

## POUŽITÍ MOLEKULOVÝCH SÍT A ZEOLITŮ V ORGANICKÉ SYNTÉZE

JIŘÍ ČEJKA

Ústav fyzikální chemie Jaroslava Heyrovského, Akademie věd České republiky, Dolejškova 3, 182 23 Praha 8

Zeolity a jim strukturně blízká anorganická molekulová síta ovlivnila velmi podstatným způsobem vývoj heterogenní katalýzy v posledních padesáti letech. Zeolity našly své první průmyslové použití při zpracování ropy a následně ovládly řadu průmyslových kysele katalyzovaných procesů v petrochemii. V posledním desetiletí můžeme nalézt další významný trend ve využití zeolitů jako katalyzátorů a to v oblasti syntézy chemických specialit a také v ochraně životního prostředí.

Hlavní důvody pro velice široké uplatnění zeolitů jsou tyto:

- i) zeolity představují vysoce uspořádané krystalické hlinito-křemičitany s přesně definovanou kanálovou strukturou,
- ii) počet strukturních typů zeolitů přesahuje několik set,
- iii) u jednotlivých strukturních typů je možné měnit chemické složení a tudíž možnosti jejich použití,
- iv) tvarová selektivita zeolitů,
- v) nezávadnost pro životní prostředí.

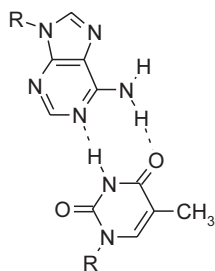
Cílem tohoto příspěvku je ukázat možnosti katalyzátorů na bázi zeolitů a anorganických molekulových sít v organické syntéze, které umožňuje spojení jejich vhodných strukturních a chemických vlastností. Katalytické vlastnosti budou ukázány na řadě příkladů z acidobazické a redox katalýzy, přičemž podrobně bude sledován zejména vztah mezi strukturou daného molekulového síta, strukturou katalyticky aktivních center a průběhem dané chemické reakce.

## MODIFIKACE A ANALOGY PÁRŮ NUKLEOBÁZÍ – CESTA K CHEMICKÉ GENETICE

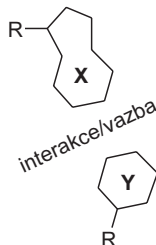
MICHAL HOCEK

Ústav organické chemie a biochemie, Akademie věd České republiky, Flemingovo n. 2, 166 10 Praha 6

Kromě stručného úvodu do struktury nukleových kyselin a zejména párování nukleobází budou diskutovány různé typy



AT pár



obecné schéma umělého páru modifikovaných nukleobází

modifikací přirozených purinových a pyrimidinových bází a design a syntéza umělých párů bází založených na principu a) vodíkových vazeb modifikovaných nukleobází<sup>1</sup>, b) slabých interakcí aromatických jader<sup>2</sup>, c) komplexaci kationtů kovů<sup>3</sup> a d) kovalentních vazeb<sup>4</sup>. Široké spektrum potenciálních možností využití těchto látek zahrnuje oblasti farmakochemie (interkalátory, cross-linky, antisense a antigene terapie) i chemické biologie (univerzální nukleobáze, rozšíření genetické abecedy<sup>5</sup> atd.).

Tento projekt je součástí výzkumného záměru Z4055905 a byl podporován GA ČR (grant č. 203/00/0036).

## LITERATURA

- Hirao I., Ohtsuki T., Fujiwara T., Mitsui T., Yokogawa T., Okuni T., Nakayama H., Takio K., Yabuki T., Kigawa T., Kodama K., Yokogawa T., Nishikawa K., Yokoyama S.: *Nature Biotechnol.* 20, 177 (2002).
- Mathias G., Hunziker J.: *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 41, 3203 (2002).
- Tanaka K., Yamada Y., Shionoya M.: *J. Am. Chem. Soc.* 124, 8802 (2002).
- Havelková M., Dvořák D., Hocek M.: *Tetrahedron* 58, 7431 (2002).
- Wang L., Schultz P. G.: *Chem. Commun.* 2002, 1.

## FOTOTRANSFORMACE ORGANICKÝCH LÁTEK V LEDU

PETR KLÁN<sup>a</sup>, JANA KLÁNOVÁ<sup>b</sup>  
a IVAN HOLOUBEK<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Katedra organické chemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Kotlářská 2, 611 37 Brno, <sup>b</sup>RECETOX-TOCOEN, Masarykova univerzita, Kamenice 126/3, 625 00 Brno

e-mail: klan@sci.muni.cz

Sníh je významnou formou srážek, zvláště ve vyšších nadmořských výškách a/nebo zeměpisných šířkách a povrch planety je celoročně pokryt z více než 10 % ledem. Během posledních let bylo možné sledovat vzrůstající zájem o analýzu chemického znečištění sněhových vrstev a ledovcových jader v polárních oblastech<sup>1</sup>. Zatímco fotochemická aktivace je jednou ze základních hnacích sil při transformacích organických sloučenin v atmosféře i ve vodě, dlouho se předpokládalo, že k fotochemickým reakcím v přírodním ledu téměř nedochází. Naše současné znalosti o fotochemických přeměnách organických látek v matici ledu jsou malé, ale zdá se, že řada výzkumných skupin se touto otázkou začíná zabývat<sup>2</sup>.

