

Autoreferat

1. Imię i Nazwisko

Agnieszka Wojtkielewicz

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/artystyczne – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej

Stopień doktora w dziedzinie nauk chemicznych, Instytut Chemii, Uniwersytet w Białymstoku; 2002, (praca doktorska pt. „Synteza nowych cytostatyków pochodzenia naturalnego - saponiny OSW-1 i jej pochodnych oraz prostych analogów cefalostatyn”, promotor: prof. dr hab. Jacek W. Morzycki);

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/artystycznych

Instytut Chemii, Uniwersytet w Białymstoku:

2007 - nadal: adiunkt (Zakład Chemii Produktów Naturalnych);

1997-2006: asystent (Zakład Chemii Produktów Naturalnych);

4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.):

a) tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego,

Zastosowanie reakcji metatezy w syntezie polienów

b) (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa),

H1. J. W. Morzycki, A. Wojtkielewicz, Application of ring closing metathesis to the synthesis of 19-functionalized derivatives of 1α -hydroxyvitamin D₃, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 839-842;

H2. A. Wojtkielewicz, J. W. Morzycki, Synthesis of γ - and δ -lactones from 1α -hydroxy-5,6-*trans*-vitamin D₃ by RCM route and their reduction with metal hydrides, *Steroids* **2007**, *72*, 552-558;

H3. I. Jermacz, J. Maj, J. W. Morzycki, A. Wojtkielewicz, GC-MS analysis of β -carotene ethenolysis products and their synthesis as potentially active vitamin A analogues, *Toxicol. Mech. Meth.* **2008**, *18*, 469-471;

H4. J. W. Morzycki, A. Wojtkielewicz, J. Maj, Patent P385225 (2008.05.19), Sposób otrzymywania estrów kwasów retinowego, β -13-apokarotenowego i β -12'-apokarotenowego z β -karotenu;

H5. A. Wojtkielewicz, J. Maj, J. W. Morzycki, Cross metathesis of β -carotene with electron-deficient dienes. A direct route to retinoids, *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 4734-4737;

- H6. A. Wojtkielewicz, J. Maj, A. Dzieszowska, J. W. Morzycki, Cross metathesis approach to retinoids and other β -apocarotenoids, *Tetrahedron* **2011**, 67, 6868-6875;
- H7. J. Maj, J. W. Morzycki, L. Rárová, G. Wasilewski, A. Wojtkielewicz, A cross-metathesis approach to the synthesis of new etretinate type retinoids, ethyl retinoate and its 9Z-isomer, *Tetrahedron Lett.* **2012**, 53, 5430-5433;
- H8. A. Wojtkielewicz, Application of cross metathesis in the diene and polyene synthesis, *Curr. Org. Synth.* **2013**, 10, 43-66.

c) omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

Zastosowanie reakcji metatezy w syntezie polienów

Wstęp

Polieny zawierające sprzężone wiązania podwójne stanowią dużą klasę naturalnych i syntetycznych związków o zróżnicowanej budowie.¹ Przedstawicielami tej grupy są między innymi: eikozanoidy² (leukotrieny i lipoksyny - pochodne kwasu arachidonowego), makrolidy³ (np. amfoterycyna B - antybiotyk przeciwgrzybiczy), retinoidy⁴ (np. witamina A, retinal), czy karotenoidy⁵ (np. β -karoten - prowitamina A). Związki polienowe, dzięki swoim niezwykłym właściwościom biologicznym, działaniu przeciwutleniającemu oraz przemianom fotochemicznym i elektrochemicznym, znalazły zastosowanie w medycynie, kosmetyce, przemyśle spożywczym, a także elektronice i optyce. Sprzężone polieny są trudnym celem syntetycznym. Ich otrzymywanie wiąże się z wieloma problemami, wynikającymi przede wszystkim ze ściśle określonej stereochemii cząsteczki, skłonności do izomeryzacji i stosunkowo małej trwałości, szczególnie w obecności takich czynników jak światło, podwyższona temperatura, tlen, czy niektóre odczynniki chemiczne (np. kwasy Lewisa). Strategie opracowane do konstrukcji polienowego łańcucha wykorzystują tradycyjne metody kondensacji (reakcję Wittiga, Wittiga-Hornera, sprzęganie z odczynnikiem Grignarda, kondensację aldolową, olefinację Julia itp.) lub nowoczesne reakcje katalizowane metalami przejściowymi, głównie palladem.^{1,6} Obecnie arsenał dostępnych metod tworzenia wiązań nienasyconych węgiel-węgiel powiększył się o reakcję metatezy⁷.

Reakcja ta poznana już w latach 60-tych XX wieku, dopiero na początku lat 90-tych, po odkryciu dobrze zdefiniowanych katalizatorów, będących karbenowymi kompleksami molibdenu i rutenu, została doceniona jako potencjalne narzędzie do tworzenia wiązań węgiel-węgiel w syntezie organicznej. Od tego momentu zaczął się okres zintensyfikowanych badań nad reakcją metatezy i jej wykorzystaniem w syntezie organicznej. Zaowocowało to w pierwszej kolejności opracowaniem

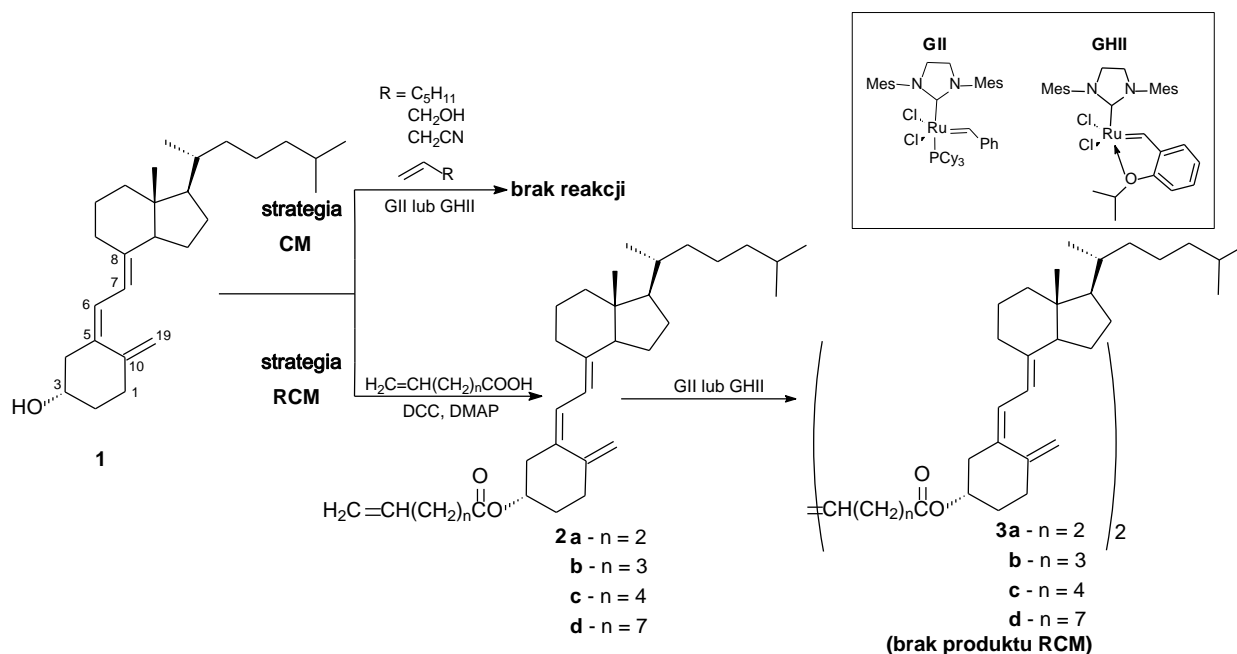
stosunkowo trwałych i tolerujących różne grupy funkcyjne katalizatorów, będących przede wszystkim kompleksami rutenu, które pozwoliły na wydajne i selektywne przeprowadzenie reakcji w łagodnych warunkach.⁸ Wiele z nich jest obecnie dostępnych handlowo. Najwięcej zastosowań znalazły kompleksy rutenowe Grubbsa i Grubbsa-Hoveydy pierwszej i drugiej generacji. Tworzenie wiązań C=C w reakcjach metatezy w obecności tych katalizatorów odbywa się w niskiej temperaturze, w stosunkowo krótkim czasie, w obecności 0.1-25 mol% promotora. Wymienione zalety metatezy sprawiają, że reakcja ta z powodzeniem została zastosowana w syntezie związków niskocząsteczkowych, produktów naturalnych i biologicznie czynnych oraz makrocząsteczek.⁹ Jej wykorzystanie pozwoliło na znaczne uproszczenie i skrócenie syntez wielu związków chemicznych, które do tej pory otrzymywane były na drodze żmudnych i wieloetapowych przekształceń^{1,10}.

W chwili rozpoczęcia przeze mnie badań opisanych w poniższej pracy, reakcja metatezy alkenów była dogłębnie poznana, zbadano jej potencjał i ograniczenia jako metody syntezy olefin. Natomiast stosunkowo mało zbadaną pozostawała metateza sprzężonych układów polienowych, która jest trudniejszą reakcją niż metateza alkenów. W przypadku substratów polienowych pojawia się problem nie tylko diasteroselektywności i konkurencyjnej homometatezy substratów jak w reakcjach alkenów, ale dodatkowo regioselektywności (w związku z obecnością wielu wiązań podwójnych w substratach) i możliwych następczych reakcji metatezy otrzymanych produktów. Fascynującym i pionierskim w tamtej chwili zadaniem było poznanie możliwości i ograniczeń reakcji metatezy między alkenami i polienami oraz dienami i polienami. Jednocześnie, znalezienie rozwiązania, przynajmniej części, tych trudności uczyniłoby metatezę alternatywną i wygodną metodą w syntezie polienów. Ze względu na duże znaczenie praktyczne polienów, zbadanie reakcji metatezy tych związków wydawało się potrzebne i celowe. W związku z przedstawionymi powyżej faktami, za cel badań, będących przedmiotem mojej pracy habilitacyjnej, postawiłam sprawdzenie możliwości zastosowania reakcji metatezy do syntezy układów polienowych. Jako związki modelowe wybrałam polieny wykazujące duże znaczenie biologiczne: pochodne witaminy D, zawierające układ trzech sprzężonych wiązań podwójnych oraz retinoidy i apokarotenoidy. Badania te zostały przeprowadzone w Zakładzie Chemii Produktów Naturalnych Uniwersytetu w Białymstoku w zespole prof. dr hab. Jacka W. Morzyckiego, któremu chciałabym podziękować za pomoc i wsparcie w trakcie przygotowywania niniejszej rozprawy.

