

Grzegorz M. Salamończyk

AUTOREFERAT

do wniosku o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego

Osiągnięcia naukowe zgłoszone do postępowania habilitacyjnego
przedstawiają
spójny cykl 7 publikacji naukowych wydanych po uzyskaniu
stopnia naukowego doktora

Temat serii prac: „**Synteza Dendrymerów – Poliestrów, Pochodnych
Kwasu Fosforowego i 1,3,5 – Benzenotrikarboksylowego**”

Łódź, kwiecień 2013

Życiorys naukowy	2
Spis publikacji naukowych	4
Publikacje habilitacyjne	8
Wykłady na zaproszenie	10
Komunikaty naukowe prezentowane na konferencjach	10

Synteza Dendrymerów – Poliestrów, Pochodnych Kwasu Fosforowego i 1,3,5 – Benzenotrikarboksylowego

Omówienie najważniejszych osiągnięć zawartych w pracach przedstawionych do habilitacji

Wprowadzenie	12
H[1] W pełni oryginalna synteza nowych dendrymerów tiofosforanowych	14
H[2] Synteza i oksigenacja nowych dendrymerów selenofosforanowych	17
H[3] Synteza dendrymerów posiadających trzy różne funkcje chemiczne w punktach rozgałęzień w tej samej makrocząsteczce	21
H[4] Synteza nowych dendrymerów boranofosforanowych, nowych labilnych dendrymerów fosforynowych oraz ich kompleksów metalami przejściowymi	23
H[5] Połączenia dendrymerów z acyklowirem	25
H[6] Synteza dendrymerów - poliestrów kwasu 1,3,5-benzenotrikarboksylowego	28
H[7] Synteza rozpuszczalnych w wodzie dendrymerów polianionowych	31
Posumowanie najważniejszych osiągnięć pracy habilitacyjnej	36
Literatura cytowana	37

Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych (Charakterystyka zawodowa autora)

Uwagi ogólne	39
Synteza glicerofosfolipidów	40
Badania własności dwuwarstw fosfolipidowych	40
Stereoizomery sfingomieliny i jej analogów	41
Syntezy enancjomerycznie czystych fosfoinozytydów	42
Kryptoficyny oraz prace z enzymami hydrolitycznymi	43
Badania nad mechanizmem biosyntezy tyroksyny	44
Synteza hormonów tarczycy	45
Reakcje chemiczne z enzymami oksydoredukcyjnymi	45

1. IMIĘ I NAZWISKO: **Grzegorz Marek Salamończyk**

2. ADRES DO KORESPONDENCJI: Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN w Łodzi, ul. Sienkiewicza 112, 90-363 Łódź; Tel.: +48 42 680 3217; Fax: +48 42 680 3261; e-mail: gmsalamo@cbmm.lodz.pl

3. POSIADANE DYPLOMY I STOPNIE NAUKOWE

- Magister inżynier chemii (1983)
tytuł pracy: „*Zastosowanie Grup Metylowych Jako Ochronnych w Syntezie Kwasów S-Alkilo Tiofosforowych*”
promotor: dr Barbara Młotkowska
Wydział Chemiczny Politechniki Łódzkiej w Łodzi
- Stopień doktora nauk chemicznych w zakresie chemii (listopad 1992)
tytuł rozprawy doktorskiej: „*Totalna Synteza Homochiralnych Fosforanów mio-Inozytolu i Ich Analogów*”
promotor: doc. dr hab. K. Michał Pietrusiewicz
Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN w Łodzi
recenzenci: prof. dr hab. Andrzej Zabża, Politechnika Wrocławska
prof. dr hab. Aleksander Zamojski, Instytut Chemii Organicznej PAN w Warszawie

4. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W INSTYTUCJACH NAUKOWYCH:

- 1983-1985 chemik w Instytucie Chemii Organicznej Politechniki Łódzkiej (1984 służba wojskowa).
- 1985-1987 chemik w Zakładzie Chemii Bioorganicznej Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN w Łodzi
- 1987-1990 asystent w Zakładzie Chemii Bioorganicznej Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN w Łodzi
- 1990-1994 asystent w Zakładzie Związków Heteroorganicznych Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN w Łodzi
- 1994-2008 adiunkt w Zakładzie Związków Heteroorganicznych Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN w Łodzi
- 2008- asystent w Zakładzie Chemii Heteroorganicznej Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN w Łodzi

4. NAUKA POZA MIEJSCEM ZATRUDNIENIA

- 1987-1990 – uczęszczał i ukończył studia doktoranckie w Instytucie Chemii Organicznej PAN w Warszawie

5. ZAGRANICZNE STAŻE NAUKOWE

- wrzesień 1995 - październik 1997, School of Pharmacy, University of Wisconsin, Madison, USA.

6. DOROBEK NAUKOWY
- Liczba publikacji oryginalnych: **27**
 - Liczba publikacji oryginalnych w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR): **27**
 - Liczba prac opublikowanych przed doktoratem: **10**
 - Liczba publikacji przeglądowych: **1**
 - Liczba wykładów konferencyjnych na zaproszenie: **3**
 - Liczba komunikatów ustnych i posterowych po doktoracie: **23**
7. SUMMARYCZNY *impact factor* (IF) publikacji naukowych według listy JCR: **88.1**
8. CAŁKOWITA LICZBA CYTOWAŃ PUBLIKACJI według bazy Web of Science: **434**
9. CAŁKOWITA LICZBA CYTOWAŃ PUBLIKACJI według bazy Web of Science oraz innych baz takich jak Scifinder czy Google Scholar [również cytowania książkowe (np. cytowania z *Topics of Current Chemistry*), cytowania z literatury nieanglojęzycznej oraz cytowania w patentach]: **486**
10. ŚREDNIA ILOŚĆ CYTOWAŃ NA PUBLIKACJĘ według bazy Web of Science: **15.50**
11. ŚREDNIA ILOŚĆ CYTOWAŃ NA ROK według bazy Web of Science: **16.07**
12. INDEKS HIRSCHA według bazy Web of Science: **12**
13. INDEKS HIRSCHA według bazy Web of Science oraz innych baz takich jak Scifinder czy Google Scholar [również cytowania książkowe (np. cytowania z *Topics of Current Chemistry*), cytowania z literatury nieanglojęzycznej oraz cytowania w patentach]: **13**
14. WSPÓŁPRACA NAUKOWA:
- Prof. dr Charles J. Sih, University of Wisconsin, Madison, USA
 - Dr Nicola Rehnberg, Perstorp AB, Perstorp, Szwecja
 - Dr Guy Krippner, Starpharma Inc., Melbourne, Australia
 - Prof. dr hab. Maria Bryszewska, Uniwersytet Łódzki
15. UDZIAŁW GRANTACH I PROJEKTACH BADAWCZYCH:
- grant KBN, nr 3T09A 040 19, okres realizacji 01.07.2000-30.06.2003, temat: „*Synteza Dendrymerów Fosforoorganicznych przy Użyciu Związków Trikoordynacyjnego Fosforu*” charakter udziału: kierownik grantu, grant po zakończeniu oceniony przez KBN jako znakomity
 - grant habilitacyjny MNiSW, nr N N204 030836, okres realizacji 09.04.2009-08.04.2011, temat: „*Dendrymery, Poliestry Karboksylowe i Tiofosforanowe o Potencjalnym Zastosowaniu w Medycynie*” charakter udziału: kierownik grantu i jednocześnie jedyny wykonawca po zakończeniu uzyskał akceptację Zespołu Ekspertów Narodowego Centrum Nauki pod względem merytorycznym i finansowym.

16. OTRZYMANE NAGRODY I WYRÓŻNIENIA

- Nagroda finansowa Dziekana Wydziału Farmacji, (School of Pharmacy) University of Wisconsin, Madison, USA, za działalność naukową w czasie pobytu i pracy na tej uczelni.
- Medal 40-lecia Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN w Łodzi.

17. UDZIAŁ W PRACACH ORGANIZACYJNYCH KONFERENCJI KRAJOWYCH I MIĘDZYNARODOWYCH:

- Second International Symposium on Phosphorus Chemistry Directed Towards Biology, Łódź, Wrzesień 1986.
- Drugie Ogólnopolskie Sympozjum Chemii Organicznej (OSCO II), Łódź (Arturówek), czerwiec 1993 – sekretarz sympozjum.
- The Sixth International Conference on Heteroatom Chemistry (ICHAC-6), Łódź, czerwiec 2001.

18. DZIAŁALNOŚĆ DYDAKTYCZNA

- coroczna opieka naukowo-dydaktyczna nad stażystami zagranicznymi i z łódzkich uczelni.

19. RECENZJE

- habilitant recenzował publikacje wysyłane do czasopism z listy *filadelfijskiej*. Czasopisma te, to przykładowo: *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, *Journal of Organometallic Chemistry* (Elsevier Inc.), czy *Polymer International* (John Wiley & Sons, Inc.).

SPIS PUBLIKACJI NAUKOWYCH Z LISTY FILADELFIJSKIEJ

- H[1], H[2], H[3]...- prace wchodzące w zakres publikacji niniejszej rozprawy habilitacyjnej
- IF – (*journal's*) *impact factor* - wskaźnik prestiżu i siły oddziaływania czasopisma naukowego, ustalany przez Instytut Filadelfijski (Institute of Scientific Information, obecnie koncern wydawniczy Thomson).
- NOC – *Number of citations* - ilość cytowań danej publikacji.
- Udział habilitanta (procentowy i merytoryczny) podany jest dla prac opublikowanych po doktoracie i wchodzących oraz niewchodzących w zakres publikacji rozprawy habilitacyjnej.

Prace naukowe wykonane i opublikowane przed doktoratem

1. Bruzik, K. S.; **Salamończyk, G. M.**; Stec W. J.

- A General Method for the Synthesis of Glycerophospholipids.
J. Org. Chem. **1986**, *51*, 2368-2370.
IF = 4.45
NOC = 59
2. Bruzik, K. S.; **Salamończyk, G. M.**
Synthesis of the Enantiomeric 1,4,5,6-Tetra-*O*-Benzyl *myo*-Inositols.
Carbohydr. Res. **1989**, *195*, 67-73.
IF = 2.39
NOC = 28
3. Bruzik, K. S.; **Salamończyk, G. M.**; Soboń, B.
From Molecular Conformation to Phospholipid Bilayer Organization.
Phosphorus, Sulfur and Silicon **1990**, *51/52*, 39-42.
IF = 0.72
NOC = 1
4. Bruzik, K. S.; Grajkowski, A.; Leśnikowski, Z. J.; **Salamończyk, G. M.**; Stec, W. J.
Conformation of Diastereomers of Adenosine Cyclic 3',5'-Phosphorothioate.
Nucleotides Nucleosides **1990**, *9*, 827-836.
IF = 0.90
NOC = 0
5. Bruzik, K. S.; **Salamończyk, G. M.**; Soboń, B.
¹³C CP-MAS Study of the Gel Phases of 1,2-Dipalmitoylphosphatidylcholine.
Biochim. Biophys. Acta. **1990**, *1023*, 143-146.
IF = 3.99
NOC = 10
6. **Salamończyk, G. M.**; Bruzik, K. S.
The Synthesis of Diastereomers of Phosphorothioate Analogue of Dipalmitoylphosphatidylinositol
Tetrahedron Lett. **1990**, *31*, 2015-2016.
IF = 2.68
NOC = 22
7. Bruzik, K. S.; Soboń, B.; **Salamończyk, G. M.**
Nuclear Magnetic Resonance Study of Sphingomyelin Bilayers.
Biochemistry **1990**, *29*, 4017-4021.
IF = 3.42
NOC = 27
8. **Salamończyk, G. M.**; Pietrusiewicz, K. M.
A Practical Three-Step Conversion of *myo*-Inositol into *D*-*myo*-Inositol 1-Phosphate.
Tetrahedron Lett. **1991**, *32*, 4031-4032.
IF = 2.68
NOC = 9
9. **Salamończyk, G. M.**; Pietrusiewicz, K. M.

Expedient Synthesis of D-*myo*-Inositol 1,4,5-Trisphosphate and D-*myo*-Inositol 1,4-Bisphosphate

Tetrahedron Lett. **1991**, 32, 6167-6170.

IF = 2.68

NOC = 15

10. Pietrusiewicz, K. M.; **Salamończyk, G. M.**; Wieczorek, W.; Bruzik, K. S.

The Synthesis of Homochiral Inositol Phosphates from *myo*-Inositol.

Tetrahedron, **1992**, 48, 5523-5542.

IF = 3.06

NOC = 46

Prace naukowe wykonane i opublikowane po doktoracie

11. **Salamończyk, G. M.**; Pietrusiewicz, K. M.

Synthesis of Enantiomerically Pure D-*myo*-Inositol 1,5,6-Trisphosphate.

Tetrahedron Lett. **1994**, 35, 4233-4234.

Udział własny w całości pracy: 90%

IF = 2.68

NOC = 7

Mój udział w publikacji [11] polegał na przygotowaniu części literaturowej, zaplanowaniu strategii otrzymania związków docelowych, wykonaniu całej pracy eksperymentalnej (syntetycznej i analitycznej) oraz na napisaniu komunikatu.

12. Pietrusiewicz, K. M.; **Salamończyk, G. M.**

Total Synthesis of (+)- and (-)-Ononitol.

Synth. Commun. **1995**, 25, 1863-1867.

Udział własny w całości pracy: 60%

IF = 1.06

NOC = 5

Mój udział w publikacji [12] polegał na przygotowaniu części literaturowej, zaplanowaniu strategii otrzymania związków docelowych oraz wykonaniu całej pracy eksperymentalnej (syntetycznej i analitycznej).

13. **Salamończyk, G. M.**; Han, K.; Guo, Z. W.; Sih, C. J.

Total Synthesis of Cryptophycins via a Chemoenzymatic Approach

J. Org. Chem. **1996**, 61, 6893-6900.

Udział własny w całości pracy: 40%

IF = 4.45

NOC = 61

Rozwiązałem problem syntetyczny, związany z otrzymaniem „górnej części” cząsteczki kryptoficyny C, który oczywiście blokował cały projekt. Kłopot polegał na nieoczekiwanym przegrupowaniu związku cynkoorganicznego, co w reakcji typu Reformackiego z odpowiednim aldehydem prowadziło do uzyskania, w przewodzie, „złego” regioizomeru. Problem ten rozwiązałem otrzymując związek cynko-olowioorganiczny (zinc-lead couple) w miejsce w/w związku cynkoorganicznego co w rezultacie doprowadziło do otrzymania praktycznie wyłącznie pożądanego regioizomeru adduktu i szeroko otworzyło możliwość realizacji całego projektu. Dodatkowo oczyściłem białko (preparat handlowy nie działał), lipazę z *Candida rugosa* i z powodzeniem zastosowałem ją do syntezy enancjomerycznie

czystego aldehydu, właśnie tego substratu do reakcji Reformackiego. Pewnie dlatego, w publikacji, ówczesny mój szef (CJS) umieścił moje nazwisko na początku. Przygotowałem także manuskrypt publikacji [13].

14. **Salamończyk, G. M.**; Rehnberg, N.; Krawiecka, B.; Michalski, J.
Application of the Arbusov Reaction for the Synthesis of Phosphonate Analogues of *myo*-Inositol 1,2-bis and 1,2,6-trisphosphates and Methyl α -D-mannopyranoside 2,3,4-triphosphate
Tetrahedron Lett. **1997**, 38, 647-650.

Udział własny w całości pracy: 50%

IF = 2.68

NOC = 7

Mój udział w publikacji [14] polegał na zaplanowaniu strategii otrzymania związków docelowych oraz wykonaniu całej pracy eksperymentalnej (syntetycznej i analitycznej).

15. Guo, Z. W.; **Salamończyk, G. M.**; Han, K.; Machiya, K.; Sih, C. J.
Enzymatic Oxidative Phenolic Coupling.
J. Org. Chem. **1997**, 62, 6700-6701.

Udział własny w całości pracy: 25%

IF = 4.45

NOC = 28

Mój udział w publikacji [15] polegał na otrzymaniu odpowiednich substratów, koniecznych do badania tytułowych reakcji enzymatycznych oraz na testowaniu przydatności enzymów do tej pracy.

16. **Salamończyk, G. M.**; Oza, B. V.; Sih, C. J.
A Concise Synthesis of Thyroxine (T₄) and 3,5,3'-Triiodo-L-thyronine (T₃).
Tetrahedron Lett. **1997**, 40, 6965-6968.

Udział własny w całości pracy: 80%

IF = 2.68

NOC = 18

Jedna z moich najcenniejszych i ulubionych publikacji. W największym skrócie, diiodopochodna 1-oksaspiro[2,5]bicyklookta-4,7-dien-6-onu, reagowała czysto z całkowicie nieblokowaną 3,5 diiodo-L-tyroziną w wodzie (pH 8) dając ilościowo L-tyroksynę (główny hormon tarczycy) z wydajnością (wydzielonego produktu) 94%. Bywa cytowana jako „synteza tyroksyny metodą Salamonczyka” – patrz strona 45. Mój udział w publikacji [16] polegał na współprojektowaniu i przeprowadzeniu wszystkich eksperymentów oraz na napisaniu manuskryptu komunikatu.

17. Oza, B. V.; **Salamończyk, G. M.**; Guo, Z. W.; Sih, C. J.
Model Reaction of Thyroxine Biosynthesis. Identification of the Key Intermediates in Thyroxine Formation from 3,5-Diiodo-L-tyrosine and 4-Hydroxy-3,5-diiiodophenylpyruvic Acid.
J. Am. Chem. Soc. **1997**, 119, 11315-11316.

Udział własny w całości pracy: 25%

IF = 9.91

NOC = 9

Mój udział w publikacji [17] polegał na otrzymaniu odpowiednich substratów, koniecznych do przeprowadzenia opisanych badań oraz na wykryciu i identyfikacji jednego z produktów pośrednich badanych reakcji.

18. Guo, Z. W.; Machiya, K.; **Salamończyk, G. M.**; Sih, C. J.
Total Synthesis of Bastadins 2,3, and 6.
J. Org. Chem. **1998**, *63*, 4269-4276.

Udział własny w całości pracy: 30%

IF = 4.45
NOC = 33

Mój udział w publikacji [18] polegał na syntezie odpowiednich oksymów, substratów kluczowych do otrzymania tytułowych makrocykli oraz na testowaniu reakcji enzymatycznych.

19. H[1] **Salamończyk, G. M.***; Kuźnikowski, M.; Skowrońska, A.*
A Divergent Synthesis of Thiophosphate-Based Dendrimers.
Tetrahedron Lett. **2000**, *41*, 1643-1645.

Udział własny w całości pracy: 86%

* Autor korespondencyjny
IF = 2.68
NOC = 24

Wymyśliłem cały projekt. Wykonałem praktycznie całą pracę eksperymentalną. Napisałem i wysłałem publikację {19, H[1]}. Korespondowałem z edytorem, redagowałem odpowiedzi na recenzje oraz wykonałem korektę publikacji.

20. H[2] **Salamończyk, G. M.***; Kuźnikowski, M.; Poniatowska E.
Synthesis and Oxygenation of Selenophosphate Dendrimers
Chem. Commun. **2001**, 2202-2203.

Udział własny w całości pracy: 80%

* Autor korespondencyjny
IF = 6.17
NOC = 17

Wymyśliłem cały projekt. Kierowałem wszystkimi pracami projektu, przy czym osobiście wykonałem zdecydowaną większość prac eksperymentalnych. Napisałem i wysłałem publikację {20, H[2]}. Korespondowałem z edytorem, redagowałem odpowiedzi na recenzje oraz wykonałem korektę publikacji.

21. H[3] **Salamończyk, G. M.***; Kuźnikowski, M.; Poniatowska E.
Dendrimers Bearing Three Types of Branching Functions.
Tetrahedron Lett. **2002**, *43*, 1747-1749.

Udział własny w całości pracy: 85%

* Autor korespondencyjny
IF = 2.68
NOC = 19

Wymyśliłem cały projekt. Kierowałem wszystkimi pracami projektu, przy czym osobiście wykonałem zdecydowaną większość prac eksperymentalnych. Napisałem i wysłałem publikację {21, H[3]}. Korespondowałem z edytorem, redagowałem odpowiedzi na recenzje oraz wykonałem korektę publikacji.

22. H[4] Poniatowska, E.; **Salamończyk, G. M.***
Phosphite Dendrimers and their Organometallic Derivatives.
Tetrahedron Lett. **2003**, *44*, 4315-4317.

Udział własny w całości pracy: 75%

* Autor korespondencyjny
IF = 2.68
NOC = 10

Wymyśliłem cały projekt. Kierowałem wszystkimi pracami projektu. Większość prac eksperymentalnych wykonała pani mgr inż. E. Poniatowska. Napisałem i wysłałem publikację {22, H[4]}. Korespondowałem z edytorem, redagowałem odpowiedzi na recenzje oraz wykonałem korektę publikacji.

23. H[5] **Salamończyk, G. M.**

Acyclovir Terminated Thiophosphate Dendrimers
Tetrahedron Lett. **2003**, 44, 7449-7453.

Udział własny w całości pracy: 100%

IF = 2.68

NOC = 12

Wszystkie prace intelektualne, eksperymentatorskie i redakcyjne do publikacji {23, H[5]} wykonałem osobiście. Jestem jej wyłącznym autorem.

24. Domański, D. M.; Bryszewska, M; **Salamończyk, G. M.**

Preliminary Evaluation of the Behavior of Fifth-generation Thiophosphate Dendrimer in Biological Systems.
Biomacromolecules **2004**, 5, 2007-2012.

Udział własny w całości pracy: 50%

IF = 5.48

NOC = 11

Mój udział w publikacji [24] polegał na syntezie dendrymeru tiofosforanowego generacji 5 (teoretyczna masa cząsteczkowa 25026), posiadającego na powierzchni 96 grup hydroksylowych.

25. **Salamończyk, G. M.**

Reactivity Inside a Selenophosphate Dendrimer.
Phosphorus, Sulfur and Silicon **2005**, 180:3, 1051-1056.

Udział własny w całości pracy: 100%

IF = 0.72

NOC = 1

Wykonałem wszystkie prace związane z publikacją [25]. Jestem jej wyłącznym autorem.

26. H[6] **Salamończyk, G. M.**

Synthesis of New Dendrimers - Trimesic Acid Derivatives.
Tetrahedron Lett. **2011**, 52, 155-158.

Udział własny w całości pracy: 100%

IF = 2.68

NOC = 5

Wszystkie prace intelektualne, eksperymentatorskie i redakcyjne związane z publikacją {26, H[6]} wykonałem osobiście. Jestem jej wyłącznym autorem.

27. H[7] **Salamończyk, G. M.**

New Water-soluble Polyanionic Dendrimers - Phosphoric and 1,3,5-Benzenetricarboxylic Acid Derivatives.
Tetrahedron **2012**, 68, 10209-10217.

Udział własny w całości pracy: 100%

IF = 3.06

NOC = 0 – jest jeszcze zbyt wcześnie na jakiegokolwiek cytowania.

Wszystkie prace intelektualne, eksperymentatorskie i redakcyjne związane z publikacją {27, H[7]} wykonałem osobiście. Jestem jej wyłącznym autorem.

Publikacje w czasopismach spoza listy filadelfijskiej

28. Bruzik, K. S.; **Salamończyk, G. M.**
Fosforany Inozytoli. Synteza, struktura oraz funkcja w systemie sygnalizacji w komórce.
Wiadomości Chem. **1989**, 43, 527-552.

