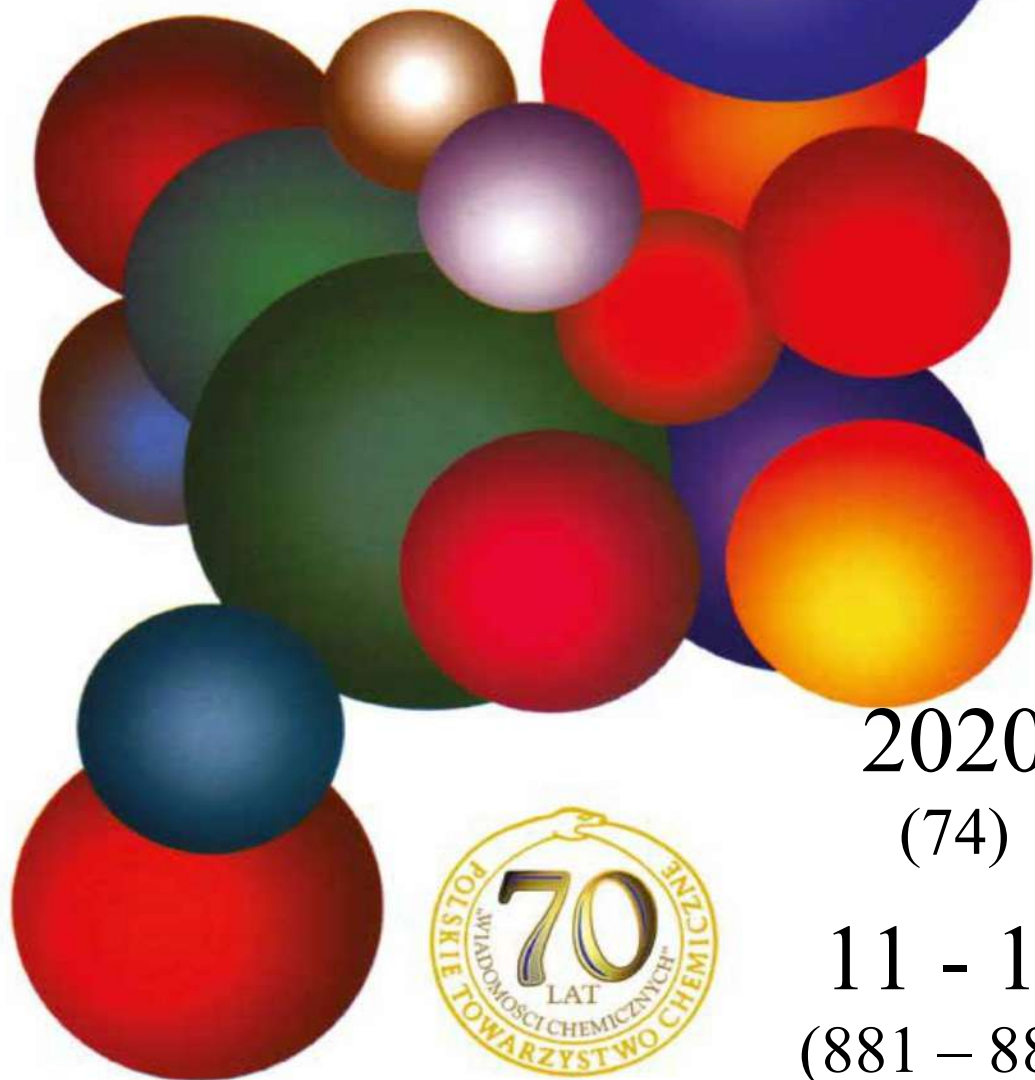


WIADOMOŚCI *chemiczne*



2020

(74)

11 - 12

(881 – 882)

Polskie Towarzystwo Chemiczne jest beneficjentem programu "Działalność upowszechniająca naukę - działalność wydawnicza" realizowanego na podstawie umowy 640/P-DUN/2019 w latach 2019-2021. Wartość dofinansowania z Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego: 150 700,00 zł. Projekt obejmował zapewnienie i utrzymanie otwartego dostępu do publikacji naukowych czasopisma „Wiadomości Chemiczne” w latach 2019-2021, digitalizację numerów archiwalnych (wydanych przed 1998 r.) oraz uzyskanie numerów DOI dla opublikowanych artykułów - umiędzynarodowienie rangi czasopisma.

CZASOPISMO POLSKIEGO TOWARZYSTWA CHEMICZNEGO

RADA REDAKCYJNA

IRENA BARANOWSKA, ANDRZEJ BARAŃSKI,
BOGUSŁAW BUSZEWSKI (PRZEWODNICZĄCY), TADEUSZ GÓRECKI,
MIETEK JARONIEC, ANATOL KOJŁO, TADEUSZ M. KRYGOWSKI,
JERZY LESZCZYŃSKI, KRZYSZTOF MATYJASZEWSKI, PIOTR PANETH,
JANUSZ PAWLISZYN, K. MICHAŁ PIETRUSEWICZ, DARIUSZ POGOCKI,
MAREK POTRZEBOWSKI, SŁAWOMIR RUBINSZTAJN, GRZEGORZ SCHROEDER,
ANDRZEJ W. SOKALSKI, ARTUR P. TERZYK

KOMITET REDAKCYJNY

MARCIN DRĄG, ADAM JEZIEŃSKI, LESZEK KĘPIŃSKI,
LUDWIK KOMOROWSKI, WITOLD RYBA-ROMANOWSKI, SŁAWOMIR SZAFERT,
ANDRZEJ TROCHIMCZUK, KAZIMIERA WILK

REDAKTOR NACZELNY

PIOTR J. CHMIELEWSKI

P. O. SEKRETARZA REDAKCJI

DAGMARA JACEWICZ

e-mail: czasopisma@ptchem.pl

BIURO POLSKIEGO TOWARZYSTWA CHEMICZNEGO (FINANSE)

e-mail: biuro@ptchem.pl

JACEK MALINOWSKI (KOLPORTAŻ)

e-mail: kolportaz@ptchem.pl

Korespondencję należy kierować pod adresem:

Redakcja „Wiadomości Chemicznych”

e-mail: czasopisma@ptchem.pl

ADRES STRONY INTERNETOWEJ

<https://ptchem.pl/pl/chem-news>

©Copyright by Redakcja „Wiadomości Chemicznych”, Warszawa 2019

pISSN 0043-5104

eISSN 2300-0295

Obsługa artykułów:

Joanna Drzeżdżon

Skład i przygotowanie do druku:

Mateusz Drzeżdżon

Druk:

Sowa Sp. z o.o.

ul. Raszyńska 13, 05-500 Piaseczno

Tel.: +48(22) 431 81 40

Fax. +48(22) 431 81 50

e-mail: sowadruk@sowadruk.pl

PROFESOR ROMAN TYKA (1924-2020) - WSPOMNIENIE



Zdjęcie zrobił Dr Jerzy Palus

W dokumentach zapisano, że Profesor Roman Tyka urodził się 28 lutego 1924 roku w Przysusze (powiat Opoczno). Naprawdę urodził się 29 lutego, ale w tym przypadku wpisywano wtedy datę 28 lutego. W ostatnich trzech latach wojny (1942-1945) pracował jako magazynier w Fabryce Tytoniowej w Radomiu. Po wojnie podjął studia: w latach 1946–1947 na Wydziale Chemii Technicznej, a następnie (1947–1950) w Oddziale Chemii Technicznej Wydziału Matematyki, Fizyki i Chemii Uniwersytetu i Politechniki we Wrocławiu. Studia ukończył w roku 1951 otrzymując dyplom magistra inżyniera chemika. Już na ostatnim roku studiów prowadził zajęcia dydaktyczne jako zastępca asystenta. Dalej kariera Profesora przebiegała typowo – po studiach został asystentem (1951), w dwa lata później starszym asystentem, a w roku 1958 adiunktem w Katedrze Chemii Organicznej I na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej. W tym czasie równocześnie pracował jako asystent w Katedrze Chemii Nieorganicznej na Wydziale Matematyki, Fizyki i Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego.

Przygoda profesora z chemią związków fosforu zaczęła się zaraz po studiach. W magazynach Nadodrzańskich Zakładów Przemysłu Organicznego „Rokita” w Brzegu Dolnym (dawniej „Anorgana” GmbH, zakłady koncernu IG Farbenindustrie) znajdowały się znaczne ilości związków fosforoorganicznych, gdyż produkowano tam w czasie wojny bojowe środki chemiczne. Jednym z celów badań na Politechnice Wrocławskiej było określenie ich chemicznej budowy i próby zastosowania jako substratów w syntezie organicznej. Jak opowiadał Profesor, po otwarciu fiolki z jednym z takich związków stracił wzrok. Na szczęście następnego dnia zdolność widzenia powróciła.

Prof. Roman Tyka w 1961 roku obronił doktorat nauk technicznych, a po zmianach strukturalnych na Uczelni (1968 r.) kontynuował pracę na stanowisku adiunkta w Instytucie Chemii Organicznej i Fizycznej Politechniki Wrocławskiej. Pełnił tam funkcję Kierownika Pracowni Analizy Elementarnej w Laboratorium Chemicznej Analizy Instrumentalnej, a potem zastępcy dyrektora Instytutu (1972–1975). W 1972 roku – po uzyskaniu stopnia doktora habilitowanego – został zatrudniony na stanowisku docenta, a w roku 1982 roku otrzymał tytuł profesora nadzwyczajnego. W ostatnich latach pracy na Politechnice Wrocławskiej pełnił funkcję nieformalnego doradcy naukowego doktorantów Zakładu Chemii Bioorganicznej.

Pod kierownictwem prof. Przemysława Mastalerza, wraz z dr. Józefem Baryckim prof. Roman Tyka był twórcą wrocławskiej szkoły chemii związków fosforoorganicznych. Wypromował czterech doktorów – dwóch z nich uzyskało tytuł naukowy profesora (prof. Józef Oleksyszyn i prof. Artur Mucha), zaś dwóch wyemigrowało do USA (dr Jan Łukszo i dr Witold Subotkowski).

Prof. Roman Tyka był osobą niezwykle życzliwą, optymistyczną... i nieco roztrzepaną. Na przykład potrafił wyjść w nie swoim płaszczu ze spotkania towarzyskiego. Był tak lubiany, że właściciel płaszcza potraktował to z humorem. Warto dodać, że doskonale grał w tenisa, który był jego drugim życiem.

W Zakładzie Chemii Bioorganicznej mówiliśmy, że najlepiej charakteryzuje Profesora jego imię i nazwisko składające się na słowo „romantyka”.

*Dr hab. inż. Elżbieta Wojaczyńska, profesor uczelni
Prof. dr hab. inż. Paweł Kafarski
Wydział Chemiczny Politechniki Wrocławskiej*

RADIOBIOKONIUGATY ZNAKOWANE EMITERAMI ELEKTRONÓW AUGERA W CELOWANEJ TERAPII RADIONUKLIDOWEJ

RADIOBIOCONIUGATES LABELED WITH AUGER ELECTRON EMITTERS IN TARGETED RADIONUCLIDE THERAPY

Kamil Wawrowicz, Aleksander Bilewicz*

*Instytut Chemii i Techniki Jądrowej,
ul. Dorodna 16, 03-195 Warszawa
e-mail: a.bilewicz@ichtj.waw.pl

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

1. Elektrony Augera w nowoczesnej celowanej radioterapii
 - 1.1. Działanie biologiczne elektronów Augera
 - 1.2. Cytotoksyczne działanie elektronów Augera
2. Emitery elektronów Augera w celowanej radioterapii
3. Radiobiokoniugaty znakowane emiterami Augera
 - 3.1. Radiobiokoniugaty wiążące się do nici DNA
 - 3.2. Radiobiokoniugaty nie interkalujące do DNA
 - 3.2.1. Małe cząsteczki biologicznie aktywne znakowane emiterami Augera
 - 3.2.2. Peptydy
 - 3.2.3. Polipeptydy, przeciwciała monoklonalne i ich fragmenty
 - 3.3. Radiobiokoniugaty oparte na nanostrukturalnych platformach

Uwagi końcowe

Podziękowanie

Piśmiennictwo cytowane



Mgr inż. Kamil Wawrowicz jest doktorantem Interdyscyplinarnych Studiów Doktoranckich RadFarm w Instytucie Chemii i Techniki Jądrowej. Ukończył studia na Wydziale Chemicznym Politechniki Warszawskiej, uzyskując tytuł inżyniera w 2018 roku, a następnie tytuł magistra w 2019 roku w specjalności Technologia Chemiczna i Kataliza. Jego zainteresowania naukowe związane są z syntezą oraz badaniami *in vitro* nowych radiobiokoniugatów opartych na emiterach elektronów Augera, potencjalnych radiofarmaceutykach dla terapii nowotworów piersi, jajników oraz wątroby.



<https://orcid.org/0000-0003-3818-5840>



Prof. dr hab. Aleksander Bilewicz ukończył studia na Wydziale Chemicznym Uniwersytetu Warszawskiego w 1976 roku. Po studiach rozpoczął pracę w Instytucie Chemii i Techniki Jądrowej w Warszawie, gdzie obecnie jest zatrudniony na stanowisku profesora. W 1986 roku obronił pracę doktorską, której tematyka dotyczyła wymiany jonowej na nieorganicznych sorbentach. W 1998 roku uzyskał stopień doktora habilitowanego na podstawie pracy o wpływie efektów relatywistycznych na własności transaktynowców. W 2007 roku otrzymał tytuł profesora. Aktualnie jego zainteresowania naukowe koncentrują się na syntezie nowych radiofarmaceutyków opartych na nanostrukturach o potencjalnym zastosowaniu α -radioimmunoterapii oraz terapii elektronami Augera.



<https://orcid.org/0000-0003-2490-3303>

ABSTRACT

In contrast to the radiation therapy methods, that use an external ion beam source, the internal radiotherapy is performed by the direct administration of radionuclides conjugated to a targeting vector. Crucial criteria for the use of radiopharmaceuticals at a selective localization and retention in the tumor lesion are biological or biochemical differences between tumor and non-tumor tissue. Auger electron emitters that can target cancer cells are an attractive agents for internal radiation therapy. Besides of α emitters, radionuclides that decay with the emission of very low energy Auger electrons are well suited for the treatment of small tumors, micrometastases or residual tumor after surgical resection of a primary lesion. In contrast to α radiation, however, Auger emitters have low toxicity when decaying outside the cell during blood transport and they are therefore interesting candidates for targeted radionuclide therapy. However, due to nanometers range of Auger electrons the challenge is to target cancer cells specifically and achieve intracellular and intranuclear uptake for maximum DNA damage. So far, no system has been developed to allow for selective delivery of the Auger electron emitter to the cancer cell and next delivering it to cell nucleus, near the DNA strand. An overview of Auger radiation therapy approaches of the past decade shows several research directions and various targeting vehicles. The latter include small molecules, aptamers, hormones, halogenated nucleotides, peptides oligonucleotides and monoclonal antibodies and their fragments. In present article we discuss the basic principles of Auger electron therapy as compared with targeted α and β^- radionuclide therapy, characteristic of used Auger emitters and briefly the main advantages and disadvantages of the different targeting modalities that are under investigation.

Keywords: radiopharmacy, targeted radionuclide therapy, Auger electron emitters

Słowa kluczowe: radiofarmacja, celowana terapia radionuklidowa, emitory elektronów Augera

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

AML	– Ostra białaczka szpikowa (ang. <i>Acute Myeloid Leukemia</i>)
DSB	– Dwuniciowe uszkodzenia DNA (ang. <i>Double - Strand Breaks</i>)
IARC	– Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (ang. <i>International Agency for LET</i> – Liniowy przekaz energii (ang. <i>Linear Energy Transfer</i>)
MCP	– Polimer chelatujący metale (ang. <i>Metal - Chelating Polymer</i>)
MN	– Przerzutowy nerwiak zarodkowy (ang. <i>Metastatic Neuroblastoma Research on Cancer</i>)
MNT	– Nanotransporter modułowy (ang. <i>Modular Nanotransporter</i>)
MPM	– Złośliwy międzybłoniak opłucnej (ang. <i>Malignant Pleural Mesotheliom</i>)
NET	– Guz neuroendokryny (ang. <i>Neuroendocrine Tumor</i>)
NLS	– Sekwencja Lokalizacji Jądrowej (ang. <i>Nuclear Localisation Sequence</i>)
NMR	– Magnetyczny rezonans jądrowy (ang. <i>Nuclear Magnetic Resonance</i>)
PC, BC	– Nowotwór piersi/prostaty (ang. <i>Prostate/Breast Cancer</i>)
PET	– Pozytonowa tomografia emisyjna (ang. <i>Positron Emission Tomography</i>)
PSMA	– Antygen błony komórkowej komórek stercza (ang. <i>Prostate Specific Membrane Antigen</i>)
ROS	– Reaktywne formy tlenu (ang. <i>Reactive Oxygen Species</i>)
SSTR	– Receptor somatostatyny (ang. <i>Somatostatine Receptor</i>)
TRT	– Celowana Radioterapia (ang. <i>Targeted Radionuclide Therapy</i>)

WPROWADZENIE

Nowotwory, według statystyk Światowej Organizacji Zdrowia, stanowią drugą najczęstszą przyczynę zgonów na świecie. Najczęściej diagnozowanymi tego typu schorzeniami są nowotwory: płuc, piersi, jelita grubego oraz prostaty. Dotychczasowe raporty pokazują, że wśród kobiet dominują są nowotwory piersi (24,2%) oraz jelita grubego (9,5%). natomiast u mężczyzn przeważają zachorowania na nowotwory płuc (14,5%) oraz prostaty (13,5%) [1].

Szacunkowe prognozy przygotowywane na lata 2020 – 2040 przez Międzynarodową Agencję Badań nad Rakiem (IARC - ang. International Agency for Research on Cancer) przewidują wzrost zachorowalności na nowotwory z 18 mln przypadków rocznie do blisko 30 mln zachorowań w roku 2040 i utrzymanie około 50% śmiertelności. Duże zróżnicowanie komórek nowotworowych i towarzyszące temu różne sposoby przebiegu choroby sprawiają, że niemożliwe jest znalezienie jednej, uniwersalnej metody, pozwalającej na prowadzenie skutecznej terapii. Z tego względu leczenie onkologiczne wymaga łączenia ze sobą kilku procedur terapeutycznych w celu osiągnięcia oczekiwanego efektu. Obecnie, podstawę terapii chorób nowotworowych stanowią zabiegi operacyjne, a następnie radioterapia oraz terapia systemowa, polegająca na podawaniu leków cytotoksycznych.

Często jednak, klasyczne metody napotykać na ograniczenia, które nie pozwalają na wdrożenie lub kontynuowanie danego typu terapii. Metoda chirurgiczna, będąca jedną z podstawowych i najczęściej wykorzystywanych, nie jest możliwa do zastosowania w przypadku mikroprzerzutów. Chemioterapia, ze względu na równoczesne oddziaływanie na zdrowe tkanki wywołuje częste i ostre działania niepożądane, obejmujące śluzówki, szpik kostny i cebulki włosów, prowadzące także do zwiększonej podatności na infekcje wskutek obniżenia odporności, a hormonoterapia i immunoterapia stosowane są jako leczenie uzupełniające. W związku z tymi ograniczeniami konieczne jest poszukiwanie alternatywnych dróg leczenia [2]. Taką drogą może być szerokie zastosowanie m.in. medycyny nuklearnej, zarówno do diagnostyki, jak i leczenia chorób nowotworowych.

Światowa Organizacja Zdrowia (ang. World Health Organization, WHO) definiuje medycynę nuklearną jako „specjalność, która obejmuje wszystkie zastosowania materiałów promieniotwórczych w diagnostyce, leczeniu oraz badaniach medycznych, z wyjątkiem użycia zamkniętych źródeł promieniotwórczych w radioterapii” [3]. Zgodnie z przedstawioną definicją, medycyna nuklearna to samodzielny dział bazujący na wykorzystaniu otwartych źródeł promieniowania do celów diagnostycznych lub terapeutycznych. W medycynie nuklearnej radioizotopy przyłączane są do innych cząsteczek chemicznych, tworząc radiofarmaceutyki. Są to radioaktywne substancje, które metabolizując się gromadzą się w chorobowo zmienionych tkankach organizmu. Medycyna nuklearna wykorzystuje tę właściwość do terapii oraz obrazowania rozmiarów i postępów choroby. Następujący w ostatnich dwóch dziesięcioleciach

gwałtowny rozwój metod diagnostyki medycznej, szczególnie komputerowej tomografii, funkcjonalnego fMRI (funkcjonalny rezonans magnetyczny) i pozytonowej tomografii PET (pozytonowa tomografia emisyjna), pozwala wykrywać zmiany nowotworowe w bardzo wczesnym stadium ich rozwoju, a zatem rozpoczynać leczenie znacznie wcześniej niż przy stosowaniu klasycznych metod diagnostycznych. Niestety, za ogromnym postępem w diagnostyce nowotworów nie podąża skuteczność terapii. Największym problemem jest oporność lekowa i radiacyjna komórek nowotworowych. Konieczne staje się wykorzystanie nowych metod terapeutycznych oraz jednoczesnego stosowania kilku metod leczenia. W ostatnich latach intensywnie wzrasta zainteresowanie radionuklidami, które mogą znaleźć zastosowanie w terapii. Stosowanie radioizotopów ^{131}I w leczeniu tarczycy, ^{89}Sr , ^{223}Ra czy bisfosfonianów znakowanych ^{153}Sm w paliatywnej terapii nowotworów kości stało się powszechną praktyką. W praktyce medycznej systematycznie wdrażane są również radiofarmaceutyki do tzw. celowanej radioterapii, oparte na znakowanych radionuklidami przeciwciałach monoklonalnych, ich fragmentach, bądź peptydach i małych cząsteczkach wykazujących powinowactwo do receptorów na komórkach nowotworowych (rys. 1).



Rysunek 1. Schemat działania radiofarmaceutyku receptorowego
Figure 1. Receptor radiopharmaceutical action

Radiofarmaceutyki stosowane w tej metodzie składają się z radionuklidu emitującego promieniowanie α , β lub elektrony Augera, chelatora wiążącego radionuklid, wektora dedykowanego do konkretnego celu molekularnego oraz linkera. Główną zaletą celowanej terapii jest wysoka specyficzność osiągnięta poprzez zaprojektowanie leku w taki sposób, aby był on zdolny do oddziaływania tylko na zmienione nowotworowo komórki, a jednocześnie możliwie jak najmniej wpływał na otaczające nowotwór zdrowe tkanki [4]. Aktualnie w celowanej terapii zarejestrowane są trzy radiofarmaceutyki. W terapii chłoniaków wykorzystuje się Zevalin[®] i Bexxar[®] - oparte na przeciwciałach monoklonalnych radiobiokoniugaty znakowane emiterami

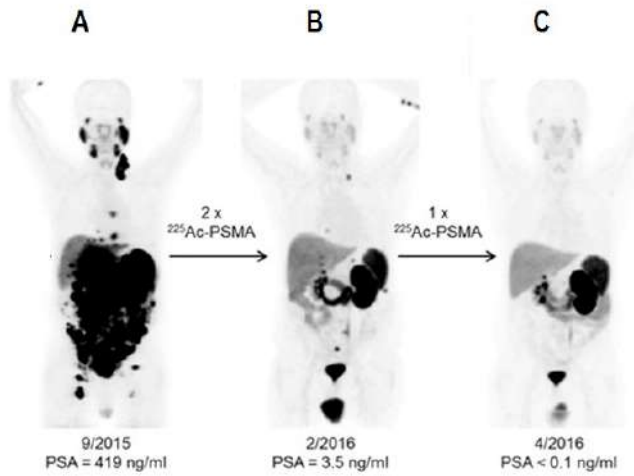
β^- ^{131}I i ^{90}Y oraz znakowany ^{177}Lu peptyd, analog somatostatyny - Lutathera[®], który powszechnie stosowany jest do terapii rozsiańczonej nowotworów neuroendokrynych. Efekt terapeutyczny w celowanej radioterapii jest następstwem działania promieniowania jonizującego emitowanego przez radionuklid. Wyróżnia się 2 mechanizmy, które odpowiedzialne są za śmierć komórki. Pierwszym z nich jest mechanizm bezpośredni, w którym efekt terapeutyczny osiągnięty jest wskutek dwuniciowego uszkodzenia DNA (ang. DSB - Double-Strand Breaks) wywołanego promieniowaniem. Ten rodzaj działania jest dominujący w przypadku promieniowania o wysokim LET (ang. Linear Energy Transfer), a więc dla promieniowania α i elektronów Augera. Wygenerowanie dwuniciowego uszkodzenia jest warunkiem koniecznym, ponieważ mechanizmy obronne komórek są w stanie dokonać naprawy w przypadku uszkodzenia tylko jednej z nici.

Drugim mechanizmem jest działanie pośrednie, będące następstwem oddziaływania promieniowania na cząsteczki wody i generowanie reaktywnych rodników OH^\bullet i H^\bullet oraz cząsteczek H_2O_2 . Wolne rodniki, ze względu na obecność niesparowanego elektronu, są cząsteczkami wysoce reaktywnymi i ich oddziaływanie na DNA również powoduje jego uszkodzenia. Szacuje się, że ze względu na wysoką zawartość wody w komórkach to właśnie ten mechanizm dominuje w celowanej radioterapii [5]. Poza radiolizą wody, działanie pośrednie może być także wzmocnione wskutek wytworzenia reaktywnych form azotu [6].

Powstające reaktywne formy tlenu (ROS – ang. *Reactive Oxygen Species*), azotu oraz nadtlenek wodoru różnią się właściwościami. Większość ROS cechuje się stosunkowo krótkim okresem półtrwania, podczas gdy H_2O_2 dzięki dłuższemu $t_{1/2}$ ma możliwość przemieszczania się w cytoplazmie, co skutkuje generowaniem uszkodzeń DNA na dużych odległościach [7].

W zależności od wielkości zmiany chorobowej radionuklid dobiera się w taki sposób, aby efekt terapeutyczny był optymalny. Dla dużych guzów nowotworowych najbardziej odpowiednie okazały się radionuklidy emitujące wysokoenergetyczne promieniowanie β^- (^{90}Y i ^{188}Re) bowiem peptydy i przeciwciała monoklonalne znakowane tymi radionuklidami są coraz częściej stosowane w celowanej terapiach. Istnieje jednak ogromne zapotrzebowanie na radiofarmaceutyki wykazujące efekt terapeutyczny w stosunku do małych zmian nowotworowych rozsiańczonej na dużej powierzchni tkanki, przerzutów nowotworowych lub nowotworów we wczesnym stadium rozwoju. Te warunki mogą spełniać emitery miękkiego promieniowania β^- , elektronów Augera oraz emitery promieniowania α . Zaletą emiterów α jest duża wartość liniowego przekazu energii $\text{LET}_\alpha \approx 100 \text{ keV}/\mu\text{m}$, co stanowi wartość optymalną dla celów terapeutycznych. Oznacza to, że cząstki α tracą swoją energię na małym obszarze, a ich zasięg w tkance wynosi tylko 40-100 μm , co odpowiada grubości kilku warstw komórek. Wykazują więc dużą efektywność w niszczeniu małych nowotworów ograniczonych do niewielkich skupisk komórek, a tym samym w mniejszym stopniu oddziałują na zdrowe komórki otaczające nowotwór. Ponadto duża wartość LET_α

powoduje, że cząstki α mają zdolność do indukowania dwuniciowych pęknięć w DNA. W jednym z najnowszych badań klinicznych uzyskano spektakularne wyniki w leczeniu przerzutów nowotworowych spowodowanych nowotworem prostaty dla znakowanej emiterem α - ^{225}Ac małej cząsteczki PSMA-617 [8]. Jak przedstawiono na rys. 2, dwukrotne podanie radiofarmaceutyku ^{225}Ac -PSMA-617 spowodowało całkowite wyleczenie pacjenta, mimo wcześniejszej oporności na pozostałe metody leczenia.



Rysunek 2. Skany wykonane techniką PET obrazujące terapię nowotworu prostaty za pomocą radiofarmaceutyku ^{225}Ac -PSMA-617 [8]

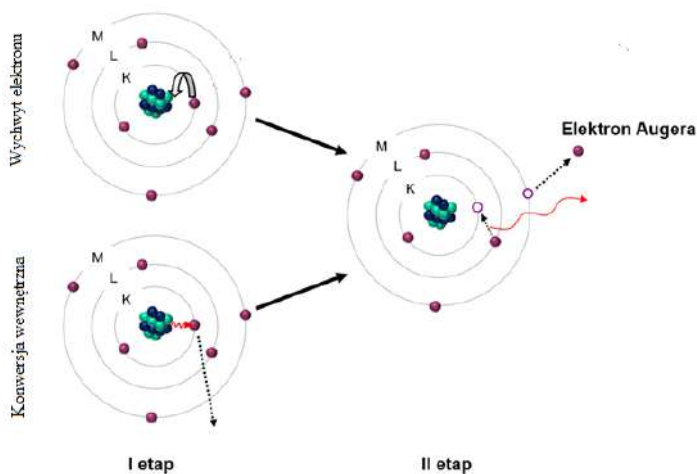
Figure 2. PET scans of prostate cancer therapy with the ^{225}Ac -PSMA-617 radiopharmaceutical

Niestety na drodze do szerokiego zastosowania emiterów α w terapii stoi bardzo mała dostępność radionuklidów będących emiterami promieniowania α oraz ich własności chemiczne utrudniające (^{211}At) lub uniemożliwiające (^{223}Ra) ich związanie z naprowadzającą cząsteczką. W związku z tym, coraz większe zainteresowanie naukowców skupia się na emiterach elektronów Augera. Elektrony Augera, podobnie jak cząstki α , charakteryzują się bardzo krótkim zasięgiem (efektywny 1-20 nm). Deponując na swojej drodze bardzo dużą dawkę energii powodują podwójnie niciowe pęknięcia struktury DNA. Ich unikatowe właściwości pozwalają zaprojektować leki przeznaczone do leczenia bardzo małych zmian nowotworowych, niekiedy w postaci pojedynczych komórek, np. nowotwory krwi czy mikroprzerzuty. Charakterystyka elektronów Augera, stawia jednak przed naukowcami wiele ograniczeń, takich jak wymóg syntezy leku w taki sposób, aby internalizował on do wnętrza komórki a następnie przechodził do jądra komórkowego, lokalizując się możliwe jak najbliżej DNA. Jest to spowodowane wyjątkowo krótkim zasięgiem elektronów Augera

i związaną z tym koniecznością wprowadzenia leku dostatecznie blisko materiału genetycznego komórki [9-11].

1. ELEKTRONY AUGERA W NOWOCZESNEJ CELOWANEJ RADIOTERAPII

Elektrony Augera emitowane są z atomu w wyniku efektu Augera oraz przejść Coster-Kroniga i super Coster-Kroniga. Zjawisko to związane jest z generowaniem luki elektronowej na niskiej powłoce elektronowej, powstającej w wyniku wychwytu elektronu przez jądro, jego wybicia kwantem promieniowania elektromagnetycznego lub w następstwie konwersji wewnętrznej jądra atomowego. Wychwyt elektronowy występuje w atomach o jądrach posiadających nadmiar protonów i w jego efekcie proton ulega przemianie do neutronu i neutrino elektronowego, co dotyczy zazwyczaj orbitalu 1s i rzadziej 2s. Elektrony na obu orbitalach mają określoną gęstość elektronową w jądrze. Drugą przemianą jądrową prowadzącą również do emisji elektronów Augera jest konwersja wewnętrzna. W tym przypadku, powstawanie luki na niższej powłoce związane jest z przekazaniem energii z metastabilnego, wzbudzonego jądra elektronowi na niskiej powłoce, co powoduje wybite elektronu [12, 13]. Mechanizm powstawania elektronów Augera przedstawiono na rysunku 3.



Rysunek 3. Mechanizm powstawania elektronów Augera

Figure 3. Mechanism of Auger electron formation

Przyczyną pojawienia się luki na niskich powłokach mogą być także czynniki zewnętrzne, takie jak wybite elektronu przez inną cząstkę, kwant promieniowania rentgenowskiego lub promieniowania γ . Powstająca luka jest zapełniana elektronem

pochodzącym z wyższej powłoki z uwolnieniem energii w postaci promieniowania X lub energia przekazywana jest do elektronów z wyższych powłok, czego następstwem jest emisja elektronu, a proces ten propagowany jest aż do powłoki walencyjnej. Takie elektrony nazwano, od nazwiska ich odkrywcy, elektronami Augera. Emisje elektronów mogą następować także w wyniku przejść Coster-Kroniga i super Coster-Kroniga. Przejście Coster-Kronig polega na wypełnieniu luki na niższej podpowłoce tej samej powłoki elektronowej i wybiciu elektronu z wyższej powłoki, natomiast przejście typu super Coster-Kronig odbywa się na różnych podpowłokach tej samej powłoki i zachodzi dla powłok bardziej oddalonych od jądra, najczęściej M i N [12]. W literaturze opisującej medyczne zastosowania niskoenergetycznych elektronów pod pojęciem elektronów Augera występują wszystkie wymienione wyżej elektrony: Augera, Coster-Kroniga, super Coster-Kroniga oraz elektrony konwersji, taką nomenklaturę zastosowano także w dalszej części pracy.

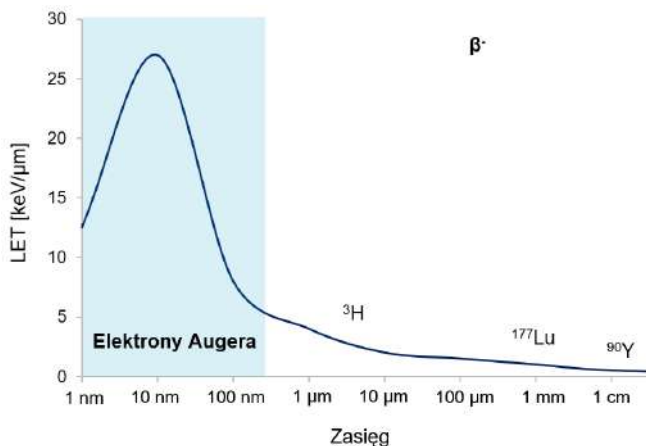
Elektrony emitowane z powłok znajdujących się bliżej jądra mają największe energie i w związku z tym, mogą pokonywać najdłuższy dystans. Zazwyczaj jednak elektronów tych w trakcie jednego rozpadu emitowanych jest najmniej, a większość stanowią elektrony pochodzące z powłok bardziej oddalonych od jądra [11]. W trakcie jednego rozpadu jądra atomowego emitowanych jest od kilku do kilkudziesięciu elektronów Augera.

1.1. DZIAŁANIE BIOLOGICZNE ELEKTRONÓW AUGERA

Oddziaływanie biologiczne jest wynikiem jonizacji powodowanej przez emitowane, niskoenergetyczne elektrony. Mogą one bezpośrednio uszkadzać nici DNA oraz inne istotne struktury komórkowe, do których zalicza się m.in. mitochondria oraz błonę komórkową. Działanie pośrednie natomiast jest następstwem generowania reaktywnych form tlenu oraz – co jest charakterystyczne tylko dla efektu Augera – neutralizacją powstającego po emisji elektronów Augera wysoce dodatniego kationu. Proces ten zachodzi poprzez pobieranie elektronów z cytoplazmy, której ponad 80% stanowi woda. W jego trakcie, wskutek pobrania elektronów, generowane są kolejne rodniki, których obecność wzmacnia działanie cytotoksyczne [14, 15].

Elektrony Augera charakteryzują się wysokim, blisko 20-krotnie większym LET w porównaniu do β^- (rys. 4), co przekłada się na większą liczbę generowanych dwuniciowych uszkodzeń DNA. Skuteczność promieniowania o wysokim LET związana jest głównie z bezpośrednim oddziaływaniem elektronów, a w mniejszym stopniu z generacji ROS, i w związku z tym, jest niezależna od poziomu utleniania tkanki. Jest to niewątpliwa zaleta w porównaniu do cząstek β^- , które mają znacznie większą energię, ale ze względu na duży zasięg i niski LET

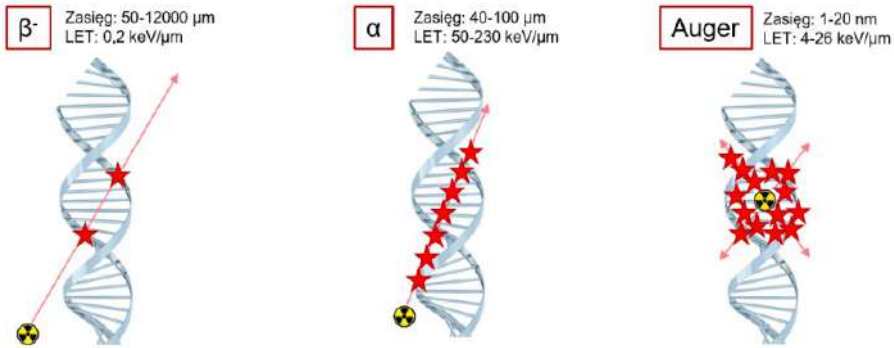
dominującym mechanizmem jest działanie pośrednie poprzez generację ROS, w wyniku czego ich efektywność istotnie zależy od poziomu utleniania tkanki. Szczególnie ważną rolę odgrywa to w przypadku komórek nowotworowych, które bardzo często wykazują stan niedotlenienia (hipoksji) [16, 17].



Rysunek 4. Porównanie LET elektronów Augera i promieniowania beta minus

Figure 4. Comparison of LET for Auger electrons and beta minus radiation

Elektrony Augera mają bardzo krótki zasięg w tkance, wynoszący 1-500 nm (rys. 5). Jednak obszar ich największej efektywności, czyli o najwyższym LET, wynosi jedynie 1-20 nm. Oznacza to, że są one zdolne do wygenerowania dwuniciowych uszkodzeń DNA na dystansie równym długości kilku nukleotydów. Stanowi to istotne ograniczenie narzucające możliwość stosowania emiterów Augera w terapii tylko bardzo małych zmian nowotworowych, składających się z pojedynczych komórek. W związku z tym ważne jest zaprojektowanie leku w taki sposób, aby nie tylko precyzyjnie docierał on do konkretnej komórki w organizmie pacjenta, ale miał również możliwość internalizacji do jej wnętrza. W takim przypadku możliwe jest uzyskanie dużego efektu terapeutycznego jako następstwa działania mechanizmu bezpośredniego i pośredniego [10, 18]. Zasięg elektronów Augera oraz promieniowania α i β przedstawiono na rysunku 5.



Rysunek 5. Zasięg elektronów Augera w porównaniu do zasięgu promieniowania alfa i beta
 Figure 5. Comparison of Auger electrons range with the range of alpha and beta radiation

Ważną zaletą terapeutycznego wykorzystania emiterów elektronów Augera jest ich oddziaływanie jedynie z komórką, do której się przyłączył radionuklid. Pozwala to, na precyzyjną terapię ograniczającą się do patologicznie zmienionych komórek nie uszkadzając zdrowych. W przypadku powszechnie stosowanych emiterów promieniowania β , którego zasięg wynosi od 1 do 10 mm, obserwuje się w trakcie terapii uszkodzenia zdrowych tkanek, szczególnie promieniowrażliwego szpiku kostnego [19]. Ogromnym wyzwaniem jest zatem połączenie emiterów elektronów Augera z cząsteczką biologicznie aktywną, która precyzyjnie rozpozna komórkę nowotworową i dodatkowo internalizuje do jej wnętrza, lokalizując się w okolicy DNA.

1.2. CYTOTOKSYCZNE DZIAŁANIE ELEKTRONÓW AUGERA

Śmierć komórki, będąca następstwem bezpośredniego lub pośredniego działania elektronów Augera, może być indukowana bezpośrednio, poprzez przyłączenie się emitera elektronów Augera do DNA w jądrze komórkowym, a także uszkodzeniem mitochondrialnego RNA oraz zniszczeniem błony komórkowej.

Pierwszy z mechanizmów jest najbardziej efektywny i szeroko opisywany w literaturze, gdyż wprowadzenie emitera elektronów Augera do nici DNA powoduje uszkodzenie materiału genetycznego już przez jeden rozpad radionuklidu. Bezpośredni mechanizm obejmuje oddziaływanie na DNA poprzez wbudowanie się w jego strukturę, najczęściej na zasadzie powinowactwa do jednej z zasad azotowych. Stwierdzono, że emitery elektronów Augera ^{123}I i ^{125}I skoniugowane z jododeoksyurydyną (IUdR), która jest inkorporowana bezpośrednio do DNA, wyraźnie zmniejszają przeżycie komórek ssaków [26]. Śmiertelna dawka promieniowania dla ^{125}I -IUdR była 7-krotna niższa niż promie-

niowania X, wskazując na wysoką cytotoksyczność dla elektronów Augera emitowanych przez ^{125}I inkorporowany do DNA. Nie stwierdzono jednak istotnego działania cytotoksycznego dla ^{125}I zlokalizowanego w cytoplazmie, związanego z błoną komórkową lub będącego poza komórką. Tak więc rozpad emitera elektronów Augera w bliskiej odległości od jądrowego DNA jest konieczny do pełnego wykorzystania wysokiej wartości LET tych elektronów [26]. Efekt ten można także uzyskać przez zastosowanie znakowanych emiterami Augera oligopetydów, aptamerów, akrydyny, antracyklin, peptydów transportujących do jądra komórkowego (ang. *Nuclear Location Sequence*, NLS) czy kompleksów interkalujących do jądra, jak *cis*-platyna. Poszczególne związki zostały opisane szerzej w punkcie 3.1.

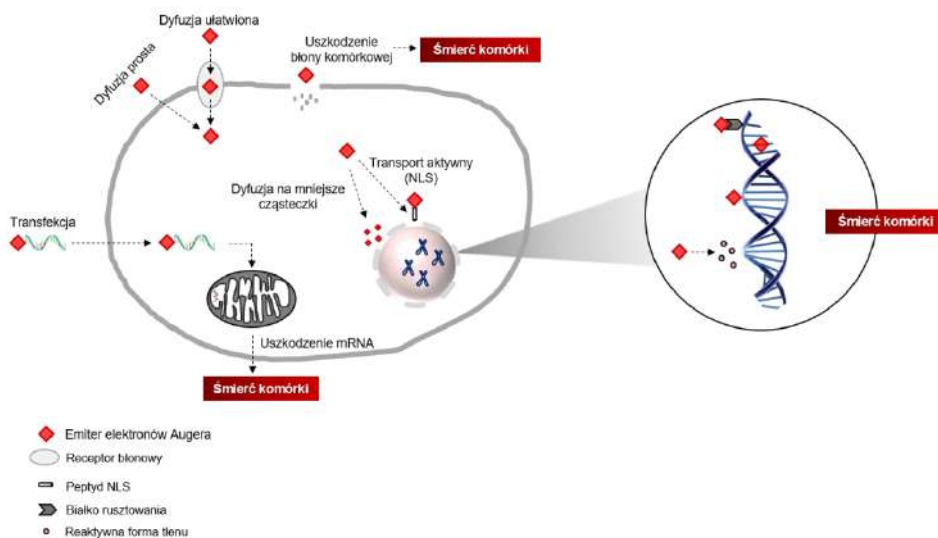
Zastosowanie tego podejścia, mimo licznych badań, w tym klinicznych, jednak nie zakończyło się sukcesem. Aby wykorzystać cytotoksyczne działanie elektronów Augera, konieczne jest w pierwszej kolejności selektywne dostarczenie emitera Augera do komórki nowotworowej. Niestety, żadne stosowane dotychczas wektory naprowadzające, takie jak peptydy czy przeciwciała monoklonalne nie wykazują zdolności do wbudowania się w strukturę DNA, a przyłączenie wektorów do znanych interkalatorów upośledza ich zdolność do wiązania się z DNA. Przyłączenie metalicznych emiterów Augera do interkalatorów wymaga także zastosowania dużych ligandów chelatujących, które również mogą istotnie wpływać na zdolność do wiązania się interkalatora z DNA. W tym przypadku konieczne jest ograniczenie się do reakcji jodowania radionuklidami ^{123}I i ^{125}I . Jednak takie połączenia są stosunkowo nietrwałe *in vivo*, ulegając enzymatycznej dehalogenizacji. W ostatnich latach rozpoczęto zatem szersze badania nad możliwością uzyskania efektu cytotoksycznego bez konieczności stosowania interkalujących do DNA radiofarmaceutyków. Do takich alternatywnych celów zalicza się błonę komórkową oraz cytoplazmę.

Konieczność internalizacji do jądra komórkowego radiofarmaceutyków znakowanych emiterami elektronów Augera zakwestionowali Pouget i wsp. [20], którzy porównali cytotoksyczność elektronów Augera emitowanych przez ^{125}I w jądrze komórkowym oraz na błonie komórkowej. Chociaż zlokalizowany w jądrze ^{125}I był najbardziej cytotoksyczny ze względu na bezpośrednie oddziaływanie elektronów Augera z DNA, to zaobserwowano destrukcyjny wpływ elektronów Augera na błonę komórkową. Uszkodzenie błony komórkowej powoduje szereg zmian w fizjologii komórki. W wyniku działania elektronów Augera dochodzi do przerywania ciągłości błony komórkowej skutkującego destrukcją organelli, m.in. polirybosomów i lizosomów. Depolaryzacja błony komórkowej przyczynia się do zaburzenia transportu elektronów i związanego z tym spadku poziomu ATP. Dochodzi także do biernego napływu wody i jonów (głównie Ca^{2+} i Na^{+}), co skutkuje dezintegracją jądra komórkowego. Wszystkie te

procesy powodują pęcznienie komórki i jej rozpad [21]. Stwierdzono także, że generacja dużych ilości ROS w cytoplazmie w okolicach jądra komórkowego może spowodować ich dyfuzję do jądra komórkowego i zniszczenie jądrowego DNA oraz DNA umieszczonego w mitochondriach (mtDNA) [22]. Defekty mtDNA wywołane działaniem elektronów Augera powodują uszkodzenie ważnego elementu genetycznego, zawierającego informację o sekwencji aminokwasów w białku i indukują śmierć komórki. Uszkodzenia mtDNA można stymulować prowadząc proces transfekcji (wprowadzenie obcego DNA) z wykorzystaniem aptameru znakowanego emitery elektronów Augera [23, 24]. Aptamery to fragmenty kwasów nukleinowych zwykle o długości od kilkunastu do kilkudziesięciu nukleotydów, które wykazują, podobnie jak przeciwciała monoklonalne, powinowactwo do celów molekularnych na komórkach nowotworowych. Charakteryzują się jednak znacznie mniejszym rozmiarem – ciężar cząsteczkowy aptameru, to 8-15 kDa, natomiast przeciwciała około 150 kDa, co przyczynia się do znacznie lepszej farmakokinetyki.

Ciekawy efekt zaobserwowano dla małej cząsteczki ^{125}I -DCIBzL (ang. 2-[3-[1-carboxy-5-(4- ^{125}I -iodo-benzoylamino)-pentyl]-ureido]-pentanedioic acid) wykazującej wysokie powinowactwo do receptorów PSMA na komórkach raka prostaty [25]. Przy użyciu mikroskopii konfokalnej z fluorescencyjnym analogiem DCIBzL wykazano, że czynnik ten w dużym stopniu lokalizuje się w obszarze pomiędzy zewnętrzną i wewnętrzną membraną jądra komórek z nadekspresją PSMA. Dla związku znakowanego ^{125}I stwierdzono wysoką cytotoksyczność, zarówno w badaniach *in vitro*, jak i *in vivo*. Autorzy stwierdzili zatem, że źródło tej cytotoksyczności jest związane z mechanizmem procesu mitozy (podziału jądra komórkowego), podczas którego, w trakcie anafazy, emitery elektronów Augera zbliża się do materiału genetycznego znajdującego się w biegunach komórki. Ponieważ efekt ten związany jest z szybkością dzielenia się komórek nie obserwuje się go w promieniowrażliwych nerkach, które wykazują także ekspresję PSMA, ale mają niski indeks mitotyczny. Różne mechanizmy cytotoksycznego działania radiokoniugatów znakowanych emitery elektronów Augera przedstawiono na rysunku 6.

W przypadku radioterapii, a szczególnie w α terapii oraz terapii elektronami Augera, należy podkreślić występowanie tzw. efektu widza lub efektu sąsiedztwa (ang. Bystander Effect) [26,27]. Jest on indukowany przez substancje wysyłane przez komórki bezpośrednio napromieniowane, które są transportowane do sąsiadujących komórek nie wystawionych na działanie promieniowania jonizującego.



Rysunek 6. Mechanizmy cytotoksycznego działania radiokoniugatów znakowanych emiterami elektronów Augera

Figure 6. Various mechanisms of cytotoxic action of radioconjugates labeled with Auger electron emitters

Czynniki te powodują obniżenie przeżycia tych komórek, generowanie uszkodzeń cyto-genetycznych, wzrost odsetka apoptozy i zmian biochemicznych [28]. Dokładny mechanizm tego zjawiska nie został jeszcze wyjaśniony. Przypuszcza się, że molekularne czynniki sygnalizacyjne uwalniane przez komórki napromieniowane do przestrzeni pozakomórkowej są odpowiedzialne za wzrost apoptozy i zmian fizjologicznych w sąsiadujących komórkach, które nie zostały napromienione. Badania *in vivo* na modelach zwierzęcych wykazują, że efekt ten może pojawiać się także w tkankach odległych od miejsca napromienienia. Efekt sąsiedztwa może mieć zarówno pozytywne, jak i negatywne skutki w przypadku radioterapii. Jeżeli komórki nowotworowe bezpośrednio pochłaniające energię promieniowania jonizującego będą, wysyłając sygnały, uszkadzały sąsiadujące komórki nowotworowe lub będą inicjowały różnicowanie tych komórek będzie to efekt pożądany. Jeżeli natomiast uszkodzeniu ulegną komórki prawidłowe (komórki nabłonkowe, śródbłonkowe, leukocyty etc.), wówczas może to niekorzystnie zwiększać działania niepożądane w postaci powikłań popromiennych i nowotworów wtórnych [28, 29].

2. EMITERY ELEKTRONÓW AUGERA W CELOWANEJ RADIOTERAPII

W odróżnieniu od emiterów promieniowania α , wśród których jedynie 9 ma własności pozwalające na zastosowanie w celowanej terapii, liczba emiterów

elektronów Augera jest znacznie większa. Także dostępność emiterów α jest ograniczona, w przeciwieństwie do emiterów elektronów Augera, które mogą być wyprodukowane na dostępnych cyklotronach w dużych aktywnościach. Cena emiterów α jest także wielokrotnie większa. Aby emiter elektronów Augera mógł znaleźć zastosowanie terapeutyczne powinien posiadać następujące własności:

- emitować dużą liczbę elektronów,
- okres połowicznego rozpadu musi być na tyle długi, aby umożliwić dotarcie leku do celu, a jednocześnie na tyle krótki, aby nie eksponować niepotrzebnie organizmu na działanie promieniowania jonizującego. W przypadku elektronów Augera kryterium to nie jest aż tak istotne, jak dla daleko oddziaływującego promieniowania β^- czy silnie jonizującego promieniowania α ,
- rozpad jądra macierzystego musi prowadzić do powstania długożyciowego lub stabilnego jądra, co jest warunkiem koniecznym w trakcie prowadzenia każdego rodzaju wewnętrznej radioterapii,
- radionuklid powinien być łatwy do wyprodukowania i wydzielenia z tarczy, a cały proces być stosunkowo tani
- nie powinien zawierać nieradioaktywnego nośnika,
- powinna istnieć łatwa metoda przyłączenia radionuklidu do naprowadzającej biomolekuły.

Bardzo ważna z punktu widzenia efektywności terapii jest charakterystyka promieniowania emitowanego przez radionuklid. Uważa się, że emiter elektronów Augera nie powinien być źródłem innego promieniowania, np. β^- , choć w przypadku emitera β^- ^{161}Tb uznano emisję elektronów Augera za zjawisko korzystne dla terapii [30]. Podobnie jest w przypadku emisji promieniowania γ , które może pozwolić na jednoczesne monitorowanie postępów terapii. Z drugiej strony najczęściej stosowane emitery Augera (^{111}In , ^{125}I , ^{201}Tl , ^{67}Ga , $^{99\text{m}}\text{Tc}$), emitują kwanty gamma z dużą wydajnością i są powszechnie stosowane w diagnostycznej technice SPECT (ang. Single Photon Emission Computer Tomography). Dawki promieniowania stosowane w terapii elektronami Augera wielokrotnie przekraczają jednak te, które stosowane są w diagnostyce dlatego emitowane przenikliwe promieniowanie może być znacznym obciążeniem radiacyjnym dla krytycznych organów pacjenta. Dlatego warto zwrócić uwagę na te emitery elektronów Augera, gdzie emisja promieniowania γ jest najmniejsza, np. ^{135}La , $^{197,197\text{m}}\text{Hg}$ czy $^{193\text{m},195\text{m}}\text{Pt}$.

Istotnym parametrem w kontekście oczekiwanych efektów terapii jest energia elektronów Augera i liczba emitowanych elektronów konwersji, których zasięg jest większy niż niskoenergetycznych elektronów Augera. Mogą one powodować śmierć komórki, lokalizując się na jej powierzchni bez konieczności internalizacji i translokacji do jądra. Mogą również generować występowanie efektu krzyżowego

polegającego na działaniu na sąsiednie komórki w bliskiej odległości od miejsca rozpadu.

W tabeli 1 przedstawiono emitery elektronów Augera, które są lub mogą być w przyszłości stosowane w celowanej radioterapii [18, 31-33]. Pogrubioną czcionką zaznaczono radionuklidy, które zdaniem Autorów mają szanse na szersze zastosowanie. Ich metody otrzymywania oraz zalety zostaną omówione szerzej poniżej.

Tabela 1. Charakterystyka radionuklidów które mogą znaleźć zastosowanie w celowanej radioterapii
Table 1. Characteristics of radionuclides that can be used in targeted radiotherapy

Radionuklid	Okres półtrwania	Liczba emitowanych e ⁻	Rozpad	Energia γ [keV]	Metoda produkcji
⁵¹ Cr	27,70 d	4,68	EC	320	Reaktor
⁶⁷Ga	78,28 h	7,03	EC	93,185,300	Cyklotron
⁷⁷ Br	57,04 d	4,96	EC	239	Cyklotron
⁹⁴ Tc	4,88 h	6,42	EC	511	Cyklotron
^{99m} Tc	6,01 h	4,67	IT	141	Cyklotron
¹¹¹In	2,82 d	6,05	EC	171,245	Cyklotron
^{114m} In	49,51 d	7,74	EC	558	Reaktor
^{115m} In	4,49 h	5,04	IT	336	Reaktor
¹²³ I	13,20 h	12,6	EC	159	Cyklotron
¹²⁴ I	4,18 d	8,6	EC	511	Cyklotron
¹²⁵I	59,40 d	21,0	EC	-	Cyklotron
¹³⁵ La	19,5 h	10,9	EC	485,5	Cyklotron
¹⁶⁷ Tm	9,25 d	11,4	EC	207,8	Cyklotron
^{193m}Pt	4,33 d	27,0	IT	-	Reaktor/cyklotron
^{195m}Pt	4,03 d	37,0	IT	98,9	Reaktor/cyklotron
¹⁹⁷ Hg	64,14 h	23,2	EC	134	Cyklotron
^{197m} Hg	23,8 h	19,4	IT/EC	77	Cyklotron
²⁰¹ Tl	73,01 j	36,9	EC	68-80	Cyklotron
²⁰³ Pb	51,92 h	23,3	EC	279,2	Cyklotron

Najszerzej dotychczas stosowanym emitery elektronów Augera jest radionuklid jodu ¹²⁵I stosowany w diagnostyce tarczycy do znakowania przeciwciał monoklonalnych w metodzie SPECT, a także w brachyterapii. Jego duże aktywności otrzymywane są w reaktorze przez naświetlanie gazowego ksenonu

w reakcji $^{124}\text{Xe}(n,\gamma)\rightarrow^{125\text{m}}\text{Xe}$ (57s) $\rightarrow^{125}\text{I}$. Radionuklidy ^{111}In , ^{67}Ga i ^{201}Tl są również dostępne handlowo i powszechnie stosowane w diagnostyce SPECT, ^{111}In w diagnostyce receptorowej jak np. Octreoscan™ (^{111}In -pentetreotid), ^{67}Ga w postaci cytrynianu galu, a ^{201}Tl w radiofarmaceutykach perfuzyjnych np. $^{201}\text{TlCl}$. Otrzymywane są one cyklotronowo w reakcjach: $^{111}\text{Cd}(p,n)^{111}\text{In}$ z wydajnością $72\text{ MBq } \mu\text{A}^{-1}\text{ h}^{-1}$ dla energii 15-0 MeV, $^{67}\text{Zn}(p,n)^{67}\text{Ga}$ z wydajnością $87\text{ MBq } \mu\text{A}^{-1}\text{ h}^{-1}$ i $^{203}\text{Tl}(p,3n)^{201}\text{Pb}\rightarrow^{201}\text{Tl}$ z wydajnością $78,5\text{ MBq } \mu\text{A}^{-1}\text{ h}^{-1}$. Pozwala to otrzymać aktywności powyżej 20 GBq, które wystarczają na przeprowadzenie terapii elektronami Augera.

W naszym zespole zwrócono także uwagę na inne emitery elektronów Augera, które w odróżnieniu do opisanych powyżej nie emitują lub emitują małe ilości przenikliwego promieniowania γ . Radionuklid ^{135}La może być łatwo otrzymany cyklotronowo w reakcji $^{135}\text{Ba}(p,n)^{135}\text{La}$ z wydajnością $80\text{ MBq } \mu\text{A}^{-1}\text{ h}^{-1}$ dla wzbogaconej izotopowo tarczy ^{135}Ba , co pozwala otrzymywać duże dawki terapeutyczne [34]. Dodatkową zaletą tego radionuklidu jest jego łatwość skompleksowania powszechnie stosowanymi w radiofarmacji liniowymi lub cyklicznymi ligandami aminokarboksylowymi.

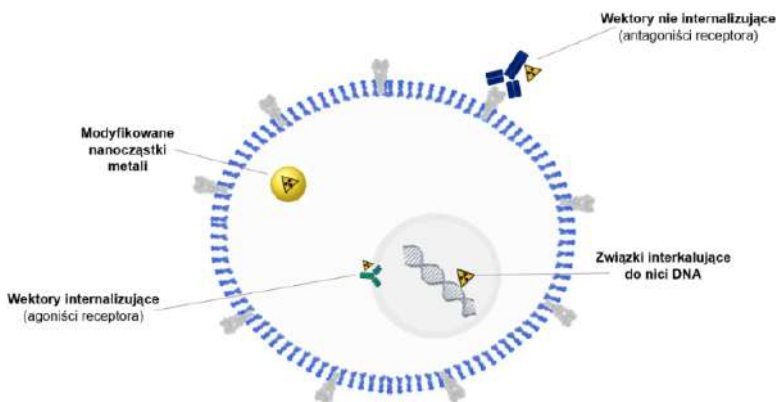
Zaletą radionuklidów platyny $^{193\text{m}}\text{Pt}$ i $^{195\text{m}}\text{Pt}$ jest emisja dużej liczby elektronów Augera, odpowiednio 27 i 37 oraz możliwość ich zastosowania w postaci znakowanej soli $\text{PtCl}_2(\text{NH}_2)_2$ - *cis*-platyny. Ten prosty związek kompleksowy ma zdolność internalizacji do jądra komórkowego oraz interkalacji do nici DNA. Zastąpienie atomów Pt poprzez radionuklidy $^{193\text{m}},^{195\text{m}}\text{Pt}$ powinno z wielokrotnie zwiększyć zdolności terapeutyczne *cis*-platyny. Jednak znane do niedawna reaktorowe metody otrzymywania $^{193\text{m}},^{195\text{m}}\text{Pt}$ pozwalały wyprodukować nieduże aktywności tych radionuklidów o małej aktywności właściwej. W ostatnim czasie opracowano metodę otrzymywania $^{193\text{m}}\text{Pt}$ poprzez bombardowanie cząstkami α tarczy ^{192}Os w reakcji $^{192}\text{Os}(\alpha,3n)^{193\text{m}}\text{Pt}$, która pozwala na otrzymanie znacznych aktywności $^{193\text{m}}\text{Pt}$ [35]. Duże nadzieje można także łączyć z otrzymywaniem ultra małych nanocząstek Pt o średnicy 2 nm. Mają one zdolność do rozpuszczania się w cytoplazmie niektórych komórek nowotworowych o dużym potencjale utleniającym np. w raku wątrobowokomórkowym (ang. Hepatocellular carcinoma). Synteza takich nanocząstek zawierających $^{193\text{m}}\text{Pt}$ pozwoliłaby zrealizować koncepcję selektywnej interkalacji emitera Augera do nici DNA.

Radionuklidy ^{197}Hg i $^{197\text{m}}\text{Hg}$ mają również bardzo atrakcyjne własności z punktu widzenia ich zastosowania w wewnętrznej radioterapii. Otrzymywane mogą być w znacznych aktywnościach w reakcji $^{197}\text{Au}(p,n)^{197\text{m}},^{197}\text{Hg}$. Radionuklid $^{197\text{m}}\text{Hg}$ obok elektronów Augera emituje elektrony konwersji o stosunkowo wysokiej energii 127 keV, znacznie wyższej niż w przypadku ^{111}In czy ^{125}I [35]. Dzięki temu nie jest wykluczone jego oddziaływanie na większe odległości. Ponieważ wiązanie Hg w kompleksach chelatowych nie jest prostym procesem

zapropozowano zastosowanie małych nanocząstek złota pokrytych amalgamatem $^{197,197m}\text{Hg}(\text{Au})$. Także w tym przypadku można spodziewać się rozpuszczenia $^{197,197m}\text{Hg}$ w cytoplazmie komórek nowotworowych o dużym potencjale utleniającym.

3. RADIOBIOKONIUGATY ZNAKOWANE EMITERAMI AUGERA

Wybór wektora naprowadzającego, który jest stosowany do syntezy radiobiokoniugatu podyktowany jest rodzajem celu molekularnego, do którego emiter Augera ma być przetransportowany. Jeżeli celem molekularnym są nici jądrowego DNA, radiofarmaceutyk musi zawierać elementy nakierunkowujące go do jądra komórkowego w okolicę DNA, najlepiej o zdolnościach interkalujących. Gdy celem ma być cytoplazma komórki powinien być to wektor (peptyd, przeciwciało monoklonalne) internalizujący do wnętrza komórki (tzw. agonista receptora). W przypadku gdy celem molekularnym ma być tylko błona komórkowa najlepsze będą wektory łączące się do receptora komórkowego, nie ulegające przy tym internalizacji (tzw. antagoniści receptora) [11, 36, 37].

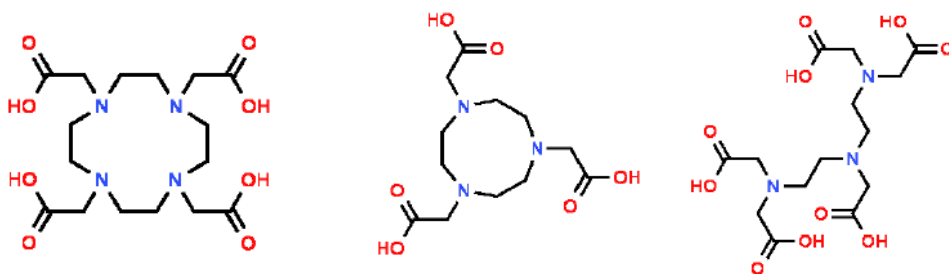


Rysunek 7. Działanie radiobiokoniugatów znakowanych emiterami elektronów Augera w zależności od zastosowanego wektora

Figure 7. Cytotoxic action of radiobioconjugates labeled with Auger electron emitters depending on the vector used

Emitory elektronów Augera w postaci kationów metali przyłączane są do wektorów naprowadzających za pomocą powszechnie stosowanych w radiofarmacji multidentnych związków chelatujących, takich jak DOTA (kwas 1,4,7,10-tetraazacyklododekano-1,4,7,10-tetraoctowy), NOTA (kwas 1,4,7-triazacyklononano-1,4,7-trioctowy) czy DTPA (kwas dietylenotriaminopenta-

octowy) (kwas 1,4,7,10-tetraazacyklododekano-1,4,7,10-tetraoctowy). Struktury tych chelatorów przedstawiono na rysunku 8.



Rysunek 8. Struktury chelatorów DOTA, DTPA i NOTA (na podstawie bazy Chemspider)
Figure 8. Chemical structures of DOTA, DTPA i NOTA chelators (on Chemspider base)

W przypadku halogenowych emiterów elektronów Augera ^{77}Br czy $^{123,124,125}\text{I}$ metodą ich przyłączania do biomolekuł jest reakcja halogenizacji polegająca na elektrofilowym podstawieniu tyrozyny w peptydach i białkach. W porównaniu do chelatowania metoda jodowania charakteryzuje się znacznie niższą wydajnością wynoszącą jedynie 40-60%. Ponadto, stabilność tego typu związków w warunkach *in vivo* jest niska, ze względu na obecność enzymu dehalogenazy, odczepiającego radioaktywny brom czy jod [11].

Ostatnim z podstawowych rozwiązań stosowanych w syntezie radiofarmaceutyków znakowanych emiterami elektronów Augera jest wykorzystanie nanocząstek jako nośników. Metoda ta znajduje coraz szersze zastosowanie, ze względu na unikatowe właściwości nanocząstek, które dzięki swoim niewielkim rozmiarom, mogą wnikać do wnętrza komórki, co przekłada się na zwiększenie efektywności dostarczania leku. Wykorzystanie nanocząstek może polegać na chemisorpcji radionuklidu na powierzchni [38] lub przyłączeniu skompleksowanego radionuklidu do powierzchni nanocząstki poprzez łącznik polimerowy [22].

3.1. RADIOBIOKONIUGATY WIĄŻĄCE SIĘ DO NICI DNA

Dotychczasowe badania nad nowymi radiofarmaceutykami o potencjalnym zastosowaniu w celowanej radioterapii elektronami Augera dotyczyły głównie radiobiokoniugatów znakowanych dwoma radionuklidami: ^{111}In oraz ^{125}I . Było to spowodowane ich dużą dostępnością na rynku, a także możliwością łatwego przyłączenia do biomolekuł. W ostatnich latach opublikowano także prace dotyczące efektywnej i prostej metody otrzymywania dwóch atrakcyjnych emiterów elektronów Augera - ^{135}La i $^{197}\text{Hg}/^{197\text{m}}\text{Hg}$, które prowadzone są w kilku

ośrodkach pod kątem ich zastosowania w celowanej radioterapii. Jednakże dotychczas nie opublikowano wyników prac, w których zastosowano by te radionuklidy do syntezy radiofarmaceutyków. W tabeli 2 zebrano prowadzone od 2013 lat badania z użyciem radiobiokoniugatów znakowanych emiterami elektronów Augera. Pod tabelą omówiono niektóre radiobiokoniugaty oparte na małych cząsteczkach, nukleozydach, peptydach, polipeptydach i przeciwciałach monoklonalnych. Szczególną uwagę zwrócono na mechanizm ich terapeutycznego działania.

Tabela 2. Wykaz wybranych prac dotyczących celowanej radioterapii elektronami Augera opublikowanych w ostatnich 7 latach

Table 2. List of selected studies on targeted Auger electron radiotherapy published in the last 7 years

Radionuklid	Radiobiokoniugat	Wektor	Cel molekularny	Etap	Rok publikacji [autorzy]
^{58m}Co	^{58m}Co -DOTATATE	Analog somatostatyny	NET	<i>In vitro, in vivo</i>	2014 [39]
^{67}Ga	^{67}Ga -Nimotuzumab	Przeciwciało	MPM	<i>In vitro, in vivo</i>	2018 [40]
^{67}Ga	^{67}Ga -NOTA-MNT	MNT	EGFR+	<i>In vitro, in vivo</i>	2014 [41]
^{67}Ga	^{67}Ga -Trastuzumab	Przeciwciało	HER2+	<i>In vitro</i>	2020 [42]
^{67}Ga	^{67}Ga -pBR322	Plazmid	PC, BC	<i>In vitro</i>	2017 [43]
^{99m}Tc	^{99m}Tc -HYNIC-DAPI	DAPI	Plazmid DNA	<i>In vitro</i>	2014 [44]
^{111}In	^{111}In -Bn-DTPA-Nimotuzumab	Przeciwciało	EGFR+	<i>In vitro</i>	2020 [45]
^{111}In	^{111}In -AuNP-EGF	Białko	EGFR+	<i>In vitro</i>	2016 [46]
^{111}In	^{111}In -AuNP-Trastuzumab	Przeciwciało	HER2+	<i>In vitro, in vivo</i>	2016 [47]
^{111}In	^{111}In -DTPA-NLS-Trastuzumab	Przeciwciało	HER2+	<i>In vitro</i>	2013 [48]
^{111}In	^{111}In -MCP-Panitumumab	Przeciwciało	EGFR+	<i>In vitro, in vivo</i>	2018 [49]
^{111}In	^{111}In -DTPA-hEGF	Białko	EGFR+	<i>Badania kliniczne</i>	2014 [50]
^{111}In	^{111}In -hEGF-PLGA	Białko	EGFR+	<i>In vitro</i>	2018 [51]
^{111}In	^{111}In -DTPA-Oktretyd	Analog somatostatyny	NET	<i>Badania kliniczne</i>	2015 [52]
^{111}In	^{111}In -NOTA-MNT	MNT	EGFR+	<i>In vitro, in vivo</i>	2018 [53]
^{111}In	^{111}In -NOTA-MNT _{Aficialo}	MNT+Afficialo	EGFR+	<i>In vitro</i>	2020 [54]
^{111}In	^{111}In -DTPA-NLS-CSL360	Przeciwciało	AML	<i>In vitro</i>	2015 [55]
^{111}In	^{111}In -NOTA-MNT	MNT	EGFR+	<i>In vitro, in vivo</i>	2017 [56]
^{111}In	^{111}In -DTPA-Fab-PEG ₂₄ -EGF	Przeciwciało+białko	EGFR+,HER2+	<i>In vitro, in vivo</i>	2016 [57]
^{111}In	^{111}In -Trastuzumab-NLS	Przeciwciało	HER2+	<i>In vitro</i>	2015 [58]
^{111}In	^{111}In -hEGF	Białko	EGFR+	<i>In vitro, in vivo</i>	2015 [59]
^{111}In	^{111}In -Trastuzumab-MCP	Przeciwciało	HER2+	<i>In vitro</i>	2015 [60]

¹¹¹ In	¹¹¹ In-NLS-7G3	Przeciwciało	AML	<i>In vitro</i>	2014	[61]
¹²⁴ I	¹²⁴ I-Omburtamab	Przeciwciało	MN	<i>Badania kliniczne</i>	2019	[62]
¹²⁵ I	¹²⁵ In-Tyr ³ -Oktreotydyd	Analog somatostatyny	NET	<i>In vitro</i>	2016	[63]
¹²⁵ I	¹²⁵ I-mAb-425	Przeciwciało	EGFR+	<i>Badania kliniczne</i>	2013	[64]
¹²⁵ I	¹²⁵ I-DCIBzL	Białko	PSMA	<i>In vitro, in vivo</i>	2015	[65]
¹²⁵ I	¹²⁵ I-KX1	Zw. małowzrast.	Neuroblastoma	<i>In vitro, in vivo</i>	2019	[66]
¹²⁵ I	¹²⁵ I-DCIBzL	Białko	PSMA	<i>In vitro, in vivo</i>	2020	[67]

ANALOGI NUKLEOZYDÓW – DEOKSYNUKLEOTYDY I OLIGONUUKLEOTYDY

Analogi nukleozydów stanowią grupę związków interkalujących do DNA na zasadzie wbudowywania się w miejsce określonych zasad azotowych. Najszerzej przebadanym związkiem jest analog tyminy – 5-jodo-2'-deoksyurydyna (IdUR), znakowana zazwyczaj ^{123/125}I. Zaletą tego ligandu jest jego wbudowywanie się w DNA poprzez zastąpienie tyminy. Pomimo szybkiego wydalania ¹²⁵I-IdUR z organizmu i stosunkowo niskiego wychwytu w nowotworze, udowodniono wysoką skuteczność terapii u pacjentów. W ramach wielu przeprowadzonych eksperymentów analizowano zarówno wpływ radionuklidu, porównując działanie także ⁷⁷Br oraz ¹³¹I, jak i różnych modyfikacji struktury podstawowej, na przykład [¹²³I]5-jodo-4-tio-2'-deoksyurydyny. Wadą analogów nukleozydów, jak i innych interkalatorów DNA, jest bardzo mała selektywność w stosunku do komórek nowotworowych i związane z tym oddziaływanie również na komórki zdrowe. Próby przyłączenia wektorów naprowadzających nukleotydy na receptory na komórkach nowotworowych nie dały dobrych wyników, ponieważ nukleotydy z przyłączonymi wektorami traciły własności interkalujące. Ponadto, wadą tej grupy związków jest ograniczenie ich działania jedynie do komórek będących w fazie S cyklu komórkowego, w związku z czym jedynie niewielka liczba komórek w danym czasie może być podatna na działanie tego związku. Pomimo szeregu zalet, obecne zainteresowanie tą grupą wektorów jest stosunkowo niskie, co spowodowane jest istotnymi ograniczeniami tej grupy związków [68, 69].

Także krótkie fragmenty kwasów nukleinowych (oligonukleotydy) mogą być wykorzystywane jako wektor zarówno do bezpośredniego oddziaływania na określone sekwencje DNA, jak i oddziaływania na znajdujące się w cytoplazmie mRNA. Przykładem oligonukleotydu badanego pod kątem stosowania w terapii Augera jest 2'O-methyl RNA (2'OMeRNA) znakowany ¹¹¹In. Związek ten wykazał wysoką selektywność względem komórek z nadekspresją telomerazy oraz bezpoś-

rednie oddziaływanie na DNA ocenione na podstawie analizy dwuniciowych uszkodzeń [70].

AKRYDYNY

Dobrze znanymi interkalującymi do DNA związkami są akrydyny–heterocykliczne, trójpierścieniowe związki, wiążące się z DNA poprzez oddziaływanie między parami zasad, w szczególności guaniną i cytozyną. Podczas badań połączenia tego typu związków, m.in. jodem-125, wykazano skuteczną interkalację, jednak efektywność generowania DSB była około 25% niższa niż w przypadku znakowanej ^{125}I jododeokurydyny. Akrydyny są związkami o niewielkiej masie cząsteczkowej, zatem duże znaczenie w skuteczności ich działania związane jest z miejscem przyłączenia radioaktywnego jodu, ponieważ stosunkowo duży atom może utrudniać interkalację, stąd ważne jest odpowiednie przeprowadzenie reakcji syntezy [71, 72].

CIS-PLATYNA

Cis-platyna to jeden z najważniejszych cytostatyków, składający się z kationu Pt^{2+} otoczonego dwoma atomami chloru i dwiema grupami aminowymi. Wiąże się ona z nicią DNA poprzez oddziaływanie z guaniną jednego łańcucha pomiędzy guaninami sąsiednich łańcuchów lub guaniną i innymi zasadami lub białkami.

Analizowano możliwość podstawienia nieradioaktywnego atomu platyny emiterami Augera $^{193\text{m}/195\text{m}}\text{Pt}$ oraz radionuklidem ^{191}Pt . Wykazano wyższą efektywność biologiczną w stosunku do ^{125}I IdUR, ^{77}Br BrdUR oraz ^{125}I I-akrydyny. Niestety, ograniczeniem tej metody była niska aktywność właściwa dostępnych radionuklidów platyny [73, 74]. Inne próby znakowania *cis*-platyny emiterem elektronów Augera polegały na zastąpieniu atomów chloru w kompleksie radionuklidem ^{125}I , jednak wyniki badań pokazały stosunkowo niską akumulację w guzie, przy jednocześnie wysokim gromadzeniu w wątrobie i śledzionie [75].

ANTRACYKLINY

Szeroką grupę leków przeciwnowotworowych stanowią antybiotyki z grupy antracyklin, spośród których najczęściej w terapii nowotworowej wykorzystywane są doksorubicyna i daunorubicyna. Badania krystalograficzne wykazały, że daunorubicyna i doksorubicyna tworzą interkalacyjne kompleksy z DNA, a miejscem oddziaływania są sekwencje 5'-GC-3', 5'-CG-3' [76]. Zdolność interkalacji do DNA antracyklin zainspirowała prace badawcze nad ich zastosowaniem w terapii elektronami Augera, które obejmowały m.in. znakowanie

pochodnych daunorubicyny ^{125}I . Zaobserwowano wysoką cytotoksyczność takiego radiobiokoniugatu, jednak istotnym ograniczeniem tej metody jest nasilenie skutków ubocznych w stosunku do nieznakowanej daunorubicyny przy zachowaniu takiej samej dawki antybiotyku [77]. Rozwiązaniem tego problemu może być zastosowanie liposomów jako nośników leku, a sama obecność emitera elektronów Augera w strukturze leku może przyczynić się do zmniejszenia wymaganej dawki antybiotyku i zredukowania licznych działań niepożądanych [78].

Jak wspomniano, wszystkie przedstawione powyżej związki interkalujące znakowane emiterami elektronów Augera działają silnie cytotoksycznie, nie są jednak specyficzne dla komórek nowotworowych. Poniżej przedstawiono wektory, które specyficznie naprowadzają emitery Augera, jednak bez zdolności interkalowania do DNA.

3.2. RADIOBIOKONIUGATY NIE INTERKALUJĄCE DO DNA

Jak zauważył Pouget i wsp. [79] w 2008 r. interkalacja do DNA biokoniugatu znakowanego emiterem elektronów Augera nie jest warunkiem koniecznym do zniszczenia komórki. Od tego czasu większość opublikowanych prac skupiała się na znalezieniu wektora, który selektywnie wiązałby się z receptorami na komórkach nowotworowych oraz miał zdolność do internalizacji i ewentualnie przejścia do jądra komórkowego. Takie własności mają niektóre małe molekuly z dużym dopasowaniem do receptora, peptydy oraz przeciwciała monoklonalne i ich fragmenty.

3.2.1. Małe cząsteczki biologicznie aktywne znakowane emiterami Augera

MIBG

Znakowana $^{123/125/131}\text{I}$ meta-jodo-benzylguanidyna (MIBG) jest wektorem stosowanym w przypadku guzów chromochłonnych, neuroblastomy (pozaczaskowych guzów litych) i rakowiaków. Wysoką selektywność wychwytu przez komórki nowotworowe osiąga się poprzez działanie transporterów noradrenaliny, przy jednocześnie relatywnie niskim wychwycie przez komórki zdrowe. MIBG znakowany emiterem β^- , czyli ^{131}I jest powszechnie stosowany w terapii neuroblastomy, jednak ze względu na wykorzystywanie emitery β^- wykazuje niską skuteczność w terapii mikroprzerzutów, co zainspirowało wielu naukowców do badań MIBG znakowanego emiterami elektronów Augera $^{123,125}\text{I}$ [66, 80-82].

PSMA (Prostate Specific Membrane Antigen)

Do chwili obecnej opracowano i przetestowano w badaniach przedklinicznych tylko dwa ligandy ukierunkowane na receptor PSMA znakowane emiterami elektronów Augera. W 2015 r. Kiess wraz ze współpracownikami [65] opracował i zbadał wysoce specyficzny małowcząsteczkowy radiobiokoniugat, znakowany ^{125}I ukierunkowany na PSMA, kwas 2-[3-[1-karboksy-5-(4- ^{125}I -jodo-benzoiloamino)-pentylo]-ureido]-pentanodiowy (^{125}I -DCIBzL). Badanie *in vitro* radiobiokoniugatu wykazało wysoce specyficzny wychwyty komórkowy i cytotoksyczność oraz skuteczność w indukcji uszkodzenia DNA i opóźnienia wzrostu guza u myszy z heteroprzeszczepami komórek nowotworu PSMA+. Potwierdzono także wysoką internalizację ^{125}I -DCIBzL do wnętrza komórki i oddziaływanie elektronów Augera w procesie mitozy komórki. Mechanizm ten szerzej opisano w pkt. 1.2.

W ostatnim czasie Müller i wsp. [30] badali w warunkach *in vitro* oraz *in vivo* kompleks radionuklidu ^{161}Tb (emiter promieniowania β^- oraz elektronów Augera) z małą pochodną mocznika, peptydomimetykiem skoniugowanym z chelatorem DOTA, (PSMA-617). Zauważyli oni zwiększone działanie terapeutyczne ^{161}Tb w porównaniu do ^{177}Lu , który nie emituje elektronów Augera. Zgodnie z obliczeniami dozymetrycznymi, ^{161}Tb -PSMA-617 był do 3 razy bardziej skuteczny niż ^{177}Lu -PSMA-617. Badania *in vivo* pokazały, że ^{161}Tb -PSMA-617 wykazuje dużo lepsze działanie terapeutyczne w stosunku do pojedynczych komórek rakowych oraz drobnych przerzutów nowotworowych

STEROIDY

Celem molekularnym steroidów jest szeroka grupa receptorów steroidowych, w skład której wchodzi receptory estrogenowe (ER), progesteronowe (PR), androgenowe (AR) oraz glikokortykoidowy (GR). Związanie odpowiedniego ligandu z receptorem powoduje jego dimeryzację i zmiany konformacyjne, co prowadzi do ujawnienia sygnału NLS umożliwiającego internalizację do jądra, a następnie wbudowanie w strukturę DNA poprzez rozpoznanie specyficznych sekwencji. Nadekspresja receptorów estrogenowych ma miejsce na przykład w nowotworach piersi. Szczególnie interesujący wydaje się być wpływ receptorów androgenowych w przypadku potrójnie ujemnego nowotworu piersi (ER $^-$, PR $^-$ i HER2 $^-$). Wyniki badań klinicznych pokazują, że obecność AR powoduje zmniejszoną liczbę nawrotów, odległych przerzutów i zredukowanie śmiertelności [83]. Dotychczas badano skuteczność steroidów znakowanych ^{123}I , głównie estrogenu i potwierdzono generowanie jedno- i dwuniciowych uszkodzeń DNA [23, 84].