Zastosowanie reakcji metatezy w syntezie 19-sfunkcjonalizowanych pochodnych witaminy D₃ [H1, H2]

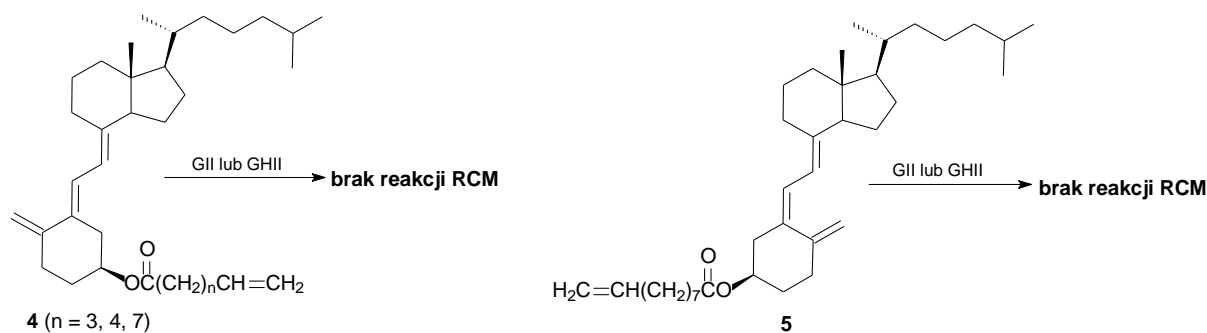
Witamina D₃, tradycyjnie zaliczana do grupy witamin, pełni rolę prohormonu. Jej aktywny metabolit, 1 α ,25-dihydroksywitamina D₃ (kalcytriol), poza podstawową funkcją w utrzymaniu homeostazy wapniowo-fosforanowej, kontroluje także procesy podziału i różnicowania się komórek, bierze udział w procesach immunologicznych i wpływa na inne układy hormonalne.¹¹ Ta wielokierunkowa aktywność biologiczna sprawiła, że kalcytriol i jego analogi zostały z powodzeniem zastosowane w leczeniu chorób kości, skóry, układu immunologicznego,¹² a także niektórych typów nowotworów.¹³ Jednak, to szerokie spektrum działania powoduje skutki uboczne stosowanych terapii.¹⁴ W związku z tym od lat trwają poszukiwania pochodnych witaminy D₃ o selektywnym działaniu. Podejmowane są badania w kierunku syntezy analogów posiadających aktywność przeciwnowotworową, a pozbawionych kalcemicznej (ze względu na możliwość występowania hiperkalcemii we krwi i zwapnienia tkanek) oraz związków wykazujących zwiększone działanie kalcemiczne. Przez ostatnie 20 lat opracowano metody syntezy i przetestowano pod względem biologicznej aktywności szereg analogów witaminy D₃ posiadających modyfikacje w pierścieniach A, C i D oraz w łańcuchu bocznym.¹⁵ Tylko nieliczne prace dotyczą syntezy 19-sfunkcjonalizowanych pochodnych witaminy D₃.¹⁶ Przyczyną tego, między innymi, są trudności w otrzymaniu tego typu związków. Jedynie niektóre reakcje zostały z powodzeniem przeprowadzone na układzie trienowym. Nowych możliwości dostarcza teraz metateza, przebiegająca w stosunkowo łagodnych warunkach, co jest istotne przy syntezie nietrwałych produktów. Można przypuszczać, że z obecnych w cząsteczce witaminy D₃ trzech sprzężonych wiązań podwójnych, egzometylenowe wiązanie C10-C19 powinno wykazywać największą reaktywność. Przy założeniu takiej regioselektywności, teoretycznie, można otrzymać 19-sfunkcjonalizowane pochodne bezpośrednio z witaminy D₃ w reakcji metatezy krzyżowej (CM) z odpowiednim alkenem. W celu sprawdzenia tej taktyki syntetycznej poddałam witaminę D₃ (**1**) reakcji sprzęgania z różnymi alkenami (hept-1-enem, prop-2-enolem, but-3-enonitrylem) w obecności rutenowych katalizatorów drugiej generacji: Grubbsa (GII) i Grubbsa-Hoveydy (GHII). Pomimo optymalizacji warunków (t.p. - 80°C, chlorek metylenu lub toluen, 10 - 30 mol% katalizatora) nie zaobserwowałam tworzenia się produktu metatezy, odzyskując nieprzereagowany substrat (Schemat 1).[H1] W związku z tym niepowodzeniem zmieniłam strategię i w następnych eksperymentach zastosowałam wewnątrzcząsteczkowy wariant reakcji. Metateza z zamknięciem pierścienia (RCM), w której dodatkową siłą napędową jest wzrost entropii, często zachodzi łatwiej niż reakcja CM. W literaturze można znaleźć liczne przykłady

zastosowania RCM do syntezy pierścieni o różnej wielkości, także średnich i dużych.¹⁷ Zgodnie z planem syntetycznym, w pierwszym etapie otrzymałam w reakcji estryfikacji w obecności DCC i DMAP serię ω -alkenianów witaminy D₃ (**2a** – **2d**) o różnej długości łańcucha. Estry te poddałam reakcji cyklizacji w obecności katalizatora Grubbsa (GII) lub Grubbsa-Hoveydy (GHII) drugiej generacji (Schemat 1).

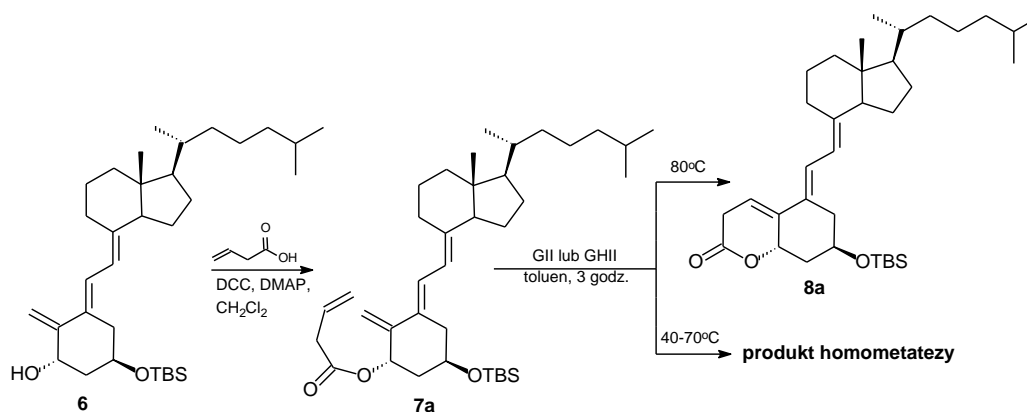


Schemat 1. Nieudane próby wykorzystania reakcji CM i RCM do syntezy 19-sfunkcjonalizowanych pochodnych witaminy D₃

Produktami we wszystkich przypadkach okazały się dimery **3**, powstające w wyniku homometatezy. Zmiana warunków: wyższa temperatura, większe rozcieńczenie, powolne dodawanie roztworu substratu nie przyniosło zmiany rezultatu. Przypuszczając, że jedną z przyczyn niepowodzenia cyklizacji może być zatłoczenie steryczne wokół wiązania C10-C19 spowodowane obecnością pierścieni C i D, w następnych eksperymentach reakcji RCM poddałam ω -alkeniany 5,6-*trans*-witaminy D₃ (**4**) i dec-9-enian witaminy D₃ (**5**) ze zmienioną konfiguracją na atomie węgla C3. Także i w przypadku tych substratów nie obserwowałam cyklizacji, a jedynie homometatezę (Schemat 2). Modelowanie molekularne pokazuje, że metatetyczna cyklizacja ω -alkenianów witaminy D₃ wymaga zmiany konformacji pierścienia A z uprzywilejowanej krzesłowej na niekorzystną łódkową, co mogło przesądzić o braku przebiegu reakcji.

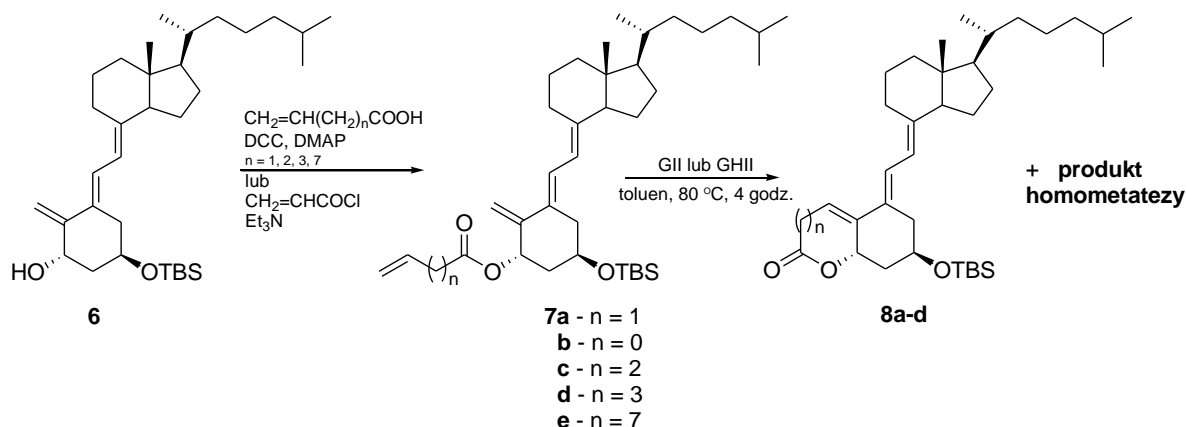
Schemat 2. Próby RCM ω-alkenianów 5,6-*trans*-witamiны D₃ (**4**) i dec-9-enianu 3-epi-witamiны D₃ (**5**)

Powszechnie wiadomo, że tworzenie pierścieni 5- i 6-członowych jest dużo łatwiejsze, niż pierścieni o innych rozmiarach, dlatego w dalszych badaniach jako substratu do cyklizacji wybrałam pochodną 1α-hydroksywitamiны D₃: 1α-(but-3-enoiloksy)-3-TBS-5,6-*trans*-witaminę D₃ (**7a**), której reakcja RCM teoretycznie pozwala na zamknięcie sześcioczłonowego pierścienia. W przypadku tego substratu żądany cykliczny produkt (**8a**) otrzymałam z 70% wydajnością w obecności katalizatora Grubbsa-Hoveydy (GHII) w toluenie w temperaturze 80°C (Schemat 3).

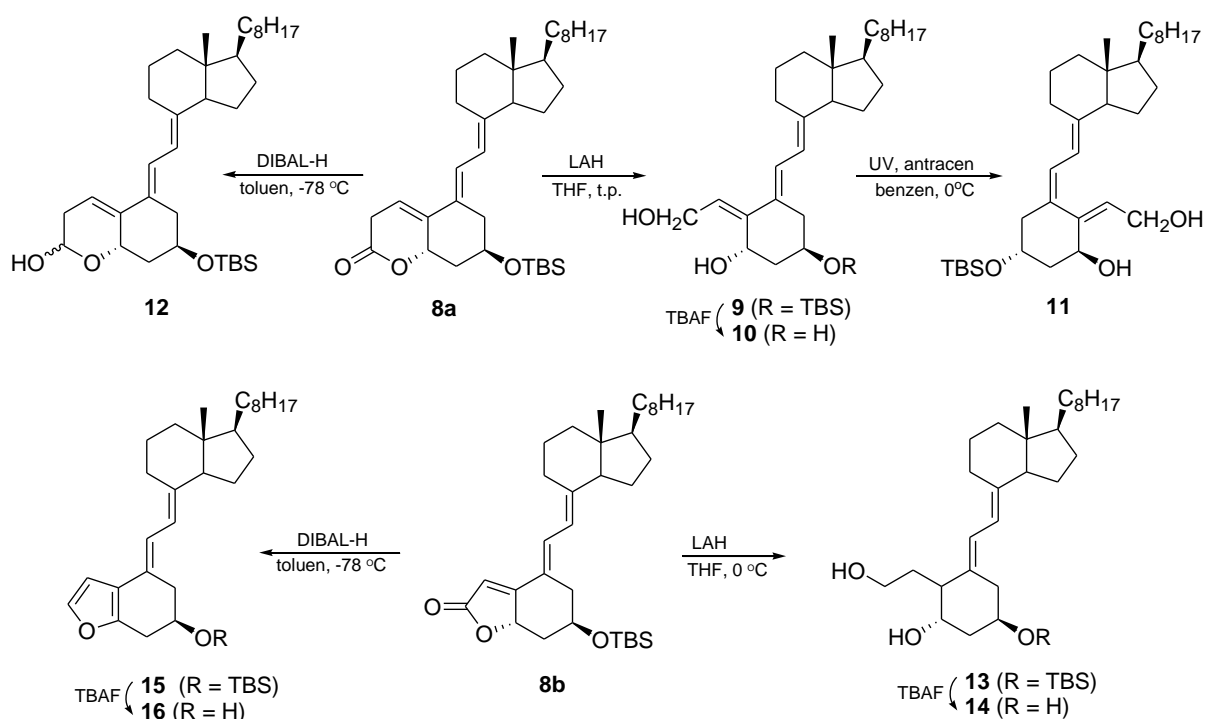
Schemat 3. Reakcja RCM 1α-(but-3-enoiloksy)-3-TBS-5,6-*trans*-witamiны D₃