Łączny *Impact Factor* dla publikacji stanowiących rozprawę habilitacyjną {H[1]-H[7]} wynosi **22.63** (obliczony na podstawie danych z kwietnia 2013 roku). Średnia wartość *Impact Factor* w przeliczeniu na jedną pracę wynosi **3.23**.

WYKŁADY NAUKOWE NA ZAPROSZENIE

1. **Salamończyk, G. M.**; Kuźnikowski, M.; Poniatowska E. The Synthesis of Dendrimers, Phosphoric Acid Derivatives. French-Polish Scientific Workshop, Łódź, listopad 2003.
2. **Salamończyk, G. M.** Reactivity Inside a Selenophosphate Dendrimer. IX International Conference on the Chemistry of Selenium and Tellurium, Bombay, Indie, luty 2004.
3. **Salamończyk, G. M.** Synthesis and Application of Phosphorus-Based Dendrimers. IV International Symposium on Selected Problems of the Chemistry of Acyclic and Cyclic Heteroorganic Compounds. Częstochowa, listopad 2004.

KOMUNIKATY NAUKOWE

Postery, komunikaty ustne, prezentowane po doktoracie

1. **Salamończyk, G. M.**; Pietrusiewicz, K. M. Synteza Enancjomerycznie Czystych Fosforanów *mio*-Inozytoli i Ich Analogów. I Ogólnopolskie Sympozjum Chemii Organicznej (OSCO I), Serock, listopad 1991.
2. **Salamończyk, G. M.**; Han, K.; Guo, Z. W.; Sih, C. J. Chemoenzymatic Synthesis of Cryptophycins. Biennial School of Pharmacy Meeting, Madison, WI, USA, wrzesień 1996.
3. Guo, Z. W.; **Salamończyk, G. M.**; Sih, C. J. Enzymatic Oxidative Phenolic C-O Coupling. The Total Synthesis of Macrocyclic Bastadin 6. NATO Advanced Study Institute, Enzymes in Heteroatom Chemistry. Nijmegen, Holandia, czerwiec 1999.
4. **Salamończyk, G. M.**; Kuźnikowski, M.; Skowrońska, A. A Divergent Synthesis of Thiophosphate Dendrimers. The 11th European Symposium on Organic Chemistry (ESOC-11). Göteborg, Szwecja, lipiec 1999.

5. **Salamończyk, G. M.**; Kuźnikowski, M.; Skowrońska, A. A Divergent Synthesis of Thiophosphate Dendrimers. The First International Dendrimer Symposium (Ids-1). Frankfurt/Main, Niemcy, październik 1999.
6. **Salamończyk, G. M.**; Kuźnikowski, M.; Skowrońska, A. Rozbieżna Synteza Dendrymerów Tiofosforanowych. II Ogólnopolskie Sympozjum Sekcji Chemii Heteroorganicznej PTChem. Łódź, listopad 1999.
7. **Salamończyk, G. M.**; Kuźnikowski, M.; Poniatowska E. The Synthesis of Dendritic Polyphosphates, Polythionophosphates and Polyselenophosphates. The Sixth International Conference on Heteroatom Chemistry (ICHAC-6). Łódź, czerwiec 2001.
8. **Salamończyk, G. M.**; Kuźnikowski, M.; Poniatowska E. Synthesis, Properties and Analysis of Dendritic Phosphoric Acid Derivatives. The 12th European Symposium on Organic Chemistry (ESOC-12). Groningen, Holandia, lipiec 2001.
9. **Salamończyk, G. M.**; Kuźnikowski, M.; Poniatowska E. Synteza Dendrytycznych Polifosforanów, Poltiofosforanów i Poliselenofosforanów. XLIV Zjazd Naukowy PTChem, Katowice, wrzesień 2001.
10. **Salamończyk, G. M.**; Kuźnikowski, M.; Poniatowska E. Reactivity Inside a Selenophosphate Dendrimer. The Second International Dendrimer Symposium (Ids-2), Tokio, Japonia, październik 2001.
11. **Salamończyk, G. M.**; Kuźnikowski, M.; Poniatowska E. Synteza Dendrytycznych Polifosforanów, Poltiofosforanów i Poliselenofosforanów. IV Ogólnopolskie Sympozjum Sekcji Chemii Heteroorganicznej PTChem, Łódź, listopad 2001.
12. **Salamończyk, G. M.**; Kuźnikowski, M.; Poniatowska E. Reaktywność Wewnątrz Dendrymeru Selenofosforanowego. VI Ogólnopolskie Sympozjum Chemii Organicznej (OSCO VI). Łódź, kwiecień 2002.
13. **Salamończyk, G. M.**; Kuźnikowski, M.; Poniatowska E. Synteza Dendrymerów Fosforoorganicznych przy Użyciu Związków Trikoordynacyjnego Fosforu. XLV Zjazd PTChem, Kraków, wrzesień 2002.
14. **Salamończyk, G. M.**; Kuźnikowski, M.; Poniatowska E. Synteza Dendrymerów, Pochodnych Kwasów Fosforu. V Ogólnopolskie Sympozjum Sekcji Chemii Heteroorganicznej PTChem, Łódź, listopad 2002.
15. **Salamończyk, G. M.** Acyclovir Terminated Thiophosphate Dendrimers. XLV Zjazd PTChem, Lublin, wrzesień 2003.
16. **Salamończyk, G. M.** Dendrymery Fosforoorganiczne o Działaniu Przeciwwirusowym. IX Ogólnopolskie Sympozjum Sekcji Chemii Heteroorganicznej PTChem, Łódź listopad 2006.

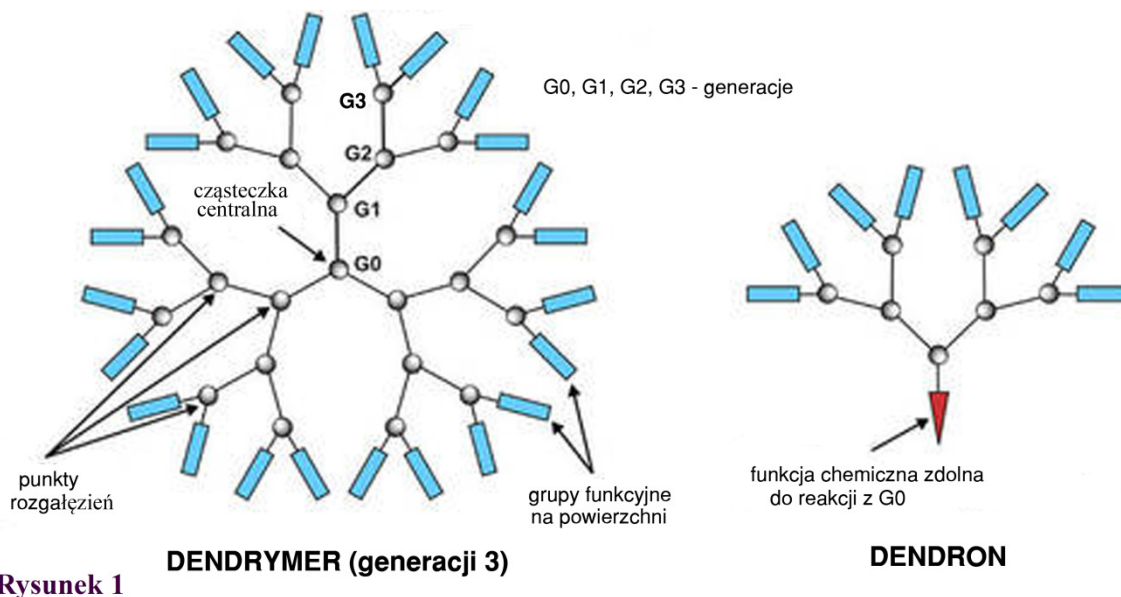
17. Krawczyk, E; Salamończyk, G. M. Selenium as a Tool for the Syntheses of Traditional and Macromolecular Organophosphorus Compounds. Tenth International Conference on the Chemistry of Selenium and Tellurium, Łódź, czerwiec 2007.
18. Salamończyk, G. M. Synteza Dendrymerów Pochodnych Kwasów 1,3,5 - Benzenotrikarboksylowego i Fosforowego. XI Ogólnopolskie Sympozjum Postępy w Chemii Połączeń Heteroorganicznych, Łódź, listopad 2008.
19. Salamończyk, G. M. Dendrymery, Pochodne Kwasu Fosforowego i Benzenotrikarboksylowego. LII Zjazd PTChem, Łódź, wrzesień 2009.
20. Salamończyk, G. M. Grupy Blokujące Funkcje Hydroksylowe i Karboksylowe w Syntezie Dendrymerów Pochodnych Kwasów 1,3,5 - Benzenotrikarboksylowego i Fosforowego. XII Ogólnopolskie Sympozjum Postępy w Chemii Połączeń Heteroorganicznych, Łódź, listopad 2009.
21. Salamończyk, G. M. Synteza Polianionowych Dendrymerów Pochodnych Kwasu Fosforowego. XIII Ogólnopolskie Sympozjum Postępy w Chemii Połączeń Heteroorganicznych, Łódź, listopad 2010.
22. Salamończyk, G. M. Synteza Nowych Dendrymerów Posiadających Różne Funkcje Chemiczne w Obrębie Tej Samej Makrocząsteczki. XIV Ogólnopolskie Sympozjum Postępy w Chemii Połączeń Heteroorganicznych, Łódź, listopad 2011.
23. Salamończyk, G. M. New Water-soluble, Layered Dendrimers. XV International Symposium Advances in the Chemistry of Heteroorganic Compounds, Łódź, listopad 2012.

OMÓWIENIE NAJWAŻNIEJSZYCH OSIĄGNIĘĆ ZAWARTYCH W PRACACH PRZEDSTAWIONYCH DO HABILITACJI

Przedstawiony cykl prac pt. „*Synteza Dendrymerów – Poliestrów, Pochodnych Kwasu Fosforowego i 1,3,5–Benzenotrikarboksylowego*” obejmuje 7 publikacji, które są oznaczone symbolami [H1– H7].

Wprowadzenie

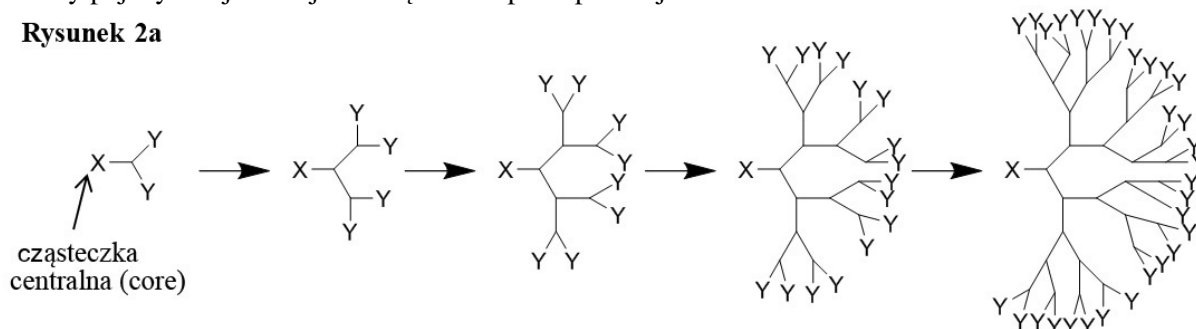
Dendrymery, silnie rozgałęzione, monodispersyjne polimery stanowią jedną z najważniejszych i najszybciej rozwijających się gałęzi współczesnej chemii organicznej. Związki te tworzą stosunkowo nową, unikalną klasę nienaturalnych makrocząsteczek, które posiadają idealnie uporządkowaną strukturę, a przy odpowiednio dużym rozmiarze przyjmują kształt zbliżony do kulistego (Rysunek 1), podobnie jak białka globularne.¹ Ich wymiary podaje się w nanometrach, przyjmuje się, że średnice sferycznych dendrymerów są rzędu od kilku do kilkunastu nanometrów.



Rysunek 1

Podstawowymi cechami charakterystycznymi dendrymerów jest występowanie rozgałęzień w każdej tak zwanej generacji (jednostce monomeru), a także obecność wielu grup funkcyjnych na ich powierzchni. Generacje w cząsteczce dendrymeru układają się kolejno, warstwowo jak np. liście w kapuście czy cebuli. Na przykład, prosty dendrymer złożony wyłącznie z centralnej trójfunkcyjnej cząsteczki - jądra oraz trzech rozgałęzionych monomerów jest dendrymerem pierwszej generacji. W następnych etapach przyłączyć można kolejno 6, 12, 24, 48 itd. cząsteczek monomerów do tej samej, rosnącej cząsteczki, otrzymując dendrymery odpowiednio drugiej, trzeciej, czwartej i piątej generacji itd. Warto zauważyć, że masa dendrymeru drastycznie rośnie z każdą generacją, a jego właściwości coraz bardziej odstają od właściwości typowych dla polimerów liniowych. W odróżnieniu od klasycznych polimerów, (otrzymywanych na drodze reakcji polimeryzacji) dendrymery posiadają ściśle określony ciężar cząsteczkowy. W ostatnim piętnastolecu dokonał się znaczny postęp w dziedzinie dendrymerów, która to przybrała charakter multidyscyplinarny. Wiele dendrymerów posiada bardzo interesujące własności fizyczne, (np. wyjątkowo dobra, jak na makrocząsteczki, rozpuszczalność) dzięki którym znalazły już pewne zastosowania.² Pominąwszy wyzwania czysto poznawcze i syntetyczne, to szerokie możliwości ich wykorzystania wydają się być czynnikiem stymulującym szybki rozwój tej dziedziny. Poczesne miejsce na tym polu zajmują badania nad wykorzystaniem ich w medycynie i farmacji.³ W przeciwieństwie do tradycyjnych leków, dendrymery posiadające wielką ilość grup funkcyjnych na powierzchni mogą zaoferować unikalne właściwości takie jak jednoczesne wiązanie się z kilkoma receptorami, co jest ogromną zaletą w porównaniu z tradycyjnym lekiem, który w przypadku choćby pojedynczej mutacji w obrębie receptora przestaje działać.

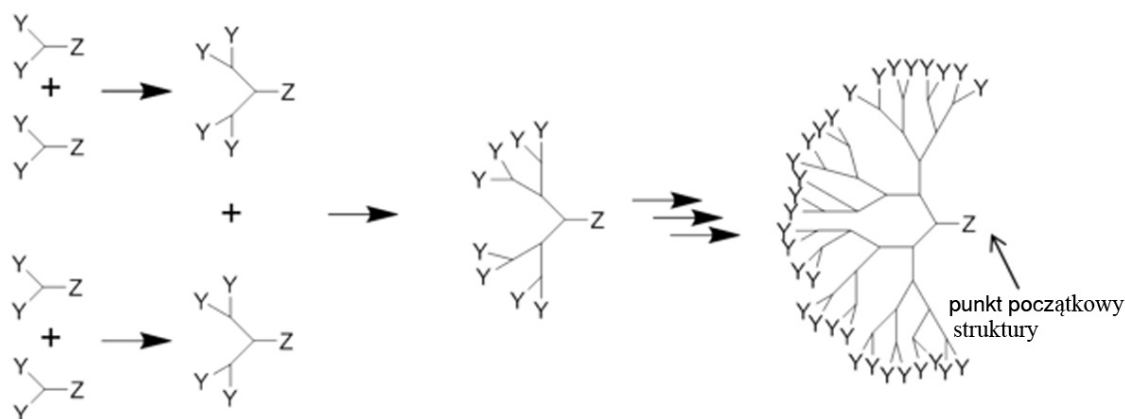
Rysunek 2a



Istnieją dwie podstawowe metody syntezy dendrymerów. Synteza rozbieżna (Rysunek 2a), która przypomina rozrastanie i rozgałęzianie się drzewa, polega na syntezowaniu od centralnej cząsteczki-

jądra (na ogół trójfunkcyjnej) w kierunku 'na zewnątrz'. W drugiej metodzie, zwanej zbieżną, kierunek działania jest odwrotny (Rysunek 2b). Syntezę prowadzi się od zewnętrznych fragmentów dendrymeru, zwanych dendronami, przez zbieżne przyłączanie kolejnych jednostek strukturalnych w kierunku punktu początkowego struktury. Do syntez używa się głównie monomerów trójfunkcyjnych. Otrzymywanie tak dużych i regularnych struktur, jak dendrymer, nie jest procesem łatwym.

Rysunek 2b



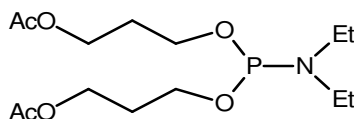
Niemalże zainteresowanie towarzyszy również syntezie dendrymerów zawierających w swej strukturze heteroatomy takie jak azot, krzem, bor, siarka, a przede wszystkim fosfor.⁴ Dendrymery posiadające w punktach rozgałęzień lub/i na powierzchni grupy aminowe lub/i fosfinowe stanowią ważną klasę wielozębnych ligandów, które to są prekursorami polikompleksów z metalami przejściowymi szeroko zastosowanych w katalizie, w tym także asymetrycznej. Ponieważ cząsteczki dendrymerów posiadają znaczne, nanometrowe rozmiary, w porównaniu z typowymi cząsteczkami organicznymi, katalizatory będące kompleksami dendrymerów z metalami przejściowymi mogą być rozważane, jako faza pośrednia między katalizatorami homogennymi, a heterogennymi.^{2b} Dysponując odpowiednimi filtrami można po prostu oddzielić makrocząsteczkowy katalizator (np. celem zawrócenia) od reszty mieszaniny reakcyjnej.

W PEŁNI ORYGINALNA SYNTEZA NOWYCH DENDRYMERÓW TIOFOSFORANOWYCH – H[1].

Pod koniec lat dziewięćdziesiątych ubiegłego wieku, po powrocie ze stażu z USA, postanowiłem po raz kolejny zmienić tematykę badawczą. Właśnie w tym czasie, w literaturze chemicznej można było zauważyć drastyczny wzrost ilości publikacji poświęconych badaniom nad otrzymaniem, analizą i zastosowaniem dendrymerów. Wówczas w Polsce jeszcze nikt nie przeprowadził totalnej syntezy nowego, nieznanego dendrymeru. Co więcej, uzyskałem pełną zgodę ówczesnego kierownika Zakładu Związków Heteroorganicznych CBMiM PAN prof. Aleksandry Skowrońskiej na podjęcie badań w dziedzinie syntezy dendrymerów fosforoorganicznych. Pionierem w dziedzinie syntezy dendrymerów⁴ mających w kluczowych miejscach atomy fosforu jest prof. Jean-Pierre Majoral z współpracownikami z Laboratorium Chemii Koordynacyjnej CNRS, Tuluza, Francja. Ogólnie, dendrymery otrzymywane w zespole Majorala można nazwać polihydrazydami fosforoorganicznymi.

Pracując w ramach doktoratu nad syntezą fosforanów inozytolu^{5a} i ich analogów oraz syntezą tiofosforanowych analogów fosfolipidów^{5b} zdobyłem spore doświadczenie w pracy z pochodnymi amidów kwasu fosforowego.⁶ Związki te, jak powszechnie wiadomo są niezwykle reaktywnymi odczynnikami fosfitylującymi, (przede wszystkim alkohole) dzięki którym możliwa jest wysoce efektywna i nawet automatyczna synteza⁷ (zwana metodą amidofosforynową) wybranych

Autoreferat

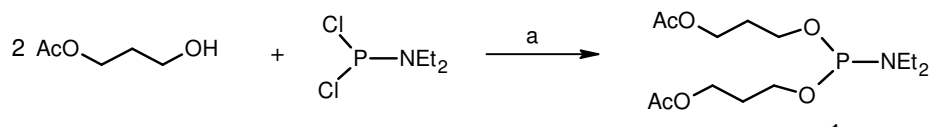


1

Rysunek 3

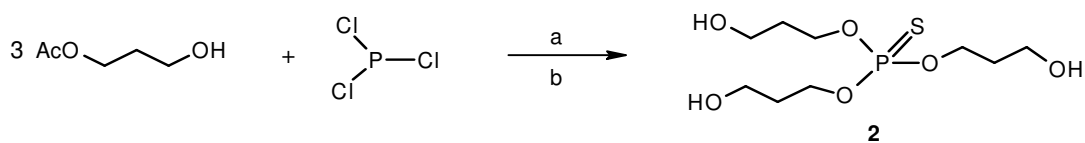
biofosforanów, w tym przede wszystkim kwasów nukleinowych i ich analogów. W związku z powyższym postanowiłem spróbować totalnej syntezy dendrymerów fosforoorganicznych w oparciu o metodę amidofosforynową.⁸ W tym celu zaprojektowałem, a następnie otrzymałem odpowiedni związek trójfunkcyjny, bis(3-acetoksypropoksy)-*N,N*-dietyloaminofosfinę (**1**), (Rysunek 3) która w zamyśle miała zostać monomerem późniejszego dendrymeru. Związek **1** reprezentuje klasyczny monomer typu AB₂, gdzie grupą A jest aktywna grupa amidofosforynowa, a grupą B jest zablokowana grupa hydroksylowa, tak aby grupa A mogła wyłącznie reagować z wolną grupą hydroksylową poprzedniej generacji syntetyzowanego dendrymeru.

Efektywna i wydajna synteza amidu **1** nie byłaby możliwa bez łatwego dostępu do monoocetanu 1,3-propandiolu. Związek ten jak i inne selektywnie monoacetylowane α,ω -alkanodiole (C4, C5, C6) otrzymaliśmy w oparciu o znakomitą procedurę opisaną przez Nishiguchiego i współprac.⁹ Procedura powyższa polega na przeniesieniu grupy acetylowej z octanu etylu na odpowiedni alkanodiol w obecności kwaśnego siarczanu sodu osadzonego na żelu krzemionkowym.



Schemat 1. Warunki i odczynniki: (a) trietyloamina, eter etylowy, od -40°C do temp. pok.

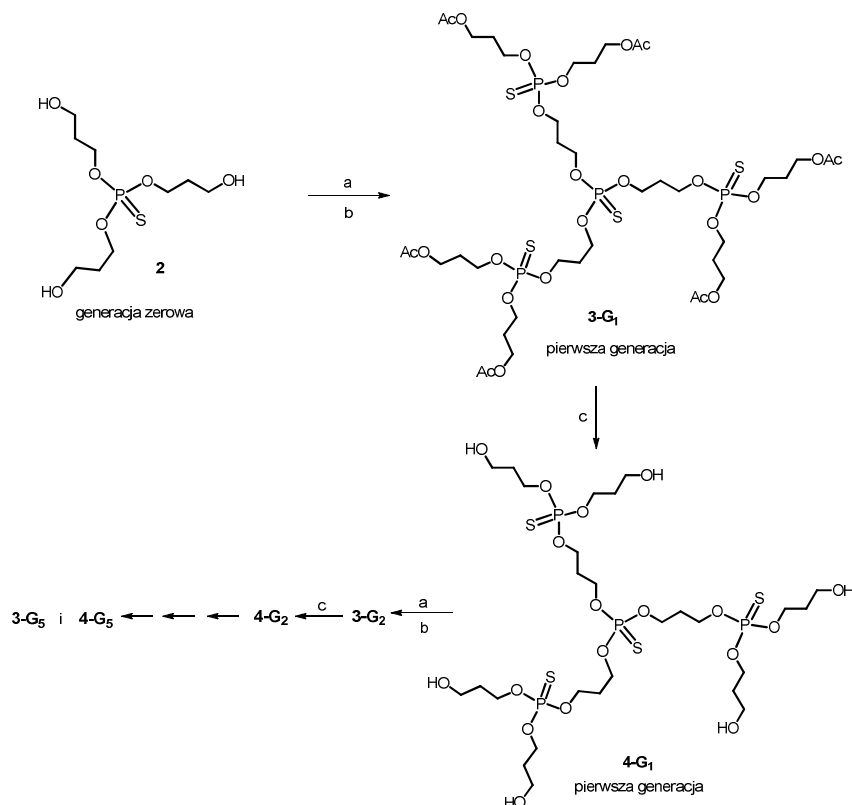
Otrzymywanie amidu **1** jest bardzo proste i polega na kondensacji handlowo dostępnej (lub łatwo otrzymanej z trichlorku fosforu i dietyloaminy) 1,1-dichloro-*N,N*-dietyloaminofosfiny z monoocetaniem propandiolu w obecności trietyloaminy. (Schemat 1)



Schemat 2. Warunki i odczynniki: (a) 1. trietyloamina, benzen, 2. S₈; (b) NH₃/MeOH.

