

Paweł Marek Stępnik
Pracownia Stereokontrolowanej Syntezy Organicznej
Wydział Chemii
Uniwersytet Warszawski

Autoreferat rozprawy doktorskiej pt.:

**„SYNTEZA I BADANIE WŁAŚCIWOŚCI KOMPLEKSOTWÓRCZYCH HYBRYDOWYCH
POŁĄCZEŃ CYKLODEKSTRYN Z POCHODNYMI AMINOKWASÓW”**

Promotor: prof. dr hab. Janusz Jurczak

Spośród wielu obiektów będących przedmiotem zainteresowania chemii supramolekularnej, moja uwaga w niniejszej pracy skupiła się na β -cyklodekstrynie (β -CD), jako najczęściej stosowanym w chemii oligosacharydzie. Spośród wszystkich cyklodekstryn, to właśnie β -CD posiada wnękę o rozmiarach odpowiednich do kompleksowania w swoim wnętrzu tak dużych fragmentów cząsteczek, jak np. pierścienie sześciocłonowe. Jednocześnie cyklodekstryna nie jest zbyt duża, i nie obserwuje się w jej przypadku „zapadnięcia” wnęki, jak to ma miejsce w γ -CD. Substancje te są powszechnie używane w produkcji wypełnień do kolumn chromatograficznych. Oddziaływania, jakie tworzą ze związkami chemicznymi, wielokrotnie w licznych procesach adsorpcji i desorpcji, umożliwiają rozdział mieszanin substancji, a często nawet rozdział enancjomerów. Jednak gdy rozważamy proces jednostkowy, pojedynczą reakcję tworzenia kompleksu w roztworze wodnym, okazuje się, że oddziaływanie pomiędzy β -CD a rozpuszczalnymi w wodzie niskocząsteczkowymi związkami organicznymi jest słabe. Wyjątkowo wymagającymi związkami są aminokwasy, zazwyczaj znakomicie rozpuszczalne w wodzie w szerokim zakresie pH. Dla fenyloalaniny stałe trwałości kompleksów z natywną β -CD wynoszą ok. 100 M^{-1} . Choć badacze poznali dokładnie sposób tworzenia i strukturę kompleksów aminokwasów i β -CD, to poprawa siły oddziaływania stanowiła i nadal stanowi wyzwanie dla syntetyków.

Dotychczasowe badania nad funkcjonalizacją β -CD obejmują podstawianie grup hydroksylowych po obu stronach makropierścienia. Lista 2- i 6-podstawionych pochodnych obejmuje przede wszystkim układy zawierające grupy aminowe, karboksylowe, arylowe, czy alkilowe. Stosowano modyfikacje pojedynczych, całych zespołów, czy nawet wszystkich dwudziestu jeden grup hydroksylowych. Wyniki badań nad kompleksowaniem z zastosowaniem zmodyfikowanej β -CD pozwoliły stwierdzić, że funkcjonalizacja, która zwiększa liczbę punktów oddziaływania z cząsteczką gościa, przyczynia się do wzrostu stałych trwałości kompleksów. Z

tego powodu za kluczowe uważano wprowadzanie grup polarnych, często elektrycznie naładowanych, które miały oddziaływać z grupami aminową i karboksylową aminokwasu, podczas gdy wnęka cyklodekstryny miała być dogodnym „środowiskiem” dla hydrofobowych fragmentów tegoż aminokwasu. Wyniki tych badań były obiecujące, jednak stosowanie podstawników elektrycznie naładowanych ograniczało możliwości pracy tak zmodyfikowanej β -CD do pH powyżej 9.

W swojej pracy podjąłem się próby opracowania pochodnej β -CD, której synteza miała być prosta i skuteczna. Otrzymywane związki miały być substancjami dobrze zdefiniowanymi, zawierać kilka domen wiążących różne grupy funkcyjne (czy inaczej: oddziałujących z nimi). Wreszcie miały silnie oddziaływać z aminokwasami.