Badania, mające na celu optymalizację warunków, ujawniły kluczowy wpływ temperatury na przebieg reakcji. W temperaturze 40 – 70°C, jako główny produkt, powstawał dimer. Taki efekt nie był wcześniej obserwowany przez brytyjskich naukowców dla reakcji fosfonowych i sililowych pochodnych 1α-hydroksywitamiны D₂.^{16f} W dalszych badaniach sprawdziłam możliwość rozszerzenia opisanej procedury o inne 1α-(ω-alkenoiloksy)-analogi witamiны D₃. [H2] W tym celu otrzymałam szereg nienasyconych estrów **7b** - **7e** zawierających w łańcuchu od 3 do 10 atomów węgla, które poddałam reakcji RCM w zoptymalizowanych warunkach [H1]. Z dobrą wydajnością tworzyły się tylko δ- i γ-laktony **8a** i **8b**, większe pierścienie powstawały w niezadowalającej ilości (<5%, związki **7c,d**) albo nie tworzyły się wcale, jak w przypadku związku **7e** (Schemat 4). Otrzymane γ- i δ-laktony poddałam redukcji wodorkami metali (LAH, DIBAL) w celu uzyskania różnych 19-sfunkcjona-

lizowanych pochodnych (**9**, **12**, **13**, **15**; Schemat 5).[H2] Alkohol **9**, poddałam izomeryzacji w celu otrzymania żądanej 1α -hydroksy-19-hydroksyetylo-3-TBS-witaminy D_3 (**11**, Schemat 5).[H1]



Schemat 4. RCM 1α -(ω -alkenoiloksy)-analogów witaminy D_3



Schemat 5. Reakcja redukcji γ - i δ -laktonów. Synteza 19-sfunkcjonalizowanych pochodnych 1α -hydroksy-5,6-*trans*-witaminy D_3 i 1α -hydroksywitaminy D_3

Przedstawione badania[H1 i H2] wykazały, że reakcja metatezy pochodnych witaminy D_3 zachodzi selektywnie tylko na wiązaniu egzometylenowym C10-C19. Jednak jego reaktywność jest na tyle mała, że ani witamina D_3 , ani jej *trans* izomer nie ulegają metatezie krzyżowej (CM) z alkenami. Najprawdopodobniej obserwowana niska reaktywność wiązania C10-C19 spowodowana jest sprzężeniem z innymi wiązaniami podwójnymi obecnymi w cząsteczce oraz zatłoczeniem

sterycznym wynikającym z ułożenia pierścieni C i D. Te same przyczyny oraz wymagana zmiana konformacji pierścienia A na mniej korzystną (według modelowania molekularnego przy wykorzystaniu pola siłowego MM^+) uniemożliwiają metatetyczne zamknięcie pierścienia w ω -alkenianach witaminy D₃ i *trans*-witaminy D₃. Natomiast reakcja RCM z dobrą wydajnością zachodzi dla pochodnych 1 α -hydroksywitaminy D₃: 1 α -(but-3-enoiloksy)-3-TBS-5,6-*trans*-witaminy D₃ i 1 α -(prop-2-enoiloksy)-3-TBS-5,6-*trans*-witaminy D₃, w wyniku której powstają odpowiednie δ - i γ -laktony. W oparciu o rezultaty tych ostatnich badań opracowałam nową strategię otrzymywania 19-sfunkcjonalizowanych pochodnych 1 α -hydroksywitaminy D₃ wykorzystującą jako kluczowy etap reakcje RCM. W procedurze tej żądany produkt otrzymywany jest w wyniku metatetycznej cyklizacji, a następnie redukcji i fotochemicznej izomeryzacji wiązania C5-C6 do *cis* konfiguracji, takiej jak w naturalnej witaminie D₃.

Zastosowanie reakcji metatezy w syntezie retinoidów i innych apokarotenoidów [H3-H8]

Uzasadnione wydawało się sprawdzenie przydatności reakcji metatezy do otrzymywania karotenoidów i retinoidów, związków wyjątkowo trudnych do syntezy ze względu na ściśle określoną stereochemię cząsteczki i ograniczoną trwałość, a jednocześnie mających ogromne znaczenie biologiczne.

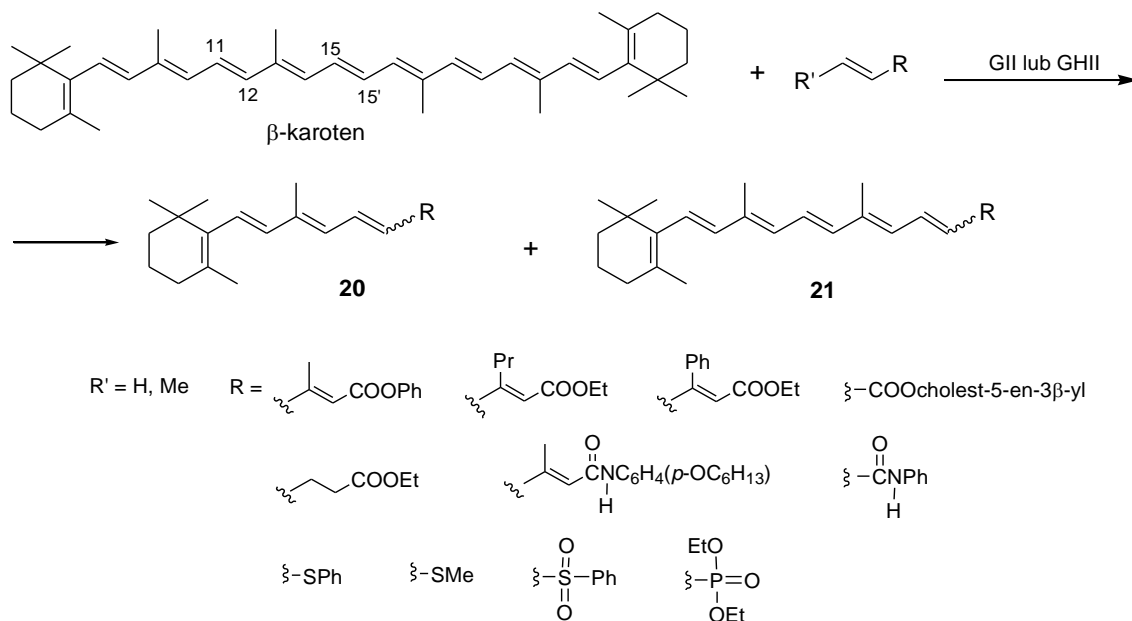
Retinoidy są grupą naturalnych i syntetycznych analogów witaminy A. Wykazują one bardzo szerokie spektrum aktywności biologicznej. Witamina A (retinol) pobudza wzrost tkanki nabłonkowej i łącznej oraz aktywuje proliferację komórek; retinal wchodzi w skład rodopsyny i odgrywa zasadniczą rolę w procesie widzenia; kwas retinowy i kwas 9-*cis*-retinowy kontrolują ekspresję genów poprzez łączenie się z odpowiednimi receptorami (RAR, RXR), w wyniku czego wpływają na różnicowanie się i wzrost komórek.¹⁸ Poza pełnieniem ważnej roli w funkcjonowaniu normalnych komórek, kwas retinowy i jego pochodne (np. *N*-(4-hydroksyfenylo)retinamid, nazwa handlowa - fenretinide) wykazują właściwości przeciwnowotworowe.¹⁹ Ze względu na swoją wysoką aktywność biologiczną retinoidy znalazły zastosowanie w medycynie (szczególnie w leczeniu chorób skóry), w kosmetyce, w przemyśle spożywczym; fenretinide jest obecnie w ostatniej fazie badań klinicznych w chemioterapii raka pęcherza, nerek i neuroblastomy.^{19d-h} Również karotenoidy i apokarotenoidy (będące produktami oksydacyjnego rozkładu karotenoidów) pełnią ważną rolę biologiczną w organizmach ludzi, zwierząt i roślin.²⁰ Są stosowane jako suplement diety oraz jako barwniki w przemyśle spożywczym i kosmetycznym. Karotenoidy stanowią bezpieczne źródło witaminy A oraz odgrywają istotną funkcję w procesie fotosyntezy u roślin.

Do tej pory opisano wiele metod otrzymywania karotenoidów i retinoidów, a w szczególności retinolu i różnych izomerów kwasu retinowego oraz β -karotenu. W syntezie retinoidów stosowano między innymi: kondensację aldolową, reakcję Wittiga lub Wittiga-Hornera, reakcje z odczynnikami Grignarda, reakcję Julia, reakcję Reformackiego, reakcję Suzuki, reakcję Stille czy reakcję Petersona.²¹ Opisane syntezы są na ogół wieloetapowe i pracochłonne. W niektórych z tych metod produkt końcowy otrzymywany jest w postaci mieszaniny izomerów geometrycznych, które muszą zostać rozdzielone lub są poddawane kontrolowanej izomeryzacji. Ze względu na przedstawione duże znaczenie biologiczne retinoidów i karotenoidów ciągle aktualne jest poszukiwanie nowych efektywniejszych dróg syntezy tego rodzaju związków. Metateza olefin, ze względu na wcześniej wspomniane łagodne warunki reakcji, wydaje się być idealną metodą do syntezy takich nietrwałych związków, jak retinoidy i karotenoidy. W momencie rozpoczęcia badań w tej tematyce nie znalazłam żadnych doniesień literaturowych o syntezie polienowych układów sprzężonych za pomocą metatezy krzyżowej (CM). Opublikowano jedynie przykłady reakcji CM sprzężonych dienów.²² Swoje badania podzieliłam na dwie części. W pierwszej kolejności zaplanowałam sprawdzenie możliwości zastosowania reakcji CM do otrzymywania retinoidów i innych apokarotenoidów na drodze degradacji substratów zawierających długie łańcuchy polienowe (karotenów, ksantofili, retinoidów). Dalsza część badań miała na celu konstrukcję łańcucha polienowego retinoidów przy użyciu CM z łatwo dostępnych olefinowych pochodnych β -jononu (w przypadku syntezy naturalnych retinoidów) lub styrenu czy aldehydu cynamonowego (w przypadku syntezy aromatycznych retinoidów II generacji).

