

Załączniki:

1. Życiorys naukowy
2. Dorobek naukowy w postaci spisu publikacji z impakt faktorem (IF) w roku publikowania i aktualnym, ilość cytowań, indeks - Hirsch'a.
3. Informacja o działalności dydaktycznej i organizacyjnej.
4. Informacja o działalności naukowej i współpracy z organizacjami instytucjonalnymi w kraju i zagranicą.
5. Autoreferat jest monotematycznym opisem cyklu 14 publikacji.
6. Oświadczenia: współautorów oraz osobiste dotyczące publikacji z więcej niż pięcioma współautorami
7. Dyplom uzyskania stopnia naukowego doktora (kopia).
8. Dane do korespondencji.
9. Wersja angielska dokumentów 1-5.
1. Życiorys naukowy wnioskodawcy.

Maciej, Marian Makowski

Urodzony dnia: pierwszego, lutego, tysiąc dziewięćset pięćdziesiątego pierwszego (01.02.1951) roku w Muszynie i tam w 1965 roku ukończyłem

Szkołę Podstawową.

1965-1970 Szkoła Średnia ;Technikum Chemiczne w Tarnowie-Mościcach, finalnie, matura.

1971-1976 Studia w Wyższej Szkole Pedagogicznej im. Powstańców Śląskich
Wydział: Matematyczno-Fizyczno-Chemiczny (studia dwustopniowe; 1971-1974 dyplomowe, 1974-1976 magisterskie)

1976- Magister chemii z wyróżnieniem.

1976-1978 Asystent - Katedra Chemii Polimerów, Instytut Chemii, WSP (kierownik: prof. dr hab. inż. Maria Nowakowska)

1978-1986 Asystent, Starszy Asystent - Katedra Chemii Organicznej, Instytut Chemii, WSP (kierownik: prof. dr hab. inż. Barbara Rzeszotarska)

1986- Doktor nauk chemicznych, Uniwersytet Warszawski, Wydział Chemii.

Tytuł rozprawy doktorskiej:

„Synteza peptydów z α,β -dehydroaminokwasami”

1990-1999 Adiunkt - Katedra Chemii Organicznej, Instytut Chemii, WSP

1999-2017 Adiunkt - Katedra Chemii Analitycznej i Ekologicznej, Wydział Chemii, Uniwersytet Opolski.

Nagrody i wyróżnienia:

1980 i 1982 nagrody Rektora WSP w Opolu za osiągnięcia naukowe.

2015 nagroda Rektora Uniwersytetu Opolskiego za osiągnięcia naukowe.

*Maciej Makowski*₂

2. Dorobek naukowy:

1. M. L. Główka, G. Gilli, V. Bertolasi **M. Makowski**
Structure of an α,β -Unsaturated Dipeptide, Racemic N-[(Phenylmethoxy)carbonyl]phenylalanyl- Δ (Z)phenylalanine.
Acta Cryst., 1989, C43, 1403. [IF 0,492 ; 0,403]
2. Z. Kubica, B. Rzeszotarska, **M. Makowski**, M. L. Główka, Z. Gałdecki
Synthesis of Peptides with α,β -Dehydroamino Acide, IV Crystal Structure of (E)-Trifluoroacetylglycyldehydrophenylalanine and the Assigment of the Geometry of Dehydrophenylalanine Residues.
Pol. J. Chem. , 1988, 62, 107. [IF 0,422 ; 0,444]
3. K. Pawełczak, **M. Makowski**, M. Kempny, J. Dzik. M. Balińska. W. Rode
Sulfonamide Antifolates Inhibiting Thymidylate Synthase: Sntesis, Enzyme Inhibition and Cytotoxicity.
Adv. Exp. Med. Biol. 1993, 388, 625-628. [IF 1,825 ; 1,811]
4. T. Kowalik-Jankowska, H. Kozłowski, L. D. Pettit, K. Pawełczak, **M. Makowski**
Binding Ability of N-para-amino-phenylsulfonyl Derivatives of Amino Acids. Potentiometric and Spectroscopic Studies of Cu(II) Complexes.
J. Inorg. Biochem. 1995, 57, 183-190. [IF 1,478 ; 3,197]
5. T. Kowalik-Jankowska, H. Kozłowski, K. Pawełczak, **M. Makowski**
N-p-Amino and N-p-Nitrophenylsulfonyl Derivatives of Dipeptides, a New Family of Ligands for Cooper(II).
J. Chem. Soc. DALTON TRANS. 1995, 2729-2733. [IF 1,972 ; 2,820]
6. J. Cieśla, B. Gołos, M. Dzik, K. Pawełczak, M. Kempny, **M. Makowski**, M. Bretner. T. Kulikowski, B. Machnicka, B. Rzeszotarska , W. Rode
Thymidylate Synthases from *Hymenolepsis dyminuta* and Regenerating Rat Liver: Purification, Propertis, and Inhibition by Substrate and Cofaktor Analogues.
Biochim. Biophys. Acta 1995, 1294, 127-136 [IF 2.507 ; 4,134]
7. J. Świętek-Kozłowska, J. Brasuń, L. Chruściński, E. Chruścińska, **M. Makowski**, H. Kozłowski
Impact of α,β -dehydroamino acids residues on the binding abilitis of di-,tri-,and tetra- peptides
New J. Chem. , 2000, 24, 893-896 [IF 3.009 ; 2,966]
8. K. Ejsmont, **M. Makowski**, J. Zalewski
N-(tert-Butoxycarbonylglycyl - α,β -dehydrophenylalanyl-glycylphenylalanyl)-4-nitroaniline.
Acta Crys. 2001, C57, 205-207 [IF 0,570 ; 0,492]
9. **M. Makowski**, M. Pawełczak, R. Latajka, K. Nowak, P. Kafarski
Synthesis of Tetrapeptides p-nitrophenylanilides containing dehydroalanine and dehydrophenylalanine and their influence on catepsin C activity.
J. Peptide Sci., 2001, 7, 141-145 [IF 1,451 ; 2,071]

10. K. Pawełczak, **M. Makowski**, M. Kępný, J. M. Dzik, B. Gołos, W. Rode, B. Rzeszutarska
Sulfamide antifolates inhibiting thymidylate synthase: synthesis, enzyme inhibition and cytotoxicity.
Acta Biochimica Polonica, **2002**, 49, 407-420 [IF 0,600 ; 1,185]
11. J. Świątek-Kozłowska, J. Brasuń, M. Łuczowski, **M. Makowski**
Binding abilities of dehydropeptides towards Cu(II) and Ni(II) ions. Impact of Z-E isomerization on metal ion binding.
J. Inorg. Biochemistry, **2002**, 90, 106-112 [IF 2,204 ; 3,197]
12. **M. Makowski**, K. Pawełczak, P. Kafarski, J. M. Dzik, B. Gołos, M. Balinska, W. Rode
Quinazoline antifolate thymidylate synthase inhibitors: replacement of glutamic acid by aminophosphonic acids.
Phosphorus, Sulfur, and Silicon, **2003** 178, 1639-1651 [IF 0,323 ; 0,601]
13. J. Brasuń, **M. Makowski**, S. Ołdziej, J. Świątek-Kozłowska
Coordination ability of pentapeptides with two dehydro-amino acid residues inserted into their sequences.
J. Inorg. Biochemistry, **2004**, 98, 1391-1398 [IF 2,225 ; 3,197]
14. **M. Makowski**, A. Brzuszkiewicz, M. Lisowski, T. Lis
N-[tert-Butoxycarbonylglycyl-(Z)- α,β -dehydrophenylalanylglycyl-(E)- α,β -dehydrophenylalanylphenylalanyl]-4-nitroaniline ethanol solvate.
Acta Cryst. **2005** C61, 0424-0426 [IF 0,777 ; 0,492]
15. J. Brasuń, M. Makowski, A. Janicka, J. Świątek-Kozłowska
Influence of the position of two dehydro-amino AIDS residues In the oligopeptide sequence the binding ability towards Cu(II) ions
Polyhedron **2005** 24, 1929-1936 [IF 1,957 ; 1,813]
16. R. Latajka, **M. Makowski**, M. Jegwinski, M. Pawełczak, H. Koroniak, P. Kafarski
Peptide p-nitroanilides containing (E)-dehydrophenylalanine-synthesis, structural studies and evaluation of their activity towards cathepsin C.
New J. Chem., **2006**, 30, 1009-1018 [IF 2,647 ; 2,966]
17. **M. Makowski**, M. Lisowski, A. Maciąg, T. Lis
N-[tert-Butoxycarbonylglycyl-(Z)- α,β -dehydrophenylalanylglycyl-(E)- α,β -dehydrophenylalanyl]glycine methyl ester dehydrate.
Acta Cryst., **2006**, E62, 0807-0810 [IF 0,896 ; 0,552]
18. **M. Makowski**, M. Lisowski, I. Mikołajczyk, T. Lis
N-[tert-Butoxycarbonylglycyl-(E)- α,β -dehydrophenylalanylglycylglycyl-(E)- α,β -dehydrophenylalanyl]glycine.
Acta Cryst., **2007**, E63, 019-021 [IF 0,719 ; 0,552]
19. **M. Makowski**, M. Lisowski, I. Mikołajczyk, T. Lis
N-[tert-Butoxycarbonylglycyl-(Z)- α,β -dehydrophenylalanylglycyl-(Z)- α,β -dehydrophenylalanyl]glycine methyl ester.
Acta Cryst., **2007**, E63, 0989-0991 [IF 0,719 ; 0,552]

20. K. Ejsmont, R. Gajda, **M. Makowski**
Conformation of tert-butoxycarbonylglycyl-dehydroalanyl-glycine methyl ester in the crystalline state and calculated in the gas phase.
Acta Cryst., **2007**, *C63*, 080-083 [IF 0,719 ; 0,432]
21. **M. Makowski**, M. Lisowski, I. Mikołajczyk, T. Lis
N-[Glycyl-(Z)- α,β -dehydrophenylalanyl-glycyl-(Z)- α,β -dehydrophenylalanyl]glycine trifluoroacetate methanol solvate.
Acta Cryst., **2007**, *E63*, 02709-02710 [IF 0,719 ; 0,552]
22. R. Latajka, M. Jegwiński, **M. Makowski**, M. Pawelczak, T. Hubert, N. Sewald, P. Kafarski
Pentapeptides containing two dehydrophenylalanine residues-synthesis, structural studies and evaluation of their activity towards cathepsin C.
J. Peptide Sci., **2008**, *14*, 1084-1095 [IF 1,828 ; 2,071]
23. R. Latajka, M. Jegwiński, **M. Makowski**, A. Krężel
Conformational studies of hexapeptides containing two dehydroamino acid residues in position 3 and 5 in peptide chain.
J. Molecular Structure **2008**, *892* 446-451 [IF 1,594 ; 1,404]
24. R. Latajka, M. Jegwinski, **M. Makowski**, A. Krężel, S. Paluch,
Conformational studies of hexapeptides containing two dehydroamino acid residues in position 2 and 5 in peptide chain.
Biopolymers, **2008**, *89*, 691-699 [IF 2,823 ; 2,879]
25. M. Lisowski, R. Latajka, B. Picur, T. Lis, I. Bryndal, M. Rospenek, **M. Makowski**, P. Kafarski
Combined Effect of the Δ Phe or Δ Ala Residue and the p-Nitroanilide Group on a Dehydropeptides Conformation.
Biopolymers, **2008**, *89*, 220-234 [IF 2,823 ; 2,879]
26. **M. Makowski**, M. Lisowski, A. Maciag, M. Wiktor, A. Szlachcic, T. Lis
Two pentadehydropeptides with different configuration of the Δ Phe residues
Acta Cryst., **2010**, *C66*, 0119-0123. [IF 0,403 ; 0,492]
27. M. Lisowski, Ł. Jaremko, M. Jaremko, A. Mazur, R. Latajka, **M. Makowski**
Effect of the Δ Phe Residue Configuration on a Didehydropeptides Conformation: A Combined CD and NMR Study.
Biopolymes, **2010**, *93*, 1055-1064. [IF 2,691 ; 2,879]
28. P. Lenartowicz, **M. Makowski**
Inhibitory katepsyny C
 Na pograniczu chemii i biologii (2011) *tom XXVII*, 253-261.
29. K. Małek, **M. Makowski**, A. Królikowska, J. Bukowska
Comparative Studium on IR, Raman, and Surface Enhanced Raman Scattering Spectroscopy of Dipeptides Containing Δ Ala and Δ Phe.
J. Phys. Chem. B **2012**, *116*, 1414-1425. [IF 3,702 ; 3,607]