Preparat spektralnie czysty otrzymałem z wydajnością 75% destylując surowy amid **1**. Drugi kluczowy substrat, związek trifunkcyjny, tionofosforan 3-hydroksypropylu (**2**), będący generacją zerową przyszłego dendrymeru uzyskałem, stosując procedurę „one-pot” w reakcji kondensacji trichlorku fosforu z trzema równoważnikami monoocetanu propandiolu, w obecności trietyloaminy, następczym dodaniu siarki elementarnej i wreszcie usunięciu końcowych grup acetylowych stosując roztwór amoniaku w metanolu. (Schemat 2) Całkowita wydajność trzyetapowej procedury wyniosła 80%. Związek **2** został oczyszczony na drodze chromatografii kolumnowej przy użyciu niewielkiej ilości żelu krzemionkowego.

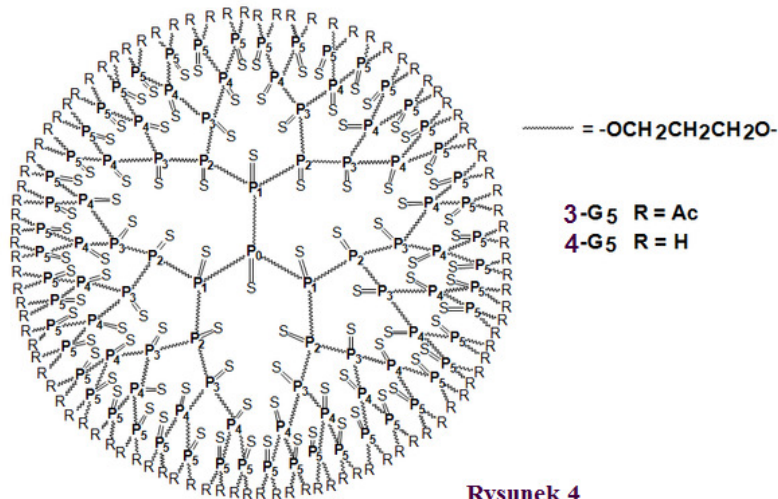
Autoreferat



Schemat 3. Warunki i odczynniki: (a) Et₂NP[O(CH₂)₃OAc]₂ (**1**), CH₂Cl₂, tetrazol; (b) S₈; (c) NH₃ w MeOH.

Dendrymery **3-G₅** i **4-G₅** (generacja 5, teoretyczne masy cząsteczkowe, odpowiednio 24061 oraz 20025) (Rysunek 4) zostały otrzymane poprzez powtarzanie strategii syntetycznej pokazanej na Schemacie 3. Kluczowy etap budowy szkieletu dendrymeru polega na katalizowanej kwasem alkoholizie amidofosforynu **1**. I tak, triol **2** reagował z nadmiarem amidu **1**, w obecności tetrazolu, w roztworze bezwodnego chlorku metylenu, co doprowadziło do utworzenia odpowiedniego trisfosforynu oraz soli tetrazoliowej dietyloaminy. Addycja elementarnej siarki do surowej mieszaniny reakcyjnej

Struktura tiofosforanowych dendrymerów generacji 5

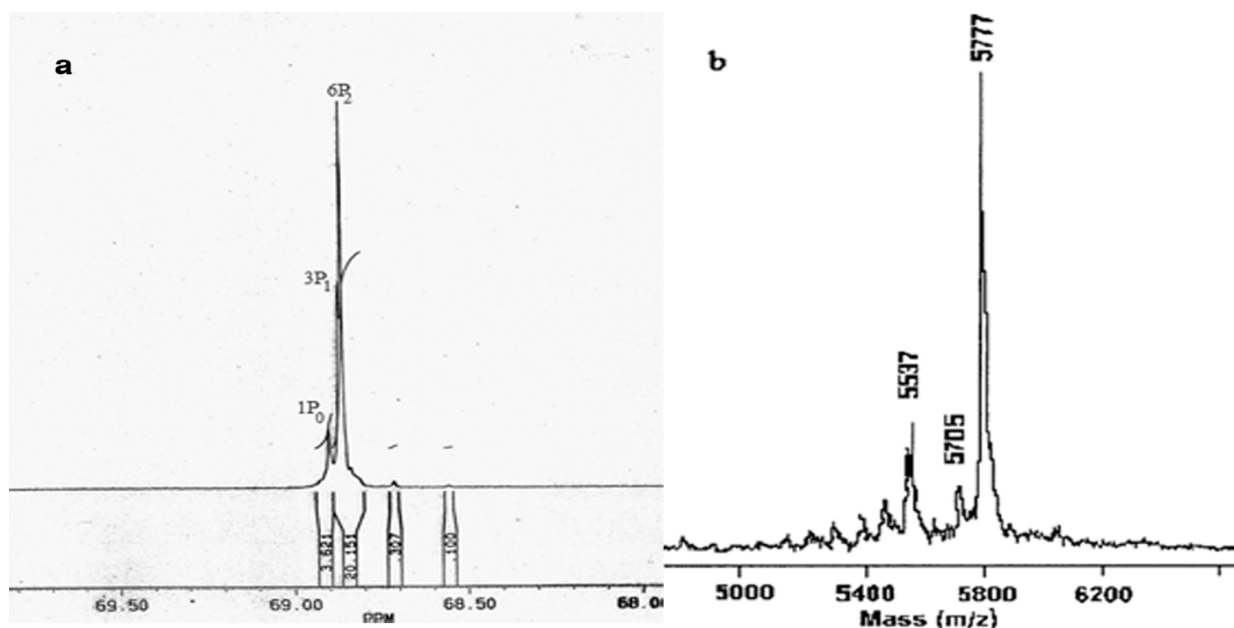


Rysunek 4

doprowadziła do otrzymania odpowiedniego w pełni zablokowanego tiofosforanu **3-G₁** z wysoką wydajnością. Ilościowe odblokowanie sześciu grup hydroksylowych w **3-G₁** przeprowadzono za pomocą roztworu amoniaku w metanolu, co doprowadziło do uzyskania heksolu **4-G₁**. Należy nadmienić, że wszystkie powyższe reakcje prowadzone były w temperaturze pokojowej. W analogiczny

sposób otrzymano dendrymery drugiej, trzeciej, czwartej i piątej generacji. Dendrymery **3-G_n** były oczyszczane poprzez przepuszczenie surowej mieszaniny reakcyjnej przez cienką warstwę żelu krzemionkowego przy użyciu mieszaniny chlorku metylenu i acetonu, (w proporcjach uzależnionych od wielkości dendrymeru) jako eluentu. Natomiast dendrymery z wolnymi grupami hydroksylowymi na powierzchni były używane do dalszych celów bez oczyszczania.

Wysoka czystość otrzymanych dendrymerów była rygorystycznie potwierdzona przy zastosowaniu nowoczesnych technik analitycznych takich jak magnetyczny rezonans jądrowy dla jąder ¹H, ¹³C i ³¹P, czy spektroskopia masowa MALDI TOF MS. Rysunek 5a przedstawia widmo (fragment zawierający linie rezonansowe) ³¹P NMR zablokowanego dendrymeru **3-G₂**. Widoczne jest magnetyczne zróżnicowanie atomów fosforu w zależności od położenia w strukturze kaskadowej cząsteczki. Rysunek

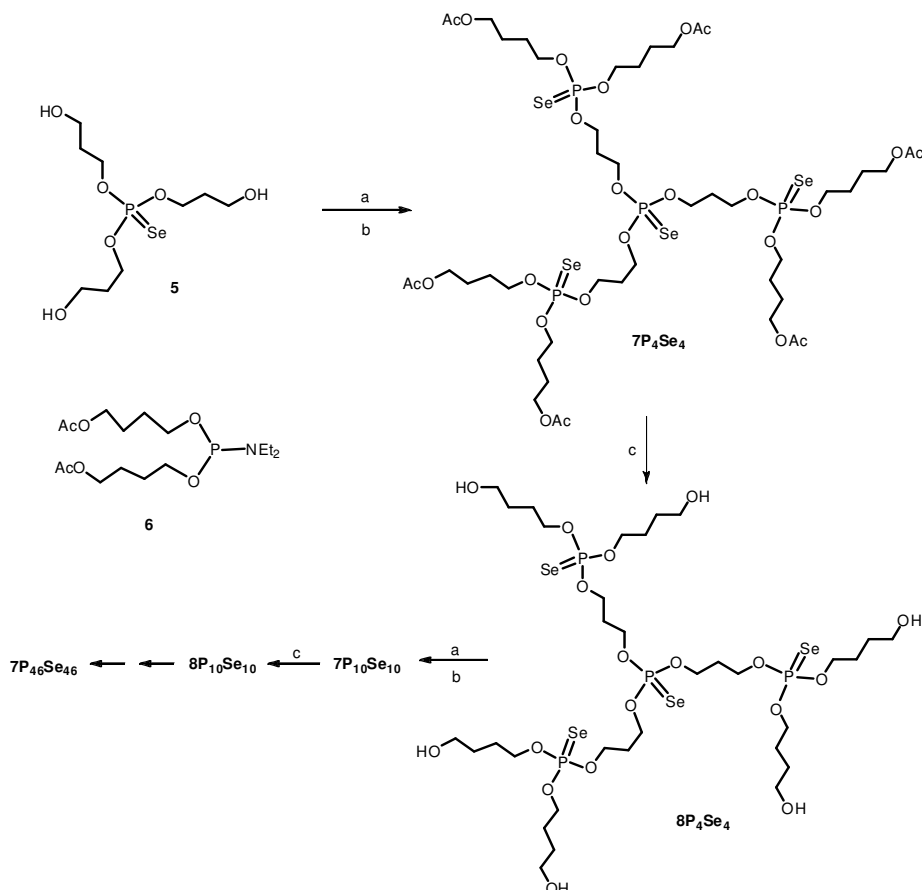


Rysunek 5. (a) Fragment widma ³¹P NMR związku **3-G₂**; (b) fragment widma MALDI TOF MS związku **3-G₃**.

5b natomiast przedstawia interesujący fragment widma masowego związku **3-G₃** wykonanego techniką MALDI TOF MS, która to jak wiadomo jest niezwykle czuła i bezwzględnie uwidacznia wszelkie defekty w budowie makrocząsteczki.¹⁰ Sygnał m/z=5777 (M+Na) odpowiada jonowi molekularnemu (dokładna masa teoretyczna wynosi 5754 Da) badanego dendrymeru.

SYNTEZA I OKSYGENACJA NOWYCH DENDRYMERÓW SELENOFOSFORANOWYCH – H[2].

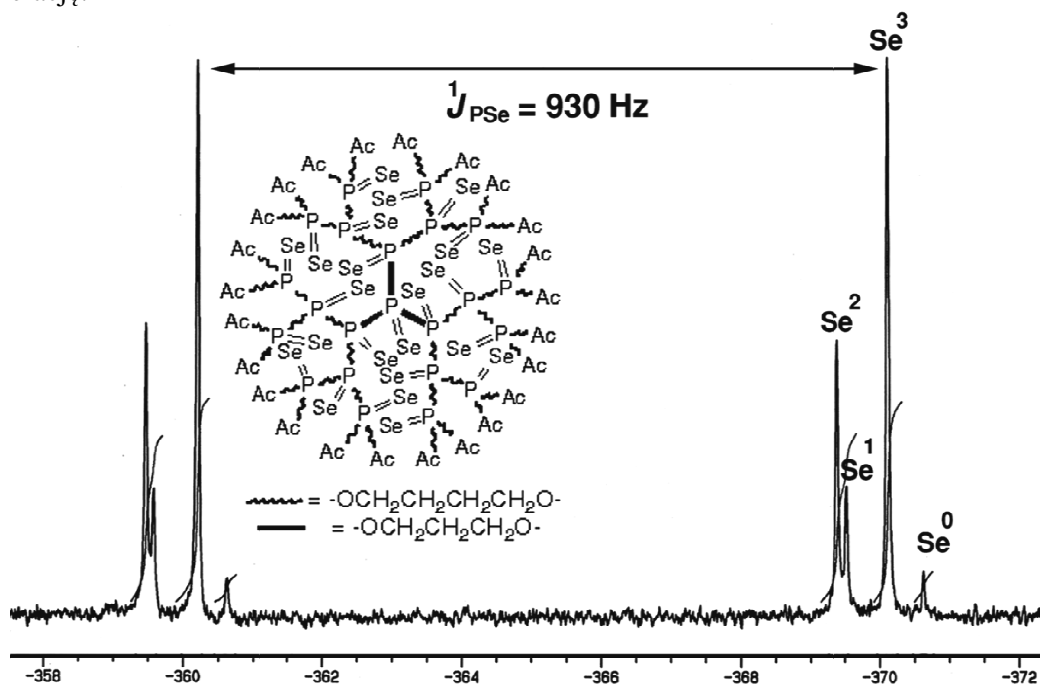
W czasie, kiedy pracowaliśmy nad syntezą dendrymerów fosforoorganicznych, żadne dendrymery zbudowane w oparciu o atomy selenu nie były w ogóle znane. Nasza metodologia syntezy dendrymerów tiofosforanowych posiadała prostą zaletę wprowadzania siarki do szkieletu rosnącego dendrymeru, co pozwalało na uniknięcie mało przydatnych reakcji podstawienia nukleofilowego na centrum tiofosforylowym.



Schemat 4. Synteza dendrymerów selenofosforanowych generacji 1, 2, 3, 4. *Warunki i odczynniki:* (a) $\text{Et}_2\text{NP}[\text{O}(\text{CH}_2)_4\text{OAc}]_2$ (**6**), CH_2Cl_2 , tetrazol; (b) Se, pirydyna; (c) K_2CO_3 w MeOH.

Skoro tak, to wydawało się naturalnym, aby zatem spróbować zsyntetyzować pierwsze dendrymery oparte również na selenie,¹¹ który to pierwiastek, jak udowodniono, wbrew dawnym stereotypom, odgrywa absolutnie istotną rolę w przyrodzie.¹² Materiały wyjściowe, tris(3-hydroksypropyl) selenofosforan (**5**) i bis(4-acetoksybutoksy)-*N,N*-dietyloaminofosfinę (**6**) otrzymaliśmy z wysoką wydajnością z odpowiednich monoocetanów alkanodioli w sposób analogiczny do opisanego w poprzednim punkcie. Należy w tym miejscu dodać, że czterowęglowy łańcuch w związku **6**, a co za tym idzie także w późniejszych produktach został wybrany celowo, aby zademonstrować ogólność naszej metodologii syntezy dendrymerów. Syntezę dendrymerów selenofosforanowych przeprowadziliśmy zgodnie ze Schematem 4. Fosfitylacja triolu **5** za pomocą odpowiedniej ilości amidofosforynu **6**, w obecności tetrazolu prowadzi do powstania odpowiedniego trisfosforynu, który bez wydzielania reagował z czarnym selenem w pirydynie dając w rezultacie, z ilościową wydajnością dendrymer **7P₄Se₄**. Co ciekawe, gdy przyłączaliśmy selen bez pirydyny (analogicznie do przyłączania siarki), obserwowaliśmy zamiast tworzenia się dendrymeru, produkty jego rozkładu. Drugą istotną zmianą, w stosunku do poprzedniej syntezy było zastosowanie węglanu potasu w miejsce amoniaku w reakcji odblokowania peryferyjnych grup hydroksylovych. Odpadł bowiem problem pozbywania się w produktach pewnych ilości acetamidu powstającego w reakcji deacetylowania. W przypadku użycia K_2CO_3 odblokowanie peryferyjnych grup hydroksylovych zachodziło ilościowo, a oczyszczanie dendrymerów zakończonych grupami OH polega (po zubożeniu mieszaniny reakcyjnej za pomocą HCl) wyłącznie na oddzieleniu materiału organicznego od chlorku potasu poprzez wykorzystanie drastycznych różnic w rozpuszczalności w/w związków w acetonie. Sekwencyjne powtórzenie reakcji

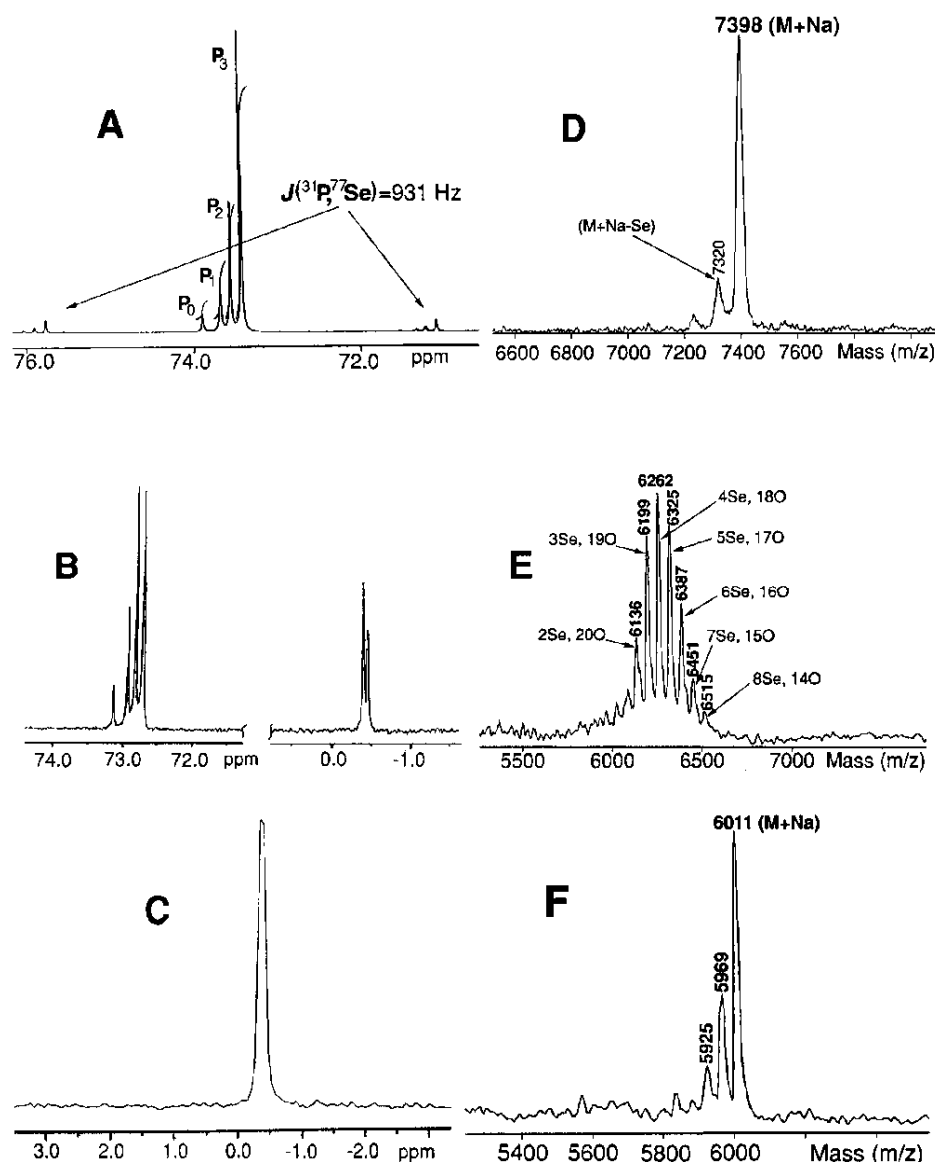
fosfitylacji, przyłączenia selenu i metanolizy grup acetylowych dało odpowiednie dendrymery większe o jedną generację.



Rysunek 6. Widmo ^{77}Se NMR dendrymeru $7\text{P}_{22}\text{Se}_{22}$. Indeksy górne oznaczają położenie atomów selenu w danej generacji.

Wszystkie dendrymery selenofosforanowe okazały się być trwałymi, bezbarwnymi olejami, których gęstość wzrasta wraz ze wzrostem masy cząsteczkowej. Otrzymane dendrymery analizowano rygorystycznie za pomocą metod spektroskopowych, w tym również NMR dla jądra ^{77}Se (Rysunek 6). Dendrymery selenofosforanowe, otrzymane w ramach tego projektu były nie tylko pierwszymi dendrymerami zbudowanymi na bazie selenu, lecz wydają się być największymi syntetycznymi związkami zawierającymi selen, z ciężarem cząsteczkowym (generacja 4, teoretyczna m.c. 15275) porównywalnym z ciężarem naturalnie występujących selenoprotein.¹³

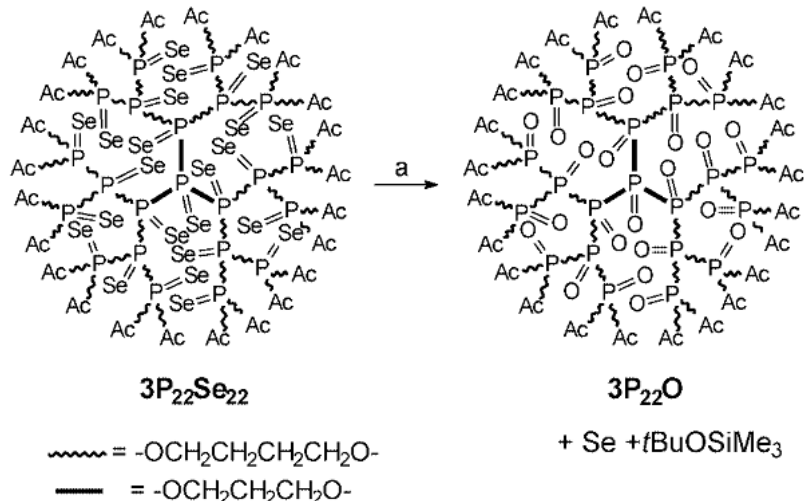
Własności chemiczne dendrymeru selenofosforanowego okazały się, co najmniej intrygujące. Reakcja utleniania tio- i selenofosforanów do odpowiednich związków okso jest dobrze poznana i zachodzi zgodnie z mechanizmem addycji-eliminacji z utworzeniem związków pentakoordynacyjnego fosforu.¹⁴ Dodanie sterycznie rozbudowanego nadtlenu, *tert*-butyloperoksytrimetylosilanu¹⁵ (~8 równ.) do roztworu dendrymeru trzeciej generacji $7\text{P}_{22}\text{Se}_{22}$ doprowadziło do selektywnego utlenienia ($\text{P}=\text{Se} \rightarrow \text{P}=\text{O}$) atomów fosforu, ale tylko w peryferyjnym rozgałęzieniu, wraz z wydzieleniem czerwonego selenu, który wytrącił się z medium reakcyjnego.