Metatetyczna degradacja karotenoidów i retinoidów

W trakcie wykonywania pracy habilitacyjnej zbadałam reakcje CM wybranych karotenoidów: β -karotenu i kantaksantyny oraz retinoidu - octanu retinyli z różnymi olefinami. Teoretycznie, metatetyczne cięcie symetrycznego β -karotenu, posiadającego jedenaście wiązań podwójnych, może prowadzić do powstania złożonej mieszaniny produktów. Do tej pory regioselektywna degradacja β -karotenu była możliwa do przeprowadzenia jedynie enzymatycznie²³ bądź za pomocą porfiryнового kompleksu rutenu w obecności TBHP, imitującego działania naturalnych enzymów.²⁴ Wstępne rozpoznanie reaktywności β -karotenu w reakcji metatezy krzyżowej wykonałam na przykładzie etenolizy β -karotenu.

Zgodnie z przewidywaniami, głównymi produktami tej reakcji okazały się być retinian etylu (**18**), powstający w wyniku cięcia wiązania C11-C12 w β -karotenie i C4-C5 w estrze i β -12'-apokarotenian etylu (**19**), powstający w wyniku cięcia wiązania C15-C15' β -karotenu i C4-C5 w estrze (Schemat 7). (2*E*,4*E*/*Z*)-3-Metyloheksa-2,4-dienian (**17**) wykazywał korzystną regioselektywność metatetycznego cięcia wiązania C4-C5. Najprawdopodobniej zawada przestrzenna spowodowana obecnością grupy metylowej przy C3 w tym związku dezaktywowała wiązanie podwójne C2-C3 na atak katalizatora.^{22a-c} Badania wykazały, że poprzez odpowiedni dobór warunków można kontrolować przebieg reakcji. Na przykład wydłużenie czasu reakcji powoduje powstanie w przewadze produktu cięcia wiązania C11-C12 w cząsteczce β -karotenu w wyniku następczej CM pierwotnych produktów o dłuższym łańcuchu. Podobnie wpływa na przebieg reakcji wzrost stężenia substratów. Po zoptymalizowaniu warunków reakcji CM, retinian **18** udało się otrzymać z wydajnością 31%. Zaletą tej metody jest to, że reakcje zachodzą stereoselektywnie z utworzeniem produktów o konfiguracji *E* (all-*trans*). W celu sprawdzenia, czy przedstawiona strategia syntetyczna może znaleźć zastosowanie również do syntezy innych pochodnych kwasu retinowego, przeprowadziłam reakcje CM β -karotenu z innymi sfunkcjonalizowanymi alkenami i dienami.[H6] Wyniki tych badań przedstawiłam na Schemacie 8 i w Tabeli 1. Partnerów olefinowych do sprzęgania wybrałam spośród różnych klas związków o odmiennych właściwościach elektronowych i sterycznych.

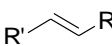
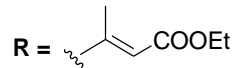
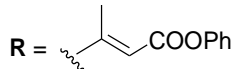
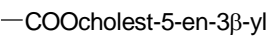
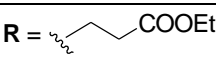
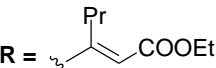
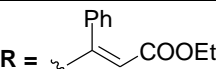
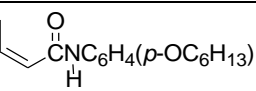
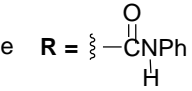


Schemat 8. Reakcja CM β -karotenu z wybranymi alkenami i dienami

Poszukując optymalnych warunków reakcji przetestowałam handlowo dostępne rutenowe katalizatory drugiej generacji, różne stężenia i stosunek substratów, rozpuszczalniki (benzen, toluen, chlorek metylenu, chlorek metylenu/metanol), temperaturę (t.p., 40 °C, 60 °C) oraz czas reakcji (20

min. – 120 godz.).[H6] We wszystkich eksperymentach zaobserwowałam podobną regioselektywność metatetycznego cięcia w cząsteczce β -karotenu, jak w reakcji z (2*E*,4*Z*/*E*)-3-metyloheksa-2,4-dienianem etylu (**17**). Reakcje zachodziły preferencyjnie na dwóch wiązaniach: C15-C15' oraz C11-C12 polienu.

Tabela 1. Reakcje CM β -karotenu z wybranymi alkenami i dienami

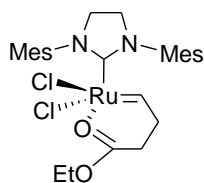
	Olefina 	Warunki reakcji ^a	Wydajność ^b (<i>E</i> : <i>Z</i>) ^c	
			Produkt 20	Produkt 21
1	R' = Me R = 	GHII, 4 eq olefiny, toluen, 24 godz.	9% (30:1)	38% (23:1)
2		GHII, 4 eq olefiny, toluen, 96 godz.	31% (9:1)	15% (>15:1)
3	R' = Me R = 	GHII, 4 eq olefiny, toluen, 24 godz.	6% (20:1)	50% (100:1)
4		GHII, 4 eq olefiny, toluen, 96 godz.	13% (30:1)	57% (60:1)
5		GII, 4 eq olefiny, toluen, 96 godz.	4% (30:1)	23% (100:1)
6	R' = Me R = 	GHII, 4 eq olefiny, toluen, 24 godz.	9% (6:1)	30% (10:1)
7		GHII, 4 eq olefiny, toluen, 96 godz.	12% (5:1)	8% (8:1)
8	R' = H R = 	GHII, 3 eq olefiny, toluen, 96 godz.	20% (1.5:1)	6% (5:1)
9	R' = H R = 	Różne warunki	<1%	<1%
10	R' = H R = 	Różne warunki	<1%	<1%
11	R' = Me R = 	GHII, 2 eq olefiny, CH ₂ Cl ₂ , 96 godz.	22% (>80:1)	32% (20:1)
12	R' = Me R = 	GHII, 1.1 eq olefiny, toluen/CH ₂ Cl ₂ , 72 godz.	19% (3:1)	21% ^d (3:1)

^a Wszystkie reakcje były prowadzone w obecności 15 mol% katalizatora w t.p. ^b Ze względu na symetryczną budowę β -karotenu wydajność obliczono zakładając że z 1 mola β -karotenu powstają teoretycznie 2 mole produktu CM. ^c Stosunek *E*/*Z* izomerów ustalano za pomocą analizy ¹H NMR lub HPLC.

Otrzymane rezultaty potwierdzają także, że odpowiedni dobór warunków pozwala do pewnego stopnia kontrolować regioselektywność reakcji. Mniejsza ilość katalizatora, większe rozcieńczenie oraz krótszy czas reakcji sprzyjają powstawaniu w przewodzie apokarotenoidu **21**, produktu rozerwania centralnego wiązania podwójnego w cząsteczce β -karotenu. Natomiast wydłużenie

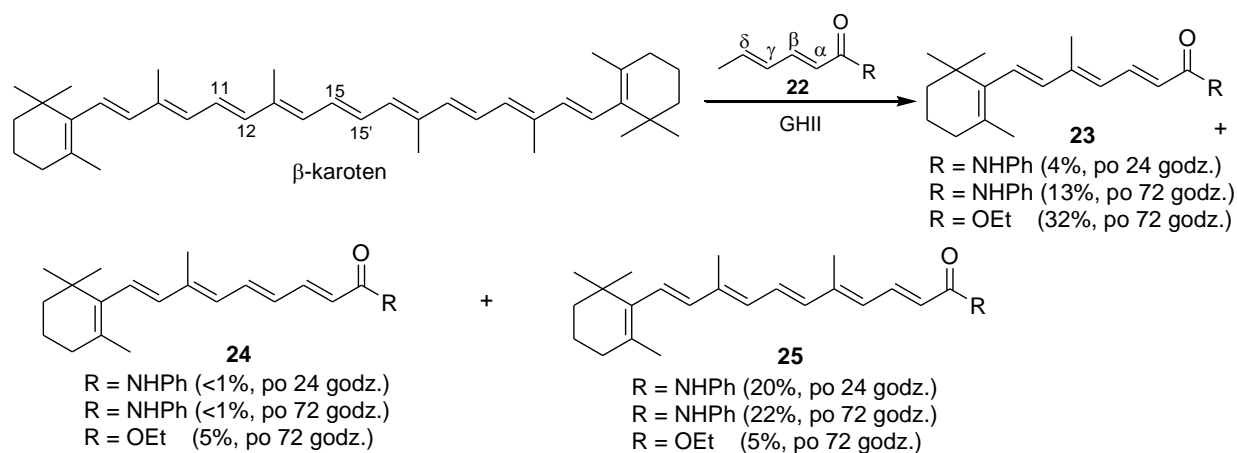
czasu reakcji oraz wzrost stężenia substratów powoduje powstanie w przewodzie produktu cięcia wiązania C11-C12 w cząsteczce β -karotenu (**20**) w wyniku następczych reakcji CM pierwotnych produktów o dłuższym łańcuchu. W większości przypadków pożądane produkty w zoptymalizowanych warunkach uzyskano z umiarkowaną wydajnością i dużą stereoselektywnością. We wszystkich reakcjach w przewodzie tworzył się izomer all-*E* produktu (>90%). Katalizator Grubbsa drugiej generacji (GII) okazał się mniej aktywny niż kompleks Grubbsa-Hoveydy (GHII).

Reakcje CM β -karotenu z pochodnymi (estrowymi lub amidowymi) kwasu (2*E*,4*E*/*Z*)-3-metyloheksa-2,4-dienowego zachodziły z wyższą konwersją i lepszą stereoselektywnością (Tabela 1, pozycja 1-5 i 11) niż z mononienasyconymi partnerami (np. pent-4-enianem etylu, krotonianem cholesterylu, *N*-fenylokrotonamidem; Tabela 1, pozycje 6-8 i 12). Prawdopodobną przyczyną mniejszej aktywności pent-4-enianu etylu i pochodnych kwasu krotonowego jest tworzenie się w reakcji z katalizatorem nowego alkilidenu kompleksu, w którym atom tlenu z grupy karbonylowej wiąże się z rutenem, zmniejszając reaktywność powstającego katalizatora (Rysunek 1). Tworzenie analogicznego sześcioczłonowego chelatu podczas reakcji metatezy krzyżowej γ,δ -nienasyconych nityli w obecności katalizatora Grubbsa drugiej generacji postulował Grubbs.^{26a} Także Taylor i współpracownicy wysunęli hipotezę powstawania cyklicznego, pięcioczłonowego kompleksu rutenu w reakcji homoallilowego alkoholu z katalizatorem Grubbsa.^{26b}



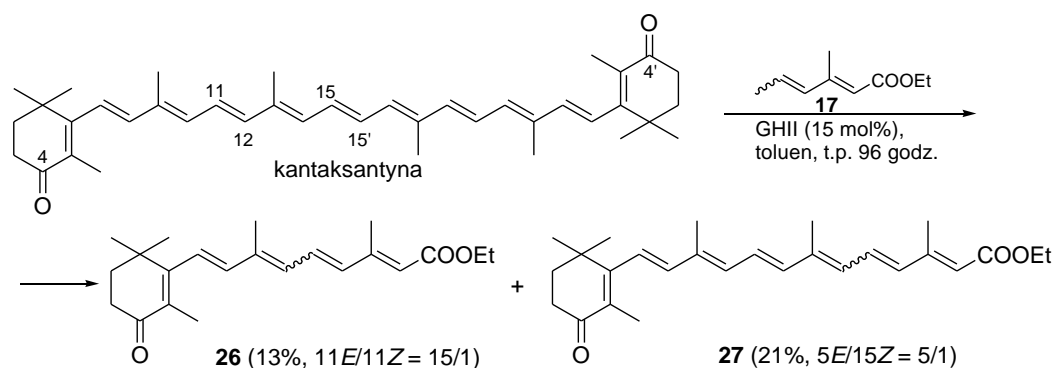
Rysunek 1

Zastąpienie grupy 3-metylowej w pochodnych kwasu (2*E*)-3-metylopenta-2,4-dienowego większym podstawnikiem, propylowym lub fenylowym, skutkowało drastycznym zmniejszeniem reaktywności tych olefin w reakcji CM z β -karotenu (Tabela 1, pozycja 9 i 10). Pomimo prób optymalizacji warunków reakcji, uzyskano tylko śladowe (<1%) ilości oczekiwanych produktów. Natomiast usunięcie grupy metylowej prowadziło do zmiany regioselektywności reakcji metatezy. W reakcji β -karotenu z pochodnymi estrowymi bądź amidowymi kwasu sorbowego [(2*E*,4*E*)-heksa-2,4-dienowego] (**22**), które pozbawione są tej zawady przestrzennej, w przewodzie tworzyły się produkty metatezy **23** i **25**, powstające na skutek rozerwania podwójnego wiązania, nie γ,δ jak w przypadku pochodnych kwasu 3-metylosorbowego, ale wiązania α,β w tym związku (Schemat 9).[H5]