3.2.2. Pepetydy

ANALOGI SOMATOSTATYNY

Duże zainteresowanie analogami somatostatyny jest wynikiem występowania nadekspresji receptora somatostatyny typu 2 (SSTR2) na powierzchni komórek guzów neuroendokrynych. Możliwość zastosowania tych wektorów w terapii elektronami Augera związana jest z dużą specyficnością wiązania tych peptydów przez komórki nowotworowe oraz następującej po związaniu z receptorem ich internalizacji do wnętrza komórki i częściowego transportu radiobiokoniugatu do jądra komórkowego. Badano skuteczność terapii z wykorzystaniem radiofarmaceutyku ^{111}In -DTPA-Oktreotyd (OktreoscanTM) stosowanego powszechnie w diagnostyce nowotworów neuroendokrynych. Zaobserwowano dobrą korelację efektu cytotoksycznego ze stopniem ekspresji receptora, hamowanie tworzenia się mikroprzerzutów w modelu guza wątroby szczura oraz znacznego wydłużenia czasu ich przeżycia [85-87]. W innych badaniach zastąpiono ^{111}In radionuklidami $^{57/58\text{m}}\text{Co}$ i potwierdzono zarówno w badaniach *in vitro*, jak i *in vivo* wysoki wychwyty radiobiokoniugatu. Ponadto, stwierdzono większą efektywność terapii koniugatem $^{58\text{m}}\text{Co}$ -DOTATATE w porównaniu do tego samego peptydu znakowanego ^{111}In i ^{177}Lu [39].

BOMBEZYNA

Jest peptydem zbudowanym z 14 aminokwasów. Została pierwotnie wyizolowana ze skóry płaza kumaka nizinnego (*Bombina bombina*) z rodziny kumakowatych. Stwierdzono jej wysokie powinowactwo do receptorów uwalniających gastrynę α (GRP-r), nadekspresję których obserwuje się w raku prostaty i przerzutach do węzłów chłonnych. Bombezyina jest antagonistą receptora GRP-r nie internalizującym do wnętrza komórki. Aby spowodować internalizację, bombezyina została zmodyfikowana przez Tat (49-57), który jest peptydem pochodzącym z transaktywatora białka transkrypcyjnego wirusa HIV-1, mającego domenę translokacji błonowej i sekwencję odpowiadającą za lokalizację w jądrze. W badaniach komórkowych wykazano, że $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -N₂S₂-Tat-(49-57)-Lys³-bombezyina jest wysoce internalizowana w jądrach komórek raka piersi i prostaty [88]. Badania te kontynuowano, wprowadzając bombezyinę modyfikowaną TAT oraz kompleks HYNIC- $^{99\text{m}}\text{Tc}$ na nanocząstkach złota. Uzyskano multimodalny radiofarmaceutyk działający poprzez emisję elektronów Augera oraz hipertermię po naświetleniu laserem [89].

EKSENDYNA

Eksendyna, peptyd łączący się z receptorem glukopodobnego peptydu 1 (GLP-1) jest stosowany w terapii guzów neuroendokrynych powstających z komórek trzustki. Badane były połączenia eksendyny z ^{111}In jako potencjalnego terapeutycznego, jednak podawanie w zwiększonych dawkach, powodowało znaczące uszkodzenie nerek, wynikające z mechanizmu biodystrybucji eksendyny, wykazującej wysoką kumulację w nerkach. Jest to istotny problem, który sprawia, że pochodne eksendyny nie mają obecnie zastosowania praktycznego [90].

3.2.3. Polipeptydy, przeciwciała monoklonalne i ich fragmenty

Szereg nowotworów charakteryzuje się występowaniem nadekspresji określonych receptorów na powierzchni błony komórkowej i związanym z tym agresywniejszym przebiegiem choroby. Do receptorów ulegających najczęstszej nadekspresji zalicza się:

- **receptor nabłonkowego czynnika wzrostu** (EGFR - Epidermal Growth Factor Receptor), odpowiedzialny za proliferację komórek. Rodzina tych receptorów obejmuje również receptory HER1, HER2, HER3 i HER4,
- **receptor czynnika wzrostu śródbłonka naczyniowego** (VEGFR - Vascular Endothelial Growth Factor Receptor), biorący udział w tworzeniu naczyń krwionośnych,
- **receptor insulopodobnego czynnika wzrostu 1** (IGFR-1 - Insulin-Like Growth Factor 1 Receptor), czyli receptor transbłonowy należący do dużej klasy receptorów kinazy tyrozynowej, który jest aktywowany przez hormon zwany insulopodobnym czynnikiem wzrostu 1 (IGF-1). [23,91-93].

Do powyższych receptorów zsyntetyzowano cząsteczki polipeptydów oraz białek (przeciwciała monoklonalne), które wiążą się z nimi wybiórczo. Analizowano działanie radiobiokoniugatów nakierowanych zarówno na EGFR, jak i VEGF, znakowanych głównie radionuklidem ^{111}In . W przypadku biokoniugatów nakierowanych na receptor EGFR (HER1) bardzo obiecujące wyniki uzyskano dla znakowanej ^{111}In cząsteczki hEGF. Jest to produkowany przez bakterie humanizowany polipeptyd o bardzo wysokim powinowactwie receptorowym. W prowadzonych badaniach komórkowych radiobiokoniugat ^{111}In -DTPA-hEGF został związany, zinternalizowany i przeniesiony do jądra komórek ludzkiego raka piersi MDA-MB-468, wykazujących nadekspresję receptora EGFR ($\sim 10^6$ EGFR/komórka), gdzie silnie hamował wzrost tych komórek [94]. Kolejne badania wykazały, że $>98\%$ komórek nie przeżyło po ekspozycji na ^{111}In -DTPA-hEGF. Potwierdzono także zależność efektów terapii od stopnia nadekspresji receptorów,

czasu inkubacji oraz aktywności właściwej związku. Nie stwierdzono toksyczności ^{111}In -DTPA-hEGF w stosunku do innych narządów, a także wpływu na skład krwi oraz funkcje wątroby i nerek [45,95-97]. Mimo iż wyniki te były obiecujące, w dalszych badaniach porównawczych na myszach, zauważono, że przeciwciało monoklonalne mAb anti-EGFR 528 znakowane ^{111}In wykazuje 10-krotnie większą akumulację w nowotworze - 21,6% ID/g, podczas gdy dla polipeptydu ^{111}In -DTPA-hEGF wynosiła ona tylko 2,2% ID/g. Wyższy wychwyty do guza przeciwciała ^{111}In -mAb 528 w porównaniu do ^{111}In -DTPA-hEGF sugeruje, że radioimmunoterapia nowotworów z receptorami EGFR przeciwciałami monoklonalnymi może być bardziej skuteczna niż celowana radioterapia oparta na wektorach peptydowych [98].

Nadekspresję receptorów HER2 obserwuje się w około 25% przypadkach raka piersi. Nadekspresja tych receptorów jest związana z bardziej agresywnym rozrostem raka piersi i gorszym rokowaniem u pacjentek z przerzutami do węzłów chłonnych.

Z drugiej strony występowanie receptora umożliwiło selektywne leczenie przeciwciałami monoklonalnymi, takimi jak trastuzumab, pertuzumab oraz immunokoniugat: przeciwciało-lek (ADC) składający się z trastuzumabu i emtansyny [99]. Stwierdzono, że trastuzumab promuje internalizację receptora HER2, który jest jednym z proponowanych mechanizmów działania leku [100]. Niestety już w ciągu roku u prawie wszystkich pacjentek z przerzutowym rakiem piersi HER2+ rozwijała się oporność na lek, dlatego można spodziewać się, że radioimmunoterapia może być jedną z kilku szans, która poprawi odpowiedź na leczenie trastuzumabem i przezwyciężyć oporność na lek.

Obok licznych badań *in vitro* i *in vivo*, w tym klinicznych z trastuzumabem znakowanym emiterami β^- oraz α prowadzono także badania możliwości zastosowania emiterów elektronów Augera do terapii drobnych przerzutów nowotworowych raka piersi i jajnika. Badania dotyczyły radiobiokoniugatów znakowanych ^{111}In i ^{67}Ga [75], w których większy wychwyty zaobserwowano dla radiobiokoniugatu znakowanego ^{67}Ga , nie stwierdzono natomiast istotnych różnic w internalizowanych dawkach badanych związków. Dla obydwu radiobiokoniugatów zauważono spadek przeżywalności komórek, przy czym dla tych samych dawek aktywności większa była cytotoksyczność koniugatów znakowanych ^{67}Ga niż ^{111}In [42]. Autorzy wiążą większą cytotoksyczność ^{67}Ga w stosunku do ^{111}In różnym rozkładem energii emitowanych elektronów. W przypadku ^{111}In przeważająca emisja elektronów o krótkim, nanometrowym zasięgu w wyniku czego, cytotoksyczność może nastąpić tylko przy lokalizacji wewnątrz jądra komórkowego.

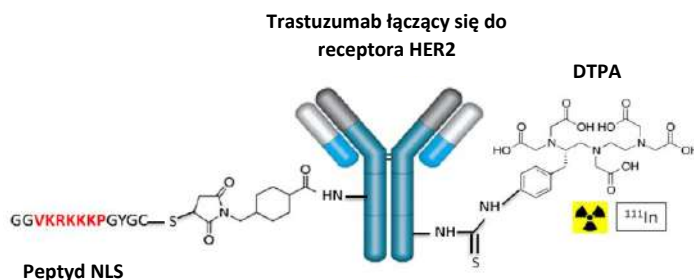
Innym przeciwciałem monoklonalnym badanym pod kątem zastosowania w terapii Augera jest internalizujący mAb-425 znakowany ^{125}I stosowany w terapii

gwiazdzianka aplastycznego, którego progresja prowadzi bezpośrednio do glejaka wielopostaciowego. Obiecujące wyniki badań *in vitro* oraz *in vivo* przyczyniły się do wprowadzenia leku w II fazę badań klinicznych - analizując działanie leku na grupie 80 pacjentów zaobserwowano wydłużenie czasu przeżycia i brak efektów niepożądanych [64].

Prowadzone badania radiobiokoniugatów opartych na przeciwciałach monoklonalnych wykazały ich dużą akumulację w komórkach nowotworowych oraz internalizację badanych radiobiokoniugatów. Nie stwierdzono jednak ich wnikania do wnętrza jądra komórkowego, co jest warunkiem bardziej skutecznej terapii.

PRZECIWCIAŁA MONOKLONALNE SKONIUGOWANE Z PEPTYDAMI TRANSLOKACJI JĄDROWEJ (NLS) W TERAPII ELEKTRONAMI AUGERA

Ponieważ cytotoksyczne działanie elektronów Augera jest zależne od ich lokalizacji w pobliżu jądrowego DNA podczas transportu mAb do jądra komórkowego wykorzystano ostatnio otrzymane i zbadane peptydy translokacji jądrowej (NLS). [88–90]. Te 13-merowe peptydy (CGYGPKKKRKVGG) zawierają NLS SV-40, duży antygen T (podkreślony), który uczestniczy w transporcie mAb przez błonę jądrową (rys. 9) [101, 102].



Rysunek 9. Internalizujący do jądra radiobiokoniugat zawierający ^{111}In -trastuzumab oraz peptyd translokacji jądrowej (NLS)

Figure 9. Nuclear internalizing radiobioconjugate containing ^{111}In -trastuzumab and a nuclear translocation peptide (NLS)

Przeprowadzono badania cytotoksyczności radiobiokoniugatu ^{111}In -VEGF, które zawierały i nie zawierały odpowiednio peptydu NLS. Dla ^{111}In -DTPA-VEGF-2K-NLS wykazano większą internalizację do jądra komórkowego niż dla analogicznego związku bez NLS. Następstwem tego była zwiększona cytotoksyczność tego związku, będąca skutkiem wygenerowania dwuniciowych

uszkodzeń DNA [103]. Ze względu na bardzo małe rozmiary nowotworów z nadekspresją VEGFR elektrony Augera wykazują większą skuteczność niż tradycyjnie stosowane w terapii radiobiokoniugaty znakowane emiterami β^- .

W porównawczym badaniu działania radiobiokoniugatów ^{111}In -NLS-Numotuzumab i ^{111}In -Numotuzumab na komórki oporne na leczenie trastuzumabem nowotworu piersi z nadekspresją receptora nabłonkowego czynnika wzrostu (EGFR), zaobserwowano wyższy wychwyty związku zawierającego NLS w stosunku do radiobiokoniugatu bez tego peptydu. Wykazano również wpływ ilości receptora EGFR na komórce na wydajność internalizacji, sugerując jego pośredniczącą rolę w tym procesie. Analizując rozkład radiofarmaceutyku w poszczególnych strukturach komórkowych zauważono, że największe jego stężenie w obydwu przypadkach występuje na błonie komórkowej. Jednak w przypadku biokoniugatu z NLS wykazano znacznie większą zawartość związku w jądrze i związaną z tym większą liczbę dwuniciowych uszkodzeń DNA, jak również jego szybszą eliminację z krwi [65].

W badaniach radiobiokoniugatów trastuzumabu znakowanego ^{111}In również stwierdzono istotny wpływ obecności peptydu NLS w strukturze związku na stopień internalizacji do jądra komórkowego i cytotoksyczność w stosunku do opornych na działanie trastuzumabu komórek nowotworowych (Rys. 6) [60, 104]. Radiobiokoniugat ^{111}In trastuzumab-NLS był 5-razy bardziej cytotoksyczny (cytotoksyczność >90%) na komórki ludzkiego raka piersi SK-BR-3 z nadekspresją HER2 (10^6 receptorów/komórkę) niż ^{111}In -trastuzumab bez NLS, podczas gdy nieznakowany trastuzumab zmniejszył przeżycie tych komórek tylko 1,5-krotnie. Ponadto zauważono, że ^{111}In -trastuzumab-NLS wykazuje cytotoksyczność w stosunku do ludzkich komórek raka piersi TrR1 opornych na trastuzumab mimo dużej ekspresji receptora HER2 [105]. Wyniki te sugerują, że celowana terapia elektronami Augera może pokonać oporność nowotworów HER2+ raka piersi na trastuzumab.

3.3. RADIOBIOKONIUGATY OPARTE NA NANOSTRUKTURALNYCH PLATFORMACH

Pomimo zachęcających wyników uzyskanych dla przeciwciał monoklonalnych znakowanych emiterami elektronów Augera istotnym ograniczeniem była niska aktywność właściwa radiobiokoniugatów. Wynosiła ona w przypadku ^{111}In -trastuzumab 0,24 MBq/ μg co wskazywało, że tylko 1 na 50 cząsteczek trastuzumabu była wyznakowana ^{111}In . Powodowało to, że wysoki odsetek receptorów HER2 w raku piersi oddziaływał z nieradioaktywnym koniugatem, znacznie ograniczając działanie cytotoksyczne. Aby zwiększyć aktywność właściwą radiobiokoniugatów przyłączono do trastuzumabu polimer skoniugowany

z dużą ilością ligandu DTPA kompleksującego ^{111}In . Polimer składał się ze szkieletu poliglutamidowego z 24 lub 29 bocznymi grupami DTPA i był zmodyfikowany lub nie peptydem NLS [106]. Aktywność właściwa radiobiokoniugatów wzrosła 90-krotnie, co powodowało, że liczba pęknięć podwójnieniowych DNA w komórkach SK-BR-3 zwiększyła się 6-krotnie a cytotoksyczność przekraczała 98%, natomiast radiobiokoniugat o niskiej aktywności właściwej ^{111}In -trastuzumab zmniejszał przeżycie komórek tylko 3-krotnie. Zwiększoną cytotoksyczność w stosunku do komórek HER2+ raka piersi zaobserwowano dla trastuzumabu związanego z poliamidoaminą (PAMAM), dendrymerem funkcjonalizowanym wieloma ligandami DTPA [48] oraz dla miceli w kopolimerze blokowym (BCM) zmodyfikowanym fragmentami trastuzumabu oraz peptydem NLS [107,148]. Radiobiokoniugat ^{111}In -BCM-trastuzumab-NLS wiązał się specyficznie z receptorem HER2 raka piersi i przechodził do jądra komórkowego, selektywnie niszcząc komórki SK-BR-3 i MDA-MB-361 z nadekspresją receptorów HER2.

W dalszych badaniach wykorzystano nanocząstki złota jako platformy dla ^{111}In . Do nanocząstek złota przyłączono cząsteczki ligandów DTPA oraz trastuzumab, co pozwoliło znacznie zwiększyć aktywność właściwą radiobiokoniugatu. W badaniach *in vitro* stwierdzono, że ^{111}In -AuNP-trastuzumab został selektywnie związany przez HER2 komórki raka piersi, zinternalizowany i ulokowany w przestrzeni okołojądrowej. Emisja elektronów Augera powodowała nieodwracalne podwójnie-niciowe rozerwanie DNA, co znacznie obniżyło przeżywalność komórek. W badaniach *in vivo* na modelu mysim zaobserwowano zahamowanie wzrostu guza u myszy z podskórnie wszczepionymi klastrami komórek nowotworowych z receptorami HER2 bez widocznej toksyczności w stosunku do innych organów [47]. W innej pracy Song i wsp. [46] badali znakowany ^{111}In radiobiokoniugat nanocząstek złota z przeciwciałem EGR. Przeciwciało przyłączono do powierzchni złota bezpośrednio poprzez mostek dwusiarczkowy. Stwierdzono internalizację radiobiokoniugatu na poziomie 15% do wnętrza komórek MDA-MB-468, przy czym mała część radiobiokoniugatu zlokalizowała się w jądrze komórkowym. Zdolność do internalizacji rosła wraz z liczbą przeciwciał przyłączonych do nanocząstki złota i najlepsze wyniki uzyskano dla stosunku molowego przeciwciało:nanocząstka równego 160. W badaniach cytotoksyczności stwierdzono prawie liniową korelację pomiędzy internalizacją a cytotoksycznością zsyntezowanych koniugatów.

UWAGI KOŃCOWE

Emitory elektronów Augera dzięki swojej unikalnej charakterystyce stanowią idealną grupę radionuklidów mogących znaleźć zastosowanie w celowanej radioterapii

ukierunkowanej na leczenie małych zmian nowotworowych, mikroprzerzutów czy pojedynczych komórek rakowych. Jednakże, ze względu na krótki zasięg elektronów Augera konieczne jest ukierunkowanie radiobiokoniugatów w bezpośrednie sąsiedztwo celu molekularnego, którego zniszczenie ma zapoczątkować apoptozę komórki. Elektrony Augera są szczególnie zabójcze dla komórek rakowych, gdy są emitowane wewnątrz jądra komórkowego, a zwłaszcza jeśli emiter elektronów Augera włącza się bezpośrednio do DNA (np. ^{125}I -IUdR). Jednak najlepsze efekty terapeutyczne można osiągnąć poprzez sprzężanie internalizujących przeciwciał monoklonalnych z peptydami transportu jądrowego (NLS) np. ^{111}In -NLS-trastuzumab. Przeciwciało monoklonalne zapewnia selektywne dostarczenie radiobiokoniugatu do wnętrza komórki nowotworowej, a peptyd NLS odpowiada za jego lokalizację w jądrze.

Dotychczas przeprowadzono kilka badań klinicznych związanych z zastosowaniem elektronów Augera w terapii przeciwnowotworowej. Badano radiobiokoniugaty ^{125}I -IUdR, ^{111}In -DTPA-oktreotyd i ^{125}I -mAb425, dla których osiągnięto remisję guza lub wydłużenie czasu przeżycia pacjentów. Ostatnie osiągnięcia biologii molekularnej w syntezie biomolekuł ukierunkowanych na komórki rakowe, szczególnie humanizowanych i w pełni ludzkich, mAb stwarza możliwości zaprojektowania nowatorskiej radioterapii opartej na emiterach elektronów Augera. Także synteza radiobiokoniugatów opartych na radionuklidach emitujących większą liczbę elektronów Augera i elektronów konwersji niż dotychczas stosowane ^{125}I i ^{111}In powinna poprawić skuteczność terapii. Za 5 lat przypada setna rocznica publikacji Pierre'a Augera o odkryciu elektronów noszących jego imię ale z całą pewnością, nie przewidywał on możliwości ich zastosowania do skutecznego leczenia raka za pomocą terapii celowanej.

PODZIĘKOWANIE

Autorzy dziękują za wsparcie finansowe w ramach grantu OPUS Narodowego Centrum Nauki nr rejestracyjny 2019/35/B/ST4/01433. Mgr inż. Kamil Wawrowicz dziękuje za wsparcie finansowe w ramach projektu nr POWR.03.02.00-00-I009/17-00 (Projekt operacyjny Wiedza Edukacja Rozwój 2014-2020 współfinansowanego przez Europejski Fundusz Społeczny).

PIŚMIENICTWO CYTOWANE

- [1] F. Bray, J. Ferlay, I. Soerjomataram, R.L. Siegel, L.A. Torre, A. Jemal, CA. Cancer J. Clin., 2018, **68**, 394.
- [2] A. Świeboda-Sadlej, Chir. Pol., 2011, **13**, 59.
- [3] World Health Organization, Technical Report 492, Genewa. 1972.
- [4] G. Kramer-Marek J. Capala, Tumor Biol., 2012, **33**, 629.
- [5] O. Desouky, N. Ding, G. Zhou, J. Radiat. Res. Appl. Sci., 2015, **8**, 247.
- [6] P. Wardman, Br. J. Radiol., 2009, **82**, 89.
- [7] M.V. Sokolov, J.S. Dickey, W.M. Bonner, O.A. Sedelnikova, Cell cycle, 2007, **6**, 2210.

- [8] C. Kratochwil et al., *J. Nucl. Med.*, 2016, **57**, 1941.
- [9] A.I. Kassis, *J. Nucl. Med.*, 2003, **44**, 1479.
- [10] F. Buchegger, F. Perillo-Adamer, Y.M. Dupertuis, A. Bischof Delaloye, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, 2006, **33**, 1352.
- [11] A. Ku, V.J. Facca, Z. Cai, R. M. Reilly, *EJNMMI Radiopharm. Chem.*, 2019, **4**, 1.
- [12] H. Lundqvist, B. Stenerlöv, L. Gedda, *Targeted Radionuclide Tumor Therapy*, Springer, 2008.
- [13] H. Albar, in *Use of Gamma Radiation Techniques in Peaceful Applications*, 2019.
- [14] S.M. Larson, J.A. Carrasquillo, N.K.V. Cheung, O.W. Press, *Nat. Rev. Cancer*, 2015, **15**, 347.
- [15] V.A. Shepherd, *Curr. Top. Dev. Biol.*, 2006, **75**, 171.
- [16] D.S. Chang, F.D. Lasley, I.J. Das, M.S. Mendonca, J.R. Dynlacht, *Basic Radiotherapy Physics Biology*, Springer, 2014.
- [17] W. Graboń, D. Otto-słusarczyk, A. Barańczyk-kuźma, *Postepy Med. Hig. Dosw. (Online)*, 2018, **72**, 481.
- [18] A.I. Kassis S.J. Adelstein, *J. Nucl. Med.*, 2005, **46**, 1.
- [19] S. Aghevlian, A.J. Boyle, R.M. Reilly, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2017, **109**, 102.
- [20] J.P. Pouget, C. Lozza, E. Deshayes, V. Boudousq, I. Navarro-Teulon, *Front. Med.*, 2015, **2**, 12.
- [21] A. Stepień, M. Izdebska, A. Grzanka, *Postepy Hig. Med. Dosw. (Online)*, 2007, **61**, 420.
- [22] Z. Cai et al., *Nucl. Med. Biol.*, 2016, **43**, 818.
- [23] B. Cornelissen K. A Vallis, *Curr. Drug Discov. Technol.*, 2010, **7**, 263.
- [24] B.J. Hicke et al., *J. Nucl. Med.*, 2006, **47**, 668.
- [25] A.P. Kiess et al., *J. Nucl. Med.*, 2015, **56**, 1401.
- [26] L.Y. Xue, N. J. Butler, G. M. Makrigiorgos, S. J. Adelstein, A. I. Kassis, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2002, **99**, 13765.
- [27] H.A. Sawal, K. Asghar, M. Bureik, N. Jalal, *Onco. Targets. Ther.*, 2017, **10**, 3925.
- [28] M. Wideł, W. Przybyszewski, *J. Rzeszowska-wolny, Postepy Hig. Med. Dosw. (Online)*, 2009, **63**, 377.
- [29] A.B. Heeran, H.P. Berrigan, J. O'Sullivan, *Radiat. Res.*, 2019, **192**, 668.
- [30] C. Müller et al., *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, 2019, **46**, 1919.
- [31] M.C. Cantone C. Hoeschen, *Radiation Physics for Nuclear*, SPRINGER, 2011.
- [32] S.M. Qaim, *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, 2015, **305**, 233.
- [33] J. Fonslet et al., *Phys. Med. Biol.*, 2018, **63**, 1.
- [34] E. Aluicio-Sarduy et al., *Sci. Rep.*, 2019, **9**, 1.
- [35] M.S. Uddin, B. Scholten, A. Hermanne, S. Sudár, H.H. Coenen, S.M. Qaim, *Appl. Radiat. Isot.*, 2010, **68**, 2001.
- [36] A. Hyatt, *Advancing nuclear medicine through innovation - National Research Council Institute of Medicine of the National Academies* The National Academies Press, Joseph Henry Press; 2009.*
- [37] A.S. Sobolev, *Front. Pharmacol.*, 2018, **9**, 1.
- [38] A.-M. Chacko, J. Mikitsh, X. Ye, *J. Label. Compd. Radiopharm.*, 2013, **56**, 239.
- [39] H. Thisgaard, B.B. Olsen, J.H. Dam, P. Bollen, J. Mollenhauer, P.F. Høilund-Carlsen, *J. Nucl. Med.*, 2014, **55**, 1311.
- [40] V. Izquierdo-Sánchez et al., *Molecules*, 2018, **23**, 1.
- [41] E. Koumariou et al., *Nucl. Med. Biol.*, 2014, **41**, 441.
- [42] M.F. bin Othman et al., *Nucl. Med. Biol.*, 2020, **80**, 57.
- [43] M.F. bin Othman, N.R. Mitry, V.J. Lewington, P.J. Blower, S.Y.A. Terry, *Nucl. Med. Biol.*, 2017, **46**, 12.
- [44] J. Kotzerke et al., *PLoS One*, 2014, **9**, 8.
- [45] C. Chan, H. Fonge, K. Lam, R.M. Reilly, *Nucl. Med. Biol.*, 2020, **80**, 37.
- [46] L. Song, N. Falzone, K.A. Vallis, *Int. J. Radiat. Biol.*, 2016, **92**, 716.

- [47] Z. Cai et al., *Nucl. Med. Biol.*, 2016, **43**, 818.
- [48] C. Chan, Z. Cai, R. M. Reilly, *Pharm. Res.*, 2013, **30**, 1999.
- [49] S. Aghevlian, Y. Lu, M.A. Winnik, D.W. Hedley, R.M. Reilly, *Mol. Pharm.*, 2018, **15**, 1150.
- [50] K.A. Vallis et al., *Am. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, 2014, **4**, 181. [Online]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24753984> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC3992211>.
- [51] M.R. Gill et al., *Nanoscale*, 2018, **10**, 10596.
- [52] G.S. Limouris et al., *Clin. Nucl. Med.*, 2016, **41**, 194.
- [53] A.A. Rosenkranz et al., *Front. Pharmacol.*, 2018, **9**, 1.
- [54] T.S. Karyagina et al., *Front. Pharmacol.*, 2020, **11**, 1.
- [55] C. Gao, J.V. Leyton, A.D. Schimmer, M. Minden, R.M. Reilly, *Appl. Radiat. Isot.*, 2016, **110**, 1.
- [56] T.A. Slastnikova et al., *Int. J. Nanomedicine*, 2017, **12**, 395.
- [57] E.J. Razumienko, J.C. Chen, Z. Cai, C. Chan, R.M. Reilly, *J. Nucl. Med.*, 2016, **57**, 444.
- [58] H.K. Li et al., *Cancer Biother. Radiopharm.*, 2015, **30**, 349.
- [59] C. Panosa et al., *Nucl. Med. Biol.*, 2015, **42**, 931.
- [60] G. Ngo Ndjock Mbong et al., *Mol. Pharm.*, 2015, **12**, 1951.
- [61] A. Zereshkian, J.V. Leyton, Z. Cai, D. Bergstrom, M. Weinfeld, R.M. Reilly, *Nucl. Med. Biol.*, 2014, **41**, 377.
- [62] N. Pit-Taskar et al., *J. Nucl. Med.*, 2019, **60**, 12.
- [63] J.A. Violet, G. Farrugia, C. Skene, J. White, P. Lobachevsky, R. Martin, *Int. J. Radiat. Biol.*, 2016, **92**, 707.
- [64] J.H. Kim et al., *J. Radiat. Oncol.*, 2013, **2**, 7.
- [65] A. Kies, *J. Nucl. Med.*, 2015, **59**, 401.
- [66] H. Lee et al., *J. Nucl. Med.*, 2019.
- [67] C.J. Shen et al., *Theranostics*, 2020, **10**, 2888.
- [68] S.J. Adelstein, A.I. Kassis, L. Bodei, G. Mariani, *Cancer Biother. Radiopharm.*, 2003, **18**, 301.
- [69] H. Thisgaard et al., *Theranostics*, 2016, **6**, 2278.
- [70] M.R. Jackson et al., *Cancer Res.*, 2019, **79**, 4627.
- [71] K. Onizuka et al., *Nucleic Acids Res.*, 2019, **47**, 6578.
- [72] S.K. Sahu, Z.P. Kortylewicz, J. Baranowska-Kortylewicz, R.A. Taube, S.J. Adelstein, A.I. Kassis, *Radiat. Res.*, 1997, **147**, 401.
- [73] M. Crul, R.C.A.M. van Waardenburg, J.H. Beijnen, J.H.M. Schellens, *Cancer Treat. Rev.*, 2002, **28**, 291.
- [74] R.W. Howell et al., *Radiat. Res.*, 1994, **140**, 55.
- [75] P. Garnuszek I. Licińska, *Nucl. Med. Rev.*, 2002, **5**, 145.
- [76] J. B. Chaires, J.E. Herrera, M.J. Waring, *Biochemistry*, 1990, **29**, 6145.
- [77] L. M. Ickenstein, K. Edwards, S. Sjöberg, J. Carlsson, L. Gedda, *Nucl. Med. Biol.*, 2006, **33**, 773.
- [78] A. Fondell, K. Edwards, L.M. Ickenstein, S. Sjöberg, J. Carlsson, L. Gedda, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, 2010, **37**, 114.
- [79] J.-P. Pouget et al., *Radiat. Res.*, 2008, **170**, 192.
- [80] A. Shinohara et al., *Ann. Nucl. Med.*, 2018, **32**, 114.
- [81] W.H.Y. Roa et al., *Technol. Cancer Res. Treat.*, 2013, **12**, 79.
- [82] Z.P. Kortylewicz, D.W. Coulter, G. Han, *J. Label. Compd. Radiopharm.*, 2020.
- [83] M.C. Louie M.B. Sevigny, *Am. J. Cancer Res.*, 7, 8, 1617–1636, 2017.
- [84] T. Fischer, K. Schomäcker, H. Schicha, *Int. J. Radiat. Biol.*, 84, 12, 1112–1122, 2008.
- [85] L. Giovanella, *Nuclear Medicine Therapy: Side Effects Complications*. Springer, 2019.

- [86] A. Capello, E. Krenning, B. Bernard, J.C. Reubi, W. Breeman, M. De Jong, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, 2005, **32**, 1288.
- [87] A. Capello, E. Krenning, W. Breeman, B. Bernard, M. de Jong, *J. Nucl. Med.*, 2003, **44**, 98.
- [88] C. Santos-Cuevas et al., *Int. J. Pharm.*, 2009, **375**, 75.
- [89] N. Jiménez-Mancilla et al., *J. Label. Compd. Radiopharm.*, 2013, **56**, 663.
- [90] T.J.P. Jansen et al., *J. Label. Compd. Radiopharm.*, 2019, **62**, 656.
- [91] P.S. Marek Z. Wojtukiewicz, E. Sierko, *Onkol. w Prakt. Klin. Via Medica*, 2010, **6**, 217.
- [92] A.M.U. Pudelko, R. Partyka, I. Jałowicka, M. Żerdziński, *Ann. Acad. Med. Siles.*, 2014, **68**, 457.
- [93] L. Laviola, A. Natalicchio, F. Giorgino, *Curr. Pharm. Des.*, 2007, **13**, 663.
- [94] R.M. Reilly et al., *J. Nucl. Med.*, 2000, **41**, 429.
- [95] Z. Cai, Z. Chen, K.E. Bailey, D.A. Scollard, R.M. Reilly, K.A. Vallis, *J. Nucl. Med.*, 2008, **49**, 1353.
- [96] K.E. Bailey et al., *J. Nucl. Med.*, 2007, **48**, 1562.
- [97] R.M. Reilly, P. Chen, J. Wang, D. Scollard, R. Cameron, K.A. Vallis, *J. Nucl. Med.*, 2006, **47**, 1023.
- [98] S. Aghevlian, A.J. Boyle, R.M. Reilly, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2017, **109**, 102.
- [99] C.L. Arteaga, M.X. Sliwkowski, C.K. Osborne, E.A. Perez, F. Puglisi, L. Gianni, *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, 2012, **9**, 16.
- [100] J. Baselga, J. Albanell, *Ann. Oncol.*, 2001, **12**, 35.
- [101] D.L. Costantini, M. Hu, R.M. Reilly, *Cancer Biother. Radiopharm.*, 2008, **23**, 3.
- [102] D.L. Costantini, C. Chan, Z. Cai, K. A. Vallis, R. M. Reilly, *J. Nucl. Med.*, 2007, **48**, 1357.
- [103] C. Chan, Z. Cai, R. Su, R.M. Reilly, *Nucl. Med. Biol.*, 2010, **37**, 105.
- [104] D.L. Costantini, K. Bateman, K. McLarty, K. A. Vallis, R.M. Reilly, *J. Nucl. Med.*, 2008, **49**, 1498.
- [105] J.M. Du Manoir et al., *Clin. Cancer Res.*, 2006, **12**, 904.
- [106] Y. Lu et al., *Biomacromolecules*, 2014, **15**, 2027.
- [107] B. Hoang, R.M. Reilly, C. Allen, *Biomacromolecules*, 2012, **13**, 455.

Praca wpłynęła do Redakcji 8 lipca 2020 r.

KOMPLEKSY PEPTYDÓW Z JONAMI Cu^{2+} JAKO MIMETYKI DYSMUTAZY PONADTLENKOWEJ

PEPTIDES COMPLEXES WITH Cu^{2+} IONS AS MIMETICS OF SUPEROXIDE DISMUTASE

Aleksandra Pieniężna, Aleksandra Kotynia*

*Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu,
Wydział Farmaceutyczny,
ul. Borowska 211, 50-556 Wrocław
e-mail: aleksandra.kotynia@umed.wroc.pl

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

1. Charakterystyka dysmutaz ponadtlenkowych
2. Metody oznaczania aktywności CuZnSOD
3. Charakterystyka związków koordynacyjnych peptydów z jonami Cu^{2+} a ich aktywność CuZnSOD
 - 3.1. Peptydy liniowe
 - 3.2. Peptydy cykliczne
 - 3.3. Peptydy rozgałęzione (dendryczne)

Uwagi końcowe

Podziękowanie

Piśmiennictwo cytowane

Mgr inż. Aleksandra Pieniężna – absolwentka kierunku biotechnologia na Politechnice Wrocławskiej. Od 2019 roku zatrudniona na stanowisku asystenta w Katedrze i Zakładzie Chemii Nieorganicznej Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, gdzie naukowo zajmuje się koordynacją jonów metali z analogami związków peptydowych o znaczeniu biologicznym.



<https://orcid.org/0000-0003-4637-8335>

Dr Aleksandra Kotynia – ukończyła studia magisterskie na Wydziale Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego specjalności informatyka chemiczna. Od 2009 roku zatrudniona w Katedrze i Zakładzie Chemii Nieorganicznej, Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu. W 2018 roku uzyskała stopień doktora nauk farmaceutycznych. Jej zainteresowania naukowe koncentrują się wokół chemii bionieorganicznej, a w szczególności oddziaływania jonów metali przejściowych z peptydami.



<https://orcid.org/0000-0003-0730-8975>

ABSTRACT

Disturbances in the balance between the rates of reactive oxygen species formation and the ability of cells to neutralize them are often cause dysfunction in the human body. Therefore the research on natural antioxidant systems protecting cells against destruction is very important. One of such system acting in human organism is superoxide dismutase (SOD), which is responsible for degradation of the superoxide radical anion into molecular oxygen and hydrogen peroxide. The SOD was discovered in the 40s of the twentieth century, and since then there has been a lot of research on it. Currently, these studies mainly concern searching compounds that may mimic the enzymatic activity of this protein. Groups of these compounds include, for example, peptides, salens, metalloporphyrins or vitamin derivatives. For the proper functioning of the CuZnSOD enzyme necessary is the active center containing metal ions (Rys.2). They mainly coordinate to the nitrogens of the imidazole histidine residues. Due to the fact that peptides may have many histidyl residues in their structure, they could rather than others coordinate with metal ions and they are promising compounds in studies on CuZnSOD mimetics. Therefore we will consider peptide complexes with copper(II) and zinc(II) ions as potential mimetics of superoxide dismutase. In presented review article we have focused on the differences in the coordination manner of divalent copper ions by linear, cyclic and branched peptides. As well as the possibility of creating hetero- and homo-dinuclear complexes are discussed. Moreover we have compared the ability of these complexes to decomposition the superoxide radical with activity of native enzyme.

Keywords: superoxide dismutase, copper complexes, antioxidant properties, peptides, histidyl residue

Słowa kluczowe: dysmutaza ponadtlenkowa, związki kompleksowe miedzi, właściwości przeciwutleniające, peptydy, reszta histydylowa

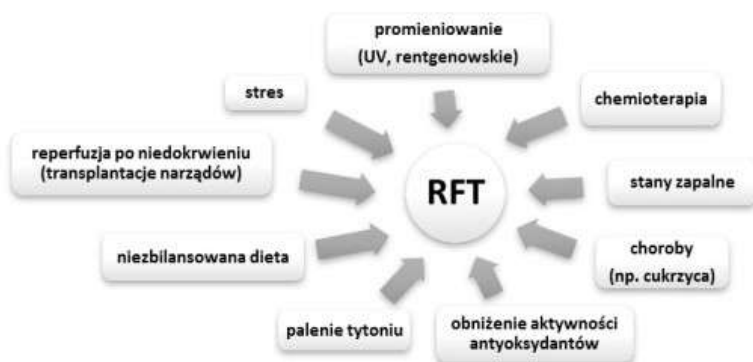
WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

BESOD	– dysmutaza ponadtlenkowa z wołowych erytrocytów (ang. <i>bovine erythrocyte CuZn-superoxide dismutase</i>)
CuZnSOD	– cytoplazmatyczna izoforma dysmutazy ponadtlenkowej (ang. <i>CuZn-superoxide dismutase</i>)
cyt c—Fe ²⁺	– forma zredukowana cytochromu c
cyt c—Fe ³⁺	– forma utleniona cytochromu c
Dap	– kwas 2,3-diaminopropoionowy
ECSOD	– zewnątrzkomórkowa izoforma dysmutazy ponadtlenkowej (ang. <i>extra celurall superoxide dismutase</i>)
FeSOD	– żelazowa dysmutaza ponadtlenkowa (ang. <i>Fe-superoxide dismutase</i>)
GPx	– peroksydaza glutationowa (ang. <i>glutathione peroxidise</i>)
IC ₅₀	– stężenie, które powoduje zahamowanie reakcji wolnorodnikowej w 50% (ang. <i>inhibitory concentration</i>)
k	– stała szybkości reakcji chemicznej
L	– ligand
MnSOD	– manganowa dysmutaza onadtlenkowa (ang. <i>Mn-superoxide dismutase</i>)
NBT	– błękit nitrotetrazolowy (ang. <i>nitro blue tetrazolium</i>)
NiSOD	– niklowa dysmutaza ponadtlenkowa (ang. <i>Ni-superoxide dismutase</i>)
PrP ^C	– komórkowe białko prionowe (ang. <i>cellural prion protein</i>)
RFT	– reaktywne formy tlenu
Sar	– sarkozyna – N-metyloglicyna
SOD	– dysmutaza ponadtlenkowa (ang. <i>superoxide dismutase</i>)

Do nazw aminokwasów naturalnych zastosowano nomenklaturę jednoliterowych skrótów zgodną z IUPC. Wyjątek stanowią nazwy ligandów rozgałęzionych, gdzie zastosowano nomenklaturę trójliterowych skrótów.

WPROWADZENIE

Reaktywne formy tlenu (RFT) są jedną z przyczyn niszczenia podstawowych struktur w organizmie człowieka, takich jak białka, lipidy, węglowodany czy kwasy nukleinowe. Ich powstawanie związane jest z fizjologicznymi procesami metabolizmu tlenu zachodzącymi w komórkach. Stają się one szkodliwe w momencie, kiedy zostanie zaburzona równowaga pomiędzy szybkością powstawania a zdolnością komórki do ich neutralizacji. Dzieje się tak pod wpływem wielu czynników (Rys. 1) [1, 2].

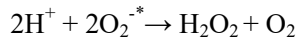


Rysunek 1. Przyczyny występowania podwyższonego poziomu reaktywnych form tlenu (RFT)
Figure 1. The causes of the elevated levels of reactive oxygen species (ROS)

Podwyższony poziom RFT w organizmie może prowadzić do rozwoju chorób (*m.in.* astmy, chorób nowotworowych lub neurodegeneracyjnych), uszkodzenia narządów wewnętrznych, dysfunkcji naczyń krwionośnych, a także utrzymujących się przewlekle zapaleń. Celem zapobiegania powstawaniu tych nieprawidłowości, organizmy wykształciły mechanizmy obronne w postaci przeciwutleniaczy. Do najważniejszych układów enzymatycznych regulujących poziom wolnych rodników należy dysmutaza nadtlenkowa, katalaza, peroksydaza i reduktaza glutationowa [3]. Badana od wielu lat dysmutaza nadtlenkowa uważana jest za jeden z najlepszych przeciwutleniaczy. W związku z tym tak dużo uwagi poświęca się poszukiwaniom substancji, które mogłyby naśladować działanie SOD. Do grup związków chemicznych, wśród których szuka się jej mimetyków należą *m.in.* peptydy, saleny, metaloporfiryny, pochodne fulerenów, tlenku azotu czy witamin [1]. Niniejszy artykuł stanowi przegląd aktualnej wiedzy na temat oddziaływania jonów miedzi(II) i/lub jonów cynku(II) z peptydami, których kompleksy wykazują aktywność dysmutazy nadtlenkowej.

1. CHARAKTERYSTYKA DYSMUTAZ PONADTLLENKOWYCH

Historia dysmutazy ponadtlenkowej sięga roku 1938, kiedy to Mann i Keilin [4] po raz pierwszy wyizolowali z erytrocytów wołowych “niebieskie białko” zawierające 0,34% jonów miedzi(II) i nazwali je hemokupreina. Nie przypisywali mu jednak żadnych katalitycznych właściwości. Kilka lat później scharakteryzowano bardzo podobne metaloproteiny w ludzkich erytrocytach. Nazwano je erytrokupreina [5,6]. Ważnym momentem dla rozwoju prac nad tym białkiem stało się poznanie mechanizmu jego działania. Zaproponowano wtedy katalizę dysmutacji/dysproporcjonowania anionorodników ponadtlenkowych:



Nadano nową nazwę temu białku - dziś wszystkim znaną - dysmutaza ponadtlenkowa (SOD) [7–9]. Poznanie jej struktury zajęło kolejne kilkanaście lat. W 1987 roku udało się przybliżyć budowę SOD z erytrocytów wołowych [10], a w 1992 ludzkiej izoformy [11]. Obecność dysmutaz ponadtlenkowych wykryto u większości organizmów. Ich klasyfikacji możemy dokonać zarówno ze względu na występowanie u różnych gatunków lub biorąc pod uwagę jony metali przejściowych znajdujące się w centrum aktywnym enzymu. W dotychczas poznanych dysmutazach ponadtlenkowych wyróżniono obecność jonów metali takich jak miedź, cynk, żelazo, mangan, a także nikiel. W Tabeli 1 przedstawiono zróżnicowanie w występowaniu dysmutaz u poszczególnych organizmów. NiSOD znajdziemy jedynie u bakterii. Forma enzymu zawierająca w swojej strukturze kation żelaza(III) znajduje się zarówno w bakteriach, grzybach, protistach, a nawet w roślinach. Dysmutazę zawierającą jon manganu(III) możemy znaleźć u podobnych organizmów jak FeSOD. Dodatkowo występuje ona również w mitochondriach ssaków. CuZnSOD jest obecna zarówno u zwierząt, roślin, bakterii i grzybów.

W ludzkim organizmie możemy wyróżnić trzy izoformy dysmutazy ponadtlenkowej:

- enzym cytoplazmatyczny, który zawiera jony Cu^{2+} i Zn^{2+} (CuZnSOD),
- enzym mitochondrialny posiadający jon Mn^{3+} (MnSOD),
- enzym zewnątrzkomórkowy z jonami Cu^{2+} i Zn^{2+} (ECSOD) [12].

Tabela 1. Metale przejściowe w centrum aktywnym dysmutaz ponadtlenkowych oraz ich występowanie u różnych organizmów

Table 1. Transition metals in active center of superoxide dismutases and their occurrence in various organisms

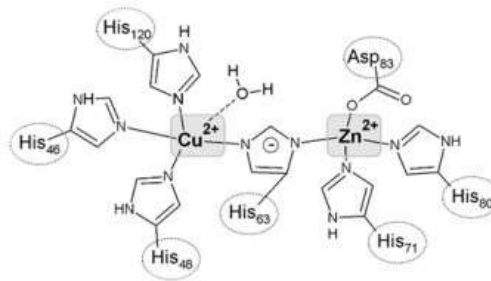
metal przejściowy	występowanie (królestwo)	przykład organizmu	lit.
Cu i Zn	zwierzęta, rośliny, bakterie, grzyby	człowiek (cytoplazma), arbuz (liście), <i>S. Enterica</i> , drożdże	[9, 13–15]
Fe	rośliny, bakterie, grzyby, protisty	<i>Arabidopsisthaliana</i> , <i>E.coli</i> , drożdże, <i>Euglena gracilis</i>	[16–19]
Mn	zwierzęta, rośliny, bakterie, grzyby	ssaki (mitochondria), <i>Zeamays</i> , <i>E.coli</i> , <i>Candida albicans</i>	[18, 20–22]
Ni	bakterie	<i>Streptomyces</i> spp., cyjanobakterie	[21, 23]

Manganowa dysmutaza ponadtlenkowa została po raz pierwszy odkryta w roku 1970 u *E.coli* [20]. Jej ludzka forma kodowana jest przez gen SOD2 zlokalizowany na chromosomie 6. MnSOD posiada cztery identyczne podjednostki, z których każda ma masę około 23 kDa [12]. W jej centrum aktywnym występuje Mn³⁺, a głównym celem działania jest również dysmutacja O₂^{-*} [24]. Wykazano, że manganowa dysmutaza ponadtlenkowa odgrywa ważną rolę w różnicowaniu komórkowym i powstawaniu nowotworów [25] oraz w ochronie nabłonka płuc wywoływanych hiperoksją, czyli zbyt wysokim stężeniem tlenu w tkankach [26]. MnSOD nie wykazuje homologii w sekwencji aminokwasowej z CuZnSOD, a także z ECSOD [12].

ECSOD jest najpóźniej odkrytą i scharakteryzowaną dysmutazą ponadtlenkową. Kodowana przez gen SOD3 znajdujący się na chromosomie 4 [12]. Zewnątrzkomórkowa dysmutaza ponadtlenkowa składa się z dwóch dimerów połączonych mostkiem disulfidowym. Posiada masę 135 kDa. W centrum aktywnym każdego monomeru, podobnie jak w przypadku CuZnSOD, znajduje się jon miedzi(II) i jon cynku(II). ECSOD występuje zarówno w płynach zewnątrzkomórkowych, osoczu krwi, jak i tkankach [27,28]. Podobnie jak cytoplazmatyczna SOD, posiada aktywność peroksydazową. Ponadto katalizuje reakcję dysmutacji anionorodnika ponadtlenkowego (O₂^{-*}) zapobiegając powstawaniu nadtlenoazotynu (ONOO⁻) i oksydacyjnemu uszkodzeniu komórek [29].

CuZnSOD jest kodowana przez gen SOD1 znajdujący się na chromosomie 21 [30]. Białko to, złożone z dwóch identycznych podjednostek, posiada łączną masę około 32 kDa [10]. Występuje głównie w cytoplazmie, ale można je znaleźć także w jądrze komórkowym [12]. Każdy z monomerów CuZnSOD posiada 151 reszt aminokwasowych. W centrum aktywnym znajduje się jeden jon miedzi(II) i jeden jon cynku(II), a końce aminowe są acetylowane. Struktura dwóch podjednostek jest utrzymywana dzięki wiązaniom hydrofobowym oraz mostkowi disulfidowemu,

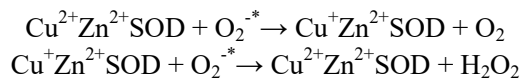
który znajduje się pomiędzy cysteinami w pozycjach 57 i 146 [10, 31]. Dimeryzacja sprzyja większej stabilności enzymu, ponieważ zmniejsza się pole powierzchni dostępne dla rozpuszczalnika. Ponadto, CuZnSOD to białko termostabilne, które nie traci swojej aktywności enzymatycznej nawet po półgodzinnej inkubacji w 80°C. Zakres pH, w którym funkcjonuje stabilnie jest szeroki i obejmuje nawet bardzo zasadowy odczyn. Cytoplazmatyczna dysmutaza ponadtlenkowa posiada również odporność na działanie mocznika o stężeniu 8 M. Świadczy to o jej dużej odporności na czynniki, które zazwyczaj prowadzą do denaturacji białka [31, 32].



Rysunek 2. Budowa centrum aktywnego CuZnSOD [33]

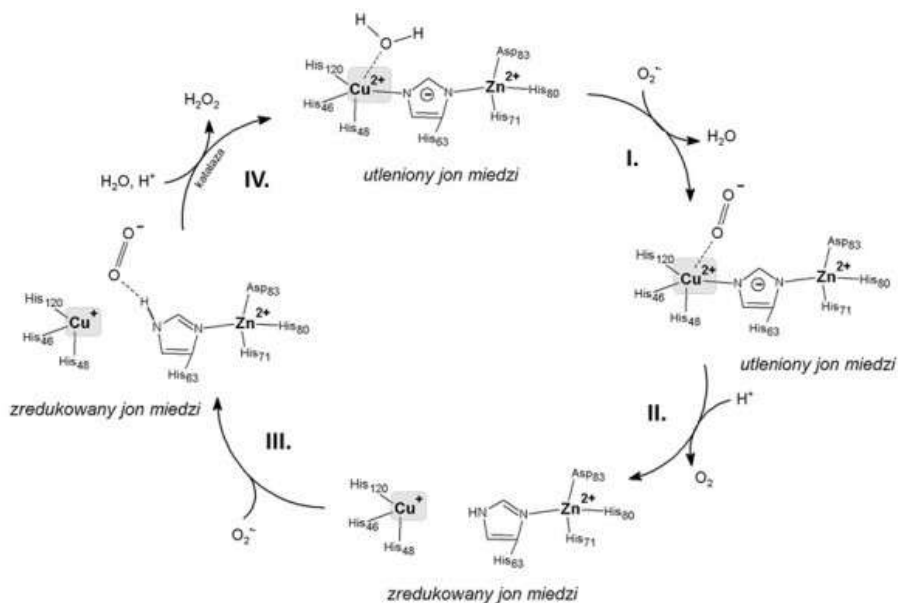
Figure 2. The structure of CuZnSOD active center [33]

Na Rysunku 2 przedstawiona została budowa centrum aktywnego CuZnSOD. Jon miedzi(II) związany jest z czterema resztami histydynowymi w pozycjach 46, 48, 63 i 120. Pierścień imidazolowy reszty His63 pełni funkcję “mostka”, ponieważ związany jest także z jonem cynku(II), dla którego pozostałymi ligandami są His71 i His80, a także reszta kwasu asparaginowego w pozycji 83. Uważa się, że Zn^{2+} odgrywa rolę strukturalną i stabilizuje podjednostki. Z kolei Cu^{2+} bierze aktywny udział w dysmutacji anionorodnika ponadtlenkowego ulegając naprzemiennie redukcji i utlenianiu zgodnie z reakcją [10, 31, 33]:



Hart i in. w 1999 roku zaproponowali mechanizm działania dysmutazy ponadtlenkowej [34]. W pierwszym etapie anionorodnik ponadtlenkowy wypiera cząsteczkę wody ze strefy koordynacyjnej enzymu i oddaje swój elektron wiążąc się bezpośrednio z Cu^{2+} znajdującym się w miejscu aktywnym. Wskutek tego następuje redukcja jonu miedzi $Cu^{2+} \rightarrow Cu^+$, a powstała cząsteczka tlenu dyfunduje z kanału miejsca aktywnego. Następnie dochodzi to rozerwania wiązania pomiędzy resztą imidazolową His63 pełniącą funkcję “mostka” a jonem Cu^+ . W kolejnym

etapie druga cząsteczka $\text{O}_2^{\cdot -}$ przyłącza się do centrum aktywnego i przyjmuje elektron z Cu^+ jednocześnie go utleniając. W wyniku tego powstaje cząsteczka nadtlenku wodoru, która dyfunduje z miejsca aktywnego i jest dalej rozkładana przez katalazę. Mostek imidazolowy zostaje odtworzony i enzym wraca do podstawowej struktury. Mechanizm reakcji został przedstawiony na Rys 3.



Rysunek 3. Mechanizm reakcji CuZnSOD [34]

Figure 3. The mechanism of action CuZnSOD [34]

Miejsce aktywne dysmutazy ponadtlenkowej jest naładowane dodatnio i stanowi około 11% całkowitej odsłoniętej powierzchni enzymu. Pozostała część reszt aminokwasowych posiada ładunki ujemne [31]. Taki gradient ładunku wytwarzany jest przez reszty aminokwasowe znajdujące się w pozycjach 121-143 i zwiększa stężenie substratu wokół centrum katalitycznego. Mechanizm ten nazywany jest naprowadzaniem elektrostatycznym [3,33]. Dzięki tej właściwości CuZnSOD przeprowadza reakcje niesamowicie sprawnie, a stała szybkości wynosi $2 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ [33], co czyni ją jednym z najlepszych i kluczowych enzymów antyoksydacyjnych w ludzkim organizmie.

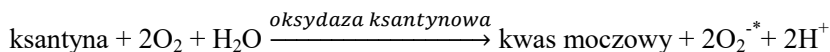
Tabela 2. Właściwości charakteryzujące miejsce aktywne CuZnSOD
 Table 2. Characteristic properties of CuZnSOD active center

nazwa	CuZnSOD	lit.
pH	7.0	
$IC_{50} 10^{-8}$ [M]	1.3	[35]
E^0 [mV]	320 (pH=7.4)	[36]
$k 10^9$ [M ⁻¹ s ⁻¹]	2.3	[37]
A_{II}	105	[38]
g_{II}	2.31	[38]

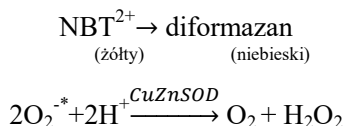
E^0 – potencjał standardowy
 k – stała szybkości reakcji chemicznej
 A_{II} – parametr rozszczepienia nadsubtelnego
 g_{II} – współczynnik rozszczepienia spektroskopowego

2. METODY OZNACZANIA AKTYWNOŚCI CuZnSOD

Do oznaczania aktywności CuZnSOD można stosować szereg metod chemicznych, jednak ze względu na niestabilność substratu reakcji większość dostępnych testów jest pośrednia. Zależą one od zdolności enzymu do hamowania innych reakcji z udziałem anionorodnika ponadtlenkowego [3]. Najbardziej znaną i jednocześnie najczęściej wykorzystywaną jest metoda redukcji NBT [39–45]. Po raz pierwszy do oznaczania aktywności dysmutazy ponadtlenkowej użył jej Beauchamp i Fridovich w roku 1971 [46]. Metoda ta polega na redukcji błękitu nitrotetrazolowego (NBT) przez anionorodnik ponadtlenkowy, który zostaje wytworzony podczas utleniania ksantyny oksydazą ksantynową według reakcji [47]:



W pierwszym etapie redukcji NBT^{2+} ulega przemianie do monoformazanu przy udziale O_2^{-*} , a następnie w analogicznej reakcji powstaje niebieski diformazan. Dodanie do środowiska reakcji CuZnSOD powoduje zmniejszenie stężenia anionorodnika ponadtlenkowego, co bezpośrednio wpływa na hamowanie redukcji NBT:



Na tej podstawie można określić aktywność dysmutazy ponadtlenkowej. Dokonuje się tego najczęściej przy pomocy parametru IC_{50} oznaczającego stężenie, przy którym redukcja błękitu nitrotetrazolowego zostaje zahamowana w 50% [3,

46, 48]. Można go wyznaczyć z zależności względnej szybkości redukcji NBT, którą opisuje się wzorem:

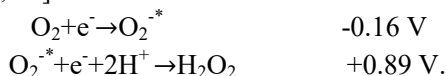
$$\% \text{inhibicji} = \frac{\left(\frac{\Delta A}{t}\right) - \left(\frac{\Delta A}{t}\right)_{\text{układ}}}{\left(\frac{\Delta A}{t}\right)} \times 100,$$

gdzie: $\left(\frac{\Delta A}{t}\right)$ jest zmianą absorbancji na minutę bez obecności układu enzymatycznego, a $\left(\frac{\Delta A}{t}\right)_{\text{układ}}$ to zmiana absorbancji na minutę w obecności czynnika inhibującego [42].

Bardzo ważną kwestią jest także dobór odpowiedniego buforu, którego główne zadanie polega na utrzymaniu stałego pH środowiska reakcji. Jednocześnie, składniki buforu nie powinny być konkurencyjne w stosunku do wiązania jonów Cu^{2+} . Najczęściej do takich oznaczeń wykorzystuje się bufor: TRIS [43], HEPES [49], bufor fosforanowy [42].

Innym sposobem badania aktywności CuZnSOD jest metoda cytochromowa [35, 39, 49, 50]. Została ona opracowana przez McCorda i Fridovicha [9]. Wykorzystano tutaj cytochrom c jako końcowy akceptor elektronów. Forma utleniona (cyt c— Fe^{3+}) zostaje zredukowana (cyt c— Fe^{2+}) przez anionorodnik ponadtlenkowy generowany podobnie jak w przypadku metody redukcji NBT przez układ ksantyna/oksydaza ksantynowa. Cyt c — Fe^{2+} silniej niż forma utleniona absorbuje światło o długości fali 550 nm, dzięki czemu możliwe staje się badanie aktywności dysmutazy ponadtlenkowej. Do całkowitej redukcji utlenionej formy cytochrom c wymaga tylko jednego elektronu, co odróżnia tę metodę od metody NBT [3, 48]. Mniej powszechne, aczkolwiek również stosowane są metody: adrenalinowa [51, 52], pirogallolowa [53, 54], hydroksyloaminowa [55], czy też hydroksydopaminowa [56]. Można się także spotkać z chemiluminescencyjnymi sposobami oznaczeń aktywności CuZnSOD, w których wykorzystuje się np. luminol oraz lucygeninę jako detektory anionorodnika ponadtlenkowego [57–59].

Innym sposobem sprawdzenia czy badany układ może posiadać właściwości enzymatyczne dysmutazy ponadtlenkowej jest wyznaczenie potencjału standardowego (E^0). Najczęściej do tego celu wykorzystuje się woltamperometrię cykliczną. Układ neutralizujący anionorodnik ponadtlenkowy powinien charakteryzować się wartościami potencjału z zakresu od -0,16 do +0,89 V, co wynika z reakcji [36, 42, 49]:



W zależności od zastosowanej metody i warunków pomiarowych, jak na przykład pH, uzyskane wartości IC_{50} mogą się różnić (Tabela 2). W związku z tym

przy wyznaczaniu aktywności enzymatycznej powinno się zawsze wykonać pomiary kontrolne także dla natywnego enzymu. Do tego celu najczęściej wykorzystuje się dysmutazę ponadtlenkową z erytrocytów wołowych (BESOD).

Tabela 3. Porównanie parametrów IC_{50} i k (stałej szybkości) dla CuZnSOD w zależności od metody
Table 3. The comparison of IC_{50} and k (reaction rate constant) parameters for CuZnSOD according of method

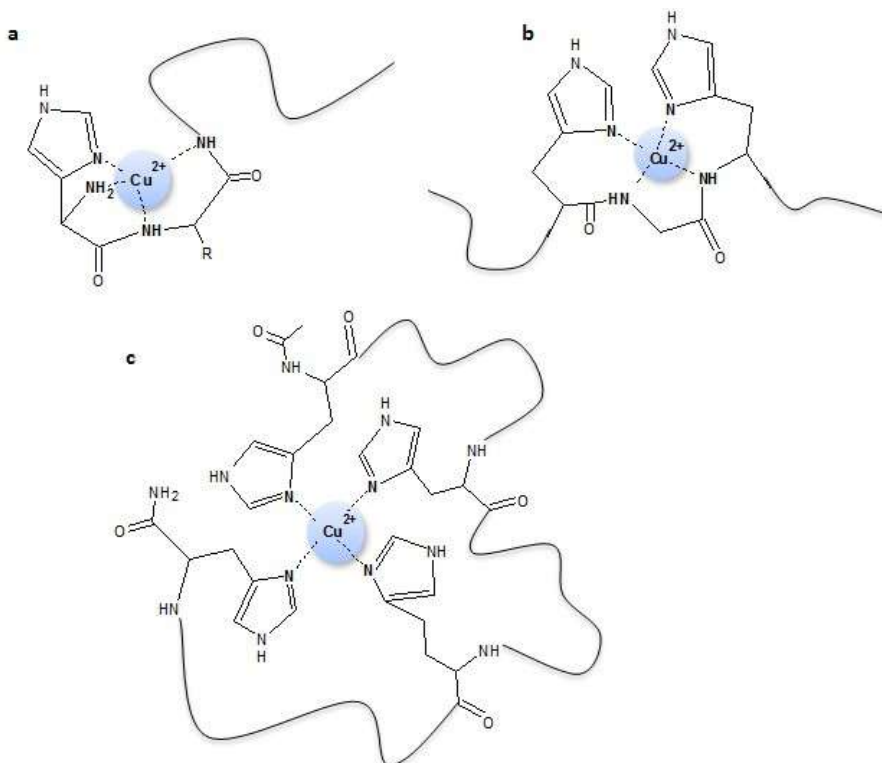
metoda	pH/bufor	IC_{50} 10^{-8} [mol/dm ³]	k 10^9 [M ⁻¹ s ⁻¹]	lit.
cytochromowa	7.0/bufor fosforanowy	1.3	3.85	[35]
cytochromowa	7.6/HEPES	0.14	2.8	[49]
cytochromowa	7.8/HEPES	0.20	3.5	[50]
NBT	6.8/bufor fosforanowy	0.30	1.71	[42]
NBT	6.8/bufor fosforanowy	0.1-0.6	4.6	[48]
NBT	6.8/bufor fosforanowy	0.45	-	[41]
NBT	7.4/bufor fosforanowy	0.44	-	[42]
NBT	7.4/TRIS	0.18	-	[45]
radioliza impulsowa	7.0/bufor fosforanowy	6-50	3.8	[48]

3. CHARAKTERYSTYKA ZWIĄZKÓW KOORDYNACYJNYCH PEPTYDÓW Z JONAMI Cu^{2+} A ICH AKTYWNOŚĆ CuZnSOD

3.1. PEPTYDY LINIOWE

Dotychczasowe badania wykazały, że peptydy liniowe z resztą histydynową mogą naśladować działanie metaloenzymów [60-76]. Tri- i tetrapeptydy zawierające w strukturze jedną lub dwie reszty histydynowe wykazują tendencję do tworzenia bidentnych kompleksów z jonami Cu^{2+} i Zn^{2+} w fizjologicznym zakresie pH [60-63]. Tripeptyd o sekwencji HVH odpowiada aminokwasom w pozycji 44-46 natywnego enzymu odwzorowując miejsce wiązania jonu Cu^{2+} . Porównując IC_{50} układów L/ Cu^{2+} peptydu Ac-HVH wraz z jego odpowiednikiem z nieblokowanymi grupami terminalnymi można wysunąć wniosek, że wyłączenie grupy aminowej *N*-końca peptydu w procesie koordynacyjnym może poprawić zdolność dysmutacji anionorodnika (Tabela 4) [63]. Podobną zależność zaobserwowano dla tetrapeptydów HGHG i jego analogu z acylowanym *N*-końcem [64]. Tri- i tetrapeptydy w pH 7,4 tworzą formy kompleksowe z zaangażowaniem następujących atomów donorowych w wiązanie jonu metalu { NH_2 , N_{Im} , $2N^-$ } (Rys. 4a) natomiast ich analogi z blokową grupą aminową { $2N_{Im}$, $2N^-$ } (Rys. 4b) [64-66]. Wiązanie jonów Cu^{2+} przez atomy azotu z wiązań peptydowych jest niepożądane w kompleksach, które naśladują centrum CuZnSOD, ze względu na sztywniejszą strukturę i trudność w dotarciu rodnika do jonu miedzi(II). Pomimo, iż kompleks jest stabilniejszy to nie będzie dobrze odwzorowywał centrum aktywnego, a w konsekwencji wartość IC_{50} przyjmuje wyższe wartości dla kompleksów z donorami amidowymi w koordynacji. Zależność taką można zaob-

serwować dla fragmentu *N*-końca CuZnSOD wyizolowanego z *Haemophilus ducreyi* o sekwencji HGDHMHNHDTK. Wartość IC_{50} dla $\text{CuL}\{-\text{NH}_2, 2\text{N}_{\text{Im}}, \text{N}^-\}$ jest większa niż dla $\text{CuHL}\{-\text{NH}_2, 3\text{N}_{\text{Im}}\}$ (Tabela 4) [67]. Zaangażowanie w koordynację jonów Cu^{2+} atomów N^- ($\text{O}=\text{C}-\text{NH}-$) związane jest ze wzrostem pH układu, więc środowisko prowadzenia eksperymentu ma ogromne znaczenie dla uzyskanych wyników [40,42,67]. Różnice obserwowano nawet dla wartości IC_{50} otrzymanych dla natywnego enzymu dla różnych wartości pH (Tabela 3) [40, 42].



Rysunek 4. Schematyczne struktury sposobu koordynacji jonów Cu^{2+} : a) $\{4\text{N}_{\text{Im}}\}$, b) $\{2\text{N}_{\text{Im}}, 2\text{N}^-\}$, c) $\{\text{NH}_2, \text{N}_{\text{Im}}, 2\text{N}^-\}$ przez peptydy liniowe

Figure 4. Schematic structures coordination mode of Cu^{2+} ions: a) $\{4\text{N}_{\text{Im}}\}$, b) $\{2\text{N}_{\text{Im}}, 2\text{N}^-\}$, c) $\{\text{NH}_2, \text{N}_{\text{Im}}, 2\text{N}^-\}$ by linear peptides

Wraz ze wzrostem liczby reszt histydynowych od 1 do 4 w sekwencji peptydu zaobserwowano jednoczesny wzrost termodynamicznej stabilności tworzących się kompleksów z jonami Cu^{2+} . Jednocześnie poszerza się zakres dominacji form, w których jon metalu jest skoordynowany przez donory z pierścieni imidazolowych [42, 68]. Największą stabilnością termodynamiczną odznaczają się makrochelatowe kompleksy ligandów z motywem $-(\text{HXH})_n-$. Im dalej od siebie położone reszty histydynowe w łańcuchu peptydowym tym ta stabilność maleje [42]. Wraz ze

wzrostem pH, w wiązaniu jonów Cu^{2+} biorą udział atomy z wiązania peptydowego, co w przypadku ligandów mających naśladować metaliczne centrum CuZnSOD jest niepożądane. Zakres pH, w którym obserwuje się dysocjację protonu z grupy amidowej wiązania peptydowego jest różny w zależności od liczby reszt aminokwasowych w peptydzie, liczby oraz pozycji reszt histydynowych [42]. Zaobserwowano również, że kompleksy o sposobie koordynacji $\{2\text{N}_{\text{Im}}\}$ utworzone przez tripeptydy Ac-HXH-NH_2 wraz ze wzrostem pH ulegają jednoczesnej dysocjacji dwóch protonów z grupy amidowej wiązania peptydowego tworząc formę $\{2\text{N}_{\text{Im}}, 2\text{N}^-\}$ (Rys. 4b) [42].

Powstawanie makrochelatowych kompleksów z zaangażowaniem tylko imidazolowych atomów donorowych w szerokim zakresie pH i zablokowanie możliwości wymuszonej deprotonacji amidowego atomu azotu było możliwe przez umieszczenie w sekwencji metylowej pochodnej glicyny, czyli sarkozyny (Sar). Ligandy o sekwencji: Ac-H-Sar-H-NH_2 , $\text{Ac-H-Sar-H-Sar-H-NH}_2$, $\text{Ac-H-Sar-H-Sar-H-Sar-H-NH}_2$ tworzą formy kompleksowe $\{2\text{N}_{\text{Im}}\}$, $\{3\text{N}_{\text{Im}}\}$, $\{4\text{N}_{\text{Im}}\}$ z jonami Cu^{2+} w fizjologicznym zakresie pH. Najlepsze wartości IC_{50} otrzymano dla oktapeptydu (Tabela 4) [68].

Tabela 4. Porównanie właściwości kompleksów peptydów liniowych
Table 4. The comparison of properties of linear peptides

ligand	dominująca forma	atomy donorowe	pH	$\text{IC}_{50}10^{-8}$ [mol/dm ³]	lit.
HVH	CuH_1L	$\{\text{NH}_2, \text{N}_{\text{Im}}, 2\text{N}^-\}$	7,4	20	[62]
HGHG	CuH_2L	$\{\text{NH}_2, \text{N}_{\text{Im}}, 2\text{N}^-\}$	7,4	67	[64, 66]
Ac-HGHG	CuH_2L	$\{2\text{N}_{\text{Im}}, 2\text{N}^-\}$	7,4	8,3	[64, 65]
Ac-HVH-NH₂	CuH_2L	$\{2\text{N}_{\text{Im}}, 2\text{N}^-\}$	7,4	16	[62]
Ac-H-Sar-H-Sar-H-NH₂	CuL	$\{3\text{N}_{\text{Im}}\}$	7,4	15	[68]
Ac-H-Sar-H-Sar-H-Sar-H-NH₂	CuH_1L	$\{3\text{N}_{\text{Im}}, \text{N}^-\}$			
	CuL	$\{4\text{N}_{\text{Im}}\}$	7,4	4,6	[68]
HGDHMHNDTK	CuHL	$\{\text{NH}_2, 3\text{N}_{\text{Im}}\}$	7,0	19	
	CuHL	$\{\text{NH}_2, 3\text{N}_{\text{Im}}\}$			[67]
	CuL	$\{\text{NH}_2, 2\text{N}_{\text{Im}}, \text{N}^-\}$	8,2	31	
zp-Prp63-80	CuL	$\{4\text{N}_{\text{Im}}\}$	7,4	61,5	[43]
zp-Prp63-80	CuZnL	$\text{Cu-}\{4\text{N}_{\text{Im}}\}$ $\text{Zn-}\{2\text{N}_{\text{Im}}, 2\text{H}_2\text{O}\}$	7,4	60,1	[43]
zp-Prp63-87	CuL		7,4	60,4	[43]
zp-Prp63-87	CuZnH_2L	$\text{Cu-}\{3\text{N}_{\text{Im}}, \text{N}^-\}$ $\text{Zn-}\{3\text{N}_{\text{Im}}, \text{H}_2\text{O}, \text{OH}^-\}$	7,4	59,2	[43]
Hex₂	CuHL	$\{2\text{N}_{\text{Im}}, \text{N}^-\}$	7,4	18,8	[73]
Hex₄	CuH_4L	$\{4\text{N}_{\text{Im}}\}$	7,4	17,7	[73]
Oct₂	CuH_2L	$\{2\text{N}_{\text{Im}}, 2\text{N}^-\}$	7,4	21,7	[73]
Oct₄	CuL	$\{4\text{N}_{\text{Im}}\}$	7,4	17,5	[73]

Białka prionowe to glikoproteiny zakotwiczone w błonie komórkowej, których największą ekspresję stwierdzono w układzie nerwowym [69, 70]. Funkcję prawidłowych białek prionowych (PrP^{C}) nie zostały jeszcze w pełni poznane, ale przypisuje się im właściwości przeciwutleniające podobne do działania CuZnSOD [31, 71]. Wykazano, że polihistydynowe fragmenty białek prionowych zwierząt (rybich, kurzych, ptasich) i ludzkich efektywnie wiążą jony metali [43, 72, 73]. Fragmenty rybich PrP są bogate w reszty histydynowe (Tabela 5). Wykazano, że ligandy te mogą tworzyć homo- i heteronuklearne kompleksy z jonami Cu^{2+} i Zn^{2+} . Choć wartości IC_{50} dla fragmentów rybich PrP są bardzo zbliżone do siebie to można zaobserwować, że udział jonów Zn^{2+} korzystnie wpływa na właściwości przeciwutleniające tych kompleksów (Tabela 4) [43]. W sekwencji aminokwasowej białek prionowych ludzkich oraz kurzych można wyróżnić powtarzające się motywy z resztą histydynową (Tabela 5). Badania tych fragmentów: Hex, Hex₂, Hex₄ i Oct, Oct₂, Oct₄ potwierdziły, że w układach z równomolowym stosunkiem liganda do metalu wzrost liczby reszt histydynowych w sekwencji powoduje wzrost aktywności enzymatycznej (Tabela 4), a najskuteczniejsze okazały się kompleksy o sferze koordynacyjnej $\{4\text{N}_{\text{Im}}\}$ (Rys. 4c) [73]. Ligandy Hex₄ i Oct₄ koordynują do czterech jonów Cu^{2+} , ale nie wpływa to na polepszenie właściwości przeciwutleniających tych układów [73].

Tabela 5. Sekwencje aminokwasowe fragmentów białek prionowych

Table 5. Amino acid sequences of prion protein fragments

nazwa skrócona	sekwencja	lit.
zp-PrP-63-80	Ac-PVHTGHMGHIGHTGHTGH-NH ₂	[43]
zp-PrP-63-87	Ac-PVHTGHMGHIGHTGHTGHTGSSGHG-NH ₂	[43]
Hex	Ac-HNPGYP-NH ₂	[73]
Oct	Ac-PHGGGWGQ-NH ₂	[73]

Mechanizm neutralizacji jonu $\text{O}_2^{*\cdot}$ przez CuZnSOD prowadzi do uwalniania nadtlenu wodoru (H_2O_2) jednej z form RFT [1,2]. W naturalnych warunkach H_2O_2 jest rozkładany do cząsteczkowego tlenu i wody przez inne antyoksydacyjne czynniki jak na przykład peroksydazę glutationową (GPx) [3]. Yin i współautorzy zaproponowali układ, który jednocześnie naśladuje działanie zarówno CuZnSOD jak i GPx. Kompleksy linowego 65-aminokwasowego fragmentu białka i jego selenowej pochodnej (Tabela 6) wykazują działanie obu tych enzymów. Ich aktywność CuZnSOD jest podobna, ale najskuteczniej działanie CuZnSOD naśladował kompleks CuZn-65P z resztą seryny w 58 pozycji oligopeptydu (Tabela 6) [74]. W sekwencji tych ligandów można wyróżnić siedem reszt histydynowych, które najprawdopodobniej są miejscem kotwiczenia jonów metali. Fragmenty białek zostały otrzymane przez amplifikację DNA metodą PCR. Pochodna selenowa została uzyskana przez zamianę Cys58 na Ser. Następnie wprowadzono

grupę –SeH (NaSeH), przez uprzednie aktywowanie grupy hydroksylowej seryny fluorkiem fenylometylosulfonylu (PMSF), otrzymując ligand Se-65P [74].

Tabela 6. Porównanie aktywności CuZnSOD kompleksów $\text{Cu}^{2+}/\text{Zn}^{2+}$ 65-aminokwasowych peptydów liniowych oraz sekwencja aminokwasowa ligandów

Table 6. The comparison of CuZnSOD activity of linear 65-amino acid peptides complexes and amino acid ligand sequences

kompleks	aktywność CuZnSOD [U/mg]	lit.
Se-CuZn-65P ^a	1254	[75]
Se-CuZn-65P	1181	[74]
CuZn-65P	1297	[74]
SOD3	2970	[74]
ligand	sekwencja aminokwasowa	
65P ^a	HQHQFGDLSQ ¹⁰ GAESTGPHYN ²⁰ PLAVPHPQHP ³⁰ GDWGNFAVRD ⁴⁰ GS LWPFLRHN ⁵⁰ VYGRPRACVV ⁶⁰ HAGED	[75]
65P	HQHQFGDLSQ ¹⁰ GAESTGPHYN ²⁰ PLAVPHPQHP ³⁰ GDWGNFAVRD ⁴⁰ GS LWPFLRHN ⁵⁰ VYGRPRASVV ⁶⁰ HAGED	[74]

3.2. PEPTYDY CYKLICZNE

Cyklopeptydy homodetyczne charakteryzują się obecnością ciągłego pierścienia peptydowego, który powstaje przez wiązanie pomiędzy *N*- i *C*-końcówką grupą (tzw. „cyklizacja głowy do ogona”) [76, 77]. Tym samym grupy końcowe peptydu nie mogą brać udziału w procesie koordynacyjnym dwuwartościowych jonów metali. Wraz ze wzrostem liczby reszt aminokwasowych w sekwencji peptydu wzrasta jego elastyczność. Najmniejszy, 6-członowy pierścień peptydowy 2,5-piperazynodionu posiadają cyklodipeptydy. Właściwości koordynacyjne takich cząsteczek zależą tylko od łańcuchów bocznych reszt aminokwasowych, a te z kolei mogą być różnie zorientowane w przestrzeni w zależności od izomerii optycznej *l* lub *d*. Dodatkowo na właściwości koordynacyjne mogą mieć wpływ wewnątrzcząsteczkowe oddziaływania typu π - π diketopiperazyny z pierścieniami aromatycznymi takich aminokwasów jak: histydyna, tyrozyna, fenyloalanina, tryptofan [78, 79]. Zaobserwowano także, że grupa imidazolowa w dicyklopeptydach ma charakter mniej zasadowy niż cząsteczka imidazolu [78]. Ligand c(HH) tworzy bidentne kompleksy z jonami Cu^{2+} , a w wiązanie jonów metalu zaangażowane są cztery atomy azotu z pierścienia imidazolowego. Najprawdopodobniej kompleks taki przyjmuje konformację płaskiego kwadratu z odkształceniem w kierunku tetraedru. Otrzymany związek okazał się być stabilny w wodnym roztworze i nie wykazywał cytotoksyczności w stężeniach mikromolowych. Zdolność bis{c(HH)} Cu^{2+} do dysmutacji $\text{O}_2^{\cdot-}$ wynosiła około 10% aktywności w stosunku molowym do naturalnego enzymu. [35, 80]. Kolejnym przykładem kompleksów z jonami miedzi(II), jakie badano w kierunku neutralizacji

anionorodnika nadadtlenkowego, są dicyklopeptydy zbudowane z aminokwasów kwasowych: c(DD) oraz c(EE) z modyfikowanymi łańcuchami bocznym przez podstawianie do grup karboksylowych dwóch cząsteczek histaminy. W równomolowym stosunku jonów metalu do liganda w roztworze dominują mononuklearne formy kompleksowe $[\text{CuL}]^{2+}$ i $[\text{CuH}_1\text{L}]$, w których atomami wiążącymi Cu^{2+} są odpowiednio: $\{2x\text{N}_{\text{Im}}, 2x\text{CO}\}$ oraz $\{2x\text{N}_{\text{Im}}, \text{CO}, \text{N}^-(\text{histamina})\}$. Ligandy takie tworzą również kompleksy bidentne CuL_2 , których stężenie w roztworze jest największe, gdy stosunek liganda do metalu wynosi 2:1. Jony Cu^{2+} prawdopodobnie są związane przez cztery imidazolowe atomy azotu. Badanie aktywności CuZnSOD dla tych związków pokazało, że przy największym stężeniu bidentnego kompleksu układ najlepiej hamuje reakcje wolnorodnikową, wykazując tylko o sześć razy mniejszą aktywność niż natywny enzym. Niemniej jednak, w badaniach tych użyto 1000-krotnego nadmiaru liganda w stosunku do jonów metalu [81]. Tym samym potwierdzono, że sfera koordynacyjna Cu^{2+} (d^9) powinna być na tyle elastyczna, aby możliwa była redukcja jonu metalu do Cu^+ (d^{10}), podczas której następuje również zmiana geometrii kompleksu. W związku z tym pożądanymi donorami są atomy z pierścienia imidazolowego reszt histydynowych tak jak w centrum metalicznym CuZnSOD . Udział amidowych atomów azotu w koordynacji jonów Cu^{2+} powoduje, że struktura kompleksu jest bardziej „sztywna” i mniej dostępna dla O_2^{-*} co utrudnia proces redukcji i zmniejsza możliwości przeciwutleniające takich kompleksów [82]. Bidentnym ligandem dla jonów miedzi(II) jest również heksacyklopeptyd: c(GHG)₂, którego forma CuL_2 angażuje w koordynację tylko atomy azotu z pierścieni imidazolowych. Natomiast wraz ze wzrostem pH w koordynacji jonów Cu^{2+} biorą udział atomy azotu z wiązań peptydowych. Dla c(GHG)₂ następuje to już w pH powyżej 7, gdzie dominuje tylko mononuklearna forma kompleksowa CuL o atomach donorowych $\{2x\text{N}_{\text{Im}}, 2x\text{N}^-\}$ [83].

Peptydy cykliczne do sześciu reszt aminokwasowych w sekwencji, z których przynajmniej jedna posiada pierścień imidazolowy (His lub histamina) preferują tworzenie się bis-kompleksów z jonami miedzi(II). Kompleksy te charakteryzują się następującym sposobem koordynacji: $\{4x\text{N}_{\text{Im}}\}$ z donorami w płaszczyźnie ekwatorialnej. Wraz ze wzrostem wielkości pierścienia peptydowego nie zaobserwowano tworzenia się kompleksów typu CuL_2 . Oktacyklopeptyd o sekwencji c(GH)₄ tworzy z jonami Cu^{2+} tylko monodentne formy kompleksowe nawet w układzie z podwójnym nadmiarem liganda. Ze względu na obecność czterech reszt His w sekwencji, dominującym kompleksem jest $\{4x\text{N}_{\text{Im}}\}$ forma jednak badania te były ograniczone do pH 6 ze względu na wytrącanie się osadu, który uniemożliwił dalszą analizę i badanie aktywności enzymatycznej [83].