30. K. Małek, **M. Makowski**
The infrared and Raman spectra of solid tirdehydropeptides: Influence of Δ Ala and Δ Phe on the spectral profile.
Vibrational Spectroscopy **2012**, *60* 73-78. [IF 1,978 ; 1,747]
31. B. Oszywa, **M. Makowski**, M. Pawełczak
Purification and partial characterization of aminopeptidase from barley(*Hordeum vulgare* L.) seeds.
Plant Physiology and Biochemisry **2013**, *63* 75-80. [IF 2,775]
32. M. Jegwiński, R. Latajka, A. Krezel, K. Haremza, **M. Makowski**, P. Kafarski
Influence of sovents on conformation of dehydropeptides.
Juornal of Molecular Structure **2013**, *1035*, 129-139. [IF 1,404]
33. A. Brzuszkiewicz, **M. Makowski**, M. Lisowski, E. Lis, M. Otreba, T. Lis
Two phosphonodehydrotripeptides: Boc-Gly- Δ (Z)Phe- α -AbuPO₃Me₂, Boc-Gly- Δ (Z)Phe- α -NvaPO₃Et₂
Acta Cryst., **2013**, *C69*, 277-281. [IF 0,492]
34. M. Jaremko, L. Jaremko, A. Mazur, **M. Makowski**, M. Lisowski
Enhanced β -turn conformational stability of tripeptides containing Δ Phe in *cis* over *trans* configuration.
Amino Acids **2013**, *45*, 865-875 [IF 3,913]
35. A. Buczek, **M. Makowski**, M. Jegwiński, R. Latajka, T. Kupka, M. A. Broda
Toward Engineering Efficient Peptidomimetics. Screening Conformational Landscape of Two Modified Dehydroaminoacids.
Biopolymers **2014**, *101*, 28-40 [IF 2.879]
36. P. Lenartowicz, **M. Makowski**, B. Zarychta, K. Ejsmont
Crystal structure of N-(tert-butoxycarbonyl)glycyl-(Z)- β -bromodehydroalanine methyl ester [Boc-Gly-(β)Br]^(Z) Δ Ala-OMe]
Acta Cryst. **2014**, *E70*, 596-598 [IF 0.347]
37. P. Lenartowicz, **M. Makowski**, B. Zarychta, K. Ejsmond
Crystal structure of N-(tert-butoxycarbonyl)-phenylalanyldehydroalanine isopropyl ester (Boc-Phe- Δ Ala-OiPr)
Acta Cryst. **2014**, *70E*, 599-602 [IF 0.350]
38. M. Jegwiński, J. Krzciuk-Gula, **M. Makowski**, R. Latajka, P. Kafarski
Conformation of dehydropentapeptides containing four achiral amino acids residues- Controlling the role of L-Valine.
Beilstein J. Org. Chem., **2014**, *10*, 660-666 [IF 2,801]
39. **M. Makowski**, P. Lenartowicz, B. Oszywa, M. Jegwiński, M. Pawełczak, P. Kafarski
Synthesis of dehydrodipeptide esters and their evaluation as inhibitor of catepsin C
Med. Chem. Res. **2015**, *24* (8), 3157-3165 [IF 1.402]

40. **M. Makowski**, M. Jegwiński, J. Hurek, A. Paliwoda, P. Kafarski
Kinetics of photochemical isomerization of TFA-Gly-^zΔPhe into TFA-Gly-^EΔPhe
Arkivoc 2017, part iv, 88-94 [IF 1.096]

Sumaryczny *Impact Factor* publikacji naukowych według listy *Journal Citation Reports* (JCR), zgodny rokiem opublikowania:

69.212

Ilość cytowań według bazy *Web of Science* (WOS):

całkowita - **362**

bez autocytowań - **248**

Indeks Hirscha dotyczący publikacji według bazy *Web of Science*: **12**

Maciej Malinowski

Pełny dorobek autora obejmuje:

- 49 publikacji w tym 48 istnieją w bazie *Journal Citation Reports*.
- 43 komunikatów konferencyjnych
- udział w sześciu projektach badawczych:
- 1992-1998 Granty KBN Nr. 6 6253 92 03/02 oraz Nr. 6 6254 92 03 „Synteza, reaktywność, cytostatyczność chinazolinowych inhibitorów syntazy tmidylanowej”- wykonawca i główny wykonawca.
- 2005-2008 Grant własny Nr. 0474/P04/2005/29 „Projektowanie i reaktywność niskocząsteczkowych inhibitorów gingipain”- główny wykonawca.
- 2005-2008 Grant własny Nr. 2 P04B 020 29 „Inhibitory i substraty katepsyny C” - główny wykonawca.
- 2009-2011 Grant własny Nr. NN 204 333 037 „Struktura molekularna i sposób adsorpcji dehydropeptydów w spektroskopii oscylacyjnej”- główny wykonawca.
- 2010-2014 Nr. Gantu 01.01.02-02-003/08WCB/5/I/2010 „Terapia chorób cywilizacyjnych-innowacyjne leki przeciw rakowe i przeciw osteoporozie”- główny wykonawca.

3. Działalność dydaktyczna i organizacyjna.

Opieka naukowa nad studentami

- projektowanie, prowadzenie i realizacja prac magisterskich

Opieka naukowa nad doktorantem mgr Pawłem Lenartowiczem w charakterze promotora pomocniczego od 01.10.2010 do 09. 2016; tytuł rozprawy doktorskiej:

„Synteza peptydowych inhibitorów katepsyny C”

Jednostka organizacyjna kształcąca doktoranta:

Politechnika Wroclawska, Wydział Chemii.

Jednostka organizacyjna w której zrealizowany został doktorat:

Uniwersytet Opolski, Wydział Chemii, Katedra Chemii Analitycznej i Ekologicznej.

Zaplanowanie, wykonanie stosownych materiałów pirotechnicznych i demonstracja na Opolskich Festiwalach Nauki.

Maciej Malinowski

4. Działalność naukowa i współpraca z organizacjami instytucjonalnymi w kraju i zagranicą.

Dotyczy ona byłej i teraźniejszej współpracy z osobami z następujących ośrodków badawczych:

Politechnika Wroclawska, Wydział Chemii, Instytut Chemii Bioorganicznej:

- Prof. Paweł Kafarski
- Dr hab. Rafał Latajka
- Dr Michał Jegwiński

Laboratorium Badań Strukturalnych:

- Dr Sławomir Paluch

Uniwersytet Wroclawski, Wydział Chemii:

- Prof. Henryk Kozłowski
- Prof. Tadeusz Lis
- Dr hab. Marek Lisowski

Wydział Biotechnologii:

- Prof. Artur Krężel

Uniwersytet Jagielloński, Wydział Chemii:

- Dr Kamila Małek

Uniwersytet Medyczny, Wydział Podstawowych Badań Medycznych, Wrocław:

- Prof. Jolanta Świątek-Kozłowska
- Dr hab. Justyna Brasuń

Uniwersytet Gdański, Wydział Chemii:

- Dr hab. Stanisław Ołdziej

Instytut Nenckiego, Biologia Eksperymentalna, Warszawa:

- Prof. Wojciech Rode
- Dr hab. Małgorzata Balińska
- Dr hab. Jolanta M. Dzik

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, Wydział Chemii, Poznań:

- Prof. Henryk Koroniak

University of Bielefeld, Department of Chemistry, Germany

- Prof. Norbert Sewald

Paweł Kozłowski

Praca habilitacyjna pt.:
„Synteza, struktura i aktywność biologiczna peptydów z α,β -dehydroaminokwasami”.

Praca habilitacyjna oparta jest głównie o poniższe publikacje:

1. J. Brasuń, **M. Makowski**, S. Oldziej, J. Świątek-Kozłowska
Coordination ability of pentapeptides with two dehydro-amino acid residues inserted into their sequences.
J. Inorg. Biochemistry, **2004**, *98*, 1391-1398 [IF 2,225 ; 3,197]
2. J. Brasuń, **M. Makowski**, A. Janicka, J. Świątek-Kozłowska
Influence of the position of two dehydro-amino acids residues in the oligopeptide sequence the binding ability towards Cu(II) ions
Polyhedron **2005**, *24*, 1929-1936 [IF 1,957 ; 1,813]
3. R. Latajka, **M. Makowski**, M. Jegwinski, M. Pawelczak, H. Koroniak, P. Kafarski
Peptide p-nitroanilides containing (E)-dehydrophenylalanine-synthesis, structural studies and evaluation of their activity towards cathepsin C.
New J. Chem., **2006**, *30*, 1009-1018 [IF 2,647 ; 2,966]
4. R. Latajka, M. Jegwinski, **M. Makowski**, M. Pawelczak, T. Huber, N. Sewald, P. Kafarski
Pentapeptides containing two dehydrophenylalanine residues-synthesis, structural studies and evaluation of their activity towards cathepsin C.
J. Peptide Sci., **2008**, *14*, 1084-1095 [IF 1,828 ; 2,071]
5. R. Latajka, M. Jegwiński, **M. Makowski**, A. Krężel
Conformational studies of hexapeptides containing two dehydroamino acid residues in position 3 and 5 in peptide chain.
J. Molecular Structure, **2008**, *892*, 446-451 [IF 1,594 ; 1,404]
6. R. Latajka, M. Jegwinski, **M. Makowski**, A. Krężel, S. Paluch,
Conformational Studies of Hexapeptides Containing Two Dehydroamino Acid Residues in Position 2 and 5 in Peptide Chain.
Biopolymers, **2008**, *89*, 691-699 [IF 2,823 ; 2,879]
7. M. Lisowski, R. Latajka, B. Picur, T. Lis, I. Bryndal, M. Rospenk, **M. Makowski**, P. Kafarski
Combined Effect of the Δ Phe or Δ Ala Residue and the p-Nitroanilide Group on a Dehydropeptides Conformation.
Biopolymers, **2008**, *89*, 220-234 [IF 2,823 ; 2,879]

8. M. Lisowski, Ł. Jaremko, M. Jaremko, A. Mazur, R. Latajka, **M. Makowski**
Effect of the Δ Phe Residua Configuration on a Didehydropeptides Conformation: A Combined CD and NMR Study.
Biopolymers, **2010**, *93*, 1055-1064. [IF 2,691 ; 2,879]
9. A. Buczek, **M. Makowski**, M. Jegwiński, R. Latajka, T. Kupka, M. A. Broda
Toward Engineering Efficient Peptidomimetics. Screening Conformational Landscape of Two Modified Dehydroaminoacids.
Biopolymers, **2013**, *101*, 28-40 [IF 2,879]
10. M. Jaremko, Ł. Jaremko, A. Mazur, **M. Makowski**, M. Lisowski
Enhanced β -turn conformational stability of tripeptides containing Δ Phe in *cis* over *trans* configuration.
Amino Acids **2013**, *45*, 865-875 [IF 3,196]
11. M. Jegwiński, J. Krzciuk-Gula, **M. Makowski**, R. Latajka, P. Kafarski
Conformation of dehydropentapeptides containing four achiral amino acids residues- Controlling the role of L-Valine.
Beilstein J. Org. Chem., **2014**, *10*, 660-666 [IF 2,801]
12. **M. Makowski**, P. Lenartowicz, B. Oszywa, M. Jegwiński, M. Pawełczak, P. Kafarski
Synthesis of dehydrodipeptide esters and their evaluation as inhibitor cathepsin C.
Med. Chem. Res. **2015**, *24* (8), 3157-3165 [IF 1,436]
13. **M. Makowski**, M. Jegwiński, J. Hurek, A. Paliwoda, P. Kafarski
Kinetics of photochemical isomerization of TFA-Gly-^Z Δ Phe into TFA-Gly-^E Δ Phe
Arkivoc **2017**, part iv, 88-94
14. Dane niepublikowane

Maciej Makowski

5. Autoreferat

Habilitacja dotyczy syntez dehydropeptydów, fosfonodehydroalaniny, które projektowane były na potrzeby badań ich właściwości:

- biochemicznych - aktywności wobec katepsyny C
- strukturalnych - w szczególności wpływu reszt dehydroaminokwasów na konformacje dehydropeptydów w porównaniu z peptydami klasycznymi
- kompleksujących jony metali ciężkich, w szczególności Cu(II) i Ni(II)
- izomeryzacji izomeru (E) do (Z) oraz (Z) do (E)
- wykorzystujących reaktywność wiązania podwójnego: synteza peptydomimetyków będących potencjalnymi inhibitorami katepsyny C

Synteza peptydów z resztami α,β -dehydroaminokwasów nie należy, jak mogło by się wydawać, do trywialnych.

Obecność wiązań podwójnych w łańcuchu bocznym tych peptydów, powoduje podatność tego fragmentu peptydu na reakcje rodnikowe oraz reakcje addycji zarówno nukleofilowej jak i elektrofilowej - stają się one zatem „*locus minoris resistentiae*”. Jest to zasadniczą przyczyną braku w pełni udokumentowanych informacji tak w literaturze jak i w moich publikacjach, o izolacji oraz identyfikacji wielu produktów ubocznych tworzących się w trakcie syntez dehydropeptydów, których obecność potwierdza chromatografia cienkowsarstwowa (TLC) oraz wysoko rozdzielcza chromatografia cieczowa (HPLC). Poważnym i przyszłościowym wezwaniem staje się zatem, podjęcie badań dotyczących tego tak wielce nierozpoznanego obszaru wiedzy.