Schemat 9. Reakcja CM β -karotenu z pochodnymi kwasu sorbowego

Mając na względzie syntezę analogów fenretinidu (*N*-(4-hydroksyfenylo)retinamidu), związku wykazującego silne działanie przeciwnowotworowe, zbadalam także reakcje CM β -karotenu z nienasyconymi amidami (*N*-fenylokrotonamidem, *N*-fenylosorbamidem, (*2E,4Z/E*)-*N*-(4-heksyloksyfenylo)-3-metyloheksa-2,4-dienoamidem; Tabela 1, pozycje 11 i 12 oraz Schemat 8 i 9) uzyskując pożądaną związki w jednoetapowej syntezie. Jednakże reakcje z amidami zachodziły z niższą wydajnością w porównaniu z analogicznymi reakcjami CM pochodnych estrowych.[H6]

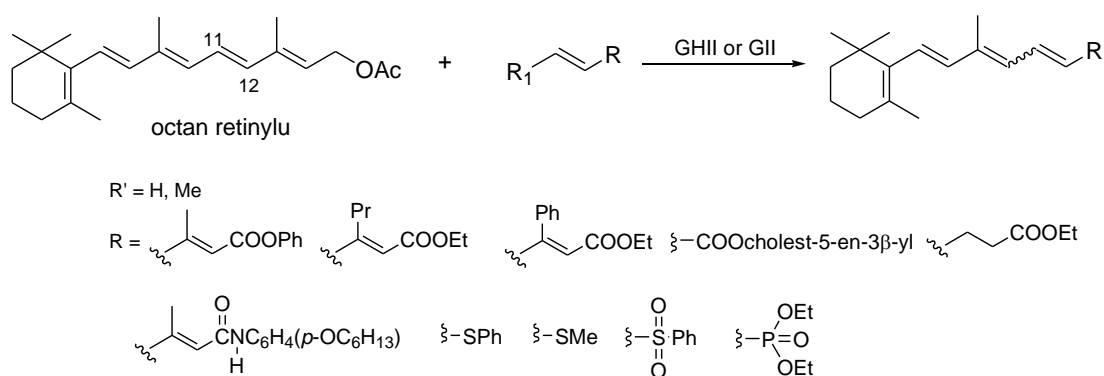
Następnie sprawdziłam, czy zaobserwowana regioselektywność reakcji metatezy β -karotenu może posłużyć do przewidywania przebiegu reakcji CM innych karotenoidów. W tym celu przeprowadziłam reakcje metatezy kantaksantyny, naturalnego ksantofilu występującego między innymi w piórach flamingów, z wybranymi olefinami: (*2E,4E/Z*)-3-metyloheksa-2,4-dienianem etylu i (*2E,4E/Z*)-*N*-(4-heksyloksyfenylo)-3-metyloheksa-2,4-dienoamidem.[H6] Kantaksantyna jest analogiem β -karotenu posiadającym dodatkowe grupy karbonylowe w pozycjach 4 i 4'. Zgodnie z przewidywaniami, w reakcji metatezy krzyżowej tego związku z (*2E,4E/Z*)-3-metyloheksa-2,4-dienianem etylu (**17**) otrzymałam 4-oksoretinian etylu (**26**, 13%) i 4-okso-12'-apo- β -karotenian etylu (**27**, 21%, Schemat 10). W przypadku obu produktów w przewodzie powstawały izomery o konfiguracji all-*E*. Otrzymany wynik wskazuje, że regioselektywność i diastereoselektywność reakcji kantaksantyny jest analogiczna jak w przypadku reakcji β -karotenu. Reakcje metatezy krzyżowej tego związku zachodziły z rozerwaniem wiązań C15-C15' oraz C11-C12 tego polieniu. Jednak wydaje się, że obecność grupy karbonylowej sprzężonej z układem polienowym powoduje zmniejszenie reaktywności tego polieniu (odzyskiwano znaczne ilości nieprzereagowanego substratu).



Schemat 10. Reakcja CM kantaksantyny z (2E,4E/Z)-3-metyloheksa-2,4-dienianem etylu

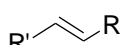
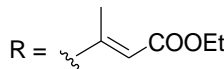
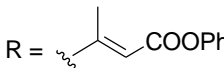

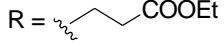
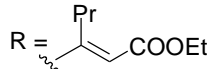
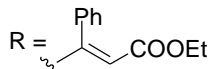
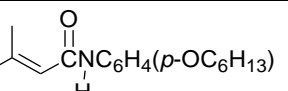
W przypadku reakcji kantaksantyny z (2E,4E/Z)-N-(4-heksyloksyfenylo)-3-metyloheksa-2,4-dienoamidem jako główny produkt wyizolowano N-(4-heksyloksyfenylo)-4-okso-12'-apo-β-karotenamid (17%). 4-Oksoretinamid powstawał w śladowych ilościach, co może sugerować, że dodatkowe sprzężenie z grupą karbonylową nie tylko zmniejsza reaktywność całego układu, ale także obniża podatność na rozerwanie wiązania podwójnego C11-C12.

W dalszych badaniach fragmentacji metatetycznej poddałam octan retinyli.[H6] W przypadku tego substratu reakcje CM zachodziły całkowicie regioselektywnie, rozerwaniu ulegało jedynie wiązanie C11-C12 w tym substracie. W reakcji CM tego związku, w zależności od użytego partnera, powstawały selektywnie różne apokarotenoidy: retinoidy lub 13-apokarotenoidy (Schemat 11, Tabela 2). We wszystkich eksperymentach, produkt główny tworzył się z umiarkowaną wydajnością, ale wysoką stereoselektywnością (w przewadze tworzył się izomer o konfiguracji all-E).



Schemat 11. Reakcja CM octanu retinyli z wybranymi olefinami

Tabela 2. Reakcje CM octanu retinyłu z wybranymi olefinami

	Olefina 	Warunki reakcji ^a	Wydajność (E/Z) ^b
1	R' = Me R = 	GHII, 4 eq olefiny, toluen, 96 godz.	55% (40:1)
2		GII, 4 eq olefiny, toluen, 96 godz.	35% (80:1)
3	R' = Me R = 	GHII, 4 eq olefiny, toluen, 96 godz.	40% (50:1)
4	R' = Me R = 	GHII, 4 eq olefiny, toluen, 96 godz.	31% (1.8:1)
5	R' = H R = 	GHII, 2 eq olefiny, toluen, 96 godz.	10% (5:1)
6	R' = H R = 	GHII, 4 eq olefiny, toluen, 96 godz.	<1%
7	R' = H R = 	GHII, 4 eq olefiny, toluen, 96 godz.	<1%
8	R' = Me R = 	GHII, 1.2 eq olefiny, toluen/CH ₂ Cl ₂ , 96 godz.	26% (95:1)

^a Wszystkie reakcje były prowadzone w obecności 15 mol% katalizatora w t.p. ^b Stosunek E/Z izomerów ustalano za pomocą analizy ¹H NMR lub HPLC.

Reakcje octanu retinyłu z pochodnymi kwasu penta-2,4-dienowego z podstawnikami propylowym i fenylowym w pozycji 3 oraz z winylowymi pochodnymi sulfonów, sulfidów i fosforanu (winylofosforanem dietylu, sulfonem fenylo-winylowym, sulfonem metylo-winylowym i sulfidem fenylo-winylowym, Schemat 11), podobnie jak w przypadku β-karotenu, pomimo wielu wariantów przeprowadzenia reakcji (próby z różnymi katalizatorami drugiej generacji, w różnych rozpuszczalnikach, w różnej temperaturze przy zmiennej proporcji substratów olefinowych) zakończyły się niepowodzeniem.

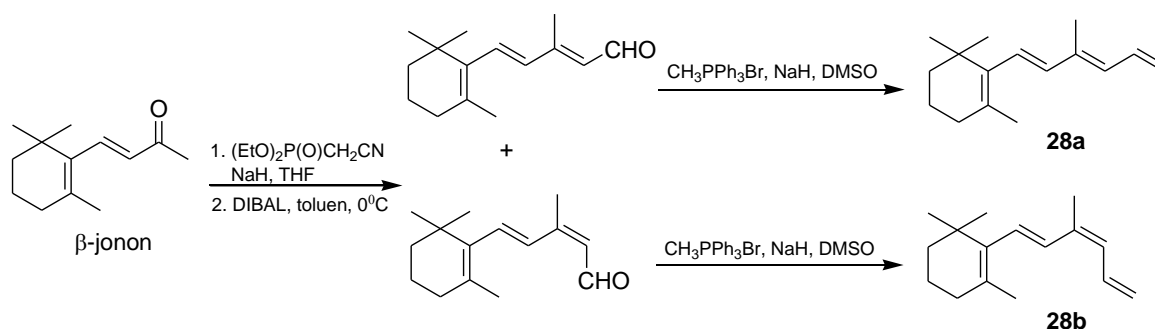
Otrzymane rezultaty badań metatetycznej fragmentacji karotenoidów i apokarotenoidów pokazują, że w pełni selektywna jest tylko reakcja metatezy krzyżowej octanu retinyłu. W przypadku karotenoidów powstawały mieszaniny produktów na skutek rozrywania wiązań C11-C12 i C15-C15'. Możliwa jest do pewnego stopnia kontrola regioselektywności przez odpowiedni dobór warunków reakcji. W łagodniejszych warunkach w przewadze tworzył się produkt cięcia wiązania centralnego, natomiast stosując aktywniejszy katalizator, wyższe stężenie reagentów i prowadząc reakcje przez dłuższy czas, otrzymywano jako główny produkt związek powstający w wyniku rozerwania wiązania C11-C12 karotenoidu. Produkty metatezy powstawały, co prawda, z umiarkowaną wydajnością, ale w większości przypadków z dobrą E-stereoselektywnością. Niewątpliwie, badana reakcja CM może

stanowiąc wygodną jednoetapową alternatywę dla opisanych do tej pory metod otrzymywania apokarotenoidów, szczególnie w przypadku syntezy na małą skalę.

