktivity související s hodnocením toxicit léčiv včetně chovu pokusných zvířat. V r. 1967 se VÚFB spojil s Výzkumným ústavem léčivých rostlin v Praze – Hloubětíně. V 50. a 60. letech se ústav profiloval jako významné a prakticky jediné středisko výzkumu a vývoje humánních léčiv pro farmaceutický průmysl v tehdejší Československu. Po roce 1989 se v České republice postupně měnila organizace farmaceutického průmyslu a majetkoprávní vztahy ve farmaceutických firmách a tyto změny se zákonitě projeví i ve statutu VÚFB a v charakteru jeho činnosti. Proces privatizace zahájený v r. 1993 vytvořením akciové společnosti a ukončený v r. 1998 začleněním VÚFB jako dceřinné společnosti do a.s. Léčiva, změnil výrazně strukturu ústavu z hlediska profesního i personálního, ale současně ji přiblížil potřebám moderní farmaceutické společnosti, zabývající se vývojem a výrobou generik s vysokým inovačním potenciálem.

Období rozvoje ústavu je spjato s řadou významných vědeckých a výzkumných pracovníků, kteří se svojí činností zasloužili o vynikající pověst ústavu nejen v tuzemsku, ale i v zahraničí. Uvědomuji si nedokonalost každého jmeného seznamu, nicméně bych chtěl v této souvislosti zmínit M. Protivu, M. Semonského, V. Trčku, Z. Buděšínského, J. Trojánka, J. Körbla a dlouholetého ředitele ústavu O. Němečka. Téměř po celou existenci ústavu se dařilo udržovat krok se světovými trendy výzkumu a vývoje, nejen z hlediska odborné úrovně, ale i po stránce organizace řízení výzkumných a vývojových aktivit. Tzv. maticový model řízení s horizontálním vedením projektů a vertikálním řízením činností byl postupně zdokonalován již od počátku 70. let. Metodické přístupy k výzkumu a vývoji prošly ve světovém měřítku v druhé polovině 20. století neobyčejně rozsáhlou a zásadní modernizací všech činností počínaje syntetickými přístupy a konče biologickým hodnocením. Přes nepřízeň tehdy existujících ekonomických bariér se VÚFB dokázal vyrovnat s rozvojem instrumentálních analytických metod, s různými typy laboratorních praxí i s racionálními přístupy ke zpraco-

vání experimentálních dat s použitím statistických metod. Teprve druhá polovina 80. let spojená s masivním využitím výpočetní techniky na všech úrovních výzkumu a vývoje a s rozvojem genového inženýrství v přípravě i biologickém hodnocení nových léčiv vedla ke ztrátě kontinuity se světovou úrovní výzkumu a vývoje. Byl to především rozvoj matematických metod molekulového modelování, který otevřel cesty k pochopení mezimolekulových interakcí a který se nepodařilo v českém farmaceutickém výzkumu zachytit.

Vynikající úroveň výzkumné činnosti VÚFB dokumentuje skutečnost, že v průběhu uplynulých 50 let bylo ve VÚFB objeveno 33 originálních léčiv, jejichž seznam je uveden v tabulce I. Z nich bylo 31 do r. 1990 zaregistrováno a 2 jsou v současné době v různém stadiu vývoje. Přehledně jsou tyto výsledky shrnuty v tabulce II. Za toto období bylo připraveno a biologicky hodnoceno více než 20 000 nových látek. Relativně vysoká úspěšnost výzkumu a vývoje ve VÚFB je vyjádřena příznivým poměrem mezi počtem biologicky hodnocených látek a léčiv, která prošla úspěšně klinickým zkoušením. Lze ji do jisté míry vysvětlit tím, že výzkum byl zaměřen převážně na léčiva s odvozenou strukturou – tedy na tzv. „me-too“ léčiva – a rovněž jejich klinické výsledky nebyly podrobeny tvrdým podmínkám volného trhu. Pokud se však podařilo odhadnout nejnovejší trendy v mechanismu účinku, po případě významně zlepšit terapeutický index, byla získána léčiva, která našla uplatnění i na zahraničních trzích (viz tabulka II). Příkladem je kardiovaskulární léčivo metipranolol, jehož lékovou formu pod názvem Torrat vyráběla firma Boehringer Mannheim. Za hlavní období jeho existence (1971–1993) bylo metipranololu prodáno celkem za 11,2 mld Kč, z toho za 541,4 mil. DEM (9,7 mld Kč) v zemích EU. Neméně významným a ekonomicky ještě úspěšnějším preparátem je antidepresivum Prothiaden s aktivní substancí dosulepin, jejímž výlučným zahraničním výrobcem lékové formy byla anglická firma Boots. V období 1968 až 1994 bylo zpracováno do lékové formy celkem 196 tun substance a celkový obrát činil 19,52 mld Kč. Během nejproduktivnějšího desetiletí 1980–1989 představovaly celkové tržby v přepočtu 12,37 mld Kč, z toho 12,09 mld v zahraničí. Rozložení prodeje na tuzemský a zahraniční trh ukazuje, jak je důležité s léčivem proniknout na rozsáhlejší teritorium. Celkem 7 originálních léčiv VÚFB – především formou licencí – se uplatnilo na zahraničních trzích. Zatím poslední originální látkou, která byla poskytnuta formou licence do zahraničí, je flobufen, který zavádí na trh francouzská firma Virbac jako antireumatikum pro veterinární účely.

Po celou dobu dosavadní existence byla ve VÚFB věnována rozsáhlá pozornost vývoji generik. Před rokem 1989 byl tento vývoj stimulován spíše politickými požadavky, které směřovaly k maximální, avšak nikdy nedosažené nezávislosti na západních trzích. Zvláště výrazně se tyto snahy projeví v 70. a 80. letech, kdy bylo vyvinuto celkem 108 lékových forem generik a vypracovány syntetické postupy pro 49 substancí. Výsledky vývoje generik za toto období podle hlavních terapeutických skupin jsou shrnuty v tabulce III. Relativně vysoký počet těchto projektů a především procenta jejich rea-

Tabulka I

Seznam originálních léčiv vyvinutých ve VÚFB v letech 1951–2001

Číslo	Aktivní látka	Obchodní název	Biologická účinnost	Výrobce ^a
1	Mephenhydramin	Alfadryl	antihistaminikum	
2	Mebrophenhydramin	Bromadryl	antihistaminikum	
3	Ethyl biskumactát	Pelentan	antikoagulans	Léčiva
4	Hexasonium jodid	Thiospasmin	spasmolytikum	
5	Trimekain.HCl	Mesokain	lokální anestetikum	Léčiva, Slovakofarma
6	Kebuzon	Ketazon	protizánětlivý	Léčiva
7	Benzododecinium bromid	Ajatin	desinficiens	Slovakofarma
8	Terlipressin	Remestyp	vasokonstrikt.	Ferring
9	Sulfamethoxydin	Sulfamethoxydin	antibakteriální	
10	Karbopendecinium bromid	Septonex	desinficiens	Slovakofarma, Léčiva
11	Tribuzon	Benetazon	protizánětlivý	
12	Medosulepin	Methiaden	antihistaminikum	Léčiva
13	Bisulepin	Dithiaden	antihistaminikum	Léčiva
14	Dosulepin	Prothiaden	antidepresivum	Boots, Léčiva
15	Lisurid	Lysenyl	inh.prolaktinu	Léčiva
16	Tergurid	Mysalfon	inh.prolaktinu	Léčiva
17	Metipranolol	Trimepranol	antiarytmikum	Slovakofarma
18	2-aminotridekan hydrogen adipát	Septisan	desinficiens	Slovakofarma
19	Oxyprothepin mesylát dekanoát	Meclopin tbl. Meclopin inj.	neuroleptikum neuroleptikum	Léčiva Spofa
20	Heparinoid S	Heparoid	venofarmakum	Léčiva
21	Aprotinin	Antilysin	antifibrinolytikum	Spofa
22	Clorothepin	Clothepin	neuroleptikum	
23	Tropesin	Repanidal	antireumatikum	
24	Jopargin	Jaritin	antifungální	
25	Pankensan	Altab-Test	diagnostikum	
26	2-aminotridekan undecylenát	Myco-decidin	antimykotikum	Galena
27	Isofloxythepin	Fluothepin	neuroleptikum	
28	Pipethiaden	Migrenal	antimigrenikum	
29	Lysin salicylát	Dolorosan	analgetikum	
30	Metipamid	Hypotylin	diuretikum	Léčiva
31	Metazosin	Kenosin	antihypertensivum	
32	Flobufen ^b		antireumatikum	Virbac
33	Alaptid ^c		hojení ran	Bioveta

^a Stav na trhu v r. 1998; ^b v r. 1998 úspěšně dokončeno klinické zkoušení v indikaci reumatoidní artritida, nyní jako veterinární přípravek francouzské firmy Virbac; ^c jako veterinární přípravek firmy Bioveta

lizace (téměř 77 % u lékových forem a více než 65 % u substancí) nelze považovat za zcela objektivní kritérium úrovně těchto generických obměn, neboť o realizaci často rozhodovalo pouze snížení tzv. devizové zátěže na nákup zahraničního léčiva. Nicméně řada z nich obstála i v konkurenčním prostředí tržní ekonomiky a nachází uplatnění i na současném tuzemském trhu léčiv. Mezi nejúspěšnější patří protizánětlivé léčivo a analgetikum Ibuprofen, jehož tržní potenciál se pohybuje nad 200 mil. Kč ročně a rovněž hepatoprotektivum Flavobion a vasodilatans Enelbin s ročními tržbami nad 100 mil. Kč. Zmíněné tři preparáty jsou v portfoliu a.s. Léčiva a dokumentují širokou a dlouholetou spolupráci Léčiv s VÚFB. Dokazuje to i skutečnost, že v současném portfoliu a.s. Léčiva je více než 40 lékových forem, které byly vyvinuty ve spolupráci s VÚFB. Mezi aktivními substancemi zpracovanými v těchto lékových formách je i 7 originálních látek VÚFB včetně již

Tabulka II

Originální léčiva vyvinutá ve VÚFB v období 1951–1998 dle terapeutických skupin

Terapeutická skupina	Registr.	%	Zahr. ^a
CNS	6	17,6	1
KVS a venofarm.	7	20,6	2
Antialergika	4	11,8	1
Protizánětlivé	5	16,2	2
Chemoterapeutika	6	17,6	–
Ostatní	5	16,2	–
<i>Celkem</i>	<i>33</i>	<i>100</i>	<i>6</i>

^a Preparáty uplatněné v zahraničí, obvykle formou licence

Tabulka III
Vývoj generik ve VÚFB v letech 1971–1991

Terapeutická skupina	Lékové formy		Substance	
	vývoj	realizace	vývoj	realizace
Protizánětlivé a analgetika	20	14	9	5
KVS	26	21	12	9
CNS	8	6	6	2
Chemoterapeutika	16	12	10	8
Antialergika	6	5	3	2
GIT	7	6	2	1
Cytostatika	3	1	2	0
Hormony	9	7	1	1
Ostatní	13	11	4	4
<i>Celkem</i>	<i>108</i>	<i>83^a</i>	<i>49</i>	<i>32^b</i>

^arealizováno celkem 76,9 %; ^brealizováno celkem 65,3 %

zmíněného dosulepinu. Kromě předchozích tří ještě další čtyři preparáty přesáhly ročním obratem 100 mil. Kč. Rovněž v portfoliu dalších českých a slovenských farmaceutických firem je dosud řada preparátů originálních i generických, které byly vyvinuty ve VÚFB. U originálních léčiv jsou současní výrobci uvedeni v tabulce I. Preparáty vyvinuté ve VÚFB tedy nemalou měrou přispívaly po celou dobu jeho dosavadní existence k celkovému obratu českého a slovenského farmaceutického průmyslu.

V neposlední řadě je třeba vyzdvihnout i významnou roli VÚFB ve výchově řady odborníků, kteří se uplatnili a uplatňují v různých oblastech farmacie v České republice. Od podzimu 2000 VÚFB otevřelo novou kapitolu své historie, neboť svoji činnost přeneslo do areálu a.s. Léčiva. Věříme, že VÚFB v nových podmínkách naváže na své předchozí úspěchy a výrazně přispěje k dalšímu rozvoji své mateřské firmy.

Další konsolidace farmaceutického průmyslu se nezastavuje ani v současné době. V létě roku 2003 došlo k integraci společností Léčiva a Slovakofarma, při níž vznikla nová skupina Zentiva. Její součástí je i VÚFB, před kterým jsou tak nové úkoly vzhledem k silnému postavení chemické výroby ve Slovakofarmě a důrazu kladenému na rozvoj výroby aktivních farmaceutických substancí ve skupině.

M. Kuchař and Z. Novotný (VÚFB a.s., Prague): Fifty years of the Research Institute for Pharmacy and Biochemistry

The Research Institute for Pharmacy and Biochemistry (VÚFB) officially started its activities in 1951 as the successor of the Spofa Research and Control Institute. In the fifties and sixties of the last century, the Institute acquired the profile of a prestigious and actually the only centre of research and development of human pharmaceuticals for the then Czechoslovak pharmaceutical industry. The research of the Institute was focused on substances acting on the central nervous system, blood circulation and coagulation, inflammatory processes, microbial infections and cancerostatics. The remarkable position of VÚFB in research and development of pharmaceuticals is evidenced by the fact that 31 original human drugs have been approved for commercialization. Seven of them enjoyed a good reputation on foreign markets and were licensed. The antidepressant dosulepin referred to as Prothiaden and cardiovascular substance metipranolol referred to as Torrat found general appreciation on the European market. Privatization of the Institute starting in 1993 was completed in 1998 by incorporating of the VÚFB into Léčiva Inc.

HLOUBKOVÉ PROFILY LABILNÍCH KOVOVÝCH SPECIES V SEDIMENTECH A JEJICH *IN SITU* MĚŘENÍ TECHNIKOU DIFUZNÍHO GRADIENTU V TENKÉM FILMU

PAVEL DIVIŠ*, HANA DOČEKALOVÁ,
VERONIKA SMETKOVÁ

Ústav chemie a technologie životního prostředí, Fakulta chemická, Vysoké učení technické v Brně, Purkyňova 118, 612 00 Brno
e-mail : divis@fch.vutbr.cz

Došlo 26.6.2003, přijato 13.10.2003.

Klíčová slova: sediment, labilní species, hloubkové profily, Fe, Mn, Cd, Pb, DGT, AAS

Obsah

1. Úvod
2. Teoretická část
3. Experimentální část
 - 3.1. Příprava gelů a sond pro DGT techniku
 - 3.2. Příprava sedimentu
 - 3.3. Aplikace vzorkovacích jednotek DGT
 - 3.4. Stanovení prvků v eluátech
4. Výsledky a diskuse
5. Závěr

1. Úvod

Stanovení chemických forem kovů (species) v přírodních vodách, sedimentech a půdách je stálou výzvou pro environmentální analytiku. Nejvýznamnější roli z toxikologického hlediska hrají labilní species, které jsou mobilní v životním prostředí, jsou přijímány organismy a přecházejí tak snadno do potravních řetězců.

Jedním z významných míst akumulace toxických látek produkovaných výrobou jsou říční a sladkovodní sedimenty. V poslední době je věnována velká pozornost měření koncentračních gradientů kovových species na fázovém rozhraní voda–sediment. Toto rozhraní je frekventovaným místem, kde se propojují geochemické cykly mnoha prvků a kde dochází k řadě chemických a biologických procesů¹. Kovové ionty mohou být během těchto procesů uvolňovány z oxidů, hydroxidů a solí, kde jsou vázány, nebo z rychle se oxidující organické hmoty sedimentu. Následný tok elektronů a úbytek organické složky v sedimentu mají za následek změnu koncentračních gradientů kovů v sedimentu, současně se změnou gradientu pH, oxidačně-redukčního potenciálu a dalších parametrů². Ke změnám forem kovů dochází ve velmi jemném hloubkovém rozpětí (1–2 mm) a změny gradientů jsou velmi ostré^{3,4}.

Pro výpočet uvolňování kovů ze sedimentu a jejich toku do okolní vodné fáze je proto nutné změřit hloubkové profily

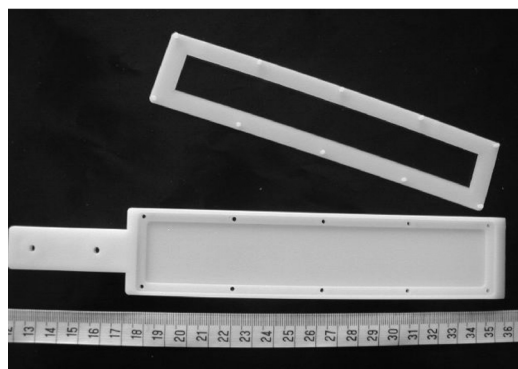
kovů s dostatečně vysokým rozlišením. Znalost těchto toků je důležitá pro studium koloběhu prvků v životním prostředí a k odhadu možné kontaminace vod starými zátěžemi uloženými v sedimentech v případě změn podmínek, ke kterým dochází během střídání ročních období nebo během nenadálých událostí, jako jsou povodně.

V průběhu odběru vzorku sedimentu⁵ a jeho zpracování centrifugací⁶ nebo lisováním^{7,8} před vlastním analytickým stanovením dochází k chemickým změnám vedoucím k chybným závěrům při interpretaci naměřených výsledků^{9,10}. Tento závažný problém lze obejít tzv. měřením *in situ*¹¹. K měření labilních species *in situ* v sedimentech byly použity iontové selektivní elektrody a různé typy mikroelektrod^{12,13}. Mikroelektrody jsou však velmi subtilní, práce s nimi je obtížná a i u komerčně dodávaných elektrod není jednoznačný návod k jejich použití. Kromě toho nejsou dostatečně citlivé a jsou rovněž omezeny počtem stanovitelných prvků. Dialýza, běžně používaná metoda k měření koncentrací kovů *in situ* v pórové vodě sedimentů^{14,15}, vyžaduje dlouhý čas k ustavení koncentrační rovnováhy a nedosahuje požadovaného rozlišení a citlivosti.