Wprowadzenie do sekwencji peptydu reszty proliny powoduje, że kaskada wiązania jonów Cu^{2+} wzdłuż łańcucha peptydowego zostaje zatrzymana.

Uczestniczenie w wiązaniu peptydowym grupy aminowej proliny uniemożliwia koordynację jonów miedzi(II) ponieważ atom azotu uczestniczy w trzech wiązaniach kowalencyjnych [84–86]. Dlatego aminokwas ten blokuje możliwość wiązania jonów Cu^{2+} przez kolejne amidowe atomy azotu i jednocześnie usztywnia łańcuch peptydowy. Dodatkowo umieszczenie dwóch reszt proliny w sekwencji homotetycznego cyklopeptydu spowoduje wyodrębnienie dwóch niezależnych miejsc potencjalnie wiążących jony metalu. Cyklopeptyd c(GDWHPGHKHP) tworzy formę kompleksową $\text{CuHL}\cdot\{3\text{xN}_{\text{Im}}, \text{COO}^-\}$ dominującą w roztworze do pH 7,5 [87]. Porównanie stałych trwałości ($\log\beta$) dla tego liganda i jego liniowego odpowiednika pokazała, że cykliczny analog tworzy stabilniejszy kompleks, ale odznacza się znacznie mniejszym formalnym potencjałem redukcyjnym (E^0) [88]. Ligandy o rozbudowanym pierścieniu peptydowym, zawierające w sekwencji od ośmiu do dwunastu reszt aminokwasowych, wykazują tendencję do tworzenia bi- i tri-nuklearnych kompleksów, które mogą formować się nawet w układach z równomolową ilością jonów Cu^{2+} względem liganda [88-91].

Ligandy c(HKHPH)₂ i c(HKHGPG)₂ powyżej pH 7 tworzą kompleksy o stechiometrii Cu_2LH_x osiągając około 30% w próbce. Wraz ze wzrostem stężenia jonów metalu wzrasta także stężenie dinuklearnych form, które w układzie z podwójnym nadmiarem Cu^{2+} dominują w roztworze powyżej pH 6. Zaobserwowano, że powstawanie dinuklearnych form kompleksowych związane jest z jednoczesnym zaangażowaniem amidowych atomów azotu w koordynację [91, 92]. Ponadto wykazano, że analog o większym pierścieniu peptydowym efektywniej wiąże jony miedzi(II) w szerokim zakresie pH (5,5–11,0) [91]. Badania aktywności enzymatycznej dla miedziowych kompleksów c(HKHGPG)₂ wykazały, że skuteczniejszym w neutralizacji anionorodnika ponadtlenkowego jest układ L:Cu²⁺=1:2, w którym jest około 90% formy $\text{Cu}_2\text{H}_2\text{L}\cdot\{2\text{N}_{\text{Im}}, 2\text{N}\}$ [45]. Choć bezpośredni potencjał tej reakcji zależy od właściwości redukująco-utleniających jonu Cu^{2+} , to istotnym elementem strukturalnym, który przyczynia się do prawidłowego cyklicznego mechanizmu dysmutacji, jest jon Zn^{2+} . Zaskakujący jest fakt, że mimo, iż nie udało się zaobserwować tworzenia imidazolowego mostka pomiędzy jonami metali w kompleksach heteronuklearnych równomolowego układu: $\text{Cu}^{2+}/\text{Zn}^{2+}/\text{c}(\text{HKHGPG})_2$ to jednak model ten wykazywał najlepszą zdolność do mimikowania CuZnSOD wśród wszystkich badanych układów dla tego cyklopeptydu [45].

Kompleksy o donorach $\{4\text{xN}_{\text{Im}}\}$ posiadają pożądaną strukturą w kierunku poszukiwania mimetyków CuZnSOD. Odnaczają się one także najlepszymi właściwościami przeciwutleniającymi spośród przebadanych dotychczas cyklopeptydów (Tabela 6). Jednak najczęściej dominują w roztworze o pH kwaśnym, a badania aktywności CuZnSOD powinno być przeprowadzane w zakresie pH fizjologicznym pomiędzy 7,0 a 7,5, czyli w środowisku działania

enzymu. W związku z tym istnieją ograniczenia potencjalnego zastosowania tych związków jako mimetyków natywnego enzymu. W Tabeli 6 przedstawiono porównanie wartości IC_{50} dla wybranych kompleksów cyklopeptydów, z którego wynika, że najefektywniejszymi mimetykami CuZnSOD są formy $\text{CuL}_2\text{-}\{4\text{N}_{\text{im}}\}$. Również ligandem o dużym potencjale dysmutacji jest cykliczny 12-aminokwasowy peptyd $\text{c}(\text{HKHGPG})_2$ w równomolowym heteronuklearnym układzie z jonami $\text{Cu}^{2+}/\text{Zn}^{2+}$ (Tabela 6).

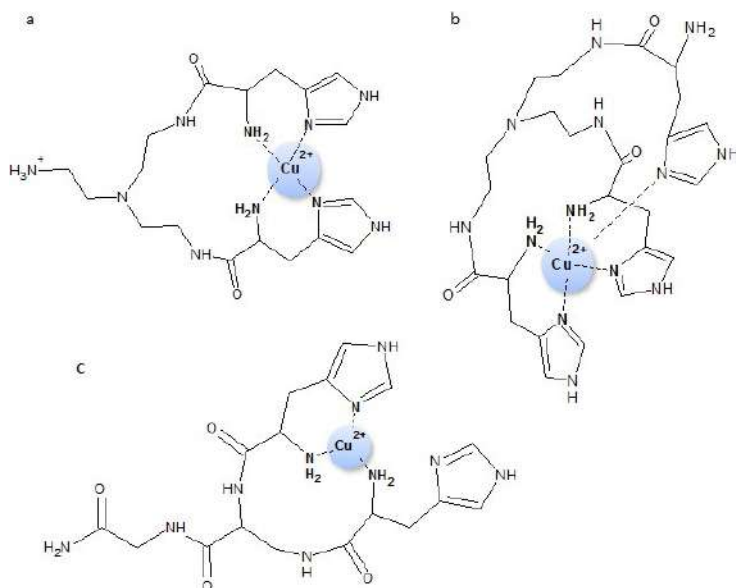
Tabela 6. Porównanie właściwości kompleksów cyklopeptydów
Table 6. The comparison of properties of cyclopeptides complexes

ligand	dominująca forma	atomy donorowe	p H	IC_{50} $10^{-8} [\text{mol}/\text{dm}^3]$	E^0 [mV]	lit.
c(HH)	CuL_2	$\{4\text{N}_{\text{im}}\}$	7,0	50	-	[35,93]
c(DD)Hm₂	CuL_2	$\{4\text{N}_{\text{im}}\}$	7,4	25	215	[81]
c(EE)Hm₂	CuL_2	$\{4\text{N}_{\text{im}}\}$	7,4	25	333	[81]
c(GHG)₂	CuH_2L	$\{2\text{N}_{\text{im}}, 2\text{N}^-\}$	8,0	160	219	[83]
c(GH)₄	CuL	$\{4\text{N}_{\text{im}}\}$	6,0	80	269	[83]
	CuH_2L	$\{2\text{N}_{\text{im}}, 2\text{N}^-\}$	8,0	140	195	
c(GDWHPGHKHP)	CuHL	$\{3\text{N}_{\text{im}}, \text{COO}^-\}$	-	-	24	[88]
	$\text{Cu}_2\text{H}_2\text{L}$	$\{2\text{N}_{\text{im}}, 2\text{N}^-\}$	7,4	57,4	-	
c(HKHGPG)₂	CuZnH_2L	$\text{Cu}^{2+}\text{-}\{2\text{N}_{\text{im}}, 2\text{N}^-\}$	7,4	36,0	-	[45]
		$\text{Zn}^{2+}\text{-}\{2\text{N}_{\text{im}}, 2\text{H}_2\text{O}\}$				

3.3. PEPTYDY ROZGAŁĘZIONE (DENDRYCZNE)

Jedną z serii dendrycznych ligandów badanych pod kątem dysmutacji anionorodnika ponadtlenkowego była grupa związków, którego rdzeniem była tris(2-aminoetylo)amina zwana w dalej „tren” z podstawionymi jedną, dwiema i trzema resztami histydynowymi jako „ramionami”. Wykazano, że tren1His tworzy stabilną formę kompleksową z pięcioma atomami azotu wokół jonu $\text{Cu}^{2+}\{ \text{N}_{\text{im}}, \text{N}^-, \text{N}_{\text{terts}}, 2\text{NH}_2^{\text{tren}} \}$ przyjmując geometrię piramidy kwadratowej. Kompleks ten dominuje w roztworze powyżej pH 7,0 i nie wykazuje żadnej aktywności katalitycznej. Natomiast jego analogi tren2His i tren3His , wykazujące tendencję do tworzenia di- i trinuklearnych kompleksów, odznaczają się dość dobrą aktywnością CuZnSOD , porównywalną z układami peptydów liniowych i cyklicznych [94, 95]. W układzie tren2His z jonami Cu^{2+} , o stosunku molowym równym 1:1 w pH 7,4, istnieje równowaga pomiędzy trzema formami kompleksowymi $\text{CuHL}/\text{CuL}/\text{CuH}_1\text{L}$. Dla pierwszej i ostatniej zaproponowano odpowiednio następujące modele koordynacyjne: $\{2\text{N}_{\text{im}}, 2 \alpha\text{NH}_2\}$ (Rys. 5a) i $\{\alpha\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}_{\text{terts}}, \text{NH}_2^{\text{tren}}\}$ [95]. Natomiast w układzie $\text{Cu}:\text{tren2His}=2:1$ dominującą formą kompleksową jest $\text{Cu}_2\text{H}_1\text{L}$ z donorami wiążącymi $\{2\text{N}_{\text{im}}, 2 \alpha\text{NH}_2\}$ i $\{\text{N}^-, \text{N}_{\text{terts}}, \text{NH}_2^{\text{tren}}\}$ lub $\{\text{N}^-, \text{N}_{\text{terts}}, \text{N}^-\}$. W tym przypadku obecność drugiego jonu metalu nie wpłynęła na zdolność

neutralizacji $O_2^{\cdot -}$, wykazując taką samą wartość IC_{50} jak dla układu o równomolowym stosunku metalu do liganda (Tabela 7) [95]. Dla tren3His wyniki powinny być jeszcze bardziej obiecujące, tymczasem ligand ten tworzy stabilny kompleks ($\log\beta=13,19$) o sferze koordynacyjnej $\{2NH_2, 2N_{Im}, N_{Im(axial)}\}$ (Rys. 5b) [94], ale IC_{50} jest mniejsze niż dla Cu^{2+} :tren2His=1:1 (Tabela 7) [94, 95]. Efektem takiego działania może być fakt, że kompleks ten angażuje pięć donorowych atomów azotu w wiązanie jonów Cu^{2+} , więc także w tym przypadku dostęp do jonu metalu jest ograniczony, co przekłada się na słabsze oddziaływanie z rodnikiem.



Rysunek 5. Schematyczne struktury kompleksów peptydów rozgałęzionych: a) CuHL – tren2his, b) CuHL – tren3his, c) CuL – 2HG

Figure 5. Schematic structure of branched peptides complexes: a) CuHL – tren2his, b) CuHL – tren3his, c) CuL – 2HG

Jako rdzeń do budowy rozgałęzionych ligandów wykorzystano także kwas 2,3-diaminopropionowy (Dap). Ligandy modyfikowano wykorzystując jako dendrymery reszty glicyny i histydyny w różnej konfiguracji, ich sekwencje można przedstawić następująco: H-Gly-Dap(H-Gly)-Gly-NH₂ – 3G, H-Gly-Dap(H-Gly)-His-NH₂ – 2GH, H-His-Dap(H-His)-Gly-NH₂ – 2HG, H-His-Dap(H-His)-His-NH₂ – 3H. Ligandy te w fizjologicznym zakresie pH tworzą kompleksy typu 3N- $\{N_{Im}, 2NH_2\}$ dla 2HG (Rys. 5c) oraz typu 4N dla pozostałych analogów z uwzględnieniem następujących atomów donorowych: $\{N_{Im}, 2NH_2\}$ – 3G oraz $\{N_{Im}, N', NH_2\}$ dla 2GH i 3H [49, 96]. Wykazano, że wartość standardowego

potencjału procesu katalitycznego $\text{Cu}^{2+} \leftrightarrow \text{Cu}^+(\text{E}^0)$ zależy od ilości reszt histydynowych w strukturze liganda przy czym 3H analog odznacza się najmniejszą wartością ($3\text{H} < 2\text{HG} < 2\text{GH}$) [49]. Zależność ta nie jest tożsama z aktywnością CuZnSOD i szybkością dysmutacji (k), dla których moglibyśmy zapisać szereg: $2\text{HG} > 2\text{GH} > 3\text{H}$ [49].

Tabela 7. Porównanie właściwości kompleksów peptydów rozgałęzionych
Table 7. The comparison of properties of branched peptide complexes

układ	dominująca forma	atomy donorowe	pH	IC_{50} 10^{-8} [mol/dm ³]	k [M ⁻¹ s ⁻¹]	lit.
$\text{Cu}^{2+}/\text{nta}3\text{His}=1/1$	CuL	{2NH ₂ , 2N _{im} , NH _{2(axial)} }	7,4	13	$2,3 \cdot 10^7$	[94, 95]
	CuH ₁ L	{N _{im} , N ⁺ , N _{terts} , O}				
$\text{Cu}^{2+}/\text{tren}2\text{His}=1/1$	CuHL	{2N _{im} , 2NH _{2^{tren}} }	7,4	20	$3 \cdot 10^7$	[95]
	CuH ₁ L	{2NH _{2^{tren}} , 2N ⁺ }				
$\text{Cu}^{2+}/\text{tren}2\text{His}=2/1$	Cu ₂ H ₁ L	{2N _{im} , 2 αNH ₂ }	7,4	13	$4,6 \cdot 10^7$	[95]
		{N ⁻ , N _{terts} , NH _{2^{tren}} } lub {N ⁻ , N _{terts} , N ⁺ }				
$\text{Cu}^{2+}/\text{tren}3\text{His}=1/1$	CuL	{2NH ₂ , 2N _{im} , NH _{2(axial)} }	7,4	17	$1,8 \cdot 10^7$	[94, 95]
$\text{Cu}^{2+}/3\text{G}=1/1$	CuH ₂ L	{2NH ₂ , 2N ⁺ }	7,6	24	$1,6 \cdot 10^7$	[49, 97]
$\text{Cu}^{2+}/2\text{GH}=1/1$	CuH ₁ L	{NH ₂ , N _{im} , 2N ⁺ }	7,6	44	$8,9 \cdot 10^6$	[49, 97]
$\text{Cu}^{2+}/2\text{HG}=1/1$	CuL	{2NH ₂ , N _{im} }	7,6	11	$3,5 \cdot 10^7$	[49, 97]
$\text{Cu}^{2+}/3\text{H}=1/1$	CuH ₁ L	{NH ₂ , N _{im} , 2N ⁺ }	7,6	103	$3,8 \cdot 10^6$	[49, 96]

UWAGI KOŃCOWE

W strukturze centrum aktywnego CuZnSOD można wyróżnić dwa jony metali, które skoordynowane są przede wszystkim przez atomy azotu z pierścienia imidazolowego, w tym jeden z nich stanowi mostek pomiędzy jonami metali. Taka budowa pozwala na sprawne i szybkie ($k_{cat}/k_M \sim 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$) neutralizowanie O_2^{*-} oraz hamowanie niepożądanych efektów reakcji wolnorodnikowych. Zastosowanie substancji naśladujących działanie CuZnSOD w ogniskach stresu oksydacyjnego mogłoby ograniczyć jego negatywne skutki. Poszukując związków, które spełniałyby taką rolę, należy wziąć pod uwagę kilka czynników. Bezpośrednio za dysmutację odpowiadają jony miedzi(II), a więc ich obecność jest kluczowa. Ponadto istotny jest sposób związania tego jonu metalu przez ligand, kompleks powinien być stabilny w warunkach zbliżonych do naturalnych, jednocześnie centrum metaliczne powinno być na tyle elastyczne, aby możliwa była zmiana geometrii kompleksu oraz aby rodniki miały swobodny dostęp bezpośrednio do metalu. Ilość reszt histydynowych w sekwencji peptydu nie zawsze musi korespondować ze skutecznością neutralizacji RFT. Znacznie istotniejszym aspektem jest geometria sfery koordynacyjnej. Kompleks taki powinien wykazywać brak toksyczności wobec prawidłowych komórek oraz mieć

niską masę, czyli być odpowiednio mały, a co za tym idzie „mobilny”. Dotychczasowe badania wykazały, że peptydy jako ligandy względem jonów miedzi(II) są dobrymi kandydatami do spełnienia tych warunków, ale w dalszym ciągu ich kompleksy z jonami miedzi nie dorównują swoim przeciwutleniającym działaniem natywnemu enzymowi. Ponadto badania *in vitro* to dopiero preludeum do potencjalnego zastosowania tych substancji w ogniskach stresu oksydacyjnego.

PODZIĘKOWANIE

Autorki serdecznie dziękują Pani Profesor Justynie Brasuń za poświęcony czas oraz wsparcie zarówno merytoryczne jak i mentalne w trakcie realizacji tej pracy.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] M. Woźniak, M. Czyż, *Postepy Hig. Med. Dosw.*, 2008, **62**, 613.
- [2] K. Rahman, *Clin. Interv. Aging*, 2007, **2**, 219.
- [3] G. Bartosz, *Druga twarz tlenu. Wolne rodniki w przyrodzie.*, PWN, Warszawa, 2004.
- [4] T. Mann, D. Keilin, *Proc. R. Soc. Lond. B*, 1938, **126**, 303.
- [5] H. Markowitz, G.E. Cartwright, M. Wintrobe, *J. Biol. Chem.* 1959, **234**, 40.
- [6] J.R. Kimmel, *J. Biol. Chem.*, 1959, **234**, 460.
- [7] F.I. McCord, *J. Biol. Chem.*, 1970, **245**, 1374.
- [8] F.I. McCord, *J. Biol. Chem.*, 1969, **244**, 6056.
- [9] F.I. McCord, *J. Biol. Chem.*, 1969, **244**, 6049.
- [10] J.V. Bannister, W.H. Bannister, G. Rotilio, *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, 1987, **22**, 111.
- [11] H.E. Parge, R.A. Hallewell, J.A. Tainer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1992, **89**, 6109.
- [12] I.N. Zelko, T.J. Mariani, R.J. Folz, *Free Radic. Biol. Med.*, 2002, **33**, 337.
- [13] P. Bueno, J. Varela, G. Gimenez-Gallego, L.A. Del Rio, *Plant Physiol.*, 1995, **108**, 1151.
- [14] S. Ammendola, P. Pasquali, F. Pacello, G. Rotilio, M. Castor, S.J. Libby, N. Figueroa-Bossi, L. Bossi, F.C. Fang, A. Battistoni, *J. Biol. Chem.*, 2008, **283**, 13688.
- [15] L.A. Sturtz, K. Diekert, L.T. Jensen, R. Lill, V.C. Culotta, *J. Biol. Chem.*, 2001, **276**, 38084.
- [16] D.J. Kliebenstein, R.A. Monde, R.L. Last, *Plant Physiol.*, 1998, **118**, 637.
- [17] F. Frederick, J. Yost, *J. Biol. Chem.*, 1973, **248**, 4905.
- [18] S. Kanematsu, K. Asada, *Arch. Biochem. Biophys.*, 1979, **195**, 535.
- [19] O.A. Asojo, E.J. Schott, G.R. Vasta, A.M. Silva, *Acta Crystallogr. Sect. F Struct. Biol. Cryst. Commun.*, 2006, **62**, 1072.
- [20] B.B. Keele, J.M. McCord, I. Fridovich, *J. Biol. Chem.*, 1970, **245**, 6176.
- [21] F.I. Weisiger, *J. Biol. Chem.*, 1973, **248**, 4893.
- [22] E. Fréalle, C. Noël, E. Viscogliosi, D. Camus, E. Dei-Cas, L. Delhaes, *Immunol. Med. Microbiol.*, 2005, **45**, 411.
- [23] H.D. Youn, E.J. Kim, J.H. Roe, Y.C. Hah, S.O. Kang, *Biochem. J.*, 1996, **318**, 889.
- [24] I. Fridovich, *J. Biol. Chem.*, 1997, **272**, 18515.
- [25] D.K. St. Clair, T.D. Oberley, K.E. Muse, W.H. St. Clair, *Free Radic. Biol. Med.*, 1994, **16**, 275.
- [26] J.R. Wispe, B.B. Warner, J.C. Clark, C.R. Dey, J. Neuman, S.W. Glasser, J.D. Crapo, L.Y. Chang, J.A. Whitsett, *J. Biol. Chem.*, 1992, **267**, 23937.
- [27] S.L. Marklund, E. Holme, L. Hellner, *Clin. Chim. Acta.*, 1982, **126**, 41.
- [28] S.L. Marklund, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 1982, **79**, 7634.
- [29] M. Skrzycki, H. Czczot, *Postep. Hig. Med. Dosw.*, 2004, **58**, 301.

- [30] D. Levanon, J. Lieman-Hurwitz, N. Dafni, M. Wigderson, L. Sherman, Y. Bernstein, Z. Laver-Rudich, E. Danciger, O. Stein, Y. Groner, *EMBO J.*, 1985, **4**, 77.
- [31] J.A. Tainer, E.D. Getzoff, K.M. Beem, J.S. Richardson, D.C. Richardson, *J. Mol. Biol.*, 1982, **160**, 181.
- [32] F.I. Forman, *J. Biol. Chem.*, 1973, **248**, 2645.
- [33] I.A. Abreu, D.E. Cabelli, *Biochim. Biophys. Acta - Proteins Proteomics*, 2010, **1804**, 263.
- [34] P.J. Hart, M.M. Balbirnie, N.L. Ogihara, A.M. Nersissian, M.S. Weiss, J.S. Valentine, D. Eisenberg, *Biochemistry*, 1999, **38**, 2167.
- [35] L.L. Costanzo, G. De Guidi, S. Giuffrida, E. Rizzarelli, G. Vecchio, *J. Inorg. Biochem.*, 1993, **50**, 273.
- [36] H.A. Azab, C. Luchinat, L. Band, M.S. Viezzoli, M. Borsari, M. Sola, *Inorg. Chem.*, 1992, **31**, 4649.
- [37] D. Klug, J. Rabani, I. Fridovich, *J. Biol. Chem.*, 1972, **247**, 4839.
- [38] R.N. Patel, K.B. Pandeya, *J. Inorg. Biochem.*, 1998, **72**, 109.
- [39] D.R. Brown, C. Clive, S.J. Haswell, *J. Neurochem.*, 2001, **76**, 69.
- [40] Á. Dancs, K. Selmecezi, D. Árus, D. Szunyogh, T. Gajda, *Int. J. Pept. Res. Ther.*, 2018, **24**, 571.
- [41] A. Jancso, Z. Paksi, N. Jakab, B. Gyurcsik, A. Rockenbauer, T. Gajda, *Dalt. Trans.*, 2005, **19**, 3187.
- [42] G. Csire, S. Timári, J. Asztalos, J.M. Király, M. Kiss, K. Várnagy, *J. Inorg. Biochem.*, 2017, **177**, 198.
- [43] D. Vaslensin, Ł. Szyrwił, F. Camponeschi, M. Rowińska-Zyrek, E. Molteni, E. Jankowska, A. Szymanska, E. Gaggelli, G. Valensin, H. Kozłowski, *Inorg. Chem.*, 2009, **48**, 7330.
- [44] D.R. Brown, B.S. Wong, F. Hafiz, C. Clive, S.J. Haswell, I.M. Jones, *Biochem. J.*, 1999, **344**, 1.
- [45] A. Kotynia, T. Janek, Ż. Czyżnikowska, S. Bielińska, W. Kamysz, J. Brasuń, *Int. J. Pept. Res. Ther.*, 2017, **23**, 431.
- [46] F.I. Beauchamp, *Anal. Biochem.*, 1971, **44**, 276.
- [47] D.A. Kostić, D.S. Dimitrijević, G.S. Stojanović, I.R. Palić, A.S. Dorđević, J.D. Ickovski, *J. Chem.*, 2015, 2015.
- [48] C.G. Goldstein, Ch. Michel, W. Bors, M. Saran, G. Czapski, *Free Radic. Biol. Med.*, 1988, **4**, 295.
- [49] L. Szyrwił, M. Shimura, B. Setner, Z. Szewczuk, K. Malec, W. Malinka, J. Brasun, J.S. Pap, *Int. J. Pept. Res. Ther.*, 2019, **25**, 711.
- [50] L.W. Kaska, C. Carrano, J. Michalowski, J. Jackson, *Bioinorg. Chem.*, 1978, **8**, 225.
- [51] M. Sun, S. Zigman, *Anal. Biochem.*, 1978, **90**, 81.
- [52] H.P. Misra, I. Fridovich, *J. Biol. Chem.*, 1972, **247**, 3170.
- [53] S. Marklund, G. Marklund, *Eur. J. Biochem.*, 1974, **47**, 469.
- [54] R. Gao, Z. Yuan, Z. Zhao, X. Gao, *Bioelectrochemistry Bioenerg.*, 1998, **45**, 41.
- [55] Y. Kono, *Arch. Biochem. Biophys.*, 1978, **186**, 189.
- [56] N. Crosti, T. Servidei, J. Bajer, A. Serra, *Clin. Chem. Lab. Med.*, 1987, **25**, 265.
- [57] R.E. Bensinger, C.M. Johnson, *Anal. Biochem.*, 1981, **116**, 142.
- [58] S. Girotti, F. Fini, E. Ferri, R. Budini, S. Piazzzi, D. Cantagalli, *Talanta*, 2000, **51**, 685.
- [59] T.V. Zhidkova, E.V. Proskurnina, E.A. Parfenov, Y.A. Vladimirov, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2011, **401**, 381.
- [60] R. Pogni, M.C. Baratto, E. Busi, R. Basosi, *J. Inorg. Biochem.*, 1999, **73**, 157.
- [61] A. Myari, G. Malandrinos, J. Plakatouras, N. Hadjiliadis, I. Sovago, *Bioinorg. Chem. Appl.*, 2003, **1**, 99.
- [62] B. Bóka, A. Myari, I. Sóvágó, N. Hadjiliadis, *J. Inorg. Biochem.*, 2004, **98**, 113.
- [63] S. Rajković, C. Kállay, R. Serényi, G. Malandrinos, N. Hadjiliadis, D. Sanna, I. Sóvágó, *Dalt. Trans.*, 2008, **37**, 5059.

- [64] M. Ciuffi, C. Cellai, S. Franchi-Micheli, P. Failli, L. Zilletti, M. Ginanneschi, M. Chelli, A.M. Papini, F. Paoletti, *Pharmacol. Res.*, 1998, **38**, 279.
- [65] M. Casolaro, M. Chelli, M. Ginanneschi, F. Laschi, L. Messori, M. Muniz-Miranda, A.M. Papini, T. Kowalik-Jankowska, H. Kozłowski, *J. Inorg. Biochem.*, 2002, **89**, 181.
- [66] M. Casolaro, M. Chelli, M. Ginanneschi, F. Laschi, M. Muniz-Miranda, A.M. Papini, G. Sbrana, *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 1999, **55**, 1675.
- [67] Z. Paksi, A. Jancsó, F. Pacello, N. Nagy, A. Battistoni, T. Gajda, *J. Inorg. Biochem.*, 2008, **102**, 1700.
- [68] C. Kállay, K. Várnagy, G. Malandrinos, N. Hadjiliadis, D. Sanna, I. Sóvágó, *Inorganica Chim. Acta.*, 2009, **362**, 935.
- [69] D.R. Brown, H. Kozłowski, *Dalton Trans.*, 2004, 1907.
- [70] H.A. Kretzschmar, S.B. Pruisner, L.E. Stowring, S.J. DeArmond, *Am. J. Pathol.*, 1986, **122**, 1.
- [71] D.R. Brown, A. Besinger, *Biochem. J.*, 1998, **334**, 423.
- [72] D. La Mendola, R.P. Bonomo, S. Caminati, G. Di Natale, S.S. Emmi, Ö. Hansson, G. Maccarrone, G. Pappalardo, A. Pietropaolo, E. Rizzarelli, *J. Inorg. Biochem.*, 2009, **103**, 195.
- [73] P. Stańczak, H. Kozowski, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2007, **352**, 198.
- [74] J. Yin, J. Zhuang, S. Lv, Y. Mu, *J. Mol. Recognit.*, 2018, **31**, 1.
- [75] F. Yan, G. Yan, S. Lv, N. Shen, Y. Mu, T. Chen, P. Gong, Y. Xu, L. Lv, J. Liu, J. Shen, G. Luo, *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2011, **43**, 1802.
- [76] C.J. White, A.K. Yudin, *Nat. Chem.*, 2011, **3**, 509.
- [77] D.J. Craik, Y. Young Shim, U. Göransson, G.P. Moss, N. Tan, P.D. Jadhav, J. Shen, M.J.T. Reaney, *Biopolymers.*, 2016, **106**, 917.
- [78] G. Arena, R.P. Bonomo, L. Casella, M. Gullotti, G. Impellizzeri, G. Maccarrone, E. Rizzarelli, *J. Chem. Soc., Dalt. Trans.*, 1991, 3203.
- [79] G. Arena, G. Impellizzeri, G. Maccarrone, G. Pappalardo, D. Sciotto, E. Rizzarelli, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, 1992, **2**, 371.
- [80] S. Kubota, J.T. Yang, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1984, **81**, 3283.
- [81] R.P. Bonomo, E. Conte, G. Impellizzeri, G. Pappalardo, R. Purrello, E. Rizzarelli, *J. Chem. Soc., Dalt. Trans.*, 1996, 3093.
- [82] R.P. Bonomo, R. Marchelli, G. Tabbi, *J. Inorg. Biochem.*, 1995, **60**, 205.
- [83] R.P. Bonomo, G. Impellizzeri, G. Pappalardo, R. Purrello, E. Rizzarelli, G. Tabbi, *J. Chem. Soc. - Dalt. Trans.*, 1998, 3851.
- [84] G. Formicka-Kozłowska, H. Kozłowska, I.Z. Siemion, K. Sobczyk, E. Nawrocka, *J. Inorg. Biochem.*, 1981, **15**, 201.
- [85] L.D. Pettit, I. Steel, G. Formicka-Kozłowska, T. Tatarowski, M. Bataille, *J. Chem. Soc. Dalt. Trans.*, 1985, 535.
- [86] M. Bataille, G. Formicka-Kozłowska, H. Kozłowski, L.D. Pettit, I. Steel, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1984, 231.
- [87] A. Fragoso, P. Lamosa, R. Delgado, O. Iranzo, *Chem. - A Eur. J.*, 2013, **19**, 2076.
- [88] A. Fragoso, T. Carvalho, P. Rousselot-Pailley, M.M. Correia Dos Santos, R. Delgado, O. Iranzo, *Chem. - A Eur. J.*, 2015, **21**, 13100.
- [89] J.F. Galey, B.D.-L. Reverend, A. Lebkiri, L.D. Pettit, S.I. Pyburn, H. Kozłowski, *J. Chem. Soc. Dalt. Trans.*, 1991, 2281–2287.
- [90] A. Fragoso, R. Delgado, O. Iranzo, *Dalt. Trans.*, 2013, **42**, 6182.
- [91] A. Kotynia, Z. Czynnikowska, S. Bielińska, Ł. Szyrwił, W. Kamysz, W. Malinka, J. Brasuń, *New J. Chem.*, 2014, **38**, 5198.
- [92] A. Kotynia, S. Bielińska, W. Kamysz, *J. Brasuń, Dalt. Trans.*, 2012, **41**, 12114.
- [93] G. Arena, R.P. Bonomo, G. Impellizzeri, R.M. Izatt, J.D. Lamb, E. Rizzarelli, *Am. Chem. Soc.*, 1987, **26**, 795.

- [94] Á. Dancs, N. V. May, K. Selmeczi, Z. Darula, A. Szorcik, F. Matyuska, T. Páli, T. Gajda, *New J. Chem.*, 2017, **41**, 808.
- [95] Á. Dancs, K. Selmeczi, N. V. May, T. Gajda, *New J. Chem.*, 2018, **42**, 7746.
- [96] Ł. Szyrwiel, J.S. Pap, Ł. Szczukowski, Z. Kerner, J. Brasuń, B. Setner, Z. Szewczuk, W. Malinka, *RSC Adv.*, 2015, **5**, 56922.
- [97] Ł. Szyrwiel, Ł. Szczukowski, J.S. Pap, B. Setner, Z. Szewczuk, W. Malinka, *Inorg. Chem.*, 2014, **53**, 7951.

Praca wpłynęła do Redakcji 13 lipca 2020 r.

**SOLE ANIONORODNIKOWE TCNQ
Z KATIONAMI KOMPLEKSOWYMI METALI
PRZEJŚCIOWYCH**

TCNQ RADICAL ANION SALTS WITH CATIONS
BASED ON TRANSITION METALS

Tetiana Starodub*, Volodymyr Starodub †

*Uniwersytet Jana Kochanowskiego, Instytut Chemii
ul. Uniwersytecka 7, 25-406 Kielce
e-mail: starodub@ujk.edu.pl

*Z wielkim smutkiem zawiadamiamy, że dnia 12 listopada 2020 r.
zmarł Prof. dr hab. Volodymyr Starodub.*

Abstract
Wprowadzenie
1. Kompleksy z koordynowanym TCNQ
2. Kompleksy z nieskoordynowanym TCNQ
Uwagi końcowe
Podziękowania
Piśmiennictwo cytowane



Dr, adiunkt Tetiana Starodub urodziła się w 1975 r. w Charkowie. W 1998 r. z wyróżnieniem ukończyła studia w Charkowskim Państwowym Uniwersytecie (ChPU), otrzymała stopień magistra chemii. W tym samym roku rozpoczęła kształcenie w zakładzie chemii teoretycznej (ChPU). W 2004 r. obroniła rozprawę doktorską pod tytułem: „Izotrytiondytolany metali przejściowych: synteza, struktura i właściwości fizykochemiczne”. W latach 2004 – 2012 – pracownik naukowy Katedry Chemii Teoretycznej ChPU (2005 – 2006, 2010 – 2012 – urlopy macierzyńskie). 2013 – 2017 – praca w UJK na warunkach umowy o dzieło dydaktyczne; od 2018 r. – adiunkt Instytutu Chemii UJK. Zajmuje się syntezą i badaniami soli anionorodnikowych

na podstawie TCNQ.



<https://orcid.org/0000-0001-8808-1690>



Prof. dr hab. Volodymyr Starodub, urodził się w 1949 r. w Kazachstanie. Studiował chemię w Charkowskim Państwowym Uniwersytecie (ChPU), który skończył w r. 1971, otrzymał dyplom z wyróżnieniem. W latach 1971–1974 – doktorant zakładu chemii nieorganicznej ChPU. W latach 1975–1983 – starszy pracownik naukowy Uniwersytetu Karazina (Charków), w latach 1983–1998 – docent. Habilitacja – 1995 r., temat: „Wysoko anizotropowe ciała stałe na podstawie kompleksów z przeniesieniem ładunku, soli jonorodnikowych i związków koordynacyjnych”. W okresie 1998–2006 pracował na stanowisku profesora Uniwersytetu Karazina. Od 2001 r. posiada tytuł profesora. Od 2006 r. pracuje na stanowisku profesora w Uniwersytecie Jana Kochanowskiego w Kielcach,

w zakładzie Syntezy i Badań Strukturalnych. Jego główne zainteresowania naukowe dotyczą fizykochemii niskowymiarowych materiałów organicznych, które mają zastosowanie jako przewodniki oraz magnetyki organiczne, a także są stosowane w produkcji materiałów optyki nieliniowej.



<https://orcid.org/0000-0001-6403-1736>

ABSTRACT

The unique properties of anion-radical salts (SAR) of 7,7,8,8-tetraethanoquinimethane (TCNQ) with cations $[M(N-N)_2]^{2+}$ ($M = Mn, Fe, Co, Ni$; $N-N = phen, dips$) were analyzed. The ability of these SARs to create conductive materials, magnetically ordered structures, including Ferro- and antiferromagnetic, and spin ladders was considered. Particular attention was paid to the possibilities of using these SARs in the electronics of nanomaterials, materials for the production of field-effect transistors, photo-diodes and ion-selective electrodes.

Keywords: functional materials, magnetically ordered materials, anion-radical salts
Słowa kluczowe: materiały funkcyjne, materiały uporządkowane magnetycznie, sole anionorodnikowe

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

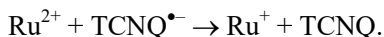
bpe	– 1,2-bis(4-pirydylo)etylen)
diene	– dietylenotriamina
dipy	– bipyrydył
en	– etylenodiamina
NEP	– kation N-etylofenazyniowy
obip	– 4,4'-dipirydylo-di-N-tlenek
OEF	– oddziaływanie elektrono-fononowe
PCPs	– porowate polimery koordynacyjne (ang. <i>Porous Coordination Polymers</i>)
phen	– 1,10-fenantrolina
Py	– pirydyna
qn	– chinolina
RSA	– analiza rentgen-strukturalna
SAR	– sole anionorodnikowe
TCNQ	– 7,7,8,8- tetracyjanochinodimetan
terpy	– 2,2':6',2''- terpirydyna
THF	– tetrahydrofuran
tn	– trimetylenodiamina

WPROWADZENIE

Sole anionorodnikowe (SAR) zawierające 7,7,8,8-tetracyjanochinodimetan (TCNQ) wzbudziły zainteresowanie już w drugiej połowie lat 60. Ich niezwykle właściwości były opisane w licznych przeglądach [1-10]. SAR TCNQ zawierające kationy kompleksowe metali bloku 3d cieszą się szczególnym zainteresowaniem ze względu na możliwość specyficznych oddziaływań magnetycznych między stosami anionorodników zawierających elektrony zdelokalizowane oraz elektronami orbitali 3d. Podobne oddziaływania możliwe są za pośrednictwem kontaktów międzymolekularnych, łącznie z oddziaływaniami π -d [11-13]. Pośród SAR syntetyzowano sole o składzie $[M(N-N)_2(TCNQ)_n]$, gdzie $M^{2+} = Mn^{2+}, Fe^{2+}, Co^{2+}, Ni^{2+}, Zn^{2+}$; N-N – diaminy tak hetero-aromatyczne, jak i alifatyczne. Podobne sole znane są już od lat 90. ubiegłego stulecia [14-15], jednak ich właściwości magnetyczne są obecnie jeszcze zbyt słabo zbadane.

1. KOMPLEKSY Z KOORDYNOWANYM TCNQ

Na początku lat 90. ubiegłego stulecia [16] odkryto niezwykle zachowanie TCNQ względem kompleksów metali bloku d. Zauważono, że obecność tych kompleksów w SAR TCNQ nie sprowadza się do funkcji przeciwjonów, lecz ma miejsce koordynacja cząsteczki TCNQ za pośrednictwem atomów azotu grup nitrylowych. W wyniku tego, w reakcji kompleksu $[Ru(CO)_2(PPh_3)_2(THF)_2](BF_4)_2$ (THF – tetrahydrofuran, PPh_3 – trifenylfosfina) z PPh_3 w CH_2Cl_2 i LiTCNQ w metanolu tworzy się kompleks $[Ru(PPh_3)_2(TCNQ)]$. Jak widać, w trakcie reakcji następuje redukcja jonu Ru^{2+} do jonu Ru^+ . Autorzy pracy [16] uważają, że reduktorem jest PPh_3 . Jednak, bardziej wiarygodna jest redukcja jonu Ru^{2+} przez anionorodnik $TCNQ^{\bullet-}$:



Jon Ru^+ znajduje się w kompleksie $[Ru(PPh_3)_2(TCNQ)]$ w zniekształconym otoczeniu tetraedrycznym, koordynując dwie cząsteczki TCNQ.

Warto podkreślić, że wszystkie cząsteczki TCNQ występują jako mostki między dwoma jonami Ru^+ , łącząc je za pośrednictwem przeciwległych grup nitrylowych. W wyniku tego obniża się symetria cząsteczek od D_{2h} do C_{2h} . Na podstawie teorii grup wszystkie 54 drgań normalnych nie-koordynowanej cząsteczki TCNQ można klasyfikować za typami symetrii zgodnie ze wzorem:

$$\Gamma_{54} = 10A_g(R) \oplus 9B_{1g}(R) \oplus 5B_{2g}(R) \oplus 3B_{3g}(R) \oplus 4A_u(in) \oplus 5B_{1u}(IR) \oplus 9B_{2u}(IR) \oplus 9B_{3u}(IR)$$

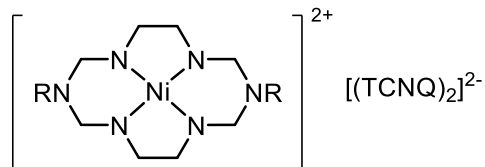
(gdzie: R – jest drganiem aktywnym w widmie Ramanowskim; in – nie jest drganiem aktywnym ani w widmie Ramanowskim, ani w widmie w podczerwieni; IR – jest drganiem aktywnym w widmie w podczerwieni). Jak widać, widmo w podczerwieni posiada 23 linie, odpowiadające drganiom nieparzystym względem inwersji; widmo Ramanowskie zawiera 27 linii. W przypadku symetrii C_{2h} 54 drgania molekuly TCNQ można klasyfikować za pomocą symetrii w sposób następujący:

$$\Gamma_{54} = 19A_g(R) \oplus 9A_u(IR) \oplus 8B_g(R) \oplus 18B_u(IR).$$

Jak widać, w wyniku spadku symetrii liczba linii w widmie w podczerwieni zwiększa się z 23 do 27, natomiast w widmie Ramanowskim liczba linii nie ulega zmianie. Kompleks $[\text{Ru}(\text{PPh}_3)_2(\text{TCNQ})]$ tworzy dimery, w których odległości między płaszczyznami anion-rodników TCNQ są równe 3,29 Å. Geometria dimerów jest podobna do geometrii kolumn TCNQ, charakterystycznych dla większości SAR. W tych warunkach istnieje możliwość oddziaływań elektronofononowych (OEF), w wyniku czego w widmie w podczerwieni aktywnymi będą drgania grup $\text{C}\equiv\text{N}$ o symetrii A_g i B_u i w rzeczywistości są one widoczne przy 2170 i 2140 cm^{-1} [16]. Występują również mody o symetrii A_g przy 1570, 1320 i 1168 cm^{-1} .

Kompleks $[\text{Ru}(\text{PPh}_3)_2(\text{TCNQ})]_2$ wykazuje właściwości diamagnetyczne w stanie stałym, natomiast paramagnetyczne – w roztworach. Przyczyną tego jest dysocjacja kompleksu, w wyniku czego tworzą się anionorodniki $\text{TCNQ}^{\bullet-}$. Kompleks ten jest półprzewodnikiem o wartości $\sigma_{RT} = 5 \cdot 10^{-6} \Omega^{-1} \text{cm}^{-1}$ [16].

W 1994 r. zsyntetyzowano SAR TCNQ z kationowymi kompleksami makrocyklicznymi niklu(II) [17]. Była wówczas opisana SAR bis(7,7,8,8-tetracyanoquinodimethanido) - (1,8-bis(2-hydroksyetyl)1,3,6,8,10,13 - heksaazacyklo-tetra-dekan)niklu(II):



W tym kationie R może być jednym z następujących podstawników: $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, CH_2Ph , CH_2CH_3 . Gdy $R = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ tworzy się SAR o składzie $[\text{NiL}^R(\text{TCNQ})_2]$, której strukturę ustalono metodą RSA. Jon niklu znajduje się w centrum inwersji, koordynując cztery atomy azotu ligandu makrocyklicznego. W pozycjach osiowych koordynuje on dwa anionorodniki $\text{TCNQ}^{\bullet-}$ przez atomy azotu grup nitrylowych.

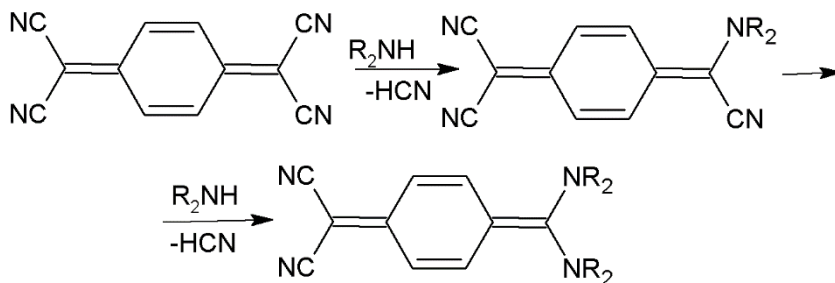
Podobnie jak w kompleksie $[\text{Ru}(\text{PPh}_3)_2(\text{TCNQ})_2]$, tak i w związku $[\text{NiL}^{\text{R}}(\text{TCNQ})_2]$ pierścienie sąsiadujących cząsteczek TCNQ zachodzą na siebie wzdłuż przekątnej komórki elementarnej.

Odległość między płaszczyznami TCNQ (3,250 Å) odpowiada tworzeniu anionu dimerowego $[(\text{TCNQ})_2]^{2-}$. Można powiedzieć, że kompleks $[\text{NiL}^{\text{R}}(\text{TCNQ})_2]$ zawiera równoległe łańcuszki $[\text{NiL}^{\text{R}}]^{2+}$, połączone przez aniony dimerowe $[(\text{TCNQ})_2]^{2-}$.

Stosy oddziałują za pośrednictwem wiązań wodorowych grup hydroksylowych kationów z atomami azotu grup nitrylowych.

Zgodnie z danymi strukturalnymi, SAR wykazuje właściwości dielektryczne: $\sigma_{\text{RT}} < 10^{-7} \Omega^{-1}\text{cm}^{-1}$. Dane magnetyczne potwierdzają obecność dimerów diamagnetycznych w strukturze SAR, świadcząc o braku anionorodników $\text{TCNQ}^{\bullet-}$: moment magnetyczny wynosi $3,02 \mu_B$ [17]. Odpowiada to spinowi $S = 1$, co jest typowe dla sześciokoordynacyjnych kompleksów Ni^{II} .

Reakcja TCNQ lub $\text{TCNQ}^{\bullet-}$ z kompleksami metali przejściowych, zawierających aminy alifatyczne (en – etylenodiamina, tn – trimetylenodiamina, diene – dietylenotriamina) daje produkty zawierające σ -koordynowane cząsteczki TCNQ. Podobne SAR, zawierające kompleksy $[\text{M}(\text{en})_3]^{2+}$, $[\text{M}(\text{tn})_2(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ i $[\text{M}(\text{diene})_2]^{2+}$ jako kationy, są labilne. Aminy te łatwo kondensują się z TCNQ [15]:



W kompleksach tych istnieją mocne oddziaływania antyferromagnetyczne, w wyniku czego tworzą się dimery bezspinowe $[(\text{TCNQ})_2]^{2-}$. Najslabsze oddziaływanie antyferromagnetyczne istnieje w kryształach kompleksu $[\text{Ni}(\text{diene})_2](\text{TCNQ})_2$, w wyniku czego zaobserwowano równowagę singlet-trypletową w temperaturach powyżej 60 K (to znaczy, że w temperaturach powyżej 60 K rośnie populacja stanów trypletowych).

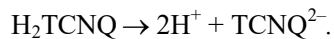
Zdolność do podstawienia ligandów przez TCNQ można zmniejszyć, wykorzystując kompleksy bardziej stabilne, np.: $[\text{M}(\text{N-N})_3]^{2+}$ ($\text{M} = \text{Fe}, \text{Ni}$; N-N = phen, bipy). Rzeczywiście, w reakcji tych kompleksów z LiTCNQ lub $\text{NEt}_3\text{H}(\text{TCNQ})_2$ tworzą się SAR, w których znajdują się cząsteczki TCNQ

o ładunku ułamkowym w sferze zewnętrznej $[M(N-N)_3](TCNQ)_n$, $n = 2, 4$ [18] (przy $n=2$ są to anion-rodniki $TCNQ^{\bullet-}$, przy $n = 4$ – cząsteczki $TCNQ^{-0.5}$). Jednak, te SAR zawierają tylko σ -dimery $[(TCNQ)_2]^{2-}$. Natomiast, w SAR $[Fe(bipy)_3](TCNQ)_2$ istnieją π -dimery, w wyniku czego wykrywany jest udział anionorodników w podatności magnetycznej, przy czym połowa anionorodników występuje w postaci dimerów diamagnetycznych, a druga połowa znajduje się w stanie izolowanym.

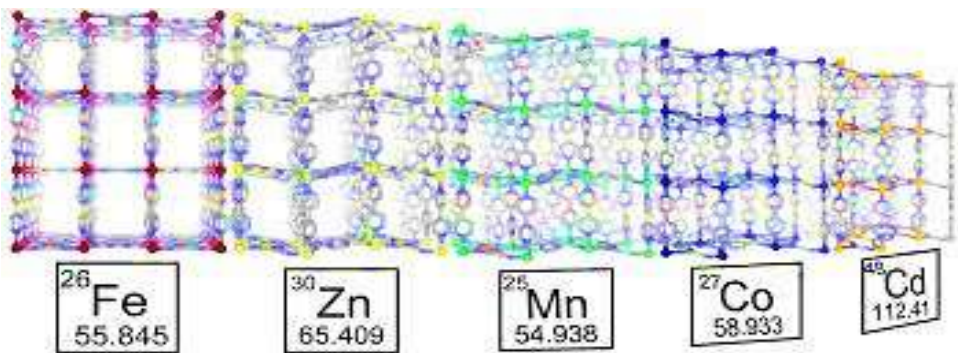
W SAR $[Fe(bipy)_3](TCNQ)_4$ tworzą się łańcuchy liniowe, w których zachodzi oddziaływanie antyferromagnetyczne, odpowiadające modelowi Heisenberga.

W stosach anionorodników istnieje pewna delokalizacja elektronów. Świadczy o tym względnie wysokie przewodnictwo elektryczne: $\sigma_{RT} = 10^{-2} \Omega^{-1} \text{cm}^{-1}$.

Wiadomym jest również, że istnieją kompleksy zawierające diaminy aromatyczne i koordynowane cząsteczki TCNQ w sferze wewnętrznej [19, 20]. W artykule [21] przedstawiono serie kompleksów $[M(bipy)(TCNQ)]$ ($M = Mn^{2+}, Fe^{2+}, Co^{2+}, Zn^{2+}, Cd^{2+}$), zawierających skoordynowany dianion $TCNQ^{2-}$. Zauważmy, że w tych kompleksach znajduje się TCNQ w bardzo niezwykłej postaci dianionu. Do syntezy tego dianionu wykorzystuje się obecnie dwie metody: dysproporcjonowanie anionorodnika oraz deprotonowanie cząsteczki H_2TCNQ :



Każdy jon metalu koordynuje cztery aniony $TCNQ^{2-}$ w płaszczyźnie ab , a molekuly bipy łączą je wzdłuż osi c w trójwymiarową sieć kolumn (Rys. 1, 2).



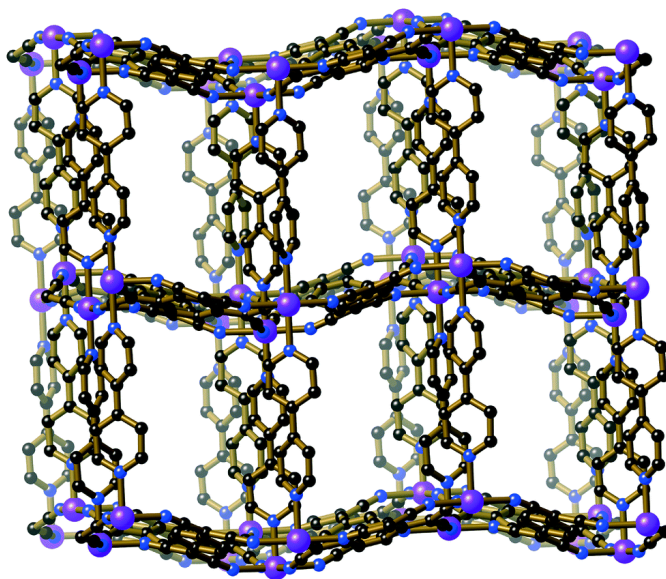
Rysunek 1. Struktura krystaliczna $[M(bipy)(TCNQ)] \cdot x(\text{MeOH})$, $M^{2+} = Fe^{2+}, Zn^{2+}, Mn^{2+}, Co^{2+}, Cd^{2+}$ [19]

Figure 1. Crystal structures of $[M(bipy)(TCNQ)] \cdot x(\text{MeOH})$, $M^{2+} = Fe^{2+}, Zn^{2+}, Mn^{2+}, Co^{2+}, Cd^{2+}$ [19]

https://encrypted-tbn0.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcQfAGuAbVpROD7TEy2W8aUllJYndYNT5j8WOBd_BgYpZ35xv_zt

Jak widać, w tym przypadku tworzy się struktura porowata typu PCPs (Porous Coordination Polymers).

W publikacji [20] opisano serię podobnych kompleksów: $[M(\text{TCNQ})(\text{Py})_2]$ ($M^{2+} = \text{Mn}^{2+}, \text{Zn}^{2+}$; Py - pirydyl); $[M(\text{TCNQ})(\text{qn})_2]$ ($M^{2+} = \text{Co}^{2+}, \text{Zn}^{2+}$, qn – chinolina); $[\text{Mn}(\text{TCNQ})(4\text{-MePy})_2]$; $[\text{Zn}(\text{TCNQ})(4\text{-PhPy})_2]$; $[\text{Zn}(\text{TCNQ})(\text{iso-qn})_2]$; $[\text{Zn}(\text{TCNQ})(\text{nicotinamide})_2]$; $[M(\text{TCNQ})(\text{bipy})]$ ($M^{2+} = \text{Mn}^{2+}, \text{Fe}^{2+}, \text{Zn}^{2+}, \text{Cd}^{2+}$; bipy – 4,4'-dwpirydył); $[\text{Zn}(\text{TCNQ})(\text{bpe})]$, bpe = 1,2-bis(4-pirydylo)etylen), $[\text{Zn}(\text{TCNQ})(\text{CH}_3\text{OH})(\text{Obip})_{1/2}]$ (Obip – 4,4'-dipirydylo)di-N-tlenek).



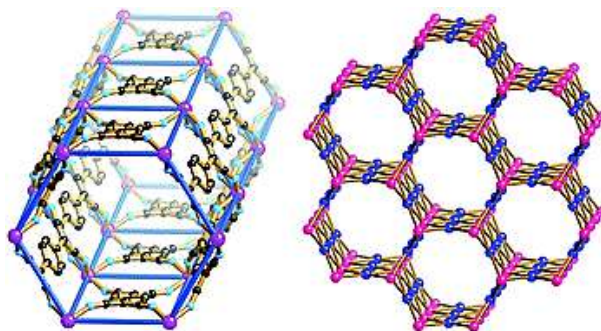
Rysunek 2. Trójwymiarowa (3D) struktura porowata $[\text{Mn}(\text{TCNQ})(\text{bipy})]$ [20]

Figure 2. View of the $[\text{Mn}(\text{TCNQ})(\text{bipy})]$ 3D coordination network [20]

http://pubs.rsc.org/services/images/RSCpubs.ePlatform.Service.FreeContent.ImageService.svc/ImageService/ArticleImage/2018/CE/c8ce00413g/c8ce00413g-f7_hi-res.gif

Istnieją również kompleksy, w których występują tylko skoordynowane anion-rodniki TCNQ. Zsyntetyzowano serie kompleksów, zawierających skoordynowane dianiony TCNQ^{2-} [21]. SAR, zawierające aniony $[(M^{2+})_2(\text{TCNQ}^{2-})_3]^{2-}$ ($M^{2+} = \text{Mn}^{2+}, \text{Zn}^{2+}, \text{Cd}^{2+}$) otrzymano w reakcjach odpowiednich azotanów z H_2TCNQ . Aniony te tworzą sieć polimerową, która ma kształt sześciokątnych plastrów miodu (Rys. 3).

Średnica kanałów heksagonalnych wynosi około 14.9 Å, dlatego aniony zajmują tylko około 45 % objętości kryształu. Wewnątrz tych kanałów, w stanie nieuporządkowanym znajdują się kationy $[\text{Mn}(\text{DMSO})_4(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ jako przeciwjony. Rozmiar kanałów jest wystarczającym do rozmieszczenia w nich kationów typu $[\text{Mn}(\text{dipy})_3]^{2+}$ (gdzie dipy – 2,2'-dipirydył). W wyniku reakcji $\text{Mn}(\text{NO}_3)_2$, H_2TCNQ i 2,2'-dipirydyłu tworzą się kryształy kompleksu $[\text{Mn}(\text{dipy})_3][\text{Mn}_2(\text{TCNQ})_3]$, których strukturę przedstawia Rys. 3.



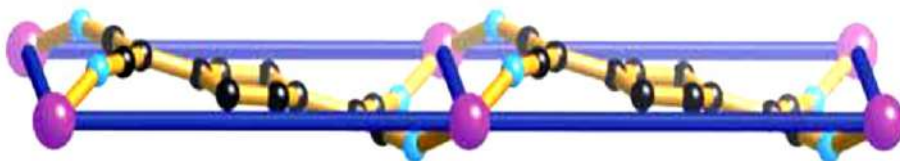
Rysunek 3. Kanały w strukturze kompleksu $[\text{Mn}(\text{dipy})_3][\text{Mn}_2(\text{TCNQ})_3]$. Linie niebieskie przedstawiają heksagony w wierzchołkach których znajdują się jony Mn^{2+} ; po prawej stronie – kanały heksagonalne [21]

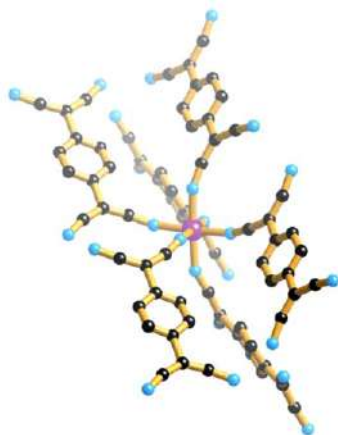
Figure 3. Channels in the structure of the complex $[\text{Mn}(\text{dipy})_3][\text{Mn}_2(\text{TCNQ})_3]$. The blue lines represent a hexagon, in the vertices of which the Mn^{2+} ions are located; hexagonal channels [21]

<https://pubs.rsc.org/en/Image/Get?imageInfo.ImageType=GA&imageInfo.ImageIdentifier.ManuscriptID=C1CE06104F>

W odróżnieniu od żółtego koloru kryształów kompleksu $[\text{Mn}(\text{DMSO})_4(\text{H}_2\text{O})_2][\text{Mn}_2(\text{TCNQ})_3]$, kryształy $[\text{Mn}(\text{dipy})_3][\text{Mn}_2(\text{TCNQ})_3]$ są czerwone. Jest to przejaw oddziaływania z przeniesieniem ładunku między ścianami kanałów, zbudowanych z π -donorowych anionów TCNQ^{2-} , i kationami π -akceptorowymi $[\text{Mn}(\text{dipy})_3]^{2+}$. Dowodem na to są bezbarwne kompleksy zawierające kationy wewnątrz kanałów, które nie są π -akceptorami, a także czarny kolor kompleksów $[\text{Pt}(\text{dipy})_2]^{2+}[\text{TCNQ}]^{2-}$, zawierających kation π -akceptorowy $[\text{Pt}(\text{dipy})_2]^{2+}$ [21].

Jak można zauważyć, kompleksy typu $\text{Kt}^{2+}[\text{Mn}_2(\text{TCNQ})_3]^{2-}$ są rzadkim typem związków inkluzyjnych (klatratów). Elementami strukturalnymi tego typu kompleksów są tetradentne aniony mostkowe TCNQ^{2-} i kationy M^{2+} o liczbie koordynacji sześć (Rys. 4).



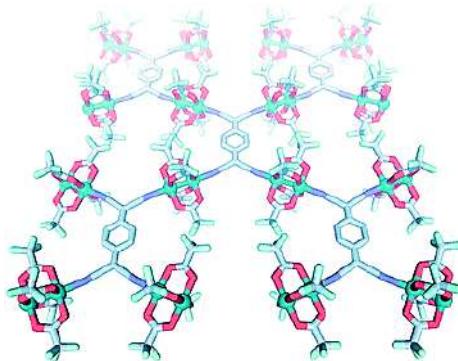


Rysunek 4. Tetradentne aniony mostkowe TCNQ^{2-} (na górze) i sześć-koordynowane jony M^{2+} (na dole) [21]

Figure 4. Tetradent bridge anions TCNQ^{2-} (top) and six-coordinated M^{2+} ions (bottom) [21]

<https://pubs.rsc.org/services/images/RSCpubs.ePlatform.Service.FreeContent.ImageService.svc/ImageService/Articleimage/2012/CE/c1ce06104f/c1ce06104f-f3.gif>

W SAR typu polimerowego mogą zachodzić interakcje magnetyczne, tak ferro- jak i antyferromagnetyczne. Kompleks $[\text{Ru}_2^{4+}(\text{O}_2\text{CCF}_3)_4](\text{TCNQ})$, który jest polimerem koordynacyjnym (Rys. 5), został syntetyzowany i opisany w pracy [22]. W strukturze tego polimeru TCNQ działa jako mostkujący ligand tetradentny.



Rysunek 5. Struktura krystaliczna $[\text{Ru}_2^{4+}(\text{O}_2\text{CCF}_3)_4](\mu_4\text{-TCNQ})$. Głęboka zieleń, barwy: jasnozielona, czerwona, niebieska kadeta i szara reprezentują odpowiednio atomy Ru, F, O, N i C. Atomy H zostały pominięte dla przejrzystości [22]

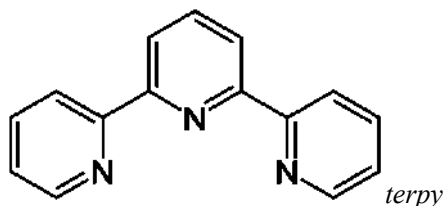
Figure 5. A crystal structure of $[\text{Ru}_2^{4+}(\text{O}_2\text{CCF}_3)_4](\mu_4\text{-TCNQ})$. Deep green sphere, light green, red, cadet blue, and gray represent Ru, F, O, N, and C atoms, respectively. H atoms are omitted for clarity [22]

<https://pubs.rsc.org/services/images/RSCpubs.ePlatform.Service.FreeContent.ImageService.svc/ImageService/Articleimage/2011/JM/c1jm10208g/c1jm10208g-f2.gif>

W tych SAR, dikation Ru_2^{4+} jest donorem względem cząsteczek TCNQ . Wynikiem tego jest rezonans: $[\{\text{Ru}_2^{4+}\}-(\text{TCNQ}^0)-\{\text{Ru}_2^{4+}\}] \leftrightarrow [\{\text{Ru}_2^{4,5+}\}-(\text{TCNQ}^{\bullet-})-\{\text{Ru}_2^{4,5+}\}]$. Wykorzystanie cząsteczek TCNQ umożliwia kontrolę oddziaływań magnetycznych w tych układach.

2. KOMPLEKSY Z NIESKOORDYNOWEANYM TCNQ

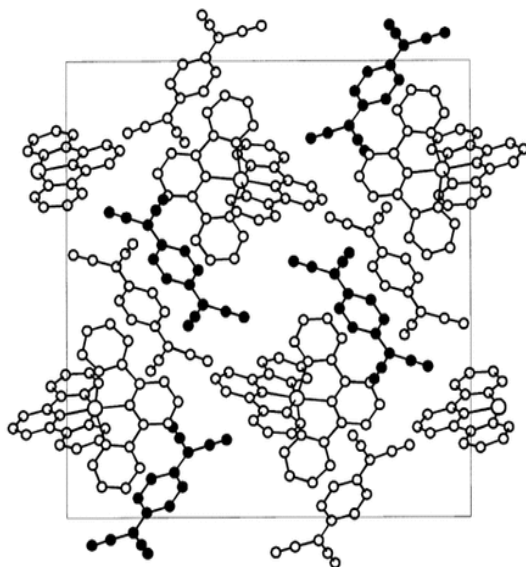
Istnieją również metalokompleksy z nieskoordynowanymi cząsteczkami TCNQ . W publikacji [23] opisano syntezę kompleksów $[\text{M}(\text{terpy})_2](\text{TCNQ})_2$, $[\text{M}(\text{terpy})_2](\text{TCNQ})_3$ ($\text{M}^{2+} = \text{Ni}^{2+}, \text{Cu}^{2+}, \text{Zn}^{2+}$; terpy = 2,2':6',2''-terpiridyna) oraz $[\text{M}(\text{phen})_3](\text{TCNQ})_2$ i $[\text{M}(\text{phen})_3](\text{TCNQ})_4$ ($\text{M}^{2+} = \text{Fe}^{2+}, \text{Ni}^{2+}$; phen = 1,10-fenantrolina).



W wyniku reakcji soli $[\text{M}(\text{terpy})_2](\text{NO}_3)_2$ z LiTCNQ powstają kompleksy $[\text{M}(\text{terpy})_2](\text{TCNQ})_2$. Jednak w reakcji $[\text{M}(\text{terpy})_2](\text{NO}_3)_2$ z SAR $(\text{Et}_3\text{NH})(\text{TCNQ})_2$ powstają kompleksy $[\text{M}(\text{terpy})_2](\text{TCNQ})_3$. Analogicznie zostały utworzone kompleksy $[\text{M}(\text{phen})_3](\text{TCNQ})_2$ i $[\text{M}(\text{phen})_3](\text{TCNQ})_4$ w reakcji $[\text{M}(\text{phen})_3](\text{NO}_3)_2$ z odpowiednimi SAR (LiTCNQ lub $(\text{Et}_3\text{NH})(\text{TCNQ})_2$).

Kationy $[\text{Ni}(\text{terpy})_2]^{2+}$ znajdują się w strukturze kompleksu $[\text{Ni}(\text{terpy})_2](\text{TCNQ})_2$ na przemian z dimeryzowanymi anionorodnikami $(\text{TCNQ}_2)^{2-}$. Dwa anionorodniki $\text{TCNQ}^{\bullet-}$ są krystalograficznie niezależne – A i B. Każdy anionorodnik $(\text{TCNQ}^{\bullet-})_A$ oddziałuje z anionorodnikiem $(\text{TCNQ}^{\bullet-})_B$ według typu pierścień-nad-pierścieniem (Rys. 6).

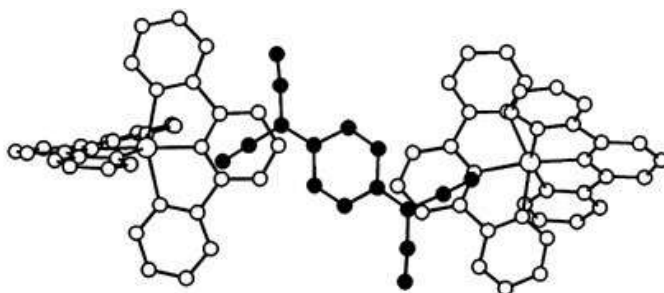
Odległości między płaszczyznami cząstek w dimerach wynoszą 3,28 Å. Struktura kompleksu $[\text{Cu}(\text{terpy})_2](\text{TCNQ})_2$ jest analogiczna, jednak w tym kompleksie występują dwa rodzaje dimerów: $(\text{TCNQ}_2)^{2-}_A$ (odległość między płaszczyznami wynosi 3,14 Å) i $(\text{TCNQ}_2)^{2-}_B$ (odległość między płaszczyznami – 3,19 Å). Dimery typu $(\text{TCNQ}_2)^{2-}_A$ są izolowane od kationów, podczas gdy dimery typu $(\text{TCNQ}_2)^{2-}_B$ oddziałują z kationami (Rys. 7).



Rysunek 6. Komórka elementarna $[\text{Ni}(\text{terpy})_2](\text{TCNQ})_2$. Atomy w $(\text{TCNQ})_A$ przedstawiają kulki białe, w $(\text{TCNQ})_B$ – czarne [23]

Figure 6. Unit cell contents for $[\text{Ni}(\text{terpy})_2](\text{TCNQ})_2$. Atoms in TCNQ_A are shown as white circles and in TCNQ_B as black circles [23]

<https://wol-prod-cdn.literatumonline.com/cms/attachment/037d4b31-0560-402a-8c21-f98c51ca5aa3/mfig002.jpg>

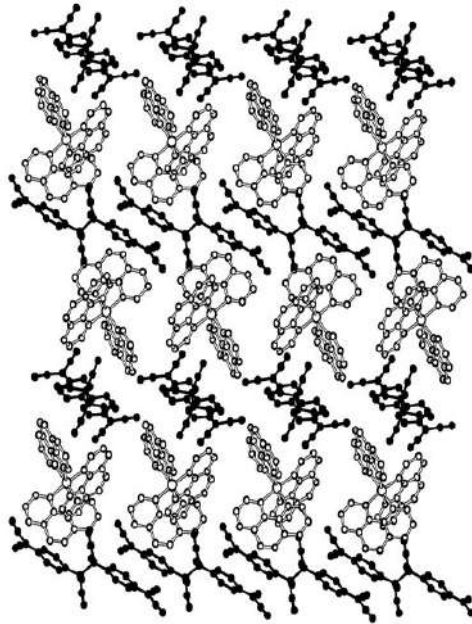


Rysunek 7. Nakrywanie się między $(\text{TCNQ})_B$ i ligandami *terpy* dwóch sąsiednich kationów $[\text{Cu}(\text{terpy})_2]^{2+}$ [23]

Figure 7. View of the overlap between TCNQ_B and the *terpy* ligands of two adjacent $[\text{Cu}(\text{terpy})_2]^{2+}$ cations [23]

<https://wol-prod-cdn.literatumonline.com/cms/attachment/d9c6cf42-2656-4709-b170-a44c7a21133d/mfig004.jpg>

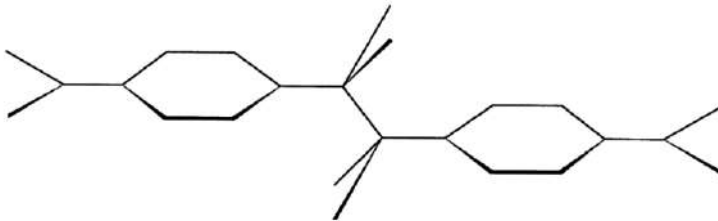
Struktura prostej SAR $[\text{Fe}(\text{phen})_3](\text{TCNQ})_2$ zawiera σ -dimery $[\text{TCNQ}-\text{TCNQ}]^{2-}$ (Rys. 8).



Rysunek 8. Widok naprzemiennych warstw kationów $[\text{Fe}(\text{phen})_3]^{2+}$ i anionów $[\text{TCNQ-TCNQ}]^{2-}$ w strukturze $[\text{Fe}(\text{phen})_3](\text{TCNQ})_2$ [23]

Figure 8. View of the alternating sheets of $[\text{Fe}(\text{phen})_3]^{2+}$ cations and $[\text{TCNQ-TCNQ}]^{2-}$ anions in the structure of $[\text{Fe}(\text{phen})_3](\text{TCNQ})_2$ [23]

<https://wol-prod-cdn.literatumonline.com/cms/attachment/18d856d5-135e-4c63-b542-79c0b8042c3a/mfig006.jpg>



σ -Dimery $[\text{TCNQ-TCNQ}]^{2-}$.

W większości SAR płaskie fragmenty *TCNQ* są ułożone w stosy, stąd ładunki elektryczne są zdelokalizowane wzdłuż stosów, a stosy charakteryzują się stosunkowo wysoką przewodnością elektryczną. Ponieważ w SAR $[\text{Ni}(\text{terpy})_2](\text{TCNQ})_2$, $[\text{Cu}(\text{terpy})_2](\text{TCNQ})_2$ i $[\text{Fe}(\text{phen})_3](\text{TCNQ})_2$ stosy nie występują, te SAR muszą być dielektrykami. Pomiary przewodności elektrycznej potwierdzają to przypuszczenie – wartość σ_{RT} SAR $[\text{Ni}(\text{terpy})_2](\text{TCNQ})_2$ jest mniejsza niż $10^{-10} \Omega^{-1} \text{cm}^{-1}$ [23]. Natomiast SAR o mieszanym składzie, zawierające $[\text{M}(\text{terpy})_2](\text{TCNQ})_3$ i $[\text{M}(\text{phen})_3](\text{TCNQ})_4$ z pewnością posiadają stosy *TCNQ* – dlatego w ich widmach podczerwieni zaobserwowano niskoenergetyczne

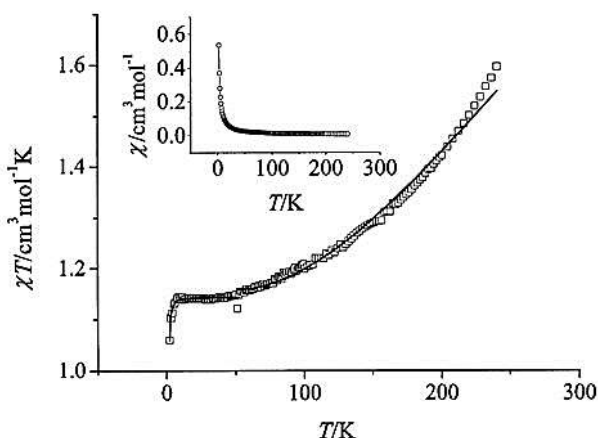
wzbudzenia charakterystyczne dla przewodzących SAR. Pomiarzy przewodności elektrycznej [23] potwierdzają dane widm podczerwieni (Tab. 1).

Tabela 1. Początek ciągłego wchłaniania Δ , wartości σ_{RT} oraz wartości energii aktywacji przewodności SAR [23]

Table 1. The beginning of continuous absorption Δ , σ_{RT} values and RAS conductivity activation energy [23]

SAR	Δ , cm^{-1}	σ_{RT} , $\Omega^{-1}\text{cm}^{-1}$	E_a , eV
$[\text{Ni}(\text{terpy})_2](\text{TCNQ})_2$	—	$1,1 \cdot 10^{-10}$	1,12
$[\text{Ni}(\text{terpy})_2](\text{TCNQ})_3$	3754	$1,9 \cdot 10^{-2}$	0,25
$[\text{Zn}(\text{terpy})_2](\text{TCNQ})_3$	4378	$3,6 \cdot 10^{-3}$	0,38
$[\text{Mn}(\text{phen})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot 2(\text{CH}_3\text{CN})$	4630	$1,8 \cdot 10^{-4}$	0,41

Kompleksy $[\text{Ni}(\text{terpy})_2](\text{TCNQ})_2$ i $[\text{Ni}(\text{terpy})_2](\text{TCNQ})_3$ mają właściwości paramagnetyczne (spełniają prawo Curie-Weissa) w temperaturach powyżej 25 K [23]. Natomiast SAR $[\text{Fe}(\text{phen})_3](\text{TCNQ})_4$ oraz $[\text{Ni}(\text{phen})_3](\text{TCNQ})_4$ mają właściwości antyferromagnetyczne (Rys. 9).



Rysunek 9. Zależność temperaturowa iloczynu χT SAR $[\text{Ni}(\text{phen})_3](\text{TCNQ})_4$; linia ciągła odpowiada dopasowaniu danych eksperymentalnych; wstawka pokazuje wykres zależności temperaturowej podatności magnetycznej tego kompleksu [23]

Figure 9. Plot of χT for RAS $[\text{Ni}(\text{phen})_3](\text{TCNQ})_4$ as a function of the temperature; the solid line corresponds to the fit of the experimental data; the inset shows the magnetic susceptibility plot of this compound [23]

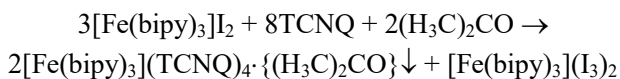
<https://wol-prod-cdn.literatumonline.com/cms/attachment/626e9aa0-96a0-4391-b7ed-3a6f386054d0/mfig012.jpg>

W tej SAR, kation $[\text{Fe}(\text{phen})_3]^{2+}$ ma zamkniętą powłokę elektronową, więc właściwości antyferromagnetyczne danej soli świadczą o oddziaływaniu antyferromagnetycznym w stosach TCNQ.

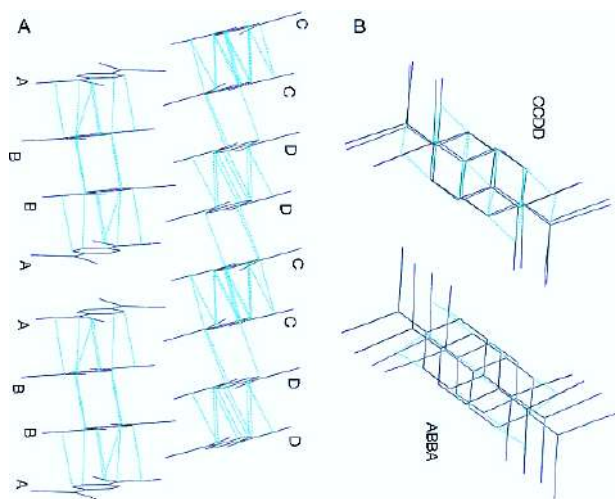
SAR TCNQ zawierające kationy $[\text{Fe}(\text{bipy})_3]^{2+}$ lub $[\text{Fe}(\text{phen})_3]^{2+}$, są szczególnie interesujące, biorąc pod uwagę możliwość wystąpienia izomerii spinowej: stany o niskim spinie ($^1A_{1g}, (t_{2g})^6$) i stany o wysokim spinie ($^5T_{2g}, (t_{2g})^4(e_g)^2$).

Jak podkreślono powyżej, SAR $[\text{Fe}(\text{phen})_3](\text{TCNQ})_2 \cdot 2(\text{CH}_3\text{OH})$ jest diamagnetykiem, ponieważ zawiera kationy o niskim spinie $[\text{Fe}(\text{phen})_3]^{2+}$ i σ -dimery diamagnetyczne $[\text{TCNQ}-\text{TCNQ}]^{2-}$; podczas gdy SAR $[\text{Fe}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_2$ ma właściwości paramagnetyczne ($S = 2$) [18].

W publikacji [24] opisano SAR $[\text{Fe}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot \{(\text{H}_3\text{C})_2\text{CO}\}$, której synteza odbywa się zgodnie z reakcją:



Struktura krystaliczna tej SAR zawiera stosy dwóch typów, równoległe do siebie (Rys. 10).



Rysunek 10. Struktura krystaliczna $[\text{Fe}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot \{(\text{H}_3\text{C})_2\text{CO}\}$ wzdłuż osi b (a) i osi a (b) [24]

Figure 10. Crystal structure of RAS $[\text{Fe}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot \{(\text{H}_3\text{C})_2\text{CO}\}$; (view along b -axis (a) and along a -axis (b)) [24]

<https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S0379677912002354-gr1.jpg>

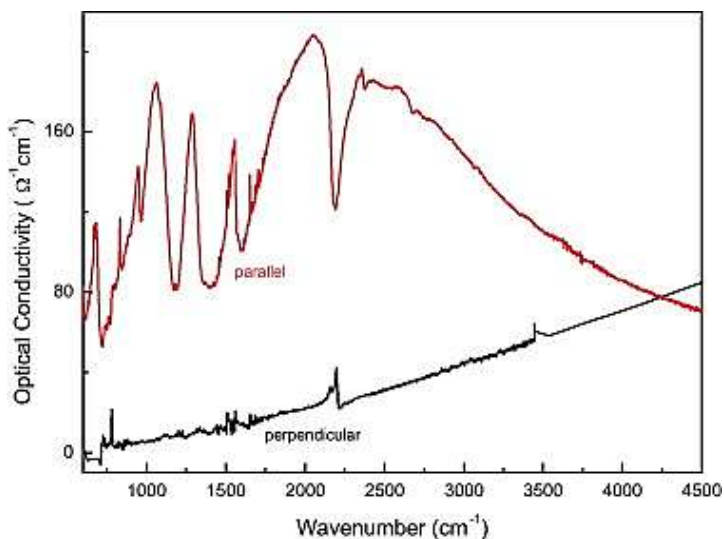
Jak widać na rys. 10, w strukturze tej SAR istnieją cztery typy krystalograficznie nierównoważnych cząsteczek TCNQ. Cząsteczki typów A , B , C i D różnią się nie tylko krystalograficznie, ale mają również różne długości wiązań wewnętrznych. Stosy typu pierwszego zawierają tetramery ... ABBA ...

ABBA Stosy typu drugiego zawierają dimery ... CC ... DD ... CC ... DD Odległości między płaszczyznami w dimerach CC wynoszą 3,296 i 3,304 Å; w dimerach DD są one nieco większe: 3,323 and 3,335 Å. Pomiędzy tymi dimerami występuje również efekt interakcji 3,368 i 3,377 Å.

Widma w podczerwieni potwierdzają wysoką przewodność elektryczną $[\text{Fe}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot \{(\text{H}_3\text{C})_2\text{CO}\}$. Widma przewodnictwa optycznego wykazują znaczną anizotropowość (Rys. 11). Pomiary oporu właściwego SAR $[\text{Fe}(\text{bpy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot \{(\text{H}_3\text{C})_2\text{CO}\}$, wykonane na prasowanych próbkach [25], potwierdzają wyniki badań optycznych – wartość $\sigma_{\text{RT}} = 0,13 \Omega^{-1}\text{cm}^{-1}$. Zależność temperaturowa przewodności elektrycznej podporządkuje się modelowi aktywacyjnemu:

$$\sigma/\sigma_{\text{RT}} = \sigma_0 \cdot \exp(-E_a/2RT).$$

Wartość E_a wynosi 0.16 eV.



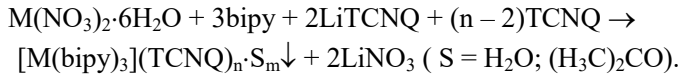
Rysunek 11. Widmo przewodności optycznej SAR $[\text{Fe}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot \{(\text{H}_3\text{C})_2\text{CO}\}$, otrzymanej z analizy Kramersa–Kroniga danych widm odbicia w kierunkach równoległym i prostopadłym do stosów TCNQ [24]

Figure 11. Optical conductivity spectrum of RAS $[\text{Fe}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot \{(\text{H}_3\text{C})_2\text{CO}\}$ obtained by the Kramers–Kronig analysis of the reflection data recorded for the direction parallel and perpendicular to the TCNQ stacks [24]

<https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S0379677912002354-gr4.jpg>

Jak wynika z rys. 11, przewodność optyczna w kierunku prostopadłym do stosów jest bardzo mała i nie zawiera mód oscylacyjnych; natomiast w kierunku równoległym do stosów można zauważyć przejście z przenoszeniem ładunku i szerokie linie pełnosymetrycznych mód (A_g) cząsteczek TCNQ.