Naše první laboratorní experimenty ukázaly, že organické sloučeniny podléhají v ledu velmi neobvyklým fotoreakcím<sup>3,4</sup>. Například fotolýza polychlorbenzenů v ledu vede ke vzniku derivátů polychlorbifenylů<sup>5,6</sup>, namísto fenolů, které jsou hlavními fotosolvolytickými produkty v kapalně vodě. Izolované dimery vznikají jako důsledek agregace výchozích látek v ka-

vitách<sup>7</sup> matrice nebo na tzv. hranicích zrn<sup>8</sup>, díky specifickým interakcím (nikoliv však reakcím) mezi polárními molekulami vody a hydrofobními molekulami reagentů. Podobné chování jsme pozorovali i při fotolýze chlorfenolů v ledu<sup>9</sup>. Zatímco ve vodě vznikají produkty nukleofilní radikálové substituce, jako jsou chinony, v tuhé matici dochází k tvorbě chlordinhydroxybifenylů. Ve všech případech tedy vznikají látky toxičtější, než byly výchozí sloučeniny. V současné době se zabýváme studiem mechanismů těchto fototransformací, vlivu různých fyzikálních faktorů a přítomnosti jiných látek v matici (např. peroxidu vodíku produkujícího hydroxylové radikály nebo anorganických solí). Stejný typy reakcí jsme nedávno pozorovali i u reálných vzorků, které byly podrobeny fotolýze slunečním zářením za polárním kruhem.

Specifickými fotoreakcemi v ledu se dnes velmi intenzivně zabývají astrochemikové, zejména díky teorii o možném vzniku biologicky významných sloučenin (např. aminokyselin) v kometárním ledu za astrofyzikálních podmínek<sup>10,11</sup>.

Studium fotochemických reakcí v ledu je dnes velmi aktuální v souvislosti s polárními oblastmi, kde dochází již po několik desetiletí ke kumulaci organických polutantů v důsledku jejich dálkového transportu. Tyto látky se pak mohou transformovat na sekundární polutanty a následovně se uvolnit do biosféry díky globálnímu oteplování planety<sup>2</sup>. Přednáška bude zaměřena na současný stav znalostí o fyzikálních a chemických vlastnostech ledu, (foto)chemickém chování organických sloučenin v jeho matici a možném environmentálním důsledku fototransformací, které mohou probíhat v polárních oblastech a na povrchu krystalů v horních vrstvách atmosféry.

## LITERATURA

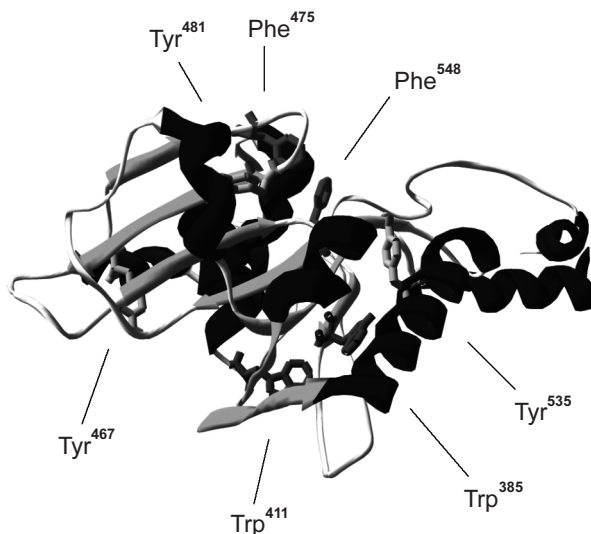
1. Wolff E.: Mar. Pollut. Bull. 25, 274 (1994).
2. Klán P., Holoubek I.: Chemosphere 46, 1201 (2002).
3. Klán P., Janošek J., Kříž Z.: J. Photochem. Photobiol., A 134, 37 (2000).
4. Dubowski Y., Hoffmann M. R.: Geophys. Res. Lett. 27, 3321 (2000).
5. Klán P., Ansorgová A., Del Favero D., Holoubek I.: Tetrahedron Lett. 41, 7785 (2000).
6. Klán P., Del Favero D., Ansorgová A., Klánová J., Holoubek I.: Environ. Sci. Pollut. R. 8, 195 (2001).
7. Weiss R. G., Ramamurthy V., Hammond G.: Acc. Chem. Res. 26, 530 (1993).
8. Petrenko V. F., Whitworth R. W.: *Physics of Ice*. Oxford University Press, Oxford 1999.
9. Klánová J., Klán P., Nosek J., Holoubek I.: Environ. Sci. Technol., zasláno k publikaci.
10. Bernstein M. P., Dworkin J. P., Sandford S. A., Cooper G. W., Allamandola L. J.: Nature 416, 401 (2002).
11. Caro G. M. M., Meierhenrich U. J., Schutte W. A., Barbier B., Segovia A. A., Rosenbauer H., Thiemann W. H. P., Brack A., Greenberg J. M.: Nature 416, 403 (2002).

## UŽITÍ VIBRAČNÍ SPEKTROSKOPIE A HOMOLOGNÍHO MODELOVÁNÍ KE STUDIU PROTEINŮ: URČENÍ SEKUNDÁRNÍ A TERCIÁLNÍ STRUKTURY A CHARAKTERIZACE ATP-VAZEBNÉHO MÍSTA H<sub>4</sub>-H<sub>5</sub> SMYČKY $\alpha$ -PODJEJEDNOTKY Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPasy

VLADIMÍR KOPECKÝ Jr.<sup>a,b,c</sup>,  
RÜDIGER ETTRICH<sup>d</sup>,  
KATEŘINA HOFBAUEROVÁ<sup>b,c</sup>

<sup>a</sup>Fyzikální ústav, Univerzita Karlova, Ke Karlovu 5, 121 16 Praha 2, <sup>b</sup>Katedra biochemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Albertov 2030, 128 40 Praha 2, <sup>c</sup>Fyziologický ústav, Akademie věd České republiky, Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4, <sup>d</sup>Ústav fyzikální biologie, Jihočeská univerzita, Zámek 136, 373 33 Nové Hradky  
e-mail: kopecky@karlov.mff.cuni.cz, hofbauer@biomed.cas.cz, ettrich@greentech.cz