Sprzężenia elektronów π fragmentu dehydroaminokwasu z elektronami wiązania peptydowego skutecznie dezaktywują grupy aminową oraz karboksylową, szczególnie w peptydach z resztami α,β - dehydroaminokwasów alkilowych.

W zdecydowanie mniejszym stopniu sprzężenie tego typu, ma wpływ na dezaktywację reszty α,β -dehydroaminofeniloalaninowej z powodu obecność pierścienia aromatycznego.

W konsekwencji dezaktywacja ta ma zasadniczy wpływ na wydajność powstającego w reakcji syntezy wiązania peptydowego i jest powodem stymulującym optymalny wybór i dobór odpowiednich aktywatorów, to znaczy takich, które umożliwiłyby uzyskanie dużej (wysokiej) wydajności syntezowanych dehydropeptydów z minimalną ilością towarzyszących im produktów ubocznych. Powinno to ułatwić w znacznym stopniu ich oczyszczanie i wyodrębnianie (izolację).

Uważam zatem iż w pełni uzasadniony był fakt różnorodnej adaptacji, wybranych przeze mnie, a zaprezentowanych w dalszej części omówienia, aktywatorów. Kryteriami ich doboru były:

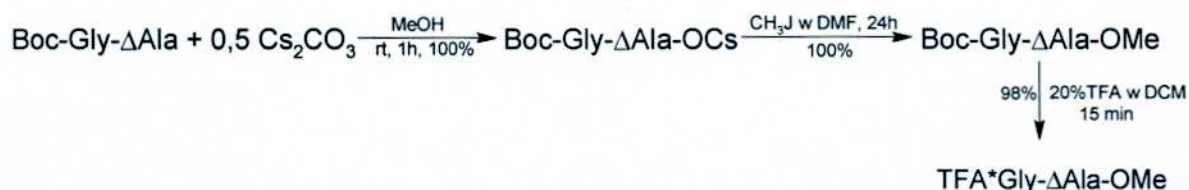
- skuteczność reakcji sprzęgania
- ilość i rodzaj towarzyszących im produktów ubocznych
- uniknięcie trudności związanych z izolacją otrzymanych dehydropeptydów
- w mniejszym stopniu toksyczność stosowanego aktywatora.

Substraty do syntez dehydropeptydów; synteza estrów dehydropeptydów.

TFA-Gly- $\Delta^{(E)}$ Phe uzyskano w reakcji kondensacji TFA-Gly-NH₂ z kwasem fenylopirogronowym w benzenie i krystalizacji z octanu etylu i heksanu (10% wyd.) lub w wyniku reakcji fotoizomeryzacji TFA-Gly- $\Delta^{(Z)}$ Phe; roztwór dehydrodipeptydu oraz benzofenonu w acetonie i benzenie naświetlano promieniowaniem o długości fali 366 nm przez 80 godzin otrzymano izomer (E) z wydajnością 94%. Natomiast w wyniku naświetlania falą o długości 254 nm po 9 dobach uzyskano izomer (E) z wydajnością 61%.^[14] Deprotekcja ochrony trifluoroacetylowej amoniakiem oraz zablokowanie grupy aminowej ochroną tert-butylotlenokarbonylową (Boc-) pozwala otrzymać **Boc-Gly- $\Delta^{(E)}$ Phe** stosowany do dalszych syntez.

Estry dehydropeptydów otrzymywano w standardowych reakcjach stosowanych również w klasycznej syntezie peptydów. Obniżona reaktywność reszty karboksylowej wymagała dobrania odpowiednich metod syntezy, szczególnie w przypadku gdy dotyczyły one syntezy nietypowych, reaktywnych estrów, zaprojektowanych jako potencjalne inhibitory katepsyny C.

1. TFA*Gly-ΔAla-OMe otrzymano w reakcji soli ceszowej Boc-Gly-ΔAla-OH z CH₃I w dichlometanie (DCM) po standardowej deprotekcji z ochrony Boc- kwasem trifluorooctowym (TFA) z dodatkiem anizolu zapobiegającym oligomeryzacji dehydrodipeptydu. **Schemat 1**^[13]



Schemat 1

Metodę tą zaangażowano do syntez estrów allilowych (-All), propargilowych (-Prg) oraz glicydylowych (-Gdl) dehydropeptydów :

[w przypadku tej metody syntezy dehydropeptydów z C-kończącą resztą izomeru (E) dehydrofenyloalaniny unika się jej izomeryzacji do izomeru (Z)]

Boc-Gly-ΔAal-OAll po deprotekcji ochrony Boc- otrzymano	Tos*Gly-ΔAal-OAll 72% ^[12]
Boc-Gly-ΔAla-OPrg	Tos*Gly-ΔAla-OPrg 71% ^[12]
Boc-Gly-Δ^{(E) i (Z)}Phe-OAll 99%	TFA* Gly-Δ^{(E) i (Z)}Phe-OAll 88% ^[12]
Boc-Gly-Δ^{(E) i (Z)}Phe-OPrg 96%	TFA*Gly-Δ^{(E) i (Z)}Phe-OPrg 92% ^[12]

Boc-Gly-Δ^(Z)Phe-OGdl(R)^[14]

Boc-Gly-Δ^(Z)Phe-OGdl(S)^[14]

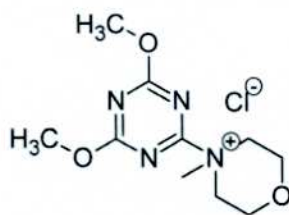
W reakcji deprotekcji ochrony Boc- z powyższych dehydrodipeptydów kwasem trifluorooctowym następuje otwarcie pierścienia oksiranowego z utworzeniem estru 2,3-dihydroksypropylowego [TFA* Gly-Δ^(Z)Phe-OCH₂CH(OH)CH₂OH] ~50%.

Natomiast deprotekcja HCl w metanolu, prowadzi do tworzenia się estru 2-hydroksy-3-chloropropylowego [HCl* Gly-Δ^(Z)Phe-OCH₂CH(OH)CH₂Cl] 50%.

Domniemana przyczyna zaistnienia tak dużego udziału produktów ubocznych to obecność wody w środowisku reakcji.

Estryfikacja za pomocą DMTMM

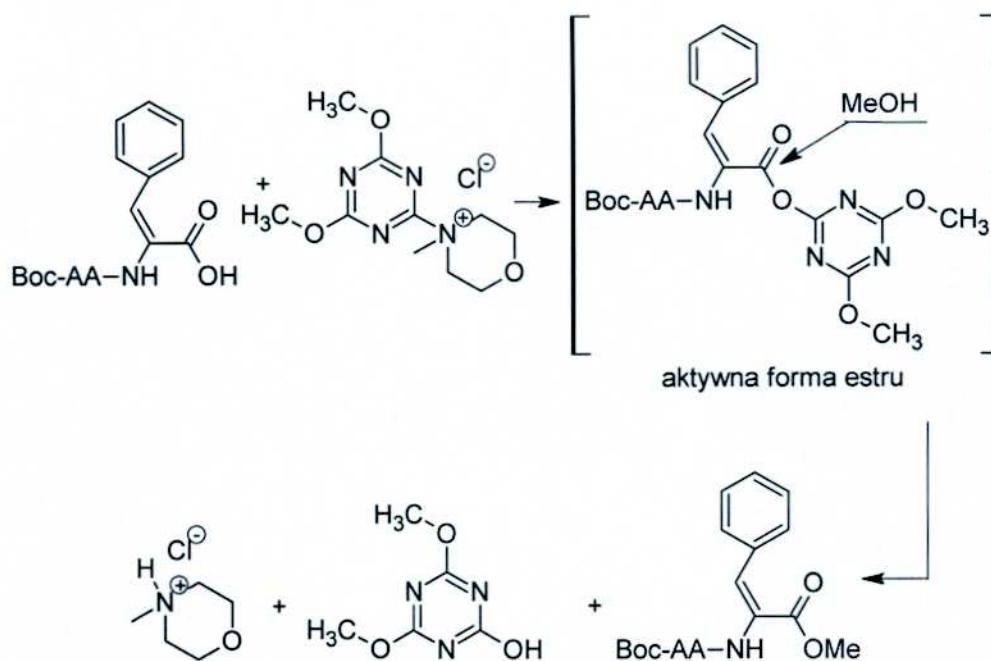
DMTMM (Rys.1.) nie jest standardowo stosowane w syntezie estrów peptydów. Tym niemniej jego zastosowanie pozwoliło otrzymać pożądane estry, aczkolwiek z wydajnościami umiarkowanymi. Mechanizm, tej reakcji przedstawia rysunek 2.



Chlorek 4-(4,6-dimetoksy-1,3,5-triazyn-2-ylo)-4-metylomorfoniliowy
DMTMM

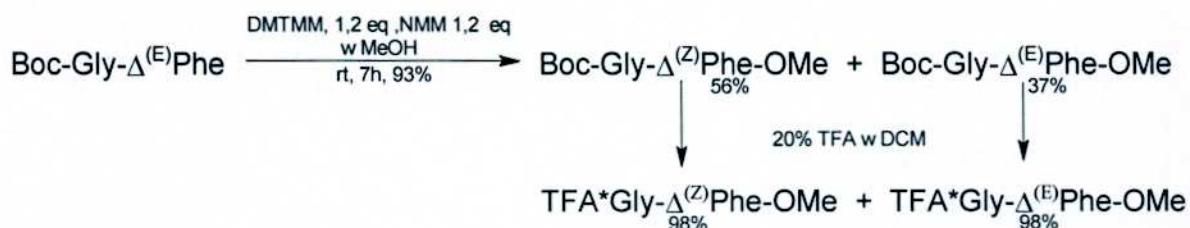
Rys.1

Mechanizm reakcji estryfikacji dehydropeptydów z udziałem DMTMM (Scemat 2)



Scemat 2

W trakcie reakcji estryfikacji metodą DMTMM, z użyciem Boc-Gly- $\Delta^{(E)}$ Phe jako substratu, obserwuje się jego częściową izomeryzację do izomeru (Z) (Scemat 3). Izomery rozdzielono na kolumnie chromatograficznej z wypełnieniem silikażelowym typu H60 eluując roztworem octanu etylu w benzenie z wzrastającym gradientem stężenia octanu etylu (EtOAc) od 2,5% do 20%.



Scemat 3

2. **TFA *Gly- $\Delta^{(Z)}$ Phe-OMe** otrzymano po odblokowaniu kwasem trifluorooctowym ochrony Boc- z otrzymanego Boc-Gly- $\Delta^{(Z)}$ Phe-OMe [wzorzec pozwalający rozróżnić na podstawie chromatografii TLC izomer (Z) od (E)]

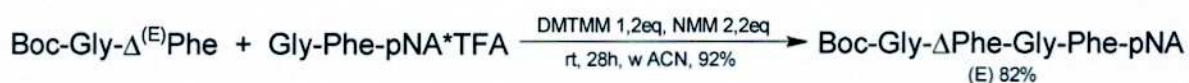
3. **TFA *Gly- $\Delta^{(E)}$ Phe-OMe** uzyskano po deprotekcji kwasem trifluorooctowym ochronny Boc- po rozdzielu na kolumnie chromatograficznej otrzymanych w reakcji Boc-Gly- $\Delta^{(E)}$ Phe z DMTMM (**Rys.1**) w metanolu estrów metylowych (E) i (Z) dipeptydów. (**Schemat 3.**)
Krystalizacja z i-Pro : EtOAc(1/1v/v)/heksan.^[13]

Metody tworzenia wiązania peptydowego

W syntezie dehydropeptydów stosowano różnorodne metody aktywacji, a ich dobór zależał od specyficznych, szczegółowo opisanych poniżej warunków. Stosowane aktywacje z wyszczególnieniem ich zalet i wad.

Aktywacja za pomocą DMTMM

Sprzęganie z udziałem tego odczynnika użyto do syntezy dehydropeptydu Boc-Gly- $\Delta^{(E)}$ Phe-Gly-Phe-pNA (**Schemat 4**) w kondensacji typu [2 + 2]. Po reakcji trwającej 28 godzin otrzymano pożądaný produkt w postaci mieszaniny stereoizomerów z sumaryczną wydajnością 92%^[4].

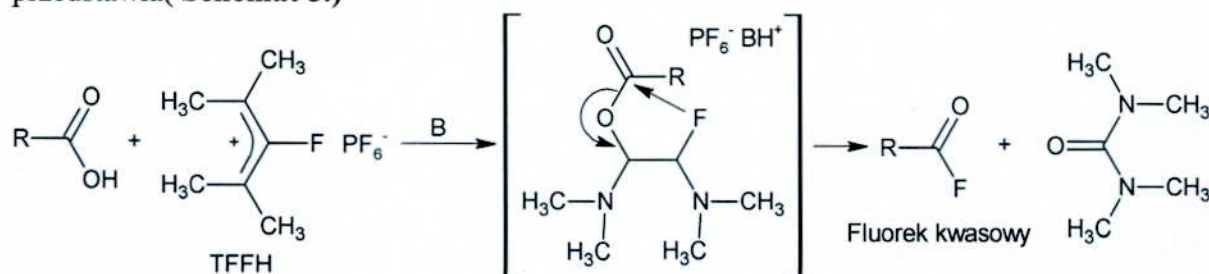


Schemat 4

W reakcji tej zaobserwowano zachowanie w bardzo dużym stopniu konfiguracji (E) C-terminalnej dehydrofenyloalaniny, czyli powstawanie znikomej ilości dehydropeptydu zawierającego produkt jej izomeryzacji - (Z)-dehydrofenyloalaninę. Jest to duża zaleta tej metody. Niestety, zbyt mała powtarzalność sprzęgania C-terminalnej reszty (E)-dehydrofenyloalaniny z innymi czynnikiem aminowymi nie pozwoliła na jej szersze zastosowanie.