SAR $[M(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_n \cdot S_m$ ($M^{2+} = \text{Zn}^{2+}, \text{Ni}^{2+}$; $n = 2, 4$; S – rozpuszczalnik) zsyntetyzowane były zgodnie z reakcją [26]:



Sole $[M(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot \{(\text{H}_3\text{C})_2\text{CO}\}$ ($M^{2+} = \text{Fe}^{2+}, \text{Ni}^{2+}, \text{Zn}^{2+}$) są izostrukuralne, przy czym ostatnie dwie są bardziej przewodzące (tabela 2).

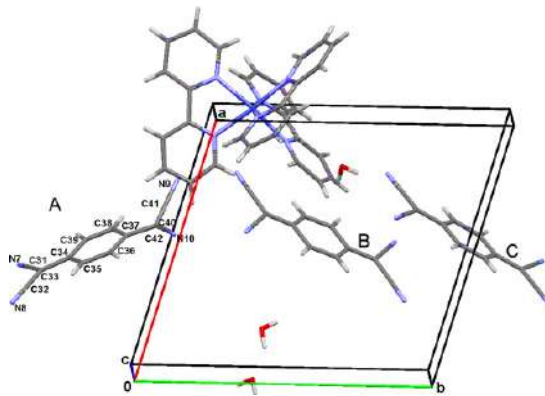
Tabela 2. Właściwości elektro-fizyczne SAR $[M(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot \{(\text{H}_3\text{C})_2\text{CO}\}$ [25]

Table 2. RAS $[M(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot \{(\text{H}_3\text{C})_2\text{CO}\}$ electro-physical properties [25]

M	Fe	Ni	Zn
$\sigma_{\text{RT}}, \text{om}^{-1}\text{cm}^{-1}$	0,13	43,5	40
E_a, eV	0,16	0,102	0,38

Początek nieprzerwanej absorpcji można obserwować w widmie w podczerwieni SAR $[\text{Ni}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot \{(\text{H}_3\text{C})_2\text{CO}\}$ już od zaledwie 500 cm^{-1} . Odpowiada to szerokości pasma zabronionego około $0,06 \text{ eV}$. Wyższą wartość ($0,102 \text{ eV}$) uzyskaną z pomiarów elektrofizycznych można wytłumaczyć jakością kontaktów i jakością próbki. Ponieważ dane optyczne są wolne od tych wad, wartość $E_a = 0,06 \text{ eV}$ należy uznać za bardziej wiarygodną.

Trzy typy anion-rodników TCNQ zaobserwowano w SAR $[\text{Zn}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (Rys. 12).



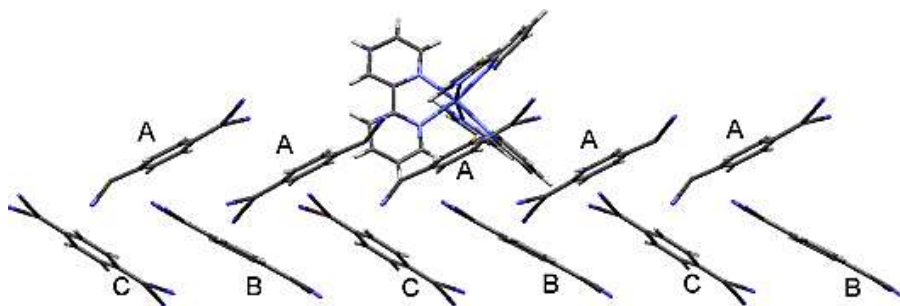
Rysunek 12. Asymetryczna część komórki elementarnej $[\text{Zn}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ oraz schemat numeracji cząsteczki TCNQ_A [26]

Figure 12. Contents of asymmetric part of unit cell in RAS $[\text{Zn}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, and numbering scheme for A-type molecule of TCNQ [26]

<https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S0379677914000757-gr1.jpg>

Anionorodniki $\text{TCNQ}^{\bullet-}$ tworzą σ -dimery $(\text{TCNQ}-\text{TCNQ})^{2-}$ o niezwykle długim wiązaniu kowalencyjnym – 2,434 Å. Jest to wartość pośrednia między sumą promieni Van der Waalsa (3,42 Å) a długością wiązania C–C w alkanach (1,54 Å). Po raz pierwszy znaleziono niezwykle długie wiązanie C–C w SAR (NEP)(TCNQ) (*NEP* – to kation N-etylofenazyniowy). W tej SAR są również σ -dimery $(\text{TCNQ}-\text{TCNQ})^{2-}$, jednak długość wiązania C–C jest znacznie mniejsza – 1,631 Å [27].

Utworzenie wiązań σ (z udziałem atomów C40 na rys. 12), odpowiada pewnej „piramidalizacji” atomu C40: atom ten odchyła się o 0,254 Å od płaszczyzny C37–C41–C42. Dimery $(\text{TCNQ}-\text{TCNQ})^{2-}$ tworzą stosy wzdłuż krystalograficznej osi [010] (Rys. 13). Anionorodniki typów B i C tworzą stosy wzdłuż krystalograficznej osi *b* (odległość między płaszczyznami wynosi 3,41 Å).

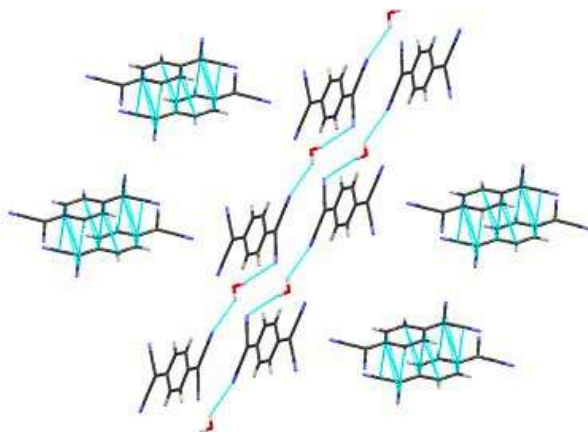


Rysunek 13. Upakowanie cząsteczek w strukturze $[\text{Zn}(\text{dipy})_3](\text{TCNQ})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ [26]

Figure 13. Packing of *TCNQ* molecules in a RAS $[\text{Zn}(\text{dipy})_3](\text{TCNQ})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ structure [26]

<https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S0379677914000757-gr2.jpg>

W 2014 r. syntetyzowano trzy SAR, zawierające kationy $[\text{M}(\text{phen})_3]^{2+}$: $[\text{Mn}(\text{phen})_3](\text{TCNQ})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $[\text{Fe}(\text{phen})_3](\text{TCNQ})_2 \cdot 2\text{CH}_3\text{OH}$ oraz $[\text{Co}(\text{phen})_3](\text{TCNQ})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ [28]. Cechą charakterystyczną struktury SAR $[\text{Mn}(\text{phen})_3](\text{TCNQ})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ jest brak stosów TCNQ, które występują w większości znanych SAR TCNQ. W strukturze tej SAR istnieją dwa rodzaje cząsteczek TCNQ – A i B. Anionorodniki typu A tworzą π -dimery (krótkie kontakty C–C między nimi są równe: 3,174, 3,173 i 3,158 Å). π -dimery są izolowane, a anionorodniki typu B są połączone w łańcuchy przez wiązania wodorowe z cząsteczkami wody (Rys. 14).



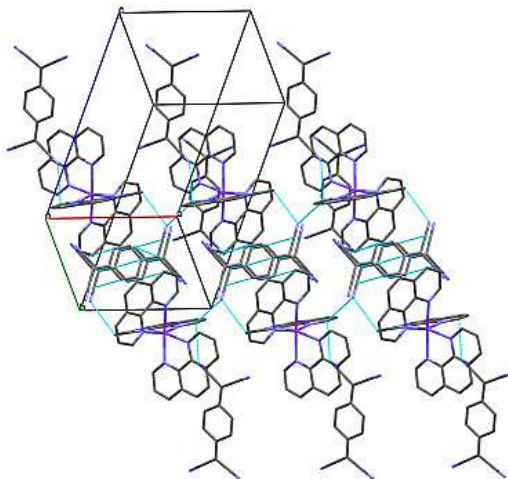
Rysunek 14. Podsić anionowa w SAR $[\text{Mn}(\text{phen})_3](\text{TCNQ})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ oraz wiązania wodorowe [28]

Figure 14. Anionic sublattice in RAS $[\text{Mn}(\text{phen})_3](\text{TCNQ})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ and hydrogen bonds [28]

<https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S0379677913006085-gr1.jpg>

Cechą charakterystyczną tych łańcuchów jest ich przeciw-równoległość oraz brak krótkich kontaktów między nimi.

Kationy $[\text{Mn}(\text{phen})_3]^{2+}$ są połączone krótkimi wiązaniami z atomami azotu cząsteczki TCNQ (Rys. 15).



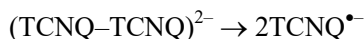
Rysunek 15. Kontakty między-molekularne w strukturze $[\text{Mn}(\text{phen})_3](\text{TCNQ})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ [28]

Figure 15. Intermolecular short contacts in $[\text{Mn}(\text{phen})_3](\text{TCNQ})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ [28]

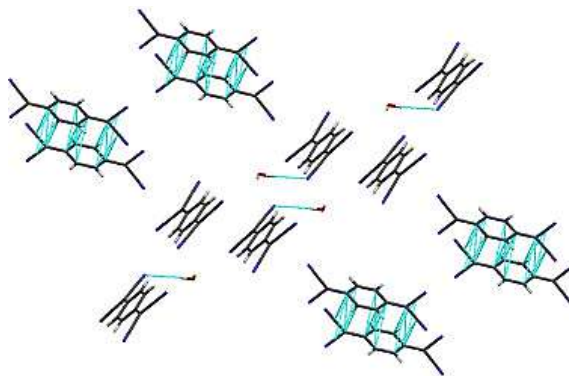
<https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S0379677913006085-gr2.jpg>

Oprócz tego kationy mają krótkie wiązania z anionorodnikami typu B (kontakt C – N wynosi 3,157 Å). W rezultacie dimery AA i łańcuchy BBB... są połączone ze sobą za pomocą kationów $[\text{Mn}(\text{phen})_3]^{2+}$.

Struktura SAR $[\text{Fe}(\text{phen})_3](\text{TCNQ})_2 \cdot 2\text{CH}_3\text{OH}$ jest podobna do struktur tych SAR, które nie zawierają rozpuszczalnika [23]. Długość wiązania C–C w dimerze $(\text{TCNQ}^--\text{TCNQ})^{2-}$ wynosi 1,629 Å. Wynika z tego, że spin tych dimerów jest równy 0, lecz jest to poprawne tylko w temperaturach helowych – wraz ze wzrostem temperatury wzrasta intensywność sygnału EPR. Odpowiada to dysocjacji termicznej dimerów [28]:



Struktura krystaliczna SAR $[\text{Co}(\text{phen})_3](\text{TCNQ})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ również nie zawiera stosów anionorodników. Jej struktura jest podobna do struktury SAR $[\text{Mn}(\text{phen})_3](\text{TCNQ})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ [28]. W strukturze SAR można rozpoznać anionorodniki $\text{TCNQ}^{\bullet-}$ dwóch typów – A i B. Anionorodniki typu A tworzą π -dimery o krótkich odległościach C–C: 3,136, 3,146 i 3,161 Å. Natomiast anionorodniki typu B tworzą jedynie wiązanie wodorowe z cząsteczką wody (Rys. 16).



Rysunek 16. Podsić anionowa w $[\text{Co}(\text{phen})_3](\text{TCNQ})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ oraz wiązania [28]

Figure 16. Anionic sublattice in $[\text{Co}(\text{phen})_3](\text{TCNQ})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ and hydrogen bonds [28]

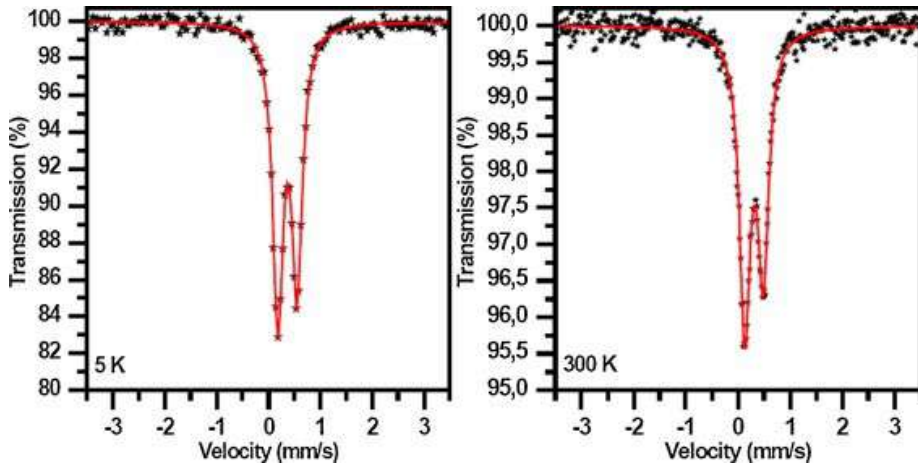
<https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S0379677913006085-gr4.jpg>

Podobnie jak w przypadku $[\text{Mn}(\text{phen})_3](\text{TCNQ})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, kationy $[\text{Co}(\text{phen})_3]^{2+}$ tworzą strukturę supramolekularną ze względu na skrócone kontakty z dimerami $(\text{A}-\text{A})^{2-}$ i anionorodnikami typu B.

W publikacji [29] przedstawiono wyniki badań magnetycznych tej SAR. Jak wynika z jej struktury, istnieją cztery typy anionorodników – A, B, C i D, które tworzą stosy wzdłuż krystalograficznej osi *a*. Stosy typu pierwszego zawierają tetramery ABBA o odległościach między płaszczyznami, odpowiednio: A–B – 3,219, B–B – 3,319, A–A – 3,534 Å. Wynika z tego, że spin tetramerów jest równy

zeru z powodu niestabilności Peierlsa, która występuje już w temperaturze pokojowej (SAR, zgodnie z publikacją [23], zsyntezowano w temperaturze pokojowej). Stosy typu drugiego zawierają dimery dwóch typów – C–C i D–D, odległości między płaszczyznami wynoszą, odpowiednio: C–C – 3,199, D–D – 3,251, C–D – 3,366 Å. Tetramery ABBA razem z kationami $[\text{Fe}(\text{bipy})_3]^{2+}$ tworzą strukturę typu drabiny spinowej wzdłuż osi c , dlatego istnieje możliwość pośredniej wymiany antyferromagnetycznej między stosami.

Pomiary widm Mössbauera [29] pokazują, że właściwości magnetyczne SAR $[\text{Fe}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot \{(\text{H}_3\text{C})_2\text{CO}\}$ są określone wyłącznie przez anionorodniki. Wartości przesunięcia izomerycznego δ i rozszczepienia kwadrupolowego ΔE_Q tej SAR prawie nie zależą od temperatury (Rys. 17, Tab. 3). Jest to charakterystyczne dla niskospinowych kompleksów Fe^{II} – udziały w ΔE_Q mają jedynie asymetria wewnętrznych poziomów elektronów i asymetria otoczenia. Zatem w całym zakresie temperatur (300–5 K) występuje kation diamagnetyczny, a właściwości magnetyczne są określane tylko przez anionorodniki.



Rysunek 17. Widma Mössbauera SAR $[\text{Fe}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot \{(\text{H}_3\text{C})_2\text{CO}\}$ w temperaturach 5 i 300 K [24]

Figure 17. Mössbauer spectra at 5 and 300 K $[\text{Fe}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot \{(\text{H}_3\text{C})_2\text{CO}\}$ [24]

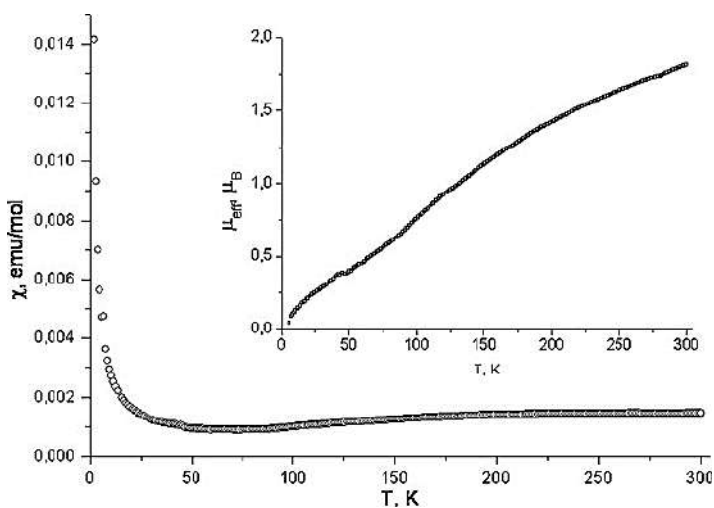
<https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S037967791400143X-gr3.jpg>

Tabela 3. Parametry Mössbauerowskie – przesunięcie izomeryczne δ , rozszczepienie kwadrupolowe ΔE_Q oraz szerokość linii Γ SAR $[\text{Fe}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot \{(\text{H}_3\text{C})_2\text{CO}\}$ w temperaturach 5 i 300 K [29]

Table 3. Mössbauer parameters – isomeric shift δ , quadrupole cleavage ΔE_Q and line width Γ RAS $[\text{Fe}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot \{(\text{H}_3\text{C})_2\text{CO}\}$ at temperatures 5 and 300 K [29]

Parametry			
T, K	$\delta \pm 0,01$ mm/s	$\Delta E_Q \pm 0,01$ mm/s	$\Gamma \pm 0,01$ mm/s
5	0,28	0,37	0,24
300	0,22	0,36	0,26

Można założyć, że połowa anionorodników znajduje się w stanie tetramerów diamagnetycznych, więc wkład w podatność magnetyczną dają tylko anionorodniki w dimeryzowanych stosach. Zatem moment magnetyczny musi odpowiadać obecności jednego elektronu na cząsteczkę. Rzeczywiście, moment magnetyczny SAR $[\text{Fe}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot \{(\text{H}_3\text{C})_2\text{CO}\}$ maleje monotonicznie, zbliżając się do zera w temperaturach helowych (Rys. 18).



Rysunek 18. Zależność temperaturowa podatności magnetycznej SAR $[\text{Fe}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot \{(\text{H}_3\text{C})_2\text{CO}\}$ w polu 100 mT. Wstawiony wykres dotyczy zależności efektywnego momentu magnetycznego od temperatury, która wynika z odjęcia prawa Curie od zmierzonej wartości χ [29]

Figure 18. Magnetic susceptibility temperature dependence in field 100 mT RAS $[\text{Fe}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot \{(\text{H}_3\text{C})_2\text{CO}\}$. Inserted plot relates to effective magnetic moment temperature dependence, that follows from subtracting Curie law from the measured χ value [29]

<https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S037967791400143X-gr4.jpg>

Zależność temperaturową podatności magnetycznej dobrze opisuje (współczynnik korelacji wynosi 0,98) wzór:

$$\chi(t) = \frac{C}{T} + \frac{A}{T} \exp\left(-\frac{B}{T}\right).$$

gdzie: C – to stała Curie, A – parametr modelu, B – szczelina spinowa, która zależy od pola magnetycznego. Wartość stałej Curie wynosi 0,025 emu·K/mol; odpowiada to 0,096 spinu na molekułę. Parametr B (czyli szczelina spinowa) wynosi 243 K w polu 100 mT i 286 K – w polu 1T. Redukcja momentu magnetycznego odpowiada tetrameryzacji stosów typu drugiego: dimery C–C i D–D o spinie $\frac{1}{2}$ łączą się w tetramery bezspinowe CCDD. Zgodnie z tymi danymi, widma EPR w temperaturze 300 K zawierają intensywny singlet; w temperaturze 6 K obserwo-

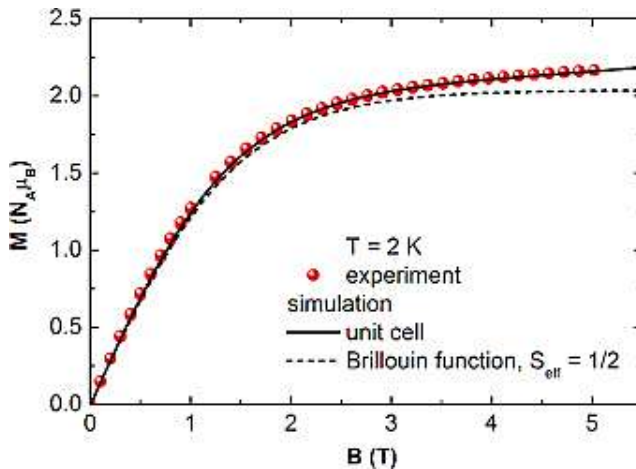
wana jest ta sama linia, ale o znacznie mniejszej intensywności; współczynnik g w obu przypadkach jest ten sam i wynosi 2 [29].

Warto zauważyć, że przyczyną zachowania antyferromagnetycznego jest niestabilność spinowo-peierlowska, a nie pośrednia wymiana między stosami.

Wpływ oddziaływań supramolekularnych znaleziono w SAR $[\text{Mn}(\text{phen})_3](\text{TCNQ})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ i $[\text{Co}(\text{phen})_3](\text{TCNQ})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ [29]. Jak widać na rys. 14-16, w kryształach tych SAR istnieją kontakty ponad-cząsteczkowe, w tym wiązania wodorowe między anionorodnikami $\text{TCNQ}^{\bullet -}$.

Moment magnetyczny SAR $[\text{Mn}(\text{phen})_3](\text{TCNQ})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ zmniejsza się od wartości $\mu_{\text{eff}} = 6,4 \mu_B$ w temperaturze 300 K do $\mu_{\text{eff}} = 6,19 \mu_B$ przy 1,8 K. Pięciu elektronom niesparowanym jonu Mn^{2+} odpowiada moment magnetyczny $5,91 \mu_B$. Dlatego redukcji momentu magnetycznego w zakresie 300 – 1,8 K odpowiada dimeryzacja anionorodników typu B wskutek pośredniej wymiany magnetycznej z wykorzystaniem wiązań wodorowych i oddziaływań supramolekularnych z kationami.

Właściwości magnetyczne SAR $[\text{Co}(\text{phen})_3](\text{TCNQ})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ są podobne, jednak zależność temperaturowa momentu magnetycznego jest silniejsza: $\mu_{300} = 5,1 \mu_B$, $\mu_{1,8} = 3,65 \mu_B$ (Rys. 19).



Rysunek 19. Zależność temperaturowa iloczynu $\chi_M \cdot T$ SAR $[\text{Co}(\text{phen})_3](\text{TCNQ})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ [30]

Figure 19. Temperature dependence of $\chi_M \cdot T$ RAS $[\text{Co}(\text{phen})_3](\text{TCNQ})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ values [30]

<https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S0022369716305911-gr7.jpg>

Biorąc pod uwagę podobieństwo struktur tych SAR, można również oczekiwać podobieństwa ich właściwości magnetycznych. Jedyną różnicą polega na znacznym rozszczepieniu w polu zerowym (ZFS): dla jonów Mn^{2+} jest ono bardzo małe, podczas gdy dla jonów Co^{2+} może osiągnąć 100 K.

Do analizy wkładu różnych oddziaływań magnetycznych zastosowano Hamiltonian, który uwzględnia silne oddziaływania między cząsteczkami typu A – J_{AA} ; oddziaływania wymienne między molekułami typów A i B – J_{AB} z udziałem wiązań wodorowych, a także oddziaływania pośrednie między jonami metali (Mn^{2+} lub Co^{2+}) z molekułami TCNQ – J_{M-TCNQ} . To ostatnie oddziaływanie między jonami metali a cząsteczkami TCNQ odbywa się poprzez skoordynowane cząsteczki phen i musi być bardzo słabe. Wynika z tego, że wpływ tych interakcji może wystąpić tylko w niskich temperaturach. Do obliczeń wykorzystano następujący Hamiltonian:

$$\hat{H} = J_{AA}s_{A1}s_{A2} + J_{AB}(s_{A1}s_{B1} + s_{A2}s_{B2}) + J_{M-TCNQ}(s_{A1}s_{M1} + s_{A2}s_{M2} + s_{B1}s_{M1} + s_{B2}s_{M2}) + D[(S_{M1}^z)^2 + (S_{M2}^z)^2].$$

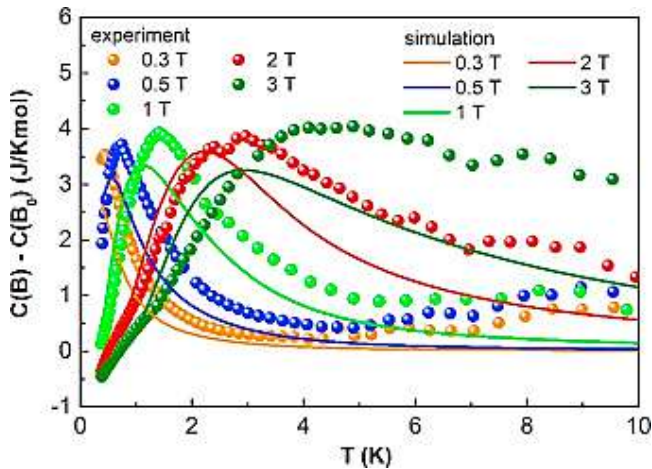
gdzie: s – operator spinowy TCNQ ($s = 1/2$), S – operator spinowy jonu metalu ($S = 3/2$ lub $5/2$); D – parametr osiowy ZFS jonu metalu. Obliczenia przeprowadzono w celu uzyskania najlepszej symulacji danych eksperymentu, zarówno dla danych magnetycznych, jak i magnetycznego ciepła właściwego. Uzyskane wyniki pokazano w Tab. 4.

Tabela 4. Parametry najlepszej symulacji danych magnetycznych i termodynamicznych SAR $[Mn(phen)_3](TCNQ)_2 \cdot H_2O$ i $[Co(phen)_3](TCNQ)_2 \cdot H_2O$ [30]

Table 4. Parameters of the best simulation of magnetic and thermodynamic data RAS $[Mn(phen)_3](TCNQ)_2 \cdot H_2O$ and $[Co(phen)_3](TCNQ)_2 \cdot H_2O$ [30]

RAS	D/k_B , jonu metalu	współczynnik g	J_{AA}/k_B [K]	J_{BB}/k_B [K]	J_{m-TCNQ}/k_B [K]
$[Mn(phen)_3](TCNQ)_2 \cdot H_2O$	-0,06	2,03	155	34	1,3
$[Co(phen)_3](TCNQ)_2 \cdot H_2O$	150	$g_x = 2,37$ $g_y = 2,37$ $g_z = 2,74$	145	45	1,5

Jak wynika z tabeli 4, w SAR $[Mn(phen)_3](TCNQ)_2 \cdot H_2O$ i $[Co(phen)_3](TCNQ)_2 \cdot H_2O$ dominują interakcje antyferromagnetyczne w dimerze A – A; znaczące interakcje z udziałem wiązań wodorowych. Natomiast interakcje za pośrednictwem skoordynowanych cząsteczek phen można zaobserwować tylko w niskich temperaturach (poniżej 4 K). Rzeczywiście, w badaniach magnetycznego ciepła właściwego w zakresie temperatur 25 – 0,4 K występują pewne anomalie w temperaturach niskich: magnetyczne ciepło właściwe zmniejsza się w sposób monotoniczny, ale w temperaturach poniżej 1 K jest obserwowany wzrost ciepła właściwego, które osiąga maksimum. Temperatura tego maksimum (maksimum typu Schottky'ego) zależy od pola magnetycznego – wraz ze wzrostem pola maksimum to rozszerza się i przesuwa do wyższych temperatur (Rys. 20).

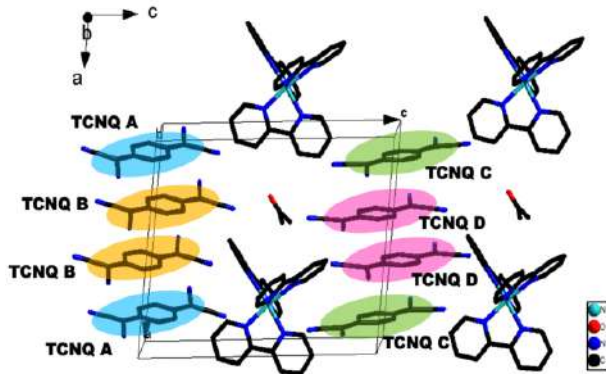


Rysunek 20. Porównanie zależności temperaturowych ciepła właściwego różnicowego SAR $[\text{Co}(\text{phen})_3](\text{TCNQ})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ z symulacjami teoretycznymi przy różnych polach magnetycznych [30]

Figure 20. The comparison of temperature dependences of differential specific heat of RAS $[\text{Co}(\text{phen})_3](\text{TCNQ})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ with theoretical simulations at different magnetic fields [30]

<https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S0022369716305911-gr8.jpg>

Warto zauważyć, że podobne anomalie niskotemperaturowe stwierdzono również w SAR $[\text{Ni}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot (\text{H}_3\text{C})_2\text{CO}$ [31], w której, jak ustalono w publikacji [26], nie ma kontaktów kationów $[\text{Ni}(\text{bipy})_3]^{2+}$ z anionorodnikami anionowymi. Mianowicie, w tej SAR istnieją dwa typy stosów, zbudowane odpowiednio z anionorodników A, B i C, D (Rys. 21).



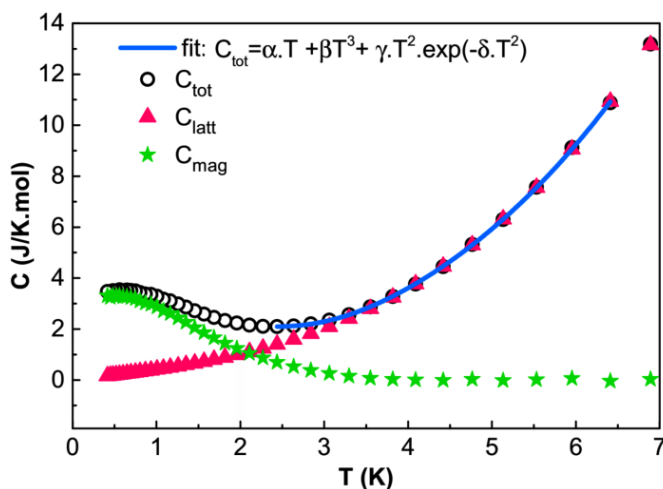
Rysunek 21. Struktura krystaliczna SAR $[\text{Ni}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot (\text{H}_3\text{C})_2\text{CO}$ [30]. Przedstawiono też notację TCNQ^* typów A, B, C i D [26]

Figure 3. The crystal structure of RAS $[\text{Ni}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot (\text{H}_3\text{C})_2\text{CO}$ [30]. The text describes the TCNQ^* notation of A, B, C, and D [26]

https://www.researchgate.net/profile/Erik_Cizmar/publication/316815475/figure/fig1/AS:493063584915456@1494566927565/The-crystal-structure-of-Nibipy3TCNQ4CH32CO-7-The-text-describes-the-TCNQ.png

Zależność temperaturowa ciepła właściwego SAR $[\text{Ni}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot (\text{H}_3\text{C})_2\text{CO}$ w zakresie 2,5 – 6,5 K jest dobrze dopasowana do wzoru (Rys. 22):

$$C_{\text{tot.}} = C_{\text{latt.}} + C_{\text{magn.}} = (\alpha \cdot T + \beta \cdot T^3) + (\gamma \cdot T^2 \cdot \exp(-\delta \cdot T^2)).$$

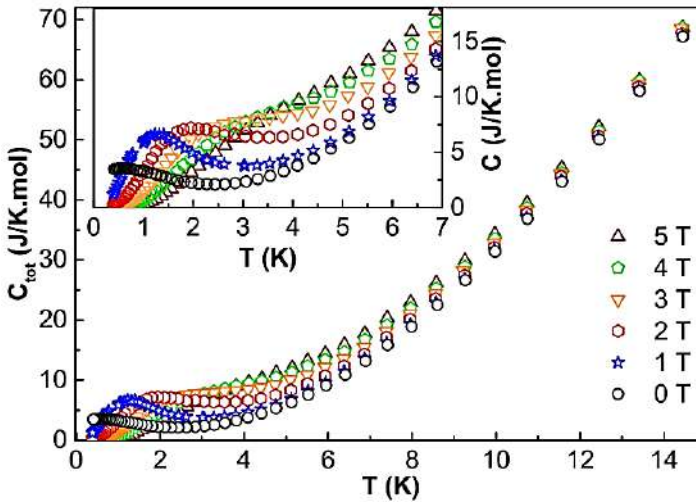


Rysunek 22. Zależność temperaturowa całkowitego ciepła właściwego (czarne okręgi), szacowanego ciepła właściwego podsystemu sieci (różowe trójkąty) i ciepła właściwego podsystemu magnetycznego (zielone gwiazdki) z $[\text{Ni}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot (\text{H}_3\text{C})_2\text{CO}$ w zerowym polu magnetycznym. Linia reprezentuje dopasowanie do danych eksperymentalnych [31]

Figure 22. The temperature dependence of total specific heat (black circles), estimated specific heat of lattice subsystem (pink triangles), and specific heat of magnetic subsystem (green asterisks) of $[\text{Ni}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot (\text{H}_3\text{C})_2\text{CO}$ in zero magnetic field. The line represents the fit to the experimental data [31]

https://www.researchgate.net/profile/Erik_Cizmar/publication/316815475/figure/fig3/AS:493063584915459@1494566927892/The-temperature-dependence-of-total-specific-heat-black-dots-estimated-specific-heat.png

Jak widać na rys. 23, w temperaturach poniżej 2 K obserwuje się maksimum, które wraz ze wzrostem pola magnetycznego przesuwa się do wyższych temperatur. W polu zerowym maksimum przekracza granice możliwości urządzenia (wykracza poza zakres pomiaru), dlatego entropia magnetyczna, która wynosi 8,9 J/(mol·K), jest obliczana w polu 2 T. Wartość ta bardzo dobrze pokrywa się z teoretyczną entropią magnetyczną układu spinowego $S = 1$, $S_{\text{theor.}} = R \cdot \ln(2S + 1) = 9,1$ J/(mol·K). Wskazuje to, że tylko jony Ni^{2+} przyczyniają się do ciepła właściwego w niskiej temperaturze, więc anionorodnikowy udział we właściwościach magnetycznych może wystąpić tylko w wyższych temperaturach. Wynika z tego również, że oddziaływania magnetyczne w stosach TCNQ są silne.



Rysunek 23. Zależność temperaturowa ciepła właściwego $[\text{Ni}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot (\text{H}_3\text{C})_2\text{CO}$ w różnych polach magnetycznych. Wstawka: rozszerzony widok danych w niskich temperaturach [31]

Figure 23. The temperature dependence of the specific heat of $[\text{Ni}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot (\text{H}_3\text{C})_2\text{CO}$ in different magnetic fields. Inset: an expanded view of the data at low temperature [31]

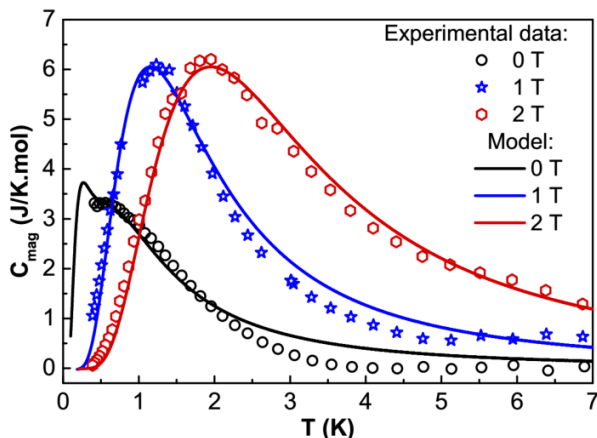
https://www.researchgate.net/profile/Erik_Cizmar/publication/316815475/figure/fig2/AS:493063584915457@1494566927801/The-temperature-dependence-of-the-specific-heat-of-Nibipy3TCNQ4CH32CO-in.png

Zależność temperaturowa ciepła właściwego w zerowym polu magnetycznym daje możliwość obliczenia parametru anizotropii jednojonowej (single-ion anisotropy parameter) $D/k_B = -1,95$ oraz wartość $E/k_B = 0,3$ K zgodnie z [32]. Parametry rozszczepienia w polu zerowym w formalizmie hamiltonianu spinowego to:

$$D = (\lambda/2)[g_z - (g_x + g_y)/2];$$

$$E = (\lambda/4)(g_x - g_y).$$

Znak ujemny parametru anizotropii pojedynczego jonu D jest zgodny z korelacjami magneto-strukturalnymi [33]. Aby opisać ewolucję w polu magnetycznym szerokiego maksimum w magnetycznym ciepłe właściwym, musi być wzięta pod uwagę wzajemna orientacja wektora pola magnetycznego i osi łatwiejszego namagnesowania. Dlatego kierunek pola magnetycznego, zgodny z korelacjami magnetostrukturalnymi, został odchyłony o 27° od prostej osi anizotropii. Doskonałą zgodność z danymi eksperymentalnymi w obszarze niskiego pola do 2 T uzyskano przy użyciu tego samego zestawu parametrów anizotropii jednojonowej, jaki zastosowano do opisu danych w polu zerowym (Rys. 24).



Rysunek 24. Zależność temperaturowa magnetycznego ciepła właściwego $[\text{Ni}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot (\text{H}_3\text{C})_2\text{CO}$ w polach do 2 T, skierowanych równoległe do krystalograficznej osi c [31]

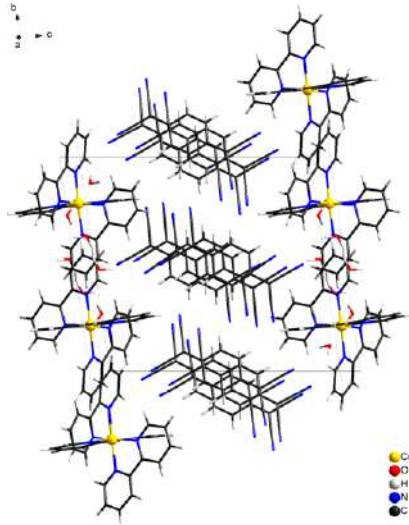
Figure 24. Temperature dependence of magnetic specific heat of $[\text{Ni}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot (\text{H}_3\text{C})_2\text{CO}$ in fields up to 2 T applied parallel to the crystallographic c -axis [31]

https://www.researchgate.net/profile/Erik_Cizmar/publication/316815475/figure/fig4/AS:493063584915460@1494566927935/Temperature-dependence-of-magnetic-specific-heat-of-Nibipy3TCNQ4CH32CO-in-fields.png

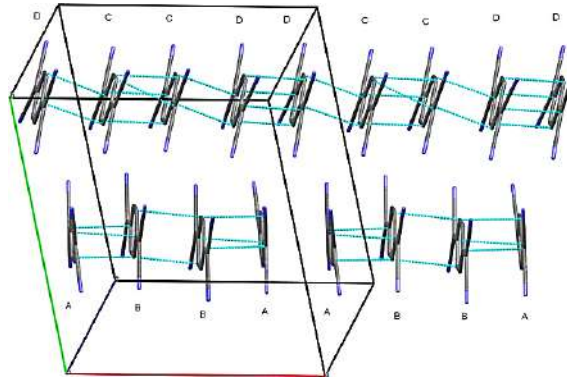
W publikacji [32] opisano SAR o składzie złożonym z: $[\text{Zn}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $[\text{Co}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, oraz $[\text{Ni}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot (\text{H}_3\text{C})_2\text{CO}$, przy czym pierwsze dwie sole są solami izostrukuralnymi. Daje to możliwość obliczenia udziału anionorodników TCNQ w momencie magnetycznym, ponieważ w przypadku SAR $[\text{Zn}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ właściwości magnetyczne mają wyłącznie anionorodniki, ale w przypadku $[\text{Co}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ istnieją sumy dwóch wkładów: anionorodników i jonów Co^{2+} .

Jak widać na rys. 25, strukturę SAR $[\text{Co}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ tworzą dwa typy stosów anionorodników: pierwsze z nich zawierają tetramery AABB, drugie zaś zawierają dimery CC i DD. Odległości między płaszczyznami wynoszą, odpowiednio: A–A – 3,49; A–B – 3,32; B–B – 3,35 Å, a w dimerach: C–C – 3,25; D–D – 3,30; C–D – 3,42 Å.

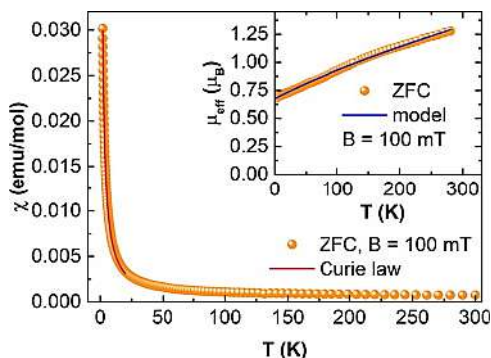
Moment magnetyczny SAR $[\text{Zn}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ zmniejsza się w zakresie temperatur 300 – 1,8 K (Rys. 27). Wartość μ_{eff} wynosi 1,22 μ_B w temperaturze pokojowej. Oczekiwana wartość, odpowiadająca jednemu spinowi na cząsteczkę, wynosi 1,73 μ_B , więc w stosach TCNQ występuje silna interakcja antyferromagnetyczna między dimerami CC i DD. W rezultacie tetrametry o zerowym spinie muszą zostać utworzone w niskich temperaturach.



Rysunek 25. Motyw strukturalny $[\text{Co}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ oglądany wzdłuż osi a [32]
 Figure 25. Structural motif of $[\text{Co}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ viewed along a axis [32]
<https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S0020169317309775-gr1.jpg>



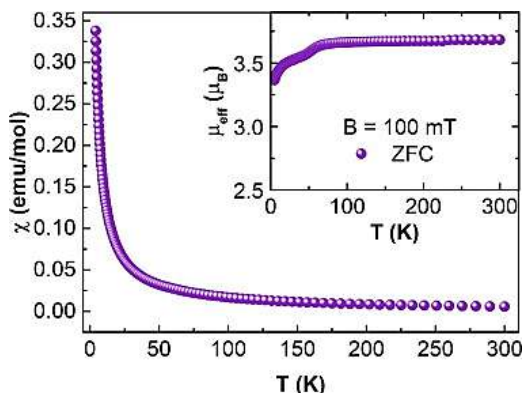
Rysunek 26. Tendencja do tetrameryzacji (ABBA) i dimeryzacji (CC i DD) stosów TCNQ w $[\text{Co}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ [32]. Atomy wodoru są pominięte dla zachowania przejrzystości
 Figure 26. The tendency for tetramerization (ABBA) and dimerization (CC and DD) of TCNQ stacks in $[\text{Co}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Hydrogen atoms are omitted for clarity [32]
<https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S0020169317309775-gr4.jpg>



Rysunek 27. Podatność magnetyczna w niskich polach dla $[\text{Zn}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ wykreślona w funkcji temperatury (symbole). Linia ciągła reprezentuje prawo Curie. Wstawka: Zależność efektywnego momentu magnetycznego od temperatury [32]

Figure 27. The low-field magnetic susceptibility of $[\text{Zn}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ plotted as a function of temperature (symbols). The solid line represents Curie law. Inset: The temperature dependence of effective magnetic moment [32]

<https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S0020169317309775-gr5.jpg>



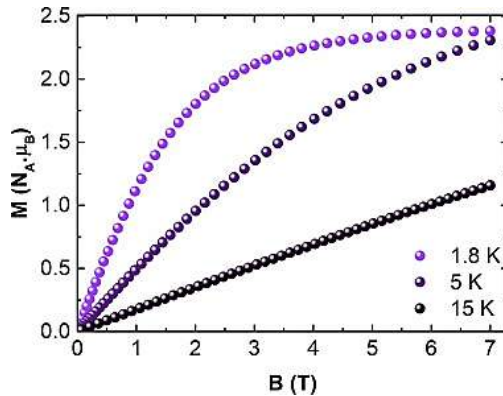
Rysunek 28. Podatność magnetyczna $[\text{Co}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ w niskich polach wykreślona w funkcji temperatury. Wstawka: Zależność temperaturowa iloczynu χT [32]

Figure 28. The low-field magnetic susceptibility of $[\text{Co}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ plotted as a function of temperature. Inset: The temperature dependence of χT product [32]

<https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S0020169317309775-gr12.jpg>

Jeśli chodzi o SAR $[\text{Co}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, jej właściwości magnetyczne są podobne do właściwości SAR opisanej powyżej (Rys. 28). Efektywny moment magnetyczny w temperaturze pokojowej wynosi $3,68 \mu_B$ i maleje bardzo wolno po obniżeniu temperatury, aby osiągnąć $3,36 \mu_B$ w temperaturze 4,5 K (Rys. 28). Biorąc pod uwagę SAR $[\text{Zn}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, która jest krystalograficznym analogiem SAR $[\text{Co}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, można również oczekiwać wkładu stosów TCNQ we właściwości magnetyczne.

Zależność połową namagnesowania zmierzono w zakresie 0 – 7 T w temperaturach 1,8 i 1,5 K (Rys. 29).



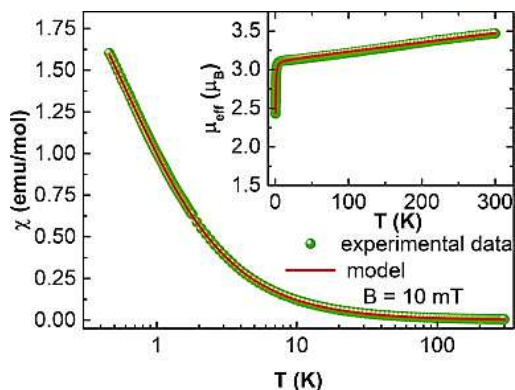
Rysunek 29. Zależność połowa izotermicznego namagnesowania $[\text{Co}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ w różnych temperaturach [32]

Figure 29. The field dependence of isothermal magnetization of $[\text{Co}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ at different temperatures [32]

<https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S0020169317309775-gr13.jpg>

Przy 1,8 K namagnesowanie nasycenia wynosi 2,38 $N_A \mu_B$. Ta wartość jest niezwykła, ponieważ dla jonów Co^{2+} w stanie wysokospinowym wartość ta powinna wynosić 3 $N_A \mu_B$, natomiast w stanie niskospinowym – 1 $N_A \mu_B$. Po wyeliminowaniu udziału stosów TCNQ (0,135 $N_A \mu_B$) występuje namagnesowanie nasycenia 2,245 $N_A \mu_B$. Dowodzi to, że między stanami o wysokim spinie 4T_1 i stanami o niskim spinie 2E istnieje równowaga spinowa. Możliwe jest również przyczynianie się wiązań wodorowych do oddziaływania wymiennego między jonami Co^{2+} a anionorodnikami TCNQ.

Moment magnetyczny SAR $[\text{Ni}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot (\text{H}_3\text{C})_2\text{CO}$, której strukturę przedstawiono na rys. 21, jest równy 3,47 μ_B w temperaturze pokojowej, natomiast 2,45 μ_B w temperaturze 0,46 K (Rys. 30).



Rysunek 30. Podatność magnetyczna $[\text{Ni}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot (\text{H}_3\text{C})_2\text{CO}$ jako funkcja temperatury w porównaniu z modelem teoretycznym opisanym w tekście (linia ciągła). Wstawka: zależność temperaturowa efektywnego momentu magnetycznego [32]

Figure 30. The magnetic susceptibility of $[\text{Ni}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4 \cdot (\text{H}_3\text{C})_2\text{CO}$ as a function of temperature in comparison with theoretical model described in the text (solid line). Inset: The temperature dependence of the effective magnetic moment [32]

<https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S0020169317309775-gr8.jpg>

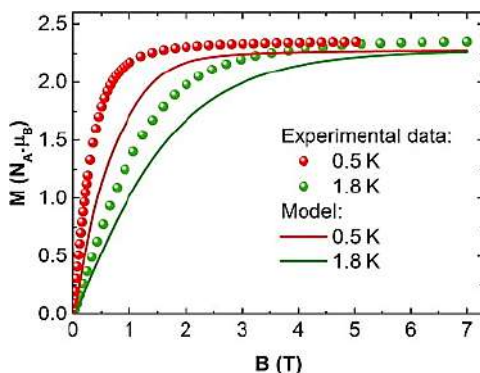
Jon Ni^{2+} w koordynacji pseudo-oktaedrycznej musi mieć spin $S = 1$. Odpowiada to momentowi magnetycznemu $\mu_{\text{eff}} = 2,83 \mu_B$. Dlatego można wysnuć wniosek, iż wartość eksperymentalna $3,47 \mu_B$ jest wynikiem udziału anionorodników $\text{TCNQ}^{\bullet-}$, a zależność temperaturowa momentu efektywnego jest wynikiem oddziaływania antyferromagnetycznego w stosach TCNQ. Pomiary namagnesowania nasycenia (Rys. 31) potwierdzają ten wniosek – namagnesowanie nasycenia w polu 7 T jest typowe dla jonów Ni^{2+} .

Zależność temperaturową ciepła właściwego zmierzono w polach do 9 T w zakresie temperatur 30 – 0,4 K. Ciepło słabo maleje wraz ze spadkiem temperatury, jednak w temperaturze poniżej 2,5 K obserwuje się maksimum (maksimum podobne do Schottky'ego), które w zewnętrznym polu magnetycznym przesuwa się w kierunku wyższych temperatur [32].

W zakresie niskich temperatur zależność temperaturowa ciepła właściwego jest opisana przez Hamiltonian:

$$\hat{H} = D \left[S_z^2 - \frac{S(S+1)}{3} \right] + E(S_x^2 + S_y^2).$$

Parametr D/k_B jest równy 1,95K, $E/k_B = 0,1$ K, $g = 2,18$. Jak można zauważyć, w SAR tej właściwości magnetyczne w niskich temperaturach można wyjaśnić za pomocą modelu obejmującego anizotropię jednojonową, ponieważ w niskich temperaturach anionorodniki TCNQ tworzą bezspinowe tetramery wskutek oddziaływania antyferromagnetycznego.



Rysunek 31. Zależność pola namagnesowania izotermicznego $[\text{Ni}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4(\text{H}_3\text{C})_2\text{CO}$ wykreślona wraz z wynikami symulacji opisanych w tekście (linia ciągła) [32]

Figure 31. The field dependence of isothermal magnetization of $[\text{Ni}(\text{bipy})_3](\text{TCNQ})_4(\text{H}_3\text{C})_2\text{CO}$ plotted along with the results from the simulations described in the text (solid line) [32]

<https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S0020169317309775-gr9.jpg>

UWAGI KOŃCOWE

Sole anionorodnikowe (SAR) TCNQ z kationami kompleksowymi metali bloku *d* z heterocyklicznymi diaminami mają wiele cech szczególnych, ponieważ zawierają dwa podsystemy magnetyczne – anionorodnikowy układ spinowy i układ *d*-elektronowy metali przejściowych. Szczególnie interesujące jest oddziaływanie magnetyczne między tymi podsystemami poprzez wiązania wodorowe oraz oddziaływania π - π lub *d*- π . Jak dotąd stwierdzono, że jedynie w bardzo niskich temperaturach wykazują słabe interakcje między zlokalizowanymi spinami metali *d*-elektronowych i zdelokalizowanymi spinami stosów TCNQ. Jednak uzyskane dotychczas wyniki dostarczają dowodów na celowość przyszłych badań tego niezwyklego rodzaju SAR.

PODZIĘKOWANIE

Praca została częściowo sfinansowana ze środków mini-grantu UJK 612491. Autorzy wyrażają głęboką wdzięczność pani dr Agacie Skorupie za pomoc w przygotowaniu manuskryptu.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] L.R. Melby, R.J. Harder, W.R. Hertler, W. Mahler, R.E. Benson, W.E. Mochel, J. Am. Chem. Soc., 1962, **84**, 3374.
- [2] L.R. Melby, Can. J. Chem., 1965, **43**, 1448.

- [3] K. Ueda, T. Sugimoto, S. Endo, N. Toyota, M. Kohama, K. Yamamoto, Y. Suenaga, H. Morimoto, T. Yamaguchi, M. Munakata, N. Hosoito, N. Kanehisa, Y. Shibamoto, Y. Kai, *Chem. Phys. Lett.*, 1996, **261**, 295.
- [4] T. Sugimoto, K. Ueda, S. Endo, N. Toyota, T. Tada, K. Nishimura, M. Kohama, K. Shiwaku, K. Yamamoto, T. Yamaguchi, Y. Suenaga, M. Munakata, *Chem. Phys. Lett.*, 1998, **288**, 767.
- [5] A. Radvakova, D.V. Ziolkovskiy, M. Kajnakova, B. Laskowska, B. Barszcz, A. Graja, V.A. Starodub, A. Feher, *J. Phys.: Condens. Matter.*, 2009, **21**, 175405.
- [6] A. Nafady, A.M. Bond, A. Bilyk, A.R. Harris, A.I. Bhatt, A.P. O'Mullane, R.D. Marco, *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, **129**, 2369.
- [7] F.H. Herbstein, M. Capon, *Crystallogr. Rev.*, 2009, **14**, 3.
- [8] V.A. Starodub, T. N. Starodub, *Russ. Chem. Rev.*, 2014, **83**, 391.
- [9] M. Gruber, K. Padberg, J. Min, A.R. Waterloo, F. Hampel, H. Maid, T. Ameri, Ch. J. Brabec, R. R. Tykwinski, *Chem. Eur. J.*, 2017, **23**, 17829.
- [10] V. Starodub, T. Starodub, J. Chojnacki, *Fizykochemia materiałów współczesnej elektroniki i spintroniki*. PWN, Warszawa, 2019.
- [11] R.W. Newberry, R.T. Raines, *Acc. Chem. Res.*, 2017, **50**, 1838.
- [12] X. Zhang, Z.-X. Wang, H. Xie, M.-X. Li, T.J. Woods, K.R. Dunbar, *Chem. Sci.*, 2016, **7**, 1569.
- [13] J. Ferrando-Soria, J. Vallejo, M. Castellano, J. Martínez-Lillo, E. Pardo, J. Cano, I. Castro, F. Lloret, R. Ruiz-García, M. Julve, *Coord. Chem. Rev.*, 2017, **339**, 17.
- [14] J. Mammino, D.S. Sypula, J.S. Berkes, E.L. Schlueter, Jr., G.M. Fletcher, F.J. Bonsignore, Shy-Shung Hwang, D.J. Robertson, A.W. Denham, P.J. Brach, D. Abramson, United States Patent, Patent Number 5, 298, 956; Date of Patent: Mar. 1994, 29.
- [15] M.T. Azcondo, L. Ballester, L. Calderon, A. Gutierrez, M.F. Perpiñán, *Polyhedron*, 1995, **14**, 2339.
- [16] L. Ballester, M.C. Barral, A. Gutierrez, R. Jimenez-Aparicio, J.M. Martinez-Muyo, M.F. Perpiñán, M.A. Mongeb, C. Ruiz-Valero, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1991, 1396.
- [17] L. Ballester, J.M.C. Banal, A. Gutiérrez, A. Monge, M.F. Perpiñán, C. Ruiz-Valero, A.E. Sánchez-Pélaez, *Inorg. Chem.*, 1994, **33**, 2142.
- [18] L. Ballester, A. Gutiérrez, M.F. Perpiñán, M.T. Azcondo, A.E. Sánchez, *Synth. Met.*, 2001, **120**, 965.
- [19] S. Shimomura, N. Yanai, R. Matsuda, S. Kitagawa, *Inorg. Chem.*, 2011, **50**, 172.
- [20] B.F. Abrahams, R.W. Elliott, T.A. Hudson, R. Robson, *Crystal Growth & Design.*, 2010, **10**, 2860.
- [21] B.F. Abrahams, R.W. Elliott, T.A. Hudson, R. Robson, *Cryst. Eng. Comm.*, 2012, **14**, 351. S. Shimomura, S. Kitagawa, *J. Mater. Chem.*, 2011, **21**, 5537.
- [22] C. Alonso, L. Ballester, A. Gutiérrez, M. Felisa Perpiñán, A.E. Sánchez, M.T. Azcondo, *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2005**, 486.
- [23] K. Lewandowska, B. Barszcz, G. Vasylets, I. Potočník, V.A. Starodub, A. Graja, *Synt. Metals.*, 2012, **162**, 1577.
- [24] G.Y. Vasylets, A.V. Khotkevich, A.S. Bukrinev, A.S. Krasnyi, V.A. Starodub, A.A. Kravchenko, V.V. Medvediev, *Funct. Mater.*, 2015, **22**, 338.
- [25] G.Y. Vasylets, V.A. Starodub, B. Barszcz, A. Graja, V.V. Medvediev, O.V. Shishkin, A.S. Bukrinev, *Synt. Metals*, 2014, **191**, 89.
- [26] B. Morosin, H.J. Plastas, L.B. Coleman, J.M. Stewart, *Acta Cryst., B.*, 1978, **34**, 540.
- [27] G. Vasylets, V.A. Starodub, I. Potočník, B. Barszcz, A. Graja, H. Metz, *Synt. Metals*, 2014, **189**, 86.
- [28] G. Vasylets, V.A. Starodub, A. Feher, M. Kajnakova, R. Zboril, J. Tucek, H. Metz, I. Potocnak, *Synt. Metals*, 2014, **194**, 7.

- [29] D. Šoltésová, G. Vasylets, E. Čižmár, M. Botko, V. Cheranovskii, V. Starodub, A. Feher, J. Phys. Chem. Solids, 2016, **99**, 182.
- [30] D. Šoltésová, E. Čižmár, G. Vasylets, V.A. Starodub, A. Feher, Acta Physica Polonica. A, 2017, **131**, 925.
- [31] D. Šoltésová, G. Vasylets, E. Čižmár, A.V. Fedorchenko, V. Starodub, V. Medvediev, O. Shishkin, O. Bukrynov, A. Feher, Inorg. Chim. Acta, 2018, **471**, 272.
- [32] J. Titiš, R. Boča, L. Dlháň, T. Ďurčeková, H. Fuess, R. Ivaniková, V. Mrázová, B. Papánková, I. Svoboda, Polyhedron, 2007, **26**, 1523.

Praca wpłynęła do Redakcji 2 czerwca 2020 r.

ZASTOSOWANIE ZWIĄZKÓW KOMPLEKSOWYCH PLATYNY, PALLADU I KOBALTU W MEDYCYNIE – CZĘŚĆ I

APPLICATION OF COORDINATION COMPOUNDS OF PLATINUM, PALLADIUM AND COBALT IN MEDICINE – PART I

**Marta Pawlak, Joanna Drzeżdżon*,
Dagmara Jacewicz**

*Wydział Chemii Uniwersytetu Gdańskiego,
ul. Wita Stwosza 63, 80-308 Gdańsk
e-mail: joanna.drzezdzon@ug.edu.pl

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

1. Wpływ metali na zdrowie człowieka
2. Związki koordynacyjne platyny(II) i platyny(IV) jako leki przeciwnowotworowe
 - 2.1. Związki koordynacyjne platyny(II)
 - 2.2. Związki koordynacyjne platyny(IV)
 - 2.3. Dwurdzeniowe i trójrzeniowe związki koordynacyjne platyny(II) i platyny(IV)
3. Związki kompleksowe palladu(II) jako leki przeciwnowotworowe
4. Związki kompleksowe kobaltu(II) i kobaltu(III) jako leki przeciwnowotworowe

Uwagi końcowe

Podziękowanie

Piśmiennictwo cytowane

Marta Pawlak - urodzona w 1998 r w Kutnie. Od 2017 roku studentka chemii ze specjalnością chemia biomedyczna na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego, gdzie obroniła pracę licencjacką oraz planuje kontynuację nauki na II stopniu studiów. Prace licencjacką realizowaną pod kierunkiem Profesor Dagmary Jacewicz obroniła w 2020 roku na Katedrze Chemii Ogólnej i Nieorganicznej. Temat pracy licencjackiej oraz zainteresowania skupiają się na zastosowaniu związków kompleksowych w medycynie.



<https://orcid.org/0000-0002-3871-1313>

Dr Joanna Drzeżdżon - jest pracownikiem Katedry Chemii Ogólnej i Nieorganicznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego. Ukończyła studia na kierunku Chemia na Wydziale Chemii UG w 2012 roku, tam również otrzymała w 2017 r. stopień doktora. Jej zainteresowania naukowe dotyczą badań nad syntezą oraz właściwościami fizykochemicznymi związków koordynacyjnych jonów metali przejściowych, a także zastosowań związków kompleksowych chromu(III), wanadu(IV) oraz kobaltu(II) jako katalizatorów polimeryzacji olefin. Jest współautorką 48 publikacji naukowych w czasopismach o zasięgu międzynarodowym, a także 2 zgłoszeń patentowych.



<https://orcid.org/0000-0002-9964-3027>

Dr hab. Dagmara Elżbieta Jacewicz, prof. nadzw. - UG urodziła się 30 września 1976 roku w Bolesławcu. Po ukończeniu szkoły podstawowej kontynuowała tamże edukację w I Liceum Ogólnokształcącym im. Władysława Broniewskiego. Studiowała na Wydziale Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, gdzie w 2001 roku obroniła pracę magisterską. W tym samym roku rozpoczęła studia doktoranckie na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego (UG). Pracę doktorską obroniła w 2005 roku, za którą otrzymała nagrodę Oddziału Gdańskiego Polskiego Towarzystwa Chemicznego. W lipcu 2015 roku uzyskała stopień naukowy doktora habilitowanego na Wydziale Chemii UG. Od 2004 roku pracuje na Wydziale Chemii jako asystent, adiunkt i profesor nadzwyczajny (od 2016). Jej zainteresowania badawcze koncentrują się na chemii związków kompleksowych, kinetyce reakcji oraz na biosensorach molekularnych, a w szczególności na ich zastosowaniach do oznaczania tlenku azotu(IV) i tlenku węgla(IV) w materiale biologicznym. Jej dorobek naukowy obejmuje ponad 100 prac naukowych, z czego 88 to publikacje wydane w czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Jest współautorką ponad 100 komunikatów naukowych na konferencjach krajowych i międzynarodowych.



<https://orcid.org/0000-0002-9964-3027>

ABSTRACT

The complex compounds containing metal ions are a group of compounds widely used in medicine. More and more metals are also being used to create cancer drugs or to help with other very serious diseases. Anticancer drugs are a particular use of complex compounds. Many thousands of platinum(II) compounds have been synthesized in cancer therapy, but only six of them have found use in the treatment of cancer. The most popular and the most commonly used compound is cisplatin, it has become the basis for the treatment of bladder, cervical, head, esophagus and many cancers occurring in children. The mechanism of action of platinum(II) and platinum(IV) compounds against cancer cells is to inhibit DNA replication, then RNA transcription and stop the G2 phase of the cell cycle and lead to programmed cell death or apoptosis.

Coordination compounds containing more than one metal ion in their composition open new possibilities in the fight against cancer. Pt-DNA connections created by compounds containing at least two metal atoms are different from those formed by cisplatin. The basic dinuclear structure allows for great flexibility in forming DNA-DNA or DNA-protein bonds.

The cobalt(III) complexes began to be used to image areas of hypoxia in cancer cells. It is believed, that cobalt(III) complexes undergo bioreduction, which leads to the release of the labile cobalt(II) complex and one or more bioactive ligands. Studies on nitro-Co(III) complexes containing acetylacetone and a nitrogen mustard ligand have shown that it is a particularly effective anti-cancer drug.

Due to the fact that many people have cancer new effective anti-cancer drugs with low toxicity and no side effects are still being sought.

Keywords: the coordination compounds of platinum, palladium and cobalt, anti-cancer drugs

Słowa kluczowe: związki kompleksowe platyny, palladu i kobaltu, leki przeciwnowotworowe

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

ATP	– adenozyno-5'-trifosforan
BER	– (ang. <i>base excision repair</i>) – naprawa przez wycięcie zasady
COX	– cyklooksigenaza
HSA	– (ang. <i>heat stable antigen</i>) – antygen odporny na ciepło
MMR	– (ang. <i>mismatch repair</i>) – naprawa niesparowanych zasad
NER	– (ang. <i>nucleotide excision repair</i>) – naprawa przez wycięcie nukleotydu
NLPZ	– leki przeciwzapalne
SWNT	– nanorurki węglowe
TPN	– karmienie pozajelitowe

WPROWADZENIE

W ostatnich latach zaobserwowano wyraźny wzrost zainteresowania syntezą i fizykochemią związków kompleksowych platyny, palladu oraz kobaltu, czego dowodem jest wciąż rosnąca liczba doniesień literaturowych. Znalazły one szerokie zastosowanie w medycynie. Można je wykorzystywać np. przy produkcji leków przeciwnowotworowych [1-7]. Większość badań dotyczących wykorzystania związków koordynacyjnych w medycynie polega przede wszystkim na poszukiwaniu zależności między strukturą danego kompleksu, a jego właściwościami fizykochemicznymi i biologicznymi tzw. QSAR (ang. *Quantitative Structure-Activity Relationships*) oraz aktywnością katalityczną i cytotoksyczną. Aktywność katalityczna związków kompleksowych jonów metali przejściowych zależy przede wszystkim od gęstości elektronowej na atomie centralnym. Wprowadzając różne ligandy do sfery koordynacyjnej można w bardzo prosty sposób modyfikować jego otoczenie, a tym samym znacząco wpływać na jego aktywności: cytotoksyczne [8, 9] oraz katalityczne [10, 11]. Aby lepiej zrozumieć zależność między budową a aktywnością związków koordynacyjnych stosuje się tzw. analizę korelacyjną [12].

Dużo uwagi poświęca się badaniom nad związkami koordynacyjnymi jonów metali przejściowych jako potencjalnych leków przeciwnowotworowych. Odkąd w 1960 roku zostały odkryte przeciwnowotworowe właściwości cisplatyny, związek ten jest jednym z najskuteczniejszych i najczęściej stosowanych cytostatyków w terapii guzów litych. Obecnie trwają intensywne prace nad projektowaniem nowych, skuteczniejszych niż cisplatyna leków przeciwnowotworowych, których podstawę stanowi jon metalu przejściowego. Wśród tysięcy badanych związków znajdują się m. in. kompleksy platyny, palladu czy kobaltu [13–15] wykazujące wysoką aktywność przeciwnowotworową, a mechanizm ich działania jest odmienny od tego, który cechuje cisplatynę i jej pochodne.

1. WPLYW METALI NA ZDROWIE CZŁOWIEKA

Większość metali śladowych odgrywa bardzo ważną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu organizmów żywych. Wiele z nich zalicza się także do pierwiastków niezbędnych. Do organizmu ludzkiego metale dostają się najczęściej drogą pokarmową lub poprzez wdychanie. Mogą być one również wchłaniane przez skórę na drodze transportu transfolikularnego. Metale wywołują w organizmie przede wszystkim zmiany w syntezie białka i zaburzenia ATP, w następstwie których dochodzi do silnych zmian chorobowych, często nowotworowych. Stopień toksyczności pierwiastków zależy w dużym, stopniu od formy chemicznej, rodzajów związków, w jakich występują, ich rozpuszczalności, a także odporności każdego człowieka. Do najbardziej toksycznych metali zaliczamy ołów, rtęć

i kadm. Pierwiastki te często kumulują się w organizmie, a ich duże stężenie często ma wpływ kancerogeny. Oprócz nich występuje jeszcze wiele metali np. glin, cyna, cynk, które również po przekroczeniu odpowiedniej dawki mogą posiadać toksyczny wpływ na organizm człowieka [16].

Wiele metali np. cynk, żelazo, miedź, wapń jest obecnie niezbędnych w diecie a ich maksymalne zapotrzebowanie na dobę wynosi 100 mg. Metabolizm tych metali jest kontrolowany poprzez przewód pokarmowy, wątrobę i drogi żółciowe. W normalnych warunkach nie są one toksyczne, jednak mogą się takie stać, kiedy ich dawka jest za duża i normalne szlaki homeopatyczne są przytłoczone. Na przykład, ostre zatrucie pokarmowe żelazem występuje gdy receptory zostaną wysyczone i żelazo dostarczane do organizmu z pokarmem przestaje być pochłaniane. Zatrucie może również wynikać z narażenia na bardziej toksyczną lub bardziej dostępną dla organizmu formę [17].

Dobrym przykładem metalu, który może być jednocześnie niezbędny i toksyczny jest chrom (Cr), jego stopień utlenienia decyduje o jego niezbędności lub rakotwórczości. Najbardziej stabilną postacią jest Cr(III), ale również często występuje na IV stopniu utlenienia. Cr(III) jest metalem, który poprawia tolerancję glukozy w organizmie człowieka i jest niezbędny w metabolizmie insuliny. Cr(III) jest nierozpuszczalny w wodzie oraz słabo wchłaniany z przewodu pokarmowego, przez co ma niską toksyczność doustną. Jest bardzo mało dowodów, że związki chromu(III) mają rakotwórczy wpływ na ludzi lub zwierzęta [17].

Inaczej jest w przypadku kationu chromu(IV), oraz anionów chromianowych(VI) i dichromianowych(VI) reprezentujących antropogeniczne formy chromu. Jony te są bardzo dobrze rozpuszczalne w wodzie oraz są bardzo silnymi utleniaczami. Cr(IV) może być przekształcany do mniej toksycznej formy Cr(III) przez kwasy żołądkowe, w czym pomagają napoje kwasowe takie jak lemoniada lub kawa. Redukcja ta jest bardzo ważnym czynnikiem podczas przyjmowania chromu doustnie. Dowody naukowe sugerują, że chrom(VI) nie jest rakotwórczy u ludzi w formie doustnej. Jednak formy chromu(VI), które są wdychane wywołują toksyczność w drogach oddechowych, mogą doprowadzić również do raka płuc oraz zatok. Choroby te występowały również u osób narażonych na stosunkowo dobrze rozpuszczalne formy Cr(VI) [17].

Metale niezbędne mogą stać się również toksyczne gdy dochodzi do ominięcia normalnych mechanizmów kontroli homeostatycznej. Na przykład, narażenie na ich wdychanie może wywołać możliwość przedostania się drobnoustrojów do organizmu, które następnie powodują infekcje nosowe i płucne, takie jak nieżyt nosa i perforacje przegrody nosowej. Infekcje te związane są z narażeniem na chrom(VI) oraz arsen(III). Natomiast płukanie nosa siarczanem(VI) cynku może powodować wężowe zwyrodnienie nabłonka, hipotonię oraz anosmię. Poprzez

narażanie dróg oddechowych można doprowadzić do toksyczności całego organizmu [17].

Przykładem kolejnej choroby wywoływanej przez metale ciężkie jest gorączka metaliczna, która jest dobrze udokumentowaną ostrą chorobą układu oddechowego, najczęściej występującą u spawaczy i innych osób wdychających powietrze z najdrobniejszymi cząsteczkami metali niezbędnych a także innych metali (Al, Be, Cd). Wdychanie żelaza oraz manganu prowadzi do neurotoksyczności [17].

Zatrucie metalami często występuje również u osób otrzymujących żywienie pozajelitowe (TPN), są one narażone na neurotoksyczność manganu (Mn). Po przeprowadzeniu badań na pacjentach otrzymujących TPN zauważono, że w ich surowicy występuje podwyższone stężenie Mn. Miały one charakterystyczne objawy kliniczne oraz psychiczne zatrucia neurologicznego indukowanego Mn.

Narażenie na niektóre metale niezbędne jak i te mniej istotne, takie jak złoto, kobalt oraz chrom, może powodować kontaktowe zapalenie skóry [17].

Kolejnym z metali ciężkich wywołujących toksyczny efekt jest kadm. W środowisku naturalnym występuje bardzo rzadko i w niewielkich ilościach, głównie w minerałach rud cynku lub ołowiu. Najbardziej toksyczną formą kadmu jest jon Cd^{2+} , w tej postaci kadm jest najłatwiej pobierany przez żywe komórki, przez co jest najbardziej toksyczny. Kadm i jego związki dostają się do organizmu ludzkiego głównie drogą pokarmową, a w niektórych przypadkach drogą oddechową. Dużym źródłem zarażenia kadmem w organizmie człowieka jest palenie papierosów. Kadm u ludzi indukuje powstanie reaktywnych form tlenu, na skutek czego zwiększany jest stres oksydacyjny, który wywiera toksyczny efekt na wiele narządów oraz tkanek. Zatrucie kadmem powoduje kadmicę która objawia się osłabieniem, metalicznym posmakiem w ustach, brakiem apetytu, żółtym osadem na zębach, co dalej prowadzi do uszkodzenia wielu narządów. Kadm, który przedostaje się drogami oddechowymi skutkuje w powstaniu zaburzeń oddechowych, obrzęku płuc a nawet niewydolności oddechowej. Kadm gromadzi się również w śródbłonku naczyń obwodowych oraz wpływa na układ sercowo-naczyniowy. Pierwiastek powoduje występowanie zaburzeń w funkcjonowaniu śródbłonka i komórek mięśni gładkich naczyń, co przyczynia się do powstawania zmian miażdżycowych. Stwierdzono także, że kadm ma negatywny wpływ na serce, obniża on jego kurczliwość co powoduje zmniejszenie pojemności wyrzutowej i minutowej. Kadm wpływa również bardzo negatywnie na układ rozrodczy oraz układ kostny. Oprócz wpływu na wiele tkanek i narządów, kadm jest również pierwiastkiem o działaniu rakotwórczym. Metal wykazuje słabą aktywność genotoksyczną, można zaobserwować uszkodzenia DNA pod wpływem jego pośredniego działania [18].

Miedź jest dość powszechnym metalem występującym w organizmie ludzkim, bierze udział w wielu procesach, reguluje metabolizm oraz występuje w krwi. Lecz gdy jej stężenie jest za duże może ona stać się niebezpieczna dla zdrowia człowieka. Nadmiar tego metalu może powodować zmniejszenie stężenia hemoglobiny, uszkodzenia wątroby i nerek oraz niedobory cynku, którego miedź jest naturalnym antagonistą. Miedź dostaje się do organizmu ludzkiego najczęściej wraz ze spożywanymi roślinami i warzywami z terenów narażonych na emisję metalami ciężkimi. Do objawów toksycznych występujących po jej spożyciu zaliczamy uszkodzenie nerek, wątroby, naczyń włosowatych, biegunkę oraz bóle i skurcze jelit [17].

Niebezpieczny dla ludzkiego organizmu jest również cynk, występuje on w wodach gruntowych i najczęściej przedostaje się do organizmu wraz z pokarmem. Początkowo cynk gromadzi się w wątrobie, a następnie odkłada się w nerkach i gruczołach płciowych. Zatrucie cynkiem prowadzi do upośledzonej odpowiedzi immunologicznej oraz redukcji frakcji cholesterolu HDL. Ostre zatrucie może doprowadzić do wymiotów, bólów nadbrzusza, zmęczenia i ospałości [17].

Ołów jest pierwiastkiem, który jest silnie toksyczny dla organizmów żywych, a ponadto działa wielonarządowo. Pierwiastek ten dostaje się do organizmu człowieka przez układ pokarmowy oraz drogą oddechową. Wchłonięty przechodzi do układu krążenia, a następnie przedostaje się do innych narządów. Bardzo charakterystycznym objawem zatrucia ołowiem są zaburzenia układu krwionośnego i ośrodkowego systemu nerwowego. Ołów jest pierwiastkiem silnie mutagennym i może powodować raka, ma również możliwość przechodzenia przez łożysko [17].

Rtęć jest jednym z wyjątkowo toksycznych metali. Przy bardzo dużych jej stężeniach powoduje uszkodzenie komórek. Rtęć przedostaje się do środowiska głównie poprzez spalanie produktów ropy naftowej oraz węgla. Jej związki, które przedostały się poprzez układ pokarmowy są intensywnie kumulowane w nerkach, wątrobie oraz wpływają na układ nerwowy. Inne objawy występują przy zatruciu rtęcią przez drogi oddechowe, przedostaje się ona wtedy do krwi, w której występuje w postaci metalicznej, a następnie wnika do mózgu [17].

Jest również kilka pierwiastków, które w małych dawkach są niezbędnymi mikroelementami w organizmie i bardzo korzystnie wpływają na jego funkcjonowanie. Na przykład cynk wchodzi w skład 59 % enzymów. Jest również niezbędny do syntezy insuliny, białek, kwasów nukleinowych oraz formowania się kości. Miedź jest stałym składnikiem organizmu. Jej niedobór jest szkodliwy i może powodować ograniczenia wzrostu i płodności, zaburzenia ze strony układu nerwowego, a także osteoporozę. Żelazo bierze udział w procesach utleniania, wchodzi w skład cytochromów, hemoglobiny oraz mioglobiny, a jego niedobór powoduje stałe uczucie zmęczenia, znaczne obniżenie sprawności

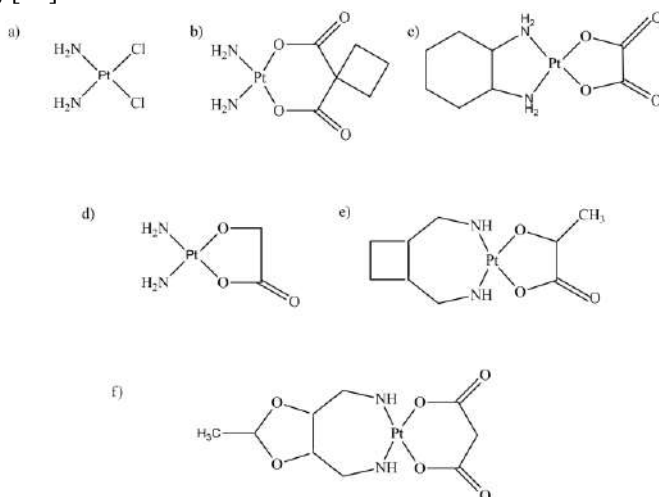
fizycznej, zmniejszenie łaknienia, bóle głowy, zaburzenia w odżywianiu skóry i błon śluzowych oraz włosów [16, 19].

W środowisku występuje wiele metali, które mają negatywny wpływ na zdrowie człowieka [20-26]. Wiele z nich w dużych dawkach może być bardzo niebezpiecznych i toksycznych oraz wywoływać wiele chorób, często nowotworowych [27]. Część z tych metali przyjmowana w odpowiednich ilościach może mieć korzystny wpływ na organizm. Coraz więcej metali jest również wykorzystywanych w celu tworzenia leków nowotworowych lub pomagających w innych bardzo poważnych chorobach [28-34].

2. ZWIĄZKI KOORDYNACYJNE PLATYNY(II) I PLATYNY(IV) JAKO LEKI PRZECIWNOWOTWOROWE

2.1. ZWIĄZKI KOORDYNACYJNE PLATYNY(II)

W terapii przeciwnowotworowej zsyntezowano wiele tysięcy związków platyny(II), jednak tylko sześć z nich znalazło zastosowanie w leczeniu nowotworów. Są to: cisplatyna, karboplatyna, oksaliplatyna, nedaplatyna, obaplatyna i heptaplatyna (Rys. 1). Najpopularniejszym i najczęściej wykorzystywanym związkiem jest cisplatyna, stała się ona podstawą leczenia nowotworów pęcherza moczowego, szyjki macicy, głowy, przetyku oraz wielu nowotworów występujących u dzieci. Trzy związki : nedaplatyna, obaplatyna i heptaplatyna dopuszczone są do stosowania tylko w Japonii, Chinach oraz Korei Południowej [35].



Rysunek 1. Związki platyny wykorzystywane w leczeniu nowotworów: a) cisplatyna b) karboplatyna c) oksaliplatyna d) nedaplatyna e) lobaplatyna f) heptaplatyna

Figure 1. The platinum compounds used to treat cancers: a) cisplatin b) carboplatin c) oxaliplatin d) nedaplatin e) lobaplatin f) heptaplatin

Pierwszym odkrytym i najpopularniejszym związkiem z grupy leków przeciwnowotworowych jest cisplatyna. Obecnie stosowana jest w terapii mono lub wielolekowej w przypadku leczenia wielu nowotworów. Jest to innowacyjny i szeroko stosowany lek. Należy do leków alkilujących DNA, czyli takich które poprzez wiązanie z DNA uniemożliwia jego replikację. Minusem jest wysoka toksyczność, która powoduje występowanie licznych działań niepożądanych. W wielu przypadkach pacjenci wykazują również pierwotną lub nabytą odporność na działanie tego leku. Występuje wiele czynników ograniczających jej efektywność, takich jak na przykład słaby profil farmakokinetyczny oraz niski stopień akumulacji w komórkach. Ponadto cisplatyna jest lekiem, który nie wchłania się po podaniu doustnym [36].

Mechanizm działania związków platyny przeciw komórkom nowotworowym polega na inhibicji replikacji DNA, następnie transkrypcji RNA i zatrzymaniu fazy G2 cyklu komórkowego i prowadzi do programowanej śmierci komórki czyli apoptozy. Po wnikięciu do jądra komórkowego komórki nowotworowej łączy się z cząsteczką DNA poprzez tworzenie wiązań wewnątrz niciowych. Łączy się z parami zasad należącymi do jednej nici spirali DNA lub tworzy wiązania krzyżowe łącząc się z parami zasad należącymi do różnych nici helisy. Po związaniu związku platyny z DNA powstają jednofunkcyjne (kiedy łączy się tylko z jedną nicią) oraz dwufunkcyjne (kiedy łączy się krzyżowo) addukty, takie jak 1,2 wewnątrznicowe GG (guanina-guanina); 1,2 wewnątrz niciowe AG (adenina-guanina) oraz 1,3 wewnątrz niciowe GNG (guanina-dowolny nukleotyd-guanina). Poszczególne addukty różnią się zdolnością do hamowania określonych procesów niezbędnych do wzrostu i podziału komórek. Wiązanie pomiędzy atomem azotu oraz platyną jest bardzo stabilne i bardzo ciężko jest je rozerwać. Charakterystyczną częścią tego wiązania jest zgięcie podwójnej nici DNA które uważane jest za główny czynnik prowadzący do apoptozy.

Najczęściej występującymi połączeniami są dwufunkcyjne 1,2 wewnątrz niciowe, krzyżowe połączenia w których kompleks platyny(II) tworzy wiązanie między dwoma sąsiadującymi atomami azotu guaniny. Atom ten jest nukleofilowy, oraz jest miejscem o dużej dostępności, ponieważ znajduje się na głównym rowku podwójnej helisy i nie bierze udziału w tworzeniu wiązań wodorowych pomiędzy komplementarnymi parami zasad azotowych [35, 37, 38].