Funkce proteinů je velice silně propojena s jejich strukturou. Tedy, chceme-li plně pochopit enzymatickou nebo strukturní funkci proteinu, musíme určit jeho třírozměrnou strukturu. Ačkoli dnes existují velice precizní experimentální techniky k určení 3D struktury proteinů, i.e. NMR spektroskopie a RTG analýza, mají svá omezení. Krystalografie proteinů je časově náročnou metodikou, vyžadující extrémní čistotu vzorků a velice specifické fyzikálně-chemické podmínky pro krystalizaci proteinu – kterých nemusí být vždy dosaženo. NMR spektroskopie vyžaduje speciálně připravené vzorky o vysokých koncentracích a navíc stanovení struktury proteinů větších než 30 kDa je velice obtížné. Z těchto důvodů může být pro řešení určitých problémů velice vhodné spojení homologního a energetického modelování s vibrační spektroskopií. Homologní modelování vytváří detailní 3D struktury proteinu na základě analogie s již známými strukturami, přičemž je vhodné správnost získaných struktur detailně ověřit, k čemuž se výborně hodí vibrační spektroskopie, i.e. Ramanova a infračervená spektroskopie. Ačkoli tyto metodiky neposkytují tak komplexní informaci o struktuře proteinů, jejich nenároč-



nost a především spojení s modelem tento nedostatek vyvažují. Jako příklad užití tohoto nového progresivního přístupu ke studiu struktury proteinů jsme si zvolili  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasu.

$\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa je integrální membránový protein, který se podílí na transportu  $\text{Na}^+$  a  $\text{K}^+$  iontů proti elektrochemickému gradientu. Tento protein se skládá ze dvou podjednotek – z katalytické  $\alpha$ -podjednotky a glykoproteinové  $\beta$ -podjednotky.  $\alpha$ -Podjednotka je tvořena deseti transmembránovými segmenty s velkou cytoplasmatickou smyčkou lokalizovanou mezi transmembránovými helixy  $\text{H}_4$  a  $\text{H}_5$ , přičemž na této smyčce se nachází ATP-vazebné a fosforylační místo proteinu<sup>1</sup>.

$\text{H}_4$ – $\text{H}_5$  smyčka, stejně tak jako celá  $\alpha$ -podjednotka, vykazuje vysokou homologii (33 % identitu a 53 % podobnost) s  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPasou, jejíž struktura již byla vyřešena nedávno pomocí rentgenostrukturní analýzy<sup>2</sup>. Díky tomu jsme mohli pomocí programu Modeller vytvořit trojrozměrný model  $\text{H}_4$ – $\text{H}_5$  smyčky, který byl dále optimalizován v programu Sybyl<sup>3</sup>. Podařilo se nám rovněž dokovat ATP na smyčku a tak předpovídat aminokyseliny tvořící ATP-vazebné místo za použití programu Autodock<sup>3</sup>.

Následně jsme připravili nukleotidy vážící N-doménu této smyčky, přičemž pGEX- $\text{H}_4$ – $\text{H}_5$  vektor byl konstruován vložením příslušného cDNA fragmentu ATPasy z myšního mozku do pGEX-2T klonovacího místa mezi BamHI a EcoRI. Ligovaná DNA byla následně transformována do *Escherichia coli* Dh5a buněk. U takto připraveného vzorku jsme stanovili obsah sekundárních struktur pomocí analýzy spekter UV CD (182–260 nm), Ramanovy (amid I) a infračervené spektroskopie (amid I a II). Metodiky pro spektroskopické určení sekundárních struktur, založené na analýze nejmenších čtverců, faktorové analýze, dekonvoluci či neuronových sítích, plně potvrdily modelovou strukturu. Detailní strukturní informace o okolí jednotlivých aromatických aminokyselin přítomných v N-doméně jsme získali pomocí analýzy Ramanova spektra tohoto proteinu. Opět se ukázalo, že model dobře souhlasí v okolí aromatických aminokyselin ( $\text{Trp}^{385}$ ,  $\text{Trp}^{411}$ ,  $\text{Tyr}^{467}$ ,  $\text{Tyr}^{481}$  a  $\text{Tyr}^{535}$ ) s experimentem, nicméně experiment poukázal na některá jeho omezení<sup>4</sup>. Vazba ATP na N-doménu byla sledována pomocí Ramanovy diferenční spektroskopie. Na základě spektrálních rozdílů se nám podařilo prokázat, že při vazbě ATP dochází pouze k lokální změně konformace N-domény, přičemž ve vazebném místě je přítomen Phe, který interaguje stohovou interakcí s bází ATP (cit.<sup>4</sup>). Následné experimenty založené na mutacích vazebného místa potvrdily modelovou předpověď, že jde o  $\text{Phe}^{475}$  (cit.<sup>5</sup>) (v blízkosti vazebného místa se nachází pravděpodobně i  $\text{Phe}^{548}$ ).

Spojením vibrační spektroskopie s molekulárním modelováním proteinů se nám tak podařilo úspěšně vyřešit strukturu N-domény  $\text{H}_4$ – $\text{H}_5$  smyčky  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasy, přičemž tento přístup se ukázal být velmi vhodným pro řešení struktur dalších proteinů, pro které je velice obtížné použít NMR spektroskopii či krystalografii.

Tento výzkum je podporován granty GA ČR (č. 204/01/0254, č. 204/01/1001) a MŠMT (č. MSM113100001, No. MSM1230001).

## LITERATURA

1. Lingrel J. B., Kuntzweiler T.: J. Biol. Chem. 269, 19659 (1994).

2. Toyoshima C., Nakasako M., Nomura H., Ogawa H.: Nature 405, 647 (2000).
3. Ettrich R., Melicherčík M., Teisinger J., Ettrichová O., Krumscheid R., Hofbauerová K., Kvasnička P., Schoner W., Amler E.: J. Mol. Model. 7, 184 (2001).
4. Hofbauerová K., Kopecký V. Jr., Ettrich R., Ettrichová O., Amler E.: Biopolymers 67, 242 (2002).
5. Kubala M., Hofbauerová K., Ettrich R., Kopecký V. Jr., Krumscheid R., Plášek J., Teisinger J., Schoner W., Amler E.: Biochem. Biophys. Res. Commun. 297, 154 (2002).