Rysunek 7. (A) Widmo $^{31}\text{P}\{1\text{H}\}$ NMR dendrymeru $7\text{P}_{22}\text{Se}_{22}$, (B) widmo $^{31}\text{P}\{1\text{H}\}$ NMR przy $\sim 30\%$ konwersji $7\text{P}_{22}\text{Se}_{22}$ do $7\text{P}_{22}\text{O}_{22}$, (C) widmo $^{31}\text{P}\{1\text{H}\}$ NMR $7\text{P}_{22}\text{O}_{22}$; (D) widmo MALDI TOF MS dendrymeru $7\text{P}_{22}\text{Se}_{22}$, (E) widmo MALDI TOF MS przy $\sim 70\%$ konwersji $7\text{P}_{22}\text{Se}_{22}$ do $7\text{P}_{22}\text{O}_{22}$ (ilości atomów tlenu odnoszą się do atomów fosforylowych), (F) widmo MALDI TOF MS $7\text{P}_{22}\text{O}_{22}$.

Rysunek 7A przedstawia widmo ^{31}P NMR dendrymeru $7\text{P}_{22}\text{Se}_{22}$ (doskonale uwidocznione są różnice przesunięć chemicznych atomów fosforu znajdujących się w poszczególnych generacjach), a rysunek 7D jego widmo MALDI TOF MS. Rysunek 7B przedstawia widmo ^{31}P NMR dendrymeru $7\text{P}_{22}\text{Se}_{22}$, po dodaniu pierwszej porcji $t\text{-BuOOSiMe}_3$. Widać wyraźnie spadek intensywności (o około połowę) linii rezonansowej pochodzącej od atomów fosforu znajdujących się w peryferyjnym rozgałęzieniu. Dodanie większej ilości $t\text{-BuOOSiMe}_3$ przesunęło stopień oksigenacji dendrymeru $7\text{P}_{22}\text{Se}_{22}$ do około 70%. Na tym etapie bardziej przydatne informacje wyciągnęliśmy z analizy widma MALDI TOF MS (Rysunek 7E). Sygnały występujące w tym widmie różnią się od swych sąsiadów dokładnie o 63 jednostki masy atomowej. Wynika to z zastąpienia atomu selenu (79) atomem tlenu (16). Główne produkty przemiany (sygnał środkowy) zawierają cztery atomy selenu, a zatem 18 grup $\text{P}=\text{O}$. Sugeruje to, że większość pozostałego selenu znajduje się dokładnie w samym centrum dendrymeru. Rysunek 7C i 7F przedstawia odpowiednio widma ^{31}P NMR i MALDI TOF MS omawianej mieszaniny

reakcyjnej przy całkowitej ekstruzji selenu. Pełna konwersja hydrofobowego dendrymeru $7P_{22}Se_{22}$ w doskonale rozpuszczalny w wodzie $7P_{22}O$ nastąpiła po upływie 3 dni przy udziale nadmiaru nadtlenu. (Schemat 5) Wydzielenie nowego polifosforanu $7P_{22}O$ wymagało jedynie prostego odsączenia nierozpuszczalnego w medium reakcyjnym czerwonego selenu. Widma C i F (Rys. 7) jednoznacznie wskazują, że nawet śladowa degradacja szkieletu dendrymeru nie miała miejsca.

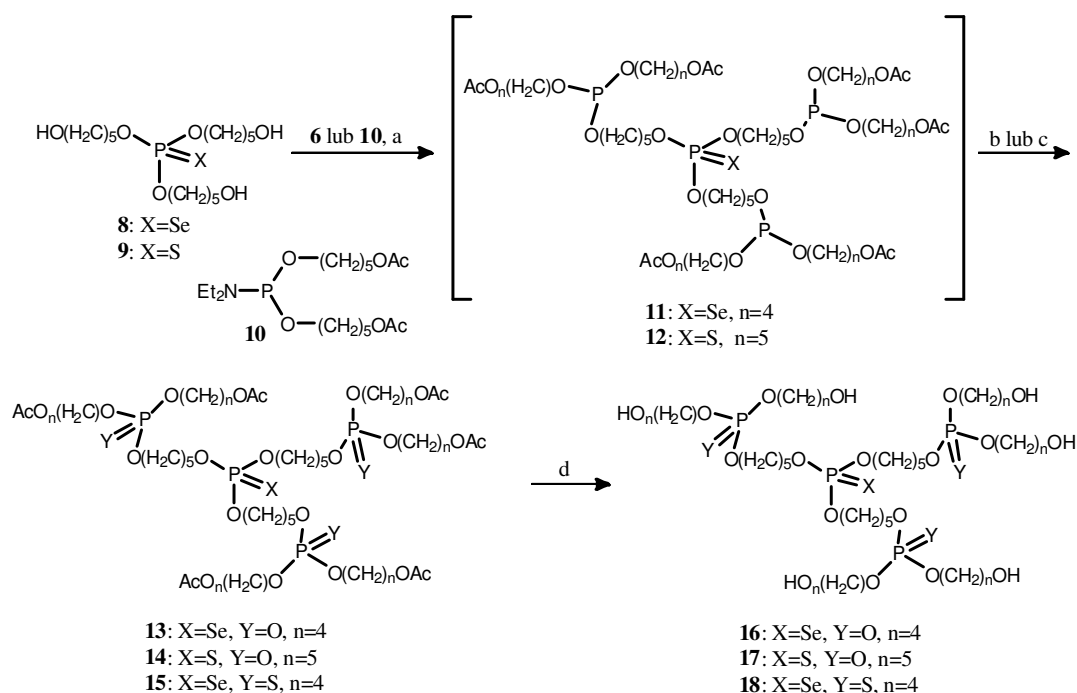


Schemat 5. Oksygenacja dendrymeru trzeciej generacji $7P_{22}Se_{22}$. (a) nadmiar *t*-BuOOSiMe₃, chlorek metylenu.

Ciekawym wydaje się być fakt, że cała konstrukcja dendrytyczna okazała się być dostatecznie giętka aby umożliwić cząsteczce sterycznie rozbudowanego nadtlenu wnikięcie do wnętrza struktury kaskadowej makrocząsteczki. Co więcej, podczas reakcji wszystkie punkty rozgałęzień (atomy fosforu) musiały zmienić swą geometrię z tetraedrycznej do bipiramidy trygonalnej i z powrotem do tetraedrycznej. Należy także w tym miejscu dodać, iż analogiczny dendrymer tiofosforanowy nie ulegał oksygenacji w tych, opisanych, łagodnych warunkach. Omawiana publikacja posiada także materiał dodatkowy (Supplementary Material, dostępny przez Internet na stronie RSC) opisujący szczegółowo część doświadczalną pracy.

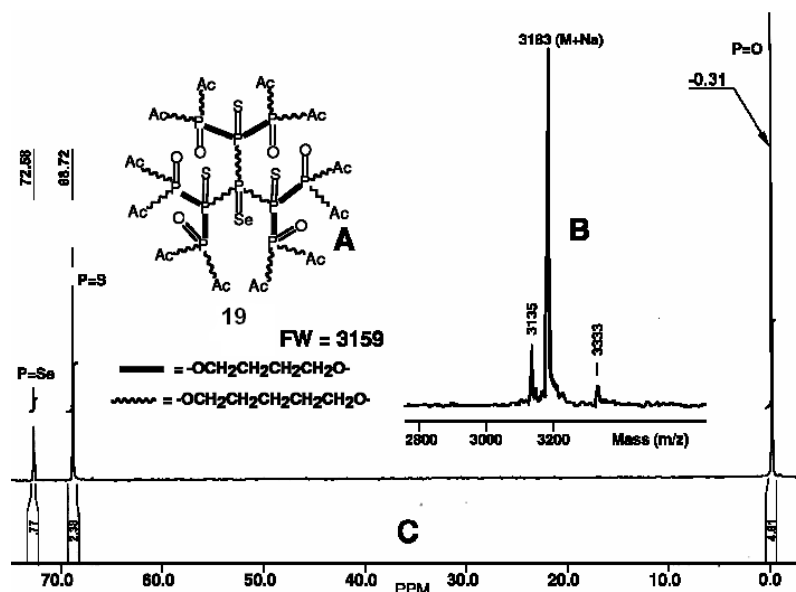
SYNTEZA DENDRYMERÓW POSIADAJĄCYCH TRZY RÓŻNE FUNKCJE CHEMICZNE W PUNKTACH ROZGAŁĘZIEŃ W TEJ SAMEJ MAKROCZĄSTECZCE – H[3].

Niezwykle ważnym problemem w syntezie dendrymerów jest zdolność otrzymywania makrocząsteczek o precyzyjnie „dostrojonej” do danego zapotrzebowania budowie, a co za tym idzie także możliwość kontrolowania własności fizycznych, chemicznych czy biologicznych dendrymeru. Kolejnym zadaniem, które rozwiązaliśmy była synteza dendrymerów posiadających trzy typy funkcji chemicznych w punktach rozgałęzień: P=S, P=O, P=Se w obrębie tej samej cząsteczki. W trakcie tego cyklu badań zastosowaliśmy również alternatywny wobec tetrazolu, oryginalny aktywator wiązania P-N (dla połączeń trikoordynacyjnego fosforu), mianowicie trifluorooctan 2,4,6 – kolidyny. Związek ten tworzy się przez proste zmieszanie 2,4,6 – kolidyny z 1 równoważnikiem kwasu trifluorooctowego w roztworze np. eteru etylowego, z którego to wypada w postaci drobnych, niehigroskopijnych kryształów. Celem ułatwienia posługiwania się nazwą nadaliśmy mu skrót – COLT.



Schemat 6. (a) Tetrazol lub COLT, CH₂Cl₂; (b) *t*-BuOOSiMe₃; (c) S₈; (d) K₂CO₃, MeOH.

Wyjściowe triole **8** i **9** reagowały z amidami **6** i **10** w obecności trifluorooctanu 2,4,6-kolidyny (COLT), co doprowadziło do otrzymania odpowiednich pośrednich fosforynów **11** i **12** (Schemat 6), które nie zostały wydzielone z mieszaniny reakcyjnej. W tym momencie stanęliśmy przed problemem znalezienia wysoce selektywnego utleniacza celem utworzenia wiązań oksofosforanowych w **11** i **12** bez naruszenia łatwo utleniających się i dość labilnych funkcji tio-, a w szczególności wyjątkowo łatwo utleniających się funkcji selenofosforanowych obecnych w cząsteczce.¹⁶ Zastosowanie *t*-BuOOH doprowadziło do degradacji zamierzonych docelowo produktów **13**, **14** czy **15**. Dość nieoczekiwanie, dodanie *tert*-butyloperoksytrimetylosilanu¹⁵ (*t*-BuOOSiMe₃) (który wprawdzie wolno acz efektywnie utleniał P=Se do P=O w cząsteczce dendrymeru selenofosforanowego¹¹) do surowych **11** i **12** doprowadziło do selektywnego utlenienia trikoordynacyjnych atomów fosforu w peryferyjnym rozgałęzieniu, dając dendrymery pierwszej generacji **13** i **14**, z wysoką wydajnością. Wydaje się, że nawet w przypadku stosunkowo małych cząsteczek dendrymerów, zewnętrzne, fosforynowe centra nukleofilowe są znacznie łatwiej dostępne dla sterycznie rozbudowanego nadtlenu niż nukleofilowy atom selenu wewnątrz dendrymeru. Warto odnotować fakt, że dendrymery **13** i **14** zostały otrzymane z tą samą wysoką wydajnością bez względu na rodzaj użytego aktywatora. (tetrazol czy opracowany przez nas COLT). Związki **16**, **17** i **18** zostały przekształcone w większe dendrymery (generacji 2 lub 3) stosując, w sposób analogiczny, wcześniej opisaną strategię rozbieżną.

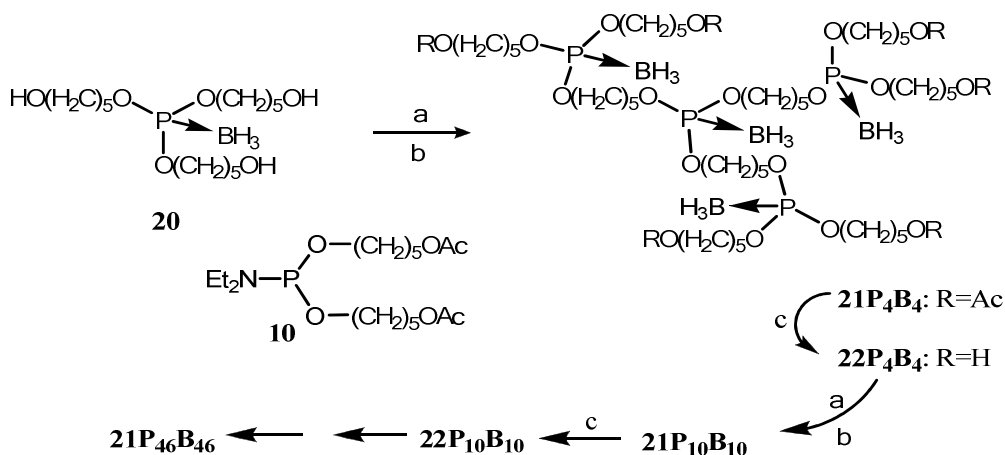


Rysunek 8. Struktura dendrymeru **19** (A) oraz jego widma ³¹P NMR (C) i MALDI TOF MS (B).

Na przykład, fosfitylacja triolu **18** zawierającego zarówno ugrupowania tiofosforanowe jak i selenofosforanowe za pomocą amidu **6** i COLT, a następnie dodanie *tert*-BuOOSiMe₃ (one-pot) doprowadziło do otrzymania dendrymeru **19** (generacja 2, Rysunek 8A) z wysoką czystością (Rysunek 8B i 8C) i dobrą wydajnością – 86 %. Obecność funkcji oksyfosforylowej, tiofosforylowej oraz selenofosforylowej w obrębie tej samej cząsteczki dało bardzo wyraźnie rozseparowane widmo ³¹P NMR, dlatego, że sygnały odpowiadające P=O, P=S i P=Se absorbują przy trzech zupełnie różnych częstotliwościach, co jest wyjątkowo korzystne w aspekcie analitycznym dendrymerów, która to ze względu na powtarzalność oraz symetrię elementów struktury jest nie lada wyzwaniem dla chemika.

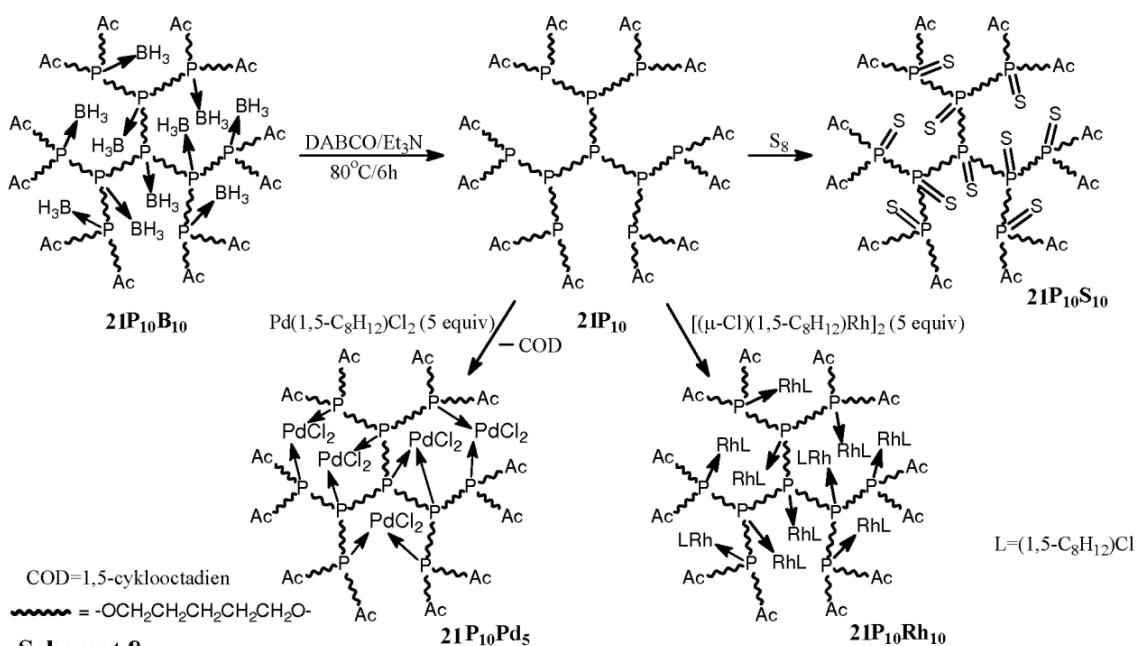
SYNTEZA NOWYCH DENDRYMERÓW BORANOFOSFORANOWYCH, NOWYCH LABILNYCH DENDRYMERÓW FOSFORYNOWYCH ORAZ ICH KOMPLEKSÓW Z METALAMI PRZEJŚCIOWYMI – H[4].

Dendrymery, które w swej strukturze zawierają heteroatomy, a w szczególności atomy fosforu¹⁷ stanowią doskonałe makrocząsteczkowe ligandy do kompleksowania metali przejściowych.¹⁸ Wprowadzenie pochodnej metalu do makrocząsteczki dendrymeru może być osiągnięte zarówno poprzez związanie jej z powierzchnią dendrymeru lub poprzez wprowadzenie metalu do wnętrza dendrymeru, co jest zadaniem znacznie trudniejszym.¹⁹ W roku 2003 opublikowaliśmy pracę, w której przedstawiliśmy syntezę metalodendrymerów, jako potencjalnych katalizatorów zawierających metale przejściowe związane właśnie wewnątrz struktury kaskadowej dendrymerów.²⁰ Syntezę kompleksów dendrymerów z metalami rozpoczęliśmy od boranofosforanu tris(5-hydroksypentylu), **20**, który to łatwo może być otrzymany z ogólnie dostępnych odczynników chemicznych, w sposób analogiczny do opisanych poprzednio tiofosforanu **2** lub selenofosforanu **5**.



Schemat 7. Warunki i odczynniki: a): tetrazol, Et₂NP[O(CH₂)₅OAc]₂ (**10**), chlorek metylenu; b): (CH₃)₂S·BH₃; c): K₂CO₃, metanol.

Dendrymery boranofosforanowe **21P₄B₄** (generacja 1) – **21P₄₆B₄₆** (generacja 4) były otrzymane poprzez powtórzenie sekwencji syntetycznej przedstawionej na Schemacie 7. Fosfitylacja odpowiedniego polialkoholu **20**, **21P₄B₄**, **21P₁₀B₁₀**, **21P₂₂B₂₂** (generacja 3) za pomocą amidu **10** w obecności tetrazolu, a następnie (one-pot) dodatek kompleksu diboranu z siarczkiem dimetylu doprowadziły, w łagodnych warunkach, do otrzymania odpowiednich dendrymerów boranofosforanowych, czysto i z dobrymi wydajnościami. (**21P₄B₄**, 93%, **21P₁₀B₁₀**, 90%, **21P₂₂B₂₂**, 82%, **21P₄₆B₄₆**, 59%). Grupy fosforynowe tworzące się w trakcie syntezy dendrymerów czynią cząsteczki te stosunkowo labilnymi, dlatego też niezbędnym było zablokowanie trikoordynacyjnych atomów fosforu (funkcji fosforynowych) za pomocą BH₃, aby uniknąć degradacji szkieletu dendrymeru. Odblokowanie końcowych grup hydroksylowych przeprowadziliśmy za pomocą nasyconego roztworu węgla potasu w metanolu. Dendrymery boranofosforanowe okazały się bezbarwnymi lepkiemi cieczami. Usunięcia grup boranowych z dendrymerów **21P₄B₄**, **21P₁₀B₁₀**, **21P₂₂B₂₂**, i **21P₄₆B₄₆**, dokonaliśmy w reakcji z diazabicyklooktanem w roztworze bezwodnej trietyloaminy w temperaturze 80 °C. (Schemat 8).



Schemat 8.

Tego rodzaju „asekuracyjne” warunki odblokowania trikoordynacyjnych atomów fosforu w dendrymerach wynikały z trudności monitorowania reakcji deboronowania za pomocą ^{31}P NMR. Jak wiadomo, w widmach ^{31}P NMR boranofosforanów, linie rezonansowe jąder fosforu są znacznie poszerzone ze względu na znaczny moment kwadropulowy jąder boru 11, co wybitnie utrudnia stwierdzenie obecności, szczególnie niewielkich ilości boranofosforanów w mieszaninie reakcyjnej.

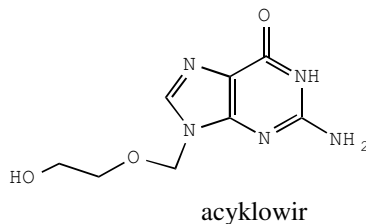
Nowe, nietrwałe dendrymery fosforynowe **21P₄**, **21P₁₀**, **21P₂₂**, **21P₄₆** izolowano na drodze prostej filtracji mieszaniny reakcyjnej przez cienką warstwę żelu krzemionkowego w atmosferze suchego argonu. Dendrymery fosforynowe rozkładały się w warunkach analizy spektroskopii masowej metodą MALDI TOF, a dodatkowo ich widma ^{31}P NMR zawierały tylko jedną linię rezonansową na skutek nałożenia się sygnałów od wszystkich atomów fosforu obecnych w cząsteczce. W związku z tym potrzebowaliśmy dodatkowej analizy, aby udowodnić oczekiwaną strukturę, choć jednego dendrymeru fosforynowego. Dlatego też zdecydowaliśmy się przekształcić dendrymer drugiej generacji **21P₁₀** w odpowiedni tiofosforan **21P₁₀S₁₀** przez proste dodanie siarki elementarnej (Schemat 8). Odpowiednie widma MS i NMR jednoznacznie potwierdziły strukturę **21P₁₀S₁₀**, a tym samym również strukturę **21P₁₀**. Dendrymery zawierające kilka bądź kilkanaście trikoordynacyjnych atomów fosforu w swej strukturze stworzyły doskonałe warunki do tworzenia specyficznych kompleksów z metalami przejściowymi. Dwie serie reakcji doprowadziły do uzyskania całkowitego wysycenia metalami trikoordynacyjnych atomów fosforu. W eksperymentach z pochodnymi platynowców, w warunkach standardowych otrzymano metalodendrymer **21P₁₀Pd₅**, w reakcji **21P₁₀** z $[\text{PdCl}_2(1,5\text{-C}_8\text{H}_{12})]$ oraz metalodendrymer **21P₁₀Rh₁₀**, w reakcji (bridge splitting²¹) **21P₁₀** z $[(\mu\text{-Cl})(1,5\text{-C}_8\text{H}_{12})\text{Rh}]_2$ (Schemat 8). Wewnątrzcząsteczkowy charakter kompleksu **21P₁₀Pd₅** potwierdziliśmy bezspornie za pomocą spektroskopii masowej MALDI TOF (obecność 5 atomów palladu i 10 atomów chloru wewnątrz makrocząsteczki). Oczywiście, jest niesłychanie trudno (o ile w ogóle możliwe?) rozwiązać dokładną strukturę **21P₁₀Pd₅**. Co więcej, ze względu na statystyczny rozkład metalu utworzenie pojedynczego regioizomeru należy uznać za mało prawdopodobne. Pełną ligację rodu do fosforynowych punktów rozgałęzień dendrymeru udowodniliśmy za pomocą ^{31}P NMR oraz ^1H NMR, występowanie dubletu ($\delta = 117.9$ ppm, $^1J_{\text{P-Rh}} = 240.8$ Hz) ze względu na sprzężenie P-Rh i przesunięcie w dół pola linii rezonansowych pochodzących od protonów pierścienia cyklooktadienu. W podobny sposób otrzymaliśmy metalodendrymery generacji 3 i 4.