Po przedostaniu się do komórki zanim lek stanie się aktywny ulega hydrolizie, co prowadzi do otrzymania aktywnych metabolitów takich jak: cis-diaminadihydroksy-platyna(II) dla cisplatyny, karboplatyny i nedaplatyny czy trans-iaminacykloheksan-dihydroksy-platyna(II) dla oksaliplatyny. Po hydrolizie związek zyskuje elektrofilowy charakter jonu centralnego i może reagować ze składnikami komórki, które wykazują nukleofilowe właściwości np. DNA. Guanina i adenina łączą się przez atom azotu zamieniając ligandy chlorkowe [37].

Cisplatyna posiada wiele wad, które prowadzą do odporności komórek nowotworowych na ten lek. Dokładny sposób w jaki cisplatyna przenika do komórek nie został poznany, podejrzewa się jednak, że jest to dyfuzja prosta, przez co obserwuje się mniejsze stężenie leku wewnątrzkomórkowe spowodowane osłabieniem wychwytu i nasileniem usuwania cząsteczek do przestrzeni międzykomórkowej. Odporność może być również wynikiem nasilonej inaktywacji przez białka oraz w skutek komórkowych mechanizmów naprawy DNA takich jak NER, BER lub MMR.

Wysoka toksyczność stosowanych leków wiąże się z faktem, że leki te wywierają również negatywny wpływ na szybko dzielące się zdrowe komórki [37].

Różnice w zachowaniach związków, które są analogami cisplatyny wynikają z obecności różnych ligandów w ich budowie, co wpływa na ilość i rodzaj tworzonych adduktów z DNA oraz powoduje różną kinetykę wymiany tych ligandów. Rodzaj ligandu ma również wpływ na farmakokinetykę leku oraz interakcję z białkami i innymi składnikami krwi [36].

Nie tylko izomery *cis* związków platynowych mogą działać skutecznie jako potencjalne leki nowotworowe, obiecujące są również kompleksy o izomerii *trans*. Związki te działają wybiórczo na komórki nowotworowe, wykazują korzystne profile farmakokinetyczne. Często też działają na komórki, które są odporne na cisplatynę [38].

Najnowsze wyniki badań pokazują, że pięciokoordynacyjne związki kompleksowe platyny mają lepsze działanie antynowotworowe niż cisplatyna [39-42]. Karbenowy kompleks glukokoniugowany platyny(II) to wysoce skuteczny i selektywny środek przeciwnowotworowy [43]. Kompleksy platyny(II) zawierające przeciwnowotworowe wielokleszczowe ligandy będące pochodną fenantrydinę, wykazują wyższą aktywność przeciwnowotworową niż fenantryplatyna i cisplatyna [44, 45]. W ostatnich czasach mechanizm działania fenantryplatyny w ludzkim organizmie został lepiej zbadany i poznany. Lek ten wiąże się nieodwracalnie z DNA [46-48].

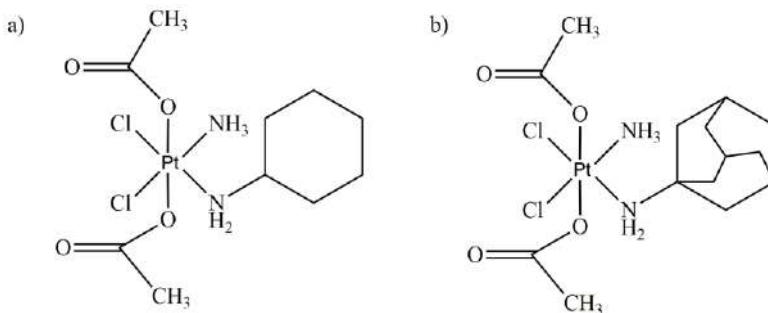
2.2. ZWIĄZKI KOORDYNACYJNE PLATYNY(IV)

Leki zawierające związki platyny(II) często przed dotarciem do DNA komórki ulegają wiązaniu z białkami osocza oraz reakcjom ubocznym prowadzącym do niepożądanych efektów. Aby poprawić parametry farmakokinetyczne tych leków zsyntezowano związki platyny(IV), które pełnią funkcje proleków i dopiero wewnątrz komórki ulegają redukcji do Pt(II) oraz stają się aktywne. Różnica między kompleksami platyny(II) a platyny(IV) polega na dwóch dodatkowych ligandach, czego konsekwencją jest zmiana geometrii z planarnej na oktaedryczną. Dzięki dodatkowym ligandom związki te zyskują wiele korzyści. Wpływają one na

zmiany lipofilności, której wzrost powoduje większy udział dyfuzji biernej kosztem transportu aktywnego podczas wychwytu przez komórki, dzięki czemu akumulacja leku w komórkach zwiększa się. Ligandy mają również wpływ na potencjał oksydacyjno-redukcyjny. Lek trudniej ulega redukcji, dzięki czemu szybciej osiąga miejsce docelowe w formie niezmienionej. Wszystkie związki platyny(II) podawane są dożylnie, natomiast kompleksy Pt(IV) badane są pod kątem podania doustnego [35, 37].

Przykładem kompleksu platyny(IV) jest satraplatyna (Rys. 2), która przeszła przez II fazę badań klinicznych w monoterapii pacjentek z przerzutowym nowotworem piersi. Związek ten posiada jako dwa ligandy aksjalne grupy acetylowe, co zwiększa lipofilowy charakter cząsteczki. Jest to bardzo stabilny związek i po połączeniu z kwasem etakrynowym który jest inhibitorem izoenzymów S-transferazy, glutationu, wykazuje działanie przeciwnowotworowe oraz niweluje odporność. Metabolizm satratraplatyny przebiega poprzez oderwanie dwóch grup acetylowych i utworzenie nowego związku, strukturalnie podobnego do cisplatyny. Powstały w ten sposób metabolit zniekształca matrycę DNA poprzez tworzenie krzyżowych wiązań między i wewnątrz niciowych, inhibicje procesów replikacji i transkrypcję, a w efekcie indukcję apoptozy. Jest lekiem wykorzystywanym w terapii celowanej [37].

Znany jest również analog satraplatyny, tj. adamplatyna(IV) (Rys. 2). Mechanizm jej działania nie różni się znacznie od mechanizmu cisplatyny, jednak jej wiązania 1,2- wewnątrz niciowe są mniej skutecznie usuwane, ponadto jest ona bardziej odporna na dezaktywację przez związki zawierające siarkę [37].



Rysunek 2. Związki kompleksowe a) satraplatyna b) adamplatyna
Figure 2. The complex compounds a) satraplatin b) adamplatin

Związki platyny(IV) wykorzystuje się również w celu tworzenia najnowszych leków przeciwnowotworowych. Na przykład prowadzi się badania nad dostarczaniem leków bezpośrednio do miejsc oddziaływania. Rolę transportera mogą spełniać nanorurki węglowe (SWNT), które są zdolne do absorpcji na

bocznych ściankach cząsteczek o różnym charakterze, ładunku i rozmiarze. Nośniki te transportują niekowalencyjnie związane kompleksy Pt(IV) do komórki nowotworowej za pośrednictwem klatryno-zależnej endocytozy. Związki Pt(IV) w środowisku panującym wewnątrz komórki zredukowane są do postaci kompleksu Pt(II) i uwalniane do cytozolu komórki nowotworowej [35].

Związki kompleksowe platyny(IV) z cynamonianowymi ligandami i ich pochodnymi są stosowane jako silne leki przeciwko zarówno zróżnicowanym, jak i nowotworowym komórkom mięśniakomięsaka prążkowanokomórkowego raka [49]. W ostatnich latach zsyntezowano wiele nowych związków platyny(II) i (IV) o potencjalnych właściwościach nie tylko antynowotworowych, ale również jako leki na reumatoidalne zapalenie stawów, wrzody trawienne oraz infekcje bakteryjne i grzybicze [50-55].

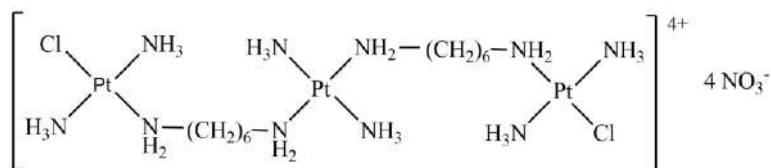
2.3. DWURDZENIOWE I TRÓJDZENIOWE ZWIĄZKI KOORDYNACYJNE PLATYNY(II) I PLATYNY(IV)

Związki koordynacyjne zawierające w swym składzie więcej niż jeden atom metalu otwierają nowe możliwości w walce z nowotworami. Połączenia Pt-DNA tworzone przez związki zawierające co najmniej dwa atomy metalu różnią się od tych które formuje cisplatyna. Podstawowa struktura dinuklearna pozwala na dużą elastyczność w tworzeniu wiązań DNA-DNA lub DNA- białko [38, 56].

Wielordzeniowe związki koordynacyjne platyny reprezentuje duża grupa związków o ogólnym wzorze $[PtCl_m(NH_2)_3_m(H_2N-R-NH_2)]^{+(2(2-m))}$. W tym szerokim zakresie możliwe są kompleksy dwurdzeniowe, trójrzeniowe oraz czterordzeniowe. Przykłady wszystkich typów zostały zsyntezowane. Wykazują one wysoką aktywność przeciwnowotworową zarówno w komórkach wrażliwych jak i opornych na cisplatynę, co daje tej grupie związków wysoki potencjał kliniczny [38, 56].

Dwurdzeniowe kompleksy platyny wykazują alternatywny mechanizm wiązania z cząsteczkami DNA który jest niedostępny dla kompleksów jednojądrzastych. Badania wykazały, że kompleksy dwurdzeniowe tworzą znacznie większą liczbę międzysieciowych połączeń krzyżowych w porównaniu do cisplatyny i dzięki temu utrzymują się dłużej w organizmie niż związki z jednym atomem. Wiązanie dwuatomowych kompleksów platyny z DNA prowadzi do krzyżowania nici DNA przez wiązanie jednego atomu Pt z każdą nicią DNA, połączeń przez wiązanie dwóch atomów z tą samą nicią oraz połączeń DNA-białko. Te typy wiązania wymagają tylko jednej grupy opuszczającej na każdym atomie Pt, wytwarzając dwufunkcyjne addukty na DNA. Jedną z ich największych cech w wiązaniu z DNA jest zdolność do jęgo zmieniania z typu A na B [35, 37, 38, 56].

Pierwszym wielordzeniowym związkiem który został zakwalifikowany do badań klinicznych, jest trójrzeniowy związek BBR3464 (Rys. 3). Obecnie znajduje się w drugiej fazie badań klinicznych. Stosunkowo szybciej reaguje z DNA niż dotychczas stosowane leki, co jest wynikiem jego dodatniego ładunku ułatwiającego interakcję z polianionowym DNA. Miejsce aktywne które znajduje się po środku kompleksu powoduje reakcję z atomem tlenu guaniny oraz tyminy. Związek ten jest testowany pod kątem stosowania go w nowotworach przerzutowych trzustki i płuc [35, 37].



Rysunek 3. Związek kompleksowy platyny(II) BBR3464

Figure 3. The complex compound of platinum(II) BBR3464

Ważnymi dinuklearnymi kompleksami platyny(II) są związki o wzorze ogólnym $[\{PtCl(NH_3)_2\}_2(H_2N-R-NH_2)]^{2+}$ W których odchodząca grupa chlorkowa może być w konformacji cis lub trans do mostka diaminowego, co daje odpowiednio izomery geometryczne 1,1/c,c oraz 1,1/t,t. Izomery te są do siebie podobne jednak związek 1,1/c,c jest bardziej wymagający przestrzennie do podstawienia chlorkowych grup odchodzących, co odzwierciedla się w różnicach w wiązaniu DNA i aktywności biologicznej tych dwóch izomerów. Związki te obdarzone są ładunkiem dodatnim. Charakteryzują się dobrą rozpuszczalnością w wodzie oraz wysoką skutecznością wobec nowotworów odpornych na cisplatynę [38].

Ostatnie lata badań nad dwurdzeniowymi i trójrzeniowymi związkami koordynacyjnymi platyny(II) i platyny(IV) pokazują, że nowe związki kompleksowe zawierające ligandy takie jak np. pochodne fenantrydyny i 3,4-benzochinoliny wykazują działanie antynowotworowe [57-64].

3. ZWIĄZKI KOMPLEKSOWE PALLADU(II) JAKO LEKI PRZECIWNOWOTWOROWE

Pallad jest pierwiastkiem chemicznie podobnym do platyny(II), przez co pokłada się duże nadzieje w związkach palladu w terapii nowotworowej. Istnieje jednak wiele różnic które sprawiają, że związki palladu są bardziej aktywne cytotoksycznie. Związki te często ulegają izomeryzacji oraz reakcjom wymiany

ligandów. Pallad posiada również dużo bardziej labilną naturę niż platyna. Pallad najchętniej łączy się z atomami tlenu, azotu oraz siarki [65].

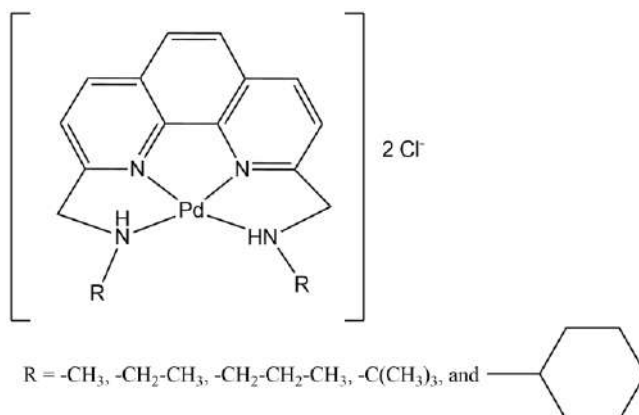
Jednak zbyt wysoka aktywność związków palladowych powoduje, że związki te posiadające strukturę analogiczną do cis-DPD nie przejawiają aktywności przeciwnowotworowej. Aby zmniejszyć aktywność tych związków zaczęto wprowadzać do ich struktury ligandy o stosunkowo dużej zawadzie sterycznej, które powodują ograniczenie nadmiernej aktywności kompleksów palladu. Kształt i rozmiar ligandu może w różny sposób zmieniać reaktywność kompleksu [65, 66].

Badania nad działaniem cytotoksycznym związków palladu zaczęto od sprawdzenia aktywności analogów cisplatyny zmieniając platynę na pallad. Związki te nie wykazywały aktywności przeciwnowotworowej, ulegały nieaktywnej przemianie do konformacji trans i bardzo szybko hydrolizowały. Izomerom trans-palladu przypisuje się stosunkowo wyższe wartości cytotoksyczności niż izomerom cis. Jednym z pierwszych badanych przykładów trans-palladu było porównanie między kompleksem palladu mono-2-chinolometrylofosfonianu i dietylo-2-2-chinolometrylofosfonianu przedstawione przez Tuska-Bozica. Stwierdzono, że kompleksy diestru są bardziej aktywne niż ligandy oparte na monoestrze. Można to częściowo przypisać większej aktywności grupy opuszczającej oraz ich większej lipofilowości i rozpuszczalności [67, 68].

Pozytywne rezultaty w badaniach nad cytotoksycznością uzyskano także dla wielu związków zawierających cykliczne aminy, na przykład dla kompleksów palladu(II) z ligandami N-heterocyklicznymi, które należą do grupy kompleksów zawierających ligandy bidentne czyli takie które łączą się z jonami metalu w dwóch punktach [65].

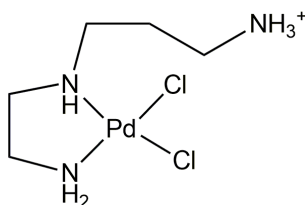
Badania nad aktywnością przeciwnowotworową kompleksów palladu z ligandami N-heterocyklicznymi zostały zbadane przez Zhao oraz jego współpracowników na podstawie komórek białaczki ludzkiej HL-60 (Rys. 4). Wszystkie badane związki wykazywały aktywność cytotoksyczną, ponadto zaobserwowano, że cytotoksyczność związku zależy od natury podstawnika w pierścieniu pirydyny i maleje wraz ze wzrostem mocy elektronodonorowej podstawnika. Efekt terapeutyczny wynika z wiązania tych związków z DNA [65].

Przeprowadzono również wiele innych analiz, które pozwoliły zaobserwować, że działanie cytotoksyczne związków trans-Pd(II) z pochodnymi pirydyny zależy zarówno od natury chemicznej podstawnika, jak i jego pozycji w pierścieniu pirydyny.



Rysunek 4. Związki kompleksowe palladu(II) z ligandami N-heterocyklicznymi badane przez Zhao
 Figure 4. Palladium (II) complex compounds with N-heterocyclic ligands investigated by Zhao

Eksperymenty z kompleksami zawierającymi ligandy bidentne prowadził również Navarro-Ranninger. Zsyntezował on związki dichloropalladu(II) z ligandami będącymi pochodnymi etylenodiaminy (Rys. 5). Ligandy te zostały użyte ze względu na ich istotne biologiczne oddziaływanie, biorą udział w rozprzestrzenianiu i różnicowaniu komórek podczas replikacji DNA i biorą udział w stabilizacji błony komórkowej [66, 67].

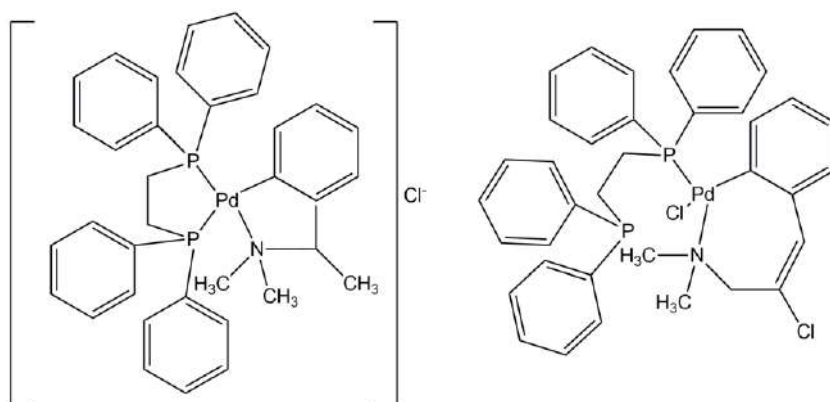


Rysunek 5. Związek dichloropalladu(II) z pochodną etylenodiaminy
 Figure 5. The compound of dichloropalladium(II) with the ethylenediamine derivative

Niektóre kompleksy palladu(II) wykazywały również dyskretną aktywność przeciwnowotworową z powodu ich wysokiej labilności w płynach biologicznych. Dlatego zasugerowano, że taką aktywność mogą wykazywać również kompleksy oparte na związkach fosfoorganicznych, które są bardziej stabilne i mniej toksyczne. Związki palladu zawierające ligandy fosfinowe o ogólnym wzorze $[L_2MX_m]^{n+}$ zostały ocenione pod kątem cytotoxyczności względem mysiego modelu nowotworu. Mechanizm działania tych kompleksów jest różny od mechanizmu działania cisplatyny. Mają inny wpływ na DNA [66, 67].

Niektóre kompleksy opierające się na ligandach difosfinowych zostały zbadane pod kątem ich aktywności przeciwko mysiemu czerniakowi B16F10. Kompleksy te spowodowały śmierć 100 % komórek przy bardzo niskim stężeniu leku. Dimery palladu(II) zawierające te ligandy okazały się być dużo bardziej aktywne niż ich monordzeniowe analogi. Znacznie opóźniają wzrost guza i przedłużają życie komórki [67].

W ostatnim czasie zsyntezowano kompleks palladu(II) zawierający ligand P-N utworzony przez kondensację 2-difenylofosfino benzaldehydu i hydrazynoocetanu etylu. Aktywność cytotoksyczna kompleksu jest podobna do pozostałych związków [66, 67].



Rysunek 6. Kompleksy palladu(II) zawierające 1,2-bis (difenylfosfino)etan
Figure 6. Palladium(II) complexes containing 1,2-bis(diphenylphosphino)ethane

Aktywność przeciwnowotworową stwierdzono również dla związków, które posiadają mieszane ligandy. Przykładem takiej grupy są kompleksy posiadające mieszane ligandy ditiokarbaminianowe. Ditiokarbaminiany mają zdolność do stabilizacji metali przejściowych w różnych stanach utlenienia. Dlatego zsyntezowano oraz scharakteryzowano sześć mieszanych kompleksów ligand-pallad(II) o ogólnym wzorze $[(DT)Pd(II)(PR_3)Cl]$. Kompleksy te tworzone są poprzez reakcje ligandów ditiokarbaminianowych z $(PR_3)_2PdCl_2$ w dichlorometanie [66, 67]. Aktywność przeciwnowotworowa powstałych związków została przebadana na komórkach nowotworowych prostaty DU145. Wszystkie związki wykazują działanie przeciwnowotworowe wobec komórek, które są odporne na cisplatynę. Cytotoksyczność danego kompleksu zależy w dużym stopniu od grupy elektronodonorowej, im większa donorowość podstawnika tym wiązanie Pd-P będzie silniejsze a kompleks pozostanie zintegrowany i ma większą szansę na dotarcie do DNA. Aktywność kompleksu ma również zdolność do tworzenia wiązania wodorowego z zasadami DNA, niekorzys-

tnie natomiast wpływa lipofilowy charakter związku. Kompleksy te nie są wprowadzone jeszcze jako leki przeciwnowotworowe [69].

Nadzieje pokładane są również w kompleksach mieszanych ligandów *cis*-dichlorometioniny palladu(II) z 2-merkaptopirymidyną i z aminopirydyną. Związki te były badane pod kątem raka jajnika szyjki macicy (*Hella Cells*). Badania wykazały, że związki te mogą być potencjalnymi lekami przeciwnowotworowymi [70].

Istnieją również kompleksy dwujądrowe palladu, u których obserwowana jest aktywność przeciwnowotworowa. W budowie tych związków nie wprowadza się silnie skoordynowanych ligandów diazotowych. Wspomniany wcześniej Navarro-Raninger poinformował o syntezie kompleksów dinuklearnych opartych na putrescynie i sperminie $[PdCl_4(Put)_2]$ i $[PdCl_4(Sperm)_2]$. Kompleks oparty na putrescynie ma podwójną naturę. W związku opartym na sperminie obecne są 4 grupy aminowe grupy sperminy, które łączą się z dwoma palladowymi centrami. Badania pokazują, że kompleks oparty na putrescynie ma dużo większą cytotoksyczność niż kompleks zawierający sperminę [67].

Również wspomniany wcześniej Zaho zajmował się badaniami nad dwujądrowymi związkami palladu, zawierającymi dwie grupy funkcyjne połączone za pomocą mostków selenowych lub siarkowych. Kompleksy te są rozpuszczalne w wodzie. Dimer zawierający mostek selenowy okazał się lepszym inhibitorem niż analog zawierający mostek siarkowy [66, 67].

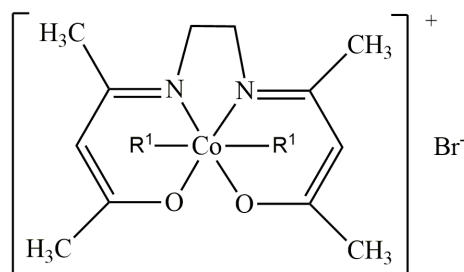
Kompleksy palladu(II) posiadają przeciwnowotworowe właściwości wobec niedrobnokomórkowego raka płuc, który jest najczęstszym występującym typem raka płuca, a także wobec drobnokomórkowego raka płuca, który jest najbardziej agresywnym podtypem raka płuca [71-79].

4. ZWIĄZKI KOMPLEKSOWE KOBALTU(II) I KOBALTU(III) JAKO LEKI PRZECIWNOWOTWOROWE

Pierwsze badania dotyczące związków kobaltu zostały przeprowadzone w 1952 roku przez Dwayera oraz innych naukowców. Stwierdzono, że śmiertelna dawka kobaltu jest wysoka dla większości związków tego pierwiastka, dlatego kobalt posiada niską toksyczność ogólnoustrojową [7].

Bardzo ważnym odkryciem naukowym związanym z właściwościami związków kobaltu, jest kliniczne wynalezienie Doxoviru (CTC-96) (Rys. 7) jako środka na opryszczkę wargową. Doxowir jest związkiem kobaltu(III) z dwoma osiowo skoordynowanymi ligandami 2-metyloimidazolowymi. Dokładny mechanizm działania tego leku jest nieznan, ale spekuluje się, że wywołuje działanie terapeutyczne poprzez kowalencyjne wiązanie z resztą histydynową w miejscu aktywnym enzymu wirusowego. Zauważono również, że klasa tych

związków nieodwracalnie hamuje aktywność termolizyny i trombiny za pomocą podobnego mechanizmu. Ta strategia została wykorzystana do zahamowania czynników transkrypcyjnych związanych z progresją raka. Przygotowanie nowych biokoniugatów na bazie zasad Schiffa Co(III) ukierunkowanych na inne czynniki transkrypcyjne związanych z progresją nowotworu i przerzutami może okazać się bardzo atrakcyjna terapeutycznie. Wkrótce po tym liczba kompleksów kobaltu(II) i kobaltu(III) zawierających jako ligandy zasady Schiffa posiadających aktywność przeciwnowotworową wzrosła [7].



Rysunek 7. Doxovir $R^1 = 2$ -metyloimidazol

Figure 7. Doxovir $R^1 = 2$ -methylimidazole

Kompleksy zasad Schiffa kobaltu(II) zawierające 4-(4-aminofenylo) pochodną morfoliny wykazują bardzo słabą aktywność przeciwko komórkom raka wątrobowo-komórkowego, z wartością IC_{50} (połowa maksymalnego stężenia hamującego) w zakresie milimolarnym. Natomiast kompleksy kobaltu(II) zawierające 2,6-bis(2,6-dietylofenyloiminometylo)pirydynę wykazywały lepszą cytotoxycznosc wobec gruczolaka jelita grubego i komórki gruczolaka szyjki macicy z wartościami IC_{50} w zakresie 45-100 μM [7].

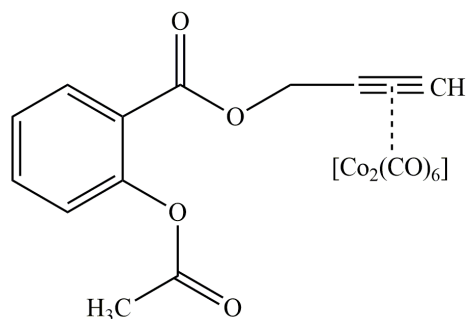
Kompleksy kobaltu(III) zawierające zasadę Schiffa jako ligand będący produktem reakcji aldehydu salicylowego i etyloaminy wykazywały umiarkowaną aktywność przeciwko ludzkim komórkom raka piersi. Z kolei kompleksy kobaltu(III) zawierające dwa ligandy 2-hydroksybenzylodiaminofenolowe hamowały komórki raka szyjki macicy, ale w mniejszym stopniu niż cisplatyna [7].

Biorąc pod uwagę duże rozbieżności w aktywności biologicznej zasad Schiffa zawartych w związkach kobaltu(II), należy przeprowadzić dużą ilość systematycznych badań zależności struktury od aktywności w celu ustalenia prawdziwego potencjału farmakologicznego tych związków [7].

Kompleksy dikobaltoheksakarbonylu z ligandami alkilowymi są cennymi odczynnikami w chemii organicznej. Pod względem biologicznym były początkowo stosowane jako środki znakujące, do kompleksu przywiązany był etynyloestradiol i stosowany był do monitorowania wiązania steroidów z recepto-

rami estrogenowymi w raku piersi. Takie działanie zmotywowało naukowców do stosowania takich kationowych związków do celowania i uszkodzenia DNA w komórkach rakowych oraz zbadania właściwości przeciwnowotworowych kompleksów $[\text{Co}_2(\text{CO})_6]$ -acetylen. Wczesne badania zależności struktura-aktywność wykazały, że zdolność kompleksów do hamowania proliferacji komórek rakowych była silnie zależna od chemicznej natury ugrupowania acetylenowego [7].

Badania *in vitro* wykazały, że kompleks $[\text{Co}_2(\text{CO})_6]$ z pochodną aspiryny zawierającą wiązanie potrójne w grupie estrowej (Rys. 8) była najsilniejszym spośród badanych. Kontrolowane eksperymenty udowodniły, że związek ten nie powodował niespecyficznej toksyczności i że aktywność ta była spowodowana nienaruszonym kompleksem. Badania analityczne DNA wykazały jednak, że w komórkach jest mała zawartość kobaltu, co wyklucza interakcje DNA jako sposób działania tego związku. Mechanizm jego działania podobny jest do działania aspiryny która sama w sobie wykazuje dużą aktywność cytotoksyczną, i polega na zakłócaniu funkcji enzymów cyklogenazy. W stosunku do aspiryny kompleks wyraźnie mocniej hamuje COX (cyklooksygenaza) co skutkuje silniejszym działaniem antyproliferacyjnym. Różnice te wynikają z różnych interakcji z COX. Podczas gdy aspiryna indukuje acetylację reszt seryny w miejscu aktywnym, kompleks kobaltu sprzyja acetylacji łańcuchów bocznych lizyny w kanale wejściowym prowadzącym do miejsca aktywnego powodując zmniejszone wejście substratu [7].



Rysunek 8. Związek kompleksowy $\text{Co}_2(\text{CO})_6$ z aspiryną
Figure 8. The complex compound $\text{Co}_2(\text{CO})_6$ with aspirin

W ostatnim czasie liczba związków kobaltu(II) z lekami przeciwzapalnymi (takimi jak aspiryna) wzrasta i badane są ich interakcje z biomolekułami. Kompleksy te składają się z jonu Co(II) związanego z odpowiednim deprotonowanym NLPZ (niesteroidowy lek przeciwzapalny) poprzez tlen karbony-

lowy i jeden lub dwa ligandy. Kompleksy te wykazują silne powinowactwo do dupleksu DNA i HSA oraz wysoką aktywność przeciwtleniającą. Niestety potencjał przeciwnowotworowy tych związków nie został jeszcze zbadany [7].

Grupą, w której również szuka się potencjału przeciwnowotworowego są proleki kobaltu(III) aktywowane w miejscach niedotlenienia. Proleki są obojętnymi środkami które mogą być aktywowane przez bodźce zewnętrzne. Ponieważ niedotlenione komórki rakowe są odporne na konwencjonalną radioterapię i chemioterapię, proleki aktywowane hipoksją są bardzo pożądane. Aktywacja bioredukcyjna jest procesem w którym czynnik obojętny ulega redukcji po wejściu do komórki, uwalniając jeden lub więcej czynników bioaktywnych i może nastąpić tylko wtedy, gdy potencjał redukcji początkowego kompleksu Co(III) jest zgodny z potencjałem redukcji cytozoli w komórkach [7].

Główny problemem stosowania proleków aktywowanych hipoksją jest selektywna aktywacja w komórkach rakowych. Tradycyjnie niedotlenienie proleków polega na ponownym utlenianiu formy aktywnej do postaci obojętnej w normalnych komórkach ale nie w rakowych. Zdrowa tkanka również może zostać uszkodzona dlatego aby uniknąć skutków ubocznych, niezbędny jest wysoki próg aktywacji. Ponieważ potencjał redukcyjny kompleksów kobaltu(II) może być precyzyjnie dostrojony poprzez zmianę ligandów. Takie środki oferują realną drogę do opracowania naprawdę selektywnych leków [7].

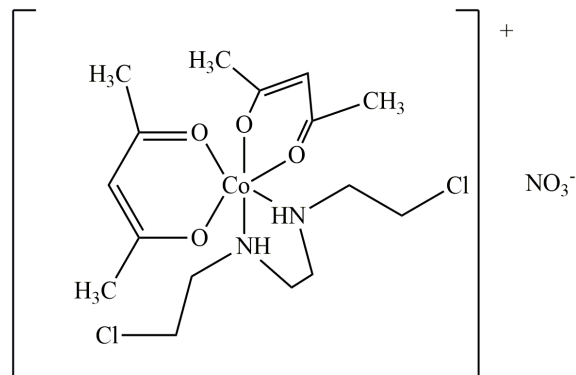
Badania nad kompleksami nitro-Co(III) zawierającymi acetyloaceton i ligand iperytu azotowego wykazały, że jest on szczególnie skutecznym lekiem przeciwnowotworowym [7].

Iperyty azotowe są klasą klinicznie zatwierdzonych leków przeciwnowotworowych które wywołują działanie terapeutyczne przez alkiłowanie purynowych zasad DNA. Przykładem takiego związku może być kompleks bis(2-chloroetylo)aminy (BCA) z kobaltem(III). Związek ten jest obojętny w stanie utlenionym, ponieważ pojedyncza para azotu należąca do składnika BCA uczestniczy w koordynacji z kobaltem, a zatem nie jest dostępna do wewnątrzcząsteczkowego tworzenia jonu azyrydynowego, który jest niezbędny do alkiłowania DNA. W stanie zredukowanym BCA jest uwalniany z powstałego kompleksu Co(II), umożliwiając działanie cytotoksyczne. Badania wykazały że związek ten wykazuje wyższą toksyczność w stosunku do komórek natlenionych niż komórek niedotlenionych [7].

Zostały przeprowadzone badania aby znaleźć związek, który posiada alkiłujące grupy nawet w warunkach niedotlenienia. Odkryto, że bidentne ligandy musztardowe, N,N-bis(2-chloroetylo)etylenodiamina (BCE) i N,N-bis(2-chloroetylo)etylenodiamina (DCE) w połączeniu z kobaltem(III) tworzą stabilne kompleksy zdolne do selektywnego zabijania niedotlenionych komórek. Badania wykazały, że kompleksy te wykazują cytotoksyczność poprzez uwolnienie

ligandów musztardowych. Późniejsze badania wykazały że kompleks Co(III)-BCE (Rys. 9) wykazywał mocniejsze działanie na komórki niedotlenione niż na dotlenione. Badania zależności struktura-aktywność wykazały, że natura ligandu pomocniczego, acetyloacetonianu, ma kluczowe znaczenie dla selektywności hipoksycznej [7].

Podjęto jeszcze wiele prób znalezienia podobnych związków, które są aktywne w środowisku niedotlenionym, lecz pomimo swojej wysokiej toksyczności ogólnoustrojowej kompleks Co(III)-BCE jest najlepszym związkiem [7].



Rysunek 9. Związek kompleksowy Co(III)-BCE
Figure 9. The complex compound Co(III)-BCE

Kompleksy kobaltu(III) mogą służyć również, jako białka opiekuńcze dla bioaktywnych ligandów. Związki te wykorzystywane są by dostarczyć matrycowe inhibitory metaloproteiny (MMP) do komórek niedotlenionych. MMP to rodzina peptydaz które są zaangażowane w progresję raka i innych chorób. Inhibitory MMP mają słabą biodostępność ze względu na reakcje między grupą kwasu hydroksamowego a biomolekułami. W celu pokonania tego problemu inhibitory sprzęgane są z Co(III)-tris(2-metylopirydylo)aminą (TPA) poprzez ugrupowanie kwasu hydroksamowego. Umożliwiło to dezaktywację inhibitorów MMP w regionach dobrze dotlenionych i selektywne uwalnianie w miejscach niedotlenienia. Jednak test *in vivo* wykazał, że kompleks ten nasila przerzuty zamiast je zmniejszać. Było to spowodowane izolowaniem dwóch postaci hydroksamatowej oraz hydroksymatycznej, których potencjał redukcyjny jest zupełnie różny, dlatego ich zdolność do uwalniania ligandu kwasu hydroksamowego również jest inna. Właściwościami elektrochemicznymi obu form można tak manipulować aby układy zawierające Co(III) były zdolne

do dostarczania bioaktywnych ligandów do regionów kwasowych. Biorąc pod uwagę, że wiele guzów jest kwasowych, a także niedotlenionych, ta strategia może być niezwykle przydatna w rozwoju nowego sposobu dostarczania ligandu do systemu nowotworu [7]. Oprócz TPA stosowanych jest wiele innych ligandów, które w połączeniu z kobaltem(III) są bezpiecznymi białkami opiekuńczymi dla wielu rodzajów nowotworów [7].

W ostatnim czasie kompleksy kobaltu(III) zaczęto wykorzystywać do obrazowania obszarów niedotlenienia w komórkach nowotworowych. Uważa się, że kompleksy kobaltu(III) przechodzą bioredukcję, co prowadzi do uwolnienia labilnego kompleksu kobaltu(II) i jednego lub więcej bioaktywnych ligandów. Jednak dokładny mechanizm aktywacji pozostaje nieznan. Późniejsze badania nad mechanizmem z wykorzystaniem znaczników fluorescencyjnych dowiodły, że aktywacja zachodzi poprzez wymianę ligandów a nie poprzez redukcję do Co(II) [7]. Dzięki temu odkryciu naukowcy opracowali serię kompleksów Co(III) zdolnych do wykrywania obszarów niedotlenienia w obrębie guza. Najbardziej skuteczny kompleks składał się z rdzenia cyklo-Co(III) o dwóch osiowo związanych ligandach kwasu antrachinino-2-karboksylowego (AQ2CH). Intensywność fluorescencji wzrosła tylko w obecności askorbinianu sodu w warunkach beztlenowych, sugerując, że uwalnianie ligandu było selektywne wobec hipoksji i pośredniczyło w redukcji, w warunkach niedotlenionych nie zaobserwowano wyłączenia fluorescencji, co sugeruje, że w tym przypadku ponowne utlenianie konkurowało z uwalnianiem ligandu. Ostatnio zastosowano szereg kompleksów Co(III)-TPA z fluorescencyjnymi ligandami kurkuminy w celu wizualizacji niedotlenienia regionów w sferoidach DLD-1 [7].

Związki kompleksowe kobaltu(II) i (III) z pochodnymi 2,2'-bipirydyli oraz anionem PF_6^- są nową grupą związków o właściwościach przeciwnowotworowych przebadanych na myszach, którym wszczepiono implant nowotworowy [80-82].

UWAGI KOŃCOWE

Nowotwory złośliwe stanowią drugą najczęstszą przyczynę zgonów w Polsce. Ich liczba w roku 2012 wynosiła około 95 tysięcy. Dlatego wciąż poszukuje się nowych skutecznych leków przeciwnowotworowych, charakteryzujących się niską toksycznością oraz niewywołujących efektów ubocznych. Stąd związki koordynacyjne zawierające jony platyny, palladu oraz kobaltu mają coraz większe znaczenie w diagnostyce i terapii wielu schorzeń. Budowa chemiczna oraz reaktywność tego typu związków decydują o ich mechanizmie działania przeciwnowotworowego. Poszczególne związki kompleksowe różnią się między sobą ligandami, a więc również szybkością ich wymiany, co skutkuje inną aktywnością i toksycznością tych związków. Początkowo poszukiwano nowych pochodnych związków kompleksowych zawierających jony platyny w celu uzyskania leków o większej

skuteczności i mniejszej toksyczności w zestawieniu z cisplatyną. Obecnie większy nacisk kładzie się na projektowanie leków pozbawionych oporności krzyżowej (w stosunku do cisplatyny i karboplatyny). Więcej uwagi poświęca się również jakości życia ludzi, stąd badania nad postaciami leków zawierających jony platyny, palladu oraz kobaltu są szerzej badane na etapie zaawansowanych badań klinicznych.

PODZIĘKOWANIE

Praca wspierana finansowo przez Narodowe Centrum Nauki w ramach dotacji 2015/19/N/STS/00276.

Stypendysta korzystający ze wsparcia finansowego Fundacji na rzecz Nauki Polskiej (FNP).

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] R. Oun, Y.E. Moussa, N.J. Wheate, *Dalton Trans.*, 2018, **47**, 6645.
- [2] T.J. Johnstone, K. Suntharalingam, S.J. Lippard, J. Stephen, *Chem. Rev.*, 2016, **116**, 3436.
- [3] T.C. Johnstone, G.Y. Park, S.J. Lippard, *Anticancer Res.*, 2014, **34** (1), 471.
- [4] E. Ulukaya, F. Ari, K. Dimas, E.I. Ikitimur, E. Guney, V.T. Yilmaz, *E. J. Med. Chem.*, 2011, **46**, 4957.
- [5] E.Z. Jahromi, A. Divsalar, A.A. Saboury, S. Khaleghizadeh, H. Mansouri-Torshizi, I. Kostova, *J. Iran. Chem. Soc.*, 2016, **13**, 967.
- [6] B.Y.K. Law, Y. Qing Qu, S. Wing Fai Mok, H. Liu, W. Zeng, Y. Han, F. Gordillo-Martinez, W. Chan, K. Man-Chung Wong, V. Kam Wai Wong, *Oncotarget*, 2017, **8**, 55003.
- [7] C.R. Munteanu, K. Suntharalingam, *Dalton Trans.*, 2015, **31**.
- [8] F. Huq, H. Tayyem, P. Beale, J. Q. Yu, *J. Inorg. Biochem.*, 2007, **101**, 30.
- [9] C.J. Jones, J.R. Thornback, *Medicinal Applications of Coordination Chemistry*, Wiley, Cambridge UK, 2007.
- [10] S.B. Halligudi, K.N. Bhatt, N.H. Khan, R.I. Kurashy, K. Venkatsubramanian, *Polyhedron*, 1996, **15**, 2093.
- [11] F. Ferretti, F. Ragaini, R. Lariccia, E. Gallo, S. Cenini, *Organometallics*, 2010, **29**, 1465.
- [12] J. Shorter, *Analiza korelacyjna w chemii organicznej: Wstęp do liniowych zależności energii swobodnej*, Oxford University Press, 1973.
- [13] D.C. Ware, P.J. Brothers, G.R. Clark, *Dalton Trans.*, 2000, **925**.
- [14] E. Reisner, V. Arion, B. Keppler, *Inorg. Chim. Acta*, 2008, **361**, 569.
- [15] T. Failles, C. Cullinane, C. Diakos, *Chem. - Eur. J.*, 2007, **13**, 2974.
- [16] A. Ociepa-Kubicka, E. Ociepa, *Inżynieria i Ochrona Środowiska nr 2*, 2012, 169.
- [17] R.A. Yokel, S.M. Lasley, D.C. Dorman, *J. Toxicol. Environ. Health, Part B: Critical Rev.*, 2007, **9**, 63.
- [18] A. Kaczyńska, M. Zajęczkowski, M. Grzybiak, *Ann. Acad. Med. Gedanensis*, 2015, **45**, 65.
- [19] M. Piontek, Z. Fedyczak, K. Łuszczynska, H. Lechów, *Inżynieria Środowiska Nr 35*, 2014.
- [20] X. Shen, Y. Chi, K. Xiong, *Plos One*, 2019, **14**, 1.
- [21] J.J. Liao, X.Y. Shen, B. Huo, K.N. Xiong, *Acta Phys. Sin.*, 2018, **27**, 169.

- [22] X.Y. Shen, Y.K. Chi, B. Huo, T. Wu, K.N. Xiong, *Fresen Environ. Bull.* 2018, **26**, 6824.
- [23] J. Ciazela, M. Siepak, P. Wojtowicz, *Sci. Total. Environ.*, 2018, **616**, 996.
- [24] W. Shin, S. Choung, W.S. Han, J. Hwang, G. Kang, *Sci. Total Environ.*, 2018, **642**, 314.
- [25] A.H. Baghaie1, M. Fereydoni, *IJEHE*, 2019, **6**, 11.
- [26] M. Kolahkaj, S. Battaleblooie, H. Amanipoor, S. Modabberi, *IJHE*, 2017, **9**, 537.
- [27] C.U. Nkwunonwo, P.O. Odika, N. I. Onyia, *Sci. World J.*, 2020, 1.
- [28] N. Thonemann, M. Schumann, *J. Clean. Prod.*, 2018, **172**, 4181.
- [29] L.-M. Cai, Q.-S. Wang, J. Luo, *Sci. Total Environ.*, 2019, **650**, 725.
- [30] H. Ali, E. Khan, *Intern. J.*, 2019, **25**, 1353.
- [31] B. Dash, R. Soni, R. Goel, Springer, Singapore, 2019, 179.
- [32] C. Li, K. Zhou, W. Qin, *Intern. J.* 2019, **28**, 380.
- [33] G.E. Obi-Iyeke, *J. Environ. Manage.*, 2019, **23**, 443.
- [34] D. Kondej, *Bezpieczeństwo Pracy 2*, 2007.
- [35] L. Trynda-Lemiesz, U. Śliwińska-Hill, *J. Oncol.*, 2011, **61**,465.
- [36] M. Subocz, B. Popławska, A. Bielawska, K. Bielawski, *Ann. Acad. Med. Silesiensis*, 2011, **65**, 70.
- [37] U. Śliwińska-Hill, M. Szumelda, *J. Oncol.*, 2016, **66**, 136.
- [38] N. Farrell, *Advances in DNA Sequence-Specific Agents*, 3, 1998, 179.
- [39] A. Annunziata, M.E. Cucciolito, R. Esposito, G. Ferraro, D.M. Monti, A. Merlino, F. Ruffo, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2020, 918.
- [40] R.G. Kenny, C.J. Marmion, *Chem. Rev.*, 2019, **119**, 1058.
- [41] G. Ferraro, T. Marzo, M.E. Cucciolito, F. Ruffo, L. Messori, A. Merlino, *Int. J. Mol. Sci.* 2019, **20**, 520.
- [42] M.E. Cucciolito, F. De Luca Bossa, R. Esposito, G. Ferraro, A. Iadonisi, G. Petruk, L. D'Elia, C. Romanetti, S. Traboni, A. Tuzi, D.M. Monti, A. Merlino, F. Ruffo, *Inorg. Chem. Front.*, 2018, **5**, 2921
- [43] A. Annunziata, M.E. Cucciolito, R. Esposito, P. Imbimbo, G. Petruk, G. Ferraro, V. Pinto, A. Tuzi, D.M. Monti, A. Merlino, F. Ruffo, *Dalton Trans.*, 2019, **48**, 7794.
- [44] I.B. Lozada, B. Huang, M. Stilgenbauer, T. Beach, Z. Qiu, Y. Zheng, David, E. Herberta, *Dalton Trans.*, 2020, DOI: 10.1039/D0DT01275K.
- [45] B. Englinger, C. Pirker, P. Heffeter, A. Terenzi, C.R. Kowol, B.K. Keppler, W. Berger, *Chem. Rev.*, 2019, **119**, 1519.
- [46] A.A. Almaqwashi, W. Zhou, M.N. Nauffer, I.A. Riddell, Ö.H. Yilmaz, S.J. Lippard, M.C. Williams, *J. Am. Chem. Soc.*, 2019, **141**, 1537.
- [47] W. Zhou, M. Almeqdadi, M.E. Xifaras, I.A. Riddell, Ö.H. Yilmaz, S.J. Lippard, *Chem. Commun.*, 2018, **54**, 2788.
- [48] R. Mondal, I.B. Lozada, R.L. Davis, J.A.G. Williams, D.E. Herbert, *Inorg. Chem.*, 2018, **57**, 4966.
- [49] J. Zajac, V. Novohradsky, L. Markova, V. Brabec, J. Kasparkova, *Angew. Chem.*, 2020, **59**, 3329.
- [50] K. Laws, K. Suntharalingam, *ChemBioChem*, 2018, **19**, 2246.
- [51] P. Kuppusamy, I. Soundharrajan, D. H. Kim, I. Hwang, K. C. Choi, *Phytom.*, 2019, **60**, 152873.
- [52] V. Brabec, O. Hrabina, J. Kasparkova, *Coord. Chem. Rev.* 2017, **351**, 2.
- [53] M. Ravera, E. Gabano, M. J. McGlinchey, D. Osella, *Inorg. Chim. Acta* 2019, **492**, 32.
- [54] D. Gibson, *J. Inorg. Biochem.* 2019, **191**, 77.
- [55] L. Nagyal, A. Kumar, R. Sharma, R. Yadav, P. Chaudhary, R. Singh*, *Curr. Bioact. Comp.*, 2020, **16**, 726.
- [56] N. Farrell, *Advances in DNA Sequence Specific Agents 2*, 1998, 187.

- [57] A. Hucke, G.Y. Park, O.B. Bauer, G. Beyer, C. Koeppen, D. Zeeh, C.A. Wehe, M. Sperling, R. Schroeter, M. Kantauskaite, Y. Hagos, U. Karst, S. J. Lippard, G. Ciarimboli, *Front. Chem.*, 2018, **6**, 180.
- [58] J.D. Braun, I.B. Lozada, C. Kolodziej, C. Burda, K.M.E. Newman, J. van Lierop, R.L. Davis, D.E. Herbert, *Nat. Chem.*, 2019, **11**, 1144.
- [59] A.A. Almaqwashi, W. Zhou, M.N. Naufer, I.A. Riddell, Ö.H. Yilmaz, S.J. Lippard, M.C. Williams, *J. Am. Chem. Soc.*, 2019, **141**, 1537.
- [60] W. Zhou, M. Almeqdadi, M. E. Xifaras, I. A. Riddell, Ö. H. Yilmaz, S.J. Lippard, *Chem. Commun.*, 2018, **54**, 2788.
- [61] R. Mondal, I.B. Lozada, R.L. Davis, J.A.G. Williams, D.E. Herbert, *Inorg. Chem.*, 2018, **57**, 4966.
- [62] P. Mandapati, P.K. Giesbrecht, R.L. Davis, D.E. Herbert, *Inorg. Chem.*, 2017, **56**, 3674.
- [63] P. Mandapati, J.D. Braun, C. Killeen, R.L. Davis, J.A.G. Williams, D.E. Herbert, *Inorg. Chem.*, 2019, **58**, 14808.
- [64] I.B. Lozada, T. Murray, D.E. Herbert, *Polyhedron*, 2019, **161**, 261.
- [65] A. S. Abu-Surrah, M. Kettunem, *Curr. Med. Chem.*, 2006, **13**, 1337.
- [66] A. S. Abu-Surrah, H. H. Al-Sa'doni, M. Y. Abdalla, *Cancer Th.*, 2008, **6**, 1.
- [67] T. Lazarevi, A. Rilak, Z.D. Bugar, *Eur. J. Med. Chem.*, 2017, **142**, 8.
- [68] A.R. Kapdi, I.J.S. Fairlamb, *RSC*, 2014, **43**, 4751.
- [69] H. Khan, A. Badshah, G. Murtaz, M. Said, Zia-ur-Rehman, Ch. Neuhausen, M. Todorova, B.J. Jean-Claude, I.S. Butler, *Eur. J. Med. Chem.*, 2011, **46**, 4071.
- [70] B.T. Khan, J. Bhatt, K. Najmuddin, S. Shamsuddin, K. Annapoorn, J. *Inorg. Biochem.*, 1991, **44**, 55.
- [71] O. Tokgun, D.E. Karakas, S. Tan, E.R. Karagür, B. İnal, H. Akca, F. Durap, A. Baysal, M. Aydemir, *Chem. Papers*, 2020, **74**, 2883.
- [72] M. Fanelli, M. Formica, V. Fusi, L. Giorgi, M. Micheloni, P. Paoli, *Coord. Chem. Rev.*, 2016, **41**, 310.
- [73] H. Farhangian, M.E. Moghadama, A. Divsalar, A. Rahiminezhad, *J. Biol. Inorg. Chem.*, 2017, **22**, 1055.
- [74] M. Heydari, M.E. Moghadam, A. Tarlani, H. Farhangian, *Appl. Biochem. Biotechnol*, 2017, **110**, 182.
- [75] T. Lazarevic, A. Rilak, Z. D. Bugarcic, *Eur. J. Med. Chem.*, 2017, **142**, 8.
- [76] G. Onar, C. Gürses, M.O. Karataş, S. Balcioğlu, N. Akbay, N. Özdemir, B. Ateş, B. Alici, J. *Organomet. Chem.*, 2019, **886**, 48.
- [77] M. Shabbir, Z. Akhter, A.R. Ashraf, H. Ismail, H. Anum, B. Mirza, *J. Mol. Struct.*, 2017, **1149**, 720.
- [78] L.E. Sarto, E.P. de Gois, G.G. de Andrade, M.S. de Almeida, J.T.J. Freitas, A. de Souza Reis Júnior, L.P. Franco, C. Torres, E.T. de Almeida, C.M.C. Paiva Gouvêa, *Antic. Res.*, 2019, **39**, 6693.
- [79] Z.X. Hu, N. Ma, J.H. Zhang, W.P. Hu, H.X. Wang, *Polyhedron*, 2014, **83**, 30.
- [80] R.C. Munteanu, K. Suntharalingam, *Dalton Trans.*, 2015, **44**, 13796.
- [81] D. Dey, A. Roy, A. Ranjani, L. Gayathri, S. Chandraleka, D. Dhanasekaran, M. Akbarsha, C.-Y. Shen, H.-L. Tsai, M. Maji, N. Kole, B. Biswas, *J. Chem. Sci.*, 2015, **127**, 649.
- [82] B.Y.K. Law, Y.Q. Qu, S.W.F. Mok, H. Liu, W. Zeng, Y. Han, F. Gordillo Martinez, W.K. Chan, K. Man-Chung Wong, V. Kam Wai Wong, *Oncotarget.*, 2017, **8**, 55003.

ZASTOSOWANIE ZWIĄZKÓW KOMPLEKSOWYCH RUTENU, ZŁOTA, WANADU, CHROMU, BIZMUTU, TECHNETU W MEDYCYNIE – CZĘŚĆ II

APPLICATION OF COORDINATION COMPOUNDS
OF RUTHENIUM, GOLD, VANADIUM, CHROMIUM,
BISMUTH, TECHNETIUM IN MEDICINE - PART II

**Marta Pawlak, Joanna Drzeżdżon*,
Dagmara Jacewicz**

*Wydział Chemii Uniwersytetu Gdańskiego,
ul. Wita Stwosza 63, 80-308 Gdańsk
e-mail: joanna.drzezdzon@ug.edu.pl

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

1. Związki koordynacyjne rutenu(II) i rutenu(III) jako leki przeciwnowotworowe
 - 1.1. Związki koordynacyjne rutenu(II) i rutenu(III) z ligandami N-heterocyklicznymi
 - 1.2. Związki koordynacyjne rutenu(II) i rutenu(III) z dimetylosulfotlenkiem
2. Związki koordynacyjne złota(I) i złota(III) jako potencjalne leki przeciwnowotworowe
3. Wanadylowe związki koordynacyjne o właściwościach hipoglikemicznych
4. Związki chromu(III) jako potencjalne insulinomimetyki stosowane w leczeniu cukrzycy
5. Związki koordynacyjne bizmutu(III) stosowane w terapii przeciwwrzodowej
6. Związki koordynacyjne technetu jako radiofarmaceutyki
7. Rola związków kompleksowych w obrazowaniu medycznym

Uwagi końcowe

Podziękowanie

Piśmiennictwo cytowane

Marta Pawlak - urodzona w 1998 r w Kutnie. Od 2017 roku studentka chemii ze specjalnością chemia biomedyczna na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego, gdzie obroniła pracę licencjacką oraz planuje kontynuację nauki na II stopniu studiów. Prace licencjacką realizowaną pod kierunkiem Profesor Dagmary Jacewicz obroniła w 2020 roku na Katedrze Chemii Ogólnej i Nieorganicznej. Temat pracy licencjackiej oraz zainteresowania skupiają się na zastosowaniu związków kompleksowych w medycynie.



<https://orcid.org/0000-0002-3871-1313>

Dr Joanna Drzeżdżon - jest pracownikiem Katedry Chemii Ogólnej i Nieorganicznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego. Ukończyła studia na kierunku Chemia na Wydziale Chemii UG w 2012 roku, tam również otrzymała w 2017 r. stopień doktora. Jej zainteresowania naukowe dotyczą badań nad syntezą oraz właściwościami fizykochemicznymi związków koordynacyjnych jonów metali przejściowych, a także zastosowań związków kompleksowych chromu(III), wanadu(IV) oraz kobaltu(II) jako katalizatorów polimeryzacji olefin. Jest współautorką 48 publikacji naukowych w czasopismach o zasięgu międzynarodowym, a także 2 zgłoszeń patentowych.



<https://orcid.org/0000-0002-9964-3027>

Dr hab. Dagmara Elżbieta Jacewicz, prof. nadzw. - UG urodziła się 30 września 1976 roku w Bolesławcu. Po ukończeniu szkoły podstawowej kontynuowała tamże edukację w I Liceum Ogólnokształcącym im. Władysława Broniewskiego. Studiowała na Wydziale Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, gdzie w 2001 roku obroniła pracę magisterską. W tym samym roku rozpoczęła studia doktoranckie na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego (UG). Pracę doktorską obroniła w 2005 roku, za którą otrzymała nagrodę Oddziału Gdańskiego Polskiego Towarzystwa Chemicznego. W lipcu 2015 roku uzyskała stopień naukowy doktora habilitowanego na Wydziale Chemii UG. Od 2004 roku pracuje na Wydziale Chemii jako asystent, adiunkt i profesor nadzwyczajny (od 2016). Jej zainteresowania badawcze koncentrują się na chemii związków kompleksowych, kinetyce reakcji oraz na biosensorach molekularnych, a w szczególności na ich zastosowaniach do oznaczania tlenku azotu(IV) i tlenku węgla(IV) w materiale biologicznym. Jej dorobek naukowy obejmuje ponad 100 prac naukowych, z czego 88 to publikacje wydane w czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Jest współautorką ponad 100 komunikatów naukowych na konferencjach krajowych i międzynarodowych.



<https://orcid.org/0000-0002-9964-3027>

ABSTRACT

In this review, the most important complex compounds of ruthenium, gold, vanadium, chromium, bismuth, technetium were selected, and then their most important applications were described in medicine.

Ruthenium has been identified as a metal with potential medical use, useful in cancer chemotherapy. The possibility of using its chemical behavior by developing complexes activated for cytotoxic activity through a mechanism of reduction in tumor tissue was discovered. Among the new anti-cancer drugs based on complex compounds, gold compounds have gained a lot of interest. This is due to their strong inhibitory effect on the growth of cancer cells and the observation that many compounds inhibit the enzyme thioredoxin reductase. This enzyme is important for the proliferation of cancerous tissues, and its inhibition is associated with the release of anti-mitochondrial effects. Clinical tests have shown that vanadium compounds can be used as anti-diabetic drugs with low toxicity. However, the therapeutic concentration range is very narrow, just a few micromoles of the compound are enough to cause apoptosis, necrosis and inflammation of healthy cells. Chromium improves the glucose system in people with hypoglycemia or hyperglycemia. Vanadium compounds mainly used to create potential drugs are inorganic compounds such as vanadates(V), vanadyl cation(IV), vanadium oxide(V) and a number of compounds containing organic ligands. Among the metal complexes, chromium(III) picolinate has successfully become a nutrient used to prevent high blood sugar levels. One of the most commonly used bismuth(III) compounds is bismuth subsalicylate. It is one of the few bismuth compounds regularly used to treat various gastrointestinal complaints, including duodenal ulcers.

^{99m}Tc injected into the body, depending on its chemical form and molecular structure, concentrates in the examined organ and emits a quantum that allows imaging of the organ through flat scintigraphic or emission processes. The role of complex compounds in medical imaging is largely based on the creation of radiopharmaceuticals for early detection of diseases and cancer radiotherapy. Radiopharmaceuticals are radionuclide-containing drugs and are routinely used in nuclear medicine to diagnose or treat a variety of diseases.

Keywords: complex compounds, radiopharmaceuticals, medical imaging, hypoglycemic properties

Słowa kluczowe: związki kompleksowe, radiofarmaceutyki, obrazowanie medyczne, właściwości hipoglikemiczne

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

CD44	– glikoproteina na powierzchni komórki zaangażowana w interakcje międzykomórkowe
DLC	– grupy zdelokalizowanych kationów lipofilowych
GTF	– (ang. <i>glucose tolerance factor</i>) czynnik tolerancji glukozy
RBC	– liczba erytrocytów
RNS	– (ang. <i>reactive nitrogen species</i>) reaktywna forma azotu
ROS	– (ang. <i>reactive oxygen species</i>) reaktywna forma tlenu
SPECT	– (ang. <i>single photon emission computed tomography</i>)
TrxR	– enzym reduktazy tioredoksyny
WBC	– krwinki białe

WPROWADZENIE

Na przestrzeni ostatnich dekad zsyntetyzowano ogromną ilość związków kompleksowych zawierających w centrum koordynacji jony: rutenu [1, 2], złota, wanadylu, chromu, bizmutu oraz technetu. Związki kompleksowe zbudowane są z atomu lub jonu metalu bezpośrednio związanych z otaczającymi go ligandami - anionami lub obojętnymi cząsteczkami. Metale oraz jony metali odgrywają ważną rolę w procesach biologicznych i biomedycznych oraz znajdują coraz większe zastosowanie w diagnostyce medycznej i terapii wielu schorzeń [3-5]. Związki rutenu, złota, wanadylu, chromu, bizmutu oraz technetu przebadano w kierunku aktywności biologicznej [6-8]. Wyniki tych badań dowodzą, że wybrane kompleksy mogą zostać wykorzystane w medycynie [9, 10]. Ostatnimi czasy najwięcej uwagi poświęca się kompleksom metali przejściowych jako potencjalnym lekom przeciwnowotworowym. Jednakże mimo ugruntowanej pozycji *cisplatyny* terapia tym lekiem niesie ze sobą wiele skutków ubocznych, dlatego też trwają intensywne prace nad projektowaniem nowych, skuteczniejszych leków przeciwnowotworowych, których podstawę stanowi atom lub jon metalu, np. związki kompleksowe rutenu [11-13], czy złota [14-18]. Wykazują one wysoką aktywność przeciwnowotworową, a mechanizm ich działania jest odmienny od tego, który cechuje *cisplatinę* i jej pochodne [19-22].

Z kolei związki kompleksowe chromu i wanadu stosowane są jako związki o potencjale hipoglikemizującym wspomagając tradycyjne leczenie cukrzycy [23-31]. Obecnie związki kompleksowe zawierające jon chromu(III) są jednymi z najbardziej kontrowersyjnych związków, a wiedza o ich roli w organizmach żywych jest stale uzupełniana [32, 33].

Inne zastosowanie w medycynie wykazują związki koordynacyjne technetu. Stosuje się je jako radiofarmaceutyki. Radiofarmaceutyki są to z reguły związki koordynacyjne z kationem radionuklidu jako jodem centralnym, które są przyłączone do cząsteczki biologicznie czynnej. Obecnie w diagnostycznych metodach medycyny nuklearnej wykorzystywana jest tomografia emisyjna pojedynczych fotonów, powszechnie nazywana SPECT (ang. *Single Photon Emission Computed Tomography*), wykorzystująca radionuklidy emitujące promieniowanie γ . Najbardziej rozpowszechnione w metodzie SPECT są związki technetu-99m ze względu na jego praktycznie idealną charakterystykę jądrową (czas połowicznego rozpadu 6 godzin, energia 140 keV), możliwość podania jednorazowo bezpiecznej dawki rzędu 740-1110 MBq oraz bardzo bogatą chemię koordynacyjną [34-36].

W niniejszej pracy przeglądowej wybrano najważniejsze związki kompleksowe rutenu, złota, wanadu, chromu, bizmutu, technetu, a następnie opisano ich najważniejsze zastosowania medycynie.

1. ZWIĄZKI KOORDYNACYJNE RUTENU(II) I RUTENU(III) JAKO LEKI PRZECIWNOWOTWOROWE

1.1. ZWIĄZKI KOORDYNACYJNE RUTENU(II) I RUTENU(III) Z LIGANDAMI N-HETEROCYKLIKZNYMI

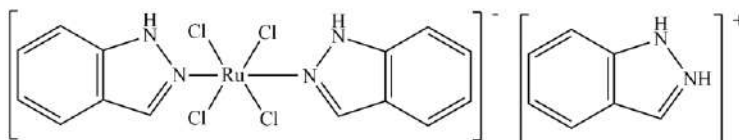
Badania nad kompleksami rutenu są na zaawansowanym etapie rozwoju przedklinicznego. Ruten został wybrany jako metal o potencjalnym zastosowaniu medycznym. Jest przydatny w chemioterapii nowotworu. Odkryto możliwość wykorzystania jego właściwości chemicznych przez opracowanie kompleksów rutenu(II) i (III) aktywowanych do działania cytotoksycznego poprzez mechanizm redukcji w tkance nowotworowej. Zsyntetyzowano i przeanalizowano szereg kompleksów rutenu, zawierających w sferze koordynacyjnej ligandy N-heterocykliczne. Wykazują one interesujące efekty przeciwnowotworowe w modelach zwierzęcych [37-40].

Wiele kompleksów Ru(II) o działaniu przeciwnowotworowym zostało zsyntezowane z pochodnymi pirydyny, pirazyny, pirymidyny, 2,2'-bipirydyny, 4,4'-bipirydyny, 1,10-fenantroliny i N-podstawionym tiosemikarbazydem. Badano wpływ tych kompleksów na wzrost komórek mysiego nowotworu (Ehrlich AscitesRak). Niektóre kompleksy spowodowały znaczne zmniejszenie objętości guza. Leczenie kompleksami rutenu przedłużyło długość życia myszy chorych na nowotwór. Dzięki zastosowaniu związków koordynacyjnych rutenu, zawierających w sferze kompleksowej chelatowe ligandy, nastąpiło zahamowanie nowotworu oraz poprawa wartości hemoglobiny, RBC i WBC. Wyniki sugerują, że kompleksy rutenu(II) wykazują działanie przeciwnowotworowe. Wyniki również pokazują, że lek nie wpływa niekorzystnie na profile hematologiczne [38].

Związek kompleksowy dichlorobis(2-fenylaozopirydyna) rutenu(II), $[Ru(azpy)_2Cl_2]$, jest w trakcie badań nad jego potencjalną aktywnością przeciwnowotworową. Wszystkie pochodne związku dichlorobis(2-fenylaozopirydyna) rutenu(II) są wysoce cytotoksyczne. Związki takie jak $[Ru(azpy)_2(cbdc-a-O,O')]$, $[Ru(azpy)_2(ox)]$ i $[Ru(azpy)_2(mal)]$, zostały zsyntetyzowane i w pełni scharakteryzowane pod kątem właściwości fizykochemicznych. Cytotoksyczność tej serii rozpuszczalnych w wodzie kompleksów bis(2-fenylpirydyny) została określona w ludzkim nowotworze jajnika A2780 i A2780, które były odporne na działanie *cis*platyny [38].

Ważny jest również nowo otrzymany kompleks przeciwnowotworowy rutenu(III) *trans*-tetrachlorobis(1H-indazol) rutenian(III), czyli KP1019 (Rys. 1). Związek ten przeszedł przez pierwszy etap badań klinicznych. Po podaniu dożylnym KP1019 silnie wiąże się z białkami osocza, głównie z albuminami i w mniejszym stopniu również z transferrynami. Dokładny mechanizm działania nie jest jeszcze w pełni wyjaśniony. Ważnym etapem tego mechanizmu jest wiąza-

nie do transferryny poprzez zajęcie miejsca wiązania jonów żelaza(II) i transport do komórki przez transferryno-receptory. Komórki nowotworowe posiadają wysokie zapotrzebowanie na żelazo, co powoduje ekspresję dużej liczby receptorów transferryny i kumulację kompleksów rutenu(III) w komórkach nowotworowych. Wewnątrz komórki kationy rutenu(III) są uwalniane z transferryny i redukowane do kationu rutenu(II) [39].



Rysunek 1. KP1019 – związek kompleksowy *trans*-[tetrachlorobis(1H-indazolo)rutenian(III)]
Figure 1. KP1019 – complex compound *trans*-[tetrachlorobis(1H-indazole)ruthenate(III)]

W ostatnich latach zsyntezowano wiele nowych związków kompleksowych rutenu o działaniu antynowotworowym np. organometaliczne kompleksy Ru(II) zawierające 2,2'-bis(4,5-dimetyloimidazol), które nie wykazują działania cytotoksycznego na komórki zdrowe linii BALB/3TC [41-46].

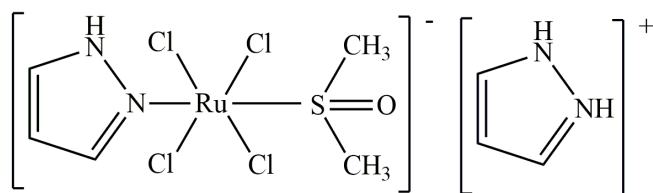
1.2. ZWIĄZKI KOORDYNACYJNE RUTENU(II) I RUTENU(III) Z DIMETYLOSULFOTLENKIEM

Pierwszymi kompleksami rutenu(III) zbadanymi pod kątem ich działania przeciwnowotworowego były związki chloro-amino-Ru(III), takie jak *fac* – RuCl₃(NH₃)₃ i [*cis*-RuCl₂(NH₃)₄]Cl oraz dwa izomery chloro-dimetylosulfotlenku-Ru(II), *cis* i *trans*-RuCl₂(DMSO). Wykazano, że dimetylosulfotlenek ma dobre właściwości przeciwnowotworowe, a przede wszystkim przeciwbólowe dla modeli zwierzęcych. Spośród leków przeciwnowotworowych opartych na rutenie uważa się, że kompleksy DMSO (dimetylosulfotlenek) mają wielki potencjał, ponieważ są bardzo selektywne wobec przerzutów oraz posiadają bardzo niską toksyczność. Większość kompleksów Ru(II) wykazuje duże powinowactwo do ligandów S-donorowych. Z kolei związki koordynacyjne Ru(III) przeciwnie, czyli nie wykazują powinowactwa do ligandów S-donorowych, co sprzyja wiązaniu O- DDOR [37-40].

Na[*trans*-RuCl₄(DMSO)Im] jest kompleksem rutenu(III), który charakteryzuje się właściwościami przeciwnowotworowymi. Kompleks ten jest zdolny do zmniejszania wzrostu guza pierwotnego i przedłużania czasu przeżycia chorego. Posiada on lepsze właściwości cytotoksyczne i w większym stopniu zabija komórki nowotworowe niż *cis*platina. Jego działanie polega na zmniejszaniu powstawania przerzutów. Działanie antymetastatyczne czyli przeciwdziałanie przerzutom nowotworu, zależy od schematu leczenia i jest większe w przypadku podawanych codziennie małych dawek niż w przypadku dużych dawek podawanych

w odstępach czasowych. Kompleks ten wykazuje właściwości przeciwnowotworowe w połączeniu z innymi badanymi analogami, ale w przeciwieństwie do wielu z nich jego jonowy charakter pozwala na lepszą rozpuszczalność w wodnych rozpuszczalnikach, co ułatwia jego podawanie pacjentom chorym na nowotwory [47].

Dużym odkryciem dotyczącym połączenia rutenu z dimetylosulfotlenkiem było zsyntezowanie NAMI-A (Rys. 2). Lek ten selektywnie ogranicza tworzenie i wzrost przerzutów nowotworów złośliwych. Próbowano poznać dokładny mechanizm działania tego związku. Badania *in vitro* wykluczały działanie podobne do *cis*platyny i wykazały wpływ na proliferację komórek. Jednak dokładny mechanizm nie został do tej pory poznany. Oprócz zatrzymania cyklu komórkowego, leczenie NAMI-A powoduje modyfikację błony komórkowej, obniżoną ekspresję CD44 i zmniejszoną zdolność inwazji w komórkach przerzutowych. NAMI-A przeszedł I fazę kliniczną. Po badaniu u pacjentów wykazujących dobre wyniki oceniono, że NAMI-A jest nietoksyczny w szerokim zakresie dawek, nie wykazując efektów ubocznych. *Trans*-tetrachloro(dimetylosulfotlenek)imidazolo-rutenian(III) ulega dość szybko hydrolizie, tworząc szereg potencjalnie aktywnych analogów. NAMI-A bierze udział w szeregu procesów hydrolitycznych, których charakter i szybkość zależą w dużym stopniu od pH [37, 40].



Rysunek 2. NAMI-A – związek kompleksowy imidazoliowy-*trans*-tetrachloro(dimetylosulfotlenek)imidazole-rutenian(III)

Figure 2. NAMI-A – imidazolium-*trans*-tetrachloro(dimethylsulfoxide)imidazolruthenium(III) complex compound

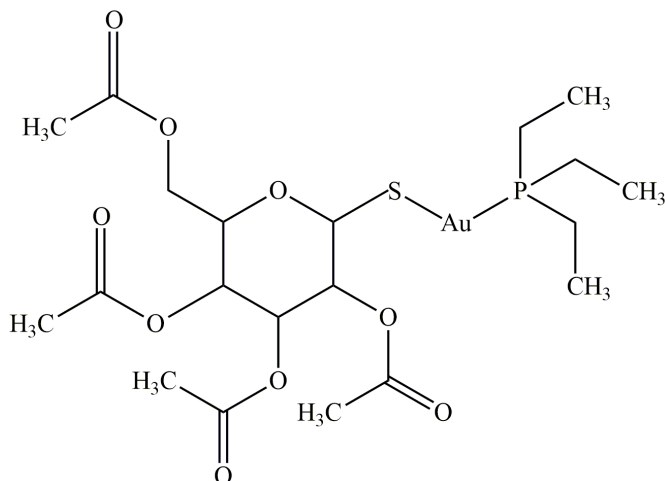
Kompleksy typu $[\text{Ru(II)Cl}_2(\text{DMSO})_2\text{L}]$ zostały zsyntezowane jako próba połączenia potencjalnej aktywności przeciwnowotworowej metali i wolnych ligandów. Ich działanie przeciwnowotworowe *in vitro* badano w modelach komórkowych i kompleksy okazały się niecytotoksyczne dla guza w badanych liniach komórkowych, jak również w warunkach tlenowych [38].

$\text{Na}[\text{trans-RuCl}_4(\text{DMSO})(\text{PyrDiaz})]$ (PyrDiaz oznacza N^1 -(4-izopropylfenyl)- N^2 -(pirydyno-2-ylmetylo)diazen-1,2-dikarboksamid) to zsyntezowany kolejny związek kompleksowy o właściwościach przeciwnowotworowych [48, 49]. Związek ten jest analogiem NAMI-A.

2. ZWIĄZKI KOORDYNACYJNE ZŁOTA(I) I ZŁOTA(III) JAKO POTENCJALNE LEKI PRZECIWNOWOTWOROWE

Wśród nowych leków przeciwnowotworowych bazujących na związkach kompleksowych duże zainteresowanie zyskały związki złota. Spowodowane jest to ich silnym działaniem hamującym wzrost komórek nowotworowych oraz inhibicją enzymu reduktazy tioredoksyny (TrxR). TrxR jest istotny dla proliferacji tkanek nowotworowych, a jego hamowanie związane jest z wyzwaniem efektów antymitochondrialnych. Leki wykazujące opisany efekt to związki kompleksowe złota(I), (II) lub (III) [50, 52].

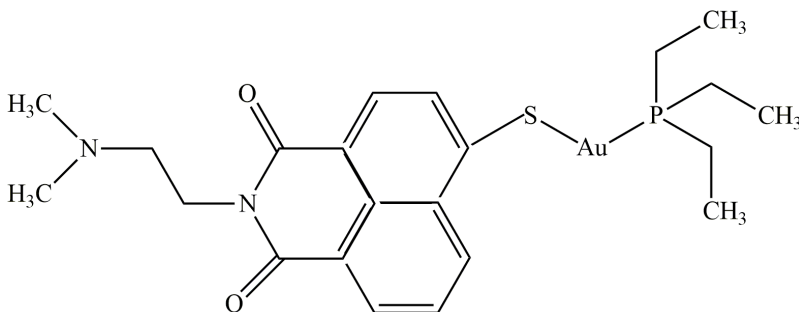
Jednym z ważnych przykładów kompleksu złota(I) jest auranofina (Rys. 3). Jest to obojętny, liniowy kompleks fosfinowy złota(I), który zawiera ligand cukrowy. Struktura ta wykazuje duże właściwości przeciwproliferacyjne, dlatego związek ten i jego analogi są szeroko badane. Badania zależności struktura-aktywność auranofiny wykazały, że ważną rolę odgrywa ligand fosfinowy. Zaobserwowano, że indukcja apoptozy przez auranofinę pośredniczy w hamowaniu cytosolicznych i mitochondrialnych form TrxR oraz towarzyszy temu wzrost poziomu nadtlenku wodoru w komórkach. Auranofina powoduje zwiększenie stężenia utlenionej formy TrxR w komórkach i powstanie reaktywnych form tlenu, które powodują uszkodzenia DNA i apoptozę komórek. Związek ten może oddziaływać z kilkoma białkami wewnątrzkomórkowymi powodując proliferację i hamowanie szlaków sygnałowych w progresji nowotworu [50, 52].



Rysunek 3. Auranofina

Figure 3. Auranofin

Au-Naphth-1 (Rys. 4) to kolejny związek złota(I), który jest analogiem trietylofosfiny, auranofiny oraz naftalimidu. Jako bioaktywny ligand wybrano grupę naftalimidową bazując na obiecujących wynikach przedklinicznych leków zawierających naftaimid. Au-Naphth-1 wykazywał inhibicję wzrostu komórek, indukcję apoptozy oraz hamowanie TrxR. Badania spektrofotometryczne wykazały, że związek ten wiąże się kowalencyjnie z resztą cysteinową powodując utratę ligandu tionaftalimidowego. Ocena biodystrybucji wykazała, że związek ten jest pobierany do przedziałów komórek nowotworowych oraz że transport złota(I) do jąder został zwiększony [50].



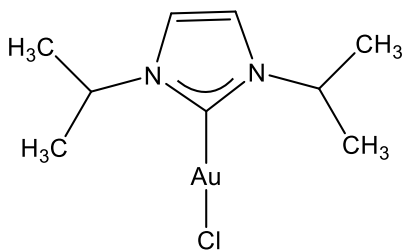
Rysunek 4. Au-Naphth-1 – fosfinowy związek kompleksowy złota(I)

Figure 4. Au-Naphth-1- gold(I) phosphine complex compound

Właściwości biologiczne zostały ostatnio wykazane również dla kompleksów złota(I) zawierającego w sferze koordynacyjnej ligandy fosfocyklopentadienowe. Okazały się one być silnymi inhibitorami TrxR oraz pokrewnymi w działaniu do reduktazy glutationowej. Związek GoPi jest prawdopodobnie najsilniejszym jak dotąd inhibitorem reduktazy glutationowej. Cukrowy analog GoPi, w którym ligand chloru został zastąpiony przez ugrupowanie węglanowodorowe auranofiny, wykazywał lepszą stabilność, hamowanie TrxR i wyzwał działanie cytotoksyczne w komórkach nowotworu piersi MCF-7 [50].

Duże nadzieje pokłada się również w kompleksach złota(I) z przyłączonymi ligandami fosfinowymi. Głównym związkiem tej klasy jest $[\text{Au}(\text{dppf})_2]^+$. Jest to tetraedryczny kompleks złota(I), który wykazuje aktywność przeciwnowotworową oraz indukuje sieciowanie białek oraz pękanie nici DNA w komórkach. Badania fizykochemiczne wykazały korelację między lipofilnością leku a wychwytem komórkowym i aktywnością. Związek ten należy do grupy zdelokalizowanych kationów lipofilowych (DLC), które mogą przejść przez błony komórkowe i gromadzą się w mitochondriach [50].

Prowadzone są również badania nad karbenowymi kompleksami złota(I). Jest to seria kompleksów złota(I) z N-heterocyklicznymi ligandami karbenowymi (Rys. 5). Przykładami takich związków są chlorek (1-butylo-3-metyloimidazolo-2-iliden) złota(I) oraz bis(1-butylo-3-metyloimidazolo-2-iliden) złoto(I). Związki te w składają się z centralnie położonego kationu złota(I), skoordynowanego liniowo N-heterocyklicznego ligandu karbenowego, jednego ligandu chlorkowego lub dwóch ligandów karbenowych. Oba związki wykazują silne właściwości cytotoksyczne przeciwko komórkom nowotworu jajnika A2780R. Badania wykazały, że kompleksy te są wysoce stabilne w buforach o pH fizjologicznym. Wykazano również, że związki te są obiecującymi środkami przeciwo proliferacyjnymi. Wykazują one silne działanie biologiczne poprzez selektywną metylację oraz upośledzenie kilku kluczowych białek komórkowych [50, 51].



Rysunek 5. Karbenowy kompleks złota(I)
Figure 5. The carbene gold(I) complex

Jest również wiele związków złota(I), których nie można przypisać do żadnej konkretnej grupy, ale również wykazują aktywność przeciwnowotworową. Niską wartość inhibicji enzymów uzyskano dla związku trifenylfosfiny złota(I) z ligandami sulfonylopropenianowymi dla komórek nowotworowych szyjki macicy. Wolne ligandy były pozbawione tej aktywności. Kompleksy złota(I) z 7-kumaryną wykazały lepsze efekty cytotoksyczne niż *cisplatina* oraz działały na komórki na nią odporne. Podobne wyniki zaobserwowano również dla pochodnej witaminy K3 t.j. [AuPtEt₃(K₃TSC)].

Obiecującą klasą leków terapeutycznych są kompleksy złota(III), jednak ich rozwój jest utrudniony przez ich niską stabilność w warunkach fizjologicznych. Badane są kompleksy złota(III) z ligandami N-donorowymi. Analizowane są również kompleksy złota(III) z ligandami O-, Cl-, S-, oraz C- donorowymi [50, 53].

Związki złota(III) z ligandami N-donorowymi stanowią największą klasę związków i wiele z nich wykazuje działanie terapeutyczne. Przykładem mogą być dwa związki chlorku złota(III) z ligandami pirydyny. [AuCl₃(Hpy)] i [AuCl₂(py)]

wykazują wysoką aktywność cytotoksyczną względem komórek nowotworowych jajnika. Oba kompleksy wiążą się z DNA i są stosunkowo trwałe w rozpuszczalnikach organicznych. Również kompleksy Au-azpy, zawierające bidentny ligand, wykazywały obiecującą cytotoksyczność w stosunku do komórek odpornych na *cisplatinę*. Związki złota(III) z ligandami będącymi pochodnymi amidrazonu wykazywały wysoką cytotoksyczność. Związki te wykazywały hamujące działanie w nowotworze okrężnicy, związków dwujądrowych, które zawierały wspólną część t.j. $[Au_2O_2]$ i bidentne ligandy bispirydylowe oraz dla tetra-aryloporfiryn złota(III), które pośredniczą w szlakach apoptycznych. Jest jeszcze Bamet-A1, który reprezentuje biokoniugat złota(III) z kwasem żółciowym. Związek ten wykazywał działanie antyproliferacyjne w różnych liniach komórek nowotworowych [54].