## EXPERIMENTÁLNÍ A TEORETICKÁ CHEMIE KARBENOIDŮ

### JAROSLAV KVÍČALA

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

Sloučeniny, nesoucí na jednom atomu uhlíku zároveň atom kovu a halogenu, jsou z důvodu reaktivity analogické karbenům nazývány karbenoidy. Charakteristickým rysem karbenoidů ve srovnání s běžnými organokovovými sloučeninami je omezená stabilita, která roste v závislosti na rostoucí míře *p*-charakteru centrálního atomu uhlíku v řadě alkylkarbenoidy, cyklopropylkarbenoidy, alkenylkarbenoidy; v závislosti na atomu kovu v řadě Li, Mg, Al, Zn, Cu, Sn; a v závislosti na atomu halogenu v řadě F, Cl, Br, I.

Karbenoidy se při zahřívání rozkládají na singletové karbeny, s elektrofilními činidly pak reagují analogicky nehalogenovaným organokovovým činidlům. Některé karbenoidy jsou atakovány i nukleofilními činidly s odštěpením atomu halogenu, což je zřejmě způsobeno prodloužením vazby uhlík–halogen v důsledku koordinace atomu halogenu ke kovu. Alkenylkarbenoidy substituované v  $\beta$ -poloze arylem při zahřívání podléhají Fritzově–Buttenbergově–Wiechellově přesmyku za vzniku acetylenů<sup>1</sup> (schéma 1).

Karbenoidy jsou připravovány postupy analogickými přípravám organokovových sloučenin. Zatímco běžné organoko-

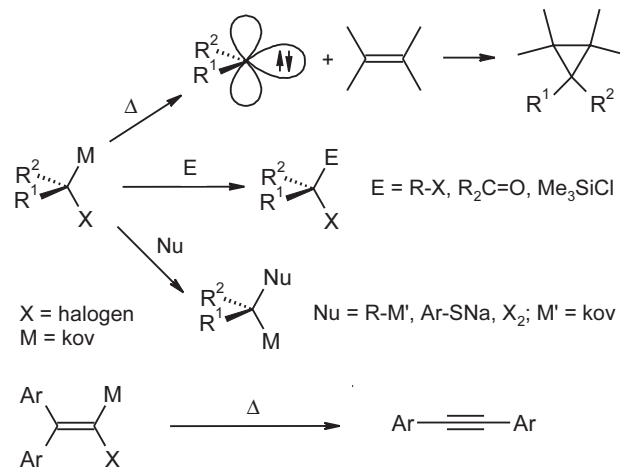


Schéma 1

vové sloučeniny jsou nejčastěji získávány přímo reakcí halogenovaných sloučenin s kovem nebo v případě sloučenin s kyselým vodíkem s vhodnouází jako je LDA, vzhledem k nízké stabilitě karbenoidů je často dáována přednost výměně kovu pomocí organokovového činidla nebo vzácněji reakci vhodné soli s diazoalkany<sup>2</sup> (schéma 2).

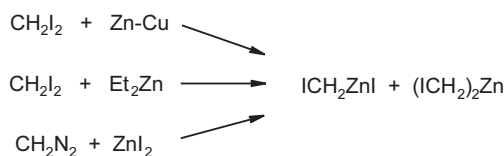


Schéma 2

V případě některých karbenoidů s velmi nízkou stabilitou, např. brommethylithia, je možné zvýšit stabilitu přidáním vhodné soli nebo generovat karbenoid v přítomnosti elektrofilního činidla.

Karbenoidy jsou využívány k celé řadě reakcí. Simmons-Smithovo činidlo, jedmethylzinkium-jodid, je nejčastějším činidlem pro přípravu substituovaných cyklopropanů. Pomocí karbenoidů je možné připravit (halomethyl)silany, (halomethyl)alkoholy, (halomethyl)ketony a substituované oxirany. Asi nejzajímavější aplikací je využití dibrommethylithia nebo dichlormethylithia pro enantioselektivní stavbu nových uhlíkatých stereogenních center s využitím sloučenin boru, které se označují jako borová homologace. Této metody bylo využito např. pro „krok za krokem“ syntézu L-ribosy<sup>3</sup> a její možnosti názorně ilustruje syntéza *exo*-brevicominu (schéma 3).

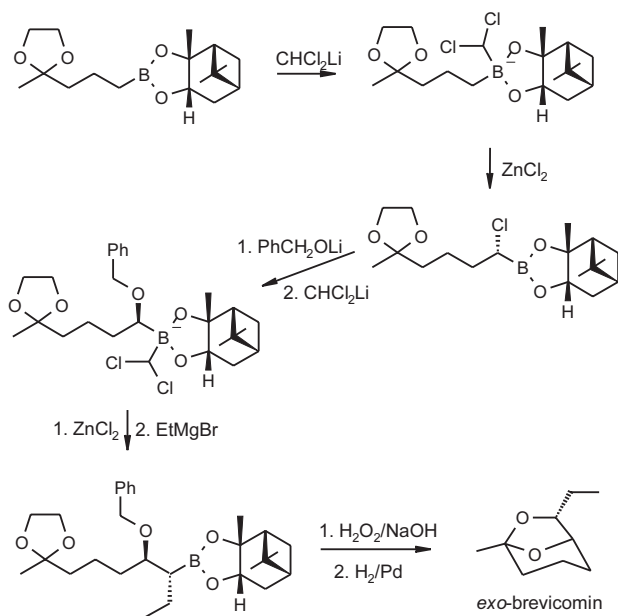


Schéma 3

Nízká stabilita některých karbenoidů byla hlavní příčinou zájmu teoretických chemiků. *Ab initio* výpočty ukázaly, že izolované lithné karbenoidy obsahující více halogenů mají

četná lokální minima na hyperploše potenciální energie, přičemž nejstabilnější se jeví struktura s trojúhelníkovým uspořádáním uhlík–lithium–halogen. Výpočty solvatovaných molekul ukazují na vyšší stabilitu dimerů karbenoidů, což je však v rozporu s jedinou známou publikovanou rentgenovou strukturou substituovaného chlorkarbenoidu. Nízkoteplotní <sup>13</sup>C NMR spektra potvrdila monomerní strukturu karbenoidů na rozdíl od běžných organolithných sloučenin, které vytvářejí nejčastěji tetramerní klastry.

