



**SZKOŁA DOKTORSKA
BioMedChem**

Uniwersytetu Łódzkiego
i Instytutów Polskiej
Akademii Nauk w Łodzi



Krzysztof Śmiałkowski

Praca doktorska: **Oligofunkcjonalizacja klasterów boru jako bloków budulcowych nowych materiałów i związków bioaktywnych.**

Doctoral thesis: **Oligofunctionalization of boron clusters as building blocks for new materials and bioactive molecules.**

- Promotor/Supervisor
prof. dr hab. Zbigniew J. Leśnikowski
Instytut Biologii Medycznej Polskiej Akademii Nauk
Pracownia Chemii Medycznej

Łódź, 2024

STRESZCZENIE PRACY DOKTORSKIEJ

Moim zadaniem w ramach badań opisanych w niniejszej pracy doktorskiej było stworzenie podstaw chemicznych umożliwiających otrzymywanie, zaprojektowanych jako jeden z celów projektu Symfonia 3, nanocząstek, nośników terapeutycznych kwasów nukleinowych. Cele te były również podstawą Indywidualnego Planu Badawczego w Szkole Doktorskiej BioMedChem. Zadanie to zostało zrealizowane w wyniku kilkuletnich badań i umożliwiło opracowanie użytecznych w praktyce metod oligofunkcjonalizacji zarówno *orto*-karboranu jak i jego kompleksu z metalem, metalokarboranu zawierającego kobalt i wykorzystanie ich do konstrukcji nanocząstek nowego typu, nośników terapeutycznych kwasów nukleinowych.

Struktura klastrów boru, stabilizowana jest przez trójwymiarową sieć zdelokalizowanych wiązań kowalencyjnych w której atomy boru (i węgla) skoordynowane są co najmniej z trzema, a czasami nawet pięcioma lub sześcioma atomami boru tworząc wyjątkowo trwałe, „nieklasyczne” układy molekularne. Unikalne właściwości karboranów, w tym aromatyczność w trzech wymiarach sprawiają, że każde podstawienie przy atomie boru lub węgla zmienia rozkład gęstości elektronowych w całym klastrze, a co za tym idzie reaktywność wszystkich pozostałych atomów w cząsteczce również ulega zmianie. Końcowy efekt w postaci zmieniającej się reaktywności atomów boru i węgla klastrów jest wynikiem nakładania się wielu czynników. We wstępie literaturowym podjąłem próbę ich skatalogowania i wykorzystania do wyjaśnienia preferencyjnego tworzenia się pochodnych dwupodstawionych karboranów i metalokarboranów względem ich pochodnych monopodstawionych. Jest to problem, który często komplikuje oligofunkcjonalizację karboranów i metalokarboranów w pożądanym kierunku i z którym miałem do czynienia także w moich badaniach.

W części dotyczącej prac własnych opisałem wyniki badań nad oligofunkcjonalizacją 1,2-dikarba-*closo*-dodekaboranu na atomach boru B₉ i B₁₂ oraz atomach węgla C₁ i C₂, a także nad oligofunkcjonalizacją metalokarboranu zawierającego kobalt, bis(1,2-dikarba-*closo*-dodekaborano)-*commo*-3,3'-kobaltanu (III) na atomach boru B₈ i B_{8'} oraz atomach węgla C₁, C₂, C_{1'} lub C_{2'}. Ze względu na cel praktyczny prowadzonych przeze mnie badań jakim było otrzymanie funkcjonalizowanych pochodnych klastrów boru umożliwiających syntezę bloków budulcowych nanocząstek, kompozytów klastrów boru i antysensowych DNA-oligonukleotydów, musiały one spełniać wymóg przyłączenia do klastra dwóch podstawników zablokowanych grupą trytylową i jednego podstawnika z wolną grupą hydroksylową. Cel praktyczny uzależniony był od prowadzonych równolegle badań podstawowych rozwijających

wiedzę na temat chemii klastrów boru, metod ich oligofunkcjonalizacji poprzez przyłączanie w sposób w miarę możliwości kontrolowany, jednego, dwóch, trzech lub czterech podstawników do atomów boru i węgla, jak również poszerzania wiedzy o stereochemii tych skomplikowanych układów.

W części dotyczącej oligofunkcjonalizacji 1,2-dikarba-*closo*-dodekaboranu zmodyfikowałem i zoptymalizowałem opisaną wcześniej metodę syntezy 9,12-bis(3-O-trytyloksyprop-1-ylo)-1,2-dikarba-*closo*-dodekaboranu, związku kluczowego w dalszych etapach syntezy, oraz opracowałem metodę przyłączania do niego podstawnika hydroksyalkilowego. Otrzymany w ten sposób trójpodstawiony 1,2-dikarba-*closo*-dodekaboran został z powodzeniem wykorzystany do otrzymania funkcjonalnych nanocząstek drugiej generacji, kompozytów klastrów boru i DNA-oligomerów. Wykorzystując spektroskopię ^{11}B -NMR i ^1H -NMR zanalizowałem wpływ wprowadzania kolejnych podstawników w strukturę 1,2-dikarba-*closo*-dodekaboranu na zmianę właściwości klastra związaną ze zmieniającym się rozkładem gęstości elektronowych w cząsteczce oraz stereochemię otrzymanych pochodnych.