Dendrymer **21P₁₀Pd₅** został z powodzeniem zastosowany jako katalizator w reakcji typu Hecka²² 4-bromotoluenu z tlenkiem difenylowinylfosfiny. Reakcja z udziałem dendrymeru zachodziła z lepszą wydajnością (87%) niż ten sam proces zachodzący z udziałem octanu palladu (72%) przy tym samym stężeniu palladu.²³

POŁĄCZENIA DENDRYMERÓW Z ACYKLOWIREM – H[5].

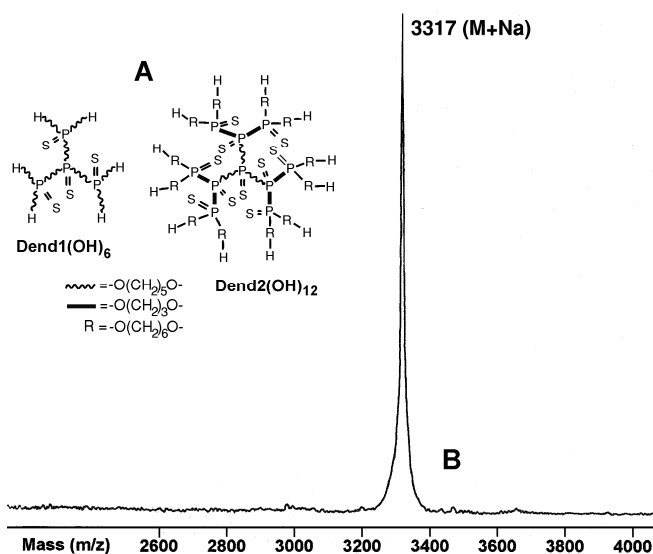
Analogi nukleozydów, w których pierścień rybozy zastąpiony został acyklicznym łańcuchem węglowym posiadają własności antywirusowe.²⁴ Bodaj najważniejszym ich przedstawicielem jest acyklowir,²⁵ skuteczny lek przeciwko wirusowi opryszczki (Herpes Simplex Virus). Pomimo bardzo szerokiej stosowności acyklowiru i blisko spokrewnionych innych połączeń 9-alikilguaniny, leki te posiadają pewne ograniczenia,²⁶ zatem poszukiwanie nowych połączeń o własnościach antywirusowych jest ciągle ważnym zadaniem dla chemii medycznej.

Autoreferat



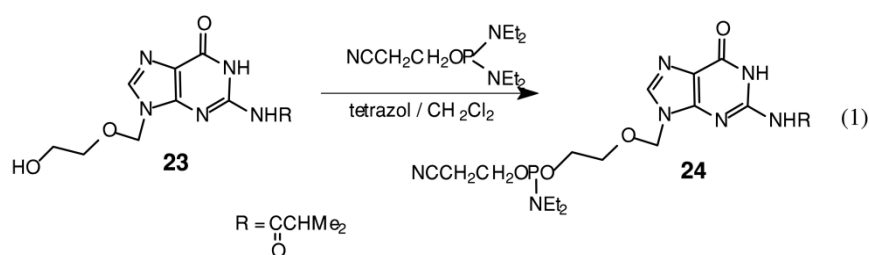
Z drugiej strony, dendrymery posiadające dużą ilość grup funkcyjnych na swej powierzchni mogą zaferować z korzyścią swoje unikatowe właściwości jak np. wielokrotne wiązanie się z receptorem czy też ekstremalnie wysokie lokalne stężenie leku. Dlatego też postanowiłem otrzymać całkowicie oryginalne połączenia dendrymerów z acyklowirem oczekując ciekawych własności biologicznych tych połączeń.

W roku 2003 opublikowałem pracę przedstawiającą prostą i bardzo efektywną metodę syntezy polikoniugatów dendrymerów tiofosforanowych z acyklowirem połączonym z makrocząsteczkami przy pomocy wiązań fosfodiesterowych i tiofosfodiesterowych.²⁷ Zdecydowałem się zastosować w tym podejściu dendrymery tiofosforanowe, ponieważ w trakcie badań biologicznych okazało się, iż są one bardzo dobrze tolerowane przez testowe komórki CHO (komórki jajnika chomika chińskiego). Co więcej, dendrymery tiofosforanowe zakończone grupami hydroksylowymi silnie podwyższyły żywotność komórek CHO w zakresie stężeń od 0.0001 μmol do 5 $\mu\text{mol/L}$.²⁸

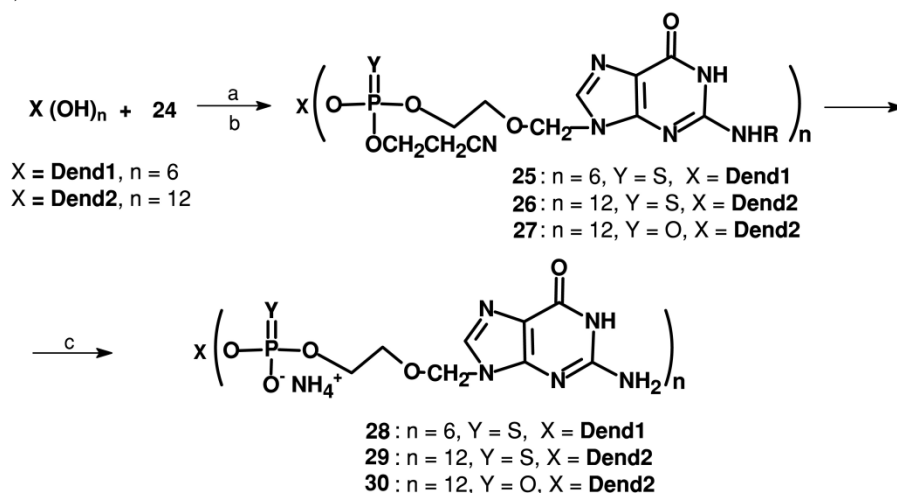


Rysunek 9. Struktura dendrymerów **Dend1(OH)₆** oraz **Dend2(OH)₁₂** użytych jako substraty do reakcji z pochodną acyklowiru (A) oraz widmo MALDI TOF MS pochodnej dodeka-*O*-acetylowej związku **Dend2(OH)₁₂ – Dend2(OAc)₁₂** (B).

Oczywiście do celów biomedycznych wymagana była wysoka czystość i monodispersyjność dendrymerycznych substratów, która została potwierdzona metodami spektroskopowymi. (Rysunek 9) Synteza rozpoczęła się od fosfitylacji wcześniej spreparowanej odpowiedniej pochodnej acyklowiru - *N*²- izobutyrylo acyklowiru [*N*-(9-((2-hydroksyetoksy)metylo)-6-okso-6,9-dihydro-1*H*-puryn-2-yl)isobutyramidu (**23**) za pomocą *N,N,N,N'*-tetraetyloamidofosforynu 2- cyjanoetylu, w obecności katalitycznych ilości tetrazolu, w temp. pok.. Reakcja ta dała czysto kluczową, wysoce reaktywną, pochodną amidową **24** z wysoką wydajnością (Równ. 1).

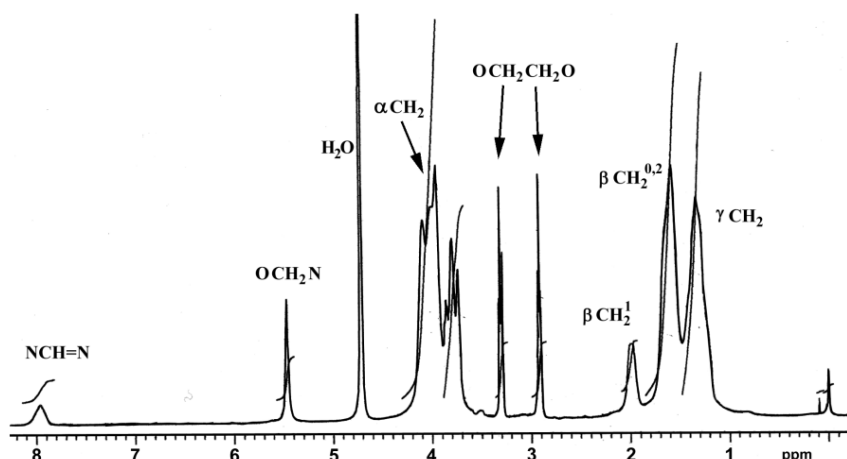


Do kondensacji z amidem **24**, a następnie reakcji z siarką elementarną (one-pot) użyłem dendrymerów tiofosforanowych pierwszej generacji **Dend1(OH)₆** i drugiej generacji **Dend2(OH)₁₂** posiadających odpowiednio 6 i 12 terminalnych grup hydroksylowych. (Schemat 9 oraz Rysunek 9A). W wyniku tych reakcji otrzymałem z wysokimi wydajnościami tiofosforany **25** i **26**. Jak pokazałem wcześniej, nasza metodologia umożliwia także tworzenie funkcji oksyfosforylowych bez naruszenia labilnych wiązań P=S obecnych w cząsteczce. Zatem proste zastąpienie siarki w omawianej reakcji *tert*-butyloperoksytrimetylosilanem doprowadziło do otrzymania polifosforanu **27** z bardzo dobrą wydajnością. Związki **25** i **26** były oczyszczane na krótkiej kolumnie żelu krzemionkowego, natomiast związek **27** był tak silnie polarny, że wymagał oczyszczania na krótkiej warstwie żelu silanizowanego (faza odwrócona).



Schemat 9. Synteza polikoniugatów dendrymer-acyklowir. R=izobutyryl. Warunki i odczynniki: (a): tetrazol, dichlorometan; (b): S₈ lub *t*-BuOOSiMe₃; (c): wodny amoniak.

Ogrzewanie związków **25** – **27** w roztworze wodnego amoniaku spowodowało usunięcie wszystkich grup ochronnych z zablokowanych grup funkcyjnych i uzyskania z wysokimi wydajnościami rozpuszczalnych w wodzie połączeń **28** – **30**.



Rysunek 10. Widmo ^1H NMR (500 MHz) związku **30**. Indeksy górne oznaczają numer generacji.

Wysoką czystość końcowych produktów potwierdzono metodami spektroskopowymi. Przykładowo, przedstawie widmo ^1H NMR związku **30** (Rysunek 10), gdzie szerokie multiplety występujące przy $\delta = 1.3, 1.6, 1.9, 3.7$ ($\text{CH}_2\text{OP}=\text{O}$), 3.9 ($\text{CH}_2\text{OP}=\text{S}$) ppm, pochodzą od protonów metylenowych znajdujących się wewnątrz szkieletu dendrymeru. Znaczne poszerzenie linii rezonansowych wyraźnie uwidacznia ograniczoną rotację wewnątrz struktury kaskadowej dendrymeru. Ostre linie rezonansowe przy 2.89 i 3.30 [$^3J_{(P, H)} = 11.2\text{Hz}$] ppm doskonale pasowały do widma typowego układu grup etylenowych reszt acyklowiru, podczas gdy izolowane protony metylenowe absorbowwały przy 5.46 ppm. Sygnały odpowiadające protonom reszt guaninowych pojawiały się przy 7.95 ppm. Warto także nadmienić, że związki **28**, **29** występują w postaci mieszaniny P-epimerów, podczas gdy związek **30** jest achiralny.

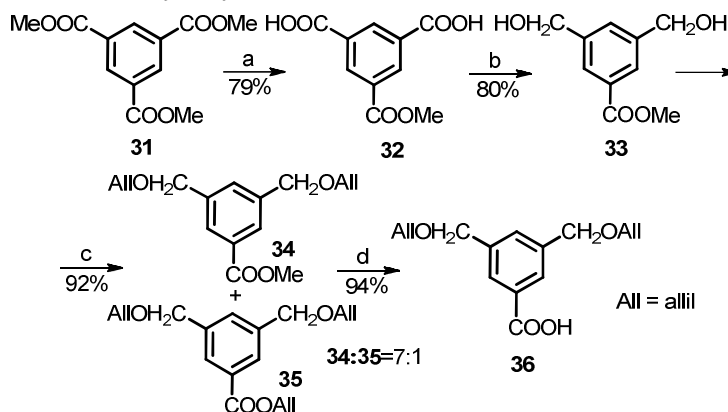
Związki **28–30** zostały przebadane pod kątem właściwości przeciwwirusowych. Niestety ich aktywność (przeciwko HSV) okazała się zbyt niska.

SYNTEZA DENDRYMERÓW – POLIESTRÓW KWASU 1,3,5 – BENZENOTRIKARBOKSYLOWEGO – H[6].

W roku 2011 opublikowałem pracę odbiegającą tematem dość znacznie od tych omówionych dotychczas.²⁹ Wprawdzie dotyczyła ona również syntezy dendrymerów, lecz zupełnie niepodobnych do tych, których syntezy byliśmy autorami. Mianowicie, dendrymerów niefosforoorganicznych. Sam pomysł takiej syntezy zrodził się dość przypadkowo, w trakcie poszukiwania dobrej reszty polianionowej (potencjalna aktywność przeciwwirusowa) do umieszczenia na powierzchni dendrymerów tiofosforanowych. Wybór padł na resztę kwasu 1,3,5 – benzenotrikarboksylowego, ze względu choćby na fakt, iż po przyłączeniu do zewnętrznej sfery dendrymeru mnoży liczbę grup funkcyjnych razy dwa, czyli tak naprawdę dokłada kolejną generację makrocząsteczki. W tym celu należało otrzymać diester np. metylowy w/w kwasu, który był związkiem opisanym, a syntetyzuje się go z dobrą wydajnością poprzez ograniczoną hydrolizę zasadową odpowiedniego triestru.³⁰ Po otrzymaniu kilkugramowej ilości tego związku, zrozumiałem, że przecież odpowiedni monoester, w podobnych warunkach (przy oczywiście innej stechiometrii zasady) powinien tworzyć się, z co najmniej tak samo dobrą, o ile nie jeszcze wyższą wydajnością. Tak też istotnie było. Wprawdzie związek ten był oczywiście znany, lecz otrzymywany był w inny sposób, w drastycznych warunkach i z niską wydajnością.³¹ Dopiero łatwa dostępność monoestru metylowego kwasu 1,3,5–benzenotrikarboksylowego otworzyła możliwość opracowania nowego typu dendrymerów, poliesterów, pochodnych kwasu 1,3,5–benzenotrikarboksylowego. Monoester metylowy kwasu 1,3,5–benzenotrikarboksylowego wydawał się (i potem okazał się) zwyczajnie być odpowiednim prekursorem monomeru, przyszłego dendrymeru.

Synteza dendrymerów, poliestrów kwasów karboksylowych jest bardzo ważna, o ile nie najważniejsza, jeżeli chodzi o zastosowania biomedyczne (np. dostarczanie biomolekuł *in vivo*) dendrymerów. Mają one (w przeciwieństwie do praktycznie całej reszty dendrymerów) po prostu, potencjał, aby być biodegradowalne, czyli w obecności enzymów lub innych czynników np. chemicznych, mogą hydrolizować do małych cząsteczek, które łatwo opuszczają organizm.³²

Synteza kluczowego monomeru rozpoczęła się od kwasu 1,3,5 – benzenotrikarboksylowego, który został przekształcony w ester trimetylowy **31**.



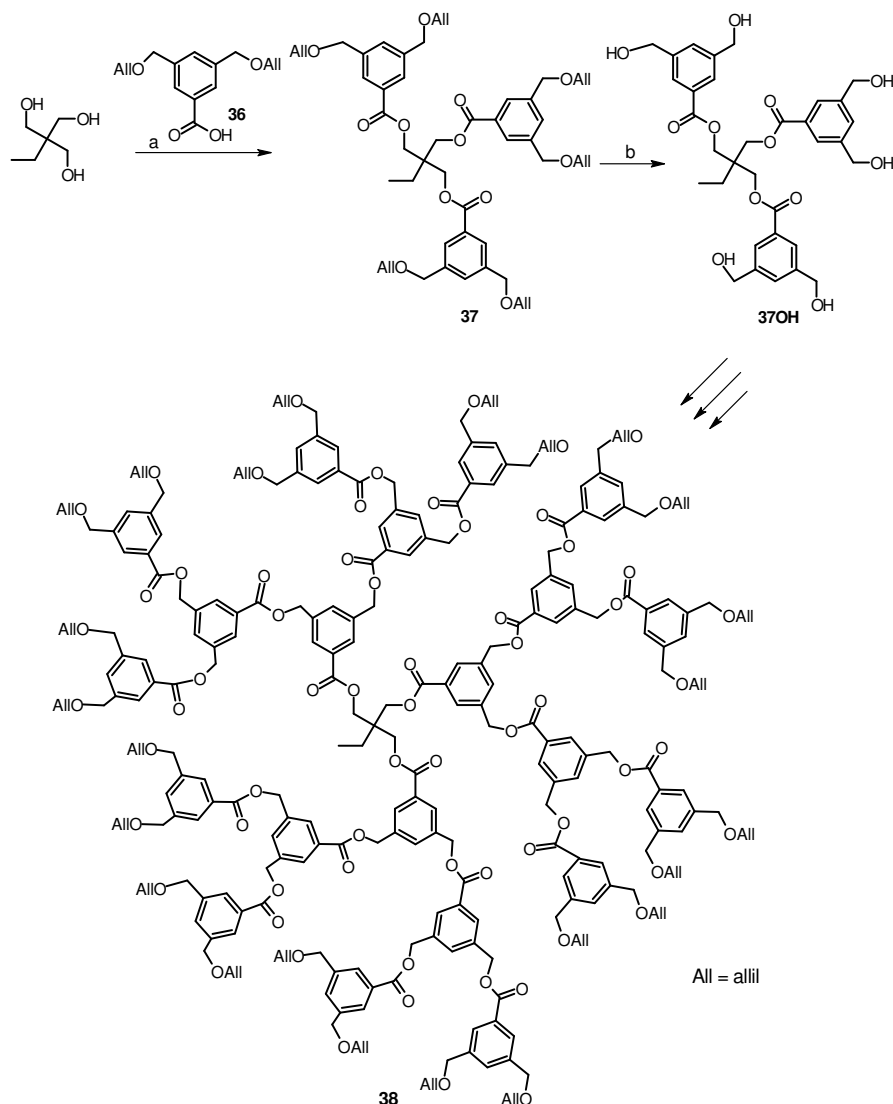
Schemat 10. Warunki i odczynniki: (a) NaOH, MeOH, H₂O, nast. HCl (aq.); (b) B₂H₆·(CH₃)₂S, THF; (c) NaOH, bromek allilu, benzen, DMF; (d) NaOH, MeOH, H₂O, nast. HCl (aq).

Jak podałem powyżej, jego ostrożna hydroliza za pomocą rozcieńczonego, NaOH (2.07 równ.) w mieszaninie metanol – woda (Schemat 10) dała prawie wyłącznie [90 % (NMR)] odpowiedni monoester **32**, który po jednokrotnej krystalizacji z octanu etylu (79 % ze związku **31**) był spektralnie czysty.

Selektywne tworzenie się monoestru **32** można łatwo wytłumaczyć. Nukleofilowy atak anionu hydroksylowego na ostatnią pozostającą estrową grupę karbonylową w **32** jest bardzo wolny i nieuprzywilejowany, ponieważ cząsteczka monoestru jest już podwójnie ujemnie naładowana. Dlatego też reakcja hydrolizy triestru **31**, przeprowadzona w łagodnych warunkach, praktycznie zatrzymuje się na etapie monoestru. Kolejną wysoce chemoselektywną reakcją była redukcja dwóch kwasowych grup karbonylowych w monoestrze **32** za pomocą kompleksu diboranu z siarczkiem dimetylu, która doprowadziła do otrzymania estru metylowego kwasu 3,5-bis(hydroksymetylo)benzoowego (**33**). W tym miejscu stanąłem przed problemem znalezienia odpowiedniej grupy ochronnej dla grup hydroksylowych. Wydawało się, że grupa acetylowa, która tak znakomicie sprawdziła w przypadku dendrymerów fosforoorganicznych, będzie tą optymalną. Niestety, ten konkretny dendrymer poliestrowy nie był dostatecznie trwały, w warunkach nawet bardzo łagodnej hydrolizy czy alkoholizy peryferyjnych octanów. Z drugiej jednak strony dendrymer pokazał swą ważną zaletę, iż jest relatywnie łatwo hydrolizowalny. Po wielu dalszych eksperymentach (przede wszystkim z grupami acetalowymi i eterowymi) okazało się, że grupy allilowe i 4-metoksybenzylowe będą najbardziej odpowiednimi dla tego projektu. Oczywiście, możliwość dalszej funkcjonalizacji, a przede wszystkim tzw. „ekonomia atomów”³³ wskazywała jednoznacznie na grupę allilową.

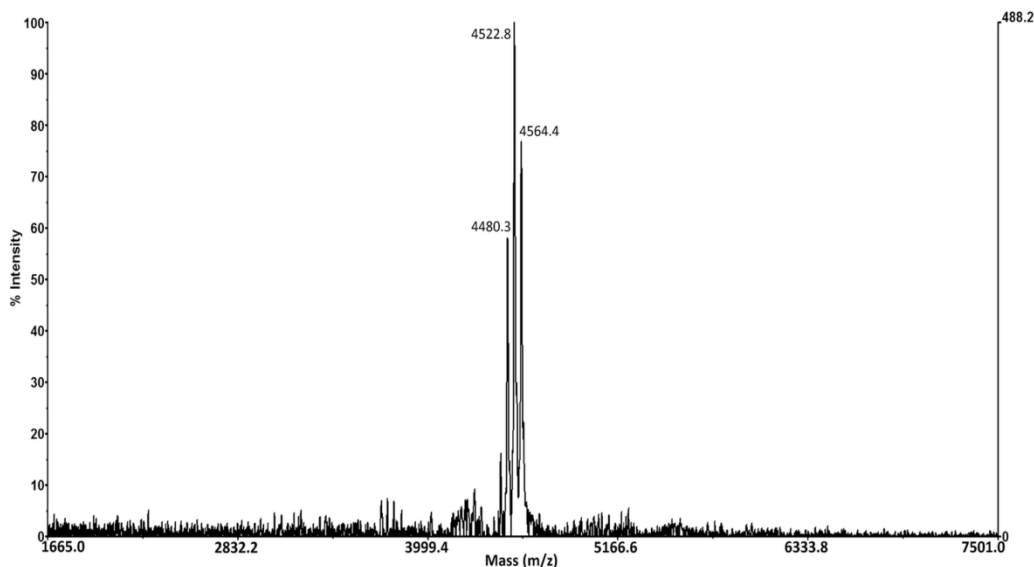
Diol **33** poddany alkilowaniu za pomocą nadmiaru bromku allilu został z wysoką wydajnością przekształcony w mieszaninę eterów diallilowych **34** i **35** w proporcji 7:1. Oczywiście rozdział tej mieszaniny nie był konieczny. Jej zasadowa hydroliza i następcze zakwaszenie dostarczyło kluczowy monomer przyszłego dendrymeru, kwas **36** z wysoką wydajnością. Kwas **36** reprezentuje klasyczny monomer typu AB₂. Grupa A (karboksyl) jest aktywna, a grupy B (hydroksyl) są nieaktywne (zablokowane) tak, aby wymusić wyłączną reakcję grupy A z aktywnymi grupami B (wolne) poprzedzającej generacji dendrymeru.