Přes značný syntetický potenciál karbenoidy zůstávají stále velmi plodným a málo probádaným územím, kde se s výhodou setkávají experimentální organická a analytická chemie s chemií teoretickou.

## LITERATURA

1. Köbrich G.: Angew. Chem., Int. Ed. Engl. 11, 473 (1972).
2. Denmark S. E., Edwards J. P., Wilson S. R.: J. Am. Chem. Soc. 114, 2592 (1992).
3. Matteson D. S., Peterson M. L.: J. Org. Chem. 52, 5116 (1987).

## STRUKTURNĚ-REAKTIVNÍ VZTAHY ISOCHINOLINOVÝCH ALKALOIDŮ

### RADEK MAREK

Národní centrum pro výzkum biomolekul, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Kotlářská 2, 611 37 Brno  
e-mail: rmarek@chemi.muni.cz

Alkaloidy isochinolinového typu představují nejpočetnější a strukturně nejrozmanitější skupinu alkaloidů a jsou biogeneticky odvozeny od aminokyseliny tyrosinu. Přestože jejich role v organismech není zcela objasněna, významná je jejich autoprotektivní funkce<sup>1</sup>. Benzo[c]fenanthridinové, protoberberinové a protopinové alkaloidy se vyskytují v našich běžných rostlinách čeledi makovitých, dřšťálovitých a dalších. K nejznámějším patří vlašovičník větší, mák setý a dřšťál obecný.

Acidobazické reakce isochinolinových alkaloidů jsou dobře známy, avšak strukturní podstata těchto změn nebyla dlouho detailně prozkoumána. V příspěvku budou diskutovány základní strukturně-reaktivní vztahy vybraných isochinolinů v acidobazických reakcích a budou také zmíněny reakce některých benzofenanthridinů a protoberberinů s dalšími nukleofilními činidly, především kyslíkatými.

### Benzo[c]fenanthridiny

Benzofenanthridinové alkaloidy<sup>2</sup> I jsou v bazickém prostředí konvertovány na volné báze se strukturou hydroxy aduktů<sup>3,4</sup> II nebo bimolekulárních aminoacetalů<sup>5–9</sup> III. V závislosti na podmínkách může převažovat struktura II nebo III (schéma 1). V příspěvku bude diskutována metodika stanovení jednotlivých složek a jejich vzájemných konverzí.

### Protoberberiny

Protoberberinové alkaloidy IV mají přes svou strukturní podobnost s benzofenanthridiny významně odlišné chemické chování. Dominantní bazickou formou je hydroxyderivát V

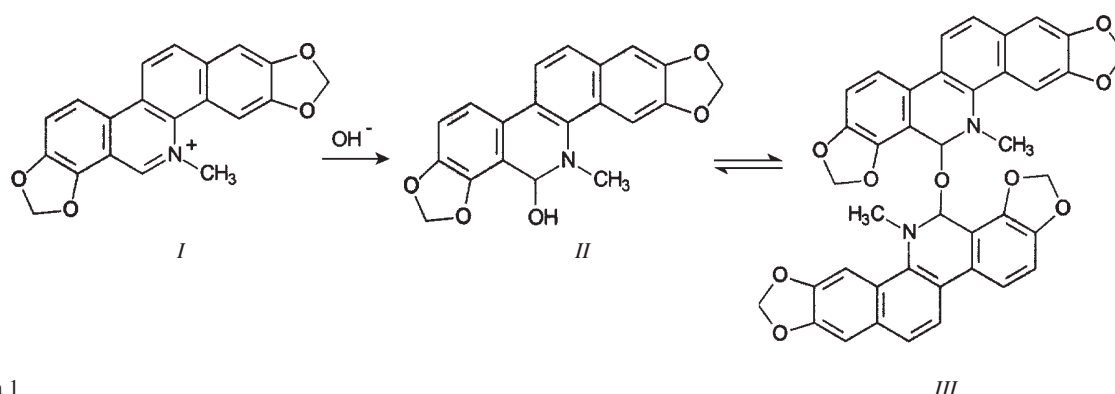


Schéma 1

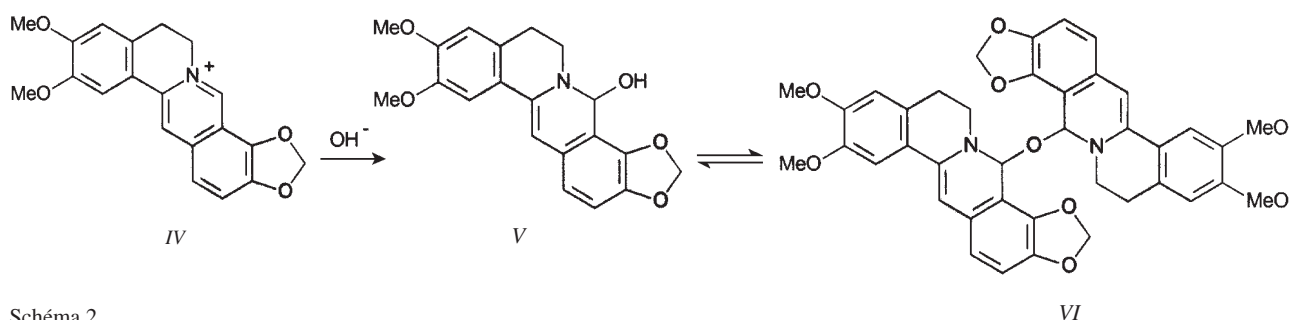
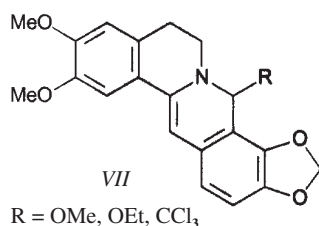