Opracowana metodologia syntezy okazała się bardzo wydajna, choć nie wszystkie zsyntezowane tą drogą związki mogły być ostatecznie zastosowane jako praktyczne receptory. Zaprojektowana synteza zbieżna minimalizowała manipulacje, jakim poddawać musiałem β -CD. Było to korzystne także ze względu na fakt jej rozpuszczalności w wodzie. Choćby odparowanie wodnego roztworu β -CD było procesem długotrwałym, uciążliwym i energochłonnym. Z tego powodu jej funkcjonalizacja grupami azydkową lub propargilową pozwoliła na szybkie i wydajne uzyskiwanie deocelowych związków: z użyciem sfunkcjonalizowanej cząsteczki β -CD przeprowadzałem tylko jedną reakcję, a następnie, w wyniku strącenia, uzyskiwałem praktycznie czysty pożądaný produkt. Cały ciężar tworzenia skomplikowanej strukturalnie pochodnej przerzuciłem na drugiego partnera reakcyjnego: azydki lub estry propargilowe uzyskiwane z aminokwasów. Zastosowanie aminokwasów jako substancji wyjściowych było bardzo opłacalne, gdyż są one związkami o chyba największej „gęstości różnorodności strukturalnej” (przez co rozumiem tak dużą liczbę różnych grup funkcyjnych i elementów strukturalnych w tak małej cząsteczce). Mogłem zatem przygotować reagent zawierający komplementarną grupę funkcyjną podatną na cykloaddycję azydkowo-alkinową, grupę aminową (dalej funkcjonalizowaną), różnorodny zestaw łańcuchów bocznych, itd. Jednocześnie, gotowy reagent był enancjomerycznie czystym związkiem chiralnym. Opracowana ścieżka reakcyjna była bardzo wydajna, a więc oba substraty do cykloaddycji azydkowo-alkinowej metodą „click” mogłem otrzymywać w dogodny i ekonomiczny sposób, w dużych ilościach. Opracowanie odpowiednich warunków do tej reakcji pozwoliło z powodzeniem stosować ją dla różnorodnych strukturalnie substratów, realizując tym samym pierwszy postawiony warunek – nieskomplikowanej, wydajnej syntezy.

Badania strukturalne potwierdziły że uzyskane związki były dobrze zdefiniowane. Podstawienie zachodziło tylko w zakresie wybranej, pojedynczej grupy hydroksylowej, nie otrzymywałem mieszaniny różnie podstawionych substancji, a ilościowy przebieg reakcji cykloaddycji azydkowo-alkinowej przyczyniał się do izolowania produktu bez choćby śladowych

ilości nieprzereagowanych substratów. Tym samym zaprojektowana synteza realizowała warunek otrzymywania dobrze zdefiniowanych związków. Dodatkowo wykazałem, że opracowana metodologia umożliwia syntezę związków o znacznie bardziej skomplikowanej budowie, przy zachowaniu pełnej kontroli nad miejscami funkcjonalizacji. Możliwe jest zatem monopodstawienie zarówno w pozycji C-2, jak i C-6. Z kolei w obrębie grup pierwszorzędowych, cykloaddycja azydkowo-alkinowa daje możliwość tworzenia pochodnych dipodstawionych, a także zamkniętych układów makrobicyklicznych.

Pomiary stałych trwałości kompleksów uzyskanych receptorów z aminokwasami pozwoliły stwierdzić, że zsyntezowane związki wykazywały znacznie silniejsze powinowactwo do fenyloalaniny, tryptofanu, czy tyrozyny niż natywna β -CD, czy nawet znane dotąd receptory. Takie zachowania obserwowałem też dla mało hydrofobowej alaniny, a także dla typowo polarnej seryny. W lekko zasadowym pH, odpowiadającym górnej granicy pH fizjologicznego, otrzymane przeze mnie receptory funkcjonowały dziesiątki tysięcy razy lepiej niż natywna β -CD i wykazywały dużą specyficzność substratową, związaną z obecnością grup aminowej i karboksylowej. O ile tworzyły w tych warunkach stabilne kompleksy z aminokwasami, o tyle pozbawienie cząsteczek gości grupy aminowej skutkowało dramatycznymi spadkami stałych trwałości kompleksów. Zróznicowanie siły oddziaływania receptorów z gośćmi w zakresie pH od 6,5 do 8 było wyjątkowo duże. W pH zasadowym kompleksowanie było bardzo silne, gdy tymczasem już w pH 6,5 można było mówić o braku kompleksowania. Oznacza to, że zaprojektowane receptory tworzą kompleksy z aminokwasami w sposób selektywny, a trwałość kompleksów może być regulowana przez zmianę pH środowiska pracy układu.

Na podstawie badań mikrokalorymetrycznych oraz spektroskopowych ustalono, że *modus operandi* uzyskanych receptorów znacząco odbiega od sposobu tworzenia kompleksów przez natywną β -CD. Rezultaty badań potwierdziły, że w powstających układach dominuje stechiometria 1:2 (gość:gospodarz). Występujące głównie w postaci dimerów receptory kompleksują aminokwas nie poprzez tworzenie klasycznego kompleksu inkluzyjnego, ale w inny sposób, związany prawdopodobnie z dehydratacją aminokwasu i „opłaszczeniem” go przez hydrofobowe elementy cząsteczek receptorów. Dla pomiarów w układach bardziej rozcieńczonych, gdzie receptory występowały głównie jako monomery, również obserwowałem mechanizm kompleksowania prowadzący do powstawania struktur o stechiometrii 1:2.

Podsumowując, można uznać, że postawiony w dysertacji cel syntezy hybrydowych połączeń β -CD z pochodnymi aminokwasów i sprawdzenie właściwości kompleksotwórczych takich hybryd został zrealizowany.