Spośród związków kompleksowych złota(III) z ligandami S-donorowymi na szczególną uwagę zasługują połączenia złota(III) z ditiokarbaminianami. Wykazują one bardzo dobre efekty cytotoksyczne oraz są aktywowane w komórkach opornych na *cisplatinę* indukując w nich apoptozę. Są stabilne w warunkach fizjologicznych, łatwo wiążą się z DNA oraz hamują syntezę DNA i RNA. Eksperymenty na krwinkach czerwonych wykazały, że posiadają one właściwości hemolityczne, które znacząco przyczyniają się do bioaktywności tych związków. Aktywność przeciwnowotworową potwierdzono również dla związków $[(ESDT)AuBr_2]$ oraz dla soli złota(III): $KAuCl_4$ i $KAuBr_4$. W przypadku stosowania $[(ESDT)AuBr_2]$ potwierdzono hamowanie aktywności proteasomu 20S i 26S w komórkach raka piersi, natomiast sole złota(III) wykazywały słabszą aktywność i selektywność [54].

Istnieją również połączenia złoto(III)-węgiel. Badano serie kompleksów 2-fenylpirydyny złota(III) o ogólnym wzorze $[Au(ppy)(SCN)(NCS)]$ i okazały się mieć lepszą aktywność przeciwnowotworową niż *cisplatina*. Kompleksy złota(III) z ligandami 2[(dimetyloamino)metyl]fenyłowymi również były aktywne przeciwnowotworowo zarówno w badaniach *in vitro* jak i *in vivo*. Bardziej szczegółowe badania nad $[Au(acetato)_2(damp)]$ wykazały, że związek ten nie powoduje krzyżowania między niciami DNA i indukuje zmiany cyklu komórkowego [54].

Wśród związków kompleksowych złota(I) wyróżnia się N-heterocykliczne karbenowe związki kompleksowe o właściwościach cytotoksycznych wobec zdrowych jak i nowotworowych komórek płuc i trzustki [55-61].

2. WANADYLOWE ZWIĄZKI KOORDYNACYJNE O WŁAŚCIWOŚCIACH HIPOGLIKEMICZNYCH

Przeprowadzono serię badań nad chemią związków koordynacyjnych wanadu i na ich podstawie wyciągnięto wnioski, że wykazują one właściwości insulinomimetyczne oraz hipoglikemiczne. Związki te zwiększają aktywność insulinopodobnego receptora, stymulują syntezę glikogenu, zwiększają liczbę transporterów GLUT-4 w błonie komórkowej oraz osłabiają glukoneogenezę. Oprócz wpływu na metabolizm cukru, odpowiadają też za zwiększenie syntezy kwasów tłuszczowych, zmniejszając stężenie glukozy we krwi [62].

Testy kliniczne wykazały, że związki wanadu można stosować jako leki przeciwcukrzycowe o niskiej toksyczności. Jednak zakres stężeń terapeutycznych jest bardzo wąski, wystarczy kilka mikromoli związku, aby spowodować apoptozę, martwicę i stany zapalne zdrowych komórek [62].

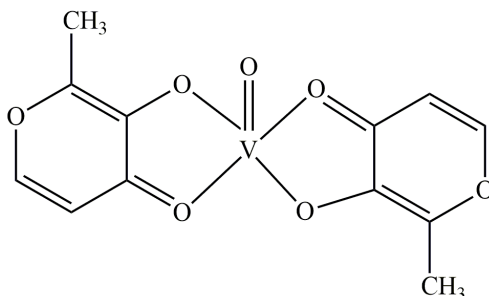
Związkami wanadu głównie wykorzystywanymi do tworzenia potencjalnych leków są związki nieorganiczne takie jak wanadany(V), kation wanadylowy(IV), tlenek wanadu(V) oraz szereg związków wanadu zawierających ligandy organiczne [62].

Większość komórek zawiera receptory insuliny wbudowane w ich membrany. IR jest to białko transbłonowe kinazy tyrozynowej z dwoma podjednostkami wystawionymi na zewnątrz komórki i zanurzonymi w cytozolu. Kiedy insulina dostaje się do podjednostek, reszty tyrozynowe, podjednostki wewnątrzkomórkowej IR, ulegają fosforylacji, co odpowiada aktywacji IR. W ten sposób inicjowana jest biochemiczna kaskada sygnalizująca insulinę, która obejmuje kilka zdarzeń post-receptorowych, kończąc na aktywacji transportera glukozy (GLUT4). Tak więc fosforylacja IR powoduje fosforylację substratów IR, IRS oraz białek wewnątrzkomórkowych zawierających reszty tyrozyny. Aktywacja IRS z kolei inicjuje kaskadę sygnalizacyjną, w trakcie której kinazy takie jak kinaza 3-fosfatydyloinozytolu (PI3K), kinaza białkowa B (PKB / Akt) i kinaza syntezy glikogenu-3 (GSK3) są aktywowane. PKB, które wiąże aniony fosforanowe(V) przez reszty Tyr lub Ser, a następnie są celowane w GLUT4, transporter glukozy, który jest przenoszony na powierzchnię komórki i pobiera glukozę [62-64].

W przypadku braku insuliny lub w przypadku nieodpowiedniej ilości insuliny w organizmie, IR przeciwdziała białkowa fosfataza tyrozynowa (PTP-1B). W rezultacie sygnalizacja załamuje się. Związki wanadu wiążą się z miejscem aktywnym, w PTP-1B i w konsekwencji dezaktywują go, utrzymując aktywność ścieżek przekazywania sygnałów wychwyty dla glukozy [62-64].

Kluczowym związkiem, który posiada takie właściwości jest bis(malto)oksywanad(IV) czyli BMOV (Rys. 6) oraz jego pochodne. Podobnie jak inne związki jest on kompetycyjnym inhibitorem fosfatazy, który głównie

powoduje hamowanie fosfatazy w komórkach oraz wzmacnia autofosforylacje receptorów insuliny. Badania wykazały, że jego aktywnym składnikiem jest $(VO)_4$. Po podaniu tego kompleksu, ligand maltolowy oddziela się od jonu metalu, a białka transportowe, takie jak transferyna, rozprzodają pierwiastek wewnątrzkomórkowo [63].



Rysunek 6. BMOV – związek kompleksowy bis(maltolato)oksowanadu(IV)

Figure 6. BMOV - bis(maltolato)oxovanadium(IV) complex compound

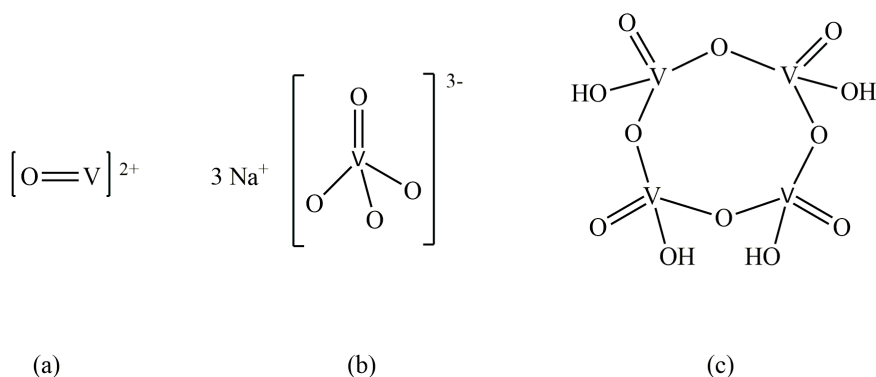
Aktywność taka została również potwierdzona dla kompleksu $VO(dph)_2$. Kompleks ten hamują PTP-B1 i aktywują kinazę 3-fosfatydyloinozytolu poprzez wzmocnienie fosforylacji tyrozynowej IR i IRS [63].

Związki koordynacyjne wanadu mogą mieć zastosowanie również jako nośniki, które w połączeniu z organicznymi ligandami ułatwiają wnikanie do ciała. Przy niskim lub wysokim pH może dojść do utraty jednego lub wszystkich ligandów nośnikowych i przekształcenia związku w inne odrębne kompleksy lub związki nieorganiczne. Ligandy nośnikowe mają duży wpływ na skuteczność związku poprzez określenie resorpcji, transportu i stabilności kompleksu, a tym samym dostępności biologicznej. Związki te są wyjątkowo nietrwałe, prawdopodobnie ulegają hydrolizie [62-64].

Wanad tworzy również sole nieorganiczne, w których występuje na stopniu utlenienia +IV i +V. Najważniejszym związkiem nieorganicznym wanadu na stopniu utlenienia +IV jest kation wanadylowy(IV). Wanad na stopniu utlenienia +V tworzy wanadany, w tym np. ortowanadan sodu (Rys. 7). Sole nieorganiczne mogą działać poprzez inhibicje PTP-1B, jednak ich działania są słabsze w porównaniu do związków zawierających ligandy organiczne. Badania sugerują, że lepsze działanie związków wanado-organicznych w porównaniu ze związkami nieorganicznymi wynika z większej biodostępności tych związków [65].

Najwcześniej udokumentowanym działaniem nieorganicznych soli wanadu jest działanie ortowanadanu sodu (Na_3VO_4), które zostało opublikowane 22 lata przed odkryciem insuliny. Zauważono wtedy, że doustne podanie wanadanu sodu zmniejszyło glukozurię u 2 na 3 chorych na cukrzycę pacjentów. Jednak działanie

to zostało długo niezauważone. Dopiero w późniejszym czasie wykazano, że kilka nieorganicznych związków wanadu podobnych do insuliny stymulowało transport glukozy, zwiększyło syntezę glikogenu w szczurzej przeponie i hepatocytach oraz zahamowało glukoneogenezę w komórkach jego wątroby. Przeprowadzono szereg badań, które ujawniają działanie insulinomimetyczne nieorganicznych związków wanadu [65].



Rysunek 7. Związki wanadu a) kation wanadylu b) wanadan sodu c) ortowanadan
Figure 7. Vanadium compounds a) vanadyl cation b) sodium vanadate c) orthovanadate

Kolejne badania dowiodły, że interakcje związków zawierających kation wanadylowy(IV) z komórkowymi procesami redoks są ważne w leczeniu cukrzycy. Kompleksy te powodują wzrost ROS i RNS. Zatem ROS wytwarzany dodatkowo lub alternatywnie przez $[VO(OH)_3]$ lub H_2VO_4 może być również odpowiedzialny za hamowanie PTP-1B przez utleniające działanie na obecną w tym związku cysteinę. Zasugerowano również, że stabilność związku i zdolność do interakcji z komórkowymi reakcjami redoks są bardzo ważnymi aspektami działania wzmacniającego insulinę wywieranego przez związki wanadu [62].

Na ludziach przetestowano już wiele różnych związków wanadu, zarówno organicznych jak i nieorganicznych. Główną wadą większości z nich było podrażnienie żołądkowo-jelitowe. Dlatego celem badań było zsyntezowanie nowych związków wanadu w celu poprawy wchłaniania, a tym samym zmniejszenia wymaganej dawki oraz złagodzenia podrażnień żołądka. Niestety wadą związków wanadu jest również ich toksyczność. Terapeutyczne działanie tych związków jest bardzo wąskie. W małych ilościach siarczan(VI) wanadylu jest cytotoksyczny i hamuje proliferację komórek, jednak w większym stężeniu związki wanadu mogą sprzyjać zwiększeniu aktywności cPLA, a następnie syntezy PGE. To pokazuje, że związki wanadu jako środki terapeutyczne należy stosować z dużą

dożą ostrożności [62-65]. Związki kompleksowe wanadu(V) z ligandami hydrazonowymi, a także z zasadami Schiffa posiadają właściwości zbliżone do insuliny [66-72]. Właściwości te zostały potwierdzone badaniami na komórkach mięśniowych linii C₂C₁₂.

4. ZWIĄZKI CHROMU(III) JAKO POTENCJLANE INSULINOMIMETYKI STOSOWANE W LECZENIU CUKRZYCY

Wykazano, że chrom w stanie trójwartościowym odgrywa kluczową rolę w metabolizmie węglowodanów poprzez poprawę sygnalizacji insuliny. W tej postaci jest on również najstabilniejszą formą chromu. Chrom poprawia poziom glukozy u osób chorujących na hipoglikemię lub hiperglikemię. Chrom jest pierwiastkiem, który jest niezbędny w diecie i zalecane jest jego codzienne spożycie. Chrom jest również składnikiem czynnika tolerancji glukozy. To właśnie dzięki temu czynnikowi przy udziale anionu wodorosiarczkowego poprawiane jest wiązanie insuliny z jej receptorami. Dokładny mechanizm działania chromu na insulinę nie jest do końca poznany. Początkowo zaobserwowano, że podanie chromu powoduje obniżenie poziomu glukozy we krwi. Suplementacja związkami chromu zwiększa również wiązanie insuliny z krwinkami czerwonymi. Wynika to przede wszystkim ze zwiększonej liczby receptorów insuliny. Dzięki przeprowadzonym badaniom stwierdzono, że mechanizm wpływu chromu na działanie insuliny może być związany również z obniżeniem stężenia fosfatazy tyrozynowej, która przez defosforylację reszt tyrozynowych dezaktywuje białka kaskady pobudzenia receptora insulinowego, wygaszając działanie insuliny [73-79].

Czynnik tolerancji glukozy jest to naturalnie występujący w organizmie składnik diety wymagany do utrzymania fizjologicznej tolerancji glukozy. Niedobór GTF charakteryzuje się opóźnionym usuwaniem glukozy z krwiobiegu. GTF można frakcjonować metodami fizycznymi i chemicznymi z naturalnych materiałów źródłowych. Wykazuje wyraźnie właściwości kationowe. Chrom(III) został zidentyfikowany jako jego składnik aktywny. Silną aktywność tego czynnika uzyskano dzięki kombinacjom kilku pierwiastków, których wspólnym mianownikiem był kation chromu(III) [74, 76].

W ustroju chrom występuje w postaci niskocząsteczkowej substancji wiążącej LMWCr nazywanej chromoduliną. Substancja ta powoduje podniesienie poziomu insuliny. Apochromodulina jest formą białka bez przyłączonego chromu, magazynowana jest w komórkach wrażliwych na insulinę. Chrom po wnikięciu do wnętrza komórki łączy się z apochromoduliną i tworzy formę aktywną homochromodulinę. Aktywna forma łączy się z receptorami insulinowymi i wzmacnia aktywność kinazy tyrozynowej, która powoduje nasilenie intensywności

sygnału insulinowego. Po obniżeniu poziomu insuliny chromodulina zostaje usunięta z komórki oraz wydalona z organizmu przez nerki [74].

Inny mechanizm działania chromu został przedstawiony przez Cheng'a i jego współpracowników. Zbadali oni, że pod wpływem chromu zwiększa się zależna od insuliny translokacja transporterów glukozy. Próbowano znaleźć punkt uchwytu chromu, w którym aktykuje wiązanie insuliny i receptora insulinowego. Do tej pory odkryto dwa takie miejsca: szlak sygnału insulinowego-IR oraz serynowo-treoninowa kinaza białkowa [74].

Z kolei pikolinian chromu(III) stał się składnikiem odżywczym stosowanym w zapobieganiu wysokiemu poziomowi cukru we krwi. Jednak wykazano, że ligand pikolinianowy może powodować działania niepożądane, takie jak wady morfologiczne lub mutacje DNA poprzez tworzenie hydroksylo-rodników w obecności reduktorów biologicznych. Pomimo tych skutków ubocznych nadal uważa się pikolinian chromu(III) za jeden z najlepszych związków chromu wykazujący właściwości insulinomimetyczne. Amerykański urząd do spraw żywności (FDA) badał związek między chromem a opornością na insulinę i chorobami sercowo-naczyniowymi, cukrzycą typu 2 i innymi warunkami związanymi z wysokim poziomem glukozy. FDA wydał oświadczenie, w którym stwierdzono „*Jedno z małych badań sugeruje, że pikolinian chromu(III) może zmniejszyć ryzyko cukrzycy typu 2. FDA stwierdza, że istnienie takiego związku między pikolinianem chromu(III) a insulinoopornością lub cukrzycą typu 2 jest wysoce niepewne*”. Podczas tego badania nie stwierdzono wpływu suplementu na masę ciała lub rozkład tkanki tłuszczowej, zaobserwowano jednak znaczny wzrost wrażliwości na insulinę [73]. W tych samych badaniach stwierdzono również, że kompleksy chromu(III) mają korzystny wpływ na osoby ze zmienionym metabolizmem glukozy i lipidów. Jednak w porównaniu z leczeniem insuliną lub obecnymi lekami przeciwcukrzycowymi wpływ kompleksów chromu(III) byłby niewielki. Suplementacja Cr mogłaby zatem potencjalnie odgrywać rolę taniego leczenia, pozwalającego na stosowanie niższych dawek leków dostępnych obecnie (które mogą mieć potencjalnie poważne skutki uboczne) lub leczyć pacjentów na wczesnych etapach cukrzycy typu 2, aby opóźnić początek choroby [73, 74, 79].

Zsyntezowano również oraz zbadano kilka kompleksów chromu(III) z ligandem 1-hydrokso-2-pirydyno-6-karboksylanowym. Stosunek molowy metalu do ligandu w tym związku wynosi 1:3. Dane spektroskopowe powstałego kompleksu wykazały, że ligand anion 1-hydrokso-2-pirydyno-6-karboksylanowy chelatował jon chromu(III) poprzez atomy tlenu z grupy karboksylowej oraz hydroksylowej. Utworzony związek kompleksowy posiada liczbę koordynacyjną 6. Ponadto, w oparciu o wstępne wyniki, kompleks chromu(III) wykazywał właściwości naśladujące insulinę. Aby poznać wartość terapeutyczną kompleksu, należy zbadać stężenie glukozy we krwi, a także toksyczność [78].

Przeprowadzono również eksperyment w celu zbadania właściwości insulinomimetycznych chromianu(VI) sodu (Na_2CrO_4). Badania te zostały przeprowadzone na muszkach owocowych z gatunku *Drosophila melanogaster*. Suplementacja pokarmowa chromianem(VI) sodu w wysokich stężeniach opóźniła rozwój larw i zmniejszyła procent larw, które się zaszczepiły, co wskazywało na stosunkowo niską toksyczność. Suplement obniża poziom glukozy w hemolimfie muchy. Zmianom w metabolizmie węglowodanów narażonych na działanie anionów chromianowych(VI) towarzyszył także wzrost całkowitego poziomu lipidów i stężenia części triacyloglicerydów wśród wszystkich lipidów. To badanie pokazuje, że u muszek owocowych chromian(VI) sodu w diecie obniża poziom glukozy w hemolimfie, co jest związane ze zwiększonymi pulami rezerwowych węglowodanów. Zmianom tym towarzyszył wzrost całkowitego poziomu lipidów i triacyloglicerydów u much obu płci. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że anion chromianowy(VI) wykazuje właściwości podobne do kationu chromu(III) i w niewielkim stopniu naśladuje działanie insuliny. Jest to prawdopodobnie spowodowane redukcją anionu chromianowego(VI) do kationu chromu(III). Pomimo wyższej toksyczności sześciowartościowego chromu w porównaniu z trójwartościowym chromem, chrom sześciowartościowy może łatwiej przenikać do komórek. W związku z tym, zastosowanie sześciowartościowego chromu zamiast trójwartościowego chromu może pozwolić badaczowi znacznie zmniejszyć dawki chromu potrzebne do uzyskania pożądanych efektów biologicznych [77].

Związki kompleksowe chromu(III) z metamorfiną jako ligandem obniżają poziom glukozy we krwi [80, 81]. Badania z wykorzystaniem tych związków zostały przeprowadzone na szczurach chorych na cukrzycę. Dodatkowo wspomniane związki kompleksowe posiadają właściwości antyoksydacyjne.

5. ZWIĄZKI KOORDYNACYJNE BIZMUTU(III) STOSOWANE W TERAPII PRZECIWRZODOWEJ

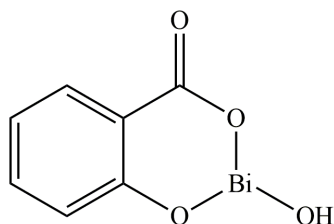
Związki bizmutu są szeroko stosowane w medycynie i obecnie opracowywanych jest coraz więcej leków zawierających bizmut. Choć od dawna wiadomo, że kompleksy bizmutu wykazują działanie przeciwbakteryjne i przeciwrzodowe, struktury kilku z nich zostały dopiero niedawno określone. Kompleksy bizmutu szeroko stosuje się w leczeniu wrzodów trawiennych i zakażeń *Helicobacter pylori*. Sugerowano, że hamowanie enzymów odgrywa ważną rolę w przeciwbakteryjnej aktywności bizmutu wobec tej bakterii [82, 83].

Istotną bakterią, która wzmaga choroby wrzodowe jest *Helicobacter pylori*. Bakteria ta została odkryta około 100 lat temu przez niemieckich patologów. Obecność tej bakterii w błonie śluzowej żołądka jest związana z przewlekłym

czynnym zapaleniem błony śluzowej żołądka i jest powiązana z cięższymi stanami błony śluzowej żołądka, w tym zanikiem żołądka, wrzodem trawiennym, chłoniakiem tkanki limfatycznej związanym z błoną śluzową, a nawet nowotworem żołądka. Produkuje multisubunit oraz enzym – ureazę zawierający jony niklu(II) w centrum aktywnym. Enzym ten katalizuje hydrolizę mocznika z wytworzeniem amoniaku i tlenku węgla(IV). Powszechnie uważa się, że amoniak wytwarzany z mocznika w żołądku katalizowany przez ureazę powoduje poważne działanie cytotoksyczne na komórki nabłonka żołądka, neutralizuje mikro- i makrooczenia bakterii, a zatem pomaga przetrwać bakterii kwasowe warunki światła żołądka i błony śluzowej. Innym ważnym enzymem w *H. pylori* jest katalaza, której grupę prostetyczną stanowi hemina. Chroni ona *H. pylori* przed zniszczeniem przez neutrofile, będące częścią naturalnego systemu obronnego (immunologicznego) organizmu [84, 85].

Pełna sekwencja genomu *H. pylori* powinna ułatwić zrozumienie mechanizmu działania bizmutu i może stanowić podstawę do opracowania nowych leków przeciwwrzodowych zawierających bizmut [86].

Jednym z najczęściej stosowanych związków bizmutu(III) jest subsalicylan bizmutu(III) (BSS) (Rys. 8). Jest on jednym z kilku związków bizmutu regularnie stosowanych w leczeniu różnych dolegliwości żołądkowo-jelitowych, w tym wrzodów dwunastnicy i trawienia. W połączeniu z antybiotykami takimi jak tetracyklina, klarytromycyna i amoksycylina, BSS okazał się skuteczny w leczeniu i zwalczaniu bakterii *Helicobacter pylori*. Pierwszym krokiem określenia jego struktury i zbadania właściwości były próby modelowania struktur BSS poprzez tworzenie i wyjaśnianie strukturalne różnych karboksylanów bizmutu. Najważniejsze z nich to trójpodstawiony salicylan bizmutu(III) $[\text{Bi}(\text{Hsal})_3]$ „uwięziony” przez chelatowanie amin i kompleksy tiosalicylanu bizmutu(III). Te modelowe związki nie dotyczą jednak „sub” części subsalicylanu, która, jak sama nazwa wskazuje, wymaga częściowej hydrolizy gatunków BiL_3 i jednoczesnego tworzenia wodorotlenku / tlenku, co powoduje typową nierozpuszczalność tych związków. Proces hydrolizy lub częściowej neutralizacji nie jest łatwo kontrolowany w heterogenicznych warunkach BSS, jako preparat farmaceutyczny, rodzi interesujące pytania dotyczące składu i struktury. Jego wysoki stopień nierozpuszczalności sprawił, że ostateczne określenie jego natury jest niezwykle trudne [82, 86].



Rysunek 8. Subsaliicylan bizmutu
Figure 8. Bismuth subsalicylate

Związkiem, który jest klinicznie stosowany jako lek przeciwwrzodowy, jest podcytrynian bizmutu(III) (CBS). Jest to ważny biologicznie ligand, obecny w osoczu krwi i tworzący silne kompleksy z jonami metali. Jego najważniejszymi cechami są niskie wartości pKa jego grup karboksylowych. Dzięki temu w biologicznym pH występuje jako trianion i posiada zdolność do deprotonowania grupy hydroksylowej, co powoduje powstanie bardzo silnych wiązań między jodem metalem a alkoholanem. Poprzez zmianę pH odkryto stosunek pomiędzy anionem cytrynianowym a kationem bizmutu(III) oraz odkryto jego dziewięć różnych adduktów. Większość z nich zawiera stabilną jednostkę dinuklearną $[\text{Bi}(\text{cith})\text{Bi}]^{2-}$ z dodatkowymi ligandami O^{2-} , OH^- i H_2O [82, 83].

Niedawno odkrytym lekiem przeciwwrzodowym jest cytrynian bizmutawy ranitydyny czyli RBC. Jest to dobrze rozpuszczalny w wodzie związek o pH ok. 4,6, wysoce aktywny przeciwko *H. pylori*. Wygląda na to, że ranitydyna oddziałuje z polimerycznymi formami cytrynianu bizmutu(III) za pośrednictwem grupy aminowej, dla której pK wzrasta z 8,64 do 8,90. Podstawową funkcją aminy wydaje się być deprotonowanie cytrynianowej grupy hydroksylowej, co pozwala na utworzenie sześcioczłonowego pierścienia chelatowego [82, 84].

Badania dowodzą również, że kompleksowanie bizmutu z aktywnymi ligandami może znacznie zwiększyć skuteczność przeciwko *H. pylori*, np. tiosemikarbazony wykazują działanie przeciwbakteryjne. Niedawno zsyntetyzowano szereg kompleksów bizmutu z tiosemikarbazonami i pochodnymi estru metylowego kwasu ditiokarbazonowego jako ligandów. Jony $\text{Bi}(\text{III})$ koordynują z tymi ligandami łącząc się poprzez dwa, trzy lub pięć atomów. Kompleksy te przetestowano na dziesięciu szczepach *H. pylori* i wykazały aktywność podobną do klinicznie stosowanych związków bizmutu [82, 87, 88].

Pektyna koloidalna bizmutowa (CBP) jest nowym środkiem przeciwwrzodowym bizmutu wyprodukowanym w Chinach, który został zatwierdzony do stosowania klinicznego kilka lat temu. Jest to kompleks bizmutu z kwasem poligalaturonowym i jest rozpuszczalny w wodzie. Wstępne badania wykazały, że CBP miał właściwości zwalczające *H. pylori* i CBP z amoksycyliną

i metronidazolem. Był w stanie zabić *H. pylori* w ponad 80% przypadków [87].

Transferyna została przedstawiona jako jeden ze składników osocza krwi, z którym wiąże się jon Bi(III). Może on odgrywać podwójną rolę w farmakologii bizmutu, tzn. przy bardzo niskich poziomach Bi(III) wiązanie bizmutu z transferyną jest prawdopodobnie procesem detoksykacji, który zapobiega interakcji Bi(III) z innymi biomolekułami. Jeśli jednak poziom bizmutu we krwi lub osoczu jest zbyt wysoki, część jonów Bi(III) transportowana przez transferynę może przejść do innych tkanek lub narządów, takich jak mózg, powodując działania niepożądane. Niemniej jednak skutki toksycznego działania bizmutu są odwracalne, a pacjenci zainfekowani bizmutem wracają do zdrowia po zawieszeniu leku lub po odpowiednim leczeniu [87]. Związki kompleksowe bizmutu należące do związków metaloorganicznych posiadają właściwości przeciwwrzodowe [89, 90].

6. ZWIĄZKI KOORDYNACYJNE TECHNETU JAKO RADIOFARMACEUTYKI

Technet jest pierwiastkiem w ostatnim czasie szeroko wykorzystywanym w medycynie nuklearnej do scyntygrafii, tomografii emisyjnej, opisów morfologicznych oraz testów funkcjonalności narządów. Ponad 80% radiofarmaceutyków obecnie stosowanych klinicznie jest oznaczanych jako nuklidy ^{99m}Tc . Jego właściwości jądrowe są prawie optymalne pod względem narażenia pacjenta na niskie promieniowanie i skutecznego wykrywania emitowanych kwantów. Radiofarmaceutyki są stosowane w bardzo niskich stężeniach i mają brak zamierzonego efektu farmakologicznego. Celem zastosowania diagnostycznego jest szczegółowy opis struktury morfologicznej narządów, a w szczególności badanie ich funkcji fizjologicznej poprzez nagromadzenie radionuklidu, którego emitowane promieniowanie pozwala na tomograficzne obrazowanie *in vivo* narządów [91-93].

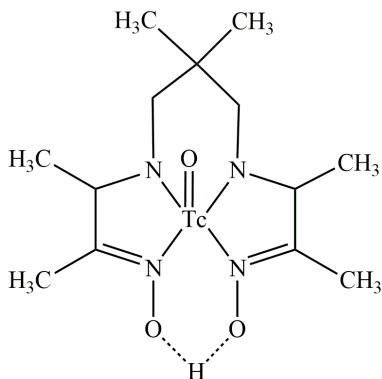
Nuklid technetu syntezowany jest poprzez rozpad „Mo”. Związek ten można otrzymać poprzez napromieniowanie naturalnego molibdenu lub molibdenu-98 wzbogaconego neutronami w termicznym reaktorze jądrowym. Związkami, które są stosowane w otrzymywaniu tego nuklidu są tlenek molibdenu(VI), molibdenian(VI) amonu lub metaliczny molibden. Ten tak zwany molibden-99 jest otrzymywany w wysokiej czystości nuklidowej. Można również uzyskać molibden o wyższej aktywności przez rozszczepienie ^{235}U za pomocą neutronów termicznych. Nuklid ^{99m}Tc jest oddzielany od ^{99}Mo głównie za pomocą kolumny chromatograficznej i tylko w szczególnych przypadkach w procesach sublimacji lub ekstrakcji rozpuszczalnikiem. Obecnie tlenek glinu o właściwościach anionowymiennych jest stosowany jako materiał do wypełnienia kolumn. „Mo” jest związany na górnym końcu kolumny, podczas gdy ^{99m}Tc można po prostu eluować,

jako ujemnie naładowany, roztworem chlorku sodu zregenerowany na kolumnie generatora przez rozpad [92].

Technet jest pierwiastkiem grupy VII przyjmującym stopnie utlenienia od I do VII. Kompleksy technetu(I, III, V) z różnymi ligandami chelatującymi znajdują różnorodne zastosowanie w medycynie. ^{99m}Tc wstrzykiwany do organizmu, w zależności od jego formy chemicznej i struktury molekularnej, koncentruje się w badanym narządzie i emituje kwant, który umożliwia obrazowanie narządu za pomocą płaskich procesów scyntygraficznych lub emisyjnych. Obrazowanie przestrzennego rozkładu radionuklidu w narządzie odbywa się poprzez zogniskowanie kamery gamma na odcinkach lub płaszczyznach. W zrekonstruowanych warstwach możliwa do uzyskania rozdzielczość w dostępnych warunkach pomiarowych wynosi około 7 mm. Rozdzielczość jest szczególnie zależna od kolimatora i odległości między kolimatorem a obiektem [92].

Pierwszym radiofarmaceutykiem technetu całkowicie scharakteryzowanym jest ^{99m}Tc -d,l-HM-PAO pod kątem właściwości fizykochemicznych i zastosowania. Kompleks ten został zatwierdzony jako środek do oceny udaru mózgu. Opracowanie tego środka było oparte na pracy Troutnera. Stwierdził on, że ten neutralny lipofilowy związek koordynacyjny jest w stanie przekroczyć nienaruszoną barierę krew-mózg (BBB) i być pobierany przez mózg w badaniach biodystrybucji u szczurów. Nie tylko dyfunduje przez nienaruszony BBB i jest pobierany przez mózg, ale także dyfunduje z mózgu z krótkim okresem półtrwania [93].

Próbując opracować kompleks Tc(V) , który nie tylko byłby wchłaniany przez mózg, ale także byłby zatrzymywany przez mózg wystarczająco długo, aby umożliwić obrazowanie, odkryto związek TcO (d, l-HM-PAO) (Rys. 9). Jest on sprzedawany jako środek do obrazowania nerek. Po wstrzyknięciu dożylnym monitoruje się jego przejście przez nerki w celu oceny czynności nerek. Ten znacznik jest szybko wydalany głównie przez aktywne wydzielanie kanalikowe. TcOMAG3 -merkptoacetyloglicyloglicyloglicynatooksotechnet(V), został opracowany przez Fritzberga jako środek nerkowy. Ten konkretny kompleks wykazuje dobre właściwości *in vivo*, w przeciwieństwie do wcześniejszych kompleksów, nie ma z nim żadnych problemów związanych z izomerem [93].

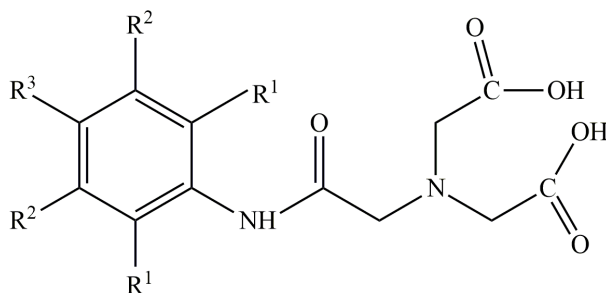


Rysunek 9. TcO (d, 1-HM-PAO) – związek kompleksowy [[(3*RS*, 3'*RS*)-3,3'-(2,2-dimetylotrimetyleno) diimino][di-2-butanon] dioksymato] (³⁺) - *N*, *N'*, *N''*, *N'''*] oksotechnetu (^{99m}Tc)

Figure 9. TcO (d, 1-HM-PAO) – [[(3*RS*,3'*RS*)-3,3'-(2,2-dimethyltrimethylene)diimino][di-2-butanone] dioximato](³⁺)-*N,N',N'',N'''*]oxotechnetium (^{99m}Tc) complex compound

^{99m}Tc-teboroksym jest neutralnym, siedmiokoordynacyjnym kompleksem technetu(III) sprzedawanym jako środek do obrazowania perfuzji mięśnia sercowego. Jest on użyteczny w odróżnianiu prawidłowego od niedokrwionego mięśnia sercowego i zawału mięśnia sercowego przy użyciu technik odpoczynku i stresu. Służy również do oceny choroby wieńcowej. W przeciwieństwie do innych środków perfuzyjnych mięśnia sercowego, które były lub są w fazie rozwoju, środek ten jest neutralny. ^{99m}Tc-teboroksym należy do klasy BATO. Mechanizm wychwytu tego związku przez mięsień sercowy jest obecnie nieznan. ^{99m}Tc-teboroksym przygotowuje się za pomocą syntezy matrycowej, w której TcO₄⁻, 3 równoważniki dioksyemu 1,2-cykloheksanodionu i kwasu metyloboronowego poddaje się reakcji w kwaśnych (HCl) warunkach redukujących [93].

Związki ^{99m}Tc -HIDA są klasą pochodnych kwasu iminodiocetowego i Tc(III), zbadaną przez Loberga. Posiadają właściwości biologiczne odpowiednie do obrazowania układu wątrobowo-żółciowego (wątroba, pęcherzyk żółciowy, przewód żółciowy, jelita). Obecnie na rynku dostępne są trzy analogi ^{99m}Tc –HIDA, ^{99m}Tc -Mebrofenin i ^{99m}Tc -Lidofenin. Wszystkie trzy z tych środków są sprzedawane jako środki do obrazowania wątrobowo-żółciowego [93].



Rysunek 10. HIDA - kwas N-(2,6-dimetylo-fenylokarbamoilo-metylo)-iminodiocetowy
Figure 10. HIDA - N-(2,6-dimethyl-phenyl-carbamoyl-methyl)-iminodiacetic acid

Kompleksy technetu z fosforanami i fosfonianami były i są stosowane w celu obrazowania kości i obrazowania zawału mięśnia sercowego. Trzy różne ligandy difosfonianowe skompleksowane z ^{99m}Tc używane są jako środki do obrazowania szkieletu. Te trzy czynniki mają różne podstawniki na atomie węgla między dwoma atomami fosforu. Dwa z difosfonianów mają grupę hydroksylową na węglu alfa. Wszystkie trzy z tych kompleksów lokalizują się w kości ze względu na powinowactwo skoordynowanego ligandu difosfonianowego do wapnia w aktywnie rosnącej kości. Ligandy difosfonianowe można uznać za podwójnie dwurzędowe lub bidentatetridentatowe systemy ligandów, w zależności od podstawników ligandu, z możliwością skompleksowania dwóch jonów metali jednocześnie [93]. Związki kompleksowe $[\text{ReO}_3]^+$ i $[\text{TcO}_3]^+$ stabilizowane przez ligandy trójdonorowe są potencjalnymi nowymi radiofarmaceutykami [94-97].

7. ROLA ZWIĄZKÓW KOMPLEKSOWYCH W OBRAZOWANIU MEDYCZNYM

Rola związków kompleksowych w obrazowaniu medycznym w dużym stopniu opiera się na wykorzystaniu ich jako radiofarmaceutyków do wczesnego wykrywania chorób i radioterapii nowotworów. Radiofarmaceutyki to leki zawierające radionuklid. Są rutynowo stosowane w medycynie nuklearnej do diagnozy lub terapii różnych chorób. Prawie wszystkie radiofarmaceutyki są podawane przez wstrzyknięcie dożylnie. Są to w większości małe związki organiczne lub nieorganiczne o określonym składzie. Mogą to być również makrocząsteczki, takie jak monoklonalne przeciwciała i fragmenty przeciwciał, które nie są stechiometryczne oznakowane radionuklidem [98, 99].

Wymagania, które musi spełniać czynnik do obrazowania mózgu, to przede wszystkim jego zdolność do przekraczania bariery krew / mózg, osadzenia i gromadzenia się w dużych stężeniach w stosunkowo krótkim czasie w mózgu oraz pozostawania tam przez okres niezbędny do przeprowadzenia analizy. To

powoduje, że kompleks musi przejść chemiczne lub biochemiczne modyfikacje *in vivo*. Np. zasugerowano mechanizm przesunięcia pH, który bierze pod uwagę różnicę pH między krwią a środowiskiem wewnątrzkomórkowym. Zatem, jeśli amina ma wartość pK_a podobną do pH mózgu, obojętny kompleks aminowy będzie protonowany, gdy znajdzie się w mózgu. Kompleks, który został naładowany w ten sposób, jest uwięziony w mózgu do tego stopnia, że nie jest w stanie uciec przez mechanizm odwrotny w świetle pK_a aminy. Podobnie kompleks ten może ulec modyfikacji chemicznej [98, 99].

Środki do obrazowania serca niekoniecznie muszą składać się z kompleksu kationowego, ale czynnikiem decydującym o ich przydatności aplikacyjnej jest wykazywanie właściwości lipofilowych. Lipofilowość kompleksów nadaje im zdolność do znakowania komórek krwi, takich jak makrofagi, a tym samym umożliwia wykrycie stanu zapalnego i infekcji [98].

Duża liczba luminescencyjnych związków nieorganicznych skupiła zainteresowanie na kilku nowych grupach krystalicznych materiałów scyntylacyjnych [99-102]. Złożone związki tlenkowe np. oksyortokrzemiany domieszkowane cerem (Ce) tworzą grupę bardzo atrakcyjnych materiałów scyntylacyjnych. Na szczególną uwagę zasługują SiO, borany i fosforiki o różnej strukturze. Wraz ze wzrostem liczby atomowej jonów metali związek staje się ciężki, co powoduje wydajną konwersję promieniowania jonizującego [99]. Związki takiego typu jak np. ^{99m}Tc -4SAboroksym są wykorzystywane do znakowania czerwonych krwinek [103-108].

UWAGI KOŃCOWE

Związki koordynacyjne, różniące się strukturą i stopniem utlenienia jonu metalu oraz wykazujące różną aktywność biologiczną, są tylko częścią ogromnych możliwości tworzenia nowych substancji o właściwościach leczniczych. Przyszłość związków kompleksowych np. rutenu jako leków i kandydatów do kolejnych badań klinicznych wciąż pozostaje wyzwaniem i daje dużą nadzieję na opracowanie skutecznych terapii wielu schorzeń. Z kolei związki koordynacyjne złota wydają się bardzo obiecującymi czynnikami przeciwnowotworowymi, gdyż ostatnie prace nad tymi związkami doprowadziły do powstania strategii celowanego wzrostu poziomu złota w komórce nowotworowej. Te pozytywne wyniki badań dają nadzieję na opracowanie nowych leków.

Uzyskane podczas przeprowadzonych badań rezultaty wskazują na wielokierunkowe działanie związków koordynacyjnych rutenu, złota, wanadyli, chromu, bizmutu oraz technetu. Jednak wiele z tych wyników wymaga dalszych badań, celem wyjaśnienia mechanizmów leżących u ich podstaw.

W pracy omówione zostały zastosowania najważniejszych związków koordynacyjnych wybranych jonów metali, które usystematyzują uzyskaną wiedzę

o aktywności biologicznej tych związków i pozwolą w przyszłości odpowiedzieć na pytanie, czy mogą one być stosowane w profilaktyce i wspomaganiu leczenia niektórych chorób, bez obaw związanych z ich toksycznością.

PODZIĘKOWANIE

Praca wspierana finansowo przez Narodowe Centrum Nauki w ramach dotacji 2015/19/N/STS/00276.

Stypendysta korzystający ze wsparcia finansowego Fundacji na rzecz Nauki Polskiej (FNP).

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] E.S. Antonarakis, A. Emadi, *Cancer Chemoth. Pharm.*, 2010, **66**, 1.
- [2] E. Reisner, V.B. Arion, B.K. Keppler, *Inorg. Chim. Acta*, 2008, **361**, 1569.
- [3] F. Kratz, L. Messori, *J. Inorg. Biochem.*, 1993, **49**, 79.
- [4] G. Sava, A. Bergamo, *Int. J. Oncol.*, 2000, **17**, 353.
- [5] C.G. Hartinger, S. Zorbas-Seifried, M.A. Jakupc, J. Inorga. Biochem., 2006, **100**, 891.
- [6] L.J. Boerner, J.M. Zaleski, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2005, **9**, 135.
- [7] J.M. Rademaker-Lakhai, D. van den Bongard, D. Pluim, *Clin. Cancer Res.*, 2004, **10**, 3717.
- [8] E.E. Brouwers, M.M. Tibben, H. Rosing, *Rapid Commun. Mass Sp.*, 2007, **21**, 521.
- [9] N. Graf, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2012, **64**, 993.
- [10] P.J. Dyson, G. Sava, *Dalton Trans.*, 2006, 1929.
- [11] C.X. Zhang, S.J. Lippard, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2003, **7**, 481.
- [12] A. Bergamo, G. Sava, *Dalton Trans.*, 2007, 1267.
- [13] E. Antonarakis, A. Emadi, *Cancer Chemoth. Pharm.*, 2010, **66**, 1.
- [14] E. Schuh, C. Pflüger, A. Citta, *J. Med. Chem.*, 2012, **55**, 5518.
- [15] L. Messori, G. Marcon, *Met. Ions Biol. Syst.*, 2004, **42**, 385.
- [16] M.P. Rigobello, L. Messori, G. Marcon, *J. Inorg. Biochem.*, 2004, **98**, 1634.
- [17] L. Cattaruzza, D. Fregona, M. Mongiat, *Int. J. Cancer*, 2011, **1**, 206.
- [18] C. Marzano, L. Ronconi, F. Chiara, *Int. J. Cancer*, 2011, **2**, 487.
- [19] V. Hellberg, I. Wallin, S. Eriksson, *J. Natl. Cancer I.*, 2009, **101**, 37.
- [20] S.D. Bernal, J.A. Speak, K. Boeheim, *Mol. Cell. Biochem.*, 1990, **95**, 61.
- [21] K. Kawai, N. Kamatani, E. Georges, *J. Biol. Chem.*, 1990, **265**, 13137.
- [22] M. Kartalou, J.M. Essigmann, *Mutat. Res.*, 2001, **478**, 23.
- [23] B. Morris, S. MacNeil, K. Stanley, T. Gray, R. Fraser, *J. Endocrinol.*, 1993, **139**, 339.
- [24] R. Anderson, *Diabetes Metab.*, 2000, **26**, 22.
- [25] J. Vincent, *J. Trace Elem. Med. Bio.*, 2014, **06**, 20.
- [26] S. Lewicki, R. Zdanowski, M. Krzyżowska, A. Lewicka, B. Dębski, *Ann. Agr. Env. Med.*, 2014, **21(2)**, 331.
- [27] J. Vincent, *Biol. Trace Elem. Res.*, 2004, **99**, 1.
- [28] J. Drzeżdżon, J. Malinowski, D. Zych, D. Jacewicz, *Wiad. Chem.*, 2019, **73 (11-12)**, 753.
- [29] P. Srivastava, A.K. Saxena, R.K. Kale, N.Z. Baquer, *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, 1993, **3**, 283.
- [30] N. Venkatesan, A. Aviden, M. B. Davidson, *Diabetes*, 1991, **40**, 492.
- [31] S. Verma, M.C. Cam, J.H. Meneill, *J. Am. Coll. Nutr.*, 1998, **17**, 11.

- [32] J. Vincent, *Dalton Trans.*, 2010, **39**, 3787.
- [33] A. Levina, P. Lay, *Chem. Res. Toxicol.*, 2008, **21**, 563.
- [34] E. Gniazdowska, P. Koźmiński, L. Fuks, *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, 2013, **298**, 1171.
- [35] E. Gniazdowska, P. Koźmiński, K. Bańkowski, P. Ochman, *J. Med. Chem.*, 2014, **57**, 5986.
- [36] E. Gniazdowska, P. Koźmiński, K. Bańkowski, W. Łuniewski, L. Królicki, *Eur. J. Med. Chem.*, 2014, **87**, 493.
- [37] E. Alessio, G. Mestronia, A. Bergamo G. Sava, *Curr. Top. Med. Chem.*, 2004, **4**, 1525.
- [38] I. Kostova, *Curr. Med. Chem.*, 2006, **13**, 1085.
- [39] F. Lentz, A. Drescher, A. Lindauer, M. Henke, R.A. Hilger, Ch.G. Hartinger, M.E. Scheulen, Ch. Dittrich, B.K. Keppler, U. Jaehde, *Anti-Cancer Drug.*, 2009, **20**, 97.
- [40] T. Pieper, K. Borsky, B.K. Keppler, *Metallopharmaceuticals I*, 1999, 171.
- [41] C.G. Hartinger, M.A. Jakupc, S. Zorbas-Seifried, M. Groessler, A. Egger, W. Berger, H. Zorbas, P.J. Dyson, B.K. Keppler, *Chem. Biodivers.*, 2017, **5**, 2140.
- [42] E. Alessio, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2017, 1549.
- [43] A. Gilewska, J. Masternak, K. Kazimierzczuk, J. Trynda, J. Wietrzyk, B. Barszcz, *J. Mol. Struct.*, 2018, **1155**, 288.
- [44] J. Masternak, A. Gilewska, K. Kazimierzczuk, O.V. Khavryuchenko, J. Trynda, J. Wietrzyk, B. Barszcz, *Polyhedron*, 2018, **154**, 263.
- [45] Y. Yang, L.G. Z. Tian, X. Liu, Y. Gong, H. Zheng, X. Ge, Z. Liu, *Chem. Asian J.*, 2018, **13**, 2923.
- [46] S.N.R. Donthireddy, P.M. Illam, A. Rit, *Inorg. Chem.*, 2020, **59**, 1835.
- [47] E. Alessio, G. Mestroni, G. Nardin, W. M. Attia, M. Calligaris, G. Sava, S. Zorzets, *Inorg. Chem.*, 1998, **27**, 4099.
- [48] R. Yaseen, A. Alshwafy, A.A. Dahy, I. Warad, M. Mahfouz, *J. Coord. Chem.*, 2019, **72**, 2200.
- [49] J. Vajs, A. Pevec, M. Gazvoda, D. Urankar, E. Goreschnik, S. Polanc, J. Košmrlj, *Acta Chim. Slov.*, 2017, **64**, 763.
- [50] I. Ott, *Coord. Chem. Rev.*, 2009, **253**, 1670.
- [51] L. Messori, L. Marchetti, L. Massai, F. Scaletti, A. Guerri, I. Landini, S. Nobili, G. Perrone, E. Mini, P. Leoni, M. Pasquali, Ch. Gabbiani, *Inorg. Chem.*, 2013, **53**, 2396.
- [52] T. Onodera, I. Momose, M. Kawada, *Chem. Pharm. Bull.*, 2018, **67**, 186.
- [53] L. Messori, F. Abbate, G. Marcon, P. Orioli, M. Fontani, E. Mini, T. Mazzei, S. Carotti, T. O' Connell, P. Zanello, *J. Med. Chem.*, 2000, **43**, 3541.
- [54] A.S. Abu-Surrah, M. Kettunem, *Curr. Med. Chem.*, 2006, **13**, 1337.
- [55] J.H. Kim, E. Reeder, S. Parkin, S.G. Awuah, *Sci. Rep.*, 2019, **9**, 12335.
- [56] V. Fernández-Moreira, R.P. Herrera, M.C. Gimeno, *Pure Appl. Chem.*, 2019, **91**, 247.
- [57] R. Visbal, V. Fernández-Moreira, I. Marzo, A. Laguna, M.C. Gimeno, *Dalton Trans.*, 2016, **45**, 15026.
- [58] H. Goitia, A. Laguna, M.C. Gimeno, *Inorg. Chim. Acta*, 2018, **53**, 475.
- [59] A. Gutiérrez, I. Marzo, C. Cativiela, A. Laguna, M.C. Gimeno, *Chem. Eur. J.*, 2015, **21**, 11088.
- [60] E.B. Bauer, M.A. Bernd, M. Schütz, J. Oberkofler, A. Pöthig, R.M. Reich, *Dalton Trans.*, 2019, **48**, 16651.
- [61] G. Gu, C. Chen, Q. Wang, Z. Gao, M. Xu, *J. Appl. Spectros.*, 2019, **86**, 618.
- [62] J. Korbecki, I. Baranowska-Bosiacka, I. Gutowska, D. Chlubek, *Postepy Biochem.*, 2016, **62**, 60.
- [63] K.G. Peters, M.G. Davis, B. W. Howard, M. Pokross, V. Rastogi, C. Diven, K.D. Greis, E. Eby-Wilkens, M. Maier, A. Evdokimov, S. Soper, F. Genbauffe, *J. Inorg. Biochem.*, 2003, **96**, 321.
- [64] J.C. Pessoa, S. Etcheverry, D. Gambino, *Coor. Chem. Rev.*, 2015, **301–302**, 24.
- [65] A.K. Srivastava, M.Z. Mehdi, *Diabet. Med.*, 2005, **22**, 2.

- [66] A. Majid, A. Adam, A. M. Naglah, M.A. Omar, M.S. Refat, *Int. J. Immun. Pharm.*, 2017, **30**, 272.
- [67] M. Abaszadeh, M. Seifi, S.Y. Ebrahimipour, *B. Chem. Soc. Ethiopia*, 2016, **30**, 253.
- [68] S.Y. Li, W.Q. Zhai, Z.W. Li, A. Li, Y.M. Jiang, W. Li, *Rus. J. Coord. Chem.*, 2018, **44**, 701.
- [69] X.Q. Cong, M.H. Piao, Y. Li, L. Xie, Y. Liu Bis, *Biol. Trace Elem. Res.*, 2016, **173**, 390.
- [70] T. Jakusch, T. Kiss, *Coord. Chem. Rev.*, 2017, **351**, 118.
- [71] S. Torabi, M. Mohammadi, M. Shirvani, *Trends Pharm.Sci.* 2018, **4**, 87.
- [72] X.F. Chen, T.R. Wang, Z. Ma, Y. Yu, L. Tang, L.Y. Jin, G.H. Sheng, H.L. Zhu. *Polyhedron*, 2017, **137**, 321.
- [73] J.B. Vincent, *Nutritional and Therapeutic Interventions for Diabetes and Metabolic Syndrome*, 2018, **2**, 365.
- [74] E. Król, Z. Krejpcio, *Diabetologia Praktyczna*, 2008, **9**, 168.
- [75] T. Kośła, I. Lasocka, E.M. Skibniewska, M. Kohnierzak, M. Skibniewski, *Medycyna Weterynaryjna*, 2018, **74(9)**, 560.
- [76] R. Markham, J.D. Smith, J. Biochem, E.A. Peterson, *Arch. Biochem.*, 1959, **85**, 292.
- [77] N.V. Perkhulyn , B. M.Rovenko , T.V. Zvarych , O.V. Lushchak , J. M.Storey, K.B. Storey, V.I. Lushcha, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2015, **167**, 74.
- [78] N. Yasarawan, K. Thipyapong, S. Sirichai, V. Ruangpornvisut, *J. Mol. Struct.*, 2013, **1031**,144.
- [79] O. Tsave , M.P. Yavropoulou, M. Kafantari , C. Gabriel, J.G. Yovos , A. Salifoglou, *J. Inorg. Biochem.*, 2016, **163**, 323.
- [80] S.M. El-Megharbel, *J. Microb. Biochem. Technol.*, 2015, **7**, 2.
- [81] H.J. Lunk, *Chem.Texts.*, 2015, **1**, 6.
- [82] H. Sun, P.J. Sadler, *Metallopharmaceuticals II*, 1999, 159.
- [83] L. Zhang, S.B. Mulrooney, A.F.K. Leung, Y. Zeng, B.B.C. Kol, R.P. Hausinger, H. Sun *Biometals*, 2005, **19**, 503.
- [84] P.J. Sadler, H. Sun, *J. Chem. Soc.*, 1995, **24**, 4287.
- [85] J.R. Lambert, P. Midollo, *Alimen. Pharmacol. Ther.*, 1997, **11**, 27.
- [86] P.C. Andrews, G.B. Deacon, C.M. Forsyth, P.C. Junk, I. Kumar, M. Maguir, *Angew. Chem.*, 2006, **45**, 5638.
- [87] A. Sigiél, H. Sigiél, Marcel Dekker Inc, 2004, 41.
- [88] K. Schwochau, *Angew. Chem.*, 1994, **33**, 2258.
- [89] D.M. Keogan, D.M. Griffith, *Molecules*, 2014, **19**, 15258.
- [90] Y. Yang, R. Ouyang, L. Xu, N. Guo, W. Li, K. Feng, L. Ouyang, Z. Yang, S. Zhou, Y. Miao, *J. Coord. Chem.*, 2015, **68**, 379.
- [91] S. Jurisson, D. Berning, W. Jia, O. Ma, *Chem. Rev.*, 1993, **93**, 1137.
- [92] J.R. Thornback, M. Deblaton, G.F. Morgan, *US Patent* 1994, **5**, 276, 147.
- [93] P. Martini, M. Pasquali, A. Boschi, L. Uccelli, M. Giganti, A. Duatti, *Molecules*, 2018, **23**,
- [94] D. Papagiannopoulou, *J. Labelled Comp. Radiopharm.*, 2017, **60**, 502.
- [95] E.M. Hahn, A. Casini, E. Fritz, F.E. Kühn, *Coord. Chem. Rev.*, 2014, **276**, 97.
- [96] N.C. Okoye, J.E. Baumeister, F.N. Khosroshahi, H.M. Hennkens, S.S. Jurisson, *Radiochim. Acta*, 2019, **107**, 9.
- [97] S. Liu, *Chem. Soc. Rev.*, 2004, **33**, 445.
- [98] P. Lecoq, M. Korzhik, *Ieee Trans. Nucl. Sci.*, 2002, **49**, 4.
- [99] S.D. MacPherson, K. Fung, B.E. Cook, L.C. Francesconi, B.M. Zeglis, *Dalton Trans.*, 2019, **39**, 14547.
- [100] T.I. Kostelnik, C. Orvig, *Chem. Rev.*, 2019, **119**, 902.
- [101] T. Kniess, M. Laube, F. Wüst and J. Pietzsch, *Dalton Trans.*, 2017, **46**, 14435.

- [102] M. Brandt, J. Cardinale, M.L. Aulsebrook, G. Gasser, T.L. Mindt, *J. Nucl. Med.*, 2018, **59**, 1500.
- [103] Z. Keidar, E. Solomonov, R. Karry, A. Frenkel, O. Israel, M. Mekel, *Mol. Imag. Biol.*, 2017, **19**, 265.
- [104] Z.Q. Zhao, M. Liu, W. Fang, S. Liu, *J. Med. Chem.*, 2018, **61**, 319.
- [105] M. Liu, Z.Q. Zhao, W. Fang, S. Liu, *Bioconj. Chem.*, 2017, **28**, 2998.
- [106] A. Mirzaei, A.R. Jalilian, G. Shabani, A. Fakhari, M. Akhlaghi, D. Beiki, *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, 2016, **307**, 725.
- [107] K.D. Mjos, C. Orvig, *Chem. Rev.*, 2014, **114**, 4540.

Praca wpłynęła do Redakcji 7 lipca 2020 r.

**SONDY FLUORESCENCYJNE TYPU „LIGHT UP”
DO DETEKЦИИ I BIOOBRAZOWANIA
G-KWADRUPLEKSÓW *IN VITRO* I *IN VIVO*
(CZĘŚĆ 1 I 2)**

**LIGHT UP FLUORESCENT PROBES FOR
DETECTION AND VISUALIZING
THE G-QUADRUPLEXES *IN VITRO* AND *IN VIVO*
(PART 1 AND 2)**

Daniel Baranowski

*Zakład Biomolekularnego NMR, Instytut Chemii Bioorganicznej PAN
Ul. Z. Noskowskiego 12/14, 61-704 Poznań
e-mail: daniel.baranowski@ibch.poznan.pl

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

1. Mechanizmy oddziaływania liganda z G-kwadrupleksem
2. Rodzaje sond fluorescencyjnych
3. Sondy fluorescencyjne typu „light up”
 - 3.1. Barwniki polimetinowe (1-13)
 - 3.2. Pochodne benzotiazolu (14-17)
 - 3.3. Pochodne bis-benzimidazolu (18-19)
 - 3.4. Pochodne etydyny (20)
 - 3.5. Pochodne karbazolu (21-33)
 - 3.6. Pochodna fenantroliny (34)
 - 3.7. Pochodna bis(4-aminobenzylideno)acetonu (35)

- 3.8. Pochodne bis-indolu (36-37)
- 3.9. Pochodne styrylo-n-alkilochinoliny (38-40)
- 3.10. Pochodne 3,6-diaminoakrydyny (41)
- 3.11. Pochodne tetrafenyloetenu (42-43)
- 3.12. Związki pochodzenia naturalnego (44-48)
- 3.13. Pochodne trifenyloetanu i trifenyloaminy (49-56)
- 3.14. Barwniki skwarynowe (57-60)
- 3.15. Pochodne naftalenodiimidu (61-63)
- 3.16. Pochodne triangulenu (64)
- 3.17. Organiczne związki boru (65)
- 3.18. Pochodne N-metyloimidazol-5-onu (66)
- 3.19. Koniugaty kumaryny i chinazoliny (67)
- 3.20. Pochodne triaryloimidazolu (68-72)
- 3.21. Pochodne porfiryn i ftalocyjanin (73-78)
- 3.22. Kompleksy platyny (II) i rutenu (II) (79-87)
- 3.23. Ligandy fluorescencyjne wiążące się do G-kwadrupeksów RNA (88-92)

Tabela 1. Podsumowanie właściwości sond fluorescencyjnych wiążących się do G-kwadrupeksów DNA/RNA

Uwagi końcowe

Piśmiennictwo cytowane

Dr Daniel Baranowski od roku 1997 pracuje w Instytucie Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu gdzie w 2007 roku uzyskał stopień doktora nauk chemicznych pod kierunkiem profesor Bożenny Golankiewicz. W roku 2001 odbył dwa trzymiesięczne staże naukowe w Słoweńskim Centrum NMR w Ljublanie pod kierunkiem profesora Janeza Plavec, natomiast roku 2009-2010 odbył roczny staż podoktorski w grupie profesora Akiry Matsudy w Uniwersytecie Hokkaido w Sapporo. Obecnie zainteresowania naukowe dotyczą zagadnień związanych z oddziaływaniem G-kwadrupeksów z 3,6,9-tripodstawionymi pochodnymi 9H-karbazolu a także zastosowaniem spektroskopii NMR do badań strukturalnych modyfikowanych nukleozydów oraz związków pochodzenia naturalnego.



<https://orcid.org/0000-0002-4346-4804>

ABSTRACT

G-quadruplexes are non-canonical guanosine rich four stranded nucleic acids structures consisting of at least two or more G-tetrads stabilized by an array of Hoogsteen hydrogen bonds and monovalent cations. The distinguishing feature of the G-quadruplexes is their high thermal stability and structural polymorphism in aqueous media. In parallel, a great number of GQ structures have been extensively surveyed *ex vivo* by means of biophysical techniques such as nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy, circular dichroism (CD) spectroscopy, and X-ray crystallography. Accumulating evidence suggesting that G-quadruplexes play essential role in a numerous biological processes *in vivo*, including DNA replication and transcription, RNA translation as well as genomic maintenance. Consequently, G-quadruplexes has attracted attention as therapeutic targets in cancer or hereditary diseases as well as molecular target in cellular biology. Study on G-quadruplexes:ligand interaction by NMR, CD, UV and fluorescence spectroscopy *in vitro* or *in vivo* has become an intensive research work area of many groups in recent years. Nowadays, there are available large amount of organic compounds that selectively bind to G-quadruplexes and their photophysical and kinetic properties were comprehensively characterized but only few of them are endowed with fluorescence properties that could be applicable as fluorescent probes in cellular biology or *in vitro* detection. Interestingly, the group of these fluorescent probes is characterized by a vast structural diversity resulting from the different way of interaction with G-quadruplexes as well as G-quadruplex polymorphism. This review focuses on the G-quadruplex-selective light up fluorescent probes that have been employed for *in vitro* detection as well as cellular imaging along with a summary of the key photophysical, biophysical, and biological properties of reported examples.

Keywords: G-quadruplexes, fluorescence, G-quadruplex binding ligand, fluorescent probes, cellular imaging, *in vitro* detection

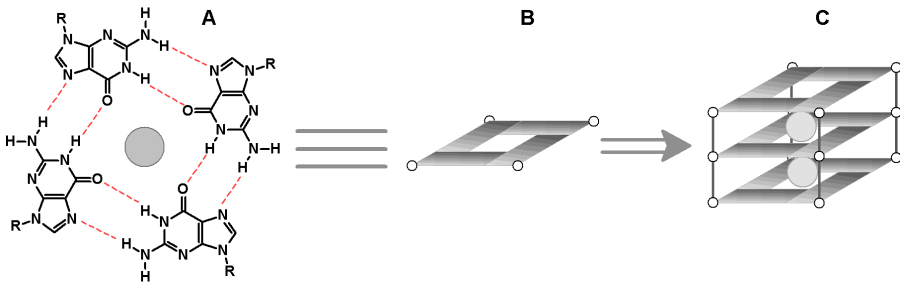
Słowa kluczowe: G-kwadrupeksy, fluorescencja, ligandy wiążące się do G-kwadrupeksu, sondy fluorescencyjne, obrazowanie komórkowe, detekcja *in vitro*

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

FLIM	– (ang. <i>Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy</i>) – mikroskopia obrazowania czasów życia fluorescencji
FRET	– (ang. <i>Förster Resonance Energy Transfer</i>) – bezpromienisty rezonansowy transfer energii
NMR	– (ang. <i>Nuclear Magnetic Resonance</i>) – magnetyczny rezonans jądrowy
CD	– (ang. <i>Circular Dichroism</i>) – dichroizm kołowy
FID	– (ang. <i>fluorescence intercalator displacement</i>) test wypierania interkalatora fluorescencyjnego
LOD	– (ang. <i>limit of detection</i>) granica wykrywalności

WPROWADZENIE

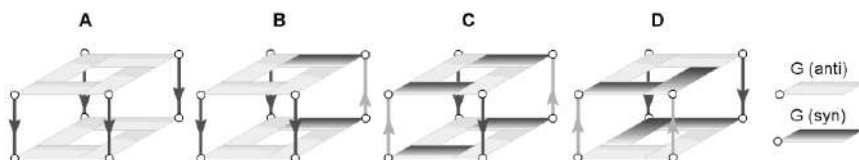
G-kwadrupleksy są to struktury stabilizowane wiązaniami wodorowymi typu Hoogstena o całkowicie odmiennej geometrii od powszechnie występujących typu Watsona-Cricka. (Rys 1) Cechą szczególną wiązania wodorowego typu Hoogstena jest uczestnictwo w nim atomu azotu N^7 puryny jako akceptora wiązania wodorowego. Dodatkowo w wiązaniu typu Hoogstena mogą uczestniczyć atomy tlenu O^6 jako akceptor lub atom azotu N^6 jako donor odpowiednio w reszcie guaniny lub adeniny. W przypadku G-kwadrupleksów osiem wiązań wodorowych tworzących się wzdłuż krawędzi Hoogstena jak i Watsona-Cricka pomiędzy atomami N^1H-O^6 i N^2H-N^7 każdej z reszty guaniny prowadzą do planarnej aranżacji czterech reszt guaniny i utworzenia się podstawowej jednostki G-kwadrupleksu zwanej G-tetradą. [1] (Rys 1) Układ składający się z co najmniej dwóch i więcej G-tetrad usytuowanych jedna nad drugą tworzy G-kwadrupleks. Oddziaływania warstwowe pomiędzy G-tetradami oraz obecność kationów sodu, potasu lub amonu w centrum G-kwadrupleksu są odpowiedzialne za trwałość czteroniciowej formy. Cechą charakterystyczną G-kwadrupleksów jest polimorfizm strukturalny, który wynika z różnorodności sposobów zwinienia się nici DNA lub RNA bogatych odpowiednio w reszty dG lub rG.



Rysunek 1. G-tetrad stabilizowana przez osiem wiązań wodorowych i centralnie umieszczony kation sodu lub potasu (A). Pojedyncza G-tetrad (B). Schematyczny model czteroniciowego G-kwadrupleksu zbudowanego z trzech oddziałujących warstwowo G-tetrad (C)

Figure 1. G-tetrad stabilized by an array of Hoogsteen hydrogen bonds and centrally localized sodium or potassium cation (A). Single G-tetrad (B). Schematic diagram of four stranded G-quadruplex consisting of three G-tetrads stabilized by stacking interaction (C)

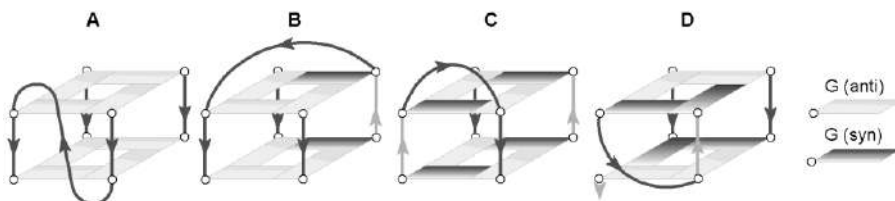
Wprowadzono podział G-kwadrupleksów na podgrupy stosując dwa kryteria klasyfikacji: liczbę nici tworzących wyżej wymienioną formę oraz ich kierunkowość. (Rys. 2)



Rysunek 2. Typy kwadrupleksów: równoległy (A), typu hybryda 3+1 (B), antyrównoległy typu anti-syn-anti-syn (C), antyrównoległy typu anti-anti-syn-syn (D)

Figure 2. Types of G-quadruplexes: parallel (A), hybrid-type 3+1 (B), antiparallel anti-syn-anti-syn (C), antiparallel anti-anti-syn-syn (D)

Pierwsze kryterium pozwala wyróżnić G-kwadrupleksy jednocząsteczkowe, dwucząsteczkowe lub czterocząsteczkowe. Kierunkowość nici określa sposób ich aranżacji względem siebie w obrębie G-kwadrupleksu. Ułożenie wszystkich nici w tym samym kierunku prowadzi do utworzenia G-kwadrupleksu równoległego, który uwzględniając pierwsze kryterium, może być jedno- dwu- lub czterocząsteczkowy. G-kwadrupleksy antyrównoległe powstają gdy jedna lub dwie nici przyjmują kierunkowość przeciwną do pozostałych co w rezultacie prowadzi do trzech możliwych podtypów antyrównoległej aranżacji nici. Pierwsze dwa podtypy obejmują kwadrupleksy, w których dwie nici mają kierunkowość przeciwną do pozostałych (2+2). Różnica między dwoma podtypami jest subtelna i polega na tym, że dwie przekątne nici mogą przyjąć tę samą kierunkowość nici lub przeciwną. (Rys 3) Trzecim podtypem antyrównoległego G-kwadrupleksu jest układ hybrydowy (3+1), w którym trzy nici są ułożone w tym samym kierunku a czwarta w przeciwnym. Ponadto, w G-kwadrupleksach występują pętle czyli fragmenty nici nie uczestniczące w tworzeniu się G-tetrad. Charakter pętli jest zdeterminowany kierunkowością nici. W przypadku antyrównoległych G-kwadrupleksów występują pętle boczne, przekątne lub zewnętrzne, natomiast w równoległych tylko pętle zewnętrzne. Kierunkowość nici jest wzajemnie zależna z orientacją *syn/anti* wokół wiązania glikozydowego guanozyn biorących udział w G-tetradzie. W równoległych G-kwadrupleksach wszystkie reszty guaninowe tworzące G-tetradę muszą mieć tę samą orientację względem reszty cukrowej (*anti* lub *syn*), natomiast dla antyrównoległego ułożenia się nici konieczne jest występowanie mieszanych orientacji *syn/anti* w obrębie każdej G-tetrady.



Rysunek 3. Cztery typy pętli w G-kwadrupleksach: pętla zewnętrzna (A), pętla przekątna (B), pętla boczna (C), pętla w kształcie litery V (D)

Figure 3. Four types of linking loops: double chain reversal (A), diagonal (B), edgewise (C), V-shaped (D)

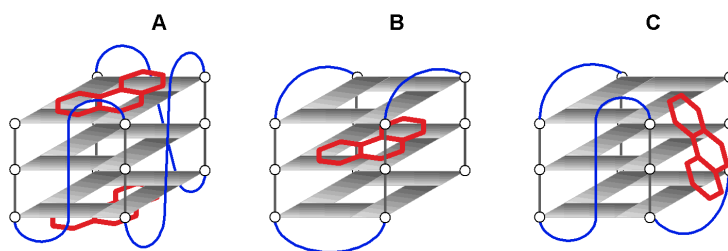
Biologiczna funkcja G-kwadrupeksu zależy od jego lokalizacji w komórce. G-kwadrupeksy DNA występują w biologicznie istotnych dla komórki miejscach takich jak telomery, regiony promotorowe genów onkogennych, krótkie powtórzenia mikro- i minisatelitarne oraz miejsca szczególnie podatne na mutacje (ang. *hot spots*). Telomery zbudowane są z wielokrotnych powtórzeń typu $d(TTAGGG)_n$ i znajdują się na końcach chromosomów. G-kwadrupeksy telomerowe hamują aktywność telomerazy, co próbuje się wykorzystać w terapii antynowotworowej. Z kolei G-kwadrupeksy DNA występujące w regionach promotorowych mogą być zaangażowane w regulację ekspresji genów. Natomiast G-kwadrupeksy RNA mogą występować w telomerowym RNA (TERRA), w obrębie intronów oraz w różnych regionach mRNA, najczęściej jednak w regionie 5'-UTR w pobliżu miejsca startu translacji. Funkcja G-kwadrupeksów RNA w komórce jest wielopoziomowa i nadal stanowi przedmiot intensywnych badań. Zwijanie nici RNA bogatych w reszty guanozynowe w G-kwadrupeksy oraz ich rozplatanie jest procesem dynamicznym i kontrolowanym przez różnorodne białka. Złożoność interakcji białek z G-kwadrupeksami RNA wynika z częstego ich występowania w regionach kodujących i niekodujących mRNA, co przekłada się na udział w procesach translacji i metabolizmie RNA. Ponadto, stwierdzono udział G-kwadrupeksów RNA w regulacji splicingu, transporcie mRNA z miejsca transkrypcji do miejsca translacji, co jest szczególnie istotne w komórkach asymetrycznych takich jak komórki nerwowe. [2,3,4,5]

Z biegiem lat różne metody analityczne, takie jak spektroskopia absorpcyjna UV-Vis, spektroskopia dichroizmu kołowego (CD), elektroforeza żelowa, kalorymetria izotermiczna (ITC), analiza spektrometrii mas, krystalografia rentgenowska i spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR) znalazły zastosowanie do badań struktur G-kwadrupeksów DNA/RNA i ich interakcji z małymi cząsteczkami. [6,7,8] Jednak większość z tych molekularnych narzędzi działa tylko *in vitro* i jest nieodpowiednia w warunkach *in vivo*. Aby zbadać strukturalne i funkcjonalne aspekty G-kwadrupeksów w komórce, konieczne jest zaprojektowanie i otrzymanie sond, których własności spektroskopowe ulegałyby zmianie po interakcji z docelową strukturą G-kwadrupeksu. Pod tym względem spektroskopia fluorescencyjna stała się potężnym narzędziem w biologii komórki i odgrywa istotną rolę w aktualnych badaniach, obejmujących zastosowania w obrazowaniu biologicznym i diagnostyce.

1. MECHANIZMY ODDZIAŁYWANIA LIGANDA Z G-KWADRUPLEKSEM

Ligandy selektywne względem G-kwadrupeksów mogą oddziaływać na dwa sposoby. Pierwszy sposób zdeterminowany jest planarną strukturą G-tetrazy i opiera się na oddziaływaniach warstwowych (ang. *π -stacking*) wyżej wymienionego układu ze sztywnym, aromatycznym fragmentem cząsteczki liganda lub przez interkalację pomiędzy wewnętrzną G-tetradą. (Rys. 4A, 4B)

Oddziaływanie warstwowe może być dodatkowo stabilizowane przez interakcję liganda z pętlami G-kwadrupleksu lub poprzez łączenie się G-kwadrupleksów w większe struktury przedzielanych cząsteczkami liganda. Drugi mechanizm polega na elektrostatycznym oddziaływaniu liganda z bruzdami lub pętlami G-kwadrupleksu. (Rys 4C) W tym sposobie oddziaływania istotne jest, aby cząsteczka posiadała polarne grupy funkcyjne oraz zdolność do zmian konformacyjnych pozwalających na optymalną interakcję z grupami fosforanowymi. Wypadkowy mechanizm oddziaływania liganda z G-kwadrupleksem może również mieć charakter mieszany i być rezultatem jednoczesnego wystąpienia obu rodzajów interakcji.



Rysunek 4. Mechanizmy oddziaływania liganda z G-kwadrupleksami: oddziaływanie warstwowe (A), interkalacja (B), oddziaływanie elektrostatyczne w rejonie bruzdy (C)

Figure 4. Mechanisms of ligand G-quadruplex interaction: stacking (A), intercalation (B), electrostatic in the groove region (C)

2. RODZAJE SOND FLUORESCENCYJNYCH

Związki fluorescencyjne selektywne względem G-kwadrupleksów można podzielić na trzy klasy, stosując jako kryterium zmianę natężenia emisji fluorescencji liganda po przyłączeniu się do G-kwadrupleksu. Ligandy typu „light up” wykazują wzrost fluorescencji, z kolei typu „light off” charakteryzują się wygaszaniem fluorescencji po wiązaniu się do G-kwadrupleksu. Ostatnia grupa związków obejmuje ligandy sprzężone ze znacznikami fluorescencyjnymi. Ze względu na znacznie większą aplikowalność w obrazowaniu biologicznym i diagnostyce, w niniejszym artykule omówię jedynie sondy typu „light up” mając również na uwadze ich jak największą różnorodność strukturalną.

Efekt wzmocnienia fluorescencji sondy typu „light up” indukowany przez związanie się do G-kwadrupleksu może być rezultatem następujących mechanizmów molekularnych:

- a) zahamowania rotacji wewnątrzcząsteczkowej z utworzeniem planarnego układu aromatycznego (RIR – ang. *restriction of internal rotation*, 1-40, 49-50, 52-56, 66, 68-71, 88-91)

- b) emisji indukowanej agregacją cząsteczek liganda wokół G-kwadrupleksu (AIE – ang. *aggregation induced emission*, **42-43**)
- c) emisji indukowanej rozpadem nieemisyjnych agregatów cząsteczek liganda (**57-63, 67**)
- d) dezaktywacji bezpromienistego przejścia energii indukowanego rozpuszczalnikiem (**20, 73-87**)
- e) molekularnej rearanżacji podstawników cząsteczki liganda (**92**)

Sondy fluorescencyjne do obrazowania struktur obecnych w komórce, w tym G-kwadrupleksów, muszą charakteryzować się następującymi właściwościami: (i) specyficzność rozpoznania struktury docelowej lub sekwencji, (ii) wysoka stała wiązania, (iii) przenikalność przez błony komórkowe, (iv) dobra rozpuszczalność w wodzie, (v) wzrost emisji fluorescencji (vi) wysoka wydajność kwantowa, (vii) wysoka fotostabilność (viii) niska cytotoksyczność.

3. SONDY FLUORESCENCYJNE TYPU „LIGHT UP”

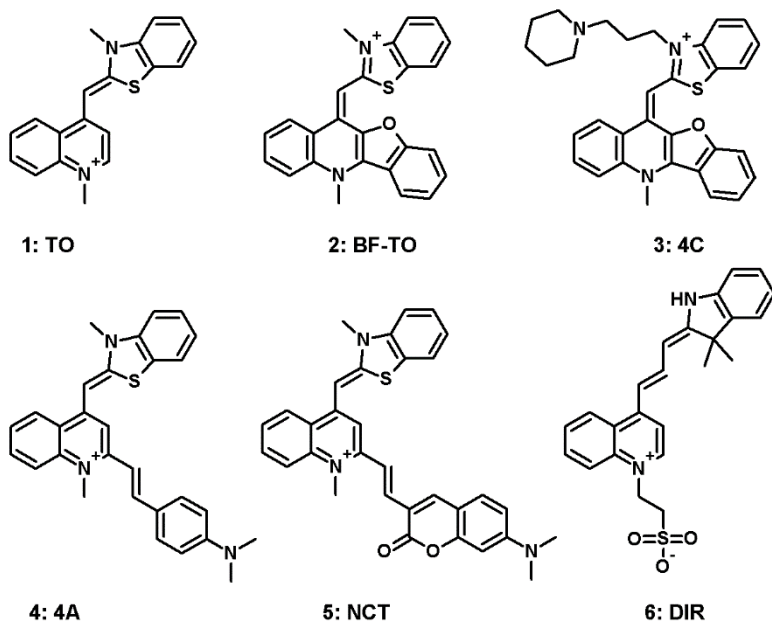
Ze względu na bardzo dużą różnorodność strukturalną sondy fluorescencyjne typu „light up” można podzielić na kilkanaście grup, stosując jako kryterium obecność wspólnego elementu strukturalnego. Wyjątkiem w tym podziale jest grupa ligandów selektywnych względem G-kwadrupleksów RNA, którą została wyodrębniona ze względu na małą ilość przykładów. Podsumowanie najważniejszych właściwości wszystkich związków omówionych w niniejszym artykule zostały zebrane w tabeli 1.