Autoreferat



Schemat 11. Warunki i odczynniki: (a) EDCI, DMAP, CH_2Cl_2 ; (b) Pd/C, CH_3COOH , H_2O , MeOH, TsOH.

Jako cząsteczkę centralną zdecydowałem się użyć tani i łatwo dostępny triol, 2-(hydroksymetylo)-2-etylopropan-1,3-diol, ogólnie znany jako trimetylolopropan (TMP). TMP został zatem poddany reakcji z nadmiarem kwasu **36** (Schemat 11) w obecności rozpuszczalnego w wodzie karbodiimidu, 1-etylo-3-(3-dimetyloaminopropyl)karbodiimidu³⁴ (EDCI) oraz katalitycznych ilości 4-dimetyloaminopyridyny (DMAP), w temperaturze pokojowej, co doprowadziło do otrzymania dendrymeru pierwszej generacji **37**, z wydajnością 93%. Odblokowanie końcowych grup hydroksylowych przeprowadziłem stosując drobną modyfikację procedury podanej przez Bossa i Scheffolda.³⁵ Eter heksaalliowy **37** poddany był reakcji z katalitycznymi ilościami 10% palladu osadzonego na węglu aktywnym oraz kwasu *p*-toluenosulfonowego, w mieszaninie rozpuszczalników kwas octowy-woda-metanol, w temp. 50°C, przez około 40 godzin. Reakcja była prowadzona w „otwartej” kolbie, tak, aby jedyny niepożądany produkt, aldehyd propionowy, jako substancja lotna, w sposób ciągły opuszczał środowisko reakcji i tym samym nie powodował żadnych ubocznych procesów chemicznych. Oczekiwany heksol **37OH** otrzymany został z wydajnością 90%. Powtórzenia reakcji wzrostu dendrymeru i odblokowania grup końcowych, doprowadziły do otrzymania makrocząsteczki generacji 3 zgodnie z rozbieżną metodologią syntezy dendrymerów. Najprawdopodobniej, dendrymer generacji 4 tworzył się również, (choć z niewielką wydajnością) ale nie mogłem wydzielić go w stanie czystym. Za to wydzielone dendrymery charakteryzowały się wysoką czystością.



Rysunek 11. Widmo MALDI TOF MS dendrymeru 3 generacji **38**.

Na przykład, rysunek 11 pokazuje obszerny fragment widma masowego MALDI TOF dendrymeru **38**. (teoretyczna, obliczona, dokładna masa dla $C_{267}H_{278}O_{66}$, $M = 4539.84$) Pomimo występowania czterech linii, absolutnie nie mamy do czynienia z występowaniem jakichkolwiek defektów strukturalnych czy zanieczyszczeń. Sygnał przy $m/z = 4564.4$ odpowiada jonowi molekularnemu ($M + Na$). Pozostałe sygnały różnią się kolejno, dokładnie o 42 jednostki masy atomowej na skutek utraty kationów allilowych, w trakcie eksperymentu pomiaru opisywanego widma. W podobny sposób otrzymałem także serię dendrymerów wychodząc z 1,3,5 – benzenotrimetanolu jako cząsteczki centralnej. Jednak w tym drugim przypadku wydajności otrzymanych dendrymerów były niższe.

SYNTEZA ROZPUSZCZALNYCH W WODZIE DENDRYMERÓW POLIANIONOWYCH – H[7].

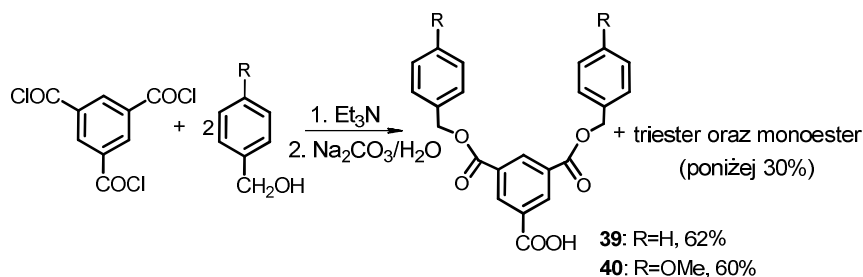
Pod koniec roku 2012 opublikowana została praca³⁶ będąca niejako kontynuacją tematyki opisanej powyżej, jak i podsumowaniem niniejszej rozprawy habilitacyjnej. W tejże publikacji przedstawiłem prostą, efektywną oraz skupiającą istotne aspekty ogólności syntezę, rozpuszczalnych w wodzie, dendrymerów polianionowych różniących się rozmiarami, typem i długością szkieletów węglowych (sztywnością struktury) oraz polarnością makrocząsteczki. Związki te posiadają połączone cechy dendrymerów fosforoorganicznych oraz poliesterów kwasu 1,3,5-benzenotrikarboksylowego ponieważ zbudowane są z dwóch typów różnych monomerów. Ich polianionowość wynika z obecności naładowanych grup karboksylowych na powierzchni.

Wiadomym jest, że dendrymery z ich strukturalną jednorodnością, znaczną ilością grup funkcyjnych na powierzchni posiadające rozmiary, (struktury wyższych generacji) które są jedynie rzęd wielkości mniejsze niż rozmiar typowych wirusów mogą działać jako leki antywirusowe.³⁷ Dendrymery przeciwwirusowe zachowują się jako nienaturalna imitacja anionowej powierzchni komórek docelowych. Zatem polianionowy dendrymeryczny lek współzawodniczy z powierzchnią komórki o związanie wirusa. W rezultacie zainfekowana zostaje mniejsza ilość komórek. Wiadomo również, że polianionowe dendrymery są z reguły dobrze akceptowane przez badane układy biologiczne³⁸ oraz, że zostały zastosowane jako leki przeciwwirusowe. Bodaj najbardziej znanym dendrymerem (zbudowanym w oparciu o szkielet lizyny) polianionowym, wykorzystanym jako preparat przeciwwirusowy, jest VivaGel[®] (Starpharma Ltd.), który przechodzi obecnie końcową fazę badań

klinicznych.³⁹ VivaGel® to preparat zapobiegający infekcjom przenoszonym drogą płciową takich jak HIV, opryszczka genitalna czy wirus brodawczaka ludzkiego (HPV). Dlatego właśnie synteza dendrymerów polianionowych jest tak ważna. Aczkolwiek główną okolicznością limitującą szersze zastosowanie dendrymerów jako leków jest znaczna trudność i czasochłonność ich pozyskiwania. Zatem, jednym z głównych zadań dla chemików syntetyków w tej tematyce jest opracowanie ogólnych i wydajnych metod syntezy monodispersyjnych, rozpuszczalnych w wodzie i biodegradowalnych dendrymerycznych preparatów w szczególności połączeń polianionowych, wyższych generacji.

Omawiana publikacja jest bardzo obszerna. Przedstawia syntezę pięciu nowych, rozpuszczalnych w wodzie dendrymerów polianionowych różnych generacji oraz serię odpowiednich ich prekursorów, oczywiście również dotychczas nieopisanych dendrymerów będących poliestrami kwasów fosforowego i 1,3,5 - benzenotrikarboksylowego. Rzecz prosta, otrzymane preparaty polianionowe będą testowane jako potencjalne środki przeciwwirusowe. Praca ta jest, jak wspomniałem, naturalną kontynuacją publikacji poprzednich, przedstawionych w tym tekście.

Oprócz zasadniczej części publikacji, w jej skład wchodzi także materiał dodatkowy, (23 strony) w którym opisałem szczegółowo również syntezę i analizę 12 nowych dendrymerów fosforoorganicznych, które to w omawianej publikacji służyły jako substraty do syntezy związków docelowych. Aby komentowana synteza dendrymerów polianionowych była możliwa niezbędne było otrzymanie kilku odpowiednich monomerów. Dwa z nich były prekursorami powierzchni przyszłych dendrymerów polianionowych i stanowiły monomery typu $A(A')_2$, gdzie „A” to wolna grupa karboksylowa, a „A' ” to ta sama grupa, (czyli karboksylowa) ale odpowiednio zablokowana. (Schemat 12)

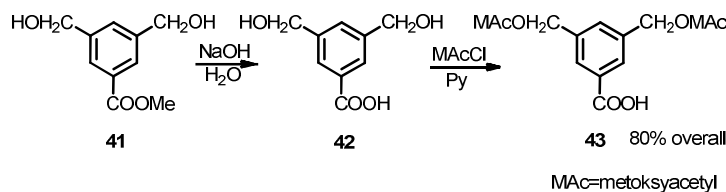


Schemat 12. Synteza monomerów, prekursorów powierzchni polianionowej, **39** i **40**.

Jednym z głównych problemów napotykanym w czasie syntezy dendrymerów jest niekompletne usuwanie grup ochronnych. W tradycyjnej chemii organicznej, w takim przypadku po prostu oddziela się produkt od nieprzereagowanego substratu (z reguły w bardzo łatwy sposób) lub od jakiegoś produktu ubocznego. W chemii dendrymerów niekompletne usunięcie grup ochronnych prowadzi do defektów w strukturze otrzymywanego dendrymeru. Co więcej, oddzielenie związku oczekiwanego od związku zawierającego jedną lub więcej zmian w strukturze jest praktycznie niemożliwe. Dlatego właśnie, grupy blokujące występujące w niniejszym projekcie zostały dobrane bardzo starannie, aby zapewniły również ilościowe odblokowanie. Prosta, dwuetapowa synteza dwóch prekursorów polianionowych powierzchni dendrymerów [przeprowadzona bez wydzielania produktów pośrednich (one-pot)] rozpoczęła się od chlorku kwasu 1,3,5-benzenotrikarboksylowego. (Schemat 12) Jego „ostrożne” reakcje z 2.0 równoważnikami alkoholu benzyloвого i anizylowego, w obecności trietyloaminy, a następnie łagodna zasadowa hydroliza doprowadziły z dobrą chemoselektywnością do otrzymania odpowiednich diestrów **39** i **40** z przyzwoitymi wydajnościami, odpowiednio 62% i 60% wydzielonych produktów. Należy tutaj dodać, że produkty **39** i **40** w bardzo prosty sposób oddzieliłem od odpowiednich mono i triestrów.

Trzeci kluczowy monomer został również otrzymany, w dwuetapowej syntezie, bez wydzielania produktów pośrednich (procedura one-pot) z estru metylowego kwasu 3,5-

bis(hydroksymetylo)benzoesowego⁴⁰ (**41**) (Schemat 13), który można przede wszystkim łatwo otrzymać z estru metylowego kwasu 1,3,5-benzenotrikarboksyłowego.²⁹

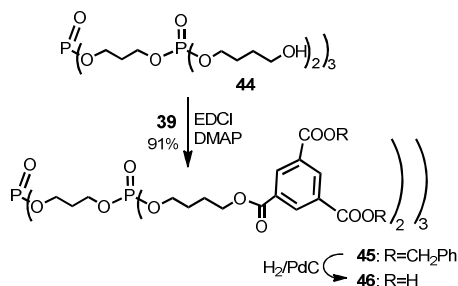


Schemat 13. Synteza monomeru typu AB₂ **43**.

Jego (związku **41**) zasadowa hydroliza dała (po wykwaszeniu) kwas **42**.^{40,41} Surowy produkt **42** następnie poddałem acylowaniu za pomocą chlorku metoksyacetylu, w obecności bezwodnej pirydyny, co doprowadziło do otrzymania odpowiednio zablokowanego kwasu **43** z 80% wydajnością wydzielonego produktu. Związek ten oczywiście reprezentuje sobą monomer typu AB₂, w którym to grupy typu „B” (w tym przypadku hydroksylowe) są zablokowane grupami metoksyacetylowymi. W omawianej publikacji udowodniłem, stosując metody analityczne (¹H, ³¹P, ¹³C NMR i MALDI TOF MS), że metoksyacetylowe grupy ochronne zostały, w trakcie syntezy dendrymerów polianionowych, usunięte z odpowiednich połączeń dendrymerycznych z wydajnością ilościową, (patrz np. Rysunek 12) a co za tym idzie zastosowanie monomeru typu AB₂, **43** nie spowodowało żadnych defektów w oczekiwanych końcowych produktach.

Jak już wcześniej wspomniałem, fosforoorganiczne dendrymery (w większości połączenia dotąd nieopisane) użyte w niniejszej publikacji jako substraty, zostały otrzymane metodą amidofosforynową i stosując rozbieżną strategię syntezy.^{8,11} Szczegółowe procedury syntetyczne w/w związków zawarłem w materiale dodatkowym (Supplementary data). W komentowanej publikacji opisałem syntezy dwóch polianionowych dendrymerów (generacja 2 i generacja 3) opartych na szkielecie dendrymerów fosforanowych (o łańcuchach trój, cztero, pięcio i sześciowęglowych), dwóch polianionowych dendrymerów (generacja 3 i generacja 4) opartych na szkielecie dendrymerów tiofosforanowych (o łańcuchach trój i czterowęglowych) oraz opisałem syntezę polianionowego dendrymeru warstwowego (layered dendrimer, generacja 3) opartego jednocześnie na szkielecie poliestru tiofosforanowego oraz poliestru pochodnej kwasu 1,3,5-benzenotrikarboksyłowego.

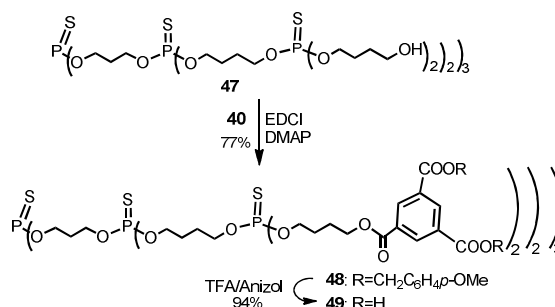
Na przykład fosforanowy dendrymer (generacja 1) zakończony grupami hydroksylowymi **44** został poddany reakcji z niewielkim nadmiarem kwasu **39**, (Schemat 14) w obecności rozpuszczalnego w wodzie karbodiimidu, 1-etylo-3-(3-dimetyloaminopropyl)karbodiimidu³⁴ (EDCI) oraz katalitycznych ilości 4-dimetyloaminopyridyny (DMAP), w temperaturze pokojowej, co doprowadziło do otrzymania dendrymeru drugiej generacji **45**, z wydajnością 91% (wydzielonego produktu).



Schemat 14. Synteza dendrymeru **46** posiadającego 12 wolnych grup karboksylowych.

Odblokowanie końcowych grup karboksylowych przy użyciu reakcji katalitycznej wodorolizy przebiegło szybko i bardzo czysto (ilościowo), co zostało oczywiście udowodnione za pomocą np. ¹H NMR (nawet ślad protonów należących do reszt benzyłowych nie został wykryty). Ponieważ drugim

produktem reakcji jest tylko toluen, to czystość i łatwość wydzielenia dendrymerów otrzymanych tą metodą jest kluczem i wielką zaletą tej syntezy. Oczyszczanie produktu (wolnego polikwasu) polega wyłącznie na odsączeniu katalizatora i oddestylowaniu rozpuszczalnika. Niestety, ester dibenzylowy kwasu 1,3,5-benzenotrikarboksylowego (**39**) nie był uniwersalnym prekursorem w syntezie dendrymerów polianionowych i w przypadku związków opartych na szkieletie tiofosforanowym kompletnie zawiódł. Najprawdopodobniej ze względu na „zatrucie” katalizatorów palladowych siarką usuwanie grup benzytowych z powierzchni takich dendrymerów okazało się niemożliwe. Dlatego właśnie (ale nie tylko, również aby uniknąć rozpadu estrów benzytowych obecnych wewnątrz szkieletu dendrymeru, jak w związku **53**, Schemat 16) zaproponowałem alternatywny prekursor polianionowej powierzchni dendrymerów ester bis(4-metoksybenzylowy) kwasu 1,3,5-benzenotrikarboksylowego (**40**). Zatem, przykładowo, w innym eksperymencie (Schemat 15) kondensacja tiofosforanowego dendrymeru (generacja 2) **47** z nadmiarem kwasu **40**, także w obecności EDCI i DMAP doprowadziła do utworzenia w pełni zablokowanego dendrymeru trzeciej generacji **48** z wydajnością 77% wydzielonego produktu.

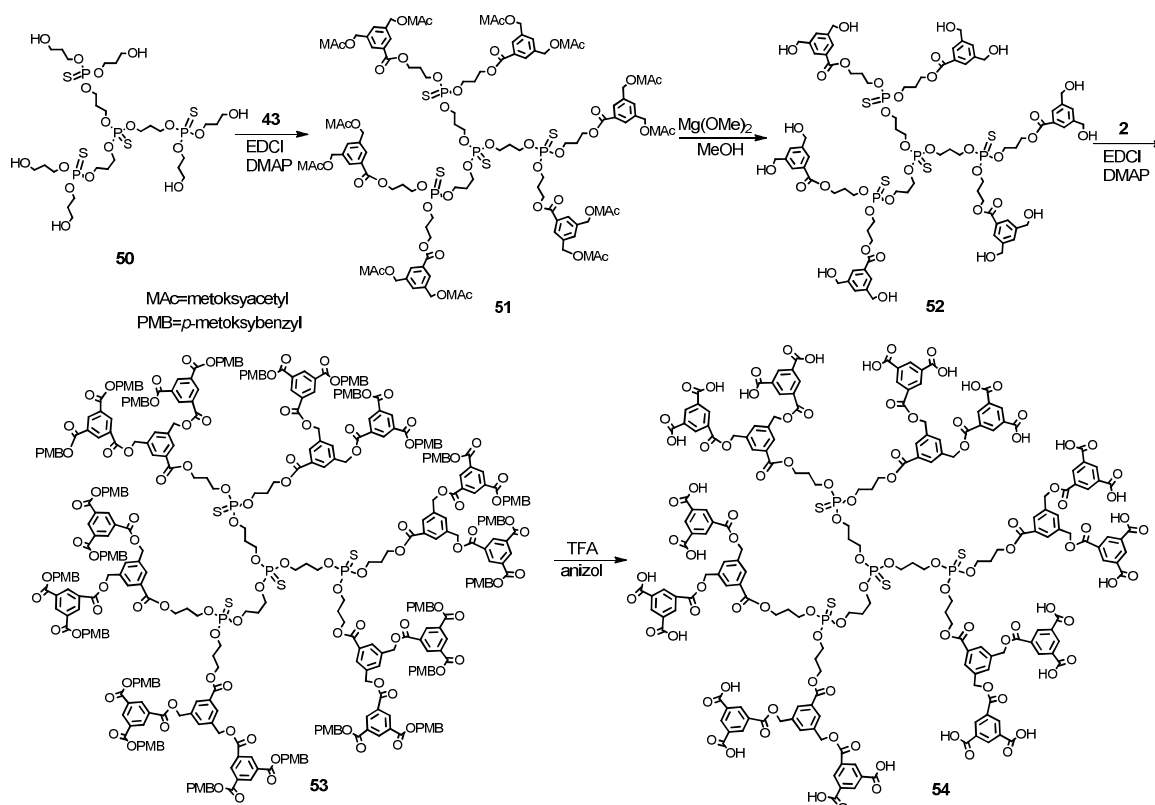


Schemat 15. Synteza dendrymeru **49** posiadającego 24 wolne grupy hydroksylowe.

Praktycznie ilościowe odblokowanie wszystkich 24 grup karboksylowych zostało przeprowadzone stosując procedurę opisaną przez Stewarta.⁴² Poliester **48** mieszany w bezwodnym kwasie trifluorooctowym, w obecności anizolu, w temp. 45 °C, stopniowo przekształcał się w polikwas **49**. Reakcja ta była skrupulatnie monitorowana zarówno przez ¹H jak i ³¹P NMR (kontrola trwałości szkieletu dendrymeru w tych warunkach). Po około 50 godzinach jedynie ślad obecności protonów należących do reszt *p*-metoksybenzylowych był obecny w odpowiednim widmie ¹H NMR. Pożądany polianionowy (rozpuszczalny w wodzie po przekształceniu w sól sodową) dendrymer **49** został otrzymany z wydajnością 91%. W reakcji przekształcenia dendrymeru **48** w **49** pozostałymi produktami są odpowiednie diarylometany powstałe w reakcji kationów metoksybenzylowych z anizolem. Związki te łatwo oddzieliłem od materiału makrocząsteczkowego przez proste odmycie ich heksanem.

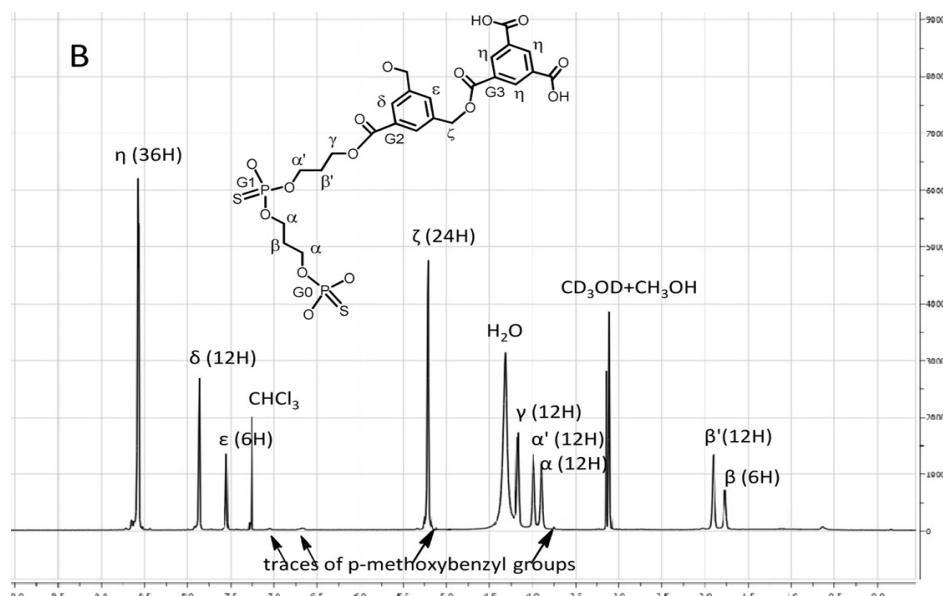
Powyższa metodologia umożliwia również rozbieżną syntezę dendrymerów „mieszanych” lub warstwowych, które posiadają rozgałęzienia zarówno na atomach fosforu jak i węgla, oczywiście w obrębie tej samej makrocząsteczki. Co więcej, wprowadzenie do dendrymeru fosforoorganicznej dodatkowej generacji zawierającej reszty poliesterów karboksylowych niewątpliwie ułatwia jego biodegradację,⁴³ co jest bardzo istotne jeśli chodzi o biomedyczne zastosowanie dendrymerów. Synteza polianionowego dendrymeru warstwowego rozpoczęła się od dendrymeru tiofosforanowego (generacja 1) **50** zakończonego sześcioma grupami hydroksylowymi. Związek ten był poddany kondensacji z nadmiarem kwasu **43**, w obecności EDCI oraz DMAP, w roztworze bezwodnego chlorku metylenu, co doprowadziło do otrzymania dendrymeru drugiej generacji **51** z wydajnością 93% wydzielonego produktu (Schemat 16).