Schéma 2



a bimolekulární aminoacetal VI se v roztoku vyskytuje pouze jako minoritní složka (schéma 2). Součástí prezentace bude rovněž diskuse přípravy některých aduktů VII s nukleofily a porovnání jejich spektrálních charakteristik s kontroverzními literárními údaji<sup>10</sup>.

#### Protopiny

Protopinové alkaloidy jsou izolovány z rostlinného materiálu ve formě tricyklické volné báze VIII. Za fyziologických podmínek však dochází k přeměně na tetracyklickou sůl IX, která vzniká protonací karbonylu a vytvořením vazby mezi uhlíkem a dusíkem<sup>11</sup>. Vznik a relativní stabilita *cis* a *trans* derivátů IX a X je v současnosti studována pomocí NMR spektroskopie za různého pH, rentgenostrukturní analýzy a kvantově-chemických metod (schéma 3).

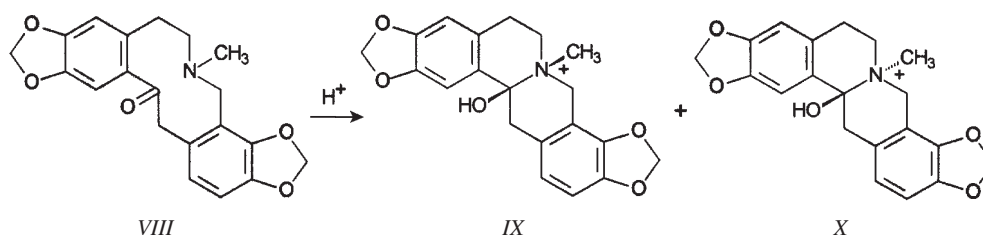


Schéma 3

#### LITERATURA

1. Bentley K. W.: *The Isoquinoline Alkaloids*. Harwood academic publishers, Amsterdam 1998.
2. Marek R., Toušek J., Dostál J., Slavík J., Dommissie R., Sklenář V.: *Magn. Reson. Chem.* 37, 781 (1999).
3. Dostál J., Marek R., Slavík J., Táborská E., Potáček M., Sklenář V.: *Magn. Reson. Chem.* 36, 869 (1998).
4. Sečkářová P., Marek R., Dostál J., Dommissie R., Esmans E. L.: *Magn. Reson. Chem.* 40, 147 (2002).
5. Marek R., Sklenář V., Dostál J., Slavík J.: *Tetrahedron Lett.* 37, 1655 (1996).
6. Marek R., Toušek J., Králík L., Dostál J., Sklenář V.: *Chem. Lett.* 1997, 369.
7. Dostál J., Slavík J., Potáček M., Marek R., Sklenář V., de Hoffmann E., Rozenberg R., Tinant B., Declercq J.-P.: *Phytochemistry* 47, 879 (1998).
8. Dostál J., Slavík J., Potáček M., Marek R., Humpa O., Sklenář V., Toušek J., de Hoffmann E., Rozenberg R.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 63, 1045 (1998).
9. Toušek J., Dommissie R., Dostál J., Žák Z., Pieters L., Marek R.: *J. Mol. Struct.* 613, 103 (2002).

10. Marek R., Sečkářová P., Hulová D., Marek J., Dostál J., Sklenář V.: J. Nat. Prod., zasláno.
11. Dostál J., Žák Z., Nečas M., Slavík J., Potáček M.: Acta Crystallogr., Sect. C: Cryst. Struct. Commun. 57, 651 (2001).

## SACHARIDOVÝ KÓD

### JITKA MORAVCOVÁ

Ústav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6  
e-mail: Jitka.Moravcova@vscht.cz

Tradičně jsou sacharidy považovány za důležité jako zásobní a stavební jednotky živých organismů a jako součásti jiných biomolekul, např. nukleosidů. Teprve poté, co byla objevena jejich jedinečná úloha při přenosu informací v procesech biologického rozpoznávání, nastala skutečná exploze zájmu o chemii, biologii a biochemii sacharidů vázaných v organismu ve formě glykoproteinů a glykolipidů buněčných povrchů. Právě tyto glykokonjugáty jsou rozpoznávány proteiny (receptory lektinového typu nebo enzymy) v tak životně důležitých dějích, jako je např. adheze buněk, imunitní odpověď, invaze bakteriálních a virových patogenů, interakce s protilátkami a nebo tvorba metastáz některých linií melanomů. Vzhledem k tomu, že se tyto děje vždy uplatňují v počátečním stádiu onemocnění nebo nákazy, představují důležitý cíl při navrhování struktur perspektivních léků.

K tomu, aby skupina sloučenin tvořila „hardware“ organismu, musí splňovat kódovací část molekuly některá důležitá kritéria: musí být dostatečně malá, aby její syntéza nebyla energeticky náročná; zároveň musí mít potenciál pro snadnou a jednoznačnou změnu struktury tak, aby zašifrovaná informace byla dekodována s malou pravděpodobností chyby; musí být dobře prostorově přístupná. Všechny tyto podmínky splňují sacharidy. Jejich strukturní diversita je obrovská znásobená možností tvořit glykosidické vazby. Tak ze dvou molekul D-glukosy lze odvodit osm redukujících disacharidů. V porovnání s nukleovými kyselinami a lipidy mají ještě jednu unikátní vlastnost, a to je možnost tvořit rozvětvené struktury.

