

mgr Aneta Baj

09.10.2018 r.

Zakład Chemii Produktów Naturalnych

Instytut Chemii

Promotor: dr hab. Stanisław Witkowski, prof. UwB

Promotor pomocniczy: dr Piotr Wałęjko

SYNTEZA I BADANIA STRUKTURALNE NOWYCH ANALOGÓW WITAMINY E

Rozprawa doktorska dotyczy badań z zakresu chemii witaminy E (α -tokoferolu). Głównym założeniem pracy było uzyskanie dokładniejszych informacji o efektach stereoelektronowych oraz konformacyjnych występujących w tokoferolach, głównie w pierścieniu dihydropiranylowym.

Prace badawcze z zakresu chemii witaminy E prowadzone są od ponad 90 lat. Pomimo szeroko zakrojonych badań witamina ta nadal cieszy się niesłabnącym zainteresowaniem naukowców z różnych dziedzin. W miarę postępu badań pojawiają się nowe pytania dotyczące mechanizmu działania oraz jej funkcji biologicznych. Wiele aspektów aktywności biologicznej witaminy E nie zostało dotychczas w pełni poznanych, co stanowi zachętę i inspirację do dalszych badań.

W odróżnieniu od innych witamin, witamina E zaangażowana jest w szereg różnorodnych procesów fizjologicznych, m.in. uczestniczy w regulacji ekspresji genów oraz komunikacji międzykomórkowej. Reguluje aktywność szeregu ważnych enzymów m.in. kinazy białkowej C (PKC) oraz fosfolipazy A₂. Ponadto, wykazuje działanie antyoksydacyjne, przeciwzapalne, neuroprotektoryjne, proapoptotyczne oraz obniżające poziom cholesterolu. Badania potwierdziły, że suplementacja preparatami witaminy E może zmniejszać ryzyko wystąpienia szeregu chorób, takich jak choroby układu sercowo-naczyniowego, zaćma, choroba Alzheimera, Parkinsona, czy też cukrzyca typu 2. Witamina E wbudowując się w struktury podwójnych warstw fosfolipidowych błon biologicznych, chroni komórki przed

niszczącym działaniem wolnych rodników, szczególnie tzw. reaktywnych form tlenu (RFT). Ponadto nadaje odpowiednią płynność, trwałość oraz przepuszczalność błonom komórkowym, regulując w ten sposób ich właściwości strukturalno-funkcjonalne. Z danych literaturowych wynika, że wysoka skuteczność antyoksydacyjna witaminy E jest ściśle związana z efektami stereoelektronowymi pochodzącymi od atomu tlenu O1 z pierścienia dihydropiranylowego układu chroman-6-olu. Specyficzne efekty elektronowe oraz konformacyjne mają również istotny wpływ na mechanizm wbudowywania się oraz funkcjonowania witaminy E w środowisku membranowym. Z uwagi na ten aspekt badania dotyczące struktury układów chroman-6-olowych stanowi istotne zagadnienie.

Najważniejszym przedstawicielem witaminy E jest α -tokoferol (α -T). Z grupy ośmiu witamerów posiada on najwyższą biodostępność, a w organizmie jest preferencyjnie zatrzymywany. Z tego względu jest najczęściej badaną formą witaminy E. Z uwagi na obecność konformacyjnie labilnego pierścienia dihydropiranylowego α -T jest przedmiotem badań strukturalnych, głównie konformacyjnych. Jak dotąd, prace z tego zakresu dotyczyły przede wszystkim wpływu podstawnika w pozycji C-6 na geometrię pierścienia heterocyklicznego α -tokoferolu oraz jego związków modelowych (Troloksu i PMHC). Niewiele jest natomiast badań dotyczących wpływu podstawników w pozycji C-2 na preferencje konformacyjne układu chroman-6-olowego. Jak dotychczas nie zbadano wpływu atomu tlenu O1 na dynamikę i preferencje konformacyjne układu chromanu.

W związku z powyższym, w ramach niniejszej pracy doktorskiej, zaprojektowałam i otrzymałam grupę analogów witaminy E do badań spektroskopowych oraz strukturalnych w aspekcie ich aktywności biologicznej, w szczególności antyoksydacyjnej. W grupie związków modelowych znalazły się analogi α -T, modyfikowane w pozycji O-1 i/lub C-2. Głównym celem prac syntetycznych było otrzymanie nieopisanych dotychczas analogów witaminy E zawierających szkielet 1,2,3,4-tetrahydronaftalenu (tetraliny) w miejsce układu chromanu. W toku przeprowadzonych prac otrzymałam cztery nieopisane dotychczas w literaturze karbaanalogi α -tokoferolu oraz Troloksu.

W drugim wariantcie otrzymałam serię analogów α -T, w których w miejsce długiego łańcucha fitylowego został wprowadzony krótszy fragment węglowy (C₁, C₂, C₆) oraz szereg innych grup funkcyjnych. Ostatnim etapem prac syntetycznych było otrzymanie nieopisanych w literaturze analogów 2-desmetylo: Troloksu oraz PMHC. Na drodze kilkietapowych przekształceń otrzymałam serię związków modelowych różniących się podstawnikiem w pozycji C-2.

Przedmiotem drugiej części badań własnych jest analiza spektroskopowa oraz badania strukturalne. Otrzymane związki modelowe zostały poddane badaniom za pomocą spektroskopii NMR (w roztworze oraz ciele stałym). Za pomocą dynamicznego ^{13}C NMR wyznaczono barierę przejścia konformacyjnego ΔG^\ddagger w badanych układach, natomiast na podstawie widm ^{13}C NMR IG (250 K) oszacowano zawartość dwóch głównych konformerów występujących w równowadze. Wyniki eksperymentów zostały porównane z obliczeniami teoretycznymi (DFT) oraz dostępnymi danymi XRD.

W celu ilościowego oszacowania stabilizującego wpływu atomu tlenu O1 na tworzące się rodniki tokoferoksyłowe przeprowadzone zostały badania aktywności antyoksydacyjnej wybranych związków modelowych. Do wstępnej oceny efektywności otrzymanych karbaanalogów wykorzystano metodę bezpośrednią polegającą na pomiarze szybkości inhibicji autooksydacji styrenu w obecności tlenu atmosferycznego oraz pomiary kinetyki reakcji z modelowym rodnikiem DPPH' metodą spektroskopii EPR. Przeprowadzone zostały wstępne badanie wpływu 1-karba- α -tokoferolu na stabilność modelowych błon fosfolipidowych oraz właściwości termotropowe.

Część eksperymentalna niniejszej pracy zawiera procedury otrzymywania wszystkich analogów i pochodnych oraz ich pełną charakterystykę. Wszystkie nowe związki zostały scharakteryzowane za pomocą spektroskopii IR, ^1H i ^{13}C NMR, spektrometrii mas (MS, HRMS). W oparciu o eksperymenty 2D NMR typu COSY, HSQC, HMBC oraz COLOC dokonana została pełna interpretacja sygnałów w widmach ^1H i ^{13}C NMR zsyntezowanych związków modelowych.

Aneta Baj