- barwniki polimetinowe (cyjaninowe) (**1-13**)
- pochodne benzotiazolu (**14-17**)
- pochodne bis-benzimidazolu (**18-19**)
- pochodna etydyny (**20**)
- pochodne karbazolu: mono-, di- lub tripodstawione w pozycjach 3,6,9 (**21-33**)
- pochodna fenantroliny (**34**)
- pochodna bis(4-aminobenzylideno)acetonu (**35**)
- pochodne bis-indolu (**36-37**)
- pochodne styrylo-N-alkilochinoliny (**38-40**)
- pochodne 3,6-diaminoakrydyny (**41**)
- pochodne tetrafenylotenu (**42-43**)
- związki pochodzenia naturalnego (**44-48**)
- pochodne trifenylometanu i trifenyloaminy (**49-56**)
- barwniki skwarynowe (**57-60**)
- pochodne naftalenodiimidu (**61-63**)

- pochodne triangulenu (64)
- organiczne związki boru (65)
- pochodne N-metyloimidazol-5-onu (66)
- koniugaty kumaryny i chinazolinu (67)
- pochodne triaryloimidazolu (68-72)
- pochodne porfiryn i ftalocyjanin (73-78)
- kompleksy platyny(II) i rutenu(II) (79-87)
- ligandy fluorescencyjne wiążące się do G-kwadrupeksów RNA (88-92)

3.1. BARWNIKI POLIMETINOWE (1-13)

Barwniki polimetinowe składają się ze sprzężonego układu opartego na łańcuchu polimetinowym łączącym dwa układy heterocykliczne zawierające atom azotu. Długość łańcucha polimetinowego i charakter heterocykli determinują właściwości spektroskopowe tych barwników. (Rys 5 i 6) Oranż tiazolowy (TO, **1**) jeden z powszechnie stosowanych barwników polimetinowych charakteryzuje się szerokim zakresem powinowactwa do większości form kwasów nukleinowych wykazując 50-3000-krotne wzmocnienie fluorescencji ($\lambda_{em}=540$ nm) w zależności od konformacji i sekwencji kwasów nukleinowych.[9] W swojej strukturze zawiera N-metylobenzotiazol sprzęgnięty pojedynczym mostkiem metinowym z N-metylocholiną. W przypadku jednocząsteczkowych G-kwadrupeksów (c-myc, c-kit, CEB1) obserwowano 500-3000-krotne wzmocnienie fluorescencji TO, z kolei dla oddziaływania TO z czteroniciowymi równoległymi G-kwadrupeksami uzyskano znacznie słabsze, 60-70-krotne wzmocnienie fluorescencji. Właściwości fluorescencyjne TO znalazły zastosowanie w badaniu konformacji G-kwadrupeksów z użyciem eksperymentu FRET (ang. *Förster Resonance Energy Transfer*) oraz badaniu mechanizmu interakcji ligand:G-kwadrupeks w eksperymentach FID (FID – ang. *fluorescence intercalator displacement*). Zbliżone wartości powinowactwa TO do dupleksów DNA i G-kwadrupeksów stanowią istotne ograniczenia stosowania TO do selektywnej wizualizacji G-kwadrupeksów w komórkach. Wprowadzenie różnego rodzaju modyfikacji do układu oranżu tiazolowego w sposób znaczący przesunęło powinowactwo szkieletu TO w stronę G-kwadrupeksów przy zachowaniu własności fluorescencyjnych. Zwiększenie powierzchni aromatycznego układu N-metylocholinu poprzez sprzężenie z benzofuranem w **2** zwiększyło selektywność związku wobec G-kwadrupeksów (c-myc i telo21) oraz zaobserwowano wzrost wydajności kwantowej (150 i 208-krotny).[10] Ligand ten barwił G-kwadrupeksy RNA i DNA w utrwalonych komórkach MCF7. Zdecydowanie lepsze właściwości selektywności i powinowactwa w porównaniu z **2** uzyskano dla **3**, związku zawierającego



Rysunek 5. Barwniki polimetinowe (1-6)

Figure 5. Polymethine dyes (1-6)

podstawnik (piperydyn-1-yl)propylu w miejsce grupy metylowej. W obecności antyrównoległego G-kwadrupeksu HRAS, związek **3** wykazywał 380-krotne wzmocnienie fluorescencji, silny efekt stabilizujący HRAS ($\Delta T_m = 25^\circ\text{C}$) oraz stałą wiązania $K_D \sim 0.89 \mu\text{M}$. Niska wartość granicy wykrywalności (0.18 nM; LOD – ang. *limit of detection*) oraz dobra przenikalność przez błony komórkowe związku **3** pozwoliła na wizualizację G-kwadrupeksów DNA w linii komórkowej PC3.[11] Wprowadzenie elastycznego podstawnika p-dimetyloaminostyrylu w pozycji orto N-metylocholinoli (**4**) nieznacznie poprawiło stałą wiązania do G-kwadrupeksu telo21 ($K_D \sim 1.0 \mu\text{M}$) w porównaniu z **2**. Ponadto, stwierdzono silny efekt stabilizujący telo21 ($\Delta T_m = 8\text{--}30^\circ\text{C}$, w zależności od stosunku stężeń telo21 do **4**) oraz 270-krotne wzmocnienie fluorescencji.[12] Obraz z mikroskopu konfokalnego komórek PC3 po traktowaniu związkiem **4** wykazał silne wzmocnienie fluorescencji tylko w jąderku, sugerując obecność G-kwadrupeksów w trakcie procesu transkrypcji. Związek **5** będący koniugatem TO i kumaryny podstawionej w pozycji 7 charakteryzował się największym przesunięciem λ_{em} względem TO (650 nm vs 540 nm) oraz 110–250-krotnym wzmocnieniem fluorescencji w obecności G-kwadrupeksów o różnej topologii. Obserwacja linii komórkowych HeLa potraktowanych **5**, wykazała zdecydowaną preferencję tego liganda do G-kwadrupeksów zlokalizowanych w mitochondriach.[13] Z kolei w cząsteczce **6** wydłużono linker metinowy do trzech reszt, który sprzega układ dimetyloindolu

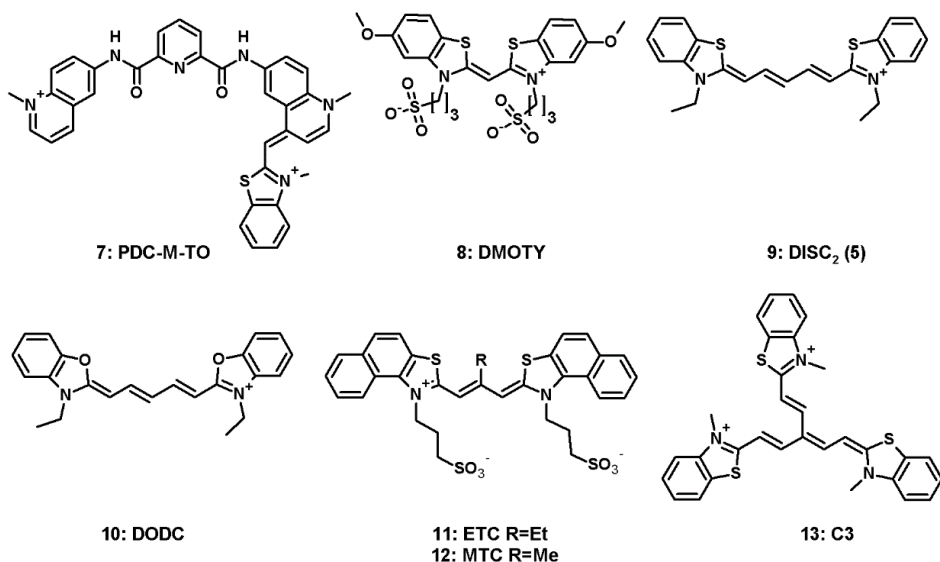
(w miejsce benzotiazolu) z N-propylosulfonianem chinoliny. Związek ten wykazywał silne powinowactwo do G-kwadrupeksu równoległego c-myc ($K_D \sim 0.09 \mu\text{M}$) oraz obserwowano 36-krotne wzmocnienie fluorescencji ($\lambda_{em} = 651 \text{ nm}$). Dwukrotnie słabsze wzmocnienie (16 krotne) zaobserwowano dla G-kwadrupeksu hybrydowego HT22.[14]

Ciekawym przykładem strategii projektowania fluorescencyjnego i selektywnego liganda jest **7** będący koniugatem dwóch związków: pirydodikarboksyamidu bis-chinoliny (PDC-360A) oraz oranżu tiazolowego (TO). Związek PDC-360A w przeciwieństwie do TO jest selektywny względem G-kwadrupeksów jednak wykazuje niską emisję fluorescencji. Zaobserwowano silną stabilizację G-kwadrupeksów w obecności **7** ($\Delta T_m = 18.4 \text{ }^\circ\text{C}$ i $25.2 \text{ }^\circ\text{C}$, odpowiednio dla kationów Na^+ i K^+), jakkolwiek dla PDC-360A wartość ΔT_m w obecności kationów Na^+ była nieznacznie wyższa $\Delta T_m = 22.9 \text{ }^\circ\text{C}$. Największe wzmocnienie fluorescencji **7** stwierdzono w obecności G-kwadrupeksów 22AG, c-kit2 i c-myc.[15]

Związek **8** otrzymany w wyniku sprzęgnięcia mostkiem metinowym dwóch układów N-propanosulfoniano-5-metoksybenzotiazolu wykorzystano do fluorescencyjnego monitorowania G-kwadrupeksów w lizosomach żywych komórek HeLa i MCF7 podczas autofagii mitochondriów. W testach *in vitro* wykazano 150-270 krotne wzmocnienie fluorescencji dla liganda **8** w obecności mitochondrialnych G-kwadrupeksów DNA.[16]

Pozostałe pochodne cyjaninowe zawierają trzy lub pięć mostków metinowych łączących dwa lub trzy układy heteroaromatyczne. Związek **9** zawierający dwa układy N-etylobenzotiazolu sprzężone pięcioma mostkami metinowymi wiązał się do krańcowych G-tetrad równoległego G-kwadrupeksu c-myc z umiarkowanym stałą $K_D \sim 2.1 \mu\text{M}$. [17] Z kolei dla **10**, zawierającego atom tlenu w miejscu atomu siarki, zaobserwowano jego wiązanie do bruzd dwucząsteczkowych antyrównoległych G-kwadrupeksów oraz osłabienie intensywności fluorescencji. Niewielkie wzmocnienie (18%) stwierdzono natomiast w obecności równoległego czteroniciowego G-kwadrupeksu TG_4T . [18] Wysoką selektywnością względem G-kwadrupeksów charakteryzują się pochodne dibenzotiakarbocyjaniny (**11** i **12**), związki zawierające mostek trimetinowy łączący dwie reszty nafto[1,2-d][1,3]tiazolu. Związki **11** i **12** w wodnych roztworach tworzą agregaty, które w obecności G-kwadrupeksów o różnej topologii (HT, c-kit1, c-myc, bcl-2) ulegają dysocjacji do monomerów prowadząc do wzrostu emisji fluorescencji (70 krotny dla **11** oraz 1000 krotny dla **12**, $\lambda_{em} = 600 \text{ nm}$). [19, 20, 21] Dla pozostałych rozbudowanych strukturalnie analogów barwników cyjaninowych nie stwierdzono jednoznacznych wyników wskazujących na istotny wzrost selektywności względem G-kwadrupeksów. W omawianej grupie warto wspomnieć o ciekawym przykładzie struktury związku **13** zawierającego trimer polimetinowy N-metylobenzotiazolu.

Chociaż ligand ten wiąże się do G-kwadrupleksu 22AG z umiarkowaną stałą $K_D \sim 1.2 \mu\text{M}$ to jego fluorescencja ulega 106-krotnemu wzmocnieniu w obecności 22AG.[22]



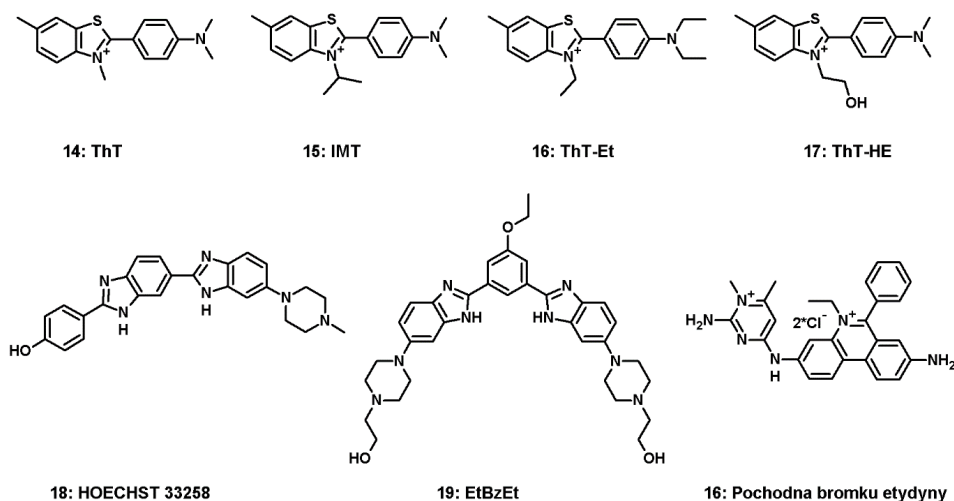
Rysunek 6. Barwniki polimetinowe (7-13)

Figure 6. Polymethine dyes (7-13)

3.2. POCHODNE BENZOTIAZOLU (14-17)

Tioflawina T (ThT, 14), to barwnik z grupy benzotiazoli o szerokim zastosowaniu w histologii. (Rys 7) Strukturalnie jest najmniejszym związkiem fluorescencyjnym wykazującym umiarkowaną stałą wiązania ($K_D \sim 0.77\text{-}3.51 \mu\text{M}$) do telomerowego G-kwadrupleksu 22AG. W zależności od topologii 22AG obserwowano 1200-2100 krotny wzrost emisji fluorescencji oraz efekt stabilizujący topologię antyrównoległą rzędu $\Delta T_m = 11 \text{ }^\circ\text{C}$. [23] Ligand ten wiązał się słabiej ($K_D \sim 3.41\text{-}16.1 \mu\text{M}$) do G-kwadrupleksów RNA wykazując 366-610 krotne wzmocnienie fluorescencji w zależności od badanej sekwencji RNA. [24] Ponadto, tioflawina T znalazła zastosowanie jako sonda fluorescencyjna do detekcji G-kwadrupleksów w drobnoustrojach takich jak: wirusy *Zika* [25], *Papilloma* [26] oraz bakterii *Chlamydomonas reinhardtii*. [27] Mając na uwadze obiecujące właściwości ThT, otrzymano szereg pochodnych ThT poprzez wprowadzenie nieznaczących modyfikacji podstawników na obu atomach azotu. Związek 15 zawierający izopropyl w pozycji N3 układu benzotiazolu wykazywał powinowactwo rzędu 6.25-13.0 μM do szeregu G-kwadrupleksów o topologii równoległej lub hybrydowej oraz 487-630 krotne wzmocnienie fluorescencji.

Ponadto, ligand **15** również wykazywał 320-439-krotne wzmocnienie fluorescencji w obecności równoległych G-kwadrupeksów RNA. Na podstawie mikroskopowej obserwacji zmian fluorescencji w liniach komórkowych HeLa, SMMC-7721, HUVEC HT1080 poddanych działaniu **15** wykazano jego gromadzenie się w jądrach komórkowych. [28] Intensywność fluorescencji ulegała zmniejszeniu w obecności pirydostryny lub po podaniu inhibitora polimerazy α , co było dowodem wskazującym na wiązanie się **15** do G-kwadrupeksów. Natomiast dwa pozostałe analogi ThT, związki **16** i **17**, podstawione odpowiednio trzema grupami etylowymi lub 2-hydroksyetylem wykazywały słabsze wzmocnienie fluorescencji i niższe wiązanie do G-kwadrupeksów równoległych lub hybrydowych. [29,30] Omówione przykłady pochodnych tioflawiny T, pokazują jak niewielka modyfikacja struktury może wpłynąć na właściwości emisyjne i powinowactwo sondy do G-kwadrupeksów.



Rysunek 7. Pochodne: benzotiazolu (**14-17**), bis-benzimidazolu (**18-19**), etydyny (**20**)

Figure 7. Derivatives of: benzothiazole (**14-17**), bis-benzimidazole (**18-19**), ethidium (**20**)

3.3. POCHODNE BIS-BENZIMIDAZOLU (**18-19**)

W obrębie grupy pochodnych benzimidazolu najbardziej znanym związkiem jest barwnik Hoechst 33258 wykazujący silne powinowactwo do bruzdy mniejszej dupletu DNA bogatej w 4-5 powtórzeń AT. (Rys 7) Badania wykazały, że Hoechst 33258 (**18**) wiąże się także do G-kwadrupeksów (c-myc, pu24, c-kit2) oddziałując warstwowo z krańcowymi G-tetradami. [31] Modyfikacje struktury tego barwnika, takie jak wprowadzenie trzeciego układu benzimidazolu (pochodne terbenzimidazolu) lub zmiany izomerii podstawienia skutkowały jedynie modulacją

powinowactwa do dupleksów DNA bogatych w AT. [32] Zdecydowany wzrost selektywności względem G-kwadrupeksów uzyskano dla symetrycznych, w kształcie litery V pochodnych bis(piperazylo benzimidazolu) połączonych centralnie pierścieniem pirydyny lub fenylu w pozycjach 1,3 (**19**). Natomiast liniowa aranżacja obu układów benzimidazolu w pozycjach 1,4 centralnego pierścienia benzeno znacząco obniżała powinowactwo związku do G-kwadrupeksów. Na podstawie symulacji obliczeniowych układów liganda z G-kwadrupeksem wykazano, że izomer 1,3 oddziałuje warstwowo z trzema resztami guaniny G-tetrazy natomiast liniowy izomer 1,4 tylko z dwoma. Związki z grupy 1,3-bis podstawionych wiązały się do G-kwadrupeksu $(T_2G_4)_4$ z umiarkowanym powinowactwem ($K_d \sim 1.88-14.3 \mu M$). Najsilniejsze, 50-krotne wzmocnienie fluorescencji zaobserwowano dla **19** ($K_d \sim 1.88 \mu M$). [33] Reasumując, wydaje się, że dla zaistnienia selektywnego oddziaływania pochodnych bis-benzimidazolu z G-kwadrupeksem konieczne jest obecność podstawienia 1,3 układu heteroaromatycznego wraz z terminalnymi podstawnikami alifatycznymi zawierającymi grupy aminowe zdolne do oddziaływania z bruzdami lub pętlami G-kwadrupeksu.

3.4 POCHODNE ETYDYNY (**20**)

Bromek etydyny (EtBr) jest kolejnym, powszechnie stosowanym, barwnikiem do wizualizacji kwasów nukleinowych, oddziałujący poprzez interkalację do dupleksu DNA a także wiąże się z trypleksami. (Rys 7) Słabiej wiąże się do G-kwadrupeksów oddziałując warstwowo z zewnętrznymi G-tetradami. Wprowadzenie do EtBr podstawnika aromatycznego (**20**) pozwoliło na uzyskanie pochodnych o dużym powinowactwie ($K_D \sim 90-120 \text{ nM}$) do G-kwadrupeksów i umiarkowanym wzmocnieniu fluorescencji. [34]

3.5 POCHODNE KARBAZOLU (**21-33**)

Pochodne karbazolu symetrycznie podstawione w pozycjach 3,6 układami heteroaromatycznymi bezpośrednio lub za pośrednictwem podwójnego mostka metinowego stanowią grupę fluorescencyjnych ligandów selektywnie wiążących się do G-kwadrupeksów DNA. (Rys 8) Związki **21** (o-BMVC) i **22** (p-BMVC), zawierające w strukturze odpowiednio jodek 1-metylo-2-winylopirydyniowy i 1-metylo-4-winylopirydyniowy, wykazują bardzo silne powinowactwo (odpowiednio $K_D \sim 33.3 \text{ nM}$ i 0.89 nM) do G-kwadrupeksu HT24 oraz 80-120-krotny wzrost fluorescencji przy $\lambda_{em} 560-570 \text{ nm}$. [35,36,37] Ligand **22** wykazuje niską cytotoksyczność i jest zdolny do hamowania aktywności telomerazy w niskich stężeniach ($\sim 50 \text{ nM}$). Wykazano silną fluorescencję **22** w jądrach komórek nowotworów płuc i jamy ustnej (odpowiednio, H1299 i Ca9-22)

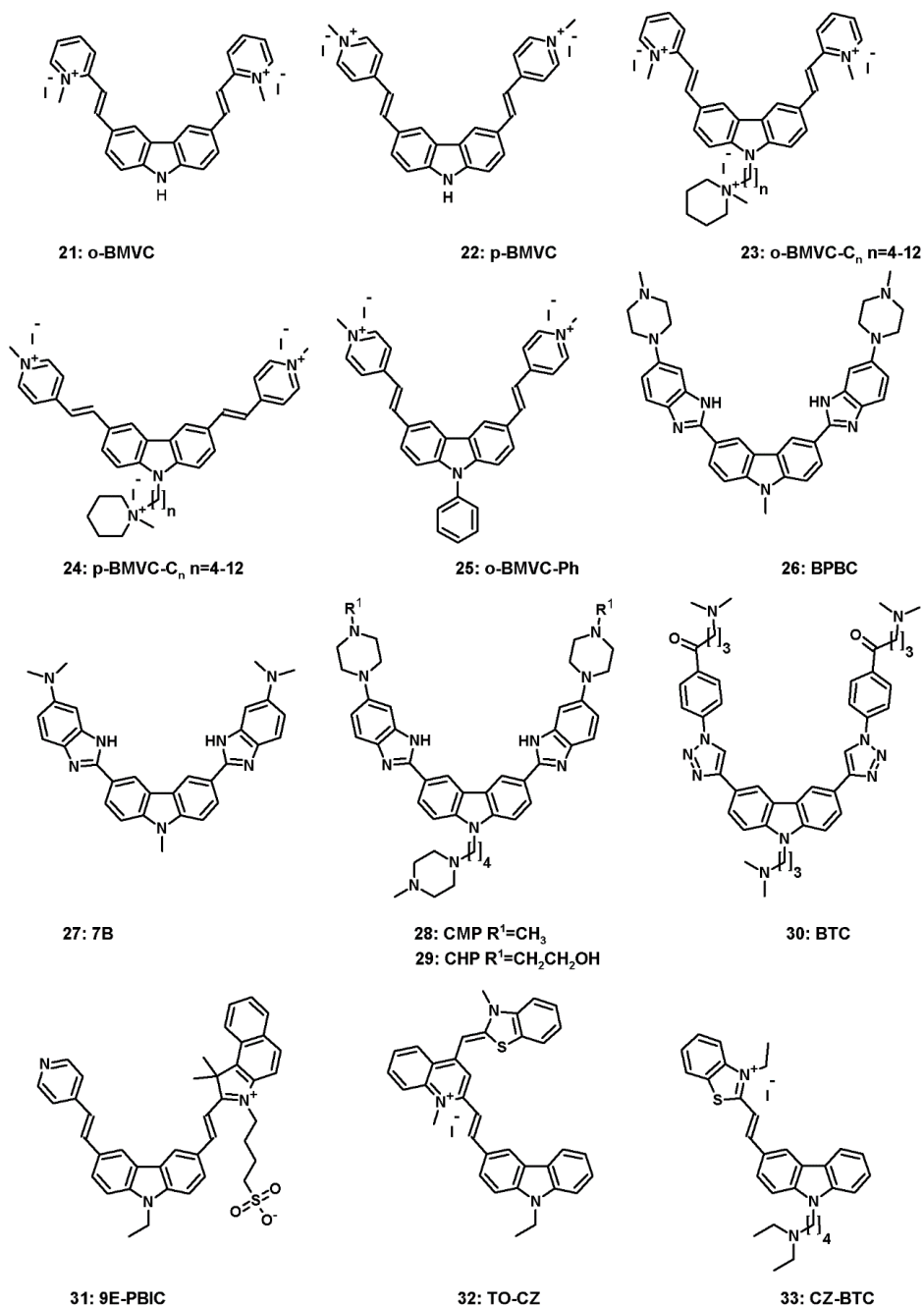
w przeciwieństwie do komórek zdrowych (Detroit-551, IMR-90).[38] Wizualizacja komórek raka jamy nosowo-gardłowej (KJ-1) traktowanych **22**, za pomocą dwufotonowej fluorescencyjnej mikroskopii czasowo-rozdzielczej, wykazała gromadzenie się **22** w rejonach telomerowych chromosomów w stadium metafazy.[39] Na podstawie badań temperatury topnienia wykazano znaczną stabilizację G-struktury HT24 ($\Delta T_m=13$ °C) przez **22**, z kolei **21** wiązał się około 90 razy silniej do HT24 aniżeli do dupleksu ($K_D\sim 2.91$ μ M). Oba związki w obecności G-kwadrupeksu wykazywały około 2-4 krotne wydłużenie czasu zaniku fluorescencji w porównaniu z dupleksami DNA. Powyższa właściwość umożliwiła odróżnienie komórek nowotworowych (MCF-7/ADR, CL1-0, H1299, HeLa, MCF-7, SAS) od zdrowych na podstawie bioobrazowania interakcji **21** z G-kwadrupeksami za pomocą fluorescencyjnej mikroskopii czasowo-rozdzielczej. (FLIM – ang. *fluorescence lifetime imaging microscopy*). Stwierdzono dodatnią korelację pomiędzy liczbą fluorescencyjnych ognisk G-kwadrupeksu:**21** a stadium zaawansowania nowotworu. Badania biopsji tkanek wykazały, że test z **21** może stanowić kolejną metodę klinicznego wykrywania nowotworów głowy i szyi.[40] Pochodne o-BMVC (**23**) i p-BMVC (**24**) podstawione w pozycji N9 długim łańcuchem alifatycznym (4-12 reszt metylenowych) zakończonym kationem N-metylopiperidyny wykorzystano do wizualizacji za pomocą techniki FLIM mitochondrialnych G-kwadrupeksów DNA w liniach komórkowych CL1-0 i MRC-5.[41,42] Dodatkowo dla serii związków z grupy **23** określono zależność pomiędzy lipofilowością liganda a jego dystrybucją w mitochondrium i jądrze komórkowym komórek nowotworowych oraz wyjaśniono mechanizm leżący u podstaw wysokiej selektywności fluorescencyjnego znakowania komórek nowotworowych. Natomiast podstawienie p-BMVC w pozycji N9 grupą fenylową (**25**) lub podstawnikami alkilowymi (etyl, metyl) nie wykazywało istotnej różnicy w stałej wiązania do G-kwadrupeksów oraz dupleksów.[43] Mechanizm oddziaływania omówionej serii ligandów z G-kwadrupeksami nie jest jednoznaczny i zależy od ich topologii jak i cząsteczkowości – stwierdzono zarówno oddziaływania warstwowe z krańcowymi G-tetradami jak i wiązanie do brzd.[44]

Bezpośrednie przyłączenie układów heteroaromatycznych w pozycjach 3,6 karbazolu skutkowało otrzymaniem kolejnej serii ligandów o pożądanych właściwościach spektroskopowych i kinetycznych względem G-kwadrupeksów. W tej serii, związki **26** i **27**, zawierające układ benzimidazolu podstawiony dialkiloaminą oraz dodatkowo w pozycji N9 grupę metylową, wykazywały najsilniejsze powinowactwo ($K_D\sim 0.28-0.84$ μ M) i wysoką selektywność do G-kwadrupeksów równoległych (c-myc, EAD, Pu22). [45,46] Obserwowane silne wzmocnienie fluorescencji (335-1800 razy) oraz dobra przenikalność do komórek umożliwiły wizualizację ligandów w linii komórkowej MCF-7. Jednak na

podstawie słabej fluorescencji związku **26** w komórkach wyciągnięto wniosek że gromadzi się on w cytoplazmie i nie wnika do jądra komórkowego.[45] Z kolei dla **28** i **29**, związków podstawionych w pozycji N9 piperazylobutylem, zaobserwowano silne powinowactwo do G-kwadrupeksów telomerowych niezależnie od ich topologii ($K_D \sim 0.03-0.33 \mu\text{M}$) oraz silne wzmocnienie fluorescencji. Dodatkowo wykazano efekt stabilizujący ($\Delta T_m = 16-19 \text{ }^\circ\text{C}$), oraz wysoki indeks selektywności (500-576) wobec G-kwadrupeksów w porównaniu do dupleksów DNA.[47] Kolejną grupą związków w omawianej serii są pochodne bis-triazolilokarbazolu (BTC) podstawione 3-(dimetyloamino)propylem w pozycji N9. Związek zawierający w pozycjach 3,6 układy 1-fenylo-1*H*-1,2,3-triazol-4-ilu terminalnie podstawione alifatyczną diaminą (**30**) najmocniej wiązał się do G-kwadrupeksu równoległego c-myc oraz znacząco go stabilizował ($K_D \sim 0.3 \mu\text{M}$; $\Delta T_m = 22.7 \pm 1.7 \text{ }^\circ\text{C}$) przy niewielkim, 5.5 krotnym przyroście fluorescencji. [48] Ponadto, związek **30** powodował zahamowanie ekspresji białka MYC i w rezultacie apoptozę komórek HepG2 wskutek zatrzymania cyklu podziału komórki. Bioobrazowanie żywych komórek HepG2 poddanych działaniu **30** wykazało gromadzenie się tego związku w obszarze jądra komórkowego.

Związek **31** jest przykładem niesymetrycznego podstawienia w pozycjach 3 i 6 dwoma różnymi podstawnikami heteroaromatycznymi za pośrednictwem podwójnego mostka metinowego. Dla tego liganda uzyskano 100 krotny wzrost fluorescencji **31** przy $\lambda_{em} = 600 \text{ nm}$ w obecności G-kwadrupeksu równoległego (c-myc, $K_D \sim 10 \mu\text{M}$) i 10-30 krotny wzrost wobec pozostałych typów G-kwadrupeksów.[49] Na podstawie dokowania molekularnego zaproponowano mechanizm oddziaływania warstwowego pomiędzy krańcową G-tetradą a planarną strukturą **31**. Cechą wspólną struktury wyżej omówionych 3,6 dwupodstawionych ligandów jest układ aromatyczny w kształcie litery V odpowiedzialny za interakcję z G-tetradami, cecha ta nie jest wyjątkiem i występuje także w strukturach innych grup ligandów.

Warto również wspomnieć o monopodstawionych w pozycji 3 układem aromatycznym N9 alkilowych pochodnych karbazolu tj. **32** i **33**, które z powodzeniem wykorzystano do wizualizacji G-kwadrupeksów w liniach komórkowych MCF-7, COS7 i SiHa.[50, 51] Oba związki, pomimo braku symetryczności w swojej strukturze, w przybliżeniu spełniają strukturalny wymóg kształtu V cząsteczki koniecznego dla zaistnienia silnej interakcji z G-kwadrupeksami.

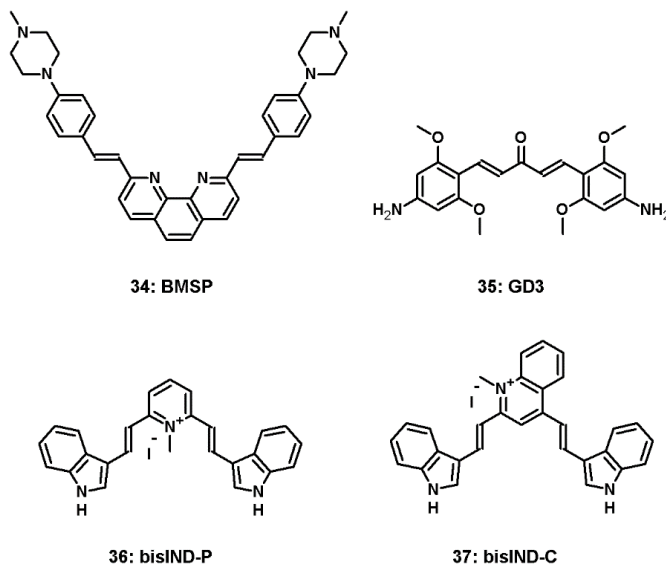


Rysunek 8. Pochodne karbazolu (21-33)

Figure 8. Derivatives of carbazole (21-33)

3.6. POCHODNA FENANTROLINY (34)

Symetrycznie podstawiona w pozycjach 2,9 4(4-metylopiperazyn-1-yl)styrylem pochodna fenantroliny (**34**) jest kolejnym dobrym przykładem istnienia korelacji pomiędzy kształtem V cząsteczki liganda a powinowactwem do G-kwadrupeksu. (Rys 9) Zaobserwowano 150-krotny wzrost fluorescencji **34** w obecności antyrównoległego G-kwadrupeksu Hum24 a wyznaczona K_D wynosi 0.13 μM . Mikroskopia fluorescencyjna komórek MCF-7 po inkubacji BMSP wykazała równomierną dystrybucję liganda w całej cytoplazmie.[52]



Rysunek 9. Pochodne: fenantroliny (**34**), bis(4-aminobenzylideno)acetonu (**35**), bis-indolu (**36-37**)
 Figure 9. Derivatives of: phenanthroline (**34**), bis(4-aminobenzylidene)acetone (**35**), bis-indole (**36-37**)

3.7. POCHODNA BIS(4-AMINO BENZYLIDENO)ACETONU (35)

Kolejnym przykładem symetrycznie podstawionego liganda jest układ bis(4-aminobenzylideno)acetonu, w którym rolę akceptora elektronów pełni centralnie położona spolaryzowana grupa karbonylowa. Spośród przebadanych analogów tej grupy, związek **35** podstawiony czterema podstawnikami metoksyłowymi wykazywał pożądane własności absorpcyjno-emisyjne i najlepsze powinowactwo (K_d 3.03-3.65 μM) do G-kwadrupeksów równoległych (c-myc, c-kit2, VEGF, ADAM10). (Rys 9) Obserwacja linii komórkowych ARPE-19 potraktowanych **35** wykazała emisję fluorescencji tego liganda przy λ_{em} =590 nm w obszarze odpowiadającym lokalizacji jąderka, jak i w cytoplazmie w bezpośrednim sąsiedztwie jądra.[53]

3.8. POCHODNE BIS-INDOLU (36-37)

Grupa pochodnych zawierających układ bis-indolu (donor) sprzężonego za pośrednictwem wiązań winylowych, z pełniącym rolę akceptora elektronów centralnym układem heteroaromatycznym okazały się mieć korzystne własności spektroskopowe jak i wysokie powinowactwo do G-kwadrupeksów DNA. Podobnie jak w serii analogów karbazolu niska fluorescencja pochodnych bis-indolu ulega wzmocnieniu wskutek przyłączenia się do G-kwadrupeksu. Związek **36** zawierający w centrum kation N-metylopirydyniowy wiązał się selektywnie do kwadrupeksu telomerowego ($K_D \sim 1.99 \mu\text{M}$) wywołując 50-krotny wzrost fluorescencji oraz zmianę jego topologii z hybrydowej na antyrównoległą.[54] (Rys 9) Traktowanie komórek raka trzustki (PC3) związkiem **36** wykazało tendencję do gromadzenia się liganda w jąderku. Z kolei dla związku **37** zawierającego układ 1-metylocholinoliny zaobserwowano 150-290-krotny wzrost emisji fluorescencji przy $\lambda_{em} = 617 \text{ nm}$ w obecności G-kwadrupeksów DNA o różnej topologii (telo21, htg22, oxy28, ckit1, ckit2, bel2, pu22) a wyznaczona stała K_D przyjmowała wartości 1.43-3.70 μM . Pomimo dobrej selektywności w stosunku do G-kwadrupeksów, ligand nie wykazywał zdolności rozróżnienia poszczególnych topologii.[55]

3.9. POCHODNE STYRYLO-N-ALKILOCHINOLINY (38-40)

Barwniki zawierające układ styrylo-N-alkilochinolinoliny podstawiony alifatyczną aminą w jednej lub dwóch pozycjach są kolejną grupą ligandów, których bardzo niska fluorescencja ulega wzmocnieniu w obecności G-kwadrupeksu w zakresie 590-650 nm oraz następuje przesunięcie batochromowe maksimum absorpcji w widmie UV. Obecność dodatnio naładowanego układu N-alkilochinolinoliny umożliwia dwójaki mechanizm oddziaływania z G-kwadrupeksem: warstwowe z G-tetradą lub elektrostatyczne z łańcuchem fosforanowym. Dla związku **38**, w zależności od struktury G-kwadrupeksu (Htg-21, 22Ag, C-myc, CM22, C-kit1, G3T3, Hras) zaobserwowano 200-300-krotne wzmocnienie fluorescencji oraz umiarkowane do silnego powinowactwo ($K_D \sim 0.30-10 \mu\text{M}$, Rys 10). Ponadto związek **38** cechował się niską wartością granicy wykrywalności (0.36-0.85 nM), co pozwala na wykrywanie G-kwadrupeksów DNA w stężeniu nanomolarnym.[56] Związek **39** podstawiony na atomie azotu chinolinoliny ujemnie naładowaną grupą butanosulfonianu najsilniej wiązał się do G-kwadrupeksów równoległych c-myc i CM22 ($K_D \sim 0.45$ i $0.55 \mu\text{M}$) oraz wykazywał 118 i 145-krotny przyrost fluorescencji. W stosunku do G-kwadrupeksów hybrydowych i antyrównoległych (Htg-21, 22Ag, G3T3, Hras) związek **39** wykazywał nieco słabsze powinowactwo ($K_D \sim 0.87-2.44 \mu\text{M}$).[57] Niska cytotoksyczność i dobra przepuszczalność przez błony komórkowe związku **39** umożliwiła obrazowanie fluorescencyjne G-kwadrupeksów w żywych oraz utrwalonych komórkach raka wątroby Hep-G2,

które wykazało gromadzenie się **39** w cytoplazmie. Preferowany mechanizm wiązania się **39** do G-kwadrupeksu polega na oddziaływaniu liganda z bruzdami i pętlami. Z kolei, związek **40** zawierający rozszerzony układ chromoforu tj. benzo(f)chinoliny podstawiony 4-[N-(2-hydroksyetylo)piperazylo]styrylem wykazywał silne powinowactwo do G-kwadrupeksu c-myc ($K_D \sim 0.53 \mu\text{M}$) i 590-krotne wzmocnienie fluorescencji przy $\lambda_{em} = 590 \text{ nm}$. Mechanizm wiązania **40** do G-kwadrupeksu c-myc polega na oddziaływaniu warstwowym układu aromatycznego benzo(f)chinoliny z krańcową G-tetradą oraz stabilizującym wpływie wiązań wodorowych pomiędzy podstawnikiem 2-hydroksyetylowym a grupami fosforanowymi.[58]

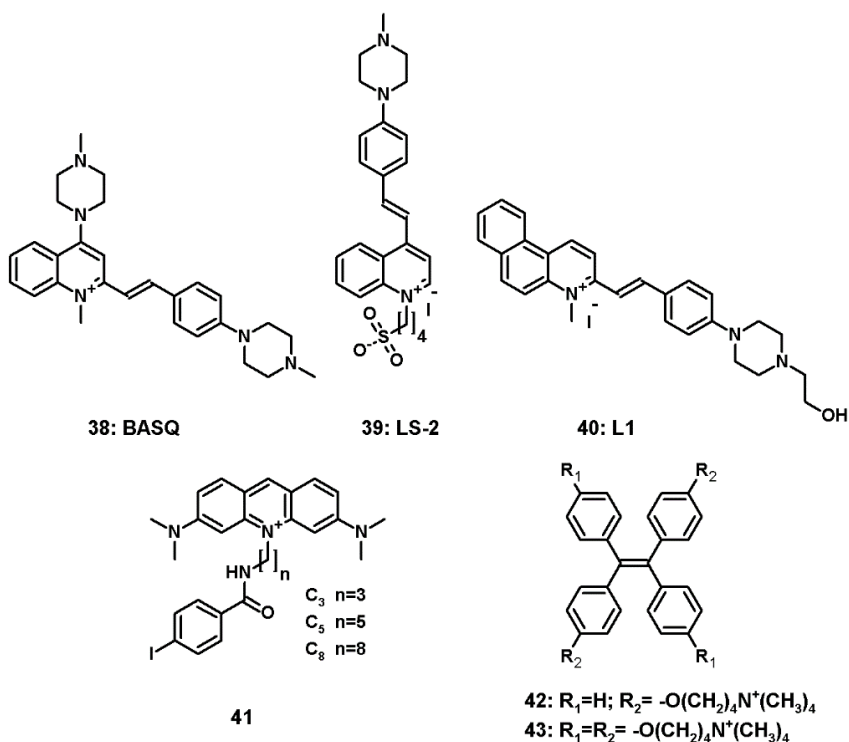
3.10. POCHODNE 3,6-DIAMINOAKRYDINY (41)

Pochodne 3,6-diaminoakrydiny (**41**) zawierające w pozycji 10 alifatyczny łańcuch o różnej długości (3-8) terminalnie podstawiony amidem kwasu 4-jodobenzoesowego silnie stabilizowały strukturę równoległego G-kwadrupeksu KRAS-22RT ($\Delta T_m = 17.8-40.7 \text{ }^\circ\text{C}$) oraz wykazywały do niego wysokie powinowactwo ($K_D \sim 0.44-0.55 \mu\text{M}$, Rys 10). Nieco słabszą stabilizację struktury i porównywalną stałą wiązania omawianych związków zaobserwowano względem G-kwadrupeksu c-myc ($\Delta T_m = 18.5-33.9 \text{ }^\circ\text{C}$, $K_D \sim 0.18-0.74 \mu\text{M}$).[59] Wydłużenie łańcucha alifatycznego w poszczególnych związkach znacząco wpływało na wzrost stabilności ich kompleksów z G-kwadrupeksami jak i wzrost cytotoksyczności ligandów wobec linii HeLa ($IC_{50} = 0.9-5.7 \mu\text{M}$). Obserwacja komórek HeLa poddanych działaniu pochodnej z najdłuższym łańcuchem wykazała silną fluorescencję w rejonie jądra komórkowego i nieco słabszą w cytoplazmie. Niekorzystnymi cechami tej serii związków są ich zaledwie 10-krotne wzmocnienie fluorescencji w obecności G-kwadrupeksów oraz umiarkowane wiązanie do dupleksu ds26 ($K_D \sim 1.4-1.9 \mu\text{M}$).

3.11. POCHODNE TETRAFENYLOETENU (42-43)

Barwniki z grupy tetrafenyloetenu (TFE) charakteryzują się zdolnością wzrostu fluorescencji indukowanym tworzeniem się agregatów w zależności od wzrostu stężenia G-kwadrupeksu. Budowa układu TFE eliminuje możliwość planarnego ustawienia się wszystkich czterech grup fenylowych wzdłuż wiązania winylowego ze względu na zawadę steryczną. W niskim stężeniu związki TFE wykazują dynamiczną rotację pierścieni fenylowych i niską emisję fluorescencji, która wzrasta wskutek zahamowania rotacji i tworzenia się agregatów wraz ze wzrostem stężenia związku. Związki **42** i **43** podstawione odpowiednio dwoma lub czterema dodatnio naładowanymi podstawnikami 4-(trimetyloamoni)butoksyłu w pozycji *para* grupy fenylowej wykazywały wzrost emisji fluorescencji oraz silne

powinowactwo ($K_d \sim 0.138-0.367 \mu\text{M}$ i $0.048-0.169 \mu\text{M}$) do multimerycznych form G-kwadrupleksów telomerowych o długości sekwencji od 45 do 69 zasad. [60] (Rys 10) Związek **42** w porównaniu z **43** cechował się 2-3 krotnie słabszym wiązaniem się do G-kwadrupleksów telomerowych oraz zdecydowanie lepszą selektywnością w odniesieniu do dupleksu. Z kolei **43**, pomimo umiarkowanego wiązania się do dupleksów ($K_d \sim 2.56 \mu\text{M}$) lepiej niż **42** stabilizował G-kwadrupleksy o dłuższych sekwencjach ($\Delta T_m = 6.9 - 9.4 \text{ }^\circ\text{C}$). Różnice w powinowactwie do kwasów nukleinowych obu związków wynikają z liczby dodatnio naładowanych ładunków na końcach podstawników. W przypadku **43** obecność czterech dodatnich ładunków poprawia stałą wiązania związku do multimerów G-kwadrupleksów telomerowych obniżając jednak ich selektywność w odniesieniu do dupleksów.

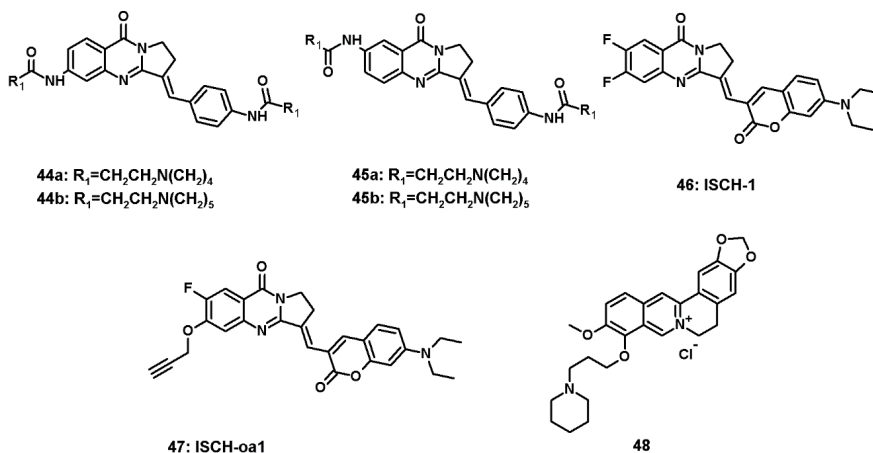


Rysunek 10. Pochodne: styrylo-N-alkilochinoliny (**38-40**), 3,6-diaminoakrydyny (**41**), tetrafenyloetenu (**42-43**)
 Figure 10. Derivatives of: styryl-N-alkylquinoline (**38-40**), 3,6-diaminoacridine (**41**), tetraphenylethene (**42-43**)

3.12. ZWIĄZKI POCHODZENIA NATURALNEGO (44-48)

Istnieje spora grupa związków aromatycznych pochodzenia naturalnego wykazujących słabą fluorescencję w wodnych roztworach, która ulega

wzmocnieniu w obecności G-kwadrupeksów DNA. Spośród nich należy wymienić alkaloidy chinazolinowe (pochodne izaindigotonu), alkaloidy izochinolinowe (berberyna, palmityna i pochodne). Izaindigoton jest alkaloidem naturalnie występującym w korzeniu *Isatis indigotica* Fort, rośliny stosowanej w tradycyjnej medycynie chińskiej w leczeniu grypy, zapalenie wątroby i mózgu. W swojej strukturze izaindigoton zawiera układ pirolo[2,1-b]chinazoliny sprzężonej z grupą benzylidenową. Związek ten nie wykazuje powinowactwa do G-kwadrupeksów. Natomiast pochodne izaindigotonu zawierają modyfikację w układzie benzylidenu (**44**, **45**) albo obecność dodatkowych atomów fluoru i alifatycznych podstawników w części kumaryny (**46**, **47**) wykazując silne powinowactwo względem G-kwadrupeksów oraz znaczące wzmocnienie fluorescencji. (Rys 11) Związek **46** zawiera układ izaindigotonu, pełniący rolę akceptora podstawiony dwoma atomami fluoru i grupą metylową na atomie azotu, który sprzężony kumaryną (donor) wykazuje umiarkowane wzmocnienie fluorescencji przy $\lambda_{em}=640$ nm oraz zmianę barwy z różowej na błękitną w obecności G-kwadrupeksów pu22 i htg21. Ligand **46** z powodzeniem wykorzystano do barwienia utrwalonych i żywych linii komórkowych HeLa, gdzie w jąderkach stwierdzono największe jego stężenie.[61] Związek **47** (monofluorowa pochodna ISCH-1) wykorzystano do otrzymania koniugatu z antysensową sekwencją RNA (ISCH-nras1) za pośrednictwem łącznika triazolowego (ang. *click chemistry*). Hybrydyzacja koniugatu ISCH-nras1 do docelowej nici NRAS RNA powodował wzrost emisji fluorescencji **47** wskutek oddziaływania z kwadrupeksem. [62] Autorzy zaobserwowali wzrost emisji fluorescencji po podaniu ISCH-nras1 w rejonie cytoplazmy komórek SiHa, uprzednio transfekowanych docelową sekwencją NRAS RNA. Identyczną strategię wizualizacji G-kwadrupeksów RNA w komórkach HEK293T oraz HeLa zastosowano wobec rejonu 3'UTR transkryptu APP (ang. *amyloid precursor protein*). [63] Pozostałe dwa analogi izaindigotonu, **44** oraz **45**, wykazują silne powinowactwo do G-kwadrupeksów telomerowych ($K_D \sim 0.1 \mu M$) oraz efekt stabilizujący ($\Delta T_m = 17.6-21.9 \text{ } ^\circ C$) przy stosunkowo niewielkim 2.6 krotnym wzmocnieniu fluorescencji.[64] Berberyna i palmityna (alkaloidy izochinolinowe) obok zdolności inhibicji topoizomerazy I i II posiadają zdolność do warstwowego oddziaływania z G-tetradami ze względu na zagiętą strukturę cząsteczki oraz obecność czwartorzędowego atom azotu. Oba związki wykazują umiarkowane do silnego powinowactwo do G-kwadrupeksów telomerowych ($K_D \sim 0.83-2.38 \mu M$) oraz około 50 krotne wzmocnienie emisji fluorescencji przy $\lambda_{em}=522$ nm. Podstawienie 3-(1-piperydino)propylem w pozycji 9 berberyny (**48**) wzmacnia kilkukrotnie powinowactwo do G-kwadrupeksów telomerowych ($K_D \sim 0.284 \mu M$) oraz wywiera silny wpływ stabilizujący na G-kwadrupeks ($\Delta T_m = 28.2 \text{ } ^\circ C$).[65]



Rysunek 11. Związki pochodzenia naturalnego (44-48)
 Figure 11. Natural products (44-48)

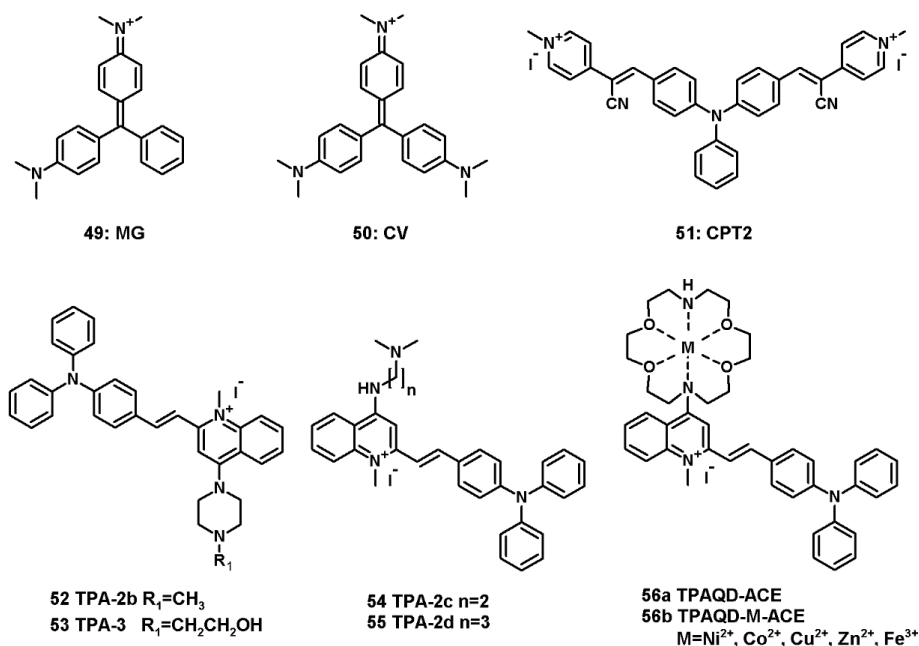
3.13. POCHODNE TRIFENYLOMETANU I TRIFENYLOAMINY (49-56)

Związki z grupy pochodnych trifenylometanu (TFM, zielen malachitowa **49**, fiolet krystaliczny **50**) wykazują niską fluorescencję w roztworach wodnych i organicznych, która wzrasta wraz ze wzrostem lepkości rozpuszczalnika lub w obecności kwasów nukleinowych. Niska fluorescencja jest rezultatem niepełnego wewnątrzcząsteczkowego transferu ładunku w obrębie cząsteczki, wynikającego z występowania wzajemnej rotacji pierścieni fenylu a tym samym brakiem planarnego charakteru cząsteczki. Liczne prace wykazały na znacząca różnicę przyrostu emisji fluorescencji grupy TFM po związaniu z G-kwadrupleksami (70-100 krotny) w porównaniu z dupleksami DNA (14 krotny), jakkolwiek różnice stałych wiązania barwników TPM do obu form nie są tak znaczne. [66,67,68] Związki tej grupy nie znalazły zastosowania w obrazowaniu komórek ze względu na niską selektywność oraz stosunkowo niską wydajność kwantową w porównaniu z innymi barwnikami np. oranżem tiazolowym. (Rys 12)

Barwniki z grupy trifenyloamin (TFA) sprzężonych za pośrednictwem wiązania podwójnego z podstawionymi peryferyjnie układami heteroaromatycznymi okazały się mieć o wiele bardziej obiecujące właściwości spektralne i kinetyczne niż barwniki grupy TFM. Układ trifenyloaminy pełni rolę donora elektronów, które przez układ π elektronów wiązania podwójnego są transferowane do N-metylowanego układu heterocyklicznego (akceptora) uczestniczący w wiązaniu się sondy do docelowych G-kwadrupleksów. Podstawienie w pozycji para obu fenyli podstawnikiem cyjanowinylo-N-metylopirydyniowym dało serię analogów z których **51** wykazywał najlepsze właściwości fluorescencyjne i wiązanie się do G-kwadrupleksów. [69] Związek **51**

wykazywał 90-190-krotny wzrost fluorescencji przy 620 nm w obecności G-kwadrupeksów hybrydowych (22AG, G3T3, H-RAS) przy jednoczesnym indukowaniu przejścia do G-kwadrupeksów antyrównoległych. Na podstawie obliczeń metodami dynamiki molekularnej autorzy zaproponowali mechanizm oddziaływania **51** z bruzdą za pośrednictwem wiązań wodorowych. (Rys 12)

Seria monopodstawionych analogów trifenyloaminy za pośrednictwem wiązania winylowego w pozycji para fenylu układem N-metylocholinoliny (**52-56**) wykazywała silne powinowactwo do G-kwadrupeksów oraz brak istotnej zdolności rozróżniania poszczególnych topologii. (Rys 12) Obecność alifatycznej diaminy w pozycji 4 układu N-metylocholinoliny okazała się być kluczowa dla wartości stałej wiązania, jakkolwiek obserwowano wpływ struktury aminy na preferencję do określonych topologii G-kwadrupeksów. Związek **52** podstawiony N-metylopiperazyną najsilniej wiązał się z G-kwadrupeksem równoległym c-kit1 ($K_D \sim 70.7$ nM), którego w obecności wzrastającego stężenia kwadrupeksu c-kit cechowała hipochromowa zmiana widma absorpcyjnego wraz z batochromowym przesunięciem maksimum o 45 nm, co stworzyło dodatkową możliwość detekcji interakcji **52** z c-kit1 w świetle widzialnym. [70] Widmo emisyjne kompleksu **52**/c-kit wykazało maksimum przy 627 nm i 32-krotny wzrost intensywności fluorescencji. W przypadku **53**, posiadającego na azocie piperazyny bardziej polarny podstawnik hydroksyetylu zamiast metylu, zaobserwowano największe powinowactwo do G-kwadrupeksu 22AG o topologii hybrydowej ($K_D \sim 0.83$ μ M) oraz około 50 krotny wzrost emisji fluorescencji. [71] Zamiana cyklicznego układu piperazyny w pozycji 4 N-metylocholinoliny na alifatyczny łańcuch diaminy (etyl, propyl, **54**, **55**) lub eter azakoronowy (**56a-b**), znacząco poprawiło właściwości otrzymanych pochodnych względem G-kwadrupeksów. Dla **54** i **55** zaobserwowano 200 i 180 krotne wzmocnienie fluorescencji oraz silne powinowactwo do G-kwadrupeksu hybrydowego i antyrównoległego, odpowiednio HTG21 ($K_D \sim 110.1$ nM) i HRAS ($K_D \sim 27.8$ nM). Ponadto ze względu na ich niską granicę wykrywalności związki te wykorzystano do wizualizacji G-kwadrupeksów w liniach komórkowych Hep-G2, gdzie największą kumulację kompleksu ligandu z G-kwadrupeksem stwierdzono w obrębie jąderka. [72, 73] Związek **56a** wykazywał 7-10 krotne wzmocnienie fluorescencji w obecności kwadrupeksów o różnorodnej topologii, z kolei dodanie kationów metali przejściowych (nikiel(II), kobalt(II), miedź(II), cynk(II), żelazo(III)) kompleksowanych przez układ eteru azakoronowego (**56b**) poprawiło ok 3-4 krotnie emisję fluorescencji w porównaniu z **56a**. Największe wzmocnienie emisji fluorescencji (80 krotne) zaobserwowano dla kwadrupeksu c-myc w obecności kationów niklu(II) oraz stwierdzono gromadzenie tych związków w rejonie jądra komórek nowotworowych HepG2. [74]



Rysunek 12. Pochodne tryfenylometanu i tryfenyloaminy (49-56)

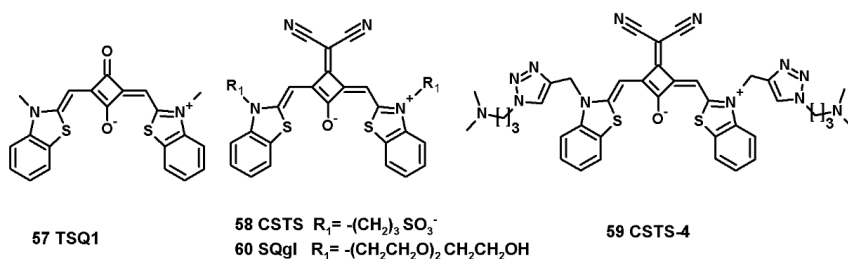
Figure 12. Derivatives of triphenylmethane and triphenylamine (49-56)

3.14. BARWNIKI SKWARYNOWE (57-60)

Barwniki skwarynowe (pochodne kwasu skwarynowego) to grupa związków z czterowęglowym pierścieniem w centrum pełniącym rolę akceptora elektronów sprzężony z dwoma układami benzotiazolu (donory elektronów) za pośrednictwem grup metinowych. Skwaryny wykazują pożądane własności spektralne w zakresie widzialnym (650-850 nm) oraz cechują się znaczną fotostabilnością. (Rys 13) Najprostszym przedstawicielem barwników skwarynowych jest **57**, zawierający w centrum anion skwaryliowy dwupodstawiony N-metylobenzotiazolem. Dla **57** zaobserwowano 40 - 70 krotny wzrost emisji fluorescencji przy 668 nm ($\lambda_{ex}=620$ nm) w obecności równoległego G-kwadrupleksu c-src oraz antyrównoległych i hybrydowych topologii, natomiast wobec dupleksu i pojedynczych nici DNA obserwowano zdecydowanie słabszy efekt wzmocnienia. Ze względu na brak selektywności **57** wobec różnych topologii G-kwadrupleksów oraz słabe rezultaty w obrazowaniu komórkowym, związek nie znalazł zastosowania.[75]

Modyfikacja **57** w obrębie centralnego pierścienia grupą dicyjanometylenową w miejscu tlenu oraz 1-propanosulfonianem na atomach azotu w obu układach benzotiazolu skutkowało otrzymaniem **58**, związku wysoce selektywnego względem G-kwadrupleksów równoległych (EAD, c-kit2, pu22) z umiarkowanym

powinowactwem ($K_D \sim 6.57\text{--}21.6 \mu\text{M}$). [76] Związek **58** w wodnych roztworach występuje w formie H-agregatów, które w obecności równoległego G-kwadrupleksu ulegają dysocjacji do monomerów co w rezultacie skutkuje wzrostem emisji fluorescencji jak i przesunięciem maksimum absorpcji w stronę dłuższych fal (z 613 do 685nm). Proponowany mechanizm wiązania się **58** do G-kwadrupleksu polega na warstwowym oddziaływaniu związku do obu krańcowych G-tetrad. Wysoka selektywność, bardzo niska fluorescencja tła, duży współczynnik absorpcji i wysoka wydajność kwantowa fluorescencji sprawiają, że **58** jest bardzo obiecującą sondą do detekcji równoległych G-kwadrupleksów. Jednakże obecność ujemnie naładowanych sulfonianów ogranicza zdolność wnikania **58** do komórek, eliminując zastosowanie tego związku w badaniach *in cellulo*.



Rysunek 13. Barwniki skwarynowe (**57-60**)

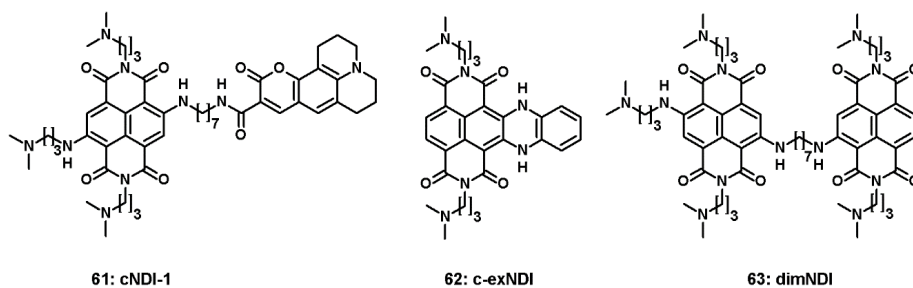
Figure 13. Squaraine dyes (**57-60**)

Zamiana propanosulfonianów w obu benzotiazolach na bardziej rozbudowany i zasadowy podstawnik 1,2,3-triazolu podstawiony grupą dimetyloaminopropylową znacznie zwiększyło powinowactwo nowej pochodnej **59** do równoległych G-kwadrupleksów (*c-kit2*, $K_D \sim 44 \text{ nM}$). Znaczny wzrost fluorescencji przy 710 nm, wysoka wydajność kwantowa oraz lepsza przenikalność przez błony komórkowe umożliwiło wykorzystanie **59** do obrazowania komórkowego w linii MCF7.[77] Znacznie gorsze powinowactwo ($K_D \sim 10 \mu\text{M}$) do równoległych G-kwadrupleksów wykazywał **60**, związek o amfifilowych własnościach, podstawiony łańcuchami polieteryowymi, jakkolwiek o istotnej selektywności i silnym wzmocnieniu fluorescencji w obecności równoległych G-kwadrupleksów.[78]

3.15. POCHODNE NAFTALENODIIMIDU (61-63)

Związki aromatyczne zawierające układ naftalenodiimidu (NDI) ze względu na planarną strukturę oraz korzystne własności absorpcyjno-emisyjne okazały się być obiecującymi kandydatami do zaprojektowania sond fluorescencyjnych

selektywnych względem G-kwadrupeksów. (Rys 14) W związku **61** uzyskano połączenie układu elektronodonorowego kumaryny z elektronoakceptorowym NDI za pośrednictwem elastycznego linkera alifatycznego. W stanie niezwiązanym długi linker umożliwia interakcję obu aromatycznych układów i wskutek wewnątrzcząsteczkowego transferu elektronów pomiędzy kumaryną (donor) a NDI (akceptor) następuje wygaszenie fluorescencji. W obecności G-kwadrupeksu wiążącego fragment NDI obserwowano odzyskanie fluorescencji obu fluoroforów. Stwierdzono wyraźne wzmocnienie fluorescencji **61** w obecności G-kwadrupeksu równoległego (c-kit2) jak i antyrównoległego (HRAS) w porównaniu do dupleksu, pojedynczej nici DNA czy nawet kwadrupeksów RNA, dla których wzmocnienie fluorescencji było zanedbywalne.[79 , 80] Ze względu na brak zdolności rozróżniania odmiennych topologii G-kwadrupeksów a także niską wydajność kwantową zastosowanie **61** do badań komórkowych może okazać się nieefektywne.



Rysunek 14. Pochodne naftalenodiimidu (**61-63**)

Figure 14. Derivatives of naphthalene diimide (**61-63**)

Bardziej obiecującą pochodną NDI okazał się **62**, związek zawierający 1,2-fenylenodiaminę skoniugowaną z układem aromatycznym naftalenodiimidu. Związek ten wykazywał aktywność przeciwko wirusowi HIV-1 wskutek wiązania się z wysokim powinowactwem do struktur kwadrupeksowych.[81] Spośród przebadanych G-kwadrupeksów o różnorodnej topologii największe wzmocnienie fluorescencji przy $\lambda_{em}=617$ nm zaobserwowano dla G-kwadrupeksu hybrydowego hTEL w obecności K^+ . Wyznaczona stała K_D dla **62** do hTEL wynosiła $0.18 \mu M$, jakkolwiek w obecności kationów Na^+ G-kwadrupeks hTEL przyjmował topologię antyrównoległą, względem którego zaobserwowano bardzo silny wzrost powinowactwa związku **62** ($K_D=3.3$ pM).[82] Badania na linii komórkowej HEK-293T wykazały preferencyjne gromadzenie się **62** w jądrze komórkowym, co zostało potwierdzone dodatkowymi testami na przeciwciała 1H6 specyficznymi wobec G-kwadrupeksów oraz zastosowaniem testu wypierania nukleoliny, białka wiążącego G-kwadrupeksy (*nucleolin displacement assay*). Bardzo zbliżonymi wartościami powinowactwa do G-kwadrupeksów charakteryzował się dimer NDI

(63), w którym oba układy naftalenodiimidu połączono łańcuchem heptylowym. Związek 63 w obecności hTEL wykazywał 89-krotne wzmocnienie fluorescencji oraz 2.5-krotne wydłużenie czasu życia fluorescencji w porównaniu z dupleksem (26mer).[83]

3.16. POCHODNE TRIANGULENU (64)

Modyfikowany atomami azotu i tlenu planarny układ karbokationu triangulenu 64 w obecności kwadrupleksów cechował się znacznym wydłużeniem czasu życia fluorescencji, co z powodzeniem wykorzystano do wizualizacji oddziaływania z G-kwadrupleksami w komórce U2OS z pomocą fluorescencyjnej mikroskopii czasowo-rozdzielczej (FLIM). Ze względu na niewielką różnicę pomiędzy powinowactwem 64 do G-kwadrupleksów a innymi formami kwasów nukleinowych, związek ten nie jest przydatnym ligandem do detekcji G-kwadrupleksów *in vitro*. [84] (Rys 15)

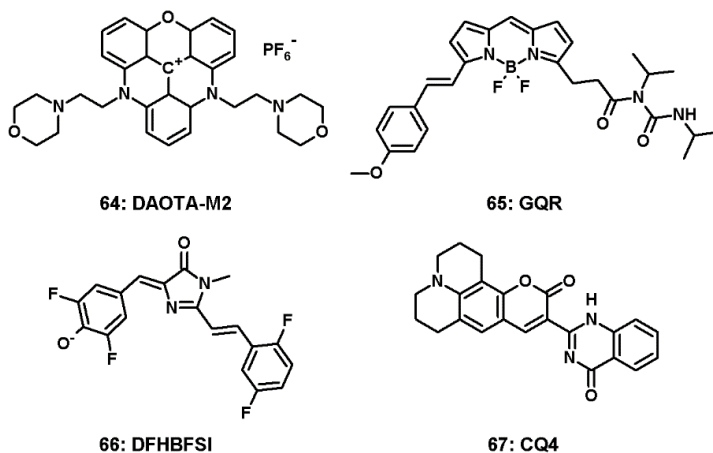
3.17. ORGANICZNE ZWIĄZKI BORU (65)

Otrzymanie selektywnej sondy fluorescencyjnej względem określonej topologii G-kwadrupleksu nadal jest wyzwaniem natomiast opracowanie liganda naczelnego na ściśle zdefiniowany G-kwadrupleks wydaje się być jeszcze trudniejsze. Grupa prof. Changa na podstawie badań przesiewowych biblioteki 5000 związków fluorescencyjnych uzyskali ligand 65 o wysokiej selektywności do G-kwadrupleksu 93del przyjmującego topologię równoległą. (Rys 15) Związek 65, pochodna fluorescencyjnego układu BODIPY należy do grupy organicznych związków boru, wiąże się w bruzdzie G-kwadrupleksu 93del ($K_D \sim 25.18 \mu\text{M}$) za pośrednictwem wiązań wodorowych bocznego łańcucha karboksamidowego i wykazuje największe wzmocnienie fluorescencji w porównaniu z innymi kwadrupleksami o tej samej topologii.[85]

3.18. POCHODNE N-METYLOIMIDAZOL-5-ONU (66)

Kolejnym przykładem fluorescencyjnych ligandów, selektywnych względem równoległych G-kwadrupleksów, są pochodne N-metyloimidazol-5-onu podstawionego w pozycjach 2 i 4 fluorowanymi układami aromatycznymi (styryl i benzyliden, Rys 15). Związki te są analogami chromoforu naturalnie występującego w białku czerwonej fluorescencji i wykazują znakomite dopasowanie do G-tetrad oraz emisję fluorescencji w zakresie dalekiej czerwieni. Największe powinowactwo ($K_D \sim 1.27 \mu\text{M}$) oraz selektywność względem równoległych G-kwadrupleksów zaobserwowano dla 66, związku wykorzystanego

w obrazowaniu G-kwadrupeksów w liniach komórkowych ostrej białaczki limfoblastycznej CCRF-CEM.[86]



Rysunek 15. Pochodne: triangulenu (**64**), organiczne związki boru (**65**), N-metyloimidazol-5-onu (**66**), koniugaty kumaryny i chinazoliny (**67**)

Figure 15. Derivatives of: triangulene (**64**), boron organic compounds (**65**), N-methylimidazole-5-one (**66**), conjugates of coumarin-quinazoline (**67**)

3.19. KONIUGATY KUMARYNY I CHINAZOLINY (**67**)

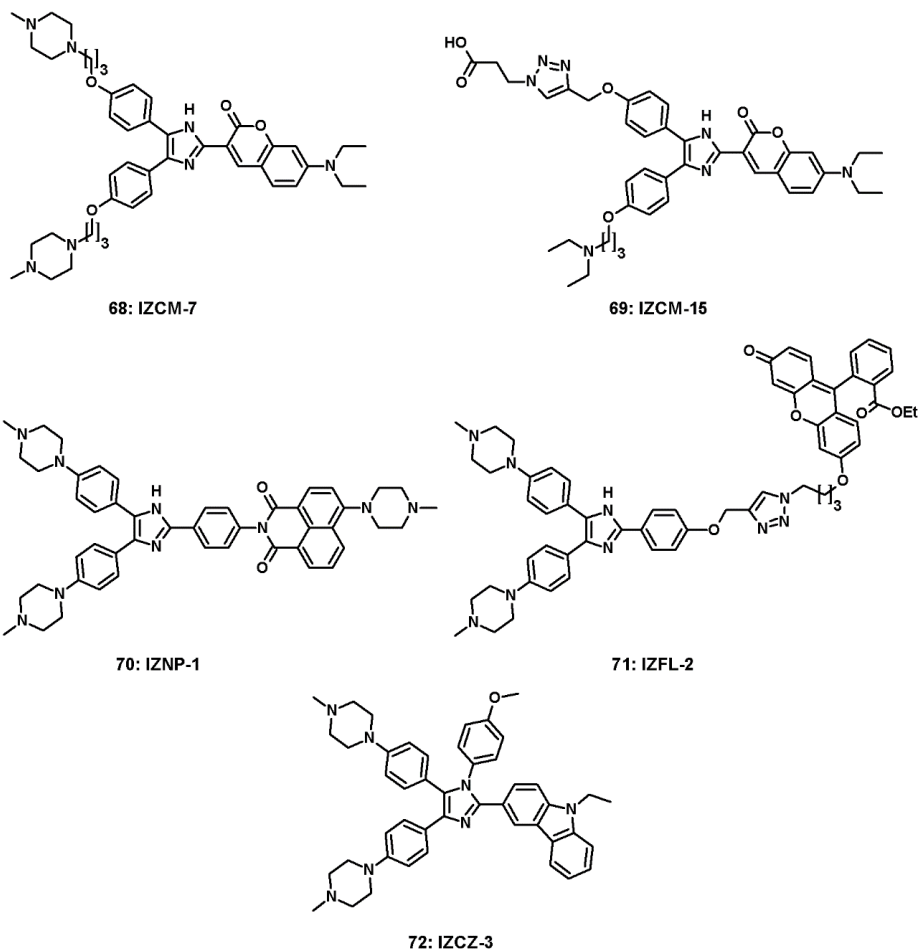
Spośród otrzymanych koniugatów kumaryny i chinazoliny, związek **67** wykazywał silne powinowactwo do G-kwadrupeksów równoległych ($K_D \sim 28.6-71.4$ nM) i wiązał się 200-1000 krotnie silniej aniżeli do G-kwadrupeksów antyrównoległych. Najsilniejszy przyrost emisji fluorescencji **67** zaobserwowano w obecności G-kwadrupeksów c-MYC oraz Ceb25. Efekt wzrostu emisji fluorescencji **67** indukowany jest deagregacją liganda w obecności G-kwadrupeksu.[87] (Rys 15)

3.20. POCHODNE TRIARYLOIMIDAZOLU (**68-72**)

Grupa pochodnych triaryloimidazolu to związki zawierające układ imidazolu podstawiony trzema podstawnikami aromatycznymi (fenył, kumaryna lub karbazol), które stanowią kolejną obiecującą grupę fluorescencyjnych ligandów umiarkowanie selektywnych względem G-kwadrupeksów równoległych. (Rys 16) W tej serii, związek **68** podstawiony w pozycji para obu fenyli (4-metylopiperazyn-1-yl) propoksylen wykazywał silne powinowactwo do G-kwadrupeksów Pu22 i KRAS ($K_D \sim 0.26$ i 0.15 μ M) oraz nieco słabsze do G-kwadrupeksu antyrównoległego i hybrydowego tj. c-kit3 i htg22 ($K_D \sim 1.10$ i 1.30 μ M).[88]

Modelowanie molekularne oddziaływania **68** z Pu22 jednoznacznie potwierdziło warstwowy charakter interakcji pomiędzy G-tetradą a planarnie ułożonymi układami kumaryny i imidazolu. Pierścienie fenyli były skrzyżowane względem imidazolu umożliwiając efektywniejsze oddziaływanie elektrostatyczne pomiędzy dodatnio naładowanymi grupami aminowymi bocznych łańcuchów alifatycznych a ujemnie naładowanymi grupami fosforanowymi. Obserwowany wzrost wydajności kwantowej fluorescencji **68** w obecności G-kwadrupeksów równoległych wynosił 40-50, z kolei dla pozostałych topologii: 34-38. Zdecydowanie lepszą selektywnością w stosunku do kwadrupeksów równoległych cechował się **69** podstawiony triazolem, dodatkowo funkcjonalizowanym resztą kwasu propanokarboksylowego. Dla G-kwadrupeksów równoległych tj. KRAS, pu22 c-kit2 oraz bcl-2 zaobserwowano 47-58-krotny wzrost wydajności kwantowej fluorescencji w porównaniu z 5-8-krotnym wzrostem obserwowanym dla G-kwadrupeksów antyrównoległych lub hybrydowych (HRAS, c-kit3, htg22). Stała wiązania **69** do c-kit2 wynosiła $K_D \sim 6.1 \mu\text{M}$. [89] Kolejne związki serii triaryloimidazolu tj. **70** oraz **71**, w odróżnieniu do wyżej omówionych zawierają trzy grupy fenylove bezpośrednio przyłączone do imidazolu. Związek **70** podstawiony w pozycjach *para* fenyli układem naftalenoimidu oraz dwoma grupami 4-metylopiperazyny cechował się znacznym powinowactwem ($K_D \sim 7.8-13.3 \mu\text{M}$), wzrostem fluorescencji i silną stabilizacją długich sekwencji telomerowych (45-69 par zasad) tworzących multimeryczne formy G-kwadrupeksów ($\Delta T_m = 20-33 \text{ }^\circ\text{C}$). [90] Mechanizm wiązania się **70** do wyżej wymienionych form określono jako interkalację w przestrzeni utworzonej pomiędzy krańcowymi G-tetradami sąsiadującymi ze sobą podjednostek G-kwadrupeksów. Jakkolwiek modelowanie molekularne wykazało, że cząsteczka liganda nie jest planarna i oddziałuje także warstwowo z zasadami pętli oraz elektrostatycznie z łańcuchem fosforanowym. Natomiast **71**, koniugat fluoresceiny (wygaszacz fluorescencji) połączonej linkerem triazolopropylowym z pochodną trifenyloimidazolu wiąże się do G-kwadrupeksu i stanowi interesujący przykład modulowania fluorescencji za pomocą inhibicji fotoindukowanego przeniesienia elektronu. Autorzy pracy zaobserwowali silne powinowactwo ($K_D \sim 0.53-0.63 \mu\text{M}$) i wyjątkową selektywność **71** do G-kwadrupeksu c-MYC, oraz 14-krotne wzmocnienie fluorescencji. [91] Podobnie jak **70**, w mechanizmie oddziaływania **71** z c-Myc nie biorą udziału G-tetrazy, stwierdzono natomiast oddziaływanie warstwowe z zasadami w pętlach oraz elektrostatyczne z łańcuchem fosforanowym. Ostatnim związkiem tej grupy jest **72**, zawierający dodatkową grupę p-metoksyfenylową na atomie azotu układu triaryloimidazolu. Spośród przebadanych G-kwadrupeksów o różnej topologii, ligand **72** wiązał się najsilniej do G-kwadrupeksu równoległego c-myc ($K_D \sim 0.1-0.5 \mu\text{M}$), przy około 10-krotnym

wzmocnieniu fluorescencji oraz silnym efekcie stabilizującym strukturę c-myc ($\Delta T_m = 20\text{ }^\circ\text{C}$). [92]



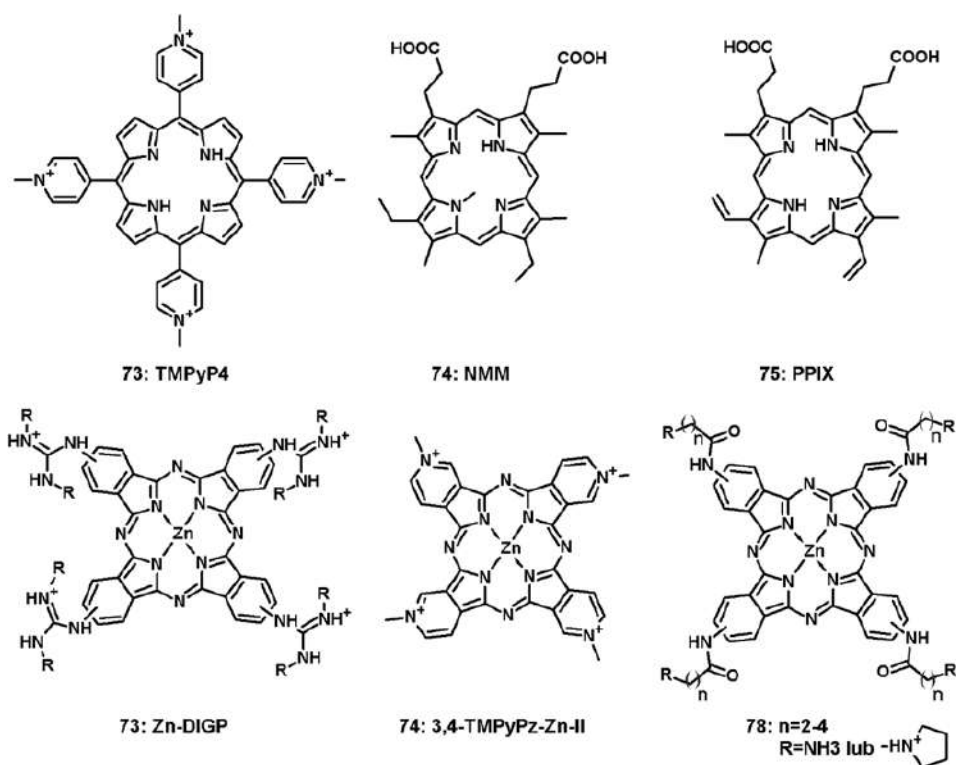
Rysunek 16. Pochodne triaryloimidazolu (68-72)

Figure 16. Derivatives of triaryl imidazole (68-72)

3.21. POCHODNE PORFIRYN I FTALOCYJANIN (73-78)

Porfiryny i ftalocyjaniny są planarnymi makrocyklami z układem sprzężonych π -elektronów, które wykazują intensywne pasma absorpcji i fluorescencji w obszarze widzialnym. Cechą wspólną obu grup jest obecność czterech 1H-pioli sprzężonych mostkami metinowymi lub iminowymi. Grupa porfiryn obejmuje związki z peryferyjnie zlokalizowanymi podstawnikami o przeciwstawnych ładunkach takich jak dodatnio naładowane grupy metylopirydyniowe (73 i analogi)

lub ujemnie naładowane grupy kwasu karboksylowego (**74**, **75**, Rys 17). Ftalocyjaniny zawierają cztery pierścienie izoindolu połączone mostkami iminowymi peryferyjnie podstawione dodatkowo naładowanymi grupami, tworząc większą powierzchnię π -elektronów w porównaniu z porfirynami. Molekularny mechanizm oddziaływania obu grup z G-kwadrupeksami polega na oddziaływaniu warstwowym z G-tetradą. Spośród pochodnych porfiryn, oddziaływanie **73** z różnorodnymi motywami DNA (G-kwadrupeksy, dupleksy, trypleksy, pojedyncze nici) zostało najszerszej opisane w literaturze, i wykazano podobne powinowactwo do wszystkich motywów DNA ($K_D \sim 50-300$ nM).[93,94,95,96] Z kolei **74** i **75** wykazywały zdecydowanie wyższą selektywność do równoległych G-kwadrupeksów, aczkolwiek z niższą stałą wiązania ($K_D \sim 2$ μ M).[97, 98] Tak znaczną różnicę w wartości K_D **73** vs **74/75** można prawdopodobnie przypisać przeciwstawnym ładunkom na zlokalizowanych na peryferyjnych podstawnikach.