Tato práce představuje novou techniku *in situ*, známou pod zkratkou DGT (diffusive gradients in thin films)¹⁶, která je schopna měřit přímo koncentrace labilních forem kovů ve vodách^{17–19}, hmotnostní toky iontů kovů v pórových vodách sedimentů²⁰ a půd^{21,22}, a její použití při měření hloubkových profilů a toků vybraných kovů v rybníčním sedimentu.

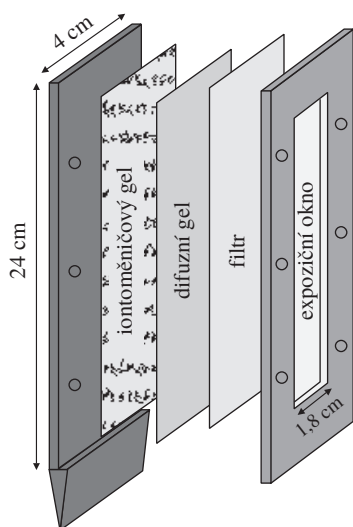
2. Teoretická část

Technika DGT využívá dvou vrstev hydrogelu. První vrstva gelu obsahuje specifický iontoměnič (Chelex-100) s vázanými funkčními skupinami kyseliny iminodioxotové²³, druhá vrstva iontové permeabilního hydrogelu s přesně definovanou tloušťkou překrývá první vrstvu. Oba gely jsou společně seřveny ve vzorkovací jednotce (obr. 1) tak, že jen iontové



Obr.1. Vzorkovací jednotka DGT

* Pavel Diviš získal 2. místo v soutěži o nejlepší studentskou vědeckou práci v oboru analytické chemie O cenu firmy Merck 28.1.2003 v Pardubicích.



Obr.2. Schéma uložení gelů ve vzorkovací jednotce DGT (cit. 37)

permeabilní gel přichází do styku s vnějším roztokem. Toto experimentální uspořádání je ukázáno na obr. 2. Ionty z roztoku difundují přes svrchní gel k iontoměničící zachyceném ve spodní vrstvě, kde jsou imobilizovány sorpcí na funkčních skupinách tak dlouho, dokud není kapacita iontoměniče nasycena. Transport iontů je řízen koncentračním gradientem vzniklým na iontové permeabilním, difúzním gelu tloušťky Δg . Aby se zabránilo případnému mechanickému poškození gelu, je gel chráněn z vnější strany vhodným membránovým filtrem, který klade stejný odpor difuzi iontů kovu jako difúzní gel.

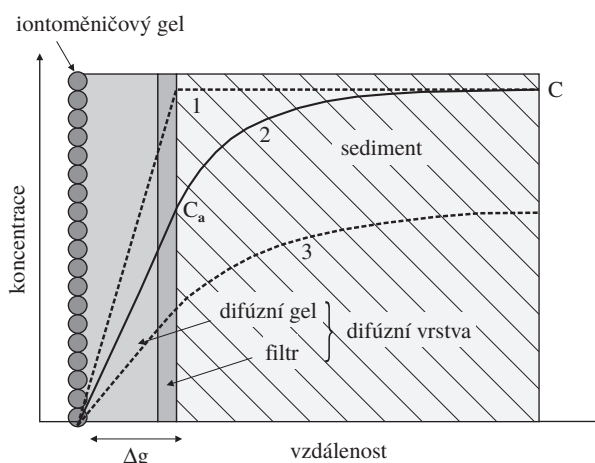
Je-li koncentrace kovu v roztoku konstantní, pak též koncentrační gradient zůstává konstantní. V gelu tloušťky cca 1 mm se tak ve velmi krátké době několika minut ustaví lineární koncentrační gradient. Tok iontů F se pak řídí I. Fickovým zákonem difuze:

$$F = \frac{D \cdot c}{\Delta g} \quad (1)$$

kde c je koncentrace iontu v roztoku, D je difúzní koeficient iontu v difúzním gelu, který má prakticky stejnou hodnotu jako v čisté vodě²⁴ (pro běžné ionty přechodných prvků cca $(5-8) \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$). Tok je též definován jako množství sorbovaného iontu M , prošlé difúzní plochou A po dobu expozice t :

$$F = \frac{M}{A \cdot t} \quad (2)$$

Tok iontů kovu a následně i koncentrace iontů c v roztoku *in situ* může být vypočtena z nasorbovaného množství kovu M , stanoveného po eluci iontoměničivého gelu vhodnou analytickou metodou, např. atomovou absorpční spektrometrií s elektrotermickou atomizací (ET AAS), atomovou emisní spektrometrií s indukčně vázaným plazmatem (ICP AES), případně metodou hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP MS). Technika DGT tak mů-

Obr.3. Schématické znázornění koncentračního gradientu kovů v difúzním gelu a v pórové vodě sedimentu³⁷

že být použita k monitorování koncentrací labilních forem kovů *in situ* v řekách, jezerech, oceánech, zdrojích pitných vod, průmyslových odpadních vodách a jiných kontaminovaných tocích, kde je zajištěno dostatečné konvektivní promíchávání.

Sonda DGT automaticky hromadí ty kovové species, které se difúzí přes vrstvu difúzního gelu dostanou z měřeného roztoku k iontoměničící tak dlouho, dokud nedojde k vyčerpání kapacity iontoměniče, což je pro uvedené uspořádání a aplikaci sondy v čistých přírodních vodách až po dobu několika měsíců¹⁷. Tak je možno pohodlně určovat koncentrace celé řady kovů řádově v jednotkách $10^{-12} \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ s přesností jednotek procent za současné kontroly toku iontů a nezávislosti vzorkování na hydrodynamice vzorkovaného systému. Získané koncentrace jsou koncentrace průměrné za daný čas expozice a lépe vypovídají o stavu sledovaného systému než koncentrace zjištěné po jednorázovém odběru. Výběr použitého iontoměniče a kvality a tloušťky difúzního gelu určuje, které species budou po aplikaci sondy zachyceny a změřeny²⁵. Velikost pórů difúzního gelu určuje omezení velikosti species. Použitím DGT sond s různou velikostí pórů v difúzním gelu je tedy možno odlišit od sebe velké a malé komplexy²⁵. Na funkční skupiny iontoměniče se vážou volné kovové ionty a frakce kovů, které jsou vázány v tzv. labilních komplexech, tj. komplexech schopných disociace. Labilitu kovových komplexů, které obsahují jako ligandy převážně fulvenové kyseliny a huminové kyseliny, je možno zvýšit výběrem iontoměniče s větší sorpční schopností. Používaný iontoměnič Chelex-100 s funkčními skupinami kyseliny iminodioctové je přírodním ligandům dostatečně silným konkurentem. Labilita komplexů je určena i kineticky. DGT sonda zachytí ty species, které v průběhu difuze gelem stačí disociovat. Čas t potřebný pro difuzi je dán rovnicí (3) (cit. 17):

$$t = \frac{\Delta g^2}{\pi \cdot D} \quad (3)$$

Pro tloušťku gelu 0,5 mm a $D = 7 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ je $t = 2 \text{ min}$.

Species, které jsou sondou DGT zachyceny, jsou tedy dány tloušťkou difuzního gelu a rychlostí difuze. Těchto faktů lze použít pro určování jednotlivých forem kovů (species) ve vodných systémech²⁶.

V nepromíchávaných systémech, kde transport iontů probíhá pouze difuzí, např. v pórových vodách sedimentů a půd, se koncentrace v blízkosti difuzního gelu snižuje s rostoucí dobou expozice (viz křivka 2 na obr. 3), pokud nejsou ionty současně doplňovány do roztoku z tuhé fáze²⁷. Proces difuze může být komplikován složitou strukturou tuhé fáze. Koncentrační profily, a tedy aktuální koncentrace iontů u povrchu gelu v daném časovém okamžiku, jsou definovány II. Fickovým zákonem difuze ve tvaru:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \cdot \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} \quad (4)$$

a to za předpokladu platnosti lineární difuze. Pro zvolené okrajové podmínky je možné numericky řešit uvedený vztah. V každém časovém okamžiku může být vypočítán odpovídající tok iontů kovu z aktuálního gradientu u povrchu gelu ($x = 0$) (cit.²⁸)

$$F_{(t,x)} = D \cdot \frac{\partial c_{(t,x)}}{\partial x} \quad (5)$$

Sonda DGT pak měří střední hodnotu toku, která může být vypočtena integrací rovnice (4) pro dobu expozice (0, t) (cit.²⁸). Množství iontů, které dosáhnou iontoměnič v případě procesu řízeného jen difuzí, je mnohem menší než v případě s dokonalým mícháním (křivka 3, obr.3).

Míru doplňování iontů z tuhé fáze sedimentu do pórové vody lze zjistit současnou aplikací dvou jednotek DGT s rozdílnou tloušťkou difuzní vrstvy Δg_1 a Δg_2 (kde $\Delta g_1 > \Delta g_2$). Z rovnice (1) a (2) lze výpočtem získat dvě koncentrace c_{a1} a c_{a2} . Stav, kdy $c_{a1} / c_{a2} \cong 1$, pak může být označen jako případ 1 (obr. 3) (cit.²⁹). Zde dochází k plynulému doplňování iontů z tuhé fáze sedimentu do pórové vody a koncentrace iontů v pórové vodě sedimentu přilehlé k jednotce DGT se tedy během doby expozice jednotky DGT nesnižuje. Případ 2 (obr.3), kdy je proces výměny iontů mezi tuhou fází a pórovou vodou pomalý a nezabrání snižování koncentrace iontů v pórové vodě v blízkosti jednotky DGT, můžeme identifikovat, jestliže $c_{a1} \neq c_{a2}$, avšak podíl těchto koncentrací je menší než podíl tlouštěk difuzních vrstev Δg_1 a Δg_2 ($c_{a1} / c_{a2} < \Delta g_1 / \Delta g_2$)²⁹. V případě 3 (obr.3), kdy v tuhé fázi nejsou přítomny žádné výměny schopné kovy, lze předpokládat, že $F_1 = F_2$, neboť ionty budou k jednotce DGT difundovat celou šířkou sedimentu a efekt difuzní vrstvy tak bude zanedbatelný. Za těchto podmínek je tedy podíl koncentrací c_{a1} a c_{a2} roven podílu tlouštěk difuzních vrstev Δg_1 a Δg_2 ($c_{a1} / c_{a2} = \Delta g_1 / \Delta g_2$), jak vyplývá ze vztahu (1) (cit.²⁹).

Měření technikou DGT odráží koncentraci labilních forem kovů v pórové vodě sedimentu, rychlost jejich doplňování do pórové vody z tuhé fáze sedimentu a též rychlost jejich transportu v sedimentu. Tyto faktory mohou značně ovlivňovat uvolňování toxických kovů vázaných v sedimentu do okolní vodné fáze.

3. Experimentální část

3.1. Příprava gelů a sond pro DGT techniku

Difuzní gel i gel obsahující specifický iontoměnič byly připraveny na bázi polyakrylamidového hydrogelu za použití 15 obj.% akrylamidu (Boehringer) a 0,3 obj.% agarosového síťovadla (DGT Research Ltd., UK). Do 10 ml roztoku pro přípravu gelu bylo přidáno 70 μ l 10% iniciačního roztoku peroxosíranu amonného (Sigma-Aldrich) a 20 μ l katalyzátoru TEMED (*N,N,N',N'*-tetramethylethyldiamin) (Sigma-Aldrich). Do roztoku pro přípravu iontoměničového gelu byly ještě přidány 2 g Chelexu-100 (Na-forma, zrnění 200–400 mesh, Bio-Rad). Po dokonalém promísání na třepačce byla směs nalita (pipetována) mezi dvě skla oddělená teflonovou fólií o definované tloušťce a ponechána v sušárně po dobu 45 min, kde při teplotě 42 ± 2 °C došlo k polymeraci. Polymerace iontoměničového gelu probíhala pomaleji s menším množstvím iniciátoru a katalyzátoru ve vodorovné poloze, aby se částičky iontoměniče mohly usadit na jedné straně tenké vrstvy. Vzniklé gely byly hydratovány v ultra čisté vodě 24 hodin, než nabobtnaly do stabilní tloušťky. Byly vyrobeny difuzní gely o tloušťce 0,4 a 1,2 mm a iontoměničový gel o tloušťce 0,4 mm. Plastovým nožem byly z hydratovaných gelů vyříznuty pruhy o velikosti $16 \times 2,7$ cm, které byly vloženy do vzorkovacích jednotek DGT (DGT Research Ltd., UK) a přikryty membránovým filtrem (Pall Corp., USA) (obr.2). Připravené vzorkovací jednotky byly před vlastní aplikací do sedimentu umístěny do uzavřené zásobní nádoby s ultračistou vodou upravenou systémem Ultraclear (SC Barsbell, SRN), která byla probublávána dusíkem (Linde, ČR). V této nádobě byly ponechány celkem 24 hodin, aby se z gelu odstranil veškerý kyslík, který by mohl způsobovat oxidaci kovových iontů Fe^{2+} a Mn^{2+} v gelu a zvyšovat tak měřené výsledky.

3.2. Příprava sedimentu

Vzorek rybničního sedimentu byl v objemu 10 litrů odebrán 15.8.2002 ze dna rybníka Ochoz v katastru obce Netín, okres Žďár nad Sázavou po vypuštění rybníka. Odběr byl proveden do hloubky 10–15 cm, sediment byl uložen do plastových vzorkovnic a přenesen do laboratoře, kde byl zpracován. Ze sedimentu byly pomocí síta o velikosti ok 2 mm odděleny větší části (zbytky rostlin, stébla, kořínky) a upravený vzorek sedimentu byl uložen do skleněné láhve. Nad sedimentem byla ponechána asi 3 cm vrstva rybniční vody. Láhev se sedimentem byla uložena do tmy a ponechána v klidu po dobu 10 týdnů, aby v sedimentu mohly proběhnout příslušné reakce.

3.3. Aplikace vzorkovacích jednotek DGT

Připravené vzorkovací jednotky byly vyňaty ze zásobní nádoby okamžitě během několika sekund kolmo zanořeny do připraveného sedimentu, kde byly ponechány po dobu 48 hodin. Po vyjmutí byly jednotky DGT opláchnuty destilovanou vodou a rozebrány. Gel s iontoměničem byl nakrájen plastovým nožem na plátky o šířce 0,5 cm. Jednotlivé plátky byly přeneseny do polyethylenových vialek (Brand, SRN),

přelity 1 ml zředěné kyseliny dusičné (ML Chemica, ČR) a byly louženy po dobu 24 hodin.

3.4. Stanovení prvků v eluátech

V eluátech byl stanoven obsah majoritních prvků (Fe a Mn) po předchozím zředění roztoků atomovou absorpční spektrometrií plamenovou technikou na přístroji Varian SpectraAA 30 a obsah stopových prvků (Cd a Pb) technikou elektrotermické atomizace na přístroji Perkin-Elmer 4110 ZL za použití výbojek s dutou katodou nebo bezelektrodových výbojek a za běžně doporučených podmínek. Kalibrováno bylo metodou přídávků s použitím certifikovaných standardních roztoků ASTASOL (Analytika Praha).

4. Výsledky a diskuse

Do připraveného rybníčního sedimentu byly vloženy měřicí jednotky DGT s různými tloušťkami difúzní vrstvy ($\Delta g_1 = 1,2$ mm, $\Delta g_2 = 0,4$ mm). Sledovány byly prvky mangan a železo, neboť oxidy a sulfidy těchto kovů hrají důležitou roli v geochemickém cyklu řady prvků, a olovo s kadmíem jako zástupci toxických kovů. Hloubkové profily jednotlivých kovů byly získány vynesáním vypočítaných zdánlivých koncentrací c_{a1} a c_{a2} proti hloubce sedimentu. Nulová hloubka byla určena polohou fázového rozhraní voda–sediment.

Těsně pod fázovým rozhraním voda–sediment bylo nalezeno maximum koncentrace manganu $0,39$ mg.l^{-1} ($\Delta g = 1,2$ mm) a $0,18$ mg.l^{-1} ($\Delta g = 0,4$ mm) (obr.4). V této hloubce zřejmě dochází k redukci MnO_2 na Mn^{2+} amonnými ionty³⁰, které mohou vznikat při oxidaci organické hmoty spojené s redukcí síranů³¹. Koncentrace manganu s hloubkou dále klesá, což je pravděpodobně způsobeno oxidací Mn^{2+} a zpětnou tvorbou málo rozpustného MnO_2 .

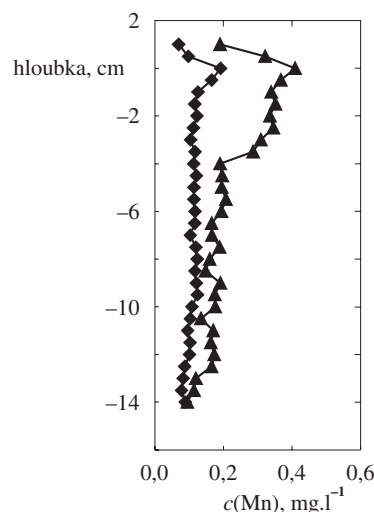
Od hloubky 4 cm se již koncentrace Mn^{2+} výrazně nemění a pohybuje se kolem $0,20$ mg.l^{-1} ($\Delta g = 1,2$ mm) a $0,10$ mg.l^{-1} ($\Delta g = 0,4$ mm). Ionty Mn^{2+} jsou v této hloubce patrně vázány sulfidy v nerozpustném MnS . Z podílu zdánlivých průměrných koncentrací Mn^{2+} $c_{a(1,2)}/c_{a(0,4)} = 2,3$ je patrné, že kinetika procesu uvolňování iontů Mn^{2+} z tuhé fáze sedimentu do pórové vody je v hloubce 0–5 cm pomalá, zatím co v hloubce 5–14 cm jsou ionty Mn^{2+} do pórové vody sedimentu doplňovány poměrně rychle ($c_{a(1,2)}/c_{a(0,4)} = 1,44$). Naměřené koncentrace Mn^{2+} lze v tomto případě interpretovat jako průměrné koncentrace iontů Mn^{2+} na povrchu vzorkovací jednotky DGT během doby expozice, nebo jako integrované hodnoty toku iontů Mn^{2+} ze sedimentu do DGT jednotky.