Adaptacja fluorków kwasowych (acylowych) do syntez dehydropeptydów.

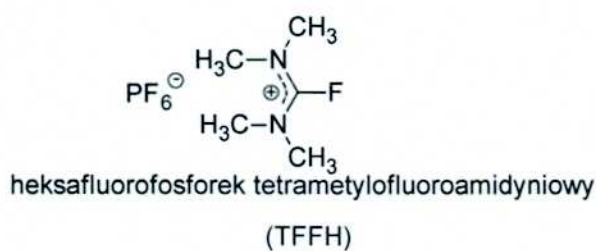
Zastosowanie fluorków acylowych jako czynnika acylującego badano szerzej używając Boc-Gly- $\Delta^{(Z)}$ i $\Delta^{(E)}$ Phe-F jako substratu. Mechanizm reakcji tworzenia się fluorków kwasowych przedstawia (**Schemat 5.**)



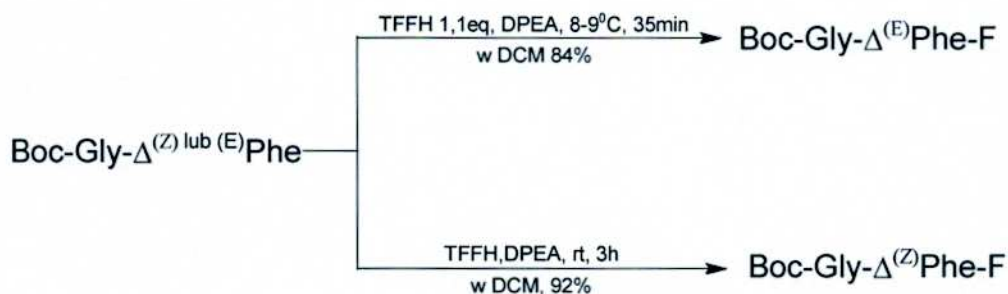
Schemat 5

Technika ta okazała się szczególnie przydatną w przypadku syntez fosfonodehydropeptydów oraz tetrahydropeptydów zawierających dwie reszty dehydrofenyloalaninowe w pozycjach 2 i 4 łańcucha peptydowego. Reakcjom tym towarzyszą znikome ilości produktów ubocznych. Fluorki uzyskuje się w reakcji *in situ* z TFFH (**Rys. 2**) w obecności diizopropyleoaminy (DPEA). Są to ciała stałe o zdecydowanie większej trwałości niż odpowiednie chlorki, co ma wielce praktyczne znaczenie.

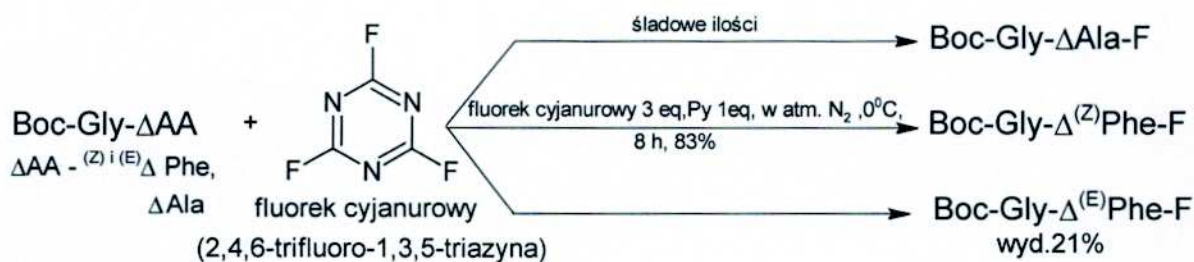
Syntezę fluorków dipeptydów z C-końcową dehydrofenyloalaniną prezentuje **Schemat 6**



Rys.2



Alternatywną metodą otrzymywania fluorków kwasowych jest zastosowanie fluorku cyjanurowego (2,4,6-trifluoro-1,3,5-triazyny) prezentuje **Schemat 7**.



Metoda syntezy fluorków tą metodą wymaga warunków beztlenowych (reakcję prowadzi się w atmosferze azotu lub argonu) a stosowany fluorek cyjanurowy jest lakrymatorem! Ponadto utrudniona jest izolacja produktów na drodze krystalizacji i wymagane jest przemywanie mieszaniny poreakcyjnej w rozpuszczalnikach organicznych nie mieszających się z wodą, wodnymi zasadowymi i kwaśnymi roztworami. Powoduje to hydrolizę fluorków kwasowych, w stopniu przekraczającym nawet 80%. Niedogodnością tej metody jest niska wydajność otrzymanego izomeru (E) (21%) czyli znaczna izomeryzacja izomeru (E) do izomeru (Z). Izomer (E) uzyskano go na drodze krystalizacji frakcyjnej z trójskładnikowego układu rozpuszczalników

(DCM : Et₂O : heksan = 1 : 10 : 5 v/v). Rozdział izomerów na kolumnie chromatograficznej nie był możliwy, z powodu bardzo dużego prawdopodobieństwa zakotwiczenia się fluorków na złożu silikażelowym.

Nie udało się otrzymać fluorku kwasowego dipeptydu z C-terminalną resztą dehydroalaninową. **Boc-Gly-ΔAla** reagując z takimi donorami fluoru jak TFFH jak i fluorek cyjanurowy, nie dały spodziewanego efektu (**Schemat 7**). Chromatograficznie (TLC i HPLC) stwierdzono jedynie śladową ilość fluorku w mieszaninie poreakcyjnej a dominowały w niej produkty uboczne. Najprawdopodobniej były to oligomery powstałe wskutek oligomeryzacji reszty dehydroalaninowej.

Skuteczność fluorków kwasowych, w syntezie peptydów zweryfikowano otrzymując fosfonowe mimetyki dehydropeptydów – **Boc-Gly-Δ^(Z)PheAAPO(OR)₂**.^[14] (**Rys.3**)

W przypadku tych pochodnych, wszystkie inne metody aktywacji opisane w autoreferacie nie były na tyle skuteczne, aby zapewnić dostatecznie dużą wydajność ich syntezy oraz wyeliminować znaczny nakład pracy włożony w ich izolację.

Metodą tą otrzymano peptydy zawierające C-końcowe fosfonowe analogi:

alaniny -AlaPO(OEt) ₂	wyd. 69%
kwasu aminopropionowego -AbuPO(OMe) ₂	wyd. 58%
kwasu aminomasłowego -n-BuPO(OMe) ₂	wyd. 42%
glicyny -GlyPO(OEt) ₂	wyd. 53%
fenyloglicyny -PhgPO(OEt) ₂	wyd. 46%
waliny -ValPO(OMe) ₂	wyd. 59%

Rys.3

Synteza amidów **Boc-Gly-Δ^(Z) i ^(E)Phe-N(CH₃)₂** i **Boc-Gly-Δ^(Z) i ^(E)Phe-NHCH₃** z zastosowaniem **Boc-Gly-Δ^(Z)Phe-F** przeprowadzono barbotując mieszaninę reakcyjną dimetyloaminą lub metyloaminą. W tym przypadku uzyskano zgoła nieoczekiwany wynik syntezy. Izomer (Z), w takich warunkach reakcji izomeryzował do izomeru (E)^[16]. Po rozdziale izomerów z użyciem kolumny chromatograficznej otrzymano:

Boc-Gly-Δ^(Z)Phe-N(CH₃)₂ 82,5%
Boc-Gly-Δ^(E)Phe-N(CH₃)₂ 13%
co daje preferencję(Z)/(E) = 6,3:1^[9]

oraz parę izomerów **Boc-Gly-Δ^(Z)Phe-NHCH₃ 3%**
Boc-Gly-Δ^(E)Phe-NHCH₃ 89%
co daje preferencję (Z)/(E) = 1:30^[14].

Wynik ten jest wysoce nieoczekiwany gdyż w literaturze brak informacji o tego rodzaju nietypowej izomeryzacji izomeru (Z) do (E). Izomeryzację zaobserwowano również w opisanej poniżej syntezie amidów metodą mieszanych bezwodników.

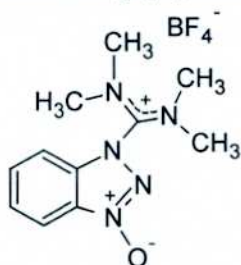
Tworzenie wiązania peptydowego z użyciem TBTU

Użycie TBTU [tetrafluoroborek 2-(1H-benzotriazol-1-ilo)-N,N,N',N'-tetrametylouroniowy] (**Rys.4**) pozwala uzyskiwać wysokie wydajności produktów sprzęgania oraz niską epimeryzację. Obecność w molekuale HOBt, połączonego z tetrametylomocznikiem, czyni ten aktywny niebezpiecznym, ze względu na jego właściwości wybuchowe.

W modelowej reakcji sprzęgania zastosowano Boc-Gly- $\Delta^{(E)}$ Phe i Boc-Gly- Δ Ala z glicynianem metylu (**Schemat 8**). W trakcie reakcji izomer (E) izomeryzuje i na sumaryczną wydajność reakcji (72%) składają się wydajności cząstkowe dwóch tripeptydów – zawierających: izomer (E)-34% oraz izomer (Z) dehydrofenyloalaniny -38%.

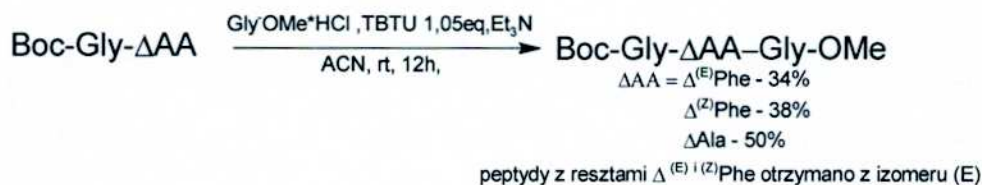
Do rozdziału izomerów użyto kolumnę chromatograficzną z slikażelem H60 Merck'a, eluując octanem etylu w benzenie we wzrastającym gradiencie stężenia octanu od 2,0 – 15%.

W trakcie reakcji TBTU z C-terminalną grupą karboksylową N-blokowanych aminokwasów lub peptydów, przejściowo tworzą się dwa aktywne estry z N,N,N',N'-tetrametylomocznikiem (TMM) i 1-hydroksybenzotriazolem (HOBt) potęgując skuteczność reakcji sprzęgania z N-końcowymi estrami aminokwasów lub peptydów. (**Schemat 9**)



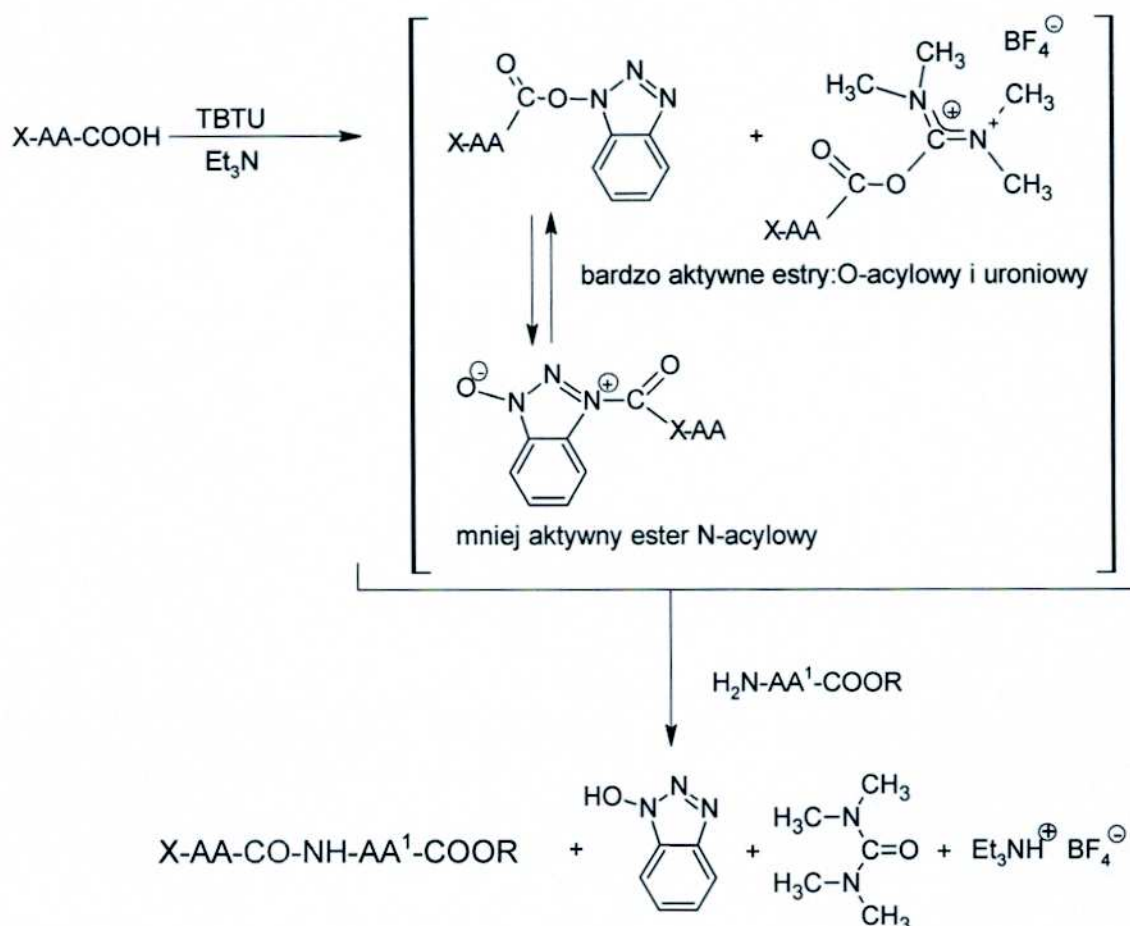
- prawidłowa struktura TBTU

Rys.4



Schemat 8

Po standardowej deprotekcji N-terminalnej ochrony Boc- za pomocą kwasu trifluorooctowego, lub C-końcowej ochrony -OMe 1M NaOH, otrzymano substraty aminowe oraz karboksylowe do dalszych syntez.