Autoreferat



Schemat 16. Synteza polianionowego dendrymeru **54** z rozgałęzieniami na atomach węgla i fosforu.

Terminalne grupy hydroksylowe w dendrymerze **51** są zablokowane jako metoksyoctany. Wiadomym jest, że metoksyoctany ulegają transestryfikacji (np. metanolem) około 20 razy szybciej niż octany.⁴⁴ Grupy metoksyacetylowe mogą być bezpiecznie usuwane w obecności benzoilowych grup ochronnych.⁴⁴ W omawianej publikacji, szybkie i czyste usunięcie wszystkich grup metoksyacetylowych bez naruszenia pozostałych grup estrowych obecnych w związku **51** zostało przeprowadzone przy użyciu katalitycznych ilości metanolanu magnezu⁴⁵ w metanolu. Polialkohol **52** był następnie poddany kondensacji z nadmiarem kwasu **40**, w obecności EDCI oraz DMAP, w roztworze bezwodnego chlorku metylenu, co doprowadziło do otrzymania dendrymeru trzeciej generacji **53** z wydajnością 88% (w przeliczeniu na **51**) wydzielonego produktu. Wreszcie, usunięcie wszystkich grup *p*-metoksybenzylowych z **53** (TFA i anizol) doprowadziło do otrzymania do polikwasu **54**, który następnie przeprowadziłem w sól sodową. Należy dodać, że estry benzylove obecne wewnątrz szkieletu dendrymeru **53**, są absolutnie trwałe w zastosowanych warunkach prowadzących do całkowitego odblokowania grup karboksylowych w tym związku. W odróżnieniu od bardziej klasycznych dendrymerów, związki **53** i **54** nie są zbudowane wyłącznie z fragmentów powtarzających się. W konsekwencji ich widma ¹H (przykładowo patrz Rysunek 12) czy ¹³C NMR są dużo bardziej konkluzywne w porównaniu z widmami typowych dendrymerów.



Rysunek 12. Widmo ^1H NMR (600 MHz) polikwasu **54**.

Dendrymery polianionowe otrzymane w ramach tej publikacji są trwałymi substancjami stałymi (białe proszki), których rozpuszczalność w wodzie silnie zależy od charakteru szkieletu i liczby naładowanych grup na powierzchni. Związki z grupami P=O w punktach rozgałęzień są rozpuszczalne w wodzie nawet jako nienaładowane polikwasy. W przypadku dendrymerów trzeciej generacji z grupami P=S wewnątrz struktury kaskadowej (związki **49** i **54**), aby uzyskać przyzwoitą rozpuszczalność w wodzie, (50 mg/1 mL) konieczne jest przeprowadzenie co najmniej połowy obecnych grup karboksylowych, w odpowiednie sole sodowe. Tak jak wspominałem wcześniej tytułowe dendrymery polianionowe są i będą testowane pod kątem aktywności biologicznej.

Na koniec chcę oświadczyć, że jestem wyłącznym pomysłodawcą wszystkich prac opisanych we wszystkich siedmiu publikacjach habilitacyjnych H[1]-H[7] oraz, że wszystkie te publikacje oczywiście własnoręcznie napisałem (łącznie ze wszystkimi rysunkami czy schematami).

Najważniejsze osiągnięcia pracy habilitacyjnej

- ✓ opracowano bezprecedensową i bardzo efektywną metodę syntezy nowych dendrymerów będących poliesterami kwasu tiofosforowego w oparciu o strategię syntezy rozbieżnej. Proste reakcje, prowadzone w łagodnych warunkach, fosfitylacji polialkoholi i addycji elementarnej siarki do odpowiednich polifosforynów przeprowadzone metodą „one-pot” doprowadziły do otrzymania, z wysokimi wydajnościami, monodispersyjnych, trwałych preparatów makrocząsteczkowych o wysokiej czystości.
- ✓ otrzymano po raz pierwszy dendrymery zawierające atomy selenu w swej strukturze. Tym samym były to największe dotychczas opisane syntetyczne związki zawierające selen.
- ✓ powyższa strategia posiada cechy metody ogólnej. Z powodzeniem otrzymywano dendrymery posiadające łańcuchy trój-, cztero-, pięcio- i sześciowęglowe, w zależności od wyboru. Bez problemu można było otrzymać dendrymery posiadające w punktach rozgałęzień funkcje P=O, P=S, P=Se, P-BH₃, czy nawet atomy trikoordynacyjnego fosforu. Co więcej, wykorzystując tę metodologię można otrzymywać dendrymery zawierające wszystkie w/w funkcje chemiczne w obrębie tej samej makrocząsteczki.

- ✓ otrzymano kompleksy dendrymerów z metalami przejściowymi znajdującymi się wewnątrz struktury kaskadowej dendrymerów.
- ✓ zsyntetyzowano nieznane, o wysokiej czystości, rozpuszczalne w wodzie, potencjalne proleki, polikoniugaty dendrymer – acyklowir, połączone wiązaniami fosfodiesterowymi i tiofosfodiesterowymi.
- ✓ otrzymano nowe dendrymery, poliestry, pochodne kwasu 1,3,5 – benzenotrikarboksylowego jako potencjalne nośniki leków. Łagodne warunki zastosowane zarówno w procedurze rozbieżnego wzrostu makrocząsteczki, jak i w reakcji odblokowania grup końcowych dostarczyły materiał o wysokiej czystości z dobrą całkowitą wydajnością. Otrzymane dendrymery zakończone były podwójnymi wiązaniami węgiel – węgiel lub grupami hydroksylowymi o charakterze alkoholu polibenzylowego. W związku z tym, powyższe, chemicznie reaktywne funkcje mogą być łatwo przekształcone w inne grupy funkcyjne, na drodze reakcji addycji, podstawienia nukleofilowego, utlenienia itp.. W konsekwencji te hydrolizowalne dendrymery posiadają korzystne własności do osadzenia na ich powierzchni rozmaitych związków chemicznych, wliczając w to oczywiście połączenia o pożądanej czynności biologicznej.
- ✓ wychodząc z prostych i tanich substratów, opracowano efektywną syntezę nowych dendrymerów polianionowych jako potencjalnych leków przeciwwirusowych. Zarówno łagodne warunki reakcji sprzęgania jak i praktycznie ilościowe reakcje odblokowania dostarczyły rozpuszczalny w wodzie, makrocząsteczkowy materiał o wysokiej czystości i z dobrymi wydajnościami. To omawiane podejście wydaje się posiadać znamiona ogólności, ponieważ umożliwia przekształcenie w gruncie rzeczy dowolnego polifunkcyjnego związku zakończonego grupami o charakterze nukleofilowym (np. grupy hydroksylowe, tiolowe, aminowe) w preparat polianionowy. Jak wspomniałem już wcześniej omawiana metodologia umożliwia dokonywanie subtelnych modyfikacji przechodząc od jednej generacji do drugiej, (np. rozgałęzienia na atomie fosforu i/lub rozgałęzienie na atomie węgla) w obrębie tego samego szkieletu, co jest absolutnie pożądane jeśli chodzi o badania zależności aktywności od struktury. Wreszcie, nowo wprowadzone funkcje chemiczne posiadają potencjał, aby być hydrolizowalne (biodegradowalne), bardzo ważna cecha jeśli chodzi o zastosowania biomedyczne.

LITERATURA CYTOWANA

1. Przykładowo wybrane nowsze książki: (a) Caminade, A. M.; Turrin, C. O.; Laurent, R.; Ouali, A.; Delavaux-Nicot, B. *Dendrimers Towards Catalytic, Material and Biomedical Uses*, John Wiley & Sons: Chichester, United Kingdom, 2011 (b) Vögtle, F.; Richardt, G.; Werner, N.; Rackstraw, A. J. *Dendrimer Chemistry: Concepts, Syntheses, Properties, Applications*, Wiley-VCH Weinheim 2009; (c) Campagna, S.; Ceroni P.; Puntoriero, F. *Designing Dendrimers*, Wiley-Interscience Nowy Jork 2011; Newkome, G. R, *Handbook of Dendrimers*, Wiley-VCH Weinheim 2007.
2. Na przykład: (a) Gade, L. H. (Editor) *Dendrimer Catalysis in Topics in Organometallic Chemistry*, Springer Berlin 2010; (b) Knäpen, J. W. J.; van der Made, A. W.; de Wilde, J. C.; van Leeuwen, P. W. N. M.; Wijkens, P.; Grove, D. M.; van Koten, G. *Nature* **1994**, 372, 659.

3. (a) Baker, J. R.; Majoros, I. (Edytorzy) *Dendrimer-Based Nanomedicine*, Pan Stanford Publishing Singapur 2008; (b) Boas, U.; Christensen, J. B.; Heegaard, P. M. H. *Dendrimers in Medicine and Biotechnology, New Molecular Tools*, RSC Publishing Cambridge 2006; (c) Klajnert, B.; Bryszewska, M. *Dendrimers in Medicine*, Nova Science Publishing Inc. 2007.
4. Majoral, J. P.; Caminade, A. M. *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 845.
5. (a) Na przykład: Salamończyk, G. M.; Pietrusiewicz, K. M. *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 6167-6170; Salamończyk, G. M.; Pietrusiewicz, K. M. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 4233-4234; (b) Bruzik, K. S.; Salamończyk, G. M.; Stec W. J. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 2368-2370.
6. (a) Matteucci, M. D.; Caruthers, M. H. *J. Am. Chem. Soc.* 1981, *103*, 3185. (b) McBride, L. J.; Caruthers, M. H. *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 245. (c) Beaucage, S. L. *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 375.
7. Beaucage, S. L.; Iyer R. P. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 10441-10488.
8. Salamończyk, G. M.; Kuźnikowski, M.; Skowrońska, A. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 1643-1645. H[1] (Publikacja habilitacyjna nr 1)
9. Nishigushi, T.; Taya, H., *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, *111*, 9102.
10. Bosman, A. W.; Janssen, H. M.; Meijer, E. W. *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 1665.
11. (a) Salamończyk, G. M.; Kuźnikowski, M.; Poniatowska, E. *Chem. Commun.* **2001**, 2202-2203. H[2] (Publikacja habilitacyjna nr 2) (b) Salamończyk, G. M. *Phosphorus, Sulfur, Silicon Relat. Elem.* **2005**, *180*, 1051-1056. (c) Salamończyk, G. M.; Kuźnikowski, M.; Poniatowska, E. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 1747-1749. H[3] (Publikacja habilitacyjna nr 3).
12. Hatfield, D. L.; Berry, M. J.; Gladyshev, V. N. *Selenium. Its Molecular Biology and Role in Human Health*, Springer Nowy Jork 2001.
13. Kryukov, G. V.; Castellano, S.; Novoselov, S. V.; Lobanov, A. V.; Zehtab, O.; Guigó, R.; Gladyshev, V. N. *Science* **2003**, *300*, 1439-1443.
14. (a) Stec, W. J.; Okruszek, A.; Michalski, J. *J. Org. Chem.*, **1976**, *41*, 233; (b) De'ath, N. J.; Ellis, K. D.; Smith, J. H.; Trippett, S. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1971**, 714.
15. (a) Buncel E.; Davies, A. G. *J. Chem. Soc.*, **1958**, 1550; (b) Fan, Y. L.; Shaw, R. G. *J. Org. Chem.*, **1973**, *38*, 2410.
16. Przekształcenie związków P=S i/lub P=Se w związki typu P=O: (a) Mikołajczyk, M.; Łuczak, J. *Chem. Ind.* **1974**, 701-702; (b) Stec, W. J.; Okruszek, A.; Michalski, J. *J. Org. Chem.* **1976**, *41*, 233-237; (c) Skowrońska, A.; Krawczyk, E. *Synthesis* **1983**, *6*, 509-510 ;(d) Woźniak, L.; Kowalski, J.; Chojnowski, J. *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 4965-4968; (e) Bhardwaj, R. K.; Davidson, R. S. *Tetrahedron* **1987**, *43*, 4473-4480; (f) Bruzik, K. S.; Stec, W. J. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 6131-6135; (g) Heliński, J.; Skrzypczyński, Z.; Wasiak, J.; Michalski, J. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 4081-4084; (h) Woźniak, L. A.; Stec, W. J. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 2637-2640; (i) Mielniczak, G.; Łopusiński, A. *Synlett* **2001**, *4*, 505-508.
17. (a) Majoral, J. P.; Caminade, A. M.; Maraval, V. *Chem. Commun.* **2002**, 2929-2942; (b) Majoral, J. P.; Caminade, A. M. *Top. Curr. Chem.* **2002**, *223*, 111-159.
18. (a) Vögtle, F. (edytor); Schalley, C. A. (edytor) *Dendrimers IV: Metal Coordination, Self Assembly, Catalysis, in Topics in Current Chemistry*, Springer 2001. (b) Caminade, A. M.; Maraval, V.; Régis, L.; Majoral, J. P. *Curr. Org. Chem.* **2002**, *6*, 739-774.
19. Petrucci-Samija, M.; Guillemette, V.; Dasgupta, M.; Kakkar, A. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 1968-1969.
20. Poniatowska, E.; Salamończyk, G. M. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 4315-4317. H[4] (Publikacja habilitacyjna nr 4).
21. Steele, D. F.; Stephenson, T. A. *J. Chem. Soc.* **1972**, 2161-2169; Hartley, F. R.; Murray, S. G.; Potter, D. M. *J. J. Organomet. Chem.* **1983**, *254*, 119-126
22. (a) Heck, R. F.; Nolley, Jr., J. P. *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 2320-2322; (b) Heck, R. F. *Org. React.* **1982**, *27*, 345-390; (c) Beletskaya, I. P.; Cheprakov, A. V. *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 3009-3066.
23. Salamończyk, G. M. wyniki nieopublikowane.
24. DeClercq, E. *Biochem. Pharmacol.* **1991**, *42*, 963.
25. O'Brien, J.J.; Campoli-Richards, D.M. *Drugs* **1989**, *37*, 233-309.

26. (a) Ehrlich, K. S.; Mills, J.; Chatis, P. N. *Engl. J. Med.* **1989**, *320*, 293; (b) Arduino, P.G.; Porter, S.R. *Oral Dis.* **2006**, *12*, 254-270.
27. Salamończyk, G. M. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 7449–7453. H[5] (Publikacja habilitacyjna nr 5).
28. Domański, D.; Bryszewska, M.; Salamończyk, G. M. *Biomacromolecules*, **2004**, *5*, 2007-2012.
29. Salamończyk, G. M. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 155–158. H[6] (Publikacja habilitacyjna nr 6).
30. Dimick, S. M.; Powell, S. C.; McMahon, S. A.; Moothoo, D. N.; Naismith, J. H.; Toone, E. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 10286–10296.
31. Roosma, J.; Mes, T.; Leclère, P.; Palmans, A. R. A.; Meijer, E. W. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 1120–1121.
32. Przykładowo: (a) Ma, X.; Tang, J.; Shen, Y.; Fan, M.; Tang, H.; Radosz, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 14795–14803; (b) Parrott, M. C.; Benhabbour, S. R.; Saab, C.; Lemon, J.A.; Parker, S.; Valliant, J. F.; Adronov, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 2906–2916; (c) Almutairi, A.; Akers, W. J.; Berezin, M. Y.; Achilefu, S.; Fréchet, J. M. J. *Mol. Pharmaceutics* **2008**, *5*, 1103–1110; (d) Guillaudeu, S. J.; Fox, M. E.; Haidar, Y. M.; Dy, E. E.; Szoka, F. C.; Fréchet, J. M. J. *Bioconjugate Chem.* **2008**, *19*, 461–469; (e) Gillies, E.R.; Fréchet, J. M. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 14137–14146.
33. Trost, B. M. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 259–281.
34. W obecności bardziej tradycyjnego środka kondensującego, *N,N'*-dicykloheksylokarbodiimidu, (DCC) zarówno wydajność reakcji była wyraźnie niższa, jak i oddzielenie produktu od odpowiedniego mocznika znacznie trudniejsze.
35. Boss, R.; Scheffold, R. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1976**, *15*, 558–559.
36. Salamończyk, G. M. *Tetrahedron* **2012**, *68*, 10209–10217. H[7] (Publikacja habilitacyjna nr 7).
37. (a) McCarthy, T. D.; Karellas, P.; Henderson, S. A.; Giannis, M.; O'Keefe, D. F.; Heery, G.; Paull, J. R. A.; Matthews, B. R.; Holan, G. *Mol. Pharm.* **2005**, *2*, 312-318. (b) Rojo, J.; Delgado, R. *Anti-Infective Agents* **2007**, *6*, 151-174. (c) Jimenez, J. L.; Pion, M.; de la Mata, F. J.; Gomez, R.; Muñoz, E.; Leal, M.; Muñoz-Fernandez, M. A. *New J. Chem.* **2012**, *36*, 299-309.
38. (a) Malik, N.; Wiwattanapatapee, R.; Klopsch, R.; Lorenz, K.; Frey, H.; Weener, J. W.; Meijer, E. W.; Paulus, W.; Duncan, R. *J. Control. Release* **2000**, *65*, 133-148. (b) Jevprasesphant, R.; Penny, J.; Jalal, R.; Attwood, D.; McKownand N. B.; D'Emmanuele, A. *Int. J. Pharm.* **2003**, *252*, 263-266.
39. Starpharma Holdings Limited, ogłoszenie z 22 marca 2012, <http://www.starpharma.com/news/113>.
40. Nakhle, B. M.; Trammell, S. A.; Sigel, K. M.; Meyer, T. J.; Erickson, B. W. *Tetrahedron* **1999**, *55*, 2835-2846.
41. Seebach, D.; Herrmann, G. F.; Lengweiler, U. D.; Amrein, W. *Helv. Chim. Acta* **1997**, *80*, 989-1026.
42. Stewart, F. H. C. *Aust. J. Chem.* **1968**, *21*, 2543-2550.
43. Przykładowo: (a) Parrott, M. C.; Benhabbour, S. R.; Saab, C.; Lemon, J. A.; Parker, S.; Valliant, J. F.; Adronov, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 2906-2916. (b) Almutairi, A.; Akers, W. J.; Berezin, M. Y.; Achilefu, S.; Fréchet, J. M. J. *Mol. Pharm.* **2008**, *5*, 1103-1110. (c) Guillaudeu, S. J.; Fox, M. E.; Haidar, Y. M.; Dy, E. E.; Szoka, F. C.; Fréchet, J. M. J. *Bioconjugate Chem.* **2008**, *19*, 461-469. (d) Gillies, E. R.; Fréchet, J. M. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 14137-14146.
44. Reese, C. B.; Stewart, J. C. M. *Tetrahedron Lett.* **1968**, *9*, 4273-4276.
45. Yao-Chang, X.; Bizuneh, A.; Walker, C. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 455-458.

OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO-BADAWCZYCH

Charakterystyka zawodowa autora

Moją działalność naukowo-badawczą rozpocząłem w Instytucie Chemii Organicznej Politechniki Łódzkiej wykonując pracę magisterską na temat: *Zastosowanie Grup Metylowych Jako Ochronnych w Syntezie Kwasów S-Alkilo Tiofosforowych*. Była to naturalnie praca eksperymentalna, która niejako wprowadziła mnie praktycznie w zagadnienia zarówno organicznej chemii fosforu, jak i blokowania i odblokowania funkcji chemicznych w syntezie

związków złożonych. Następnie, po roku przerwy, spowodowanej szkoleniem wojskowym, od stycznia 1986 r. podjąłem pracę w Zakładzie Chemii Bioorganicznej, Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN w Łodzi, pod kierunkiem dra Karola Bruzika. W tymże zakładzie pracowałem do marca roku 1990, ponieważ wówczas mój opiekun wyemigrował na stałe do Stanów Zjednoczonych. Podczas pracy w Zakładzie Chemii Bioorganicznej CBMiM PAN uczęszczałem na studia doktoranckie w Instytucie Chemii Organicznej PAN w Warszawie, które ukończyłem w roku 1990.

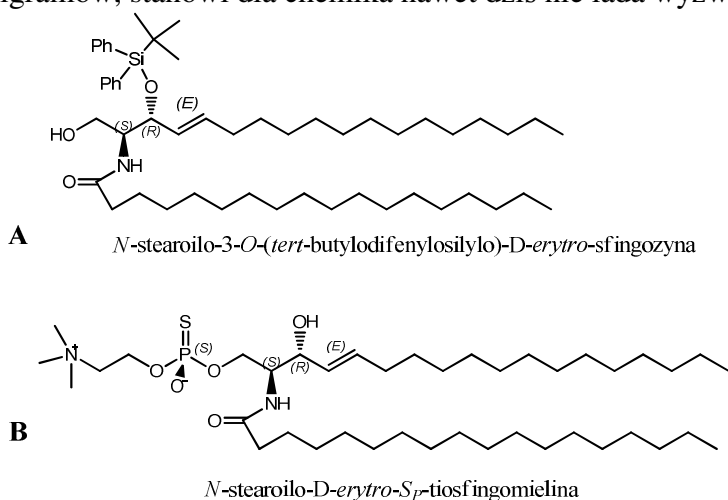
Wymiernym efektem mojej czteroletniej pracy naukowej do roku 1990 jest siedem artykułów, których jestem współautorem opublikowanych w renomowanych czasopismach naukowych z dziedziny chemii organicznej i biochemii. Należy w tym miejscu dodać, że tylko dwa z w/w artykułów stanowią wkład do mojej pracy doktorskiej. Najbardziej znaczące wg mnie prace, w których brałem udział można przedstawić w sposób następujący:

- Pierwszy ważny projekt naukowy, który zrealizowałem w Zakładzie Chemii Bioorganicznej CBMiM PAN, dotyczył opracowania ogólnej metody syntezy glicerofosfolipidów przy zastosowaniu amidofosforynów jako odczynników będących prekursorami wiązania fosfodiestrowego obecnego w strukturze każdego fosfolipidu. Jak powszechnie wiadomo glicerofosfolipidy są związkami absolutnie kluczowymi w przyrodzie. Stanowią główny składnik wszystkich błon biologicznych. W tamtym czasie dostęp do materiału syntetycznego był mocno ograniczony, ponieważ nie było skutecznych, wydajnych i ogólnych metod syntezy tych ważnych połączeń. Autorem projektu był dr Karol Bruzik, natomiast całą pracę syntetyczną i analityczną wykonałem ja. Aby zaprojektowana synteza glicerofosfolipidów była możliwa, należało otrzymać dwa kluczowe komponenty. Pierwszy to enancjomerycznie czysty 1,2-diacylo-*sn*-glicerol (acyl=palmitoil), który otrzymałem w klasycznej, siedmioetapowej syntezie z D-mannitolu (jako źródła chiralnej pochodnej glicerolu) i kwasu palmitynowego. Drugim strategicznym odczynnikiem była chlorometoksy-*N,N*-diizopropylaminofosfina, związek wówczas handlowo niedostępny, którego dwuetapowa, ale wyjątkowo trudna synteza wymagała nieznanego mi wcześniej rygoru i staranności. Synteza glicerofosfolipidów polegała na odpowiednich reakcjach z udziałem zarówno 1,2-diacylo-*sn*-glicerolu jak i w/w organicznego związku fosforu. We wszystkich opisanych przypadkach kluczem do udanych syntez (wysoka wydajność i czystość końcowych produktów) było prowadzenie reakcji chemicznych w warunkach bezwodnych i beztlenowych (rozpuszczalniki dodawane techniką linii próżniowej). Opisywane prace zakończyły się sukcesem. Efektem realizacji projektu była publikacja w *The Journal of Organic Chemistry*, w roku 1986 (publikacja nr 1).