Koncentrace železa od fázového rozhraní voda–sediment narůstá až do hloubky 1,5 cm, kde bylo naměřeno maximum koncentrace železa 3 mg.l^{-1} ($\Delta g = 1,2$ mm) a $1,8$ mg.l^{-1} ($\Delta g = 0,4$ mm) (obr. 5). Toto maximum určuje hranici tzv. Fe-R zóny³², zóny redukce železa, kde jsou oxidy (oxid-hydroxidy) využívány jako substrát pro oxidaci organické hmoty bakteriemi³³. S přibývajícím hloubkou klesá koncentrace železa až na hodnoty $0,9$ mg.l^{-1} ($\Delta g = 1,2$ mm) a $0,7$ mg.l^{-1} ($\Delta g = 0,4$ mm). Pokles koncentrace železa je způsoben redukcí přítomných síranů na sirovodík³⁴, který váže železo v nerozpustném FeS .

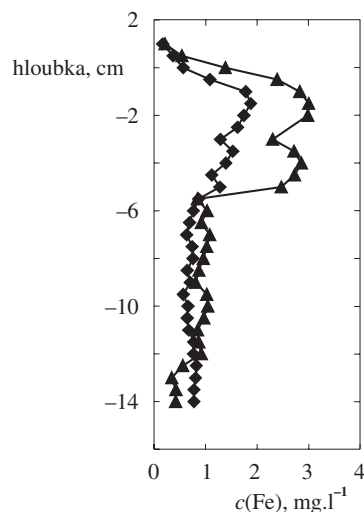
Podíl zdánlivých průměrných koncentrací Fe^{2+} $c_{a(1,2)}/c_{a(0,4)} = 1,9$ naznačuje, že kinetika uvolňování iontů železa ze sedimentu a jejich doplňování do kapalně fáze je v hloubce 0–5 cm

pomalá. Naproti tomu v hloubce 6–14 cm je patrné, že zde dochází k dostatečně rychlému doplňování iontů Fe^{2+} z pevné do kapalně fáze sedimentu (podíl koncentrací Fe^{2+} $c_{a(1,2)}/c_{a(0,4)}$ je v rozmezí této hloubky roven hodnotě 1,16) a naměřené koncentrace Fe^{2+} mohou být interpretovány jako koncentrace iontů Fe^{2+} v pórové vodě sedimentu.

Obsah olova v pórové vodě studovaného sedimentu byl nízký. Vyšší koncentrace olova byly naměřeny v hloubce 0–5 cm (obr.6), v průměru $0,5$ $\mu\text{g.l}^{-1}$ ($\Delta g = 1,2$ mm) a $0,2$ $\mu\text{g.l}^{-1}$ ($\Delta g = 0,4$ mm). V hloubce 6–14 cm se koncentrace olova pohybovaly kolem $0,05$ $\mu\text{g.l}^{-1}$ pro obě tloušťky difúzního gelu. Vyšší koncentrace olova v hloubce 0–5 cm je patrně způsobeno



Obr.4. Hloubkový profil manganu; ◆ tloušťka difúzní vrstvy 0,4 mm, ▲ tloušťka difúzní vrstvy 1,2 mm, teplota vody 21,3 °C, pH 6,7



Obr.5. Hloubkový profil železa; ◆ tloušťka difúzní vrstvy 0,4 mm, ▲ tloušťka difúzní vrstvy 1,2 mm, teplota vody 21,3 °C, pH 6,7

na oxidaci sulfidického materiálu v těchto hloubkách, což vede k poklesu hodnot pH v sedimentu³⁵. Jednoduchý ion Pb^{2+} je v oblastech s nižším pH stabilní³⁶ a může se tak vyskytovat volně v pórové vodě sedimentu. Naproti tomu v hloubce 6–14 cm může docházet k přeměně přítomných sulfidů na hydrogensulfidy, což má za následek zvyšování hodnot pH (cit.³⁵). Iony Pb^{2+} se v tomto případě nenacházejí volně v pórové vodě sedimentu, ale jsou vázány v nerozpustný PbS .

Podíl zdánlivých průměrných koncentrací Pb^{2+} $c_{a(1,2)}/c_{a(0,4)} = 2,5$ v hloubce 0–6 cm naznačuje, že v sedimentu dochází stejně jako u železa pouze k částečnému doplňování iontů olova z tuhé do kapalné fáze sedimentu. Naproti tomu v hloubce

7–14 cm je patrné, že zde dochází k dostatečnému doplňování iontů Pb^{2+} z tuhé do kapalné fáze sedimentu (podíl vypočítaných koncentrací Pb^{2+} $c_{a(1,2)}/c_{a(0,4)}$ je v rozmezí této hloubky roven hodnotě 1,17) a naměřené koncentrace Pb^{2+} mohou být v těchto hladinách interpretovány jako koncentrace iontů Pb^{2+} v pórové vodě sedimentu.

Koncentrace kadmia od fázového rozhraní voda–sediment pozvolna téměř lineárně klesá s přibývajícím hloubkou z 21 na $10 \mu\text{g.l}^{-1}$ ($\Delta g = 1,2 \text{ mm}$) a z 10 na $2 \mu\text{g.l}^{-1}$ ($\Delta g = 0,4 \text{ mm}$) (obr. 7). Podíl zdánlivých průměrných koncentrací $c_{a(1,2)}/c_{a(0,4)} = 2,7$ ukazuje, že v pevné fázi sedimentu nejsou vázány žádné výměny schopné ionty kadmia a k doplňování iontů kadmia do pórové vody přilehlé k jednotce DGT dochází pouze difuzí z pórové vody ve vzdálenějších vrstvách sedimentu.

5. Závěr

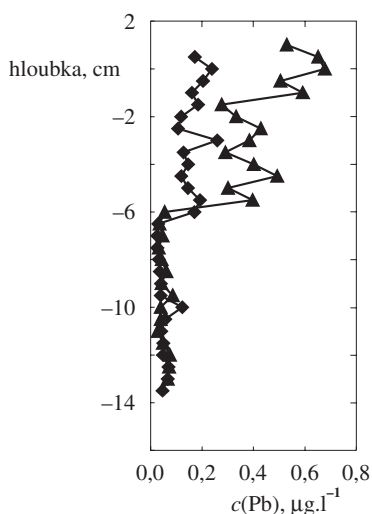
DGT technika představuje nově a dynamicky se rozvíjející trend pro přímé měření koncentrací labilních forem kovů při kontrole životního prostředí. V předložené práci byla použita na změření hloubkových profilů majoritních kovů (Fe a Mn) a stopových toxických prvků (Cd a Pb) v rybničním sedimentu s rozlišením 0,5 cm. Paralelním použitím dvou vzorkovacích DGT jednotek s různou tloušťkou difuzního gelu (0,4 a 1,2 mm) byly určeny hloubkové vrstvy sedimentu, kde dochází k rychlému uvolňování studovaných kovů z tuhé fáze sedimentu do pórové vody a vrstvy, v nichž jsou kovy pevně vázány. Výsledky spolu se znalostmi dalších parametrů, jako je pH, oxidačně-redukční potenciál, obsah aniontů (sírany, dusičnany, sulfidy) umožní odhadovat procesy probíhající v sedimentu.

Oproti většině používaných metod pro měření hloubkových profilů kovů v sedimentech má technika DGT řadu výhod. Měřicí jednotka DGT je velmi jednoduché zařízení, které pracuje *in situ*, prekoncentruje analyty, je současně multielementární (tj. umožňuje stanovení více prvků vedle sebe) a poskytuje dostatečné rozlišení. Jde tedy o velmi nadějnou techniku pro studium koloběhu prvků ve vodních systémech. Nové možnosti pro studium dalších analytů a jejich specíes otevírá výběr sorpčních médií a modifikace difuzního gelu.

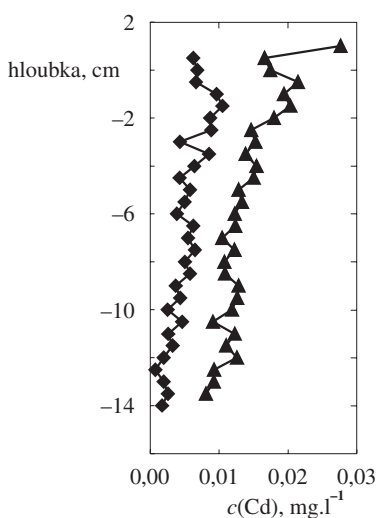
Tato práce vznikla za finanční podpory MŠMT – projekt G4/912/2003 FRVŠ.

Seznam symbolů

A	expoziční plocha, cm^2
c_a	koncentrace iontů na povrchu jednotky DGT, $\mu\text{g.l}^{-1}$
c_{a1}, c_{a2}	zdánlivé průměrné koncentrace iontů na povrchu jednotky DGT, $\mu\text{g.l}^{-1}$
c	koncentrace iontů v pórové vodě, $\mu\text{g.l}^{-1}$
D	difuzní koeficient iontů v gelu, $\text{cm}^2.\text{s}^{-1}$
DGT	difuzní gradient v tenkém filmu
F	tok iontů (flux) do jednotky DGT, $\mu\text{g.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$
M	množství (hmotnost) sorbovaných iontů, μg
t	doba expozice, s
Δg	tloušťka difuzní vrstvy, cm



Obr. 6. Hloubkový profil olova; ◆ tloušťka difuzní vrstvy 0,4 mm, ▲ tloušťka difuzní vrstvy 1,2 mm, teplota vody 21,3 °C, pH 6,7



Obr. 7. Hloubkový profil kadmia; ◆ tloušťka difuzní vrstvy 0,4 mm, ▲ tloušťka difuzní vrstvy 1,2 mm, teplota vody 21,3 °C, pH 6,7

LITERATURA

1. Santschi P., Hohener P., Benoit G., Buchholtz-ten-Brink M.: *Mar. Chem.* 30, 269 (1990).
2. Hong J., Calmano W., Forstner U., v knize: *Trace Elements in Natural Waters* (Salbu B., Steinnes E., ed.), kap. 6. CRC Press, Boca Raton 1995.
3. de Beer D., van den Henvel J. C.: *Talanta* 35, 728 (1988).
4. Sweerts J. R. A., de Beer D.: *Appl. Environ. Microbiol.* 55, 754 (1989).
5. Beck J. N., Sneddon J.: *Microchem. J.* 66, 73 (2000).
6. Edmunds W. M., Bath A. H.: *Environ. Sci. Technol.* 10, 467 (1976).
7. Seaseville D. R., Takacs A. P., Norton S. A.: *Limnol. Oceanogr.* 19, 1001 (1974).
8. Reeburgh W. S.: *Limnol. Oceanogr.* 12, 163 (1967).
9. Benjamin M. M.: *Environ. Sci. Technol.* 17, 686 (1983).
10. Mangelsdorf P. C., Wilson T. R. S., Daniell E.: *Science* 163, 171 (1969).
11. Buffle J., Tercier M. L., Parthasarathy N., Wilkinson K. J.: *Chimia* 51, 690 (1995).
12. Caringan R., Rapin F., Tessier A.: *Geochim. Cosmochim. Acta* 49, 2493 (1985).
13. Revsbech N. P., Jorgensen B. B., Blackburn T. H.: *Science* 207, 1355 (1980).
14. Heslein R. H.: *Limnol. Oceanogr.* 21, 912 (1976).
15. Brandl H., Hanselman K. W.: *Aquat. Sci.* 53, 55 (1991).
16. Davison W., Zhang H.: *Nature* 367, 546 (1994).
17. Zhang H., Davison W.: *Anal. Chem.* 67, 3391, (1995).
18. Denney S., Sherwood J., Leyden J.: *Sci. Total Environ.* 239, 71 (1999).
19. De la Torre M. C. A., Beaulieu P. Y., Tessier A.: *Anal. Chim. Acta* 418, 53 (2000).
20. Zhang H., Davison W., Miller S., Tych W.: *Geochim. Cosmochim. Acta* 59, 4181 (1995).
21. Zhang H., Davison W., Knight B., McGrath S.: *Environ. Sci. Technol.* 32, 704 (1998).
22. Dočekal B., Smetková V., Dočekalová H.: *Chem. Pap.* 57, 161 (2003).
23. Pasavento H., Biesuz R., Galorini M., Profumo A.: *Anal. Chem.* 65, 2522 (1993).
24. Davison W., Zhang H., Grime G. W.: *Environ. Sci. Technol.* 28, 1623 (1994).
25. Zhang H., Davison W.: *Anal. Chim. Acta* 398, 329 (1999).
26. Zhang H., Davison W.: *Anal. Chem.* 72, 4447 (2000).
27. Harper M. P., Davison W., Tych W.: *Aquat. Geochem.* 5, 337 (1999).
28. Harper M. P., Davison W., Zhang H., Tych W.: *Geochim. Cosmochim. Acta* 62, 2757 (1998).
29. Zhang H., Davison W., Mortimer R. J. G., Krom M. D., Hayes P. J., Davies I. M.: *Sci. Total Environ.* 296, 175 (2002).
30. Mortimer R. J. G., Krom M. D., Harris S. J., Hayes P. J., Davies I. M., Davison W., Zhang H.: *Mar. Ecol.: Prog. Ser.* 236, 31 (2002).
31. Casey W. H., Lasaga A. C.: *Geochim. Cosmochim. Acta* 51, 1109 (1987).
32. Canfield D. E., Thamdrup B., Hansen J. W.: *Geochim. Cosmochim. Acta* 57, 3867 (1993).
33. Hyacinthe C., Anschultz P., Carbonel P., Jouanneau J. M., Jorissen F. J.: *Mar. Geol.* 177, 111 (2001).
34. Diviš P.: *Diplomová práce*. VUT, Brno 2003.
35. Fajtl J., Tichý R., Ledvina R.: *Chem. Listy* 95, 621 (2001).
36. Pitter P.: *Hydrochemie*. VŠCHT, Praha 1999.
37. <http://www.dgtresearch.com>, staženo 16.9.2003.

P. Diviš, H. Dočekalová, and V. Smetková (*Department of Environmental Chemistry and Technology, Faculty of Chemistry, University of Technology, Brno*): ***In situ* Measurement of Depth Profiles of Labile Metal Species in Sediments by Technique of Diffusive Gradients in Thin Films**

The technique of diffusive gradients in thin films (DGT) presents a new approach in *in-situ* measurement of trace metal species in environmental systems. Using the DGT technique, trace metals are measured by their accumulation on a selective chelating resin after passage through a well-defined diffusive gel layer. The layer used in this work has an open structure that allows free diffusion of inorganic labile species and some organic metal complexes. Accumulated metals are subsequently analyzed after elution the resin layer with a known volume of acid solution by F AAS for major metals (Fe, Mn) and electrothermal AAS for trace metals (Cd, Pb). The depth profiles in an artificial lake sediment with 0.5 cm resolution for major and trace metals, obtained using two DGT units with different thickness of diffusive gel layer (0.4 and 1.2 mm) are discussed. Reliable depth profiles of trace metals in sediments are essential for studies of pollution, trace metal cycling and processes occurring in sediments.

LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

STANOVENÍ HLADINY ACETYLCHOLINU A CHOLINU V HIPPOKAMPU POTKANA KAPALINOVOU CHROMATOGRafiÍ S ELEKTROCHEMICKOU DETEKcí

MARCELA BIELAVSKÁ a JIŘÍ KASSA*

*Katedra toxikologie, Vojenská lékařská akademie J. E. Purkyně, Třebešská 1575, 500 01 Hradec Králové
e-mail: kassa@pmfhk.cz, bielavska@pmfhk.cz*

Došlo 29.3.02, přepracováno 1.3.03, přijato 11.5.03.

Klíčová slova: kapalinová chromatografie, elektrochemická detekce, acetylcholin, cholin, soman, hippokampus, atropin, obidoxim, HI-6

Úvod

Kapalinová chromatografie s elektrochemickou detekcí je rychlou, selektivní a citlivou metodou pro stanovení hladin acetylcholinu (ACh) a cholinu (Ch) v tkáních a mikrodialyzátech¹⁻⁶. Detekci ACh a Ch umožňuje použití postkolonového reaktoru, který obsahuje imobilizované enzymy cholinoxidasy a acetylcholinesterasy (AChE) (cit.⁶). Maximální účinnosti daných enzymů je dosaženo při teplotách v rozmezí 35 °C až 37 °C a pH v rozmezí 8,0 až 8,5.

V předložené práci byly cholin a acetylcholin nejprve rozděleny na analytické kolony s reverzní fází. Poté byl acetylcholin hydrolyzován imobilizovanou AChE na cholin a octovou kyselinu a cholin enzymaticky oxidován imobilizovanou cholinoxidasou na betain a peroxid vodíku (obr. 1) ve výše uvedeném reaktoru. Peroxid vodíku byl detegován amperometricky.

Tato metoda byla využita ke srovnání účinku dvou reaktivátorů AChE, obidoximu a oximu HI-6, v kombinaci s atropinem, vůči vysoce toxickému organofosfátu (OF) somanu (3,3-(dimethylbuten-2-yl)-methylfosfonofluoridát), jenž představuje největší nebezpečí pro člověka v případě použití chemických zbraní za válečné situace nebo při teroristických akcích. Ireverzibilní inhibice AChE s následnou akumulací

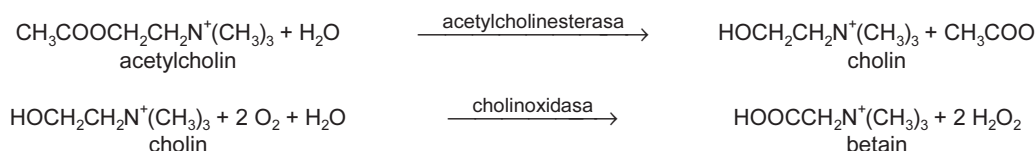
ACh na periferních i centrálních cholinergních synapsích vede k nadměrné stimulaci cholinergního nervového systému, jež je pokládána za hlavní mechanismus toxického účinku těchto nox⁷⁻⁸. Současná antidotní terapie otrav OF sloučeninami obvykle spočívá v kombinovaném podání anticholinergní látky (nejčastěji atropin) a oximu (obvykle pralidoxim, obidoxim nebo oxim HI-6). Anticholinergní látky blokují účinky nahromaděného ACh na muskarinových cholinergních receptorech, zatímco oximy, látky s nukleofilními vlastnostmi, obnovují aktivitu inhibované AChE defosforylací enzymu^{7,9}. Reaktivní účinnost oximů je obvykle hodnocena měřením aktivity AChE po intoxikaci OF sloučeninou a následné antidotní terapii⁹. Nicméně stanovení hladiny ACh se ukazuje jako přesnější metoda vyhodnocení terapeutické účinnosti oximu, protože právě akumulace ACh na cholinergních synapsích způsobuje nadměrnou stimulaci cholinergního nervového systému, jež je odpovědná za akutní toxické účinky OF sloučenin. Proto je tato fáze otravy též nazývána „akutní cholinergní krize“.