Schemat 9

Metoda z użyciem TBTU była najczęściej stosowaną przeze mnie w syntezie dehydropeptydów. Używa się ekwimolarnie ilości substratów, do których po rozpuszczeniu (najczęściej w THF lub DCM) dodaje się trzeciorzędową aminę (Et_3N lub N-metylomorfolinę) oraz niewielki nadmiar (5 – 10%) TBTU. W zależności od rodzaju sprzęganych fragmentów peptydowych, reakcje prowadzi się w temperaturze pokojowej od 3 – 24 godzin. Duża skuteczność metody, wydajności w granicach 60 – 95%, niewielka ilość produktów ubocznych, która zdecydowanie ułatwia izolację głównych produktów syntez, oraz bardzo niska epimeryzacja w przypadku użycia do syntez aminokwasów optycznie czynnych powoduje, że można tę metodę uznać jako skuteczną. Niekiedy jednak są trudności z eliminacją z mieszaniny poreakcyjnej 1-hydroksybenzotriazolu (HOBt).

Metodą tą otrzymałem:

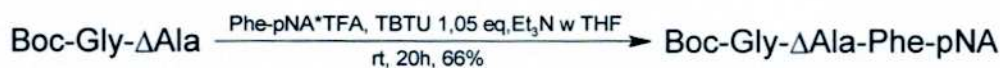
1. estry glicydytowe **Boc-Gly- Δ Phe-OGdl** – ester konfiguracji (S) z 89% wydajnością, a o konfiguracji (R) z 92% ^[15]
2. **Boc-Gly- Δ (Z)Phe-Gly-Phe-pNA** [2 + 2] - 68% wyd. ^[3]
3. **Boc-Gly-Gly- Δ Ala-Phe-pNA** [1 + 3] - 77% wyd. ^[7]
4. **Boc-Gly-Gly- Δ Phe-Phe-pNA** [1 + 3] - 96% wyd. ^[3]
5. **Boc-Gly- Δ Phe-Gly-Gly- Δ Phe-Gly-OMe** [3 + 3] - izomer (E)(E)-96% wyd. a izomer (Z)(Z)- 97% wyd. ^[2, 7]
6. **Boc-Gly- Δ Ala-Gly-Gly- Δ Ala-Gly-OMe** [3 + 3] - 65% wyd. ^[2, 7]
7. **Boc-Gly-Gly- Δ Ala-Gly- Δ Ala-Phe-pNA** [1 + 5] - 74% ^[6]
8. **Boc-Gly- Δ Phe-Phe-Gly- Δ Phe-PheOMe** [3 + 3], gdzie odpowiednio izomer (Z)(Z)- 93%

- wyd. a izomer (E)(E)- 87% wyd. ^[6]
9. **Boc-Gly- $\Delta^{(Z)}$ Phe-Gly-Phe-OMe** [3 + 1] - 91% wyd. ^[7, 8]
10. **Boc-Gly- $\Delta^{(E)}$ Phe-Gly-Phe-OMe** [3 + 1] - 92% wyd. ^[8]
11. **Boc-Gly- Δ Ala-Gly-Phe-OMe** [3 + 1] - 87% wyd. ^[7]
12. **Boc-Gly-Gly- Δ Phe-Gly- Δ Phe-Phe-pNA** [1 + 5] : gdzie izomery otrzymałem z wydajnościami:

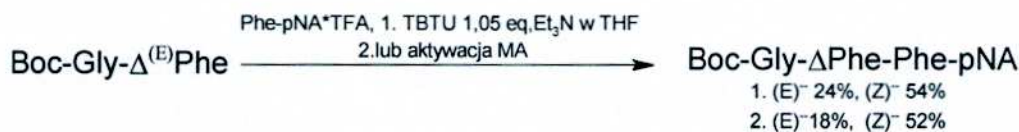
(Z)(Z) - 71%^[6]
 (Z)(E) - 72%^[6]
 (E)(Z) - 81%^[6]
 (E)(E) - 76%^[6]

Metodą TBTU otrzymano również peptydy o wzorze ogólnym **Boc-AA-NHCH(CF₃)CH₂-PO(OEt)₂** zawierające C- terminalny fluorowany β -aminofosfonian. W przypadku gdy aminokwasem N-koncowym była glicyna wydajność reakcji wynosiła 75%, alanina- 75%, walina- 90%, izoleucyna- 73%, prolina- 89% a fenyloalanina- 79%. Otrzymano tą techniką także tripeptyd hybrydowy **Boc-Gly- Δ Phe-NHCH(CF₃)CH₂-PO(OEt)₂** (63% wyd.) , zawierający w molekułe zarówno resztę dehydroaminokwasu jak i aminofosfonian.^[14]

Metodę TBTU użyto do syntezy amidów p-nitroanilidowych w postaci: **Boc-Gly- Δ Ala-Phe-pNA**^[8] oraz **Boc-Gly- $\Delta^{(Z)}$ i $\Delta^{(E)}$ Phe-Phe-pNA**^[3]. Izomeryzacja C-terminalnej reszty (E) dehydrofenyloalaniny wymusza rozdział izomerów (Z) i (E) na kolumnie chromatograficznej z wypełnieniem silikazelowym H60, elując produkty octanem etylu w benzenie we wzrastającym gradiencie stężenia octanu od 10 – 60%. (**Schemat 10 a, b**)



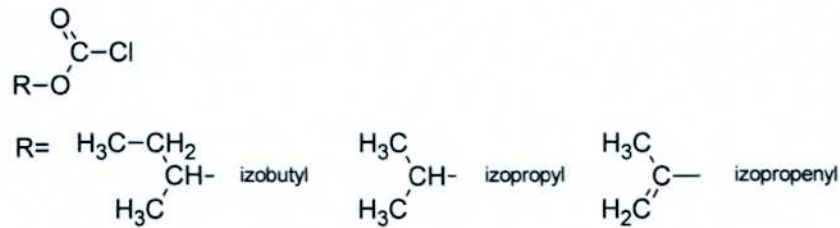
Schemat 10a



Schemat 10b

Metoda mieszanych bezwodników (MA).

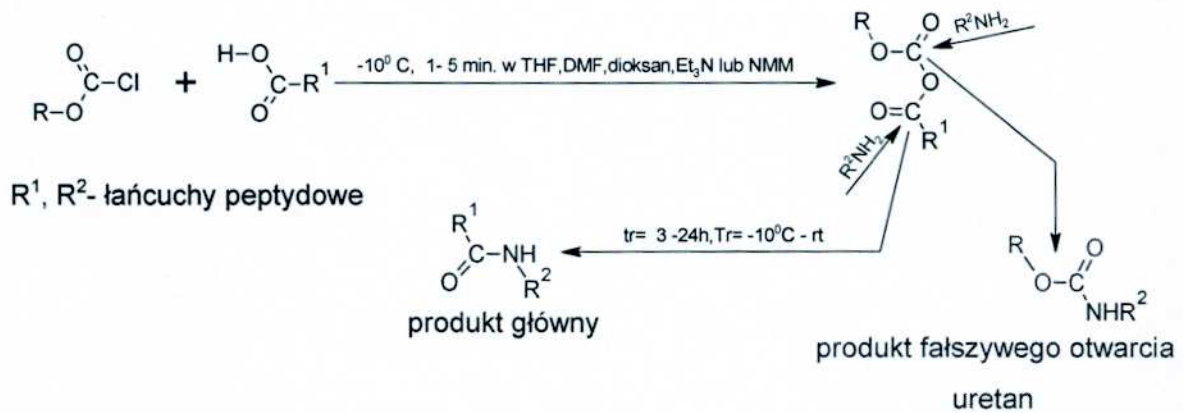
Bardzo popularna metoda w syntezie peptydów. Stosuje się w niej różnorodne, najczęściej alkilowe (nasycone lub nienasycone) chloromrówczany np.: izo-butylu , izo-propen-2-ylu, izo-propylu i wiele innych (**Rys.5**), w zależności od rodzaju syntezowanych dehydropeptydów. Mimo, iż odczynniki te są lakrymatorami, o ich popularności decyduje stosunkowo ich niska cena, i nieskomplikowana procedura syntezy peptydów.



Rys.5 Chloromrówczan

Tworzące się w wyniku fałszywego otwarcia mieszanego bezwodnika, produkty uboczne - uretany, niekiedy skutecznie utrudniają izolację głównego produktu syntezy na drodze krystalizacji- jest wadą tej metody (**Schemat 11**). By uzyskać czysty produkt angażować potrzebą zatem preparatywną chromatografię kolumnową będącą metodą czaso-, materiał- i pracochłonną. Efektywność metody w głównej mierze zależy od sterycznej budowy substratów sprzęgania. Znaczącym i istotnym faktem, którego nie można pominąć gdyż wpływa na wydajność procesu, jest przestrzenna budowa reszty alkilowej chloromrówczanu. Czynniki z dużą przeszkodą steryczną zwykle reagują wolniej, ale pozwalają uniknąć tworzenia się uretanów (produktów fałszywego otwarcia).

Niebagatelny wpływ na przebieg reakcji ma także stereochemia substratów, szczególnie aminokwasów, które znajdują się najbliżej centrum reakcyjnego. Niewielką niedogodnością, jest fakt prowadzenia pierwszego etapu syntezy w celu otrzymania mieszanego bezwodnika, w temperaturze poniżej zera od -10°C do -20°C .



Schemat 11

Peptydy zsyntezowane tą metodą :

1. **(Boc)₂-His-Gly-ΔPhe-OMe** [1 + 2], (E)-86% wyd. , (Z)-92% wyd.^[14]
2. **Boc-Gly-Δ^(E)(Z)Phe-Gly-OMe** [2 + 1], z izomeru (E), (E)-34% wyd. , (Z)-38% wyd. ^[3]
Rozdział izomerów na kolumnie
3. **Boc-Gly-Δ^(E)(Z)Phe-Phe-pNA** [2 + 1], z izomeru (E), (E)-18% wyd. , (Z)-52% wyd. ^[3]
Rozdział izomerów na kolumnie.
4. **Boc-Gly-ΔAla-Gly-^(Z)ΔPhe-Gly-OMe** [2+3], 37% wyd. ^[11]
5. **Boc-Gly-ΔAla-Gly-^(E)ΔPhe-Gly-OMe** [2+3], 48% wyd. ^[11]
6. **Boc-Gly-^(E)ΔPhe-Gly-^(E)ΔPhe-Gly-OMe** [2+3], 83% w tym:(E,E)-28% wyd., (Z,E)-55% wyd. Rozdział izomerów w na kolumnie. ^[4]
7. **Boc-Gly-^(Z)ΔPhe-Gly-^(E)ΔPhe-Gly-OMe** [2+3], 80% wyd. ^[4]
8. **Boc-Gly-^(Z)ΔPhe-Gly-^(Z)ΔPhe-Gly-OMe** [2+3], 75% wyd ^[4]
9. **Boc-Gly-ΔAla-Gly-ΔAla-Phe-pNA** [2+3], 41% wyd. ^[5]

10. **Boc-Gly-(E) Δ Phe-Gly-(Z) Δ Phe-Phe-pNA** [2+3], 72% w tym: (E)(Z)-21% wyd., (Z,Z)-51% wyd. Rozdział izomerów na kolumnie.^[4]
11. **Boc-Gly-(E) Δ Phe-Gly-(E) Δ Phe-Phe-pNA** [2+3], 80% w tym: (E,E)-27% wyd., (Z,E)- 53% wyd. Rozdział izomerów na kolumnie.^[4]
12. **Boc-Gly- Δ Phe-O(S) i (R)Gdl (estry glicydylowe)**, (S)-90% wyd., (R)-96% wyd.^[12]

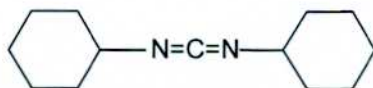
Natomiast angażując tę metodę do syntezy N,N-dimetyloamidu butyloksykarbonylo-glicyno-dehydrofenyloalaniny ; **Boc-Gly- Δ Phe-N(CH₃)₂**^[9]; w THF i w trakcie reakcji barbotując mieszaninę reakcyjną dimetyloamina, otrzymano z izomeru (Z) mieszaninę izomerów (E) i (Z). Wydajność reakcji to 83% w tym **izomeru (E)-68%** co daje preferencję **(E)/(Z) = 4,5:1**. W analogicznie przeprowadzonej syntezie **Boc-Gly- Δ Phe-NHCH₃**^[14], również otrzymano mieszaninę izomerów (E) i (Z), z izomeru (Z). Wydajność reakcji to 87%, w tym **izomeru (E)-81%** co daje preferencję **(E)/(Z) = 13,5:1**.