Sacharidy, mimo D-ribosy a 2-deoxy-D-ribosy, tvoří asi 5 % hmotnosti lidského těla a jsou složeny z devíti základních monosacharidových jednotek a jedné prominentní skupiny, která zahrnuje tzv. sialové kyseliny. Prakticky výhradně se sacharidy vyskytují v glykokonjugátech jako oligo- a polysacharidy vázané O- nebo N-glykosidovou vazbou nebo prostřednictvím tzv. GPI kotvy.

Cílem přednášky je podat základní přehled o struktuře glykokonjugátů a o charakteru jejich interakcí s proteiny ve vztahu k závažným zdravotním poškozením. Pozornost bude dále zaměřena na strategii vývoje léčiv na bázi oligosacharidů a jejich mimetik.

## DERIVÁTY 1-NITROPROPANU PŘÍRODNÍHO PŮVODU: VÝSKYT A BIOLOGICKÁ AKTIVITA

### LUBOMÍR OPLETAL

Katedra farmaceutické botaniky a ekologie, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova v Praze, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové  
e-mail: opletal@faf.cuni.cz

1-Nitropropan, v živých organismech se nevyskytující, je strukturním základem dvou skupin poměrně kuriózních a v přírodě se vzácně vyskytujících látek: 3-nitropropanolu (a jeho čtyř glykosidů) a 3-nitropropionové kyseliny (a jejích dvaceti cukerných esterů obsahujících výlučně glukózu). Tyto látky jsou velmi zajímavé také tím, že se vyskytují v přírodě velmi disociovaně: 3-nitropropanol (3-NPA) nebyl nalezen v mikroorganismech, vyskytuje se pouze ve vyšších rostlinách, prakticky jen v rodu *Astragalus* (Fabaceae), 3-nitropropionová kyselina (3-NPK) byla nalezena v některých taxonech bakterií (*Streptomyces*) a mikromycet (*Aspergillus*, *Penicillium*), z vyšších rostlin pak pouze v čeledích Fabaceae, Violaceae, Corynocarpaceae a Malpighiaceae. Z biosyntetického hlediska je rovněž velmi zajímavé, že ani v jednom z dosud známých případů se nevyskytují obě nitrosloučeniny současně, ačkoliv oxidace primárních alkoholů na kyseliny je v rostlinných tkáních popisována. V rostlinách bývají přítomny tyto látky jak volné, tak vázané.

Studium biosyntézy těchto nitrosloučenin a snaha o její ovlivnění může mít velký praktický význam, a to jak u bakterií a mikromycet, tak u vyšších rostlin. Důvod tvorby 3-NPA u vyšších rostlin není dosud objasněn, v případě 3-NPK se naskytá otázka, zda je její tvorba vázána na spřažený bakteriální systém, uplatňující se při zpracování dusíku v rostlině, což se týká jen zástupců čeledi Fabaceae, anebo může být způsobena metabolismem určitých mikromycet, které kolonizují zelené rostliny (fungální kolonizace a s ní spojená produkce látek jsou v současnosti diskutovány např. u některých taxonů čeledi Convolvulaceae). Tato hypotéza se nabízí především proto, že z chemosystematického hlediska jsou do určité míry blízké pouze čeledi Malpighiaceae a Corynocarpaceae (řády Polygalales a Celastrales), čeledi Violaceae a Fabaceae jsou celkově navzájem vzdáleny (řády Violales a Finales). Sporný je rovněž názor, že tyto látky slouží k ochraně před napadením hmyzími škůdci z důvodu velmi úzké oblasti výskytu.

Největšího rozsahu praktického studia dosáhla 3-NPK a jejích šest esterů, izolovaných z taxonu *Coronilla varia* (Fabaceae). 3-NPK je synteticky dobře dostupná, cukerné estery (i když se v některých případech jedná o izomery), jsou z preparativního (izolačního) hlediska také poměrně jednoduše dostupné.

Volná kyselina způsobuje u zvířat kognitivní abnormality, striatální léze, temporální změny, ovlivňuje respirační řetězec v mozku a má řadu dalších toxických efektů. Z celkového pohledu tato látka způsobuje inhibici mitochondriálního dýchacího řetězce (inhibice sukcinatdehydrogenasy) a methemoglobinemii. Přitom je nutné konstatovat, že toxicita je velmi závislá na species, kterému je podána: citliví jsou hlodavci, málo citliví jsou přežvýkavci (v jejich ruminální tekutině byl identifikován *Denitrobacterium detoxificans* inakti-

vující část sloučeniny v rámci svého metabolismu). Tato poznání jsou důležitá zejména proto, že *Coronilla varia* je perspektivní pěstební rostlinou, která svojí kvalitou v některých směrech předčí vojtěšku. Celkový obsah 3-NPK (volné a po hydrolýze esterů) byl v době plné vegetace ve tkáních *Coronilla varia* sice nižší v nadzemní části (1,4–1,6 %) než v kořenech (2,5–2,7 %) je však patrné, že se v obou případech jedná o vysoké hodnoty, které surovinu pro praktické použití diskvalifikují. V současnosti stojí v popředí jak poznání biosyntézy 3-NPK, tak zpracování validní a citlivé analytické metody, umožňující sledování látky (a jejích esterů) v rostlinných a živočišných tkáních a zároveň provedení toxikologických studií na nehlodavcích (zejména hrabavých).

Započaté studium biologické aktivity esterů 3-NPK z hlediska případných pozitivních efektů (včetně např. insekticidní aktivity) je dosud neuzavřené a nepřineslo jednoznačné výsledky.