Jedno z nejvýznamnějších poškození způsobené otravou somanem je degenerace mozkové tkáně v oblasti hippokampu, jenž tvoří morfologický substrát pro kognitivní funkce. Proto také narušení kognitivních funkcí jako je pozornost, učení a paměť patří mezi nejčastější centrální příznaky akutní otravy OF sloučeninami⁷. Metoda HPLC spojená s elektrochemickou detekcí byla proto využita ke stanovení hladin ACh v hippokampu somanem otrávených potkanů za účelem vyhodnocení terapeutické účinnosti vybraných oximů (obidoxim, oxim HI-6).

Experimentální část

Přístroje a zařízení

Chromatografický systém byl sestaven z gradientového čerpadla SpectraSERIES model P200 (Spectra-Physics, Fremont, USA), vysokotlakého dávkovače s 10 µl smyčkou model 7125 (Rheodyne, Cotati, USA), analytické kolony ACH-3(RP-POLY/C18; 5 µm), 150 mm × 3 mm i.d. (ESA, Bedford, USA), za ní umístěného reaktoru se zakotvenou tuhou fází, naplněného imobilizovanými enzymy cholinoxidasou a acetylcholinesterasou (ESA, Bedford, USA) a multielektrodového detektoru s analytickou celou a platinovou pomocnou elektrodou Coulochem II, model 5040 (ESA, Bedford, USA).



Obr. 1. Schéma hydrolýzy acetylcholinu na cholin a kyselinu octovou a enzymatické přeměny cholinu na betain a peroxid vodíku

* Autor pro korepondenci

Homogenizace byla prováděna na homogenizátoru X 520 CAT (SRN).

Chromatogramy byly zpracovány Chromatografickou stanicí pro Windows (CSW), verze 1.7 (Data Apex, Praha, Česká republika).

Mobilní fáze obsahovala 100 mmol.l⁻¹ hydrogenfosforečnanu sodného, 2 mmol.l⁻¹ natrium-oktyl-sulfátu a 0,005 % antimikrobiálního činidla MB. Konečné pH bylo nastaveno na 8,0 koncentrovanou (850 g.l⁻¹) kyselinou trihydrogenfosforečnou⁶. Fáze byla vakuově filtrována filtrem 0,45 μm HV (Millipore, Bedford, USA). Průtok mobilní fáze byl 0,35 ml.min⁻¹, teplota 35 °C. Kolona byla kondicionována mobilní fází nejméně 10 hodin před použitím. Potenciál pracovní elektrody byl +500 mV.

Chemikálie

Všechny použité chemikálie byly čistoty p.a. nebo pro HPLC. Cholin-chlorid (Ch) a acetylcholin-chlorid (ACh) byly získány od firmy Fluka, antimikrobiální činidlo MB od ESA (Bedford, USA); kyselina fosforečná, kyselina chloristá, 3-(dimethylamino)propan-1-ol a ethyljodid od firmy Merck. Ethylhomocholin (interní standard, ISTD) byl připraven známým postupem¹. Pro přípravu mobilní fáze a roztoků standardů byla použita voda čištěná reverzní osmózou (Aqua 50, Goro, Česká republika).

Příprava standardů

Zásobní roztoky standardních látek Ch, ACh a ISTD (každý 0,3 mg.ml⁻¹) byly připraveny v 0,1 mol.l⁻¹ kyselině chloristé a uchovávány při -70 °C 1 týden. Pracovní roztoky (15–3000 ng.ml⁻¹) byly připravovány každý den ředěním zásobních roztoků 0,1 mol.l⁻¹ kyselinou chloristou.

Příprava vzorků

Mozek potkana byl ihned po vyjmutí zmražen kapalným dusíkem a uchováván v mrazícím boxu při -70 °C do dalšího zpracování. Vypreparovaný hippokampus byl zvážěn a převeden do skleněné centrifugační zkumavky obsahující 1 ml 0,1 mol.l⁻¹ kyseliny chloristé s obsahem 2100 ng ISTD. Po homogenizaci a centrifugaci při 4 000 g po dobu 10 min byla reakční směs filtrována filtrem Millipore (0,45 μm). 10 μl supernatantu bylo následně dávkováno do HPLC systému.

Koncentrace ACh a Ch byly stanoveny metodou kalibrační křivky.

Biologický experiment

Samci potkana kmene SPF o hmotnosti 160–200 g byli zakoupeni od VÚFB Konárovice, rozděleni do skupin po 6 zvířatech a intoxikováni i.m. subletální dávkou somanu (60 μg.kg⁻¹, 75 % LD₅₀), který byl získán od Vojenského technického ústavu v Zemianských Kostolanech (Slovensko). Za jednu minutu po otravě somanem byla potkanům podána i.m. kombinace jednoho ze zvolených oximů s atropinem v dávkách odpovídajících 2 % hodnoty LD₅₀ (cit.¹⁰).

Potkani byli usmrceni dekapitací 1 h nebo 24 hodin po podání somanu a jejich mozky byly po vyjmutí ihned zmraže-

ny v kapalném dusíku. Pokus na zvířeti byl povolen příslušnou Etickou komisí LF UK a VLA JEP v Hradci Králové.

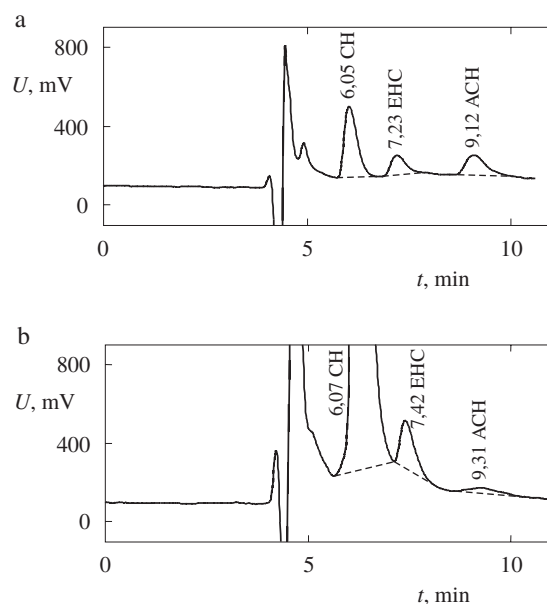
Statistické zpracování výsledků

Získané experimentální údaje byly srovnávány s kontrolními údaji získanými od kontrolních potkanů, kterým byl místo somanu a antidot podáván fyziologický roztok ve stejném objemu. Statistická významnost byla počítána nepárovým Studentovým *t*-testem na hladině významnosti 95 % (*P* < 0,05) (cit.¹¹).

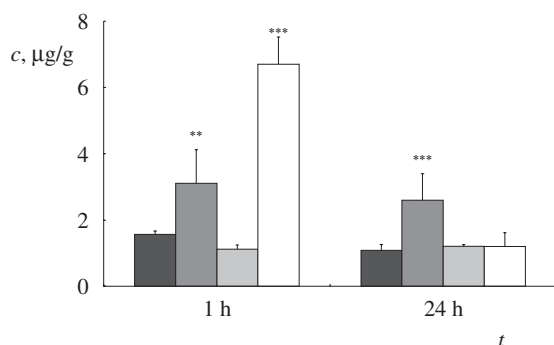
Výsledky a diskuse

Typické chromatogramy roztoků standardů ACh, Ch a ISTD v kyselině chloristé a chromatogramy stejných substancí ve vybraných částech mozku potkana jsou uvedeny na obrázku 2. Lineární odezva každého standardu byla nalezena v koncentračním rozmezí 0,15–30 ng/10 μl (*r* > 0,998, *n* = 6). Detekční limit (*S/N* = 3) byl 0,15 ng/10 μl. Analytická výtěžnost pro každou substanci byla vypočtena porovnáním jejich koncentrací nalezených v homogenátu vzorku hippokampu s přidáním známým množstvím detegovaných substancí s jejich koncentrací ve vzorcích obsahujících stejnou množství těchto substancí v kyselině chloristé v téže objemu. Relativní výtěžnost 2100 ng.ml⁻¹ ACh, Ch a ISTD z homogenátu hippokampu byla 89,8 ± 1,8 %, 93,4 ± 2,8 % a 91,6 ± 1,6 % (průměr ± směrodatná odchylka, *n* = 9).

Srovnání kontrolních a experimentálních hladin ACh ve vybrané části mozku potkana po 1 a 24 hodinách po otravě somanem a následné antidotní terapii je znázorněno na obr. 3. Zatímco soman způsobil statisticky významné zvýšení hladiny ACh v hippokampu potkana za 1 hodinu i 24 hodin po otravě (*P* < 0,01), akumulaci ACh způsobenou somanem oxim



Obr. 2. Chromatogram standardních vzorků o koncentraci 7 ng/10 μl (a) a extraktu tkáně hippokampu (b); ACh – acetylcholin, EHC – ethylhomocholin, CH – cholin.



Obr. 3. Změny koncentrace acetylcholinu (průměr ± směrodatná odchylka) v hippocampu potkana za 1 h a 24 h po i.m. podání somanu a antidotní terapie. První sloupec představuje kontrolní hodnoty, druhý sloupec neléčenou otravu somanem, třetí sloupec otravu somanem léčenou oximem HI-6 a atropinem a čtvrtý sloupec hodnoty koncentrace acetylcholinu po otravě somanem léčené obidoximem a atropinem. Statistická významnost: ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$.

HI-6 v obou sledovaných časových intervalech zcela eliminoval. Naproti tomu obidoxim eliminoval somanem navozenou akumulaci ACh teprve 24 h po otravě. V akutní fázi otravy (1 h po podání somanu) byla hladina ACh v hippocampu potkana v případě otravy somanem léčené atropinem a obidoximem ještě vyšší než v případě neléčené otravy ($P < 0,001$), jak je patrné z obr. 3.

Naše výsledky potvrdily, že oxim HI-6 je schopen eliminovat somanem způsobenou akumulaci ACh nejen na periférii, ale také v mozku^{10,12}. Zdá se tedy, že oxim HI-6 je schopen při systémovém podání v lidských dávkách proniknout do mozku přes hemato-encefalickou bariéru v koncentraci schopné vyvolat terapeutický účinek zabraňující statisticky významným způsobem centrálním toxickým účinkům somanu¹³. Na druhé straně v současnosti používaný obidoxim je v dávkách odpovídajících 2 % hodnoty LD₅₀ nejen prakticky neschopen eliminovat somanem indukovanou akumulaci ACh během akutní fáze otravy (do 1 h po expozici somanu)^{10,12}, ale dokonce akumulaci ACh a tím i hyperstimulaci cholinergního nervového systému ještě více vyvolává ve srovnání s neléčenou otravou somanem. To odpovídá dříve publikovaným výsledkům dokumentujícím, že obidoxim, je-li použit jako antidotum proti otravě somanem, může paradoxně zvýšit intenzitu somanem vyvolaných akutních klinických cholinergních příznaků včetně klinických projevů neurotoxicity¹⁴. To znamená, že obidoxim rozhodně není vhodným oximem pro terapii akutních otrav somanem, neboť je terapeuticky neúčinný a navíc snižuje pozitivní terapeutický přínos atropinu, s kterým je obvykle podáván¹⁴. Měl by proto být nahrazen oximem HI-6, který se jeví jako relativně účinný oxim, zabraňující v případě akutní subletální otravy somanem akumulaci ACh a následným klinickým cholinergním příznakům^{10,15,16}.

Závěr

Kapalinová chromatografie s elektrochemickou detekcí využívající elektrochemický detektor Coulochem II se ukáza-

la jako dostatečně citlivá metoda k detekci změn hladin ACh v mozku vyvolaných somanem, které nejpřesněji prokáží nejen samotnou expozici organismu inhibitorům AChE jako jsou organofosfáty včetně somanu, ale pomohou i odhadnout závažnost expozice, prognózu akutní otravy a efekt použité antidotní terapie.

Autoři děkují Ing. J. Bielavskému za syntézu ethylhomocholinu a paní I. Ježkové a J. Petrové za technickou spolupráci.

LITERATURA

- Potter P. E., Meek J. L., Neff N. H.: *J. Neurochem.* 41, 188 (1983).
- Damsma G., Westerink B. H. C., Horn A. S.: *J. Neurochem.* 45, 1649 (1985).
- Ikarashi Y., Blank C., Suda Y., Kawakubo T., Maruyama Y.: *J. Chromatogr., A* 718, 267 (1995).
- Yasumatsu M., Yazawa T., Otokowa M., Kuwasawa K., Hasegawa H., Aihara Y.: *Comp. Biochem. Physiol., A: Physiol.* 121, 13 (1998).
- Tsai T.-H.: *J. Chromatogr., B* 747, 111 (2000).
- ESA Application note: Acetylcholine in Brain Microdialysates. ESA, Chelmsford 2000.
- Marrs T. C.: *Pharmacol. Ther.* 58, 51(1993).
- Taylor P.: *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. McGraw Hill, New York 1996.
- Dawson R. M.: *J. Appl. Toxicol.* 14, 317 (1994).
- Kassa J., Cabal J.: *Toxicology* 132, 111 (1999).
- Eckschlager K.: *Chyby chemických rozborů*. SNTL, Praha 1971.
- Kassa J.: *Toxicology* 101, 167 (1995).
- Clement J. G.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 112, 104 (1992).
- Kassa J., Koupilová M.: *Pharmacol. Biochem. Behav.* 67, 663 (2000).
- Shih T.-M.: *Arch. Toxicol.* 67, 637 (1993).
- van Helden H. P. M., Busker R. W., Melchers B. P. C., Buijnzeel P. L. B.: *Arch. Toxicol.* 70, 779 (1996).

M. Bielavská and J. Kassa (*Department of Toxicology, Purkyně Military Medical Academy, Hradec Králové, Czech Republic*): **Determination of Acetylcholine and Choline in the Rat Hippocampus by HPLC with Electrochemical Detection**

A rapid, selective and sensitive method for simultaneous determination of acetylcholine and choline in the rat hippocampus was developed. Hippocampus samples with an internal standard were deproteinized with perchloric acid. After homogenization, centrifugation and filtration, the supernatant was directly injected into an isocratic HPLC system with electrochemical detection and a post-column enzyme reactor. The response to the detected substances was linear in the range 0.15–30 ng/10 µl. Total recovery of the method was higher than 90 %. The method was used for the determination of acetylcholine in the hippocampus of rats poisoned with Soman and treated with a combination of atropine and an oxime (obidoxime or oxime HI-6).

HPLC ON CHIRAL NONRACEMIC SORBENTS WITH CIRCULAR DICHROISM DETECTION: STEREOISOMERS FORMED BY 1,3-DIPOLAR CYCLOADDITIONS

JÍŘÍ POSPÍŠIL^a, MARTIN TRÁVNÍČEK^a,
ALBRECHT MANNSCHECK^b,
and MILAN POTÁČEK^{a*}

^aDepartment of Organic Chemistry, Masaryk University, Kotlářská 2, CZ-611 37 Brno, Czech Republic, ^bDepartment of Organic Chemistry, University of Regensburg, Universitätsstrasse 31, D-93 040, Regensburg, Germany
e-mail: potacek@chemi.muni.cz

Received 5.9.02, in revised form 7.3.03, accepted 17.4.03.

Keywords: HPLC, chiral nonracemic sorbents, circular dichroism detection, stereoisomers, 1,3-dipolar cycloadditions

1. Introduction

In this paper we would like to deal with the application of chiral nonracemic sorbents in HPLC separation of stereoisomers using a circular dichroism detector.

Sorbents for separation of stereoisomers by HPLC, in addition to possible achiral constituents like silica, are chiral nonracemic¹, i.e., they are composed of one type of chiral molecules, the excess of which exhibits one sense of chirality. Thus, (+)-poly(trityl methacrylate) on SiO₂ is an example of such a sorbent. It contains molecules of the chiral polymer, the excess of which exhibits one sense of chirality, namely the one corresponding to dextrorotation. These polymer molecules are on a matrix of SiO₂ fixed only by physical interactions but not chemically. Contrary to pure silica, chiral nonracemic sorbents may retain one of the enantiomers more strongly than the other one, thus causing their separation. Such a property found many applications^{1,2}, particularly in chemistry and pharmacy.

In addition to the usual UV detector, polarimeters^{3,4,5} and, to some extent, circular dichrographs^{6,7,8} have been used in HPLC when optically active components of a substrate mixture were analysed. Although polarimetry is preferred in preparative separations³, circular dichroism (CD) has the advantage of furnishing on-line spectra⁹ in analytical HPLC, the latter method being practically excluded⁹ for polarimetry. Usually CD and UV detections use the same flow-through cell to monitor differential absorbance ΔA (the differential absorbance is defined by the equation $\Delta A = A_l - A_r$, where A_l and A_r are absorbances for left (l) and right (r) circularly polarized light) and absorbance A at the same time at the same wavelength. The circular dichrograph provides additionally both qualitative and quantitative information since only chiral components are monitored, including their signs of ΔA at the chosen wavelength.

This article presents the above analytical methods by applying them to several mixtures of stereoisomers formed by 1,3-dipolar cycloadditions^{10–12}. Thus, base-line separated and overlapped peaks as well as on-line CD spectra were measured

and evaluated with respect to chemical purity, the number of stereoisomers, their relative proportions and their overall characterization.