Rysunek 17. Pochodne porfiryn i ftalocyjanin (**73-78**)

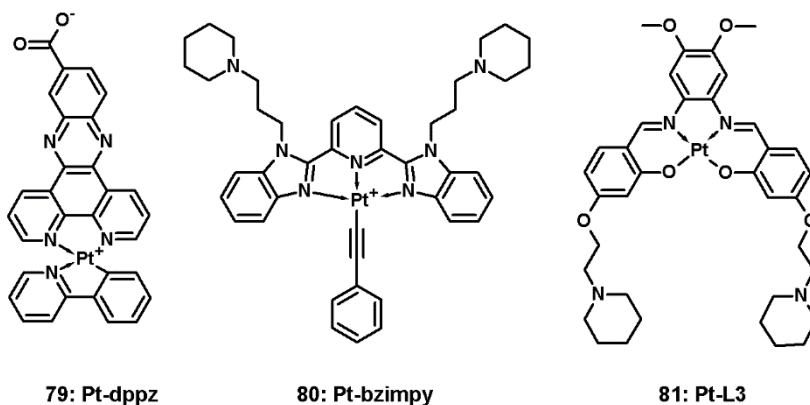
Figure 17. Derivatives of porphyrins and phthalocyanines (**73-78**)

Wprowadzenie kationu metalu (cynk(II), miedź(II), nikiel(II)) do centrum porfiryny czy ftalocyjaniny pozwoliło na uzyskanie nowych sond fluorescencyjnych o wysokim powinowactwie i selektywnych względem

G-kwadrupeksów. Z grupy ftalocyjanin z kationem cynku(II), związek **76** zawierający peryferyjnie zlokalizowane cztery dodatnio naładowane fragmenty guanidynowe wykazywał wysokie powinowactwo ($K_D \sim 2$ nM) i selektywność względem G-kwadrupeksów (c-myc, h-telo).[99, 98] Znaczny wzrost emisji fluorescencji (200-krotny) **76** w obecności G-kwadrupeksów pozwolił na obrazowanie zależności pomiędzy kontrolą transkrypcji a zwijaniem i rozplataniem G-kwadrupeksu w żywych i utrwalonych komórkach. Związek **76** wykorzystano do obrazowania G-kwadrupeksów w żywych komórkach czerniaka SK-Mel-28 [100] lub mysich komórkach fibroblastów zarodka NIH 3T3 [101], w których skupiska kompleksów G-kwadrupeks:**76** zlokalizowane były wokół jądra, podczas gdy odpowiednik bez kationu cynku(II) występował w jądrach. Pozostałe związki grupy ftalocyjanin- cynk(II) (**77**, **78**) charakteryzowały się nieznacznie słabszym powinowactwem i selektywnością do G-kwadrupeksów, jakkolwiek potwierdzając ich strukturalne podobieństwo do **76** (obecność czterech dodatnio naładowanych alifatycznych amin).[102,103]

3.22. KOMPLEKSY PLATYNY(II) I RUTENU(II) (79-87)

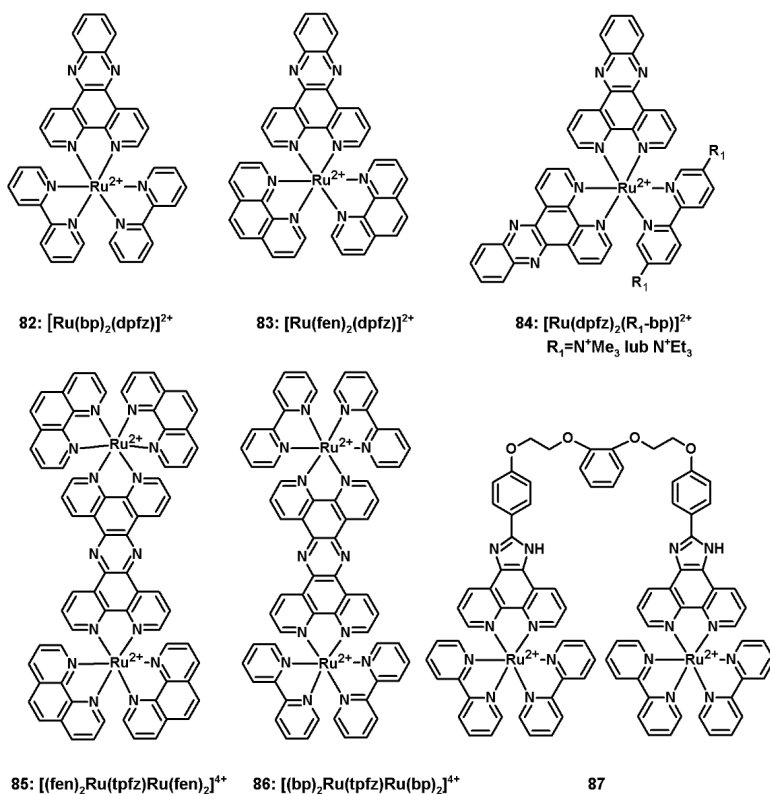
Związki kompleksów metali przejściowych (platyna(II), ruten(II)) z heteroaromatycznymi ligandami, ze względu na pożądane własności spektralne w zakresie widzialnym oraz duże przesunięcie Stokesa stanowiły przedmiot licznych badań jako fluorescencyjne sondy kwasów nukleinowych. Spośród przebadanych kompleksów platyny(II) umiarkowanym powinowactwem i selektywnością w stosunku G-kwadrupeksów charakteryzowały się pochodne dipirydofenazyny (**79**), bis(benzimidazolo) pirydyny (**80**) czy kompleksy aromatycznych zasad Schiffa (**81**). (Rys 18) Związek **79** wiąże się do krańcowych G-tetrad poprzez oddziaływania warstwowe ($K_D \sim 0.1-1$ μ M) wykazując 293-krotny wzrost emisji fluorescencji po związaniu się do G-kwadrupeksu telomerowego, natomiast dla dupleksów DNA obserwowano zdecydowanie niższy przyrost emisji.[104] Efekt wzmocnienia fluorescencji przypisano zjawisku transferu ładunku metal-ligand, który ma miejsce gdy kompleks **79** wiążąc się do G-tetrady przestaje być solwatowany przez cząsteczki wody. Pozostałe dwa przykłady tj. **80** i **81** charakteryzowały się, w porównaniu z **79**, słabszym przyrostem emisji fluorescencji odpowiednio 38 i 8-krotnym i nieznacznie mniejszym powinowactwem do G-kwadrupeksów.[105,106]



Rysunek 18. Kompleksy platyny(II) (**79-81**)
 Figure 18. Platinum(II) complexes (**79-81**)

Kompleksy rutenu(II) stanowią obszerną grupę związków intensywnie badanych jako potencjalne związki przeciwnowotworowe oraz co ważniejsze, jako ligandy kwasów nukleinowych. (Rys 19) Związki tej grupy są przeważnie nieplanarne przyjmując geometrię oktaedryczną lub pseudooktaedryczną, co w kontekście jednoznacznego określenia mechanizmu oddziaływania z G-kwadrupeksami może stanowić intrygujący problem badawczy. Kompleksy rutenu (II) zawierające dipirydofenazynę (dpfz) i bipirydynę (bp) lub fenantrolinę (fen) jako ligandy (odpowiednio **82**, **83**) wykazują powinowactwo do G-kwadrupeksów telomerowych w zakresie 0.2-0.7 μM i ok 4-5 krotny wzrost emisji fluorescencji.[107 , 108] Obecność podstawników alkiloamoniowych w fragmencie bipirydyny związku **84** poprawiło powinowactwo do G-kwadrupeksów telomerowych 10-70 krotnie, jakkolwiek obserwowano zaledwie 8-krotny przyrost fluorescencji.[109] Kompleksy zawierające dwa kationy rutenu(II) z centralnie położonym wielopierścieniowym układem aromatycznym tetrapirydofenazyny (tpfz) oraz peryferyjnie zlokalizowanymi układami fenantroliny lub bipirydyny tj. **85** i **86** wykazały 150 krotny przyrost emisji fluorescencji w obecności G-kwadrupeksów telomerowych oraz 2.5 krotnie słabszy przyrost emisji w obecności dupleksów (60 krotny).[110] Rozróżnienie oddziaływania wspomnianych wyżej kompleksów rutenu(II) z G-kwadrupeksem od kompleksów z dupleksem określono na podstawie hipsochromowego przesunięcia (około 30 nm) maksimum emisji fluorescencji oraz dłuższego czasu zaniku fluorescencji (126 \pm 3 ns vs 88 \pm 4 ns). Tak znaczną zmianę fotofizycznych własności autorzy tłumaczą lepszym dopasowaniem aromatycznego układu

dikompleksów rutenu(II) z układem G-tetrazy i lepszą izolacją cząsteczek wody od cząsteczki liganda. Ponadto, na podstawie pomiarów kalorymetrycznych autorzy stwierdzili, że dla **85** oddziaływanie z końcową G-tetradą G-kwadrupeksu jest stabilniejsze niż interkalacja (5 kJ/mol), jakkolwiek biorąc pod uwagę duży rozmiar i złożoną strukturę trójwymiarową dikompleksu rutenu(II), proponowany mechanizm oddziaływania jest nadal kwestionowany. Związek **85** został wykorzystany do obrazowania G-kwadrupeksów i dupleksów w jądrach, wykorzystując różnice w długości fali emisji w obecności obu struktur, odpowiednio 630-640 nm oraz 670-700 nm.[111] Innym przykładem podwójnego kompleksu jest **87**, w którym każdy z kationów rutenu(II) kompleksowany jest dwoma układami bipirydyny i jednym układem 2-fenyl-1H-imidazo[4,5-f][1,10]fenantroliny.[112] Oba kompleksy są połączone elastycznym łańcuchem glikolu polietylenowego. Stwierdzono około 15-krotne wzmocnienie emisji fluorescencji w obecności G-kwadrupeksów równoległych, do których **87** wiązał się z umiarkowaną stałą ($K_D \sim 3.29 \mu\text{M}$) w stosunku 2:1. Ponadto zaobserwowano umiarkowaną stabilizację struktury G-kwadrupeksu ($\Delta T_m = 12.7 \text{ }^\circ\text{C}$) w obecności **87**.

Rysunek 19. Kompleksy rutenu(II) (**82-87**)Figure 19. Ruthenium(II) complexes (**82-87**)

3.23. LIGANDY FLUORESCENCYJNE WIĄŻĄCE SIĘ DO G-KWADRUPLEKSÓW RNA (88-92)

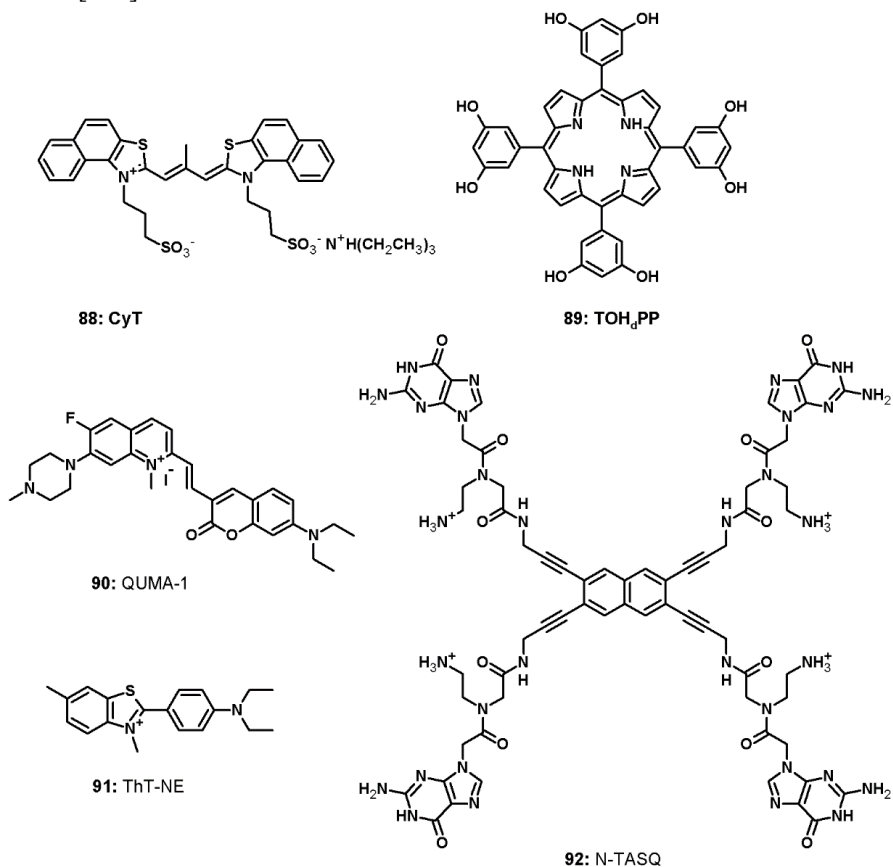
Spośród fluorescencyjnych ligandów wykazujących powinowactwo do G-kwadrupleksów RNA, **88-92**, cztery z nich, poza **89**, znalazło zastosowanie w fluorescencyjnym bioobrazowaniu G-kwadrupleksów RNA w komórkach. (Rys 20) Należy zaznaczyć, że pomimo uzyskania interesujących wyników, większa część z tych ligandów wykazuje emisję fluorescencji także w obecności G-kwadrupleksów DNA, stąd za selektywne względem RNA należałoby uznać jedynie dwa związki: **89** i **90**. Związek **88** należy do grupy barwników cyjaninowych i zawiera łańcuch polimetinowy sprzęgający dwa układy heterocykliczne podstawione resztami propanosulfonianu i cechuje się niską fluorescencją w stanie wolnym. Badania wykazały ponad 1000-krotny wzrost fluorescencji **88** ($\lambda_{em}=595\text{nm}$) w obecności G-kwadrupleksów RNA (K_D 2.86-8.54 μM) i tylko 25-krotny w obecności dupleksu lub pojedynczej nici RNA (K_D 15.75-41.32 μM). [113] Tak znaczna różnica wzrostu emisji fluorescencji w zależności od motywu strukturalnego RNA wynika z zahamowania rotacji wokół łańcucha polimetinowego oraz znacznego wzrostu wydajności kwantowej fluorescencji w obecności G-tetrad ($\Phi_F=0.74-0.95$). Sonda **88** została z powodzeniem wykorzystana do detekcji kwadrupleksów RNA w cytoplazmie, zarówno w utrwalonych jak i żywych liniach komórkowych (A549).

Selektywne wiązanie do G-kwadrupleksów telomerowych RNA (TERRA) wykazano dla **89**, związku zawierającego porfiryновый układ makrocykliczny. Zaobserwowano 60-krotny wzrost emisji fluorescencji ($\lambda_{em}=732\text{ nm}$) liganda **89** w obecności TERRA. Selektowność oddziaływania **89** względem TERRA przypisano oddziaływaniom wodorowym grup hydroksylowych liganda z resztami fosforanowymi lub/i rybozą urydyny a także umożliwieniu przejścia do stanu hiperporfiryнового, która to transformacja nie jest uprzywilejowana dla G-kwadrupleksów równoległych DNA. [114]

Związek **90** w swojej strukturze zbliżony do izaindigotonu, zawiera szkielet N-metylowanej 6-fluorochinoliny podstawionej sprzężonym wiązaniem winylowym z kumaryną. Autorzy pracy wykazali silne wiązanie **90** do G-kwadrupleksów RNA (TERRA $K_D \sim 0.56\ \mu\text{M}$ a także FMR1, TB1, MT3) oraz znaczący wzrost emisji fluorescencji przy $\lambda_{em}=660\text{ nm}$. Ponadto, na podstawie analizy zmian intensywności fluorescencji **90** zademonstrowano jego zastosowanie do wizualizacji w czasie rzeczywistym związania i rozplatania G-kwadrupleksu RNA w żywych komórkach HeLa. [115]

Pochodna tioflawiny T podstawiona dwoma grupami etylowymi w miejscu obu grup metylowych (**91**), wykazała wysokie powinowactwo do sekwencji CG2a

($K_D \sim 1.77 \pm 0.19 \mu\text{M}$), stanowiącej fragment cząsteczki RNA wirusa zapalenia wątroby typu C (HCV), przyjmującej strukturę G-kwadrupleksu. Autorzy pracy wykazali najwyższą skuteczność **91** w fluorescencyjnym bioobrazowaniu RNA HCV w liniach komórkowych oraz udowodnili jego kliniczną przydatność w monitorowaniu HCV w komórkach pobranych od zainfekowanych pacjentów.[116]



Rysunek 20. Ligandy fluorescencyjne wiążące się do G-kwadrupleksów RNA (**88-92**)
Figure 20. Fluorescent ligands binding to RNA G-quadruplexes (**88-92**)

Związek **92** może być przykładem projektowania „inteligentnego” liganda, w którym cztery reszty guaninowe przyłączone do naftalenu, w obecności G-kwadrupleksu RNA składają się do G-tetrazy (konformacja zamknięta) wywołując 22-krotny wzrost emisji fluorescencji. W stanie niezwiązany, **92** wykazuje niską fluorescencję przyjmując konformację otwartą. Nieco słabszą emisję fluorescencji **92** zaobserwowano również w obecności G-kwadrupleksów

DNA. Obserwacja linii komórkowych (MCF7, U2OS, B16F10) barwionych **92** wykazała pojawienie się licznych skupisk fluorescencji w rejonie cytoplazmy, których pojawienie się autorzy przypisali tworzeniu połączeń **92**:kwadrupleks RNA. [117]

UWAGI KOŃCOWE

Przedstawione w niniejszym artykule wybrane przykłady związków fluorescencyjnych typu „light-up”, selektywnych względem G-kwadrupleksów, obrazują znaczny wzrost zainteresowania badaczy tematyką oddziaływania G-kwadrupleksów z ligandami oraz metodami ich wizualizacji opartymi na fluorescencji. Różnorodność strukturalna przebadanych związków z jednej strony pozwala na wstępne określenie ogólnych cech strukturalnych charakteryzujących fluorescencyjny ligand selektywny względem G-kwadrupleksów. Z drugiej strony, wyniki prac pokazują, że otrzymanie liganda wysoce selektywnego względem określonej topologii G-kwadrupleksu DNA/RNA stanowi nadal spore wyzwanie. Niemniej jednak, biorąc pod uwagę znaczną ilość przebadanych sond fluorescencyjnych, perspektywy rozwoju tej grupy związków i ich zastosowań w bioobrazowaniu G-kwadrupleksów w komórce można ocenić jako obiecujące. Pod tym względem, wielopierścieniowe związki heteroaromatyczne umożliwiają precyzyjne dostrojenie właściwości biochemicznych, kinetycznych i fotofizycznych poprzez funkcjonalizację układu heteroaromatycznego grupami o charakterze donorowym lub akceptorowym. Wybór sondy właściwej do realizacji określonego zastosowania powinien uwzględniać zarówno parametry fotofizyczne związku jak i jego zdolność do przenikania przez błony komórkowe oraz niską cytotoxiczność.

W niniejszym artykule zebrano przykłady sond mających zarówno znaczenie poznawcze jak i te co do których istnieje spora szansa na ich praktyczne zastosowanie. Wiele obiecujących sond, wykazujących duże powinowactwo i selektywność względem kwadrupleksów *in vitro*, nie przenikała do komórek pozwalając jedynie na wyznaczenie parametrów kinetycznych i uzyskanie strukturalnych danych dotyczących mechanizmu oddziaływania liganda z G-kwadrupleksem. Z drugiej strony, istnieje ograniczona pula ligandów charakteryzujących się akceptowalną zdolnością do penetracji do komórek, która umożliwiła wizualizację kwadrupleksów *in vivo*. Wartą podkreślenia cechą niektórych sond jest ich, zależna od kwadrupleksu, zdolność do zmiany własności fotofizycznych takich jak długość fali absorpcji i emisji lub wydłużenie czasu życia fluorescencji. Związki te mogą być wykorzystane jako fluorescencyjny znacznik do mapowania domen kwadrupleksowych co ma istotne znaczenie w świetle rozwoju ultraczułego oprzyrządowania do obrazowania lokalizacji określonych substruktur w żywych komórkach. Ponadto, związki te mogą być stosowane w wysokoprępowych badaniach przesiewowych w kierunku odkrywania nowych leków przeciwnowotworowych zdolnych do specyficznego wiązania się do określonych topologii kwadrupleksów.

Tabela 1. Podsumowanie właściwości sond fluorescencyjnych wiążących się do G-kwadrupeksów DNA/RNA

Table 1. Summary of fluorescent ligands binding to DNA/RNA quadruplexes properties

Zw	λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm)	Przesunięcie Stokesa (nm)	Wzmocnienie fluorescencji	K_D (μ M)	Sposób wiązania do kwadrupeksu	Preferowana topologia kwadrupeksu	Bioobrazowanie komórek (lokalizacja)	Lit
1	485	550	65	100-1000	0.3-3	Warstwowy	Brak selektywności względem określonej topologii G-kwadrupeksu	linia utrwalonych komórek U2OS (jądro, cytoplazma)	9
2	527	573	46	260-380	1-5	Warstwowe	Równoległa : c-myc; Antyrównoległa: telo	linia utrwalonych komórek MCF7	10
3	540	585	45	260-430	0.89	Warstwowe	Antyrównoległa: HRAS; Równoległy; c-kit2, pu-22	linia żywych komórek PC3 (jądro)	11
4	475	630	155	170-270	1	Warstwowe	Antyrównoległe: telo21, htg22, Oxy28	linia utrwalonych komórek PC3 (jądro)	12
5	466	650	184	110-250	0.42-2.5	Warstwowe	Równoległa: CM22, C-kit; Antyrównoległy: HRAS, Hybrydowa: 22AG, G3T3, G4TTA	linia żywych komórek HeLa (mitochondria)	13
6	600	651	51	18-36	0.039-0.089	Warstwowe; Elektrostatyczne	Równoległa: c-myc, bcl-2, kit-1, kras	b.d.	14
7	500	549	49	6-8	>2	Warstwowe	Równoległa: c-kit2, c-myc; Hybryda:22AG	b.d.	15
8	430	490	60	150-270	b.d.	Warstwowe	Hybrydowa: mitochondrialne DNA	linia żywych komórek HeLa i MCF-7 (lizosomy)	16
9	600	680	80	20	2.1	Warstwowe	Równoległa: c-myc	b.d.	17
10	579	610	31	220-500	0.11	Warstwowe; Elektrostatyczne	Antyrównoległa (dimeryczna spinka)	b.d.	18
11	584	600	16	70	b.d.	Warstwowe	Hybrydowa:bcl-2 2345, H24; Równoległa: c-myc 2345, c-kit1	b.d.	19-21
12	530	600	70	1000	b.d.	Warstwowe	Hybrydowa:bcl-2 2345, M24; Równoległa: c-myc 2345, c-kit1	b.d.	19-21
13	560, 580	715, 660	135	110	1.2	Warstwowe	Hybrydowa: 22AG	b.d.	22
14	425	490	65	1200-2100	0.77-3.51	Warstwowe, Elektrostatyczne	Równoległa: 22AG (K^+); Antyrównoległa: 22AG (Na^+)	b.d.	23-27
15	415	500	85	487-630 ^{DNA} 320-439 ^{RNA}	6.25-13	Warstwowe, 5'-koniec	Brak selektywności względem określonej topologii G-kwadrupeksu	linia żywych i utrwalonych komórek HeLa; linia żywych kom HUVEC, SMMC-7721 and	28
16	415	492	77	90-160	18-57	Warstwowe, 5'-koniec	Równoległy DNA i RNA; Hybrydowy DNA	b.d.	29
17	415	485	70	240	13-23	Warstwowe	Równoległa: 27myc	b.d.	30
18	343	460	117	10	0.2-0.7	Interkalacja	Równoległa: c-myc	b.d.	31, 32

19	b.d.	b.d.	b.d.	50	1.88	Warstwowe	Hybryda=>Równoległy; (T ₂ G ₄) ₄	b.d.	33
20	464 ^a /494 ^b	603 ^a /592 ^b	139 ^a /98 ^b	10-12	0.09-0.12	Interkalacja	Antyrównoległy: 22A	b.d.	34
21	460	555	95	80-120	0.033	Warstwowe	Hybrydowa:ht22; Równoległa:pu22	linie żywych komórek MCF-7/ADR, CL1-0, H1299, HeLa, MCF-7, SAS	35-37, 40
22	475	575	100	60-90	0.00089	Warstwowe	Hybrydowa; Antyrównoległy: ht24	linie żywych komórek H1299, Ca9-22 (jądro); Detroit-551, IMR-90 (cytoplazma)	35-39
23	470	550	80	20-50	0.14	Warstwowe	Antyrównoległa: mitochondrialne DNA mt9438, mt6363	linie żywych komórek CL1-0, H1299, HeLa, BJ-1 (mitochondria); IMR-90, MRC-5 (lizosomy)	41
24	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.	Warstwowe	b.d.	linie żywych komórek CL1-0, MCF-7, MCF7/ADR (mitochondria, jądro), MRC-5	42
25	496	649	153	40-60	0.63-0.67	Warstwowe	Równoległa: c-kit2, c-myc	b.d.	43
26	408	462	54	335-1800	0.28-0.60	Warstwowe	Równoległa: EAD, c-myc, and c-kit2; Hybryda: 22AG	b.d.	45
27	385	500	115	400-500	0.67-0.84	Warstwowe	Równoległa: c-myc, Pu22	linia żywych komórek MCF-7	46
28	330	466	136	8	0.13-0.33	Warstwowe; Elektrostatyczne	Hybrydowa: hum21 (K ⁺); Antyrównoległa: hum 21 (Na ⁺)	linia utrwalonych komórek HeLa (jądro)	47
29	330	470	140	6	0.03-0.05	Warstwowe; Elektrostatyczne	Hybrydowa: hum21 (K ⁺); Antyrównoległa: hum 21 (Na ⁺)	linia utrwalonych komórek HeLa (jądro)	47
30	290	522	232	2.3-5.5	0.3-1.38	Warstwowe	Równoległa, c-kit2, c-myc	linia żywych komórek HepG2 (jądro)	48
31	526	600	74	100-110	10	Warstwowe	Równoległa; c-myc	b.d.	49
32	467	613	146	29-41	b.d.	Warstwowe	Równoległa: pu22; Hybrydowa: htg21, UpsB; Antyrównoległy: HRAS	linia utrwalonych komórek SiHa (jąderko)	50
33	460	570	110	22	b.d.	Warstwowe	Antyrównoległa: telo21	linia utrwalonych komórek COS7, MCF-7 (jąderko)	51
34	338	512	174	150	0.13-0.43	Warstwowe	Antyrównoległa: Hum24, Oxy28, 22AG	linia żywych komórek MCF-7 (cytoplazma)	52
35	450	590	140	4	3.0.3-3.65	Warstwowe, 3' koniec	Równoległa: c-myc, c-kit2, VEGF, ADAM10 (RNA)	linia utrwalonych komórek ARPE-19 (jąderko)	53
36	486	550	64	50	1.99±0.53	Warstwowe	Antyrównoległa: telo21	linia żywych komórek PC3 (jądro)	54

37	531	617	86	150-290	1.43-3.70	Warstwowe	Brak selektywności: hras, htg22, oxy28, telo21, 4telo, human12, bel2, ckit2, pu22, pu27, ckit1, vegh	linia żywych komórek PC3 (jądro)	55
38	456	587	131	60-100	0.3-10	Częściowo warstwowe	Brak selektywności: Htg-21, 22Ag, C-myc, CM22, C-kit1, G3T3, Hras	b.d.	56
39	441	630	189	118, 145	0.45-0.55	Elektrostatyczne	Równoległa: c-myc, CM22	linia żywych i utrwalonych komórek HepG2 (cytoplazma)	57
40	463	590	127	550	0.53	Warstwowe	Równoległa: c-myc	linia żywych komórek HepG2 (jądro)	58
41	498	568	70	10	0.14-0.74	Warstwowe	Równoległa: KRAS-22RT	linia żywych komórek HeLa (jądro)	59
42	330	475	145	10-20	0.138-0.367	Interkalacja	Hybrydowa: hum21, hum45, hum51, hum57, hum63, hum69	b.d.	60
43	330	475	145	10-20	0.048-0.169	Interkalacja	Hybrydowa: hum21, hum45, hum51, hum57, hum63, hum69	b.d.	60
44	343	448	105	2.5	0.1	Warstwowe; Elektrostatyczne	Hybrydowa: HTG21	b.d.	64
45	353	450	97	5	0.14	Warstwowe; Elektrostatyczne	Hybrydowa: HTG21	b.d.	64
46	570	653	83	20-100	0.569-1.17	b.d.	Hybrydowa: htg21	linia żywych i utrwalonych komórek HeLa (jąderko)	61
47	630	650	20	7	b.d.	b.d.	Równoległy RNA: NRAS	linia utrwalonych komórek SiHa (cytoplazma), HEK293T, HeLa	62, 63
48	355	530	175	10	0.284	b.d.	Antyrównoległa: telo21	b.d.	65
49	636	670	34	100	3.22	Warstwowe	d(G ₂ T) ₁₃ G	b.d.	66- 68
50	580	635	55	3-7	0.003-0.059	Warstwowe	Antyrównoległa > Równoległa	b.d.	66- 68
51	521	620	99	90-190	b.d.	Elektrostatyczne	Antyrównoległa: 22AG, G3T3, HRAS; Równoległa: src1, ckit, c-myc, NRAS, TERRA	b.d.	69
52	462	627	165	12-16	0.071	Warstwowe, Elektrostatyczne	Równoległa: c-kit, CM22; Hybrydowa: HTG-21	b.d.	70
53	470	550	80	20-50	0.83	Warstwowe	Hybrydowa: 22AG; Równoległa: c-kit1, c-kit3, CM22, c-myc, c-kit3; Hybrydowa: Hum45, HRAS, HTG21; Antyrównoległa: G3T3,	linia utrwalonych komórek HepG2 (cytoplazma)	71
54	470	595	125	130-240	0.11	Warstwowe, Elektrostatyczne	Hybrydowa: HTG-21, HRAS; Antyrównoległa: 22AG, G3T3, ; Równoległa: c-myc, c-kit, CM22	linia utrwalonych komórek HepG2 (jąderko)	72
55	470	595	125	180; 45-90	0.028	Warstwowe	Antyrównoległa: HRAS; Równoległa; Hybrydy	linia żywych komórek HepG2 (jąderko)	73

56a	445	640	195	7-10	b.d.	Warstwowe, Elektrostatyczne	Równoległa:c-myc, hum45	linia utrwalonych komórek HepG2 (jądro)	74
56b	445	640	195	20-80	b.d.	Warstwowe, Elektrostatyczne	Równoległa:c-myc, hum45	linia utrwalonych komórek HepG2 (jądro)	74
57	610	668	58	40-70	b.d.	Warstwowe	Hybrydowa:c-kit*, HRAS; Antyrównoległa: 22AG, G3T3, G4TTA , hTelo; Równoległy: c-src, c-myc	linia żywych i utrwalonych komórek A549, CHO, HeLa (jąderko)	75
58	680	710	30	20-40	6.57-21.6	Warstwowe	Równoległa: EAD, Pu22, C-kit2	b.d.	76
59	670	698	28	40-70	0.044	Warstwowe	Równoległa: c-kit2 EAD, Pu22, Pu 27, Tel22	linia żywych komórek MCF-7 (lizosomy)	77
60	661	744	83	14000-20000	10	Warstwowe	Równoległa: VEGF, 25-Ceb, VAV-1, c-myc	b.d.	78
61	452	666	214	11-34	0.14-0.71	Warstwowe	Równoległa:c-myc, c-kit1, c-kit2; Antyrównoległa: HRAS1; Hybrydowa: 22AG	b.d.	79, 80
62	600	613	13	1.5-3	0.000003-0.184	b.d.	Hybrydowa: hTel22; Antyrównoległa: hTel22; Równoległa: c-myc, c-kit1, c-kit2	linia utrwalonych komórek HEK-293T (jądra)	81, 82
63	525/610	610/670	85/60	40-89	b.d.	b.d.	Równoległa:pu22; Hybrydowa: hTel22; Antyrównoległa: hTel22	b.d.	83
64	436	581	145	3.3-4.9	0.82-0.99	bd	Brak selektywności: TBA, myc2345, BCL-2 (RNA), ckit87up, PDGF-A	linia żywych komórek U2OS (jądra)	84
65	360	597	237	20-30	25.18	Elektrostatyczne	Równoległa: 93del, J19, T95	bd	85
66	513	606	93	10	1.27	Warstwowe	Równoległa	linia żywych komórek CCRF-CEM	86
67	495	520	25	4-5	0.028-0.833	Warstwowe	Równoległa: c-myc, Ceb25, VAV-1, VEGF	linia żywych i utrwalonych komórek HeLa (mitochondria, cytoplazma)	87
68	450	525	75	34-50	0.15-0.26	Warstwowy	Równoległa:Pu22, KRAS	bd	88
69	450	525	75	25-30	6.1	Warstwowy, Elektrostatyczne	Równoległa: c-kit2	bd	89
70	400	510	110	4-8	7.8-13.3	Warstwowy, Elektrostatyczne	Hybrydowa: htg45, htg51, htg57	linia komórek SiHA, A549	90
71	450	525	75	11-15	0.53-0.63	Warstwowy	Równoległa: c-myc	bd	91
72	350	465	115	10	0.1-0.5	Warstwowy, Elektrostatyczne	Równoległa: c-myc	bd	92
73	424	657, 722	233, 298	1.5-2.5	0.05-0.3	Warstwowe	Brak selektywności	bd	93- 96
74	399	614	215	2-10	0.5-10	Warstwowe	Równoległa	bd	97
75	410	630	220	16-18	0.056-0.151	Warstwowe	Równoległa	bd	98

76	620	705	85	200	0.002-0.01	Warstwowe	Równoległa: c-myc	linia żywych i utrwalonych komórek HeLa, MCF7, B16F10, SH-SY5Y, SK-Mel-28	99
77	bd	bd	bd	bd	1	Warstwowe	Antyrównoległa: Htelo	bd	102
78	630	705	75	200-800	0.03-0.150	Warstwowe	Antyrównoległa: Htelo; Równoległa: C-myc, c-kit	bd	103
79	350	512	162	293	0.09-0.12	Warstwowy, 3' koniec	Hybrydowa: Htel	bd	104
80	350	622	272	38	0.45-0.71	Warstwowe	Równoległa: c-myc	bd	105
81	372	652	280	8	5.1-6.8	Warstwowe	Równoległa: c-myc	bd	106
82	460	620	160	27	0.71	bd	Hybrydowa: 22AG (K ⁺); Antyrównoległa: 22AG (Na ⁺)	bd	107
83	460	620	160	35-50	0.19-0.33	bd	Hybrydowa: 22AG (K ⁺); Antyrównoległa: 22AG (Na ⁺)	bd	108
84	457	630	173	5-8	0.01-0.02	bd	Antyrównoległa: AG ₃ (T ₂ AG ₃) ₃	bd	109
85	450	658 (ds), 631 (GQ)	208 (ds), 181 (GQ)	150	0.23	Warstwowe	bd	linia żywych komórek MCF-7	110, 111
86	450	647 (ds), 605 (GQ)	197 (ds), 155 (GQ)	bd	0.1	Warstwowe	bd	linia utrwalonych komórek MCF-7	110
87	468	604	136	130	3.29	bd	Równoległa: c-kit, Pu18, VEGF; Hybrydowa: bcl2, G4TTA	bd	112
88	532	595	63	1115-1827	2.86-8.54	Warstwowy	Równoległe RNA: Tel22, VEGF, TRF2, BCL-2, NRAS	linia utrwalonych komórek A549	113
89	467	732	265	200-400	0.35-0.89	Warstwowy, 5' koniec	Równoległe RNA; TERRA, rUAG4	bd	114
90	555	660	105	40-60	0.57	Warstwowy, elektrostatyczne	Równoległe RNA; TERRA, FMR1, TB1, MT3	Linia żywych i utrwalone komórki HeLA	115
91	461	495	34	1693	bd	Warstwowy	Równoległa: CG2a	Linia żywych komórek Huh7	116
92	286	396	110	22	bd	Warstwowy	Równoległe RNA: TERRA	Linia żywych komórek MCF7, U2OS, B16F10	117

Zw 20 a=wolny; b=związany; Zw 85, 86 ds= dupleks, GQ= G-kwadupleks

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] H.L. Lightfoot, T. Hagen, N.J. Tatum, J. Hall, *FEBS Letters*, 2019, **593**, 2083.
- [2] D. Rhodes, H.J. Lipps, *Nucl. Acids Res.*, 2015, **43**, 8627.
- [3] J. Spiegel, S. Adhikari, S. Balasubramanian, *Trends Chem.*, 2020, **2**, 123.
- [4] S. Millevoi, H. Moine, S. Vagner, *WIREs RNA*, 2012 **3**, 495.
- [5] M.M. Fay, S.M. Lyons, P. Ivanov, *J. Mol. Biol.*, 2017, **429**, 2127.
- [6] M. Małgowska, D. Gudanis, A. Teubert, G. Dominiak, Z. Gdaniec, *BioTechnologia*, 2012, **93**, 381.
- [7] P. Murrat, Y. Singh, E. Defrancq, *Chem. Soc. Rev.*, 2011, **40**, 5293.
- [8] J. Jaumot, R. Gargallo, *Curr. Pharm. Design*, 2012, **18**, 1900.
- [9] E. Largy, A. Granzhan, F. Hamon, D. Verga, M.P. Teulade-Fichou, *Top. Curr. Chem.*, 2013, **330**, 111.
- [10] Y.L. Lu, S.C. Yan, F.Z. Chan, L. Zou, W.H. Chung, W.L. Wong, B. Qiu, N. Sun, P.H. Chan, Z.S. Huang, L.Q. Gu, K.Y. Wong, *Chem Commun.*, 2011, **47**, 4971.
- [11] Y.J. Lu, Z.Y. Wang, D.P. Hu, Q. Deng, B.H. Huang, Y.X. Fang, K. Zhang, W.L. Wong, C.F. Chow, *Dyes Pigm.*, 2015, **122**, 94.
- [12] Y.L. Lu, Q. Deng, J.Q. Hou, D.P. Hu, Z.Y. Wang, K. Zhang, L.G. Luyt, W.L. Wong, C.F. Chow, *ACS Chem. Biol.*, 2016, **11**, 1019.
- [13] L.L. Li, H.R. Xu, K. Li, Q. Yang, S.L. Pan, X.Q. Yu, *Sens. Actuators B*, 2019, **252**, 575.
- [14] X. Chen, J. Wang, G. Jiang, G. Zua, M. Liua, L. Zhoua, R. Pei, *RSC Adv.*, 2016, **6**, 70117.
- [15] P. Yang, A. DeCian, M.R. Teulade-Fichou, J.L. Mergny, D. Monchaud, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2009, **48**, 2188.
- [16] H. Chen, H. Sun, S. Zhang, W. Ya, Q. Li, A. Guan, J. Xiang, M. Liud, T. Tang, *Chem. Commun.* 2019, **55**, 5060.
- [17] B. Karg, A. Funke, A. Ficht, A. Sievers-Engler, M. Lämmerhofer, K. Weisz, *Chem. Eur. J.*, 2015, **21**, 13802.
- [18] Q. Chen, I.D. Kuntz, R.H. Shafer, *Proc Natl Acad Sci USA* 1996, **93**, 2635.
- [19] Q. Yang, J. Xiang, S. Yang, Q. Zhou, Q. Li, Y. Tang, G. Xua, *Chem Commun.*, 2009, 1103.
- [20] Q. Yang, J. Xiang, S. Yang, Q. Li, Q. Zhou, A. Guan, X. Zhang, H. Zhang, Y. Tang, G. Xu, *Nucl. Acids Res.* 2010, **38**, 1022.
- [21] Q. Yang, J.F. Xiang, S. Yang, Q. Li, Q. Zhou, A. Guan, L. Li, Y. Zhang, X. Zhang, H. Zhang, Y. Tang, G. Xu, *Anal. Chem.*, 2010, **82**, 9135.
- [22] H. Ihmels, L. Thomas, *Org. Biomol. Chem.* 2013, **11**, 480.
- [23] J. Mohanty, N. Barooah, V. Dhamodharan, S. Harikrishna, P.I. Pradeepkumar, A.C. Bhasikuttan, *J. Am. Chem. Soc.* 2013, **135**, 367.
- [24] S. Xu, Q. Li, J. Xiang, Q. Yang, H. Sun, A. Guan, L. Wang, Y. Liu, L. Yu, Y. Shi, H. Chen, Y. Tang, *Sci Rep*, 2016, **6**, 24793.
- [25] A.M. Fleming, Y. Ding, A. Alenko, C.J. Burrows, *ACS Infect Dis* 2016, **2**, 674.
- [26] M. Zahin, W.L. Dean, S.J. Ghim, J. Joh, R.D. Gray, S. Khanal, G.D. Bossart, A.A. Mignucci-Giannoni, E.C. Rouchka, A.B. Jenson, J.O. Trent, J.B. Chaires, J.H. Chariker, *PLoS ONE* 2018, **13**(4), e0195625.
- [27] W.A. Vinyard, A.M. Fleming, J. Ma, C.J. Burrows, *Biochemistry* 2018, **57**(47), 6551
- [28] S. Zhang, H. Sun, L. Wang, Y. Liu, H. Chen, Q. Li, A. Guan, M. Liu, Y. Tang, *Nucl. Acids Res.* 2018, **46**, 7522.
- [29] A. Guan, X.F. Zhang, X. Sun, Q. Li, J.F. Xiang, L.X. Wang, L. Lan, F.M. Yang, S.J. Xu, X.M. Guo, Y.L. Tang, *Sci. Rep.* 2018, **8**, 2666.
- [30] Y. Kataoka, H. Fujita, Y. Kasahara, T. Yoshihara, S. Tobita, M. Kuwahara, *Anal. Chem.* 2014 **86**(24), 12078.

- [31] S. Maiti, N.K. Chaudhury, S. Chowdhury, *Biochem. Bioph. Res. Comm.* 2003, **310**, 505.
- [32] U. Tawar, A.K. Jain, R. Chandra, Y. Singh, B.S. Dwarakanath, N.K. Chaudhury, L. Good, V. Tandon, *Biochemistry* 2003, **42**(45), 13339.
- [33] A.K. Jain, V.V. Reddy, A. Paul, K. Muniyappa, S. Bhattacharya, *Biochemistry* 2009, **48**(45), 10693.
- [34] F. Koepfel, J.F. Riou, A. Laoui, P. Mailliet, P.B. Arimondo, D. Labit, O. Petitgenet, C. Hélène, J.L. Mergny, *Nucl. Acids Res.* 2001, **29**(5), 1087.
- [35] T.Y. Tseng, C.H. Chien, J.F. Chu, W.C. Huang, M.Y. Lin, C.C. Chang, T.C. Chang, *J. Biomed. Opt.* 2013, **18**(10), 101309.
- [36] C.C. Chang, J.Y. Wu, C.W. Chien, W.S. Wu, H. Liu, C.C. Kang, L.J. Yu, T.C. Chang, *Anal. Chem.* 2003, **75**, 6177.
- [37] C.C. Chang, C. W. Chien, Y.H. Lin, C.C. Kang, T.C. Chang, *Nucl. Acids Res.* 2007, **35**(9), 2846.
- [38] C.C. Chang, I.C. Kuo, J.J. Lin, Y.C. Lu, C.T. Chen, H.T. Back, P.J. Lou, T.C. Chang, *Chem. Biodiver.* 2004, **1**(9), 1377.
- [39] C.C. Chang, J.F. Chu, F.J. Kao, Y.C. Chiu, P.J. Lou, H.C. Chen, T.C. Chang, *Anal. Chem.* 2006, **78**, 2810.
- [40] T.Y. Tseng, W.W. Chen, I.T. Chu, C.L. Wang, C.C. Chang, M.C. Lin, P.J. Lou, T.C. Chang, *Sci. Rep.* 2018, **8**, 16082.
- [41] W.C. Huang, T.Y. Tseng, Y.T. Chen, C.C. Chang, Z.F. Wang, C.L. Wang, T.N. Hsu, P.T. Li, C.T. Chen, J.J. Lin, P.J. Lou, T.C. Chang, *Nucl. Acids Res.* 2015, **43**(21), 10102.
- [42] C.C. Kang, W.C. Huang, C.W. Kouh, Z.F. Wang, C.C. Cho, C.C. Chang, C.L. Wang, T.C. Chang, J. Seemann, L.J. Huang, *Integr. Biol.* 2013, **5**, 1217.
- [43] B. Dumat, G. Bordeau, E. Faurel-Paul, F. Mahuteau-Betzer, N. Saettel, M. Bombléd, G. Metgé, F. Charra, C. Fiorini-Debuisschert, M.P. Teulade-Fichou, *Biochimie* 2011, **93**, 1209.
- [44] X.F. Zhang, H.J. Zhang, J.F. Xiang, Q. Li, Q.F. Yang, Q. Shang, Y.X. Zhang, Y.L. Tang, *J. Mol. Struct.* 2010, **982**, 133.
- [45] B. Jin, X. Zhang, W. Zheng, X. Liu, C. Qi, F. Wang, D. Shangguan, *Anal. Chem.* 2014, **86**, 943.
- [46] Y. Wei, X. Zhang, L. Wang, Y. Liu, T. Bing, X. Liua, D. Shangguan, *RSC Adv.* 2015, **5**, 75911.
- [47] B. Maji, K. Kumar, M. Kaulage, K. Muniyappa, S. Bhattacharya, *J. Med. Chem.* 2014, **57**, 6973.
- [48] D. Panda, M. Debnath, S. Mandal, I. Bessi, H. Schwalbe, J. Dash, *Sci. Rep.* 2015, **5**, 13183.
- [49] D. Lin, X. Fei, Y. Gu, C. Wang, Y. Tang, R. Lib, J. Zhou, *Analyst* 2015, **140**, 5772.
- [50] M.H. Hu, R.J. Guo, S.B. Chen, Z.S. Huang, J.H. Tan, *Dyes Pigm.* 2017, **137**, 191.
- [51] F. Gao, S. Cao, W. Sun, S. Long, J. Fan, X. Peng, *Dyes Pigm.* 2019, **171**, 107749.
- [52] S. Wu, L. Wang, N. Zhang, Y. Liu, W. Zheng, A. Chang, F. Wang, S. Li, D. Shangguan, *Chem. Eur. J.* 2016, **22**, 6037.
- [53] C. Yang, R. Hu, Q. Li, S. Li, J. Xiang, X. Guo, S. Wang, Y. Zeng, Y. Li, G. Yang, *ACS Omega* 2018, **3**(9), 10487.
- [54] Y.J. Lu, D.P. Hu, K. Zhang, W.L. Wong, C.F. Chow, *Biosens. Bioelectron.* 2016, **81**, 373.
- [55] Y.L. Lu, X.L. Guo, M.H. Xu, W.W. Chen, W.L. Wong, K. Zhang, C.F. Chow, *Dyes Pigm.* 2017 **143**, 331.
- [56] M.Q. Wang, Y. Wu, Z.Y. Wang, Q.Y. Chen, F.Y. Xiao, Y.C. Jiang, A. Sang, *Dyes Pigm.* 2017, **145**, 1.
- [57] M.Q. Wang, J. Xu, L. Zhang, Y. Liao, H. Wei, Y.Y. Yin, Q. Liu, Y. Zhang, *Bioorg. Med. Chem.* 2019, **27**, 552.
- [58] M.Q. Wang, Y. Zhang, X.Y. Zeng, H. Yang, C. Yang, R.Y. Fu, H.J. Li, *Dyes Pigm.* 2019, **168**, 334.
- [59] J. Carvalho, E. Pereira, J. Marquevielle, M.P.C. Campello, J.L. Mergny, A. Paulo, G.F. Salgado, J.A. Queiroz, C. Cruz, *Biochimie* 2018, **144**, 144.

- [60] Q. Zhang, Y.C. Liu, D.M. Kong, D.S. Guo, *Chem. Eur. J.* 2015, **21**, 13253.
- [61] J.W. Yan, S.B. Chen, H.T. Liu, W.J. Ye, T.M. Ou, J.H. Tan, D. Li, L.Q. Gu, Z.S. Huang, *Chem. Commun.* 2014, **50**, 6927.
- [62] S.B. Chen, M.H. Hu, G.C. Liu, J. Wang, T.M. Ou, L.Q. Gu, Z.S. Huang, J.H. Tan *J. Am. Chem. Soc.* 2016, **138**, 10382.
- [63] K. Lyu, S.B. Chen, C.Y. Chan, J.H. Tan, C.K. Kwok, *Chem. Sci.* 2019, **10**, 11095.
- [64] H.H. Tan, T.M. Ou, J.Q. Hou, Y.L. Lu, S.L. Huang, H.B. Luo, J.Y. Wu, Z.S. Huang, K.Y. Wong, L.Q. Gu, *J. Med. Chem.* 2009, **52**(9), 2825.
- [65] W.J. Zhang, T.M. Ou, Y.L. Lu, Y.Y. Huang, W.B. Wu, Z.S. Huang, J.L. Zhou, K.Y. Wong, L.Q. Gu, *Bioorg. Med. Chem.* 2007, **15**, 5493.
- [66] A.C. Bhasikuttan, J. Mohanty, H. Pal, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2007, **46**, 9305.
- [67] D.M. Kong, Y.E. Ma, H.H. Guo, W. Yang, H.X. Shen, *Anal. Chem.* 2009, **81**, 2678.
- [68] D.M. Kong, Y.E. Ma, J. Wu, H.X. Shen, *Chem. Eur. J.* 2009, **15**, 901.
- [69] H. Lai, Y. Xiao, S. Yan, F. Tian, C. Zhong, Y. Liu, X. Weng, X. Zhou, *Analyst* 2014, **139**, 1834.
- [70] M.Q. Wang, W.X. Zhu, Z.Z. Song, S. Li, Y.Z. Zhang, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2015, **25**, 5672.
- [71] M.Q. Wang, L.X. Gao, Y.F. Yang, X.N. Xiong, Z.Y. Zheng, S. Li, Y. Wu, Y.Y. Ma, *Tetrahedron Lett* 2016, **57**, 5042.
- [72] M.Q. Wang, S. Liu, C.P. Tang, A. Raza, S. Li, L.X. Gao, J. Sun, S.P. Guo, *Dyes Pigm.* 2017, **136**, 78.
- [73] M.Q. Wang, Z.Y. Wang, Y.F. Yang, G.Y. Ren, X.N. Liu, S. Li, J.W. Wei, L. Zhang, *Tetrahedron Lett* 2017, **58**, 3296.
- [74] D. You, L. Liu, Q. Yang, X. Wu, S. Li, A. Li, *Dyes Pigm.* 2020, **176**, 108222.
- [75] Y. Chen, S. Yan, L. Yuan, Y. Zhou, Y. Song, X. Xiao, X. Weng, X. Zhou, *Org. Chem. Front.* 2014, **1**, 267.
- [76] B. Jin, X. Zhang, W. Zheng, X. Liu, J. Zhou, N. Zhang, F. Wang, D. Shangguan, *Anal. Chem.* 2014, **86**, 7063.
- [77] X. Zhang, Y. Wei, T. Bing, X. Liu, N. Zhang, J. Wang, J. He, B. Jin, D. Shangguan, *Sci. Rep.* 2017, **7**, 4766.
- [78] V. Grande, F. Doria, M. Freccero, F. Wurthner, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2017, **56**, 7520.
- [79] M. Zuffo, F. Doria, V. Spalluto, S. Ladame, M. Freccero, *Chem. Eur. J.* 2015, **21**, 17596.
- [80] M. Zuffo, S. Ladame, F. Doria, M. Freccero, *Sensor Actuat B-Chem* 2017, **245**, 780.
- [81] R. Perrone, F. Doria, E. Butovskaya, I. Frasson, S. Botti, M. Scalabrin, S. Lago, V. Grande, M. Nadai, M. Freccero, S.N. Richter, *J. Med. Chem.* 2015, **58**, 9639.
- [82] F. Doria, M. Nadai, M. Zuffo, R. Perrone, M. Freccero, S.N. Richter, *Chem. Commun.* 2017, **53**, 2268.
- [83] F. Doria, A. Oppi, F. Manoli, S. Botti, N. Kandoth, V. Grande, I. Manet, M. Freccero, *Chem. Commun.* 2015, **51**, 9105.
- [84] A. Shivalingam, M.A. Izquierdo, A. Le Marois, A. Vysniauskas, K. Suhling, M.K. Kuimova, R. Vilar, *Nature Comm.* 2015, **6**, 8178.
- [85] L. Zhang, J.C. Er, K.K. Ghosh, W.J. Chung, J. Yoo, W. Xu, W. Zhao, A.T. Phan, Y.T. Chang, *Sci. Rep.* 2013, **4**, 3776.
- [86] G. Feng, C. Luo, H. Yi, L. Yuan, B. Lin, X. Luo, X. Hu, H. Wang, C. Lei, Z. Nie, S. Yao, *Nucl. Acids Res.* 2017, **45**(18), 10380.
- [87] M. Deiana, K. Chand, J. Jamroskovic, I. Obi, E. Chorell, N. Sabouri, *Angew. Chem.* 2020, **132**, 906.
- [88] M.H. Hu, S.B. Chen, R.J. Guo, T.M. Ou, Z.S. Huang, J.H. Tan, *Analyst* 2015, **140**, 4616.
- [89] M.H. Hu, X. Chen, S.B. Chen, T.M. Ou, M. Yao, L.Q. Gu, Z.S. Huang, J.H. Tan, *Sci. Rep.* 2015, **5**, 17202.

- [90] M.H. Hu, S.B. Chen, B. Wang, T.M. Ou, L.Q. Gu, J.H. Tan, Z.S. Huang, *Nucl. Acids Res.* 2017, **45**(4), 1606.
- [91] M.H. Hu, J. Zhou, W.H. Luo, S.B. Chen, Z.S. Huang, R. Wu, J.H. Tan, *Anal. Chem.* 2019, **91**, 2480.
- [92] M.H. Hu, Y.Q. Wang, Z.Y. Yu, L.N. Hu, T.M. Ou, S.B. Chen, Z.S. Huang, J.H. Tan, *J. Med. Chem.* 2018, **61**, 2447.
- [93] J. Ren, J.B. Chaires, *Biochemistry* 1999, **38**, 16067.
- [94] A. Siddiqui-Jain, C.L. Grand, D.J. Bearss, L.H. Hurley, *PNAS* 2002, **99**(18), 11593.
- [95] M.W. Freyer, R. Buscaglia, K. Kaplan, D. Cashman, L.H. Hurley, E.A. Lewis, *Biophys. J.* 2007, **92**, 2007.
- [96] E. Boschi, S. Davis, S. Taylor, A. Butterworth, L.A. Chirayath, V. Purohit, L.K. Siegel, J. Buenaventura, A.H. Sheriff, R. Jin, R. Sheardy, L.A. Yatsunyk, M. Azam, *J. Phys. Chem. B* 2016, **120**, 12807.
- [97] H. Arthanari, S. Basu, T.L. Kawano, P.H. Bolton, *Nucl. Acids Res.* 1998, **26**(16), 3724.
- [98] T. Li, E. Wang, S. Dong, *Anal. Chem.* 2010, **82**, 7576.
- [99] H. Qin, J. Ren, J. Wang, N.W. Luedtke, E. Wang, *Anal. Chem.* 2010, **82**, 8356.
- [100] J. Alzeer, B.R. Vummidi, P.J.C. Roth, N.W. Luedtke, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2009, **48**, 9362.
- [101] A. Membrino, M. Paramasivam, S. Cogoi, J. Alzeer, N.W. Luedtke, L.E. Xodo, *Chem. Commun.* 2010, **46**, 625.
- [102] D.P.N. Goncalves, R. Rodriguez, S. Balasubramanian, J.K.M. Sanders, *Chem. Commun.* 2006, 4685.
- [103] J. Alzeer, N.W. Luedtke, *Biochemistry* 2010, **49**, 4339.
- [104] D.L. Ma, C.M. Che, S.C. Yan, *J. Am. Chem. Soc.* 2009, **131**(5), 1835.
- [105] P. Wang, C.H. Leung, D.L. Ma, S.C. Yan, C.M. Che, *Chem. Eur. J.* 2010, **16**, 6900.
- [106] P. Wu, D.L. Ma, C.H. Leung, S.C. Yan, N. Zhu, R. Abagyan, C.M. Che, *Chem. Eur. J.* 2009, **15**, 13008.
- [107] S. Shi, X. Geng, J. Zhao, T. Yao, C. Wang, D. Yang, L. Zheng, L. Ji, *Biochimie* 2010, **92**, 370.
- [108] S. Shi, J. Zhao, X. Geng, T. Yao, H. Huang, T. Liu, L. Zheng, Z. Li, D. Yanga, L. Ji, *Dalton Trans.* 2010, **39**, 2490.
- [109] J. Sun, Y. An, L. Zhang, H.Y. Chen, Y. Han, Y.J. Wang, Z.W. Mao, L.N. Ji, *J. Inorg. Biochem.* 2011, **105**, 149.
- [110] C. Rajput, R. Rutkaite, L. Swanson, I. Haq, J.A. Thomas, *Chem. Eur. J.* 2006, **12**, 4611.
- [111] M. Gill, J. Garcia-Lara, S. Foster, C. Smythe, G. Battaglia, J. Thomas, *Nature Chem.* 2009, **1**, 662.
- [112] L. Xu, D. Zhang, J. Huang, M. Deng, M. Zhang, X. Zhou, *Chem. Commun.* 2010, **46**, 743.
- [113] S. Xu, Q. Li, J. Xiang, Q. Yang, H. Sun, A. Guan, L. Wang, Y. Liu, L. Yu, Y. Shi, H. Chen, Y. Tang, *Nucl. Acids Res.* 2015, **43**(20), 9575.
- [114] Y. Wang, Y. Hu, T. Wu, H. Liu, L. Zhang, X. Zhou, Y. Shao, *Analyst* 2015, **140**, 5169.
- [115] X.C. Chen, S.B. Chen, J. Dai, J.H. Yuan, T.M. Ou, Z.S. Huang, J.T. Tan, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2018, **57**, 4702.
- [116] X. Luo, B. Xue, G. Feng, J. Zhang, B. Lin, P. Zeng, H. Li, H. Yi, X.L. Zhang, H. Zhu, Z. Nie, *J. Am. Chem. Soc.* 2019, **141**, 5182.
- [117] A. Laguerre, K. Hukezalie, P. Winckler, F. Katranji, G. Chanteloup, M. Pirrotta, J.M. Perrier-Cornet, J.M.Y. Wong, D. Monchaud, *J. Am. Chem. Soc.* 2015, **137**, 8521.

INFORMACJE

MECENASI WIADOMOŚCI CHEMICZNYCH



Hydrolab to polska firma z ponad 20-letnim doświadczeniem na rynku. Jesteśmy dobrze zorganizowanym, nowoczesnie zarządzanym przedsiębiorstwem.

Produkujemy laboratoryjne demineralizatory, zaprojektowane zgodnie z wytycznymi polskich i europejskich norm, wykorzystując najnowsze technologie oczyszczania wody.

Jesteśmy w stanie zaplanować całą gospodarkę wodną w laboratorium, z pełną dokumentacją kwalifikacyjną.

Hydrolab aktualnie posiada w swojej ofercie ponad sto modeli urządzeń do oczyszczania wody.



Selwa jest firmą założoną przez dobrze znanych Państwu ludzi, działających w branży sprzętu laboratoryjnego i aparatury naukowo-badawczej produkowanej przez światowych liderów.

Głównym celem firmy jest zapewnienie Państwu profesjonalnego doradztwa w zakresie doboru aparatury, optymalizacji konfiguracji i wykorzystania dokładnie zgodnie z Państwa potrzebami.

Nasze ponad 15-sto letnie doświadczenie w tej branży pozwala dopasować naszą ofertę dokładnie do Państwa potrzeb.

Świadczymy również jako jedna z niewielu firm na rynku, kompletne rozwiązania łącznie z wdrożeniem metod pod konkretne Państwa wymagania. Sprzęt przez nas sprzedany będzie, po skończeniu wdrożenia, gotowy do pracy bez konieczności wykonywania dodatkowych działań z Państwa strony i poświęcania Waszego cennego czasu.

Z naszymi partnerami zawarliśmy umowy na zasadach wyłączności i uprawniające nas do sprzedaży, serwisowania a przede wszystkim wsparcia technicznego i aplikacyjnego oferowanego sprzętu na terenie Polski.

Oferowana przez naszą firmę aparatura posiada certyfikaty zgodności CE, spełnia warunki GLP oraz GMP i jest wytwarzana przez producentów, którzy mają wdrożone systemy zarządzania jakością ISO 9000.

Prof. dr hab. Piotr Stepnowski został powołany na Dyrektora Związku Uczelni w Gdańsku im. Daniela Fahrenheita (2020 –)

We wrześniu 2020 roku Minister Nauki i Szkolnictwa Wyższego powołał do życia Związek Uczelni w Gdańsku im. Daniela Fahrenheita, który utworzyły Gdański Uniwersytet Medyczny, Politechnika Gdańska oraz Uniwersytet Gdański. To z pewnością jedno z najważniejszych wydarzeń w historii instytucji akademickich w Gdańsku, otwierające drogę do konsolidacji gdańskich uczelni.



Sekcja Materiałów Wysokoenergetycznych

Miło nam poinformować, że Sekcja Materiałów Wysokoenergetycznych wznowiła swoją działalność. W środę, 21 października odbyło się w trybie online zebranie członków sekcji, którzy dokonali wyboru nowego Zarządu:

Przewodniczący: **dr inż. Mateusz Szala, Wojskowa Akademia Techniczna**

Wiceprzewodniczący: **dr hab. inż. Tomasz Gołofit, Politechnika Warszawska**

Sekretarz: **dr inż. Tomasz Salaciński, Sieć Badawcza Łukasiewicz
- Instytut Przemysłu Organicznego**

Całemu Zarządowi Sekcji serdecznie gratulujemy i życzymy wielu sukcesów. Zapraszamy również wszystkie osoby zainteresowane działaniem w ramach Sekcji do kontaktu z Panem Przewodniczącym.

Sekcja Chemii Żywności

Miło nam poinformować, że Sekcja Chemii Żywności wznowiła swoją działalność. W środę, 14 października odbyło się w trybie online zebranie członków sekcji, którzy dokonali wyboru nowej Przewodniczącej, którą została pani **dr Małgorzata Starowicz** z Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN w Olsztynie.

Pani Przewodniczącej Sekcji serdecznie gratulujemy i życzymy wielu sukcesów. Zapraszamy również wszystkie osoby zainteresowane działaniem w ramach Sekcji do kontaktu z Panią Przewodniczącą.

Sekcja Chemii Cukrów

Miło nam poinformować, że Sekcja Chemii Cukrów wznowiła swoją działalność. W poniedziałek, 12 października odbyło się w trybie online zebranie członków sekcji, którzy dokonali wyboru nowego Zarządu:

Przewodniczący: **dr hab. Zbigniew Kaczyński, prof. uczelni, Uniwersytet Gdański**

Wiceprzewodnicząca: **dr hab. Anna Zawisza, prof. uczelni, Uniwersytet Łódzki**

Nowemu Zarządowi Sekcji serdecznie gratulujemy i życzymy wielu sukcesów. Zapraszamy również wszystkie osoby zainteresowane działaniem w ramach Sekcji do kontaktu z Panem Przewodniczącym.

Sekcja Termodynamiki

Miło nam poinformować, że Sekcja Termodynamiki wznowiła swą działalność. W czwartek, 8 października odbyło się w trybie online zebranie członków sekcji, którzy dokonali wyboru nowego Zarządu:

Przewodnicząca: **dr hab. Marzena Dzida, prof. uczelni, Uniwersytet Śląski**

Wiceprzewodniczący: **dr hab. inż. Marek Królikowski, Politechnika Warszawska**

Sekretarz: **mgr Monika Źarska, Uniwersytet Śląski**

Nowemu Zarządowi Sekcji serdecznie gratulujemy i życzymy wielu sukcesów. Zapraszamy również wszystkie osoby zainteresowane działaniem w ramach Sekcji do kontaktu z Panią Przewodniczącą.

Zmarła Profesor Wanda Brzyska



Z ogromnym smutkiem i żalem przyjęliśmy wiadomość, że w dniu 29 października 2020 roku zmarła Prof. dr hab. Wanda Brzyska wybitna polska chemiczka, specjalistka z zakresu chemii koordynacyjnej, ceniona nauczycielka akademicka i wychowawczyni wielu pokoleń chemików. Całe swoje życie zawodowe Pani Profesor Wanda Brzyska związała z Uniwersytetem Marii Curie-Skłodowskiej. W latach 1980-1981, jako pierwsza kobieta na UMCS, pełniła funkcję Prorektora ds. Studenckich, Dydaktyki i Wychowania. W latach 1984-1987 sprawowała funkcję Prodziekana Wydziału Mat-Fiz-Chem. W latach 1991-1993 była członkiem Centralnej Komisji ds. Stopni i Tytułów. Pani Profesor była też aktywnym członkiem PTChem od 1960 roku. W latach 1983-89 sprawowała funkcję Przewodniczącej Lubelskiego Oddziału PTChem. Od roku 1983 była członkiem Głównej Komisji Rewizyjnej, a następnie, przez dwie kadencje (1998-2003) pełniła funkcję wiceprezesa Zarządu Głównego Polskiego Towarzystwa Chemicznego. Od 1999 roku była przewodniczącą Komitetu Okręgowego Olimpiady Chemicznej. Za swoją działalność dydaktyczną, naukową i organizacyjną Prof. dr hab. Wanda Brzyska otrzymała wiele nagród i wyróżnień, między innymi: Złoty Krzyż Zasługi (1974), Krzyż Kawalerski OOP (1979), Krzyż Oficerski OOP (2003), Medal Komisji Edukacji Narodowej (1979), Medal Senatora Francji (1982), Odznakę Honorową Zasłużonemu dla LTN (1998), Zasłużonemu dla Politechniki Rzeszowskiej (1998), Medal Zasłużony dla Uniwersytetu Marii Curie Skłodowskiej (2005) oraz wielokrotnie Nagrody Ministra Nauki, Szkolnictwa Wyższego i Techniki.

Recenzja

Jan F. Rabek, *POLIMERY i ich zastosowania interdyscyplinarne*, Wydawnictwo naukowe PWN SA, Warszawa 2020, wydanie I, polskie, tom 1, s. 409, tom 2, s. 382.

W 2020 roku Wydawnictwo naukowe PWN, wydało nową książkę autorstwa Jana F. Rabka „*POLIMERY i ich zastosowania interdyscyplinarne*”. Choć podręcznik skierowany jest do studentów i doktorantów specjalizujących się w zakresie chemii i technologii polimerów to ta tematyka, w tym wydaniu, eksplorowana jest wielowymiarowo i ma szersze oddziaływanie społeczne.

Prezentacja treści w formie krótkich artykułów przeglądowych zawierających fragmenty tekstów i rysunki z oryginalnych publikacji naukowych stanowi klarowne kompendium wiedzy dla profesjonalnych odbiorców. Natomiast przedstawienie szeregu zagadnień w podstawowym zakresie, bez zaawansowanego aparatu matematycznego daje szerszy zasięg odbiorców spoza środowiska akademickiego, zainteresowanych tematyką aplikacji materiałów polimerowych w gospodarce, czy problemami ochrony środowiska generowanymi przez odpady polimerowe.

Materiały polimerowe są podstawą szeregu tradycyjnych technologii, które są szeroko opisane w wielu podręcznikach. Natomiast ta książka jest na polskim rynku wydawniczym uzupełnieniem pozycji literaturowych w zakresie przeglądu materiałów polimerowych stosowanych w interdyscyplinarnych aplikacjach w zaawansowanych, innowacyjnych technologiach. Opis przytaczanych technologii jest prosty i klarowny nienasycony skomplikowanymi schematami co pozwala na dobre zobrazowanie problemu dla czytelnika również spoza obszaru nauk ścisłych.

Pierwszy tom zawiera rozdziały dotyczące otrzymywania i właściwości polimerów przemysłowych zarówno tych tradycyjnych wytwarzanych wielkoformatowo, jak również materiałów funkcjonalnych w tym nowych na rynku komercyjnym jak np. materiały hybrydowe na bazie związków krzemu, czyli polisilsekwoksany. Przedstawiono w podobny, skondensowany sposób polimery powłokotwórcze, kleje polimerowe i kauczuki. Drugi tom to gruntowna analiza kompozytów polimerowych, funkcjonalizacja właściwości polimerów i wprowadzenie w chemię polimerów supramolekularnych, nanomateriałów oraz polimerów amfifilowych. W każdej grupie materiałów przedstawiono analizę właściwości w odniesieniu do dedykowanych aplikacji. Interesujące są w kontekście szerszego grona odbiorców rozdziały dotyczące toksykologii i recydingu tworzyw polimerowych. Jest to

szczególnie ważne w budowaniu wiedzy czytelników spoza środowiska profesjonalistów w oparciu o rzetelne przedstawienie treści budowanej na faktach a nie mitach prezentowanych w mediach.

Prof. dr hab. Jolanta Ejfler

REGULAMIN I INFORMACJE DLA AUTORÓW PUBLIKUJĄCYCH W CZASOPISIMIE „WIADOMOŚCI CHEMICZNE”

1. Informacje ogólne

„Wiadomości Chemiczne” są recenzowanym czasopismem naukowym Polskiego Towarzystwa Chemicznego, które publikuje przede wszystkim artykuły przeglądowe. Ponadto publikowane są tutaj inne **wartościowe** materiały o charakterze edukacyjno-informacyjnym takie jak: artykuły oparte na pracach doktorskich lub habilitacyjnych, które zostały wyróżnione przez Rady Wydziałów, przed którymi toczyły się odpowiednie procesy; materiały informacyjne na temat uczonych oraz jednostek naukowych/firm chemicznych lub pokrewnych chemii; materiały o aktualnych osiągnięciach w szeroko pojętych naukach chemicznych.

Dodatkowa ofertę Wydawnictwa stanowi seria, „Biblioteka Wiadomości Chemicznych”, gdzie publikowane są dłuższe artykuły przeglądowe lub monografie poświęcone ważnym i aktualnym problemom współczesnej chemii. Autorzy, którzy chcieliby takie prace napisać, powinni wcześniej skontaktować się z Redakcją, a następnie przesłać wstępnie przygotowaną publikację (redagowana na wzór artykułów w czasopiśmie „Wiadomości Chemicznych”) lub informacje na temat przygotowywanej pracy – tytuł przygotowywanej publikacji, przybliżoną liczbę stron, tabel, rysunków. W chwili obecnej Redakcja nie posiada środków na finansowanie prac w serii „Biblioteka Wiadomości Chemicznych”. W zależności od sytuacji finansowej Wydawnictwa, Redakcja zastrzega sobie prawo negocjacji kosztów druku z autorami lub Instytucjami zlecającymi druk.

„Wiadomości Chemiczne” wydawane są zarówno w wersji drukowanej jak i elektronicznej. Wersja elektroniczna udostępniana jest bezpłatnie w Internecie.

Czasopismo jest indeksowane/abstraktowane w kilku bazach danych: Chemical Abstracts, Polska Bibliografia Naukowa, BazTech, Polska Bibliografia Lekarska, Index Copernicus, Baza ARIANTA.

2. Informacje dla autorów na temat wymagań i zasad publikowania prac

- Prace nie były wcześniej publikowane, ani nie są złożone w redakcji innego czasopisma.
- Autorzy prac stosują się do wymagań praw autorskich tzn. w przypadku zamieszczania rysunków, tabel itp., pochodzących z opracowań opublikowanych w innych czasopismach lub publikacjach zwartych, posiadają pisemną zgodę na ich przedruk.
- Opublikowana raz praca bez zgody Redakcji, nie może być wydawana gdzie indziej.
- Autorzy przysyłający prace po raz pierwszy powinni podać swój numer telefonu oraz adresy poczty tradycyjnej i elektronicznej. Jest to niezbędny warunek sprawnego przebiegu opracowania redakcyjnego tekstu.
- Autorzy zobowiązani są do wykonania korekty tekstu. W pracach przyjętych do druku Redakcja ma prawo dokonywania niezbędnej korekty.
- Jeżeli autorzy nie zastrzegą inaczej w momencie zgłoszenia pracy, wydawca nabywa ogólnych praw autorskich do wydrukowanych prac (w tym prawo wydawania na nośnikach elektronicznych oraz w Internecie). Tytułem powyższego wykorzystania utworów autorom nie są wypłacane honoraria.
- Wszystkie nadsyłane prace są poddawane wstępnej ocenie, która określa czy odpowiadają randze i profilowi „Wiadomości Chemicznych” oraz czy zostały przygotowane zgodnie z formalnymi wymogami MNiSW oraz Redakcji.
- Po uzyskaniu pozytywnej wstępnej oceny wszystkie prace są recenzowane przez co najmniej dwóch niezależnych recenzentów, zgodnie ze wskazówkami zawartymi w broszurze informacyjnej Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego, http://www.nauka.gov.pl/fileadmin/user_upload/ministerstwo/Publikacje/20110216_MNISW_broszura_210x210.pdf.
- O przyjęciu pracy do druku decyduje Komitet Redakcyjny.
- Prace, które Komitet Redakcyjny na podstawie uzyskanych recenzji stwierdził, że nie należy przyjąć do druku w czasopiśmie, po uwzględnieniu sugestii recenzentów mogą być powtórnie przesłane do czasopisma. W takim przypadku praca traktowana jest jako nowy tekst i ponownie przechodzi pełną procedurę recenzowania.
- Ponadto Komitet Redakcyjny informuje, że tzw. „ghostwiting” (ktoś wniósł znaczący wkład w powstanie publikacji, a nie został przedstawiony jako współautor lub też nie został wymieniony w podziękowaniu zamieszczonym w publikacji) lub „guest authorship” (udział autora jest znikomy lub też w ogóle nie miał miejsca, a mimo to jest współautorem publikacji) są przejawem nierzetelności

naukowej. Wszelkie przejawy nierzetelności naukowej, łamania i naruszania zasad etyki obowiązującej w nauce będą ujawniane, włącznie z powiadomieniem jednostek zatrudniających autorów.

- Autorzy mają prawo do zaproponowania co najmniej trzech niezależnych recenzentów, jednak ostatecznego wyboru anonimowych recenzentów dokonuje Redakcja.

3. Koszty

Autorzy czasami mogą ponosić częściowe koszty wydania swoich artykułów. Tak jest w przypadku tzw. **stron nadliczbowych** tj. powyżej 25 stron. Za każdą rozpoczętą nadliczbową stroną jest naliczana opłata w wysokości około 50 zł. Najczęściej- kwota ta pokrywana jest z funduszy pozyskiwanych przez Autorów lub przez Wydziały które wspomagają wydawanie „Wiadomości Chemicznych”. Niezależnie od rodzaju pracy opłata pobierana jest również **za strony drukowane w kolorze** (zgodnie z faktycznym kosztem druku).

Redakcja zastrzega sobie możliwość zmiany wysokości opłat, w zależności od wielkości dofinansowania z MNiSW oraz wypracowanych środków własnych. Faktura wystawiana jest po ukazaniu się pracy.

W przypadku prac w serii „Biblioteka Wiadomości Chemicznych”, Redakcja nie posiada środków na finansowanie i zastrzega sobie prawo negocjacji kosztów druku z autorami lub Instytucjami zlecającymi druk.

4. Informacje szczegółowe dotyczące przygotowania maszynopisu do druku

4.1. Wymagania merytoryczne

Tekst należy napisać zwięźle, prostym stylem, według zasad pisowni polskiej, z zachowaniem poprawnego i obowiązującego nazewnictwa fachowego. Nie należy zamieszczać nadmiaru szczegółów odsyłając Czytelnika do piśmiennictwa oryginalnego, które to powinno uwzględniać najnowsze informacje, dotyczące napisanej pracy. Literaturę należy cytować ze źródeł oryginalnych.

4.2. Wymagania techniczne składu tekstu

- W przypadku prac współfinansowanych przez autorów, liczba stron oraz forma kolorystyczna manuskryptu nie jest ograniczona (wymagane jest wcześniejsze uzgodnienie z Redakcją).

- Maszynopisy prac autorów którzy nie chcą ponosić dodatkowych kosztów, nie powinny przekraczać 25 stron całej pracy (po wydruku w czasopiśmie) oraz drukowane będą w wersji czarno białej.

- Główny tekst nadsyłanych prac powinien być napisany w edytorze Word, czcionką Times New Roman, 12p z zachowaniem interlinii 1,5 oraz z 5 cm marginesem z prawej strony. Przy podziale tekstu należy stosować numerację cyfrową wielorzędową. Numerujemy tylko tytuły rozdziałów, **nie numerujemy działów**: Abstract, Wykaz stosowanych skrótów, Wprowadzenie, Uwagi końcowe, Podziękowanie, Piśmiennictwo cytowane. Jednolity sposób numeracji konsekwentnie stosuje się wewnątrz tekstu (w całym tekście tj. zarówno przy numerowaniu rozdziałów, przy przytaczaniu piśmiennictwa cytowanego oraz odwoływaniu się do tabel rysunków itp., **nie należy stosować odsyłaczy hipertekstowych**).

- Tekst powinien być napisany poprawnym językiem, wszystkie skróty muszą być wyjaśnione, oznaczenia i jednostki miar należy podawać według układu SI, pozycje cytowanej literatury należy oznaczać numerami umieszczonymi w nawiasach kwadratowych, w kolejności cytowania wg wzorów [1, 5, 7] (dla prac 1, 5 i 7) lub [1-5, 7] (dla prac od 1 do 5 oraz pracy 7).

- Jeśli w artykułach znajdują się przedruki rysunków, czy innych elementów prac cudzych, w opisach (polskich i angielskich) należy zamieścić stosowną informację.

- Zaleca się umieszczać w tekście pracy rysunki, tabele oraz podpisy (jeśli są przygotowane w edytorze Word), jednak w przypadku plików o bardzo dużych rozmiarach należy zaznaczyć miejsca na ich umieszczenie (zob. Pliki jakie należy przekazać do Redakcji).

- **Pierwsza strona pracy powinna zawierać kolejno:**

- tytuł pracy w języku polskim (Times New Roman, 14 p, pogrubiony, WERSALIKI), i angielskim (Times New Roman, 14 p, WERSALIKI),

- pełne imię i nazwisko autora (autorów) pracy (Times New Roman, 15p, pogrubione),

- pełne nazwy ośrodków przypisane do autorów pracy (wraz z adresem ośrodka i adresem e-mail autora korespondującego (Times New Roman, 10,5, kursywa),

- spis treści pracy z zastosowaniem następującego podziału:

Abstract

Wykaz stosowanych symboli i oznaczeń

Wprowadzenie

1. Tytuł rozdziału

1.1. Tytuł podrozdziału itp.

Uwagi końcowe

Podziękowanie

Piśmiennictwo cytowane

• **Kolejne strony pracy powinny zawierać:**

- **notki o autorach** pracy wraz z tytułami naukowymi (można dołączyć osobno pliki z fotografiami autorów (zob. **Pliki jakie należy przekazać do Redakcji**),
- **obszerne streszczenie pracy w języku angielskim** (od 1800 do 2700 znaków ze spacjami) z uwzględnieniem cytowanego piśmiennictwa oraz odsyłaczami do tabel, rysunków zamieszczonych w tekście (Rys. 1, Tab. 1-2, Schemat 1) oraz **słowa kluczowe** – nie więcej niż 6, uzyskane najlepiej z bazy haseł przedmiotowych podawane w języku angielskim i polskim,
- **wykaz stosowanych skrótów** – w przypadku niewielkiej liczby skrótów lub akronimów nie jest konieczne zamieszczanie tej pozycji, wówczas, skróty wyjaśniamy w tekście przy pierwszym użyciu. Angielskie skróty należy podać i wyjaśnić wg poniżej podanego wzoru lub w oparciu o inne prace zamieszczone w „Wiadomościach Chemicznych”. Przykład: dla skrótu SSRI – selektywne inhibitory zwrotnego wychwytu serotoniny (ang. *Selective Serotonin Reuptake Inhibitor*),
- **dalszy tekst pracy zgodny z podawanym wcześniej spisem treści.**

• **Tabele, rysunki, fotografie**

Tabele i rysunki **powinny być zamieszczone w przesyłanym tekście** oraz dodatkowo (po zatwierdzeniu pracy do druku, na etapie przygotowywania szrotki) dołączone w postaci osobnych plików zapisanych w formacie pdf, doc, jpg, tiff.

Tabele i rysunki powinny być przejrzyste, zawierać informacje niezbędne do zrozumienia treści, bez konieczności poszukiwania objaśnień w tekście pracy, należy je numerować cyframi arabskimi oraz podać tytuł (polski/angielski, nad tabelą, pod rysunkiem, Times New Roman, 10 p).

Wszystkie fotografie – należy przesłać w postaci plików zapisanych w formacie tif, jpg lub podobnym, **każdą zapisać w oddzielnym pliku o rozdzielczości co najmniej 300 dpi.**

• **Piśmiennictwo cytowane**

Piśmiennictwo należy zestawić numerycznie według kolejności cytowania w tekście, należy cytować wyłącznie pozycje istotne dla treści pracy w sposób precyzyjny.

W przypadku **artykułów z czasopism tradycyjnych**, opis powinien zawierać kolejno następujące elementy: inicjały imion i nazwisko autora (autorów), skrót tytułu czasopisma zgodny z przyjętymi normami, rok wydania, **numer wolumenu zaznaczony pogrubioną czcionką**, numer pierwszej strony cytowanej pracy, np.

[1] J. Kowalski, Wiad.Chem., 2007, **61**, 473.

[2] W. Kowalski, A. Nowak, Przem. Spoż. 2010, **51**, 3.

W przypadku **książek** najprostszy opis powinien zawierać: inicjały imion i nazwisko autora (autorów), tytuł książki, nazwę wydawcy, miejsce wydania, rok wydania, np.

[1] J. Malinowski, Tytuł książki, PWN, Warszawa, 2004.

[2] W. Kowalski, Tytuł książki, Volumed, Wrocław, 1999

W przypadku zasobów Internetowych najprostszy opis powinien zawierać: inicjały imion i nazwisko autora (autorów), tytuł (artykułu) dokumentu online, [dostęp], wydawca, [data dostępu]. Warunki dostępu, np.

[7] J. Kowalski, Tytuł artykułu. [online], wydawca, [dostęp: 2010-05-20]. Dostępny w Internecie: <http://www.....>

4.3. Materiały jakie należy przygotować w celu przesłania pracy do Redakcji

Przed podjęciem decyzji o zakwalifikowaniu pracy do druku w celu oceny merytorycznej należy przesłać **jeden** plik kompletnej pracy zredagowany zgodnie z wymaganiami Redakcji.

Po uzyskaniu pozytywnej recenzji i po ustosunkowaniu się do uwag Recenzenta oraz Redakcji należy przesłać ostateczną wersję pracy w następującej postaci:

- 1 plik tekstu zredagowany zgodnie z wymaganiami Redakcji;
- 1 plik zawierający krótkie notki biograficzne o autorach nadesłanej pracy (każda notka do 150 wyrazów powinna zawierać: tytuł naukowy, miejsce pracy oraz inne ważne informacje o autorze);
- pliki zawierające zdjęcia portretowe autorów, w nazwie powinny wskazywać autora, którego zdjęcie dotyczy (dobrowolne, przesłanie plików jest jednoznaczne ze zgodą na jego opublikowanie);
- 1 plik zawierający: stronę tytułową, streszczenie (abstrakt), słowa kluczowe, podpisy pod rysunki, tabele, schematy (wszystko w obu wersjach językowych); jeśli zachodzi potrzeba to również oddzielne pliki z rysunkami, schematami, tabelami (zob. Tabele, rysunki, fotografie).

Prace nie odpowiadające wyżej wymienionym wymaganiom nie będą przyjmowane do druku. Redakcja zastrzega sobie prawo dokonywania poprawek stylistycznych i skrótów. Autorzy są zobowiązani do wykonania korekty artykułu i jego zwrotu do Redakcji w ciągu kilku dni od otrzymania.

Na etapie przygotowania szczytki, w przypadku przesyłania prac z kolorowymi stronami prosimy o zaznaczenie stron, które w formie druku mają być kolorowe. Brak tej czynności będzie skutkował **czarno-białym wydrukiem wersji papierowej**. W przypadku zmian w wersji drukowanej kolorowych rysunków na czarno-białe, prosimy o przesłanie dostosowanych do tego celu rysunków.

Prace prosimy przysłać pocztą elektroniczną na adres: czasopisma@ptchem.pl, zaś dokumenty wymagające podpisów autorów (np. list intencyjny, oświadczenia autorów, kopie zgody na przedruk potwierdzone za zgodność z oryginałem) pocztą tradycyjną na adres Redakcji.

Redakcja „Wiadomości Chemicznych”

SPIS TREŚCI

Elżbieta WOJACZYŃSKA, Paweł KAFARSKI: Profesor Roman Tyka (1924 - 2020) – Wspomnienie	697
Kamil WAWROWICZ, Aleksander BILEWICZ: Radiobiokoniugaty znakowane emiterami elektronów Augera w celowanej terapii radionuklidowej	699
Aleksandra PIENIĘŻNA, Aleksandra KOTYNIA: Kompleksy peptydów z jonami Cu ²⁺ jako mimetyki dysmutazy ponadtlenkowej	735
Tetiana STARODUB, Volodymyr STARODUB: Sole anionorodnikowe TCNQ z kationami kompleksowymi metali przejściowych	761
Marta PAWLAK, Joanna DRZEŹDŻON, Dagmara JACEWICZ: Zastosowanie związków kompleksowych platyny, palladu i kobaltu w medycynie – część I	797
Marta PAWLAK, Joanna DRZEŹDŻON, Dagmara JACEWICZ: Zastosowanie związków kompleksowych rutenu, złota, wanadu, chromu, bizmutu, technetu w medycynie – część II	823
Daniel BARANOWSKI: Sondy fluorescencyjne typu „light up” do detekcji i bioobrazowania G-kwadruleksów in vitro i in vivo (część 1 i 2)	853
Informacje	903