Synteza retinoidów w reakcji metatezy krzyżowej z prostych olefin

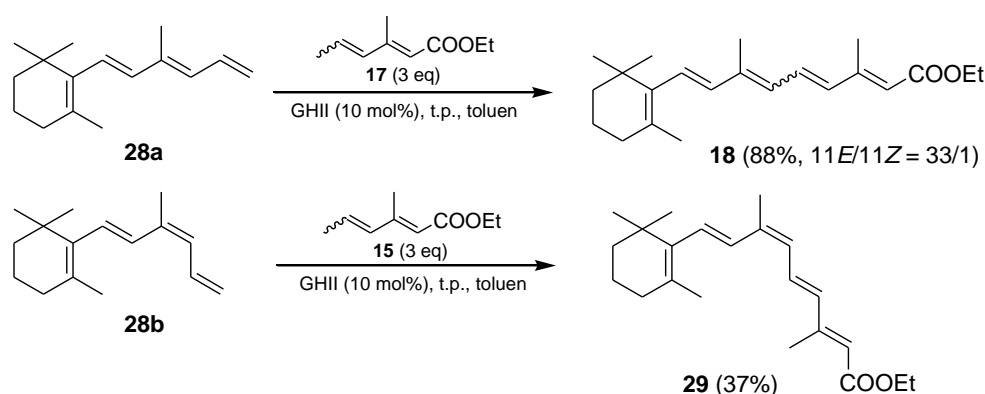
Po rozpoznaniu możliwości zastosowania reakcji metatezy krzyżowej do otrzymywania retinoidów i apokarotenoidów na drodze fragmentacji długołańcuchowych substratów polienowych, opracowałam metodę syntezy tych związków z prostych olefin. [H7] Do syntezy retinoidów w pierwszych eksperymentach wybrałam jako substrat, narzucający się w tej sytuacji, łatwo dostępny β -jonon. Niestety ten wygodny prekursor okazał się całkowicie niereaktywny w reakcji metatezy. Szukając optymalnych warunków wykonałam serię eksperymentów testując dostępne katalizatory drugiej generacji, różne rozpuszczalniki (toluen, chlorek metylenu), temperaturę (t.p., 40 °C, 60 °C), czas reakcji (2 godz. – 120 godz.) oraz różny stosunek molowy obu reagentów. Niestety w żadnej reakcji nie udało się otrzymać produktów metatezy. Niepowodzeniem zakończyły się także próby przekształcenia β -jonolu i octanu β -jonolu w reakcji metatezy krzyżowej z różnymi alkenami i dienami. W związku z tym, β -jonon przekształcałam w reakcji Wittiga w odpowiedni trien, który był używany jako substrat w kolejnych reakcjach metatezy. Pomimo, że znane są reakcje CM tego substratu z alkenami,²⁷ to w przypadku zastosowania jako olefinowego partnera sprzężonego dienu pożądany produkt powstawał z bardzo niską wydajnością (poniżej 5%). Optymalizacja warunków procesu nie przyniosła poprawy konwersji. Prawdopodobnie mała reaktywność β -jononu i jego pochodnych w dużym stopniu związana jest z zawadą steryczną wokół wiązania podwójnego, co uniemożliwia powstanie pośredniego rutenacyklobutanu w reakcji z katalizatorem.

W związku z opisanymi trudnościami zmieniałam strategię syntetyczną i przeprowadziłam syntezę retinoidów w wyniku metatetycznego sprzęgania jednostek C₁₅ i C₅. Potrzebny synton C₁₅ (all-*E*-tetraen **28a** i 9*Z*-tetraen **28b**) otrzymałam z wysoką wydajnością w oparciu o znane metody z β -jononu w trójetapowej syntezie (Schemat 12).[H7]



Schemat 12. Synteza all-*E*- i 9*Z*-tetraenów z β -jononu

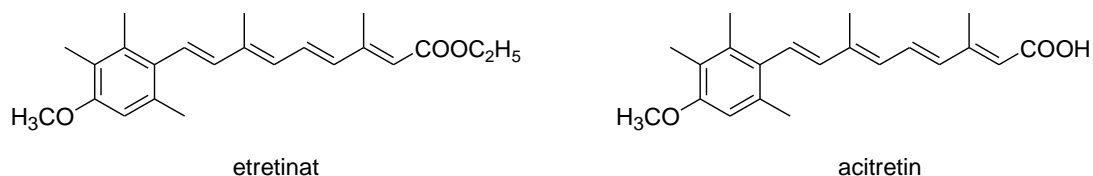
Reakcja CM otrzymanego all-*E*-tetraenu **28a** z (2*E*,4*E*/*Z*)-3-metyloheksa-2,4-dienianem etylu (**17**, synton C₅) w obecności katalizatora Grubbsa-Hoveydy drugiej generacji, prowadziła do powstania retinianu etylu (**18**) z wysoką wydajnością (88%) i diastereoselektywnością (97%) (Schemat 13). Zastosowanie katalizatora Grubbsa drugiej generacji skutkowało obniżeniem stereoselektywności (11*E*/11*Z* = 10:1) i wydajności (79%). W dalszej kolejności, stosując analogiczne warunki, otrzymałam 9*E*-retinian etylu (**29**, Schemat 13). Reakcja metatezy krzyżowej 9*Z*-tetraenu **28b** z (2*E*,4*E*/*Z*)-3-metyloheksa-2,4-dienianem etylu (**17**) zachodziła z mniejszą wydajnością (37%) niż w przypadku reakcji all-*E*-tetraenu **28a**. Istotne jest, że w warunkach reakcji metatezy nie zaobserwowałam izomeryzacji na wiązaniu o konfiguracji *cis*.



Schemat 13. Synteza all-*E*-retinianu etylu (**18**) i 9*Z*-retinianu etylu (**29**) na drodze metatetycznego sprzężenia bloków C₁₅ i C₅

Synteza retinianu etylu na drodze metatetycznego sprzężenia jednostek C₁₅ i C₅ zachodziła stosunkowo wydajnie i selektywnie. Całkowita wydajność syntezy z β-jononu wynosiła 47%.

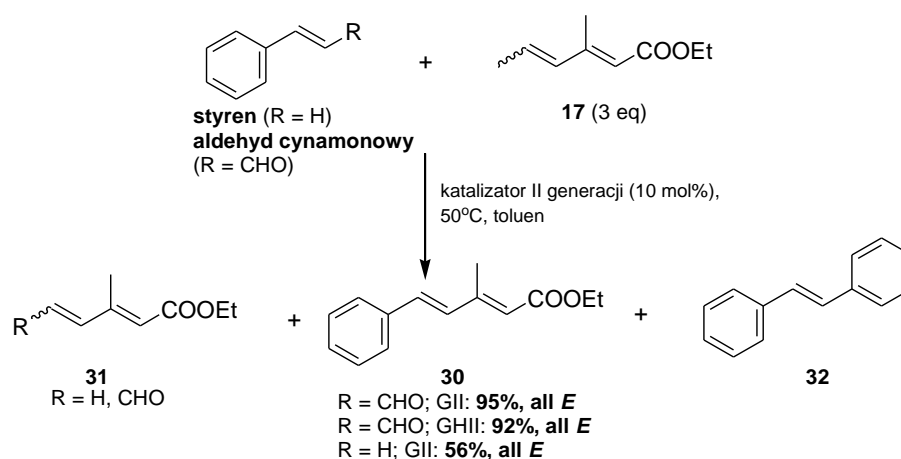
Ostatnim celem pracy było zbadanie możliwości wykorzystania reakcji metatezy krzyżowej do syntezy nietypowych retinoidów II generacji, których przykładem może być etretinat czy acitretin (Rysunek 2), stosowane w dermatologii.[H7]



Rysunek 2

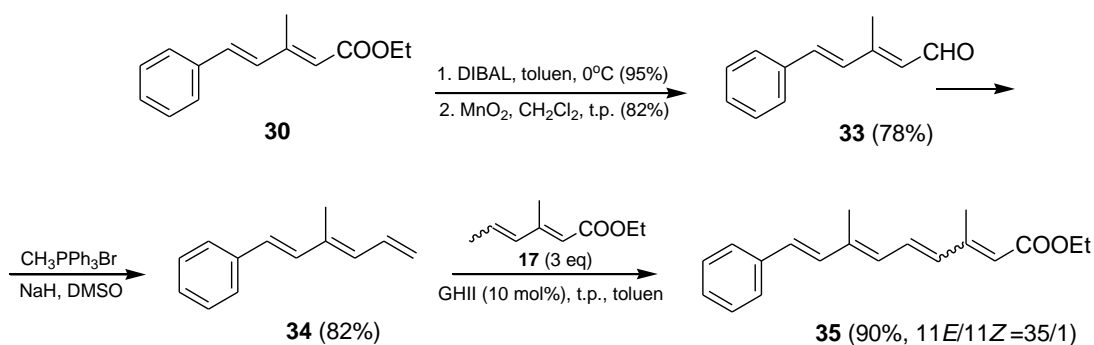
Badania rozpoczęłam od rozpoznania reaktywności aldehydu cynamonowego w reakcji metatezy krzyżowej z wybranymi alkenami i dienami. W reakcjach sprzężenia z 3-metyloheksa-2,4-dienianem etylu (**17**), oprócz oczekiwanego produktu reakcji CM **30**, tworzył się niearomatyczny ester **31** i produkt homometatezy, *E*-stilben (**32**) (Schemat 14). Najlepsze rezultaty osiągnęłam stosując

katalizator Grubbsa drugiej generacji. Promotor ten zapewniał nie tylko wydajny, ale także stereoselektywny przebieg reakcji. We wszystkich przeprowadzonych eksperymentach z tym katalizatorem tworzył się wyłącznie izomer *E* produktu. Analogiczne reakcje, w których użyłam styren, zamiast aldehydu cynamonowego jako substratu, prowadziły do otrzymania produktów z dużo mniejszą wydajnością (Schemat 14). Prawdopodobnie konkurencyjna reakcja homometatezy styrenu zachodzi łatwiej niż analogiczna reakcja aldehydu cynamonowego, a powstający stilben jest mniej reaktywny w sprzęganiu z partnerem olefinowym, co prowadzi do zmniejszenia wydajności pożądanego produktu metatezy.



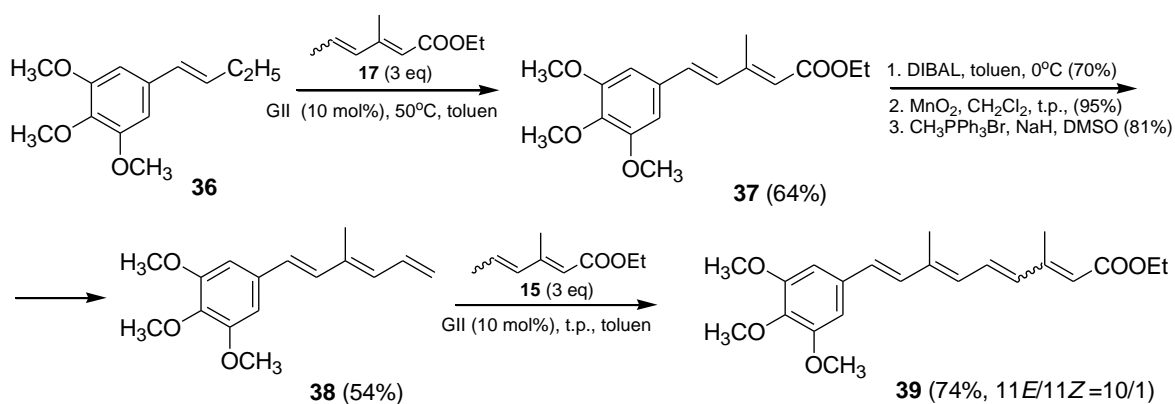
Schemat 14. CM aldehydu cynamonowego i styrenu z (2*E*,4*E*/*Z*)-3-metyloheksa-2,4-dienianem etylu

Rezultaty tych wstępnych eksperymentów wykorzystałam do syntezy analogu etretinatu z aldehydu cynamonowego. W syntezie tej jako kluczowe etapy do wydłużenia łańcucha bocznego zastosowałam metatezę krzyżową z (2*E*,4*E*/*Z*)-3-metyloheksa-2,4-dienianem etylu (**17**), reakcją Wittiga i ponownie metatezę krzyżową z tym samym partnerem dienowym. W pierwszym etapie, w reakcji CM aldehydu cynamonowego z (2*E*,4*E*/*Z*)-3-metyloheksa-2,4-dienianem etylu (**17**) w obecności katalizatora Grubbsa drugiej generacji, otrzymałam pożądaną 5-fenyl-3-metyloheksa-2,4-dienian etylu (**30**) jako czysty 2*E*,4*E*-izomer z 95% wydajnością. Związek ten (Schemat 15) następnie zredukowałam do odpowiedniego aldehydu **33** i poddałam reakcji metylenacji. Otrzymany w ten sposób trien **34** został przekształcony w reakcji CM z (2*E*,4*E*/*Z*)-3-metyloheksa-2,4-dienianem etylu (**17**) w pożądaną analog etretinatu **35** z 90% wydajnością. Zaproponowana pięcioetapowa synteza pochodnej etretinatu, wykorzystująca jako etapy kluczowe reakcje metatezy krzyżowej, jest wydajna i selektywna. Produkt otrzymałam z 55% wydajnością z aldehydu cynamonowego jako czysty izomer *E*.