Nie jest znany i opisany w literaturze przypadek tak znacznej izomeryzacji izomeru (Z) do (E).

Karbodiimidy mediatorami w generowaniu wiązania peptydowego

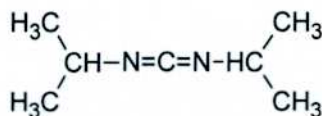
Karbodiimidy to szeroka gama związków o różnorodnej budowie podstawników (R,R¹) przy imidowych atomach azotu, grupy karbodiimidowej R-N=C=N-R¹. Związki te należą, jak się ogólnie ocenia, do grupy bardzo toksycznych, z powodu bardzo skutecznych właściwości odwadniających, a w przypadku kontaktu ze skórą, są przyczyną tworzenia się bardzo trudno gojących się egzem, otwartych ropiejących ran, niekiedy będących zarodkiem gangreny. Szczególnie niebezpieczna jest inhalacja oparami tych związków.

W latach 70 ubiegłego wieku była to powszechnie stosowana metoda aktywacji w syntezie peptydów. Stosuje się dwa rodzaje tych aktywatorów; nierozpuszczalne w wodzie (DCC, DPCD) (**Rys. 6, 6a**) i w wodzie rozpuszczalne (WSC).(**Rys. 7, 7a**)



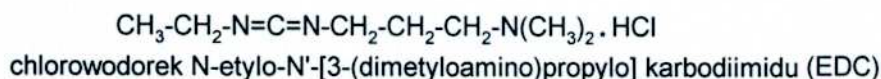
dicykloheksylokarbodiimid (DCC)

Rys.6

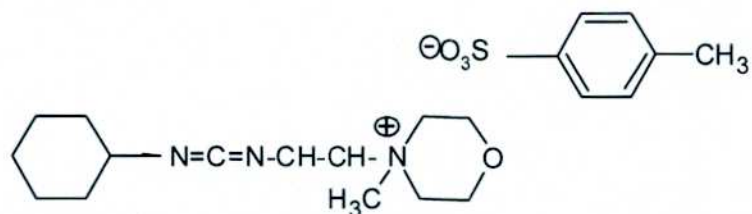


di-izopropylokarbodiimid (DPCD)

Rys.6a



Rys.7



p-toluenosulfonioan N-cykloheksylo-N'-[2-(N-metylomorfolinio)etylo] karbodiimidu (CMC)

Rys.7a

Powodem takiego zróżnicowania strukturalnego karbodiimidów są przede wszystkim problemy z łatwą i szybką izolacją peptydu z mieszaniny poreakcyjnej. Na przykład z powszechnie stosowanym DCC (**Rys. 6**) wiążą się problemy, dotyczące eliminacji z mieszaniny poreakcyjnej powstałego dicykloheksylomocznika. Istnieje nawet takie powiedzenie, że „nie jest on rozpuszczalny w jakimkolwiek rozpuszczalniku lecz wszędzie go pełno”. Aby otrzymać produkt jednorodny chromatograficznie, należy stosować kolumnę chromatograficzną. By uniknąć trudności związanych z rodzajem produktów, można zastosować karbodiimid polimeryczny, zakotwiczony na nierozpuszczalnym nośniku. Przykładem takiego aktywatora jest poliheksametyleno karbodiimid. (**Rys.8**)

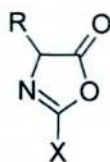


Rys.8

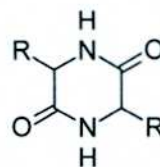
Di-izopropylkarbodiimid (DPCD) (**Rys 6a**), nie mniej skuteczny od DCC, jest podobnie jak powstały w reakcji di-izopropylomocznik, rozpuszczalny w DMF, DCM, CHL, AcOEt i wielu innych rozpuszczalnikach co znacząco ułatwia izolację produktu chociażby na drodze krystalizacji. Pozostałe dwa z popularnych aktywatorów rozpuszczalnych w wodzie - (EDC) (**Rys.7**) i (CMC) (**Rys.7a**) umożliwiają reakcje sprzęgania w środowisku wodnym a także w rozpuszczalnikach organicznych z dużą wydajnością. Zaletą tych aktywatorów jest to, iż powstające w trakcie reakcji pochodne mocznika są rozpuszczalne w wodzie i przemywając mieszaninę poreakcyjną w rozpuszczalniku nie mieszającym się z wodą zasadowymi czy kwaśnymi wodnymi roztworami z łatwością pozbywamy się tych ubocznych produktów. Dodanie karbodiimidu do roztworu N-blokanego aminokwasu lub peptydu skutkuje powstaniem pośredniej, sprotonowanej formy iminiowej karbodiimidu, a następnie utworzeniem się bardzo aktywnego O-acylomocznika, który w obecności nukleofili jakimi są aminowe substraty w postaci estrów aminokwasów lub peptydów, czy wspomagający reakcję dodatek HOBt ułatwia tworzenie się wiązania peptydowego (**Schemat 12**).

Środowisko reakcji ma zasadniczy wpływ na efektywność reakcji a szybkość reakcji wzrasta wraz ze wzrostem stężenia substratów. Duża polarność aprotycznych rozpuszczalników, sprzyja reakcjom przegrupowania O-acylomocznika do nieaktywnego produktu ubocznego

N-acylomocznika, skutecznie utrudniającego izolację głównego produktu reakcji. Duża reaktywność O-acylomocznika może być przyczyną tworzenia się azlaktonów (**Rys.9, Schemat 12**), szczególnie wtedy gdy N-terminalną ochroną jest grupa acetylowa. Ochrony Boc-, Z-, Bpoc- czy Fmoc- ograniczają w bardzo dużym stopniu tę uboczną reakcję.



Rys. 9 Azlaktony

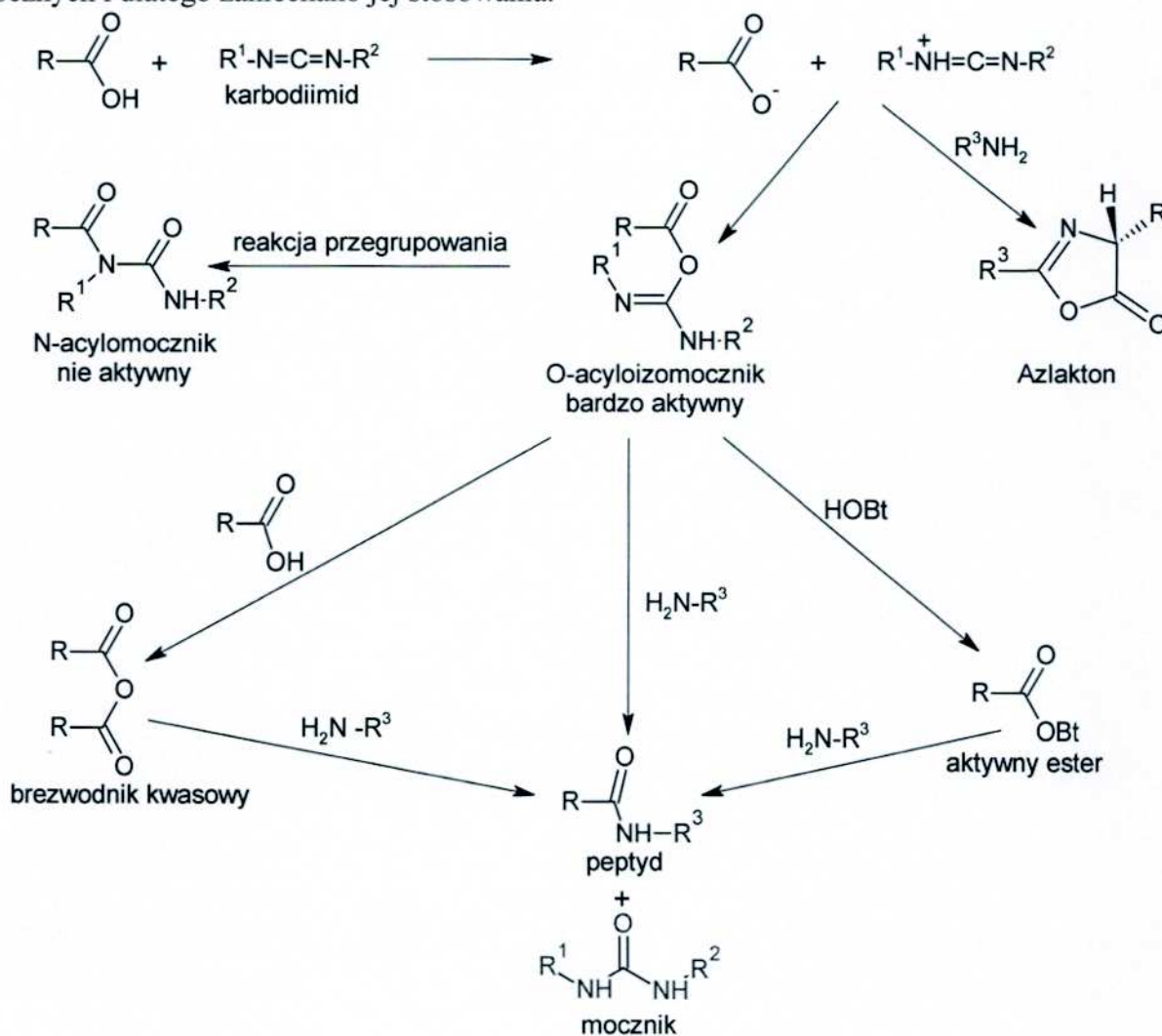


Rys. 10 2,5-dioksopiperazyny

Rutynowo stosuje się 2,5-krotny nadmiar X-AA (N-blokanego aminokwasu lub peptydu) i karbodiimidu w stosunku do H₂N-AA-X (C-chronionego aminokwasu lub peptydu).

W przypadku stosowania karbodiimidów istnieje duże prawdopodobieństwo utworzenia się 2,5-dioksopiperazyny w przypadku dołączania trzeciej reszty aminokwasowej do dipeptydu. Dotyczy to szczególnie syntez peptydów z N-terminalną ochroną Boc-. (Rys.10)

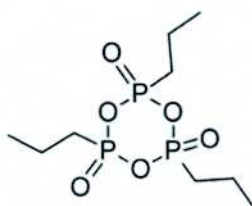
Syntezy dłuższych dehydropeptydów niż dehydrotripeptydy, z użyciem tej metody, nie zostały uwieńczone sukcesem z tego powodu, iż w reakcjach powstawało bardzo dużo produktów ubocznych i dlatego zaniechano jej stosowania.