2. Experimental part

HPLC was carried out using the system LC-10AD from Shimadzu Austria. Columns Chiralpak OT(+) (250 mm length, 4.6 mm in diameter) and Chiralcel OD-H (150 mm length, 2.1 mm in diameter) were from Diacel Co., Himeji, Japan. The temperature of the columns was +4 °C. The detector¹³ Jasco CD-1595 of Jasco International Co., Tokyo, Japan, provided UV (absorbance A) and circular dichroism (differential absorbance ΔA) intensities in arbitrary units at a fixed wavelength between 220 and 420 nm. The flow-through cell has a path length of 25 mm and a volume of approximately 20 μ l. The connection to a computer (Fig. 1) was accomplished using the Chromatography Data System CLASS-VD 5.02 of Shimadzu Austria.

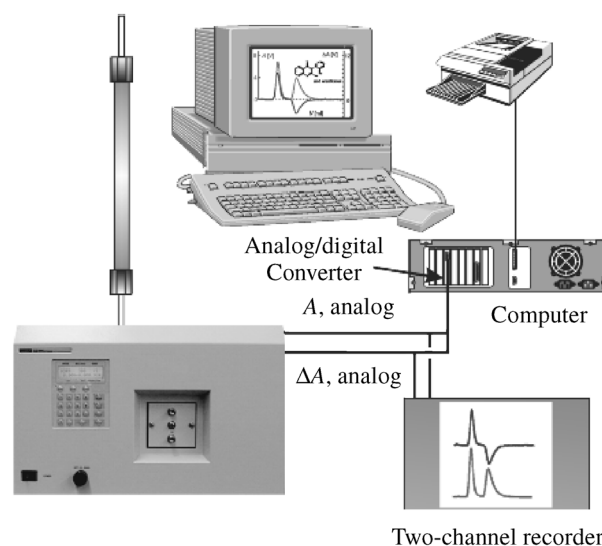


Fig. 1. Experimental set-up for HPLC with UV and circular dichroism detection. The output of absorbance A and differential absorbance ΔA as a function of retention time or retention volume is fed to a two-channel recorder and/or to a computer

The cycloadducts¹⁴ investigated were: *IIIa*, yellowish crystals, m.p. 166–168 °C; *IIIb,b'* white crystals, m.p. 132–137 °C, after recrystallization from petroleum ether/ethyl acetate at –20 °C, m.p. 135–136 °C; *IIIc,c' + IIId,d'*, yellow-orange oil.

However, for the investigation of cycloadduct¹⁵ *Va,a'*; weakly yellow crystals, m.p. 125–126 °C, recrystallized from diethyl ether, a pump L 6000A, Merck-Hitachi, Darmstadt, Germany, was used and the temperature of the Chiralpak OT(+) column was adjusted to +15 °C. In this particular case, the computer program SEPP for WINDOWS^{6,16,17} served to record the experimental chromatograms.

The retentions of the stereoisomers are given as retention factors $k = (t - t_0)/t_0$, where t and t_0 are the retention time and the dead time, or $k = (v - v_0)/v_0$, where v and v_0 are the retention volume and the dead volume.

Dependences of differential absorbance ΔA on retention factors k and differential absorbance ΔA on wavelengths λ (ranging between 220 and 420 nm) are shown in Figure 2.

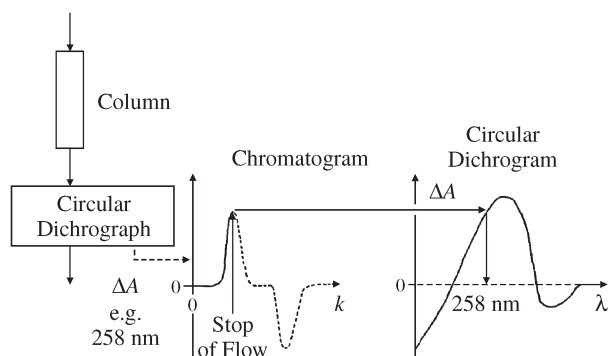


Fig. 2. Measurement of differential absorbance ΔA as a function of retention factor k and differential absorbance ΔA as a function of wavelength λ , using the set-up of Fig. 1. The column contains a nonracemic sorbent; the injected substrate may be racemic (as shown) or nonracemic. See the text for procedure

The diagram $\Delta A = f(A)$ and the deconvolution of the experimental chromatogram $\Delta A = f(v)$ (Fig. 3) were obtained by the computer program SEPP for WINDOWS^{6,16,17}.

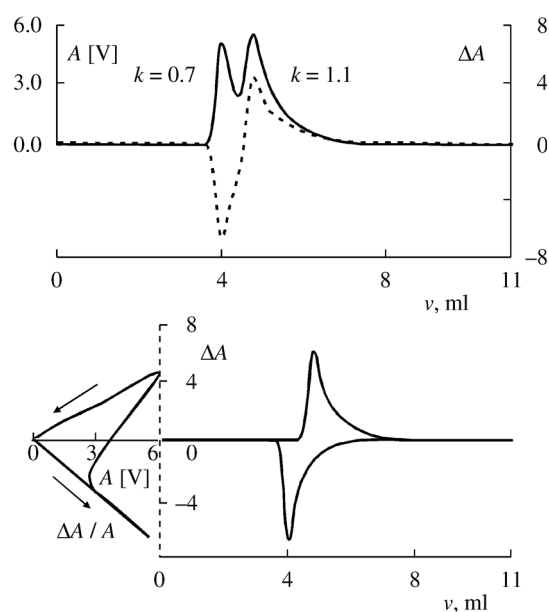


Fig. 3. Separation of cycloadducts from Scheme 3 (3 μ g) in *n*-hexane:propan-2-ol, 9:1, on (+)-poly(trityl methacrylate)/SiO₂ (Chiralpak OT(+)). Flow 0.5 ml/min, wavelength of detection 250 nm. Upper part: Experimental chromatograms $A = f(v)$ and $\Delta A = f(v)$ (full line UV detection, dotted line CD detection). Lower left part: Diagram $\Delta A = f(A)$, resulting in the ratio $\Delta A / A$. Lower right part: Computer deconvolution (see text) of the experimental chromatogram $\Delta A = f(v)$, using the ratio $\Delta A / A$ obtained

Approximate on-line CD spectra $\Delta A = f(\lambda)$ (Fig. 4) were obtained by stopping the chromatographic flow on the peaks of stereoisomers.

Figures 3 and 4 will be further discussed later in this paper.

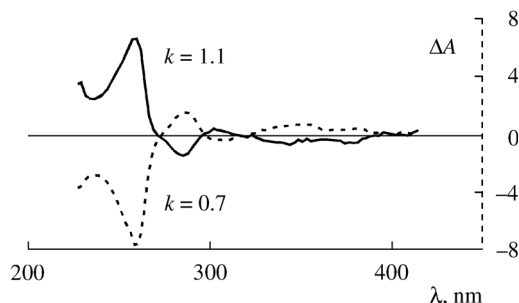


Fig. 4. On-line CD spectra of the cycloadducts Va,a' from Scheme 3, obtained for peaks at $k = 0.7$ and 1.1 in Fig. 3 (upper part) after flow stop

3. Results and discussion

Two base-line separated peaks

In the case of intramolecular 1,3-dipolar cycloaddition, an azomethine ylide is generated by the reaction of aldehyde *Ia* with amine *Ila* to give only racemic cycloadduct *IIla* (Scheme 1). This was reflected by two HPLC peaks with opposite signs in the CD detection (Fig. 5). Although the presence of other probable stereoisomers peaks hidden in the main peaks cannot be easily excluded, the above stated assumption of the single racemate existence is correct, given by the excellent sensitivity⁶ of the detector, because the crystals used for analysis represented the whole crop of the cycloaddition reaction and had not been worked up in any respect. From Fig. 5 it follows that optical purity can be determined if a nonracemic instead of a racemic sample is investigated.

In some cycloaddition reactions, (–)-menthol was used as a chiral auxiliary because it was assumed that its steric requirements cause shielding of one side of the dipole (Fig. 6) and the reaction therefore shows facial selectivity.

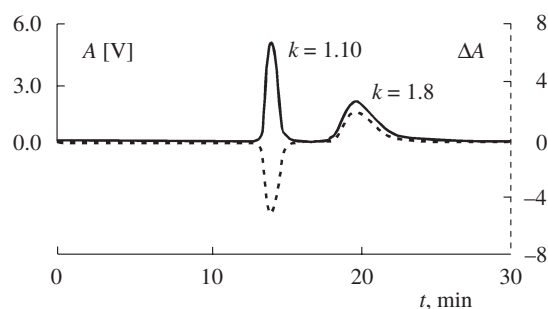
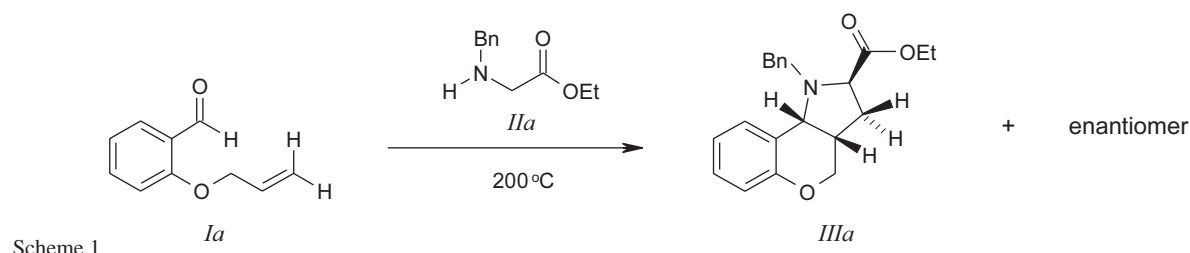


Fig. 5. Separation of enantiomers of cycloadduct *IIla* (12 μ g) in *n*-hexane:propan-2-ol, 9:1, on (+)-poly(trityl methacrylate)/SiO₂ (Chiralpak OT(+)). Flow 0.5 ml/min, wavelength of detection 267 nm, full line UV detection, dotted line CD detection



Scheme 1

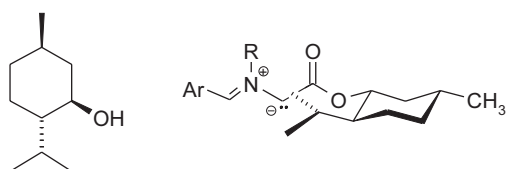


Fig. 6. Structures of (-)-menthol and the related azomethine ylide

However, ^1H NMR and HPLC showed that the selectivity is very low, probably due to the rather long distance between the introduced auxiliary and the generated azomethine ylide. The reaction of aldehyde *Ia* with amine *IIb,b'* (Scheme 2) in a UV intensity ratio of 1.08:1 (Fig. 7, upper part; peaks at $k=0.1$ and 1.6, respectively).

In principle, the UV absorption coefficients ϵ of diastereomers may be unequal; in the present case, however, the intensities were taken as good approximations for the relative concentrations. With reference to any other stereoisomers, the statements given above for *IIIa* are also true for the crystals of *IIIb,b'* because these had not been worked up before the first measurement. Recrystallization, however, yields one of the two diastereomers only (Fig. 7, lower part).

Two overlapped peaks

The intermolecular 1,3-dipolar cycloaddition of the azomethine ylide generated from the phenanthridinium salt *IV* in the presence of base with dimethyl fumarate results in only two diastereomers *Va* and *Va'* (Scheme 3).

They were found as the product after recrystallization as shown by ^1H NMR and HPLC (Fig. 3, upper part). In this case partial overlap of the HPLC peaks was observed. It has been

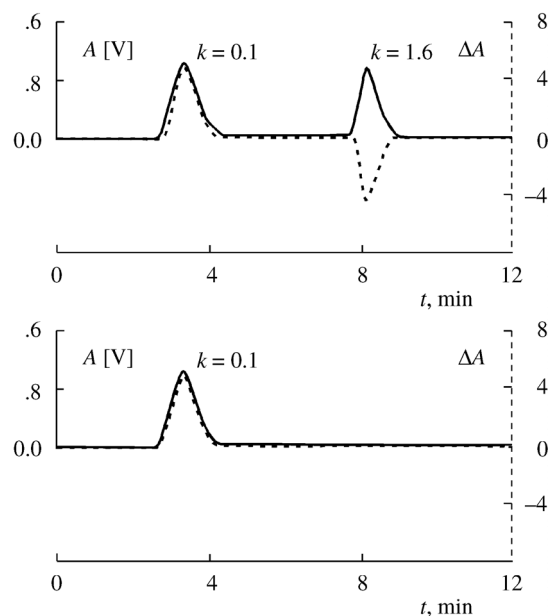
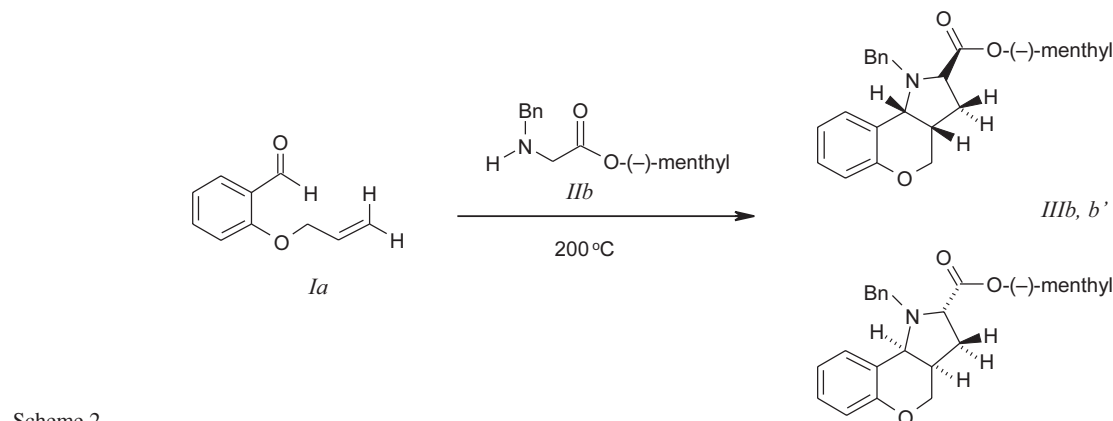
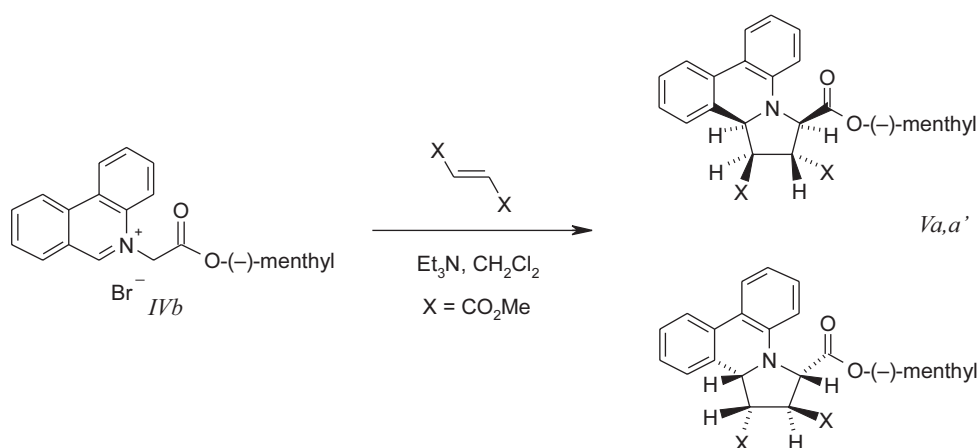


Fig. 7. Separation of cycloadducts according to Scheme 2 in *n*-hexane: propan-2-ol, 4:1, on tris[*N*-(3,5-dimethylphenyl)carbamoyl]cellulose/SiO₂ (Chiracel OD-H). Flow 0.2 ml/min, wavelength of detection 267 nm. Upper record: 9 μg of cycloadducts before recrystallization, lower record: pure diastereoisomer after recrystallization from petroleum ether/ethyl acetate at $-20\text{ }^\circ\text{C}$ (full line UV detection, dotted line CD detection)

shown^{3,6,7,16} that overlapped peaks of enantiomers can be deconvoluted by using double detection, i.e. by UV and CD. This approach treats overlapped peaks as the sum of their two



Scheme 2



Scheme 3

components (which means their difference upon CD detection because of the unequal signs of the present enantiomers). In addition, the ratio $\Delta A/A$ at the wavelength of detection is required for such deconvolutions. These ratios can be determined from a plot of a chiroptical property, e.g. ΔA , versus the absorbance^{3,6,16}. We obtained a $\Delta A = f(A)$ plot (Fig. 3, lower left part) and its computed deconvolution of the experimental chromatogram $\Delta A = f(v)$ for *Va* and *Va'* (Fig. 3, lower right part). This deconvolution shows that the HPLC technique described in the present article is not only useful in base-line separations such as in Fig. 5 and 7 but can be applied to overlapped peaks, too.

The diastereomers *Va* and *Va'* behave in a way similar to enantiomers, apparently, because the remote (-)-menthyl substituent has no significant influence on the UV and CD absorptions.