W części dotyczącej oligofunkcjonalizacji metalokarboranu, bis(1,2-dikarba-*closo*-dodekaborano)-*commo*-3,3'-kobaltanu (III) (COSAN) opracowałem: 1) metodę syntezy pochodnych COSANU dwupodstawionych na atomach boru B_8 i B_8' grupami hydroksyalkilowymi zablokowanymi grupami trytylowymi lub *tert*-butylodimetylosililowymi; 2) metodę syntezy pochodnych COSANU funkcjonalizowanych na atomach B_8 i B_8' i dodatkowo mono- lub dwufunkcjonalizowanych na atomach węgla C_1 , C_1' , C_2 lub C_2' ; 3) metodę syntezy cyklicznych estrów tiofosforanowych 8,8'-dihydroksy-COSANU, pochodnych o zahamowanej rotacji, alkilowanych na atomie siarki podstawnikami alkilowymi liniowymi lub rozgałęzionymi; 4) metodę oligofunkcjonalizacji grupami hydroksyalkilowymi na atomach węgla C_1 , C_1' , C_2 lub C_2' pochodnych COSANU o zahamowanej rotacji, wymienionych w punkcie 3; 5) metody syntezy 8-(5-hydroksy-3-oksa-pentoksy)-[1,1'-di(2-O-trytyloksyetylo)-bis(1,2-dikarbolido)-3,3'-kobaltanu (III), nowego typu oligofunkcjonalizowanej pochodnej COSANU. Pochodna ta została już wykorzystana do otrzymania nanocząstek trzeciej generacji. Wszystkie wymienione pochodne i stojące za nimi badania chemiczne stanowią oryginalny wkład w chemię klastrów boru.

Ponadto, podobnie jak w przypadku 1,2-dikarba-*closo*-dodekaboranu, wykorzystując spektroskopię ^{11}B -NMR i ^1H -NMR zanalizowałem wpływ wprowadzania podstawników w strukturę metalokarboranu na zmianę właściwości cząsteczki związaną ze zmieniającym się rozkładem gęstości elektronowych w cząsteczce oraz stereochemię otrzymanych pochodnych. Złożoność tych procesów i zależności w przypadku metalokarboranów jest nawet jeszcze

większa niż w przypadku 1,2-dikarba-*closo*-dodekaboranu. Wyniki moich badań mogą stanowić przyczynek do ich lepszego zrozumienia.

Następnie opisałem pokrótce wykorzystanie otrzymywanych przeze mnie oligofunkcjonalizowanych klasterów boru do: 1) syntezy bloków budulcowych nanocząstek, kompozytów klasterów boru i antysensowych DNA-oligonukleotydów poprzez przyłączenie DNA-oligomeru do funkcjonalizowanego klastera boru, 2) konstrukcji nanocząstek na drodze składania otrzymanych bloków budulcowych i 3) badania właściwości fizykochemicznych i aktywności biologicznej uzyskanych nanocząstek. Część pierwsza tych prac zrealizowana została w ramach współpracy z Pracownią Terapeutycznych Kwasów Nukleinowych kierowaną przez Profesor Barbarę Nawrot (Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych CBMiM), a część druga i trzecia zostały zrealizowane w naszej Pracowni w Instytucie Biologii Medycznej PAN, głównie przez Panią dr Katarzynę Bednarską-Szczepaniak i Panią dr Gabrielę Gajek (w ramach umowy zlecenia). Szczegółowy opis tych badań znajduje się w Publikacji 2 (pozycja 9 Bibliografii), której jestem współautorem. Praca ta wraz z Publikacją 1 (pozycja 94 Bibliografii) stanowią podstawę mojej dysertacji. Praca stanowiąca pozycję 101 Bibliografii, podsumowuje najnowsze wyniki moich badań opisane w części 2.2.6 i jest w przygotowaniu do druku.

W końcowej części pracy opisuję wyniki wstępnych badań nad syntezą analogów genisteiny zawierających klaster boru, 1,2-dikarba-*closo*-dodekaboranu. Wątek ten co prawda nie wiąże się bezpośrednio z zagadnieniem oligofunkcjonalizacji klasterów boru jednak nawiązuje do tytułu mojej pracy w kontekście syntezy związków bioaktywnych. Genisteina jest związkiem naturalnym z grupy flawonoidów o szerokim spektrum aktywności. Mnie zainteresowało jej działanie hormonopodobne i powinowactwo do receptorów β -estrogenowych (ER). Otrzymałem dwie pochodne genisteiny z klasterem boru, pochodne te wykazały zróżnicowaną cytotoksyczność *in vitro* w liniach komórkowych Huh70 (badania cytotoksyczności wykonane przez dr Katarzynę Bednarską-Szczepaniak). Obecnie otrzymane pochodne są w trakcie badań selektywności powinowactwa do receptorów ER α i β w CiMUS University of Santiago de Compostela, Hiszpania, w ramach współpracy.