*Práce vznikla za podpory Výzkumného záměru 111600003 MŠMT.*

## SYNTÉZA SUBSTITUOVANÝCH POLY(ETHYLENGLYKOLŮ) A JEJICH APLIKACE

**MILOŠ SEDLÁK**

*Katedra organické chemie, Fakulta chemicko-technologická,  
Univerzita Pardubice, n. Čs. legii 565, 532 10 Pardubice  
e-mail: milos.sedlak@upce.cz*

Poly(ethylen glykoly) představují velmi dobře definované, jednoduché a snadno syntetizovatelné makromolekuly s unikátními vlastnostmi<sup>1</sup>, které je předurčují pro užití v chemii, farmacii a v biotechnologiích. Příklady zde uvedené nemohou být a nejsou zcela vyčerpávající, pouze dokumentují trendy několika posledních let. Rovněž nejsou diskutovány možnosti syntézy substituovaných poly(ethylen glykolů) metodami aniontové polymerace. Poly(ethylen glykoly) mají některé jedinečné vlastnosti, například jsou velmi dobře rozpustné ve vodě a většině organických rozpouštědel, nerozpustné jsou pouze v několika málo rozpouštědlech jako je diethylether, petrol ether a diethylen glykol. Vytvářejí různě stabilní komplexy s řadou kovů. Vhodně substituovaný poly(ethylen glykol) může být použit jako nosič funkčních skupin, specifických ligandů nebo molekul. Existují dva základní běžně dostupné typy poly(ethylen glykolů) (HO-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OH, PEG-diol) a methoxy poly(ethylen glykol) (CH<sub>3</sub>O-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OH, mPEG). Základní poly(ethylen glykolový) skelet dominantně předurčuje vlastnosti týkající se rozpustnosti modifikovaných katalyzátorů, to znamená, že reakce může probíhat za výhodných podmínek v homogenním prostředí (voda, organická rozpouštědla), ale změnou rozpouštědlového systému lze katalyzátor nebo nosič dobře izolovat a případně i regenerovat („Green Chemistry“). Komerčně nejběžnější jsou molekulové hmotnosti: 500; 1000; 2000; 5000; 10 000; 15 000; 20 000 g.mol<sup>-1</sup>. Produkty o molekulových

hmotnostech nad 20 000 g.mol<sup>-1</sup> jsou označovány jako: poly(ethylenoxid) (PEO) nebo poly(oxyethylen) (POE) nebo poly(oxiran) (PO) (CAS pro PEG je 25322-68-3). Koncové hydroxyskupiny poly(ethylen glykolů) lze použitím základních reakcí organické chemie transformovat<sup>2</sup> na reaktivní skupiny. Substituované poly(ethylen glykoly) lze čistit<sup>1</sup> srážením (ether, petrolether), krystalizací (ethanol, dimethoxyetan), chromatografií na iontoměničích a dialýzou, která je obzvláště vhodná k oddělení „malých“ molekul reaktantů použitých v přebytku. Běžnými fyzikálně-chemickými metodami (<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C NMR, FT-IR, MS -MALDI-TOF, GPC, HPLC) lze dobře charakterizovat substituované poly(ethylen glykoly). Aplikace v kombinatoriální syntéze je možné doložit řadou příkladů což dokumentuje<sup>3</sup> syntéza knihovny pentapeptidů metodou „Liquid-phase combinatorial synthesis“ (LPCS) s celkovými výtěžky<sup>3,4</sup> více jak 95 %. Další příklady ukazují využití substituovaných poly(ethylen glykolů) jako nosičů chirálních ligandů při asymetrických<sup>5-8</sup> syntézách nebo při syntéze blokovaných kopolymerů<sup>9-11</sup>. Blokovaný kopolymer poly(ethylen glykol)-b-poly(ethylenimin) modifikovaný různými funkčními skupinami byl následně aplikován jako polymerní templát<sup>10,11</sup> pro biomimetický růst minerálních krystalů ve vodném prostředí. Medicinální aplikace substituovaných poly(ethylen glykolů) jsou uvedeny v pracích<sup>12,13</sup>. Námí připravený<sup>14</sup> konjugát amfotericinu B je nadějný kandidát pro perorální lékovou formu, která dosud neexistuje.

*Práce byla podpořena projektem Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy CI MSM 253 100 001.*

## LITERATURA

- Harris J. M., v knize: *Poly(Ethylene Glycol) Chemistry* (Harris J. M., ed.). Plenum Press, New York 1992.
- Zalipsky S.: *Bioconjugate Chem.* 6, 150 (1995).
- Gravert D. J., Janda K. D.: *Chem. Rev.* 97, 489 (1997).
- Han H., Wolfe M. M., Brenner S., Janda K. D.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 92, 6419 (1995).
- Falchi A., Taddel M.: *Org. Lett.* 22, 3429 (2000).
- Sieber F., Wentworth P., Janda K. D.: *Molecules* 5, 1018 (2000).
- Benaglia M., Celentano G., Cozzi F.: *Adv. Synth. Catal.* 343, 171 (2001).
- Han H., Janda K. D.: *J. Am. Chem. Soc.* 118, 7632 (1996).
- Tauer K.: *Reactive Surfactants*, NATO ASI Ser. E, str. 463. Kluwer 1997.
- Sedlák M., Antonietti M., Cölfen H.: *Macromol. Chem. Phys.* 199, 247 (1998).
- Sedlák M., Cölfen H.: *Macromol. Chem. Phys.* 202, 587 (2001).
- Olson K. et al.: *Poly(Ethylene Glycol), Chemistry and Biological Applications*, str. 170. ACS, Washington, D.C. 1997.
- Greenwald R. B., Cnover C. D., Choe Y. H.: *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* 17, 1011 (2000).
- Sedlák M., Buchta V., Kubická L., Šimůnek P., Holčápek M., Kašparová P.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 11, 2833 (2001).