Schemat 15. Synteza fenylowego analogu etretinatu

Stosując tę samą strategię syntetyczną otrzymałam inny aromatyczny retinoid **39** z podstawionym pierścieniem aromatycznym (Schemat 16).



Schemat 16. Synteza trimetoksyfenylowego analogu etretinatu

Oba analogi zostały przebadane w kierunku aktywności przeciwnowotworowej na trzech liniach komórek: białaczki (CEM), raka piersi (MCF7), raka szyjki macicy (HeLa; Tabela 3). Wyższą aktywność wykazywała pochodna **39** z podstawnikami metoksyłowymi w pierścieniu aromatycznym, wartość IC₅₀ dla tego związku, w zależności od linii komórek nowotworowych, wynosiła 14.6 – 34.2 μM. Najsilniejsze działanie przeciwnowotworowe trimetoksyfenyłowy analog **39** wykazywał w stosunku do komórek rak szyjki macicy, niestety związek ten okazał się także cytotoksyczny w stosunku do zdrowych ludzkich fibroblastów. Usunięcie podstawników z benzenu prowadziło do utraty cytotoxyczności.

Tabela 3. Aktywność przeciwnowotworowa analogów etretinatu

Analog	Linie komórkowe, IC ₅₀ (μM)			
	CEM	MCF7	HeLa	BJ
Fenyłowy 35	>50	>50	>50	>50
Trimetoksyfenyłowy 39	27.2±0.7	34.2±6.2	17.3±0.3	14.6±3.5

Wyniki przeprowadzonych badań wykazały, że reakcja metatezy krzyżowej z powodzeniem może być zastosowana do syntezy naturalnych i aromatycznych retinoidów.

Podsumowanie

Przeprowadziłam kompleksowe badania reakcji metatezy takich naturalnych polienów, jak witamina D₃, 1 α -hydroksy-5,6-*trans*-witamina D₃, β -karoten, kantaksantyna i octan retinyłu. Rezultaty tych eksperymentów pokazują, że reakcja metatezy może być użytecznym narzędziem w syntezie dienów i polienów. Jednakże powodzenie reakcji w dużym stopniu zależy od budowy obu reagujących partnerów polienowych i każdy przypadek powinien być rozpatrywany indywidualnie. Obecność w cząsteczce polienu wiązań podwójnych o zróżnicowanej, poprzez czynniki steryczne bądź elektronowe, reaktywności zapewnia regioselektywny przebieg reakcji. Zaletą stosowania tej metody jest powstawanie w przewadze trwalszego izomeru o konfiguracji *E* oraz łagodne warunki reakcji, co jest istotne w przypadku tych nietrwałych związków. Reakcja metatezy krzyżowej polienów jako metoda syntezy apokarotenoidów, pozwala otrzymywać pochodne o różnej długości łańcucha i różnorodnie sfunkcjonalizowane w jednej reakcji z dużą stereoselektywnością. Droga ta zapewnia szybki i łatwy dostęp do małych ilości związków np. na badania biologiczne czy strukturalne. Wykorzystując reakcje metatezy krzyżowej karotenoidów: β -karotenu, kantaksantyny lub octanu retinyłu opracowałam syntezę pochodnych fenretinidu, związku wykazującego aktywność przeciwnowotworową.

Do moich praktycznych osiągnięć mogę zaliczyć:

- opracowanie metody syntezy 19-sfunkcjonalizowanych pochodnych 1 α -hydroksywitaminy D₃, z wykorzystaniem reakcji metatezy z zamknięciem pierścienia;
- udowodnienie, że reakcja CM octanu retinyłu zachodzi całkowicie stereoselektywnie;
- zbadanie metatetycznej fragmentacji karotenoidów i wykazanie, że poprzez odpowiedni dobór warunków, do pewnego stopnia, można sterować regioselektywnością cięcia metatetycznego w cząsteczce karotenoidu;
- opracowanie metody syntezy retinoidów naturalnych i syntetycznych wykorzystującej reakcje metatezy krzyżowej do budowy łańcucha polienowego;
- wykazanie, że szczególnie korzystnym substratem w badanych reakcjach metatezy krzyżowej karotenoidów i retinoidów jest łatwo dostępny (2*E*,4*E*/*Z*)-3-metyloheksa-2,4-dienian etylu, który wykazuje pożądaną regioselektywność (tylko wiązanie γ - δ ulega reakcji metatezy) oraz praktycznie nie ulega metatetycznej dimeryzacji. Wykorzystując do

konstrukcji łańcucha polienowego reakcje CM z tym właśnie dienem otrzymano selektywnie i z dużą wydajnością dwa analogi etretinatu z pochodnych styrenu, a także retinian etylu i jego 9Z-izomer.

Swojego rodzaju podsumowaniem moich badań w tej tematyce jest napisana przeze mnie praca przeglądowa opublikowana w *Current Organic Synthesis* [H8], przedstawiająca możliwości i ograniczenia metatezy krzyżowej jako metody syntezy dienów i polienów oraz ukazująca mój wkład na tle dokonań innych naukowców w tym obszarze.

Literatura

¹Thirsk C., Whiting A., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **2002**, 999.

²(a)Rockack J. (ed.) *Leukotrienes and Lipoxxygenase*, Elsevir, New York **1989**; (b) Geern R. H., *Tetrahedron* **1983**, 39, 1687.

³(a) Omura S., Tanaka H., in *Macrolide antibiotics: Chemistry, Biology and Praticce* (ed.) Omura S., Academic Press, New York **1984**, 351-552; (b) Semlyen J. A., *Large Ring Molecules*, Wiley, Chichester, **1996**; (c) Rychnovsky S. D., *Chem. Rev.* **1995**, 95, 2021.

⁴(a) Fishkin, N.; Berova, N.; Nakanishi, K. *Chem Rec.* **2004**, 4, 120. (b) Gudas, I. J. *J. Biol. Chem.* **1994**, 269, 15399. (c) Mark, M.; Ghyselinek, N. B.; Chambon, P. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2006**, 46, 451. (d) Chambon, P. *FASEB J.* **1996**, 10, 940. (e) Heyman, R. A.; Mangelsdorf, D. J.; Dyck, J. A.; Stein, R. B.; Eichele, G.; Evans, R. M.; Thaller, C. *Cell* **1992**, 68, 397.

⁵(a) Isler O., ed., *Carotenoids*, Birkhauser, Basel, **1971**, 932; (b) Britton G., Goodwin T. W., *Carotenoid Chemistry and Biochemistry*, Pergamon Press, Oxford, 1982, 224.

⁶(a) Diederich, F., Stang, P. J., (eds), *Metal-Catalyzed Cross-Coupling Reactions*; Wiley-VCH: Weinheim, Germany, **1998**; (b) Negishi, E.-I., (ed.); *Handbook of Organopalladium Chemistry for Organic Synthesis*; John Wiley & Sons: New York, **2002**; Vol. 1. (c) Nicolaou, K. C.; Bulger, P. G.; Sarlah, D. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2005**, 44, 4442; (d) Miyaura, N.; Suzuki, A. *Chem. Rev.* **1995**, 95, 2457.

⁷(a) Grubbs, R. H. *Tetrahedron* **2004**, 60, 7117. (b) Connon, S. J.; Blechert, S. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2003**, 42, 1900. (c) Bieniek, M.; Michrowska, A.; Usanov, D.L.; Grela, K. *Chem. Eur. J.* **2008**, 14, 806.

⁸(a) Schroni, Y.; Pederson, R.L. *Aldrichimica Acta* **2007**, 40, 45. (b) Pietraszuk, C. *Wiad. Chem.* **2005**, 59, 406

⁹(a) Nicolaou K. C., Bulger P. G., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, 44, 4490; (b) Prunet, J. *Top. Organomet. Chem.* **2005**, 5, 1559-1577. (c) Morzycki, J.W. *Steroids* **2011**, 76, 949.

¹⁰(a) Nicolaou, K.C.; Snyder, S.A. *Classics in total Synthesis II*, Wiley-VCH, Weinheim **2003**, 163. (b) Marciniak, B. *Przemysł Chemiczny* **2007**, 86, 15.

¹¹Holick, M.F. (ed), *Vitamin D: Physiology, Molecular Biology and Clinical Applications*, Humana Press, Totowa, NJ **1999**.

¹²(a) Feldman, D.; Malloy, P. J.; Krishnan, A. V.; Balint, E. In *Osteoporosis*, 3rd Edition; Marcus, R., Feldman, D., Nelson, D., Rosen, C. J., Eds.; Elsevier Academic Press: San Diego, **2008**; 317-382; (b) Nordin, B. E. C.; Morris, H. A. *J. Cell. Biochem.* **1992**, 49, 19-25; (c) van de Kerkhof, P. C. M. Br. *J. Dermatol.* **1995**, 132, 675-682; (d) Tsoukas, C. D.; Provvedini, D. M.; Manolagas, S. C. *Science* **1984**, 224, 1438-1440.