Schemat 12

Cykliczny bezwodnik kwasu 1-propylofosfonowego (T3P)

Konieczne do identyfikacji izomerów wzorce dipeptydów zawierających resztę (E) - dehydrofenyloalaniny, otrzymano stosując aktywację T3P (bezwodnik kwasu 1-propylofosfonowego). Takim peptydem był omówiony wcześniej Boc-Gly $\Delta^{(E)}$ Phe-OMe, który otrzymano z 85% wydajnością. Był on zanieczyszczony w 13,5% izomerem (Z). T3P to zapomniany i niebanalny, bardzo rzadko stosowany aktywator w syntezie peptydów. (Rys.11)



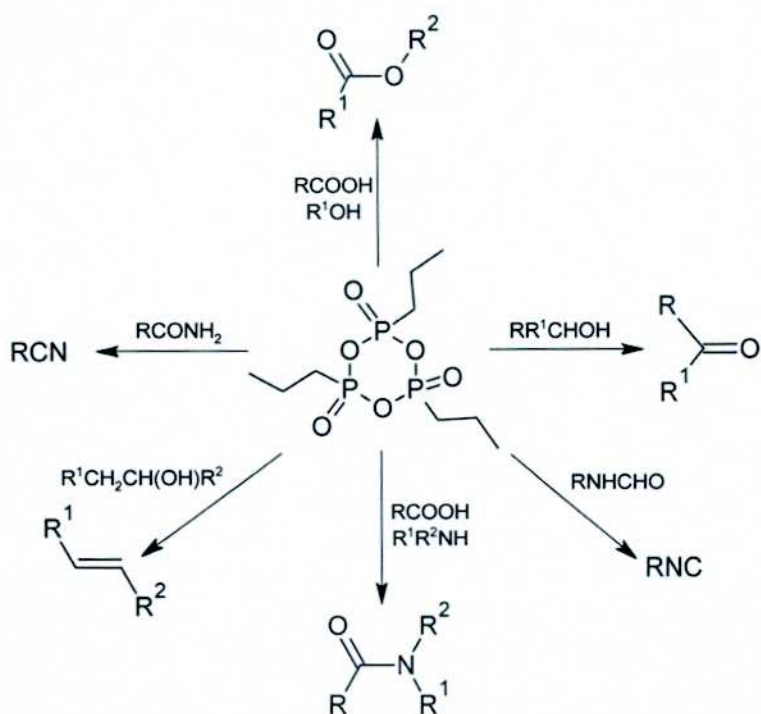
Rys.11 T3P

Jest bardzo wygodny w użyciu i charakteryzuje się wspaniałą selektywnością w różnorodnych reakcjach, nie powoduje epimeryzacji (zwykle poniżej 2%) a wysokie wydajności reakcji i mała lub nieznaczna ilość otrzymanych produktów ubocznych to jego dodatkowa pozytywna cecha. Z całą pewnością zaliczyć można go do tzw. „zielonych” odczynników. Nie jest on ani alergogenny ani drażniący a powstające produkty uboczne, to nietoksyczne sole całkowicie rozpuszczalne w wodzie, które na drodze przemywań roztworami kwaśnymi lub zasadowymi, z mieszaniny poreakcyjnej można całkowicie usunąć. Najczęściej stosuje się 50% roztwory T3P w octanie etylu, acetonie, toluenie, THF, DCM, czy DMF.

Posiada bardzo szerokie spektrum zastosowania (**Schemat 13**). Poza generowaniem wiązania peptydowego czy w reakcjach cyklizacji peptydów stosuje się go jako aktywator w:

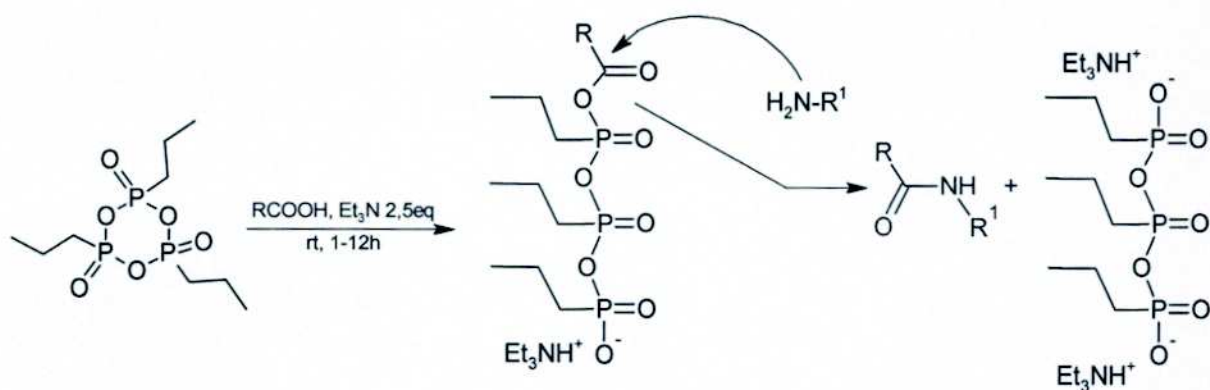
- reakcjach estryfikacji;
- utlenianiu alkoholi do aldehydów w bardzo łagodnych warunkach;
- przegrupowaniu Lossen'a;
- otrzymywaniu nitryli z amidów;
- otrzymywaniu aldehydów z kwasów karboksylowych;
- syntezach β -laktamów
- dehydratacji alkoholi II-rzędowych do alkenów

Uzasadnionym zatem będzie stwierdzenie iż jest to aktywator w dużym stopniu uniwersalny.



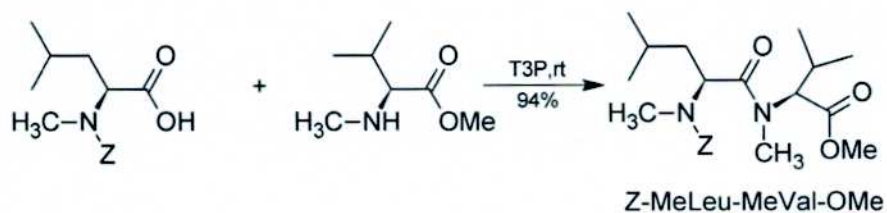
Schemat 13. Niektóre przykłady zastosowania T3P.

Syntezę peptydów prowadzi się najczęściej w THF w temperaturze pokojowej. Do roztworu substratów i trójetyloaminy, wkrapla się 1,2 ekwiwalentu roztworu T3P. Reakcja zazwyczaj trwa od 1 do 12 godzin, a rzadziej do 24 godzin w wyniku czego otrzymujemy produkty z wydajnością 70-85%



Schemat 13

Bardzo dużą skuteczność T3P, udokumentowano syntezując dipeptyd Z-MeLeu-MeValOMe. (**Schemat 14**). Duże przeszkody steryczne obydwóch aminokwasów nie miały zasadniczego wpływu na zmniejszenie wydajności reakcji.



Schemat 14

Stosując T3P jako aktywator otrzymano poniższe dehydropeptydy, przy czym reakcje trwały od 4,5 godziny do 3 dni.:

1. **Boc-Gly- Δ Ala-N(CH₃)₂**^[9] 73% wyd.;
2. **Boc-Gly- Δ Ala-NHCH₃**^[14] 77% wyd.;
3. **Boc-Gly- Δ Phe-Val-OMe** [2 + 1]^[11] 54% wyd.;
4. **Boc-Gly-Val- Δ Phe-OMe** [1 + 2]^[11] 75% wyd.;
5. **Boc-Val- Δ Phe-Gly-Gly- Δ Ala-OMe** [3 + 2]^[11] 67% wyd.;
6. **Boc-Gly-Val- Δ Phe-Gly- Δ Ala-OMe** [3 + 2]^[11] 70% wyd.;
7. **Boc-Gly- Δ Ala-Val- Δ Phe-Gly-O^tBu** [2 + 3]^[11] 74% wyd.;
8. **Boc-Gly- Δ Ala-Gly-Val- Δ Phe-OMe** [3 + 2]^[11] 70% wyd.;
9. **Boc-Gly- Δ Ala-Gly- Δ Phe-Val-OMe** [2 + 3]^[11] 78% wyd.;
10. **(Boc)₂-His-Gly- Δ Phe-Gly- Δ Phe-His OMe** [3 + 3]^[14] - 65% wyd.;
11. **(Boc)₂-His-Gly- Δ Phe-His-Gly- Δ Phe-OMe** [3 + 3]^[14] - izomer (E)(E) otrzymano z wydajnością 75%, a izomer (Z)(Z) z - 94%;
12. **Boc-Gly- Δ Phe-His-His-Gly- Δ Phe-OMe** [3 + 3]^[14] - izomer (Z)(Z) otrzymano z wydajnością 56%, a izomer (Z)(E) z - 56%;
13. **Boc-Gly- Δ Phe-His-Gly- Δ Phe-His-OMe** [3 + 3]^[14] 63% wyd.

Weryfikacja procedur syntezy dehydropeptydów – otrzymanie izomerycznych oktapeptydów zawierających cztery dehydrofenyloalaniny o różnej konfiguracji

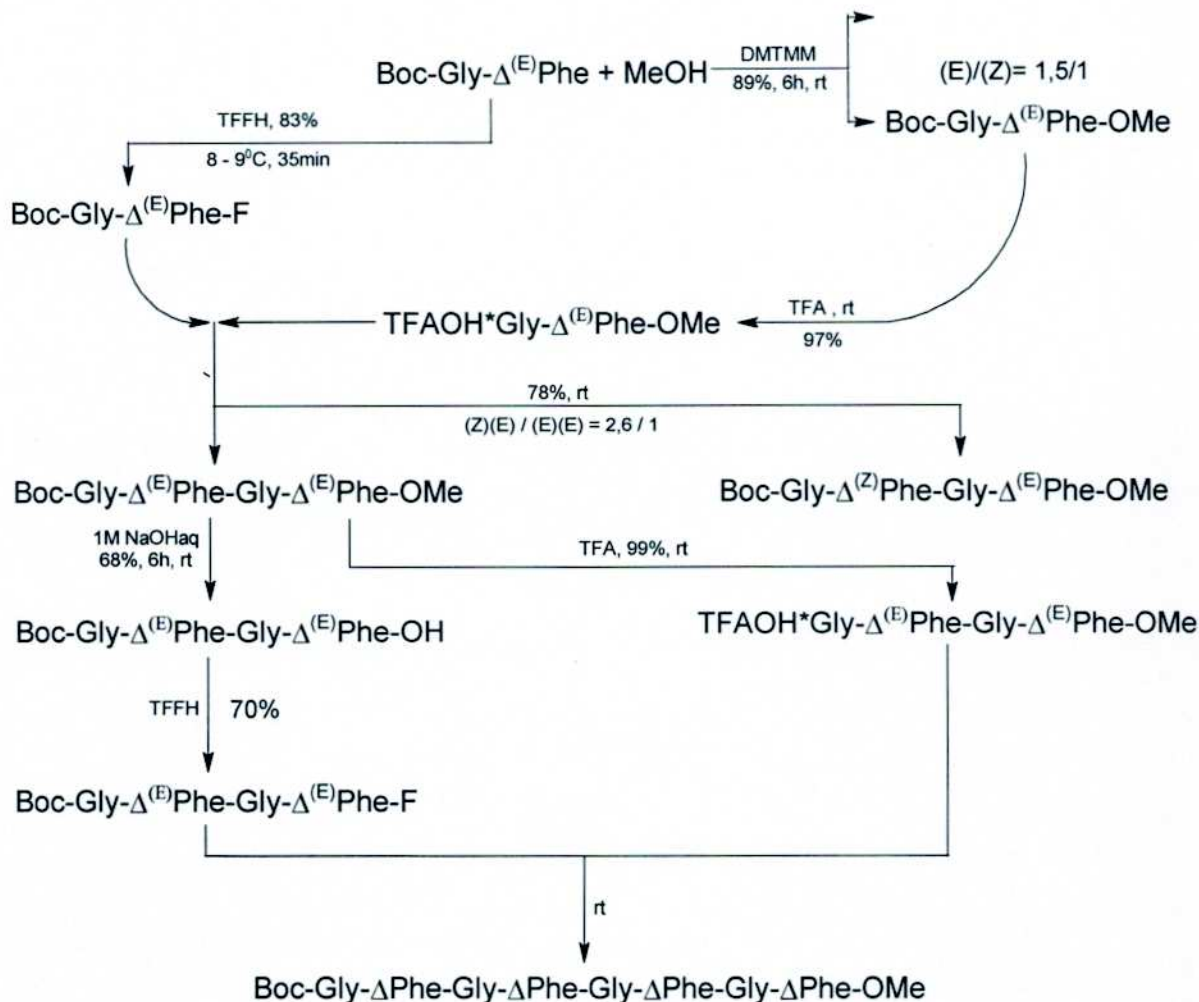
Syntezę oktapeptydów z czterema resztami dehydrofenyloalaniny w pozycjach 2,4,6,8 przedstawia **Schemat 15**.

Schemat pokazuje ścieżkę syntezy najtrudniejszego do otrzymania peptydu, który zawierałby wszystkie dehydroaminokwasy o konfiguracji (E). Końcowy oktapeptyd otrzymano z wydajnością 67% w postaci mieszaniny izomerów (E)(Z)(E)(E) i (E)(E)(E)(E). Izomeryzacja C-terminalnej (E)-dehydrofenyloalaniny występująca podczas tworzenia się wiązania peptydowego jest największym problemem w tej syntezie i po każdym etapie sprzęgania należało dokonać rozdzielenia mieszaniny izomerów na kolumnie chromatograficznej.