- Nasza metodologia syntezy glicerofosfolipidów wykorzystuje pochodne trikoordynacyjnego fosforu jako związki pośrednie. Fakt ten powoduje, że łatwo można uzyskać również w ilościach nawet gramowych rozmaite analogi naturalnie występujących fosfolipidów, w których fosforylowy atom tlenu można zastąpić atomem innego tlenowca takim jak siarka czy selen, bądź łatwo wprowadzić izotopy tlenu jak np. ^{17}O czy ^{18}O wykorzystując odpowiednio znaczoną izotopowo wodę. Zarówno otrzymane przeze mnie modele naturalnych fosfolipidów jak i ich analogi posłużyły do wytworzenia z nich odpowiednich dwuwarstw fosfolipidowych, których strukturę badaliśmy za pomocą różnych technik NMR, przede wszystkim za pomocą NMR ciała stałego. Efektem realizacji projektu była publikacja w *Biochimica & Biophysica Acta* w roku 1990 (publikacja nr 5). Mój udział w

tej pracy polegał na totalnej syntezie wszystkich badanych związków oraz na przygotowaniu z nich odpowiednich dwuwarstw fosfolipidowych.

▪ Kolejny projekt, w którym uczestniczyłem dotyczył badania (NMR ciała stałego i w roztworach) zależności między konformacją i stereochemią cząsteczek, a organizacją dwuwarstw fosfolipidowych zbudowanych z różnych diastereoizomerów sfingomieliny i jej tiofosforanowych analogów. Sfingomielina jest związkiem organicznym, przedstawicielem fosfolipidów (sfingolipidów), zbudowanym z reszt: sfingozyny, kwasu tłuszczowego, reszty fosforanowej i reszty choliny. Występuje w dużych ilościach w mózgu i tkance nerwowej. Aby te badania były możliwe, obok naturalnej sfingomieliny (z mózgu wołowego), należało otrzymać preparaty syntetyczne będące stereoizomerami oraz analogami naturalnej sfingomieliny. Taka była właśnie moja rola chemika syntetyka w tymże projekcie. Pomimo, iż chemiczna synteza sfingomielin (i kilku ich analogów) była już wówczas opisana, to otrzymanie enancjomerycznie czystych pojedynczych diastereoizomerów sfingomielin, w ilościach kilkuset miligramów, stanowi dla chemika nawet dziś nie lada wyzwanie.



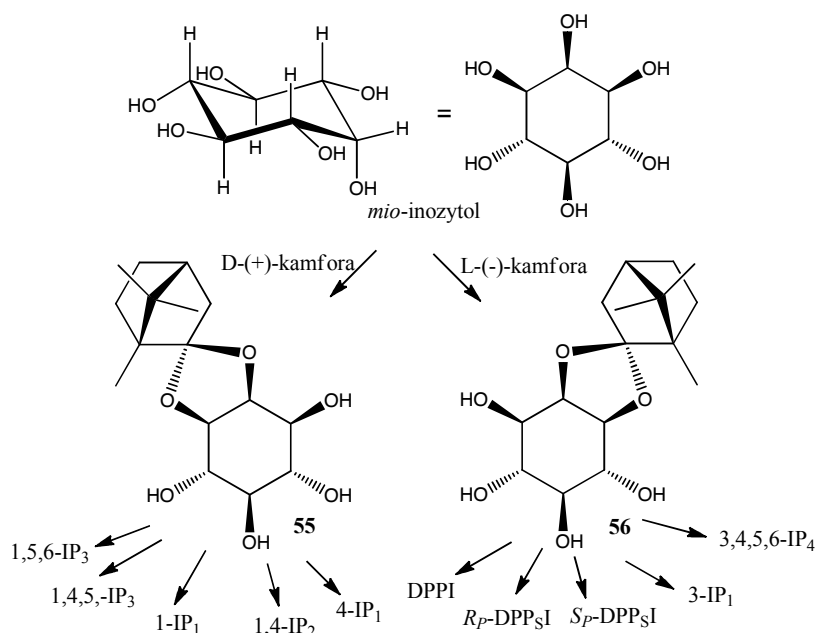
Rysunek 13. (A) Struktura odpowiednio zablokowanej sfingozyny o naturalnej konfiguracji (*D*-erythro); (B) Struktura P-chiralnego tiofosforanowego analogu *N*-stearoilo-*D*-erythro-sfingomieliny.

Odpowiednio zablokowaną sfingozynę (Rysunek 13 A) otrzymałem wychodząc z L-seryny i 1-pentadecenu (*J. Org. Chem.*, Vol. 46, 1981, 4393). Pentadecen przekształciłem w 1-pentadecyn w reakcji najpierw przyłączenia podchlorynu *tert*-butylu, a następnie w reakcji adduktu z *n*-butylolitem (eliminacja). L-Serynę przeprowadziłem w ester metylowy (chlorowodorek), a następnie w odpowiednią oksazolinę (ester metylowy) w reakcji z pochodną benzonitrylu (iminoester). Ester metylowy w/w oksazolinie przekształciłem w aldehyd w reakcji z DIBAL-H. Pentadecyn w reakcji z DIBAL-H dał odpowiedni, terminalny *trans* anion 1-pentadecenu, który w reakcji z aldehydem oksazolinie doprowadził do uzyskania odpowiedniego adduktu, okazolinie sfingozyny i jej drugiego epimeru w stosunku 1:1. Stereoizomery *D*-erythro (naturalny) i *L*-treo rozdzieliłem za pomocą chromatografii na żelu krzemionkowym. Dalsze reakcje prowadziłem już osobno na obu diastereoizomerach. Otwarcie pierścienia oksazolinie za pomocą rozcieńzonego HCl w THF doprowadziło do otrzymania sfingozyn z zablokowaną pierwszorzędową grupą OH, w postaci benzoesu. Związek ten posiadał wolną grupę aminową, którą przeprowadziłem w pochodną amidową w reakcji ze stearynianem 4-nitrofenyłu. Drugorzędową grupę OH przekształciłem w eter sililowy w reakcji z chlorkiem *tert*-butylodifenylosililowym w obecności imidazolu. Wreszcie usunięcie reszty

benzoilowej z pierwszorzędowej grupy OH, za pomocą katalitycznych ilości metanolanu sodu doprowadziło do otrzymania pochodnej sfingozyny (oraz jej *L-treo* epimeru) o strukturze jak na rysunku 13A. Odpowiednie sfingomieliny (*L-treo* i *D-erythro*) oraz ich tiofosforanowe analogi (w sumie 6 homochiralnych preparatów) otrzymałem ze sfingozyn w oparciu o procedury syntezy glicerofosfolipidów przy wykorzystaniu chlorometoksy-*N,N*-diizopropylamino fosfiny jako odczynnika fosfitylującego (patrz także Bruzik, K. S. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1986**, 329-331). Oczywiście w przypadku tiofosforanów konieczny i możliwy (wszak bardzo trudny i pracochłonny) był chromatograficzny rozdział odpowiednich P-epimerów na pojedyncze indywidua na etapie w pełni zablokowanych tiosfingomielin. Warto nadmienić, iż ten materiał nie został w ogóle wykorzystany przeze mnie w pracy doktorskiej. Efektem realizacji projektu była publikacja w *Biochemistry*, w roku 1990 (publikacja nr 7).

▪ Następne ważniejsze projekty realizowane przeze mnie związane były już z moją pracą doktorską i dotyczyły totalnej syntezy enancjomerycznie czystych fosfoinozytydów. Jako fosfoinozytydy rozumiane są wszelkie pochodne *mio*-inozytolu zawierające funkcje fosforanowe. *Mio*-inozytol lub *cis*-1,2,3,5-*trans*-4,6-cycloheksanoheksol jest najpowszechniej (w znacznych ilościach występuje w pokarmie pochodzenia roślinnego) w przyrodzie występującym izomerem (jednym z dziewięciu) 1,2,3,4,5,6- cycloheksanoheksolu. Pomimo, iż niepodstawiony *mio*-inozytol jest nieczynny optycznie jako związek typu *mezo*, wiele jego pochodnych występuje w przyrodzie w formach chiralnych. Pod koniec lat osiemdziesiątych minionego wieku dokonał się znaczny postęp w zrozumieniu mechanizmu sygnalizacji wewnątrzkomórkowej, który jak się okazało jest rozpowszechniony i opiera się na systemie wtórnych przekaźników informacji (ang. second messengers) tworzących się w reakcjach enzymatycznej hydrolizy fosfolipidów *mio*-inozytolu. Otrzymane wyniki badań jednoznacznie dowiodły, że kluczowym ogniwem w sekwencji przekazywania sygnałów w komórce jest nowy wtórny przekaźnik informacji, D-1,4,5-trisfosforan *mio*-inozytolu. Odkrycie roli fosfoinozytydów w procesach życiowych stworzyło ogromne zapotrzebowanie na nowe efektywne metody syntezy zarówno naturalnych fosforanów *mio*-inozytolu jak i ich analogów. Postanowiłem więc podjąć się właśnie takiego zadania, które zakończyło się pełnym sukcesem, a dodatkowo życie syntetyka nauczyło mnie pewności poczynań i samodzielności, gdyż mniej więcej w połowie realizacji projektu, mój opiekun naukowy z Zakładu Chemii Bioorganicznej CBMiM PAN, doc. Karol Bruzik wyjechał na stałe do USA. Na szczęście dla mnie, wyjazd doc. Bruzika nie spowodował „zawieszenia” projektu i był on kontynuowany pod fachową opieką naukową doc. K. Michała Pietrusiewicza w Zakładzie Związków Heteroorganicznych CBMiM PAN. Należy tutaj dodać, że pan doc. K. Michał Pietrusiewicz nie zajmował się wówczas biofosforanami, a jego główną domeną badań była synteza oraz zastosowanie w katalizie chiralnych fosfin i ich pochodnych.

Strategicznym elementem projektu było wykorzystanie optycznie czynnej kamfory jako cyklicznego ketonu przeznaczonego do przeprowadzenia *mio*-inozytolu w diastereomeryczne pochodne *spiro-cis*-acetalowe. Posunięcie to połączyło etap blokowania *mio*-inozytolu z jednoczesnym rozdzieleniem uzyskanych pochodnych i w rezultacie, po odpowiedniej optymalizacji, zapewniło już w pierwszym kroku syntetycznym wygodny dostęp do pojedynczych enancjomerycznie czystych pochodnych *mio*-inozytolu tj. tetrolu **55** bądź tetrolu **56**, w zależności od użytego enancjomeru kamfory (Schemat 17). Pochodne te wydzielone były, z mieszanin poreakcyjnych, z wydajnością co najmniej 65% (proste odsączenie) i co więcej, mogły być użyte do dalszych reakcji w stanie surowym.

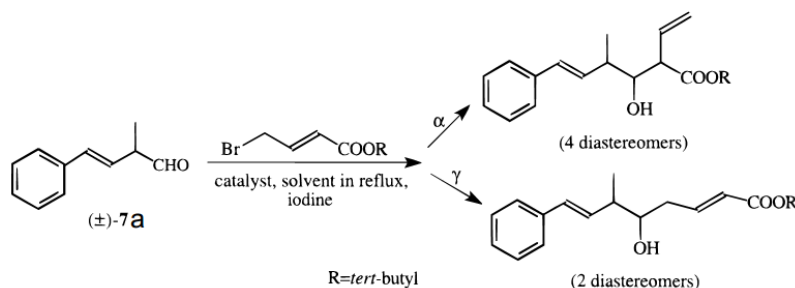


Schemat 17. Fosfoinoztytydy otrzymane w opisywanym projekcie: 1,4,5-IP₃ = D-1,4,5-trisfosforan *mio*-inozytolu, 1-IP₁ = D-1-fosforan *mio*-inozytolu, 1,4-IP₂ = D-1,4-bisfosforan *mio*-inozytolu, 4-IP₁ = D-4-fosforan *mio*-inozytolu, DPPI = 1,2-dipalmitoilofosfatydyloinozytol, *R_p*-DPP₅I = *R_p*-1,2-dipalmitoilotiofosfatydyloinozytol, *S_p*-DPP₅I = *S_p*-1,2-dipalmitoilotiofosfatydyloinozytol, 3-IP₁ = D-3-fosforan *mio*-inozytolu, 3,4,5,6-IP₄ = D-3,4,5,6-tetrakisfosforan *mio*-inozytolu, 1,5,6-IP₃ = D-1,5,6-trisfosforan *mio*-inozytolu.

Poza ich łatwą dostępnością tetrole **55** i **56** okazały się mieć jeszcze i tę zaletę, że ich cztery wolne grupy hydroksylowe mogły być efektywnie rozróżnione chemicznie poprzez odpowiedni dobór odczynnika elektrofilowego. Właściwość ta sprawiła, że odpowiednie 1-fosforanowe, 1,4-bissililowe czy 1,4,5-tris(trimetylo)acetylowe pochodne mogły zostać otrzymane w kolejnej pojedynczej reakcji z udziałem odpowiedniej ilości elektrofila. W oparciu o tak bezprecedensowo krótki, zaledwie dwuetapowy proces pozyskiwania odpowiednio zablokowanych *enancjomerycznych* pochodnych *mio*-inozytolu przeprowadzonych zostało szereg syntez wybranych homochiralnych fosfoinoztydydów i ich analogów. Wybrane obiekty, które obejmują zarówno 1,2-dipalmitoilofosfatydyloinozytol i jego P-epimeryczne tiofosforylowe analogi, D-1,4,5-trisfosforan *mio*-inozytolu i wszystkie jego metabolity z głównej ścieżki metabolicznej tego związku, po nieopisane wówczas D-3,4,5,6-tetrakisfosforan *mio*-inozytolu czy D-1,5,6-trisfosforan *mio*-inozytolu wyszczególnione są w Schemacie 17. Należy w tym miejscu podkreślić, że porównanie syntez tych związków z syntezami opisanymi wówczas w literaturze chemicznej pozwala w większości ocenić syntezę opracowane przeze mnie jako najbardziej ekonomiczne. Efektem realizacji projektu były publikacje w *Tetrahedron Letters* w roku 1990, 1991 i 1994 (publikacje nr **6**, **8**, **9** i **11**) oraz publikacja w *Tetrahedron* (publikacja nr **10**).

▪ Kolejne projekty realizowałem w ramach stażu podoktorskiego, w laboratorium profesora Charlesa J. Sih'a na Wydziale Farmacji, (School of Pharmacy) University of Wisconsin, Madison, USA. Do ważniejszych osiągnięć z tamtego okresu na pewno mogę zaliczyć rozwiązanie problemów związanych z syntezą „górnej części” cząsteczki kryptoficyny. Kryptoficyny to silne cytotoksyny wytwarzane przez sinice z rodzaju trzęsidel zamieszkujących głównie słodkie wody wysp hawajskich. Syntetyzuje się je dlatego, że są obiecującymi preparatami w terapiach wielu nowotworów. Badania biologiczne pokazały, że spośród naturalnie występujących związków największe znaczenie mają kryptoficyna A i C. Z

punktu widzenia chemika kryptoficyna C to makrocykl zawierający 7 centrów chiralności, 2 wiązania estrowe i 2 wiązania amidowe. Wydaje się, że najłatwiej jest ten związek otrzymać przez połączenie dwóch umownych jednostek, części „górnej” oraz „dolnej.” Część górna to odpowiednio zablokowana pochodna kwasu (2*E*,7*E*,5*S*,6*R*)-5-hydroksy-6-metylo-8-fenylocta-2,7-dienowego. Podczas gdy część dolna składa się z trzech podjednostek: kwasu (*S*)-2-hydroksy-4-metylowalerianowego, kwasu (*R*)-3-amino-2-metylopropionowego oraz 3-chloro-*O*-metylo-*D*-tyrozyny. Najpierw oczyściłem białko (preparat handlowy nie działał), lipazę z *Candida rugosa* i z powodzeniem zastosowałem ją do syntezy enancjomerycznie czystego aldehydu **7a**. Kluczowym i jak się okazało najtrudniejszym etapem całej pracy była reakcja Reformackiego β,γ -nienasyconego aldehydu **7a** z 4-bromokrotonianem *tert*-butylu (Schemat 18). Okazało się bowiem, że regioselektywność addycji związku metaloorganicznego powstałego z podstawionego bromku allilu, do związku karbonylowego jest bardzo silnie zależna zarówno od rozpuszczalnika jak i użytego metalu (patrz np. Rice, L. E.; Boston, M. C.; Finklea, H. O.; Suder, B. J.; Frazier, J. O.; Hudlicky, T. J. *Org. Chem.* **1984**, *49*, 1845-1848).

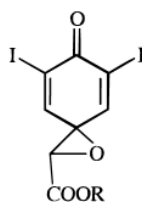


Schemat 18. Badanie przebiegu reakcji addycji typu Reformackiego 4-bromokrotonianu *tert*-butylu do β,γ -nienasyconego, racemicznego aldehydu **7a**.

Kłopot polegał na tym, że w tej reakcji zdecydowanie przeważał tryb addycji typu α i tworzyły się w przewodzie niepożądane produkty. Problem ten rozwiązałem stosując domieszkowanie ołowiu do cynku oraz obniżając polarność rozpuszczalnika reakcji z eteru do mieszaniny eter-benzen 1:1. Zabieg ten spowodował, że czterowęglowa homologacja prowadząca do części „górnej” cząsteczki kryptoficyna C pokazana na Schemacie 18 przebiegła głównie w trybie γ -addycji. A moja skromna osoba stała się pierwszym autorem tej pracy, która ukazała się w *The Journal of Organic Chemistry* w roku 1996 (publikacja nr **13**).

- Następne najważniejsze projekty, które z powodzeniem realizowałem w Stanach Zjednoczonych związane były z badaniem mechanizmu biosyntezy głównego hormonu tarczycy – tyroksyny (T_4). Jak wiadomo, tyroksyna i trijodotyronina (T_3) są absolutnie kluczowymi dla życia hormonami, funkcjonującymi niemal we wszystkich komórkach ludzkiego ciała. Ich podstawowe działanie polega na regulacji szybkości metabolizmu czy syntezy białek. Odpowiadają za prawidłowy rozwój i różnicowanie komórek. Pomimo, iż tyroksyna posiada bardzo prostą budowę chemiczną i minęło już ponad 60 lat od czasu, gdy zaproponowano mechanizm jej biosyntezy wewnątrz tarczycy, to proces ten nie jest do końca zrozumiały. Choćby dlatego, że proponuje się dwa konkurencyjne mechanizmy tworzenia T_4 znane jako sprzężanie wewnątrzcząsteczkowe i sprzężanie międzycząsteczkowe. (Degroot, L. J.; Niepomniszcze, H. *Prog. Endocrinol. Met.* **1977**, 665-718) Mechanizm sprzężania międzycząsteczkowego oparty jest na odkryciu, że 3,5-dijodo-L-tyrozyna (DIT) reaguje bardzo łatwo i wydajnie ze swoim keto analogiem kwasem 4-hydroksy-3,5-dijodofenylopirogrońowym (DIHPPA) dając w rezultacie T_4 . W omawianym projekcie skrupulatnie

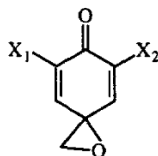
zbadaliśmy niskotemperaturową reakcję utleniania DIHPPA za pomocą gazowego tlenu. Przedstawiliśmy niepodważalny, eksperymentalny dowód, że jednym z produktów pośrednich w biosyntezie tyroksyny jest epitlenek **8a**.



8a R=H

Związek **8a** łatwo i szybko reagował z DIT dając T_4 . Doceniono wartość wyników naszych badań, ponieważ zostały one bez problemu opublikowane jako komunikat w bardzo prestiżowym *Journal of the American Chemical Society* w roku 1997 (publikacja nr **17**).

Skoro aktywny epitlenek **8a** łatwo i szybko reagował z DIT dając T_4 , zdecydowaliśmy się zsyntetyzować i zbadać właściwości chemiczne podobnego epitlenku, a mianowicie 1-oksaspiro[2,5]bicyklookta-4,7-dien-6-onu (**9a**) oraz jego jodo pochodnych **9b** i **9c**. Związek **9a** otrzymano po raz pierwszy poprzez utlenianie alkoholu 4-hydroksybenzyloвого za pomocą bizmutanu sodowego (Adler, E.; Holmberg, K.; Ryrfors, L. O. *Acta Chem. Scand.* **1979**, B28, 883-887), natomiast jodo pochodne **9b** i **9c** nie były dotychczas opisane i wymagały nieco innej procedury syntetycznej.



9a $X_1=X_2=H$
9b $X_1=I; X_2=H$
9c $X_1=X_2=I$

Istotne jest to, że poprawiłem znacznie wydajność otrzymywania związku **9a**, oraz opracowałem prostą syntezę związków **9b** i **9c**. Dodatkowo odkryłem, że w reakcji epitlenku **9a** z alkoholami dochodzi do unikalnego otwarcia pierścienia oksiranowego. Zerwaniu ulega wiązanie węgiel-węgiel, a nie węgiel-tlen. Wszystkie trzy epitlenki (**9a-c**) reagowały w środowisku wodnym! (bufor boranowy), w temperaturze pokojowej, z nieblokowaną! 3,5-dijodo-L-tyroziną (DIT) dając odpowiednio T_2 , T_3 i T_4 . Szczególne wrażenie robi tworzenie się L-tyroksyny, gdyż związek ten praktycznie ilościowo wytrąca się z mieszaniny reakcyjnej w postaci analitycznie czystej. Omawiane wyniki opisane zostały w *Tetrahedron Letters* w roku 1997 (publikacja nr **16**). Jak już wcześniej wspominałem uważam tę pracę (oczywiście zarówno ze względu na znaczenie L-tyroksyny jak i sposób oraz efektywność jej uzyskiwania) jako jedną z moich najcenniejszych i ulubionych publikacji. Satysfakcja jest tym większa, że praca ta bywa cytowana jako „synteza tyroksyny metodą Salamonczyka” (np. Nagao, H. & al., *Journal of Endocrinology* **2011**, 210, 117–123).

Enzymy hydrolityczne nie były jedynymi, które z powodzeniem stosowałem w reakcjach chemicznych. Zdołałem także doświadczenie w pracy z peroksydazami. Bowiem pozostałe badania, które z powodzeniem realizowałem w ramach stażu podoktorskiego dotyczyły właśnie praktycznego wykorzystania peroksydaz w syntezie organicznej i zostały

opisane w postaci dwóch artykułów w *The Journal of Organic Chemistry* **1997**, 62, 6700-6701 oraz **1998**, 63, 4269-4276 (publikacje odpowiednio nr **15** i **18**).

▪ Po powrocie ze stażu w USA rozpocząłem prace nad możliwością opracowania ogólnej metody syntezy dendrymerów fosforoorganicznych, o czym już pisałem we wprowadzeniu.