On-line circular dichroism spectra

Upon UV detection at one wavelength in HPLC, it is possible to obtain spectra for some wavelength region during the whole chromatographic run by a technique called UV diode-array detection. In a similar way, circular dichrograms $\Delta A = f(\lambda)$ have been measured⁹ (Fig. 2) during stops of the chromatographic flow (or even without such a stop). This on-line procedure can be accomplished by injection of a racemate, whereas the usual measurement of CD spectra ("off-line"

technique) requires a pure or enriched enantiomer. Using a mixture of diastereomers *Va* and *Va'*, we obtained their on-line spectra (Fig. 4). They show better characterizations of stereoisomers than the signs of differential absorbances or angles of rotation obtained in HPLC separations, both of which refer to a single wavelength only. Together with further CD information on this class of compounds, these CD spectra may serve for the determination of relative configurations. Their

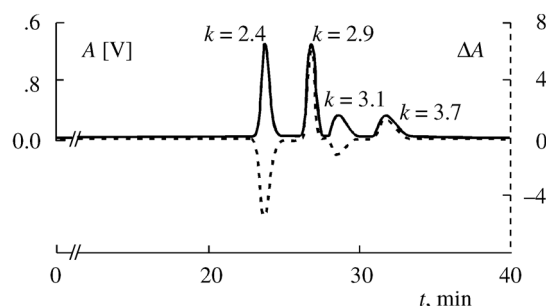
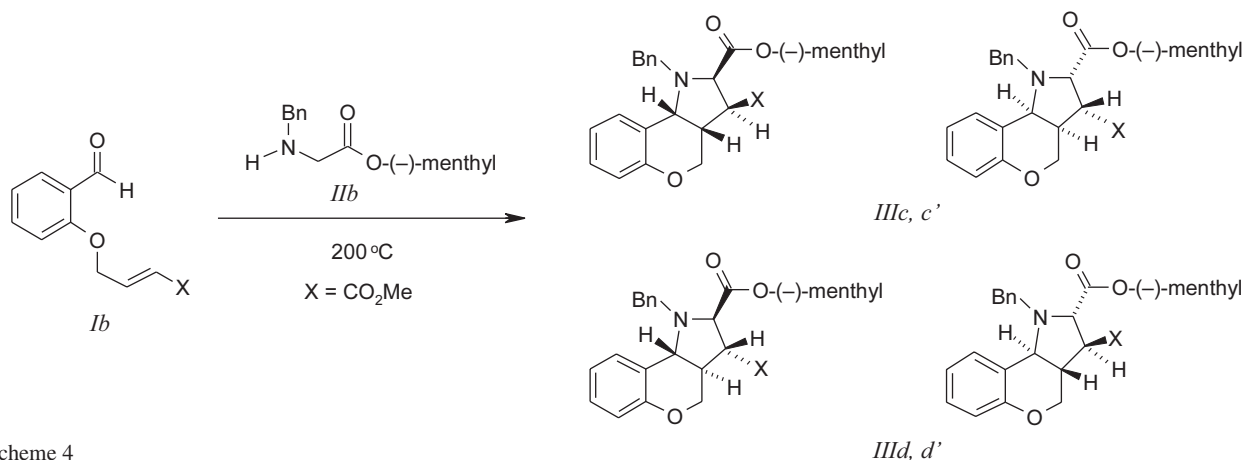


Fig. 8. Separation of cycloadducts *IIIc,c'* + *IIId,d'* (11 μg) in *n*-hexane:propan-2-ol, 9:1, on (+)-poly(trityl methacrylate)/ SiO_2 (Chiralpak OT(+)). Flow 0.5 ml/min, wavelength of detection 267 nm (full line UV detector, dotted line CD detector)



Scheme 4

mirror image relationship again shows that the diastereoisomers *Va* and *Va'* behave in a way similar to enantiomers.

Four base-line separated peaks

An intramolecular 1,3-dipolar cycloaddition of aldehyde *Ib* with amine *IIb* resulted in four stereoisomers *IIIc,c',d,d'* (Scheme 4).

They were detected by ¹H NMR and HPLC (Fig. 8). The intensities of their peaks are in the ratio 4.06:4.01:1.03:1 (from low to high retention factors in Fig. 8). No other stereoisomers were detected; the oil prepared by this cycloaddition reaction was measured immediately without any work-up. The tentative assignments given were obtained in the following way: Diastereomers *IIIc* and *IIIc'* show similar intensities because, disregarding the remote (–)-menthyl substituent, they are enantiomers; the same is true for diastereomers *IIId* and *IIId'*. The higher intensities at *k* = 2.4 and 2.9 were assigned to *IIIc,c'*, because we managed to separate them from *IIId,d'* and identify them by NMR.

4. Conclusion

HPLC is shown to be useful for the analysis of the stereoisomers formed by 1,3-dipolar cycloadditions. NMR spectroscopy usually furnishes more information on stereostructural details than HPLC, particularly *via* vicinal coupling constants and the nuclear Overhauser effect. On the other hand, HPLC on chiral nonracemic sorbents, unlike usual NMR, distinguishes between enantiomers and, using CD detection, permits structure assignment. In particular, the HPLC technique was applied to cycloadducts with the following results:

No impurities, e.g. regioisomers, were detected in the products of synthesis.

The number of stereoisomers was determined and their relative proportions were measured *via* HPLC intensities.

Each stereoisomer was characterized by its retention factor, the sign of its CD differential absorbance at one wavelength or its on-line CD spectrum between 220 and 420 nm. All the information was obtained by using synthetic mixtures of the stereoisomers. However, pure or enriched compounds are required when CD is measured without a combination with HPLC.

The present experiments were carried out with a commercial UV/CD instrument connected to HPLC, which means that the concentration in the detector cell is normally unknown. Therefore, the differential absorption coefficient $\Delta\epsilon = \Delta A/c \cdot l$ (*l* – path length in the cell, *c* – concentration) cannot easily be determined. $\Delta\epsilon$ is usually obtained with CD spectrometers if the sample in known concentration is filled into the cell directly (“off-line” technique), not *via* chromatographic flow. However, most common CD instruments can be adapted for HPLC (on-line technique) using a commercial kit. Therefore, the instrumental situation and the results presented above might encourage organic stereochemists to add HPLC with CD detection to the analytical tools they already use.

We are grateful to Mr. O. Humpa for measuring 2D-NMR spectra, to Mrs. N. Kastner-Pustet for some diagrams and to Mr. R. Würdinger, Jasco Deutschland GmbH, for kind loan of a CD-1595 to the Regensburg laboratory. We thank the

Czech Ministry of Education (COST OC D10.20 and J07/98; 143100011) for research support, the Partnership Program of our universities for travel grants and the Stiftungsinitiative Johann Gottfried Herder for a visiting professorship.

REFERENCES

1. Eliel E. L., Wilen S. H.: *Stereochemistry of Organic Compounds*, p. 5, 214 and 249. Wiley, New York 1994.
2. Ahuja S.: *Chiral Separations by Chromatography*. Oxford University Press, Oxford 2000.
3. Brandl F., Pustet N., Mannschreck A.: *J. Chromatogr., A* 909, 147 (2001).
4. Mannschreck A., Schinabeck M., Brandl F.: *Chem. Listy* 92, 261 (1998).
5. Bobbitt D. R., Linder S. W.: *Trends Anal. Chem.* 20, 111 (2001).
6. Brandl F., Pustet N., Mannschreck A.: *Int. Lab.* 29(2), 10C (1999).
7. Gergely A., Horváth P., Noszál B.: *J. Chromatogr. Sci.* 38, 425 (2000).
8. Salvadori P., Di Bari L., Pescitelli G., in: *Circular Dichroism: Principles and Applications* (Berova N., Nakanishi K., Woody R. W., Eds.), p. 797. Wiley, New York 2000.
9. Mannschreck A.: *Trends Anal. Chem.* 12, 220 (1993).
10. Potáček M., Topinka T., Dostál J., Humpa O.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 60, 1191 (1995).
11. Trávníček M., Pospíšil J., Potáček M.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 64, 1993 (1999).
12. Trávníček M., Potáček M., Mannschreck A.: *Heterocycl. Commun.* 7, 213 (2001).
13. Jasco International Co., Ltd., Tokyo, Japan: *Model CD-995 Circular Dichroism Chiral Detector*. Information Sheet, 1998.
14. Pospíšil J.: *MSc Thesis*. Masaryk University, Brno 2002.
15. Trávníček M.: *PhD Thesis*. Masaryk University, Brno 2002.
16. Mannschreck A.: *Chirality* 4, 163 (1992).
17. Schinabeck M.: *PhD Thesis*. University of Regensburg, Regensburg 1998.

J. Pospíšil^a, M. Trávníček^a, A. Mannschreck^b, and M. Potáček^a (^a*Department of Organic Chemistry, Masaryk University, Brno, Czech Republic*, ^b*Department of Organic Chemistry, University of Regensburg, Regensburg, Germany*): **HPLC on Chiral Nonracemic Sorbents with Circular Dichroism Detection: Stereoisomers Formed by 1,3-Dipolar Cycloadditions**

The stereoisomers of several 1,3-dipolar cycloadducts were analysed without previous preparative separation by HPLC on chiral nonracemic sorbents. This technique contributed significantly to the chemical purity checking, to the determination of the number of stereoisomers present, to the measurement of their relative proportions and to their characterization by retention factors and circular dichroism (CD) properties. In addition to a usual UV photometer, the detection was carried out with a CD instrument at a fixed wavelength or, on stopping the chromatographic flow, between 220 and 420 nm. The present method is proposed as a supplementary analytical tool in organic stereochemistry.

RECENZE

C. - H. Wong (Ed.):

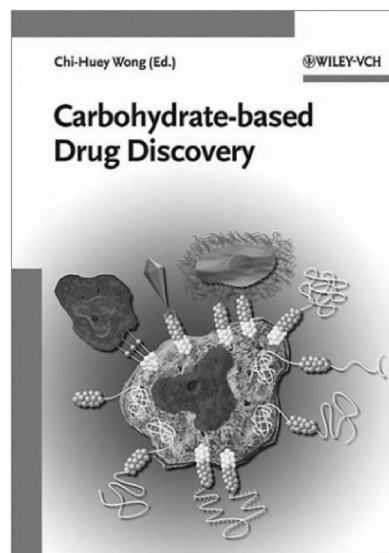
Carbohydrate-based Drug Discovery

1. vydání – srpen 2003, 948 stran, 2 díly, pevná vazba, ISBN 3-527-30632-3 – Wiley-VCH, Weinheim, cena 349.– Euro / 516.– SFR.

Příručka, která se stane denním chlebem cukerných chemiků, ale i odborníků navrhujících syntetické postupy, nové léky a materiály. Kniha prof. Wonga, člena US National Academy of Sciences, autora *Enzymes in Synthetic Organic Chemistry* a *Catalysis from A to Z: A Concise Encyclopedia*, je jedinečným zdrojem soudobých výzkumů v oblasti chemie a biochemie sacharidů se zvláštním zřetelem na sacharidy s farmaceutickým použitím. Příspěvky více než 80 předních světových odborníků z knihy činí ve svém oboru vyčerpávající nepostradatelnou pomůcku. Vysoká hodnota knihy je umocněna kvalitním přehledem literatury a rejstříky. Ilustrace jsou převážně kvalitní, pokud je třeba i barevné. Reprezentace chemických struktur je plně v souladu s názvoslovnými požadavky na sacharidy i stereochemii.

Fakt, že sacharidy hrají ústřední roli v metabolismu, rozpoznání mezi buňkami a obraně proti patogenům, činí z této kategorie chemických látek, z nichž dnes již jen část je „přírodního původu“, nepřehlednou studnici poznání, syntetických zdrojů a výzev pro organickou chemii, biochemii a příbuzné obory. Již jen proto, aby si bylo možno tento nepřehledný potenciál uvědomit (když ne použít), jsme získali expertní dílo, které přináší v kostce poslední stadia pokroku v této oblasti z pohledu nejpovolanějších a na špičkové úrovni. Je zřejmou zásluhou redaktora, že kniha má i přehledný a velmi použitelný charakter. Komplexní pohled na 35 obtížně separovatelných aspektů chemie sacharidů zabírá kromě syntetické strategie a taktiky i informace o jejich biologické funkci a možném použití ve vývoji nových terapeutik i přístupu k jejich designu. Unikátnost knihy lze vidět v tom, že přináší na velmi rozumné ploše necelých 1000 stran mimořádné množství informací z oblasti chemické syntézy sacharidů, jejich biosyntézy a metabolismu, analýzy, buněčné funkce a jejich postavení ve vývoji nových léčkových substancí a preparátů.

Z nejdůležitějších kapitol uvedme heslovitě několik stěžejních témat: syntéza složitých sacharidů, chemie sialové kyseliny, syntéza oligosacharidů na pevné fázi, v roztoku a s pomocí polymerních nosičů, enzymatická syntéza oligosachari-



dů, glykopeptidů a glykoproteinů, glykosylace, konformační analýza, „C-glykosidy“ a podobné sloučeniny, syntetická analogla lipidu A pro léčení sepse, vakcíny s polysialovou kyselinou, vakcíny se syntetickými cukry, antithrombotika založená na syntetických oligosacharidech, sekvenování oligosacharidů a glykoproteinů, analytické techniky pro charakterizaci a sekvenování glykosaminoglykanů, syntetické multivalentní cukerné ligandy jako efekторы a inhibitory biologických procesů, glykosyltransferasové inhibitory, interakce RNA s aminoglykosidy, přírodní glykosidy, inhibitory sulfottransferas s malými molekulami, terapie rakovinných metastáz s použitím cukrů, N-acetylneuraminová kyselina a její deriváty jako mimetika a protichřipkové prostředky, vývoj nových léků s použitím sacharidů, boj s bakteriálními infekcemi a mnoho dalších důležitých témat.

Jak píše prof. Wong, lze se jen těšit, že tato (excelentní) kniha bude pomáhat všem, kteří se zajímají o zmíněné tematiky, a že pomůže vyvíjet strategie pro vývoj nových léků, zejména těch, jejichž aktivita souvisí s rozpoznáním sacharidů.

Pavel Drašar

ODBORNÁ SETKÁNÍ

Instrumental Methods in Analysis

Neustálý růst počtu úzce specializovaných konferencí zaměřených na jednotlivé analytické techniky zatlačuje do pozadí význam širokospektrálních konferencí, pokrývajících větší celky analytické chemie. Přesto řada z nich má i dnes co říci analytickému chemikovi, zvláště pedagogovi z oblasti vysokých škol, bez ohledu na jeho vlastní odbornou specializaci. V příkladné míře to platí o konferenci Instrumental Methods in Analysis, která proběhla ve dnech 23.–27. září 2003 v Tessalonikách. Díky vhodné volbě kvalitních přednášejících mohl účastník skutečně získat dobrý přehled o pokrocích zejména v oblasti průtokových metod analýzy, senzorů, elektroanalytických technik i vybraných technik separačních. Stranou nezůstala ani problematika speciace, bioanalytické chemie, zabezpečování a kontroly kvality a chemometrie. Více než 100 vesměs kvalitních posterů, rozsáhlý sborník (více než 800 stran) a příjemná atmosféra vytvořená neobyčejně pohostinnými organizátory jen podtrhují celkově příznivý dojem z této konference. Z hlediska českého účastníka je příjemné konsta-

tování, že česká analytická chemie byla na této konferenci důstojně zastoupena v ústních i vývěskových sděleních. Účast zástupce České společnosti chemické na této konferenci byla umožněna jednak grantem Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky v rámci projektu INGO LA 034 (2003) (reprezentace české analytické chemie ve Federaci evropských chemických společností), jednak laskavou podporou firem Merck s.r.o. Praha, Janssen-Cilag ČR, Polarosensors s.r.o. Praha a ChromSpec, Praha. Je milou povinností autora poděkovat výše uvedeným organizacím a firmám za jejich pochopení a podporu aktivit České společnosti chemické a odborné skupiny analytické chemie. Všechny konferenční materiály jsou k dispozici na níže uvedené adrese.

*Jiří Barek,
zástupce České společnosti chemické v DAC FECS
Katedra analytické chemie PřF UK,
Albertov 2030, 128 43 Praha 2
tel: 221 951 224, fax: 24913538,
e-mail: Barek@natur.cuni.cz*

ZPRÁVY

Soutěž o „Zlatý CHEMTEC 2003“

V rámci mezinárodního chemického veletrhu CHEMTEC 2003 byla jako každoročně vyhlášena organizátorem veletrhu, INCHEBOU Praha, s.r.o., soutěž o „Zlatý CHEMTEC 2003“. Exponáty, přihlášené do soutěže, zhodnotila odborná komise, jmenovaná generálním ředitelem INCHEBY Praha, s.r.o. na základě návrhu Svazu chemického průmyslu ČR. Odborná komise zasedala ve složení: prof. Ing. Jiří Hanika, DrSc., doc. Ing. Ladislav Svoboda, CSc., Dr. Ing. Luděk Pitra, Ing. Jaroslav Zelený, CSc. a Ing. Miroslav Nečas, CSc. a udělila ocenění ZLATÝ CHEMTEC 2003 bez udání pořadí těmto exponátům:

CADDY – robotický manipulátor vzorkových destiček pro DNA analyzátor MegaBACE

vystavovatel: WATREX PRAHA, spol. s r. o.

výrobce: WATREX PRAHA, spol.s r.o.

Reflexní oděv pro hasiče TOK-200-25-II/T – oděv vyrobený ze skelného vlákna, pokovený, umožňující práci v prostředí do 200 °C a v ohni do 30 sekund

vystavovatel: CHTNC

výrobce: NIIEMI Moskva, RF

Výsledky soutěže byly slavnostně vyhlášeny na společenském „Večeru s českou chemií“.

Karel Voldřich

Prestížní cenu Česká hlava 2003

získal za celoživotní dílo

profesor Zdeněk Herman

z Ústavu fyzikální chemie Jaroslava Heyrovského AV ČR

člen České společnosti chemické.

Srdečně blahopřejeme!

XIX. sjezd

České společnosti pro biochemii a molekulární biologii
a Slovenské spoločnosti pre biochémiu a molekulovú biológiu pri SAV

OLOMOUC 31. srpna až 3. září 2004

pod záštitou

*prof. MUDr. et PhDr. Jany Mačákové, CSc.,
rektorky Univerzity Palackého*

Místo konání: Umělecké centrum Univerzity Palackého (Jezuitský konvikt).
Ubytování: Hotel Flora (cca 1100 Kč/noc včetně snídaně) a studentské koleje (120 Kč/noc).
Zajištění obědů a večeří v menze po 50 Kč.

Sekce:

1. Proteomika a enzymologie
2. Biochemie sacharidů a lipidů
3. Molekulární procesy v buňce, regulace a signalizace
4. Bioenergetika a biomembrány, fotosyntéza
5. Biotechnologie a potravinářská biochemie
6. Klinická biochemie, pathobiochemie a imunochemie
7. Xenobiochemie a sekundární metabolismus
8. Nukleové kyseliny, proteosyntéza, aplikovaná molekulární biologie

Plenární přednášky (30 min včetně diskuse) a plakátová sdělení (1 m × 1 m).