- ¹³(a) Vegesna, V.; O'Kelly, J.; Said, J.; Uskokovic, M.; Binderup, L.; Koeffle, H. P. *Anticancer Res.* **2003**, *23*, 283-289; (b) Hansen, C. M.; Binderup, L.; Hamberg, K. J.; Carlberg, C. *Front Biosci.* **2001**, *6*, D820-848.
- ¹⁴(a) Prudencio J., Akutsu N., Benlimame N., Wang T., Bastien Y., Lin R., Black M.J., Alaoui-Jamali M.A., White J.H.; *J. Natl. Cancer Inst.* **2001**; *93*, 745–753; (b) Xie S.P., Pirianov G., Colston K.W.; *Eur. J. Cancer*, **1999**, *35*, 1717–1723.
- ¹⁵(a) Bouillon, R.M.; Okamura, W.H.; Norman, A.W., *Endocr. Rev.* **1995**, *16*, 200. (b) Muralidharan, K.R.; De Lera, A.R.; Isaef, S.D.; Norman, A.W.; Okamura, W.H., *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 1895. (c) Perlman, K.L.; Siciński, R.R.; Schnoes, H.K.; DeLuca, H.F., *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 1823. (d) Kanzler, S.; Halkes, S.; van de Velde, J.P.; Reischel, W., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 1865. (e) Kroszczyński, W.; Morzycka, B.; Morzycki, J.W., *Wiad. Chem.* **2002**, *56*, 793.
- ¹⁶(a) Yamada, S.; Nakayama, K.; Takayama, H.; Itai, A.; Iitaka, Y., *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 3477. (b) Yamada, S.; Suzuki, T.; Takayama, H., *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 3483. (c) Addo, J.K.; Ray, R., *Steroids* **1998**, *63*, 218. (d) Swamy, N.; Addo, J.K.; Ray, R., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 361. (e) Addo, J.K.; Swamy, N.; Ray, R., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 279. (f) Ahmed, M.; Atkinson, C.E.; Barrett, A.G.M.; Malagu, K.; Procopiou, P.A., *Org. Lett.* **2003**, *5*, 669.
- ¹⁷(a) Grubbs, R.H., *Tetrahedron* **2004**, *60*, 7117. (b) Deiters, A.; Martin, S.F., *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 2199.
- ¹⁸(a) Fishkin, N.; Berova, N.; Nakanishi, K. *Chem Rec.* **2004**, *4*, 120. (b) Gudas, I. J. *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 15399. (c) Mark, M.; Ghyselinek, N. B.; Chambon, P. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2006**, *46*, 451. (d) Chambon, P. *FASEB J.* **1996**, *10*, 940. (e) Heyman, R. A.; Mangelsdorf, D. J.; Dyck, J. A.; Stein, R. B.; Eichele, G.; Evans, R. M.; Thaller, C. *Cell* **1992**, *68*, 397.
- ¹⁹(a) Chomienne, C.; Ballerini, P.; Balitrand, N.; Amar, M.; Bernard, J. F.; Boivin, P.; Daniel, M. T.; Berger, R.; Castaigne, S.; Degos, I. *Lancet* **1989**, *2*, 746. (b) Hong, W. K.; Sporn, M. B., *Science* **1997**, *278*, 1037. (c) Simeone, A. M.; Tari, A. M., *Cell. Mol. Life Sci.* **2004**, *61*, 1475. (d) Moon, R. C.; Metha, R. G.; Rao, K. V. N. in *The Retinoids: Biology, Chemistry, and Medicine*, Vol 2 (Eds.: M. B. Sporn, A. B. Roberts, D. S. Goodmans), Raven, New York, **1994**, 573. (e) Deccensi, A.; Bruno, S.; Constantini, M.; Torrisi, R.; Curotto, A.; Gatteschi, B.; Nicolo, G.; Polizzi, A.; Perloff, M.; Malone, W. F. et al., *J. Natl. Cancer Inst.* **1994**, *86*, 138. (f) Reynolds, C. P. *Curr. Oncol. Rep.* **2000**, *2*, 511. (g) Vaishampayan, U.; Heilburn, L. K.; Parchment, R. E.; Jain, V.; Zwiebel, J.; Boinpally, R. R.; LoRusso, P.; Hussain, M. *Invest. New Drugs* **2005**, *23*, 179. (h) Hail Jr., N.; Kim, H. J.; Lotan, R. *Apoptosis* **2006**, *11*, 1677.
- ²⁰ (a) Goodwin, T. W. *Ann. Rev. of Nutr.* **1986**, *6*, 273. (b) Siems, W.; Wiswedel, I.; Salereno, C.; Crifo, C.; Augustin, W.; Schild, L.; Langhams, C.D.; Sommerburg O.; *J. Nutritional Biochemistry* **2005**, *16*, 385. (c) Nonier, M.F.; Gaulejec, N.V.; Vivas, C.C.R. *Chimie*, **2004**, *7*, 689. (d) Hill, T.J.; Land, E.J.; McGarvey, D.J.; Schalch, W.; Tinkler, J.H.; Truscott, T.G. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 8322.
- ²¹ (a) Otera, J.; Misawa, H.; Onishi, T.; Suzuki, S.; Fujita, Y. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 3834 (b) Wada, A.; Hiraishi, S.; Takamura, N.; Date, T.; Aoe, K.; Ito, M. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 4343. (c) Frensz, R. R.; Holzer, P.; Leuenberger, M. G.; Woggon, W.-D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 1267. (d) Otero, P. M.; Torrado, A.; Pazos, Y.; Sussman, F.; de Lera, A. R. *J. Org. Chem* **2000**, *65*, 5917. (e) Lopez, S.; Montenegro, J.; Saa, C. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 9572. (f) Moise, A. R.; Dominguez, M.; Alvarez, S.; Alvarez, R.; Schupp, M.; Cristancho, A. G.; Kiser, P. D.; de Lera, A. R.; Lazar, M. A.; Palczewski, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 1154.

²²(a) Funk, W. T.; Efskind, J.; Grubbs, R. H. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 187. (b) Ferrie, L.; Amans, D.; Reymont, S.; Bellosta, V.; Capdevielle, P.; Cossy, J. *J. Organometal. Chem.* **2006**, *61*, 5456. (c) Moura-Letts, G.; Curran, D. P. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 5. (d) Dewi, P.; Randl, S.; Blechert, S. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 577. (e) Morita, A.; Kuwahara, S. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 3136.

²³(a) Olson, J.A.; Hayaishi, O. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1965**, *54*, 1365. (b) Yeum K.-J.; Dos Anjos Ferrira, A.L.; Smith, D.; Krinsky, N.I.; Russel, R.M. *Arch. Free Radic. Biol. Med.* **2000**, *29*, 105.

²⁴(a) French, R.R.; Holzer, P.; Leuenberger, M.G.; Woggon, W.-D., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 1267. (b) French, R.R.; Holzer, P.; Leuenberger, M.G.; Nold, M.C.; Woggon, W.-D., *J. Inorg. Biochem.* **2002**, *88*, 295.

²⁵Aurell, M. J.; Carne, I.; Clar, J. E.; Gil, S.; Mestres, R.; Parra, M.; Tortajada, A. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 6089.

²⁶(a) Choi, T.-L.; Chatterjee, A. K.; Grubbs, R. H., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 1277; (b) Engelhardt, F. C.; Schmitt, M. J.; Taylor, R. E., *Org. Lett.* **2001**, *3*, 2209.

²⁷Lopez-Sanchez, C.; Hernandez-Cervantes, C.; Rosales, A.; Alvarez-Corrol, M.; Munoz-Dorado, M.; Rodriguez-Garcia, I., *Tetrahedron* **2009**, *65*, 9542.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych (artystycznych)

Po doktoracie, równoległe do badań nad zastosowaniem reakcji metatezy w syntezie polienów, kontynuowałam prace mające na celu otrzymanie uproszczonych analogów saponiny OSW-1, produktu naturalnego wykazującego aktywność przeciwnowotworową wielokrotnie przewyższającą aktywność znanych cytostatyków takich, jak adriamycyna, cisplatylna czy taksol. W wyniku tych badań zsyntezowałam szereg pochodnych OSW-1, posiadających modyfikacje zarówno w części cukrowej jak i steroidowej. Wszystkie związki zostały zbadane w kierunku aktywności cytotoksycznej. Okazało się, że 22-deokso-22-benzyloksy i 22-deokso-22-acyloksy analogi charakteryzują się znaczącym działaniem cytotoksycznym w stosunku do różnych komórek rakowych, a ponadto są wyraźnie mniej toksyczne w stosunku do komórek zdrowych. Ta wysoka aktywność i duża selektywność działania oraz odmienny mechanizm działania czynią je bardzo dobrymi kandydatami na leki przeciwnowotworowe. Wyniki tych badań opisałam w czterech pracach oryginalnych [P2, P4, P7, P12] i dwóch artykułach przeglądowych [P1, P3] opublikowanych w latach 2003-2012. Dodatkowo stały się one przedmiotem patentu polskiego [P8] i międzynarodowego zgłoszenia patentowego [P9].

Drugim kierunkiem moich zainteresowań była reakcja nietypowego utleniania steroidowych dioli i trioli za pomocą tlenu w obecności wodoru sodu, co zaowocowało dwoma publikacjami w latach 2010 i 2011. [P10, P11]

Spis publikacji i patentów po doktoracie (poza pracami będącymi przedmiotem habilitacji):

P1. Gryszkiewicz-Wojtkielewicz, I. Jastrzębska, J. W. Morzycki, D. B. Romanowska, *Approaches*

- towards the synthesis of cephalostatins, ritterazines and saponins from *Ornithogalum saundersiae* – new natural products with cytostatic activity, *Curr. Org. Chem.* **2003**, *7*, 1-22;
- P2. J. W. Morzycki, A. Wojtkielewicz, S. Wołczyński, Synthesis of analogues of potent antitumor saponin OSW-1, *Bioorg.&Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 3323-3326;
- P3. J. W. Morzycki, A. Wojtkielewicz, Synthesis of highly potent antitumor saponin OSW-1 and its analogues, *Phytochem. Rev.* **2005**, *4*, 259-277;
- P4. J. W. Morzycki, A. Kruszewska, A. Z. Wilczewska, A. Wojtkielewicz, Synthesis of 23-oxa-22-deoxo analogues of OSW-1 aglycone, *Polish J. Chem.* **2006**, *80*, 611-615;
- P5. J. W. Morzycki, A. Gryszkiewicz, Z. Chilmonczyk, J. Cybulski, W. Szelejewski, Sposób otrzymywania pochodnych 16 β ,17 α -dihydroksysteroidowych do syntezy saponin OSW, Patent PL 191517 B1 (31.05.2006);¹
- P6. D. Czajkowska, A. Wojtkielewicz, J. W. Morzycki, Chemiczny Nobel 2005, *Orbital* **2006**, zeszyt 3-4, 120-125;
- P7. A. Wojtkielewicz, M. Długosz, J. Maj, J. W. Morzycki, M. Nowakowski, J. Renkiewicz, M. Strnad, J. Swaczynova, A. Z. Wilczewska, J. Wójcik, New analogues of potent cytotoxic saponin OSW-1, *J. Med.Chem.* **2007**, *50*, 3667-3673;
- P8. J. W. Morzycki A. Wojtkielewicz, J. Oklestkova, M. Strnad, Patent P387235 (2009.02.09), Zastosowanie analogów saponiny OSW-1 o uproszczonej budowie wykazujących działanie cytotoksyczne.
- P9. J. W. Morzycki, A. Wojtkielewicz; J. Oklestkova, L. Hoffmannova, M. Strnad (BIOAPEX), international application PCT/CZ2010/000012 (08.02.2010), Novel saponin compounds, methods of preparation thereof, use thereof and pharmaceutical compositions
- P10. J. W. Morzycki, J. O. H. Perez-Diaz, R. Santillan, A. Wojtkielewicz, Unusual oxidative transformations of a steroidal 16 α ,17 α ,22-triol, *Steroids* **2010**, *75* (1), 70-76;
- P11. A. Wojtkielewicz, J. Maj, L. Szczepaniak, J. W. Morzycki, Oxidation of steroidal diols and triols with air/NaH, *Monatsh. Chem.* **2011**, *142*, 59-65;
- P12. J. Maj, J. W. Morzycki, L. Rárová, J. Okleštková, M. Strnad, A. Wojtkielewicz, Synthesis and biological activity of 22-deoxo-23-oxa analogues of saponin OSW-1, *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 3298-3305.

A. Wojtkielewicz

¹Praca ta została opublikowana pod panięmskim nazwiskiem autorki - Gryszkiewicz