

Autoreferat rozprawy doktorskiej:

„Synteza analogów 1 α ,25-dihydroksywitaminy D₃ ze zmodyfikowanym pierścieniem D”

Promotor: Prof. dr hab. Rafał Siciński

Historia odkrycia związku, który dziś nazywamy kalcytriolem, lub bardziej systematycznie, 1 α ,25-dihydroksywitaminą D₃, sięga XVIII wieku. Wtedy to, w Anglii miała miejsce tzw. rewolucja przemysłowa. Był to złożony proces społeczno-ekonomiczny, podczas którego ludność masowo migrowała do miast by pracować w powstałych tam fabrykach. Specyficzny klimat, duże zadymienie oraz dieta oparta głównie na produktach mącznych, spowodowały masowe wystąpienie krzywicy u dzieci. Badania na temat przyczyny tak wysokiej zachorowalności doprowadziły do odkrycia witaminy D₃. Jak się później okazało, jest to prekursor aktywnej biologicznie formy, jaką jest kalcytriol. Związek ten jest nazywany hormonem witaminowym ze względu na sposób działania i mnogość funkcji, jakie spełnia w organizmie. Do głównych można zaliczyć kontrolę homeostazy wapniowo-fosforanowej i przeciwdziałanie chorobom autoimmunologicznym, takim jak łuszczyca. Coraz częściej jednak jest również podkreślana znaczna rola kalcytriolu w odporności oraz przeciwdziałaniu zmianom nowotworowym. Nic więc dziwnego, że wiele zespołów naukowych skupionych w ośrodkach akademickich, jak i firmach farmaceutycznych, zajęło się syntezą pochodnych witaminy D₃ oraz kalcytriolu. Poszukiwano i poszukuje się nadal związków posiadających unikalny profil biologiczny, charakteryzujący się selektywnym i/lub wzmocnionym działaniem terapeutycznym. Analizując doniesienia literaturowe na temat analogów 1 α ,25-dihydroksywitaminy D₃, można zauważyć, że tylko nieliczne z nich dotyczą związków z modyfikacjami steroidowego pierścienia D. Postanowiłem zatem skupić się na poszerzeniu wiedzy na temat możliwości syntez pochodnych kalcytriolu, charakteryzujących się takimi strukturalnymi modyfikacjami.

Jako pierwszy cel syntetyczny obrałem analog z aromatycznym, sześcioczłonowym pierścieniem D. Związek ten posiadał ponadto zmodyfikowany układ podwójnych wiązań. Tak więc, typowy układ trienowy zamieniłem na dienowy, który nieco obniża aktywność

biologiczną, znacznie natomiast upraszcza syntezę. Podczas realizacji pożądanego produktu użyłem α -tetralon jako związek wyjściowy, będący jednocześnie fragmentem zawierającym bicykliczny układ pierścieni C/D. W trakcie dobudowywania łańcucha bocznego wykorzystałem asymetryczną epoksydację Sharplessa, dzięki której w sposób wydajny i w pełni stereokontrolowany utworzyłem centrum stereogeniczne na C-20. Kluczową reakcją była również reakcja Sonogashiry, która umożliwiła wydajne sprzęgnięcie tryflanu zawierającego „górny” fragment budulcowy z dienynem będącym syntonem pierścienia A. Wykorzystując różne bloki budulcowe zawierające pierścień A, otrzymałem dwa związki finalne. Pierwszy z nich zawierał pierścień A, identyczny z tym występującym w formie prewitaminowej kalcytriolu. W drugim, zsyntezowanym według autorskiego projektu, występowała dodatkowa grupa metylenowa w pozycji C-2.

Analizując ponownie dotychczasowe doniesienia literaturowe postanowiłem zsyntezować kolejną grupę analogów, w których główną modyfikacją był pierścień D w formie otwarto-łańcuchowej (związki *D-seko*). Dodatkowymi strukturalnymi zmianami, w porównaniu do kalcytriolu, było wprowadzenie podwójnego wiązania pomiędzy C-17 a C-20, brak grupy metylowej przy C-20, oraz brak grupy metylenowej przy C-10. W tej grupie pochodnych postanowiłem otrzymać -oprócz związków z „naturalną” konfiguracją absolutną - również diastereomery, które posiadały odwrotną konfigurację na centrach C-13 oraz C-14. Wśród tej ostatniej podgrupy była również pochodna z pierścieniem A identycznym z kalcytriolowym. Kluczową reakcją w trakcie realizacji projektu była ponownie reakcja Sharplessa, która ostatecznie pozwoliła w sposób w pełni stereokontrolowany wprowadzić trzy centra stereogeniczne w chiralnym związku, powstałym z ϵ -kaprolaktonu. Dzięki zastosowaniu *D*- lub *L*-winianu otrzymałem odpowiedni stereoizomer. Wykorzystując reakcję Wittiga-Hornera połączyłem keton zawierający „górny” fragment analogu z odpowiednim tlenkiem fosforyny zawierającym pierścień A. W przypadku pochodnej z „naturalnym” pierścieniem A, sprzęgnięcie dużych fragmentów wykonałem za pomocą reakcji Sonogashiry, przekształcając uprzednio keton w odpowiedni tryflan.

Dla wszystkich zsyntezowanych przeze mnie analogów kalcytriolu wykonane zostały badania biologiczne. Przetestowana została zdolność wiązania tych związków z receptorem witaminy D (VDR) oraz zdolność różnicowania komórek ludzkiej białaczki linii HL-60. Dla wybranych związków wykonano testy funkcjonalne pod kątem aktywacji transkrypcji 24-hydroksylazy oraz testy *in vivo* określające właściwości kalcemiczne.

Uzupełnieniem prowadzonych przeze mnie badań nad analogami kalcytriolu ze zmodyfikowanym pierścieniem D, była synteza pochodnych hydrindanu i dekaliny, które

mogą posłużyć jako syntony zawierające bicykliczny układ pierścieni C/D. Związki te posiadały podwójne wiązanie C(15)-C(16)(w numeracji steroidowej), co umożliwia dalszą funkcjonalizację w tym miejscu cząsteczek.

Przedstawiona praca doktorska poszerza wiedzę na temat zależności struktura-aktywność w obszarze badań nad $1\alpha,25$ -dihydroksywitaminą D_3 . Niewątpliwym atutem przedstawionych badań są wyniki otrzymane dla jej analogów posiadających modyfikacje strukturalne w steroidowym pierścieniu D, rzadko dotychczas eksplorowanym fragmencie cząsteczek witamin grupy D.

Wyniki zaprezentowane w niniejszej rozprawie zostały częściowo opublikowane w formie artykułów:

1. Sibilska I. K., Szybinski M., Sicinski R. R., Plum L. A., DeLuca H. F., *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **136**, 9-13 (2013). *IF*= 4.095
2. Sibilska I. K., Szybinski M., Sicinski R. R., Plum L. A., DeLuca H. F., *J. Med. Chem.*, **58**, 9653-9662 (2015). *IF*= 6.253
3. Szybinski M., Sokołowska K., Sicinski R. R., Plum L. A., DeLuca H. F., *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **173**, 57-63 (2017). *IF*= 4.095
4. Szybinski M., Sektas K., Sicinski R. R., Plum L. A., Frelek J., DeLuca H. F., *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **171**, 144-154 (2017). *IF*= 4.095
5. Szybinski M., Brzeminski P., Fabisiak A., Berkowska K., Marcinkowska E., Sicinski R. R., *Int. J. Mol. Sci.*, **18**, 2162-2176 (2017). *IF*= 3.687