Účastnický poplatek: Členové společností 2000 Kč, nečlenové 2500; studenti a doktorandi 1000 Kč. Přihláška po termínu +500 Kč.
Termíny: Přihlášky, ubytování, stravování, abstrakta a úhrada účastnického poplatku **do 30.4.2004.**

Veškeré podrobnější informace naleznete na webové stránce:
<http://prfholt.upol.cz/biochhp/sjezd2004>, která bude zprovozněna
od 1.12.2003.

Přihlašování, včetně abstraktů, se povede dále pouze elektronicky!!

prof. RNDr. Pavel Peč, CSc.
předseda organizačního výboru Sjezdu

OBSAH

ÚVODNÍK	1144
REFERÁTY	
Tvorba C-C a C-X vazeb cross-coupling reakcemi katalyzovanými komplexy přechodných kovů M. Hocek	1145
Membránové dělení směsí plynů a par: teorie M. Šípek, K. Friess a V. Hynek	1151
3,5-Di- <i>tert</i> -butyl-1,2-benzochinon jako modelová látka pyridoxalu J. Vinšová a V. Horák	1157
Přírodní látky ovlivňující mezibuněčnou komunikaci H. Forejtníková a R. Kubínová	1168
Intenzifikace pyrolyzních pecí v Chemopetrolu Litvínov J. Doskočil, Z. Bělohav, T. Herink a P. Zámotný	1176
50 let VÚFB – 50 let českého výzkumu a vývoje ve farmacii M. Kuchař	1181
Hlubkové profily labilních kovových species v sedimentech a jejich <i>in situ</i> měření technikou difuzního gradientu v tenkém filmu P. Diviš, H. Dočekalová, V. Smetková	1184
LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY	
Stanovení hladiny acetylcholinu a cholinu v hippokampu potkana kapalinovou chromatografií s elektrochemickou detekcí M. Bielavská a J. Kassa	1190
HPLC on Chiral Nonracemic Sorbents with Circular Dichroism Detection: Stereoisomers Formed by 1,3-Dipolar Cycloadditions J. Pospíšil, M. Trávníček, A. Mannschreck, and M. Potáček	1193
RECENZE	1198
ODBORNÁ SETKÁNÍ	1199
ZPRÁVY	1200
Liblice '2003 – dodatek	1201

CONTENTS

EDITORIAL	1144
REVIEW ARTICLES	
C-C and C-X Bond Formation by Cross-coupling Reactions Catalyzed by Transition Metal Complexes M. Hocek	1145
Membrane Separation of Mixtures of Gases and Vapors: Theory M. Šípek, K. Friess, and V. Hynek	1151
3,5-Di- <i>tert</i> -butyl-1,2-benzoquinone as Model Substance of Pyridoxal J. Vinšová and V. Horák	1157
Natural Compounds as Stimulators of Gap-junctional Intercellular Communication H. Forejtníková and R. Kubínová	1168
Improvement of Pyrolysis Reactors in Chemopetrol Co. Litvínov J. Doskočil, Z. Bělohav, T. Herink, and P. Zámotný	1176
Fifty years of the Research Institute for Pharmacy and Biochemistry M. Kuchař and Z. Novotný	1181
<i>In situ</i> Measurement of Depth Profiles of Labile Metal Species in Sediments by Technique of Diffusive Gradients in Thin Films P. Diviš, H. Dočekalová, and V. Smetková	1184
LABORATORY EQUIPMENT AND METHODS	
Determination of Acetylcholine and Choline in the Rat Hippocampus by HPLC with Electrochemical Detection M. Bielavská and J. Kassa	1190
HPLC on Chiral Nonracemic Sorbents with Circular Dichroism Detection: Stereoisomers Formed by 1,3-Dipolar Cycloadditions J. Pospíšil, M. Trávníček, A. Mannschreck, and M. Potáček	1193
BOOK REVIEWS	1198
MEETINGS	1199
NEWS	1200
Liblice '2003 – Supplement	1201

CHEMICKÉ LISTY • ročník/volume 97 (2003), čís./no. 12 • LISTY CHEMICKÉ, roč./vol. 127, ČASOPIS PRO PRŮMYSL CHEMICKÝ, roč./vol. 113 • 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, kolektivních členů ČSCH a Ministerstva zemědělství České republiky • IČO 444715 • Published by the Czech Chemical Society • VEDOUCÍ REDAKTOR/EDITOR-IN-CHIEF: B. Kratochvíl • REDAKTOŘI/EDITORS: J. Barek, Z. Bělohav, P. Drašar, J. Hettflejš, P. Holý, P. Chuchvalec, J. Podešva, P. Rauch, J. Volke, M. Bláhová (Bulletin), M. Ferles (Bulletin), B. Valter (Bulletin), I. Valterová (Bulletin), R. Liboska (webové stránky), P. Zámotný (webové stránky) • ZAHRAŇIČNÍ A OBLASTNÍ REDAKTOŘI/FOREIGN AND REGIONAL EDITORS: F. Švec (USA), L. Opletal (Hradec Králové) • KONZULTANT/CONSULTANT: J. Kahovec • VÝKONNÁ REDAKTORKA/EDITORIAL ASSISTANT: R. Řápková • REDAKČNÍ RADA/ADVISORY BOARD: E. Borsig, M. Černá, L. Červený, E. Dibuszová, J. Hanika, Z. Havlas, J. Churáček, I. Kadlecová, J. Káš, J. Koubek, T. Míšek, J. Pacák, V. Pačes, O. Paleta, V. Růžička, I. Stibor, V. Šimánek, R. Zahradník • ADRESA PRO ZASÍLÁNÍ PŘÍSPĚVKŮ/MANUSCRIPTS IN CZECH, SLOVAK OR ENGLISH CAN BE SENT TO: Chemické listy, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1; tel./phone +420 221 082 370, fax +420 222 220 184, e-mail: chem.listy@csvts.cz • INFORMACE O PŘEDPLÁTNÉM, OBJEDNÁVKY, PRODEJ JEDNOTLIVÝCH ČÍSEL A INZERCE/INFORMATION ADS: Sekretariát ČSCH, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1; tel., fax +420 222 220 184, e-mail: mblahova@csvts.cz, simanek@csvts.cz • PLNÁ VERZE NA INTERNETU/FULL VERSION ON URL: <http://chemicke-listy.vscht.cz> • TISK: České Tiskárny s.r.o., Ráby 14, 533 52 Staré Hradiště; SAZBA: SF SOFT, Jinonická 329, 158 00 Praha 5, B. Valter (Bulletin) • Copyright © 2003 Chemické listy/Česká společnost chemická • Cena výtisku 125 Kč, roční plné předplatné 2003 (12 čísel) 1190 Kč, individuální členská předplatné pro členy ČSCH 630 Kč. Roční předplatné ve Slovenské republice 80 eur (doručování via SCHS), individuální členská předplatné pro členy ČSCH 60 eur (doručování via SCHS), 225 eur (individuální doručování) • DISTRIBUTION ABROAD: KUBON & SAGNER, POB 34 01 08, D-80328 Munich, FRG; Annual subscription for 2003 (12 issues) 225 euro • Podávání novinových zásilek povoleno ČP s.p. OZ VČ, č.j. PPl/5333/95 • 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 v rámci dohod o spolupráci významným představitelům české chemie a chemického průmyslu a do všech relevantních knihoven v ČR.

56. sjezd chemických společností

Ostrava
6.–10. září 2004

Pořádající organizace

Asociace českých chemických společností
Asociácia slovenských chemických a farmaceutických spoločností
ve spolupráci s
VŠB-Technickou univerzitou a Ostravskou univerzitou

Sekce sjezdu

Chemie uhlí, produktů jejich zpracování a chemie uhlíkatých materiálů
Analytická chemie a chemometrie
Anorganická chemie
Organická, bioorganická a farmaceutická chemie
Fytochemie
Potravinářská chemie
Chemie životního prostředí, rizikové látky v chemii a jejich likvidace
Fyzikální chemie a chemická fyzika
Makromolekulární chemie a technologie polymerů
Chemické vzdělávání, chemická informatika a historie chemie
Petrochemie
Jaderná chemie
Chemie a struktura materiálů
Průmyslová chemie

Organizační výbor

<i>Předseda:</i>	Doc. Ing. Petr Pánek, CSc., rektor OU, petr.panek@osu.cz
<i>Místopředseda:</i>	Doc. Ing. Bořivoj Fiala, CSc., MARBO A.P.S., vrbovskysfp@quick.cz
<i>Hospodář:</i>	Ing. Vladimíra Plačková, FMMI VŠB-TU, vladimira.plackova@vsb.cz
<i>Vědecký tajemník:</i>	Doc. RNDr. Ervín Kozubek, CSc., FMMI VŠB-TU, ervin.kozubek@vsb.cz
<i>Organizační tajemník:</i>	RNDr. Václav Slovák, Ph. D., FMMI VŠB-TU, vaclav.slovak@vsb.cz, vaclav.slovak@osu.cz
<i>Kontaktní adresa:</i>	vaclav.Slovak@vsb.cz

ČESKÁ SPOLEČNOST CHEMICKÁ
CZECH CHEMICAL SOCIETY

vydává ve spolupráci
s Vysokou školou chemicko-technologickou v Praze, s Českou společností průmyslové chemie a Ústavem organické chemie a biochemie, Akademií věd České republiky za finanční podpory Nadace Českého literárního fondu

published in cooperation
with Institute of Chemical Technology in Prague, Czech Society of Industrial Chemistry, Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic with financial assistance of the Czech Literary Foundation

CHEMICKÉ LISTY

CHLSAC 97, 1 – 526 (2003)

Vedoucí redaktor

Editor

B. KRATOCHVÍL

Redakční kruh

Editorial Board

J. BAREK, Z. BĚLOHLAV, P. DRAŠAR, J. HETFLEJŠ, P. HOLÝ, P. CHUCHVALEC,
J. PODEŠVA, P. RAUCH, J. VOLKE

Zahraniční a oblastní redaktori

Foreign and Regional Editors

F. ŠVEC (USA), L. OPLETAL (Hradec Králové)

Redakční rada

Advisory Board

E. BORSIG, M. ČERNÁ, L. ČERVENÝ, E. DIBUSZOVÁ, J. HANIKA, J. CHURÁČEK,
I. KADLECOVÁ, J. KÁŠ, J. KOUBEK, T. MÍŠEK, J. PACÁK, V. PAČES,
O. PALETA, V. RŮŽIČKA, I. STIBOR, V. ŠIMÁNEK, R. ZAHRADNÍK

Výkonná redaktorka

Editorial Assistant

R. ŘÁPKOVÁ

Ročník 97 (2003)

Volume 97 (2003)

Listy chemické, ročník 127 – Časopis pro průmysl chemický, ročník 113

Str. 1 – 526

ISSN 0009-2770

Úvodníky

Editorials

50. výročí založení Slovinské chemické společnosti (V. Kaučič)	1
Dlouhá cesta k novému léku (P. Holý)	81
100 let chromatografie (J. Berek)	133
Vážení čtenáři (V. Šimánek)	181
Čeština v chemii (J. Podešva)	245
Vážení čtenáři (V. Křen, V. Šimánek)	325
Co potřebuje zemědělský výzkum od chemiků (P. Kalač)	527
Dvojitá šroubovice slaví padesátiny. Co bude dál? (F. Švec)	528
Chemie ??? (P. Měnová)	919
Životní prostředí a chemie (J. Berek)	975
Chemické vzdělání (P. Drašar)	1051
Chemické listy v roce 2004 (B. Kratochvíl)	1144

Referáty

Review Articles

M. Zábranský, V. Růžička a A. Malijevský: Odhadové metody tepelných kapacit čistých kapalin	3
K. Svoboda, M. Hartman, O. Trnka a J. Čermák: Vysokoteplotní palivové články, vhodná paliva a možnosti jejich využití	9
L. Vítek, L. Sedláčková, P. Branny a T. Ruml: Metabolismus bilirubinu a způsoby eliminace jeho toxicity	24
P. Bouchal a I. Kučera: Dvourozměrná elektroforéza v proteomice: principy a aplikace	29
J. Rotschová: Postradiační stárnutí implantátů z vysokomolekulárního polyethylenu	83
L. Kvasničková, Z. Glatz a V. Kahle: Kapilární elektrochromatografie	86
P. Fryčák, K. Lemr, T. Adam a R. Hušková: Diagnostika vybraných dědičných metabolických poruch tandemovou hmotnostní spektrometrií s využitím moderních ionizačních technik	93
E. Smolková-Keulemansová: 100. Výročí objevu chromatografie. Život a dílo M. S. Cvěta	134
M. Reháková, M. Mikula, M. Čeppan a B. Malec: Proces starnutia a hodnotenia stability grafických zobrazení	140
M. Blazsek: Prehľad analytických metód na stanovenie polyéterových antibiotík	146
J. Kupec, K. Charvátová a M. Křesálková: Biopolymery jako plniva v plastech	155
J. Přidal: Membránové technologie a vodní hospodářství – vybrané otázky a nově publikované informace	160
C. Sándorfy: Remembering the Old Times of Theoretical Chemistry	182
M. Kroulíková, M. Fusek a T. Ruml: Kathepsin D a jeho vztah k onkogenezi	192
J. Huclová a R. Karlíček: On-line úprava vzorku v neseparačních průtokových metodách	246
L. Obalová a B. Bernauer: Katalytický rozklad oxidu dusného	255
M. Reháková, S. Čuvanová, Z. Gavalová a J. Rimár: Využitie prírodného zeolitu typu klinoptilolitu v agrochémii a poľnohospodárstve	260
I. Lörinczová, V. Jančovičová a M. Čeppan: Hydrofobizácia povrchových polymérnych vrstiev UV žiarením	265
B. Klejdus, D. Štěrbová, P. Stratil a V. Kubáň: Identifikace a charakterizace isoflavonů v rostlinných extraktech za použití kombinace HPLC s hmotnostním detektorem s diodovým polem (HPLC-DAD-MS)	530

<i>M. Modrianský, K. Valentová, V. Přikrylová a D. Walterová: Přírodní látky v prevenci onemocnění trávicího traktu</i>	540
<i>A. Lebeda, I. Doležalová, K. Valentová, M. Dziechciarková, M. Greplová, H. Opatová a J. Ulrichová: Biologická a chemická variabilita maky a jakonu</i>	548
<i>A. Kasal: Steroidy na začátku jedenadvacátého století</i>	921
<i>M. Hartman, O. Trnka, K. Svoboda a V. Veselý: Aglomerace částic a defluidiční jevy ve fluidní vrstvě</i>	942
<i>P. Strnad, Š. Haubová a T. Ruml: Genom retrovirů a fyziologická funkce jeho produktů</i>	949
<i>M. Hartman, K. Svoboda, V. Veselý, O. Trnka a J. Chour: Tepelné zpracování čistírenských kalů</i>	976
<i>P. Finger a I. Koruna: Správná laboratorní praxe od nedávné minulosti po současnost</i>	983
<i>M. Sergejevová a J. Růžička: Možnosti aerobního mikrobiálního odbourávání trichlorethenu</i>	986
<i>K. Dercová, Z. Kyselová, G. Barančíková, Z. Sejková a A. Malová: Biodegradácia a bioremediácia pentachlórfenolu (PCP)</i>	991
<i>R. Kizek, J. Vacek, L. Trnková, B. Klejdus a V. Kubáň: Elektrochemické biosenzory v analýze zemědělských produktů a vzorků životního prostředí</i>	1003
<i>L. Čapek a B. Wichterlová: Selektivní katalytická redukce NO_x uhlovodíky v oxidační atmosféře na zeolitových katalyzátorech</i>	1007
<i>M. Danko, P. Hrdlovič a E. Borsig: Aké informácie o štruktúre polymérov môže poskytnúť fluorescenčná spektroskopia?</i>	1052
<i>M. Pour: Gibbereliny, nakienony a inkrustoporiny: radosti a strasti syntéz malých, vysoce funkcionalizovaných molekúl</i>	1061
<i>J. Kučera a P. Nachtigall: Pyrrol jako testovací molekula k charakterizaci ZSM-5 s ionty alkalických kovů: kombinace teoretické a experimentální studie</i>	1070
<i>M. Hocek: Tvorba C-C a C-X vazeb cross-coupling reakcemi katalyzovanými komplexy přechodných kovů</i>	1145
<i>M. Šípek, K. Friess a V. Hynek: Membránové dělení směsí plynů a par: teorie</i>	1151
<i>J. Vinšová a V. Horák: 3,5-Di-<i>tert</i>-butyl-1,2-benzochinon jako modelová látka pyridoxalu</i>	1157
<i>H. Forejtníková a R. Kubínová: Přírodní látky ovlivňující mezibuněčnou komunikaci</i>	1168
<i>J. Doskočil, Z. Bělohav, T. Herink a P. Zámotný: Intenzifikace pyrolýzních pecí v Chemopetrolu Litvínov</i>	1176
<i>M. Kuchař: 50 let ÚVFB - 50 let českého výzkumu a vývoje ve farmacii</i>	1181
<i>P. Diviš, H. Dočekalová, V. Smetková: Hloubkové profily labilních kovových specií v sedimentech a jejich <i>in situ</i> měření technikou difuzního gradientu v tenkém filmu</i>	1184
• Sigma-Aldrich konference mladých chemiků, biochemiků a molekulárních biologů (Devět skal – Žďárské vrchy – 4.–7.6.2003)	281
• 6 th International Symposium on Biocatalysis and Biotransformations (Olomouc, 28.6.–3.7.2003)	327
• 55. sjezd chemických společností (Košice 2003)	595
• Liblice '2003 (Nymburk 2003)	1093
• Liblice '2003 (Nymburk 2003) – dodatek	1201

Nomenklatura a terminologie

Nomenclature and Terminology

Klasifikace transportních proteinů (<i>A. Kotyk</i>)	37
Doporučení IUPAC. Definitions of Terms Relating To Reactions of Polymers and to Functional Polymeric Materials (<i>J. Kahovec</i>)	200
Doporučení IUPAC. Glossary for Toxicokinetics of Chemicals (<i>J. Kahovec</i>)	557
Doporučení IUPAC. Terminology in Soil Sampling (<i>J. Kahovec</i>)	1016