W taki sposób otrzymano następujące peptydy o konfiguracji izomerów:

1. **(Z)(Z)(Z)(Z)** 88% wyd.
2. **(Z)(Z)(Z)(E)** 70% wyd.
3. **(Z)(Z)(E)(E)** 80% wyd.
4. **(Z)(Z)(E)(Z)** 80% wyd.
5. **(E)(Z)(E)(E)** 83% wyd.
6. **(E)(Z)(E)(Z)** 67% wyd.
7. **(Z)(E)(Z)(E)** 67% wyd. w postaci mieszaniny izomerów (Z)(Z)(Z)(E) i (Z)(E)(Z)(E)
8. **(Z)(E)(E)(Z)** 75% wyd. w postaci mieszaniny izomerów (Z)(Z)(E)(Z) i (Z)(E)(E)(Z)
9. **(E)(E)(E)(E)** 67% wyd. w postaci mieszaniny izomerów (E)(Z)(E)(E) i (E)(E)(E)(E)^[14]

Trzy peptydy otrzymano w postaci mieszanin izomerów. Nie udało się ich rozdzielić metodami chromatograficznymi ze względu na zbyt małe różnice w polarności między poszczególnymi parami izomerów oraz zbliżone powinowactwo do złoza.



Schemat 15

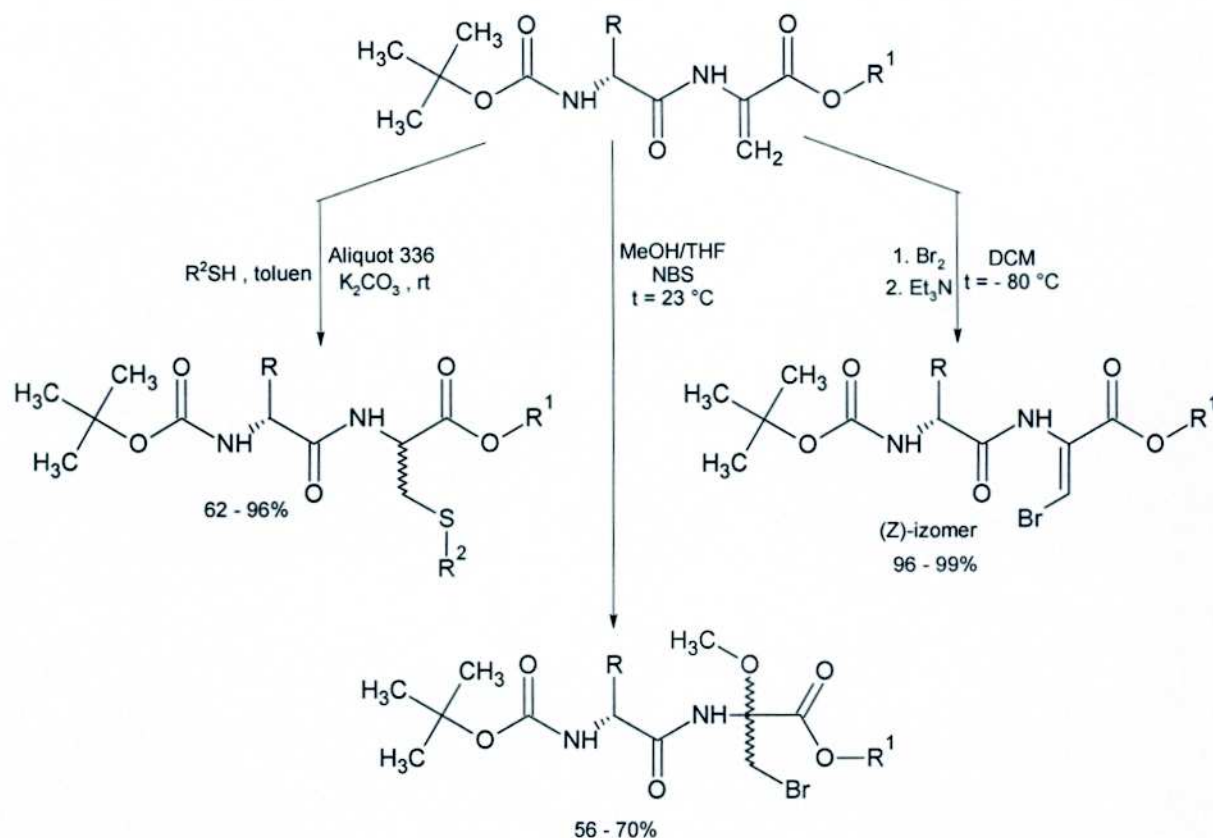
Addycja nukleofili do wiązania podwójnego dehydroalaniny w łańcuchu peptydowym

Wykorzystując dużą tendencję wiązania podwójnego reszty dehydroalaninowej w dehydrodipeptydach, do ulegania reakcji addycji elektrofilowej oraz nukleofilowej zsyntezowano dipeptydy zawierające różne niebiałkowe aminokwasy C-końcowe (Schemat 16). Celem tych syntez było otrzymanie i zbadanie jak modyfikacja C-końcowego aminokwsu wpłynie na aktywność inhibitorową tych dipeptydów wobec katepsyny C. Wyniki tych badań będą użyte w celu opracowania syntez nowych peptydomimetyków, potencjalnych inhibitorów tego ważnego enzymu.

Addycja tioli do wiązania podwójnego w obecności katalizatora przeniesienia fazowego (Aliquat 336) w obecności węgla potasu pozwalała otrzymać β -tiolopochodne w postaci mieszanin stereoizomerów. W reakcji powstaje bowiem nowe centrum stereogeniczne na węglu C $^{\alpha}$. Jeden z peptydów – zawierający fragment tioadamantyłowu rozdzielono na stereoizomery za pomocą preparatywnego HPLC. Związek ten okazał się interesującym, mikromolarnym inhibitorem katepsyny C.^[14]

Addycja atomu bromu do wiązania podwójnego z udziałem NBS (N-bromosukcynimid) w mieszaninie metanolu i THF (1:1v/v) powoduje powstanie α -metyloksy- β -bromo pochodnej dipeptydu.

Natomiast w reakcji addycji bromu (Br_2) w obecności Et_3N w temperaturze -80°C w DCM preferowane jest tworzenie się β -bromo-(Z)-dehydrodipeptydu.^[14]



$\text{R} = \text{H}, -\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$

$\text{R}^1 = -\text{CH}_3, -\text{C}_2\text{H}_5, -\text{CH}(\text{CH}_3)_2$

$\text{R}^2 = -\text{C}_2\text{H}_5, \text{C}_6\text{H}_{10}, -\text{C}_6\text{H}_5, \text{p-}\text{C}_6\text{H}_4\text{F}, \text{p-}\text{C}_6\text{H}_4\text{Cl}, \text{p-}\text{C}_6\text{H}_4\text{Br}, \text{p-}\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2, -\text{adamantyl}, \text{Boc-Cys-OMe}$

Schemat 16

Ochrony grup: aminowej i karboksylowej aminokwasów i peptydów ich deprotekcja – krótkie omówienie.

Większość ochron grupy α -aminowej aminokwasów należy do typu uretanów RO-CO-NH-R^1 np.:

Boc- (tert-butyloksykarbonylowa); deprotekcja 2 - 20% roztworem kwasu TFAOH w DCM

Z- (benzyloksykarbonylowa); deprotekcja $\text{HBr}/\text{CH}_3\text{COOH}$, $\text{Na}/\text{ciekły NH}_3$, $\text{H}_2/\text{Pd/C}$,

Fmoc- (fluorenylo-9-metoksykarbonylowa); deprotekcja ciekły NH_3 , $\text{C}_2\text{H}_5\text{NH}_2$, morfolina, piperodyna

Bpoc- [2-(p-bifenlo)-2,2-dimetyloktoksykarbonylowa]; deprotekcja CH_3COOH

Z(OMe)- p-metoksybenzyloksykarbonylowa; deprotekcja podobnie jak Boc-

Rzadziej stosowane są ochrony acylowe jak **TFA**-(trifluoroacetylowa); deprotekcja wodny roztwór NH_3 .

Najczęściej stosowanymi ochronami grupy karboksylowej są estry:

-**OMe**, -**OEt**; deprotekcja 1M wodne r-ry LiOH , NaOH , KOH

-**O^tBu**; deprotekcja 2-10% r-r TFAOH w DCM

-**OBzl**; deprotekcja Na /ciekły NH_3 , HF

Strategia syntezy peptydów, wymaga doboru takiego rodzaju ochron grupy aminowej i karboksylowej, aby po selektywnej deprotekcji którejkolwiek z nich, można było kontynuować dalszą rozbudowę peptydów, czy to od strony N- czy C-terminalnej.

Synteza dehydropeptydów wymusza stosownie ochron, które można usunąć w łagodnych warunkach by niesprokurować reakcji ubocznych, o co w przypadku peptydów z resztami dehydroaminokwasów jest niezwykle łatwo.

Dlatego też, ochrony **Boc**- oraz -**OMe** spełniały nasze oczekiwania a ponieważ charakteryzują się cechami uniwersalności, zostały zastosowane w syntezach dehydropeptydów.

Ochronę **Boc**- bardzo łatwo usuwa się w warunkach kwaśnych, najczęściej ok. 20% roztworem kwasu trifluorooctowego (TFAOH) w DCM , reakcja deprotekcji trwa maksymalnie 15 minut w temperaturze pokojowej, a istotnym faktem jest brak reakcji ubocznych. Otrzymane trifluorooctany dehydropeptydów w większości przypadków są krystaliczne, ułatwia to tym samym uzyskanie ich o bardzo wysokim stopniu czystości. Wydajności reakcji deprotekcji są bardzo wysokie 97 – 99%.

Ochronę -**OMe** usuwamy w reakcji zasadowej hydrolizy w 1M wodnym roztworze NaOH , w temperaturze pokojowej, czas trwania reakcji (najczęściej od 2 do 8 godzin) w dużym stopniu zależy od wielkości dehydropeptydu i wydłuża się wraz ze wzrostem ilości aminokwasów w łańcuchu peptydowym.

W wyniku reakcji hydrolizy otrzymujemy najczęściej krystaliczne peptydy z wydajnościami w zakresie 80 – 95%. Nie obserwowano reakcji ubocznych, a przyczyną wydajności 80% to nie do końca przeprowadzona hydroliza substratu.

N-terminalna **Fmoc**-ochrona wymaga chronienia grupy karboksylowej C-terminalnego peptydu grupą tert-butyłową (-**O^tBu**).

Podobieństwo pod względem chemicznym ochrony **Bpoc**- do **Boc**- mogłoby sugerować użycie tej pierwszej do zaprezentowanych wcześniej syntez. W obu przypadkach, zrezygnowano z niej z przyczyny chociażby ekonomicznej.

Zrezygnowano także z ochrony **Z**- z powodu radykalnych warunków reakcji deprotekcji.

Addycja obecnego w środowisku reakcji bromowodoru (HBr) albo wodoru w obecności katalizatora palladowego, do wiązań podwójnych reszt dehydroaminokwasowych, eliminowała jej użycie.

Istnieje możliwość deprotekcji tej ochrony 100% kwasem trifluorooctowym z dodatkiem anizolu (scavenger) ale reakcja trwa długo - nawet do 48 godzin i towarzyszą jej reakcje uboczne pomimo obecności anizolu. Powstałe produkty uboczne skutecznie utrudniają izolację głównego produktu.

Uwagi końcowe

Efekty syntetyczne stosowanych metod aktywacji są różne i zgoła nieprzewidywalne, dlatego też, szczególnie w przypadku α,β -dehydropeptydów należy przed podjęciem ostatecznej decyzji bardzo precyzyjnie rozważyć ich dobór. Dotyczy to szczególnie C-terminalnej grupy - COOH reszty ΔAla , z powodu wcześniej wspomnianego nieszczęsnego sprzężenia π -elektronów wiązania podwójnego oraz grupy karbonylowej powodującej jej dezaktywację.

Racjonalna interpretacja wyników testów biologicznych oraz rozsądne planowanie syntezy nowych dehydropeptydów, wymaga szczególnej znajomości zależności pomiędzy ich

strukturą i aktywnością. Dotyczy to głównie nurtu badań syntezy leków, zogniskowanych na uzyskiwaniu krótkich potencjalnie skutecznych peptydomimetyków, poprzez modyfikację łańcucha peptydowego zmierzającą w kierunku potencjalnego zwiększenia jego biologicznej aktywności.

Niezwykle duża różnorodność i bogactwo rozpoznanych peptydów z resztami α,β -dehydroaminokwasów w otaczającym nas świecie jest faktem. Rola i funkcje, które pełnią nadal pozostają nie w pełni poznane.

Rozpoznanie bowiem tak obszernej niewiedzy, wymaga zaangażowania bardzo dużych środków materialnych a także ludzkiej determinacji.

Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego:

1. J. Brasuń, **M. Makowski**, S. Ołdziej, J. Świątek-Kozłowska
Coordination ability of pentapeptides with two dehydro-amino acid residues inserted into their sequences.
J. Inorg. Biochemistry, **2004**, *98*, 1391-1398
2. J. Brasuń, **M. Makowski**, A. Janicka, J. Świątek-Kozłowska
Influence of the position of two dehydro-amino acids residues in the oligopeptide sequence the binding ability towards Cu(II) ions
Polyhedron **2005**, *24*, 1929-1936
3. R. Latajka, **M