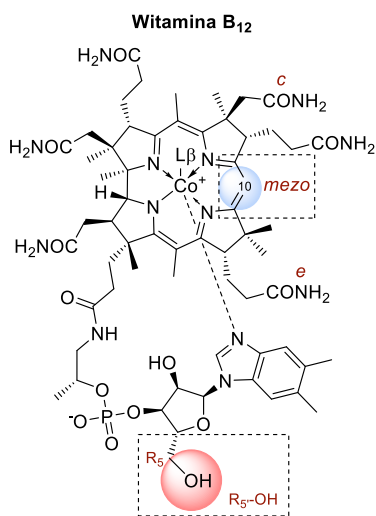


Selektywna funkcjonalizacja witaminy B₁₂ w pozycji *mezo* i w obrębie pętli nukleotydydowej

mgr inż. Aleksandra J. Wierzb
Promotor : prof. dr hab. Dorota Gryko



Witamina B₁₂ (kobalamina) jest odpowiedzialna za szereg procesów kluczowych dla prawidłowego funkcjonowania ssaków a także niektórych bakterii. Substancja ta jest związkiem egzogennym i po dostarczeniu jej do organizmu wraz z pożywieniem, dociera do komórek za pośrednictwem złożonego systemu białek transportujących. Fakt ten sprawia, że kobalamina może być rozpatrywana jako potencjalny transporter związków biologicznie czynnych do komórek. Jednak przygotowanie połączeń witaminy B₁₂ z terapeutykami wymaga odpowiednio sfunkcjonalizowanych bloków budulcowych, a złożona struktura witaminy B₁₂ sprawia, że selektywna synteza jej pochodnych nie należy do zadań łatwych.

Celem moich badań była synteza nowych pochodnych witaminy B₁₂ umożliwiających przyłączanie do niej związków w pozycji R₅ w sposób odwracalny, a także opracowanie metodologii funkcjonalizacji kobalaminy w pozycji *mezo* (C10). Istniejące oraz nowo opracowane metodologie postanowiłam wykorzystać do przygotowania koniugatów witaminy B₁₂ z syntetycznymi oligonukleotydami, a konkretnie – peptydowym kwasem nukleinowym (ang. *peptide nucleic acid*, PNA) oraz barwnikami fluorescencyjnymi.

W pierwszym etapie badań opracowałam syntezę pochodnej kobalaminy reaktywnej względem tiolu oraz wykazałam, że utworzone połączenie disiarczkowe między witaminą a przyłączanym związkiem może być zredukowane w obecności glutationu (tiolu obecnego w komórkach eukariotycznych). Kolejno, zmodyfikowałam strukturę kobalaminy w pozycji *mezo* w reakcji nitrowania. W wyniku redukcji grupy nitrowej w pozycji C10 otrzymałam *mezo*-aminę, którą następnie funkcjonalizowałam w reakcjach z aldehydami oraz bezwodnikami kwasów. Ponadto, zbadałam wpływ charakteru elektronowego podstawników w pozycji C10 na strukturę oraz właściwości fotofizyczne i elektrochemiczne kobalaminy.

W kolejnym kroku opracowałam metodologie łączenia witaminy B₁₂ z modyfikowanymi oligonukleotydami PNA w pozycjach R₅, *c*, *e*, *mezo* oraz na kobalcie, wykorzystując w tym celu łączniki o różnej długości i odmiennym charakterze. Opracowałam również metodę przyłączania do kobalaminy barwników fluorescencyjnych w pozycji R₅ z zastosowaniem katalizowanej jonami miedzi(I) reakcji 1,3-dipolarnej cykloaddykcji azydków do terminalnych alkinów (CuAAC).

Przeprowadzone badania wykazały, że witamina B₁₂ może być efektywnym transporterem modyfikowanych oligonukleotydów do komórek bakterii oraz służyć jako element sondy molekularnej wykorzystywanej do obrazowania fragmentów mRNA oraz krótkich, niekodujących fragmentów w żywych komórkach ssaków.