<i>J. Krupčík, P. Oswald, E. Benická a J. Mydlová:</i> Kalibrácia odozvy plameňovo ionizačného detektora pri analýze vyššie vriacich ropných destilačných frakcií klasickou a rýchlou kapilárnou plynovou chromatografiou	41
<i>V. Štengl, J. Šubrt a S. Bakardžieva:</i> Chemicky modifikovaná slída	45
<i>L. Hykrdová:</i> Degradace supramolekulárných komplexů typu hostitel–host indukovaná hydroxylovými radikály – vliv hostitele na reaktivitu hosta	101
<i>O. Šedo a J. Havel:</i> Analýza peptidů pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF	109
<i>J. Fischer, J. Berek a J. Zima:</i> Stanovení stopových množství 2-methyl-4,6-dinitrofenolu pomocí moderních polarografických a voltametrických metod na rtuťových elektrodách	114
<i>P. Řezanka a J. Fährnich:</i> Izolace terpenů destilací jehličí smrku	119
<i>M. Dobšík, P. Mikuška a Z. Večeřa:</i> Kontinuální stanovení stopových koncentrací amoniaku ve vzduchu	166
<i>E. Machníková, M. Koutský, F. Hrdlička a J. Vošta:</i> Spalování biomasy v krbových kamnech – účinnost a emise	171
<i>S. Šebková:</i> Stanovení chloridů na stříbrných kompozitních elektrodách	201
<i>R. Kostrhounová-Štěpánková, L. Jančář a L. Sommer:</i> UV spektrofotometrické stanovení směsí fenolu a chlorfenolů ve vodách s použitím projekce do latentních struktur a Kalmanova filtru	269
<i>E. Dadáková, N. Vrchotová, J. Tříška a M. Kyseláková:</i> Stanovení volného a celkového kvercetin v moravských červených vínech	558
<i>L. Melenová, K. Ciahotný, H. Jirglová, H. Kusá a P. Růžek:</i> Odstraňování amoniaku z odpadních plynů adsorpcí na zeolitech a jejich následné využití v zemědělství	562
<i>J. Matuš:</i> Specifika likvidace plevelů před setím plodin přípravkem Roundup Forte	569
<i>J. Čopíková, M. Novotná, I. Šmídová, A. Synytsya a M. Černá:</i> Uplatnění NIR spektroskopie v analýze čokolády	571
<i>A. Muck Jr., J. Wang a J. Berek:</i> Mikrofluidní zařízení pro průtokovou injekční analýzu s elektrochemickou detekcí	957
<i>L. Volková a K. Volka:</i> Projekt mezinárodní banky spektroskopických dat EUROSPEC	961
<i>R. Fadrná:</i> Studium interakcí hydroxylových radikálů a purinových bází DNA	964
<i>D. Rúriková a L. Dziačková:</i> Stripping voltampérometrické stanovenie anorganických foriem antimónu v prírodných vodách	1017
<i>J. Špička, L. Svoboda a D. Janoušková:</i> Stanovení CH ₃ Hg skupin v rybím mase metodou HPLC s UV detekcí	1024
<i>A. Novotná-Rychtecká a J. Leníček:</i> Zakoncentrování těžkých organických látek z vod mikroextrakcí na tuhou fázi a stanovení metodou plynové chromatografie	1074
<i>J. Šauliová a R. Zmija:</i> Příprava benzonitrilu dehydratací benzamidu oxidem fosforečným v mikrovlnném prostředí	1079
<i>B. Yosypchuk a L. Novotný:</i> Merkursulfátová referentní elektroda na základě stříbrné pevné amalgamy	1083
<i>M. Bielavská a J. Kassa:</i> Stanovení hladiny acetylcholinu a cholinu v hippocampu potkana kapalinovou chromatografií s elektrochemickou detekcí	1190
<i>J. Pospíšil, M. Trávníček, A. Mannschreck, and M. Potáček:</i> HPLC on CHiral Nonracemic Sorbents with Circular Dichroism Detection: Stereoisomers Formed by 1,3-Dipolar Cycloadditions	1193

Recenze

Book Reviews

<i>A. Koreňová, M. Uher:</i> Bioorganická chémia v otázkách a odpovediach (<i>K. Waisser</i>)	179
<i>M. Schätz:</i> Historie výuky chemie. Osobnosti a události (<i>J. Jindra</i>)	214

W. A. Herrmann (Ed.): Synthetic methods of Organometallic and Inorganic Chemistry. Volume 10 Catalysis (<i>J. Hetflejš</i>)	214
K. Waisser: Nové české názvosloví organické chemie (<i>J. Kahovec</i>)	576
A. Reiser: Útěk (Paměti 1920–1991) (<i>J. Jindra</i>)	577
F. Hampl, J. Paleček: Farmakochemie (<i>J. Patočka</i>)	577
N. Arnold: Chemický chaos/O čem se vám učitelé chemie neodvažují říct (<i>B. Tesařík</i>)	578
H. Y. Aboul-Enein, I. Ali: Chiral Separations by Liquid Chromatography. Theory and Applications, Chromatographic Science Series, Vol. 90 (<i>P. Drašar</i>)	970
D. W. Oxtoby, W. A. Freeman, T. F. Block: Chemistry: Science of Change (Saunders Golden Sunburst Series) (<i>P. Drašar</i>)	970
M. K. Campbell, S. O. Farrell: Biochemistry (with Lecture Notebook) (<i>P. Drašar</i>)	970
J. Fikr, J. Kahovec: Názvosloví organické chemie (<i>Z. Janků, V. Kratochvílová a O. Paleta</i>)	1087
C.-H. Wong: Carbohydrate-based Drug Discovery (<i>P. Drašar</i>)	1198

Diskuse

Discussion

Je rozdíl mezi učitelem všeobecně vzdělávacího předmětu chemie a učitelem odborných chemických předmětů? (<i>M. Bílek</i>)	971
---	-----

Odborná setkání

Meetings

34. Zasedání Divize analytické chemie Federace evropských chemických společností (<i>J. Barek</i>)	1091
Instrumental Methods in Analysis (<i>J. Barek</i>)	1199

Osobní zprávy

Personal News

RNDr. PhMr. Ladislav Novotný, DrSc., osmdesátníkem (<i>J. Harmatha</i>)	123
Prof. Ivan Pavlík sedmdesátiletý (<i>J. Šňupárek</i>)	123
70 let dr. Aloise Pískaly (<i>A. Holý</i>)	277

Výuka chemie

Education in Chemistry

Ludský organizmus a pH roztokov (<i>D. Melicherčíková a M. Melicherčík</i>)	125
---	-----

Zprávy

News

Upozornění pro členy společnosti (<i>Sekretariát a redakce</i>)	557
Poceta Josefovi Loschmidtovi (1821–1895) (<i>F. Pavlíková a B. Kratochvíl</i>)	1092
Soutěž o „Zlatý CHEMTEC 2003“ (<i>K. Voldřich</i>)	1200

International Projects**International Projects**

<i>M. Zarevúcka, M. Vacek, Z. Wimmer, K. Stránský, B. Koutek, and K. Demnerová: Enzymic Transformations of Blackcurrant Oil: Enrichment with γ-Linolenic Acid and α-Linolenic Acid</i>	206
--	-----

Oznámení**Announcement**

Vyhlášení III. ročníku veřejné soutěže o Cenu Agrofertu Holding	279
---	-----

Bulletin Asociace českých chemických společností

Program ACD-Labs Chem-Sketch při výuce chemie na gymnáziu (<i>Z. Janků</i>)	53
Několik poznámek k entropii mimo rovnováhu (<i>I. Vavruch</i>)	219
Počátky České chemické společnosti (<i>J. Jindra</i>)	220
Svět vůní a chutí (<i>M. Mohelský, L. Berka</i>)	581
Grafické vyjádření chiralit chemických sloučenin (<i>P. Drašar, B. Valter a O. Paleta</i>)	1029
Ze života chemických společností	54, 222, 586, 1034
Členská oznámení a služby	57, 224, 1035
Chemik na studiích, cestách	57
Z vědeckých, odborných a zahraničních společností	59, 224, 587
Evropský koutek	60, 1035
Výuka chemie	62, 1036
Osobní zprávy	62, 225, 590, 1036
Střípky a klípky o světových chemících	63, 225, 587
Technické zajímavosti a služby	64, 226, 1039
Zákony, které ovlivní život chemiků	64, 227, 589, 1038
Knihy, literatura, informace a web	1044

Poezie	228
Zajímavosti ze světa vědy a techniky	65, 229
Aprílový klub	67, 231, 1040
Odborná setkání	68, 231, 1041
Akce v ČR a v zahraničí	71, 232, 590, 1045
Zprávy z redakce a dopisy redakci	1045
Bulletin představuje	1044
Volná místa	1044
Noví členové ČSCH	77, 241
Výročí a jubilea	78, 242, 592, 1046

Autorský rejstřík 97 (2003)

Autor Index 97 (2003)

(úv) úvodník, (ref) přehledný referát, (nt) nomenklatura a terminologie, (l) laboratorní přístroje a postupy, (ip) international projects, (rec) recenze, (d) diskuse, (os.zp.) osobní zprávy, (s) odborná setkání, (v.ch.) výuka chemie, (z) zprávy, (b) bulletin

- Adam T.: (ref) 93
- Bakardjieva S.: (l) 45
Barančíková G.: (ref) 991
Barek J.: (úv) 133, 975, (l) 114, 957,
(s) 1091, 1199
Bělohav Z.: (ref) 1176
Benická E.: (l) 41
Berka L.: (b) 581
Bernauer B.: (ref) 255
Bielavská M.: (l) 1190
Bílek M.: (d) 971
Blazsek M.: (ref) 146
Borsig E.: (ref) 1052
Bouchal P.: (ref) 29
Branny P.: (ref) 24
- Ciahotný K.: (l) 562
- Čapek L.: (ref) 1007
Čeppan M.: (ref) 140, 265
Čermák J.: (ref) 9
Černá M.: (l) 571
Čopíková J.: (l) 571
Čuvanová S.: (ref) 260
- Dadáková E.: (l) 558
Danko M.: (ref) 1052
Demnerová K.: (ip) 206
Dercová K.: (ref) 991
Diviš P.: (ref) 1184
Dobšík M.: (l) 166
Dočekalová H.: (ref) 1184
Doležalová I.: (ref) 548
Doskočil J.: (ref) 1176
Drašar P.: (úv) 1051, (rec) 970, 1198,
(b) 1029
Dziačková L.: (l) 1017
Dziechciarková M.: (ref) 548
- Fadrná R.: (l) 964
Fährnich J.: (l) 119
- Finger P.: (ref) 983
Fischer J.: (l) 114
Forejtníková H.: (ref) 1168
Friess K.: (ref) 1151
Fryčák P.: (ref) 93
Fusek M.: (ref) 192
- Gavařová Z.: (ref) 260
Glatz Z.: (ref) 86
Greplová M.: (ref) 548
- Harmatha J.: (os.zp.) 123
Hartman M.: (ref) 9, 942, 976
Haubová Š.: (ref) 949
Havel J.: (l) 109
Herink T.: (ref) 1176
Hetflejš J.: (rec) 214
Hocek M.: (ref) 1145
Holý A.: (os.zp.) 277
Holý P.: (úv) 81
Horák V.: (ref) 1157
Hrdlička F.: (l) 171
Hrdlovič P.: (ref) 1052
Huclová J.: (ref) 246
Hušková R.: (ref) 93
Hykrdová L.: (l) 101
Hynek V.: (ref) 1151
- Charvátová K.: (ref) 155
Chour J.: (ref) 976
- Jančář L.: (l) 269
Jančovičová V.: (ref) 265
Janků Z.: (rec) 1087, (b) 53
Janoušková D.: (l) 1024
Jindra J.: (rec) 214, 577, (b) 220
Jirgllová H.: (l) 562
- Kahle V.: (ref) 86
Kahovec J.: (nt) 200, 557, 1016, (rec) 576
Karlíček R.: (ref) 246
Kasal A.: (ref) 921
- Kassa J.: (l) 1190
Kaučič V.: (úv) 1
Kizek R.: (ref) 1003
Klejdus B.: (ref) 530, 1003
Koruna I.: (ref) 983
Kostrhounová-Štěpánková R.: (l) 269
Kotyk A.: (nt) 37
Koutek B.: (ip) 206
Koutský M.: (l) 171
Kratochvíl B.: (z) 1092, (úv) 1144
Kratochvílová V.: (rec) 1087
Kroulíková M.: (ref) 192
Krupčík J.: (l) 41
Křesálková M.: (ref) 155
Kubán V.: (ref) 530, 1003
Kubínová R.: (ref) 1168
Kučera I.: (ref) 29
Kučera J.: (ref) 1070
Kuchař M.: (ref) 1181
Kupec J.: (ref) 155
Kusá H.: (l) 562
Kvasničková L.: (ref) 86
Kyseláková M.: (l) 558
Kyselová Z.: (ref) 991
- Lebeda A.: (ref) 548
Lemr K.: (ref) 93
Leníček J.: (l) 1074
Lörinczová I.: (ref) 265
- Machníková E.: (l) 171
Malec B.: (ref) 140
Malijevský A.: (ref) 3
Mařová A.: (ref) 991
Mannscheck A.: (l) 1193
Matus J.: (l) 569
Melenová L.: (l) 562
Melicherčík M.: (v.ch.) 125
Melicherčíková D.: (v.ch.) 125
Ménová P.: (úv) 919
Mikula M.: (ref) 140
Mikuška P.: (l) 166

Modrianský M.: (ref) 540
Mohelský M.: (b) 581
Muck A.: (l) 957
Mydlová J.: (l) 41

Nachtigall P.: (ref) 1070
Novotná M.: (l) 571
Novotná-Rychtecká A.: (l) 1074
Novotný L.: (l) 1083

Obalová L.: (ref) 255
Opatová H.: (ref) 548
Oswald P.: (l) 41

Paleta O.: (rec) 1087, (b) 1029
Patočka J.: (rec) 577
Pavlíková F.: (z) 1092
Podešva J.: (úv) 245
Pospíšil J.: (l) 1193
Potáček M.: (l) 1193
Pour M.: (ref) 1061
Přidal J.: (ref) 160
Příkrylová V.: (ref) 540

Reháková M.: (ref) 140, 260
Rimár J.: (ref) 260
Rotschová J.: (ref) 83
Ruml T.: (ref) 24, 192, 949
Rúriková D.: (l) 1017
Růžek P.: (l) 562
Růžička J.: (ref) 986
Růžička V.: (ref) 3

Řezanka P.: (l) 119

Sándorfy C.: (ref) 182
Sedláčková L.: (ref) 24
Sejáková Z.: (ref) 991
Sergejevová M.: (ref) 986
Smetková V.: (ref) 1184
Smolková-Keulemansová E.: (ref) 134
Sommer L.: (l) 269
Stránský K.: (ip) 206
Stratil P.: (ref) 530
Strnad P.: (ref) 949
Svoboda K.: (ref) 9, 942, 976
Svoboda L.: (l) 1024
Synytsya A.: (l) 571

Šauliová J.: (l) 1079
Šebková S.: (l) 201
Šedo O.: (l) 109
Šimánek V.: (úv) 181
Šípek M.: (ref) 1151
Šmídová I.: (l) 571
Šňupárek J.: (os.zp.) 123
Špička J.: (l) 1024
Štengl V.: (l) 45
Štěrbová D.: (ref) 530
Šubrt J.: (l) 45

Tesařík B.: (rec) 578
Trávníček M.: (l) 1193
Trnka O.: (ref) 9, 942, 976
Trnková L.: (ref) 1003

Tříška J.: (l) 558

Ulrichová J.: (ref) 548

Vacek J.: (ref) 1003
Vacek M.: (ip) 206
Valentová K.: (ref) 540, 548
Valter B.: (b) 1029
Vavruch I.: (b) 219
Večeřa Z.: (l) 166
Veselý V.: (ref) 942, 976
Vinšová J.: (ref) 1157
Vítek L.: (ref) 24
Voldřich K.: (z) 1200
Volka K.: (l) 961
Volková L.: (l) 961
Vošta J.: (l) 171
Vrchotová N.: (l) 558

Waisser K.: (rec) 179
Walterová D.: (ref) 540
Wang J.: (l) 957
Wichterlová B.: (ref) 1007
Wimmer Z.: (ip) 206

Yosypchuk B.: (l) 1083

Zábranský M.: (ref) 3
Zámotný P.: (ref) 1176
Zarevúcka M.: (ip) 206
Zima J.: (l) 114
Zmija R.: (l) 1079

ČESKÁ SPOLEČNOST CHEMICKÁ
CZECH CHEMICAL SOCIETY

vydává ve spolupráci
s Vysokou školou chemicko-technologickou v Praze, s Českou společností průmyslové chemie a Ústavem organické chemie a biochemie, Akademií věd České republiky za finanční podpory Nadace Českého literárního fondu

published in cooperation
with Institute of Chemical Technology in Prague, Czech Society of Industrial Chemistry, Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic with financial assistance of the Czech Literary Foundation

CHEMICKÉ LISTY

CHLSAC 97, 527 – 1209 (2003)

Vedoucí redaktor

Editor

B. KRATOCHVÍL

Redakční kruh

Editorial Board

J. BAREK, Z. BĚLOHLAV, P. DRAŠAR, J. HETFLEJŠ, P. HOLÝ, P. CHUCHVALEC,
J. PODEŠVA, P. RAUCH, J. VOLKE

Zahraniční a oblastní redaktori

Foreign and Regional Editors

F. ŠVEC (USA), L. OPLETAL (Hradec Králové)

Redakční rada

Advisory Board

E. BORSIG, M. ČERNÁ, L. ČERVENÝ, E. DIBUSZOVÁ, J. HANIKA, J. CHURÁČEK,
I. KADLECOVÁ, J. KÁŠ, J. KOUBEK, T. MÍŠEK, J. PACÁK, V. PAČES,
O. PALETA, V. RŮŽIČKA, I. STIBOR, V. ŠIMÁNEK, R. ZAHRADNÍK

Výkonná redaktorka

Editorial Assistant

R. ŘÁPKOVÁ

Ročník 97 (2003)

Volume 97 (2003)

Listy chemické, ročník 127 – Časopis pro průmysl chemický, ročník 113

Str. 527 – 1209

ISSN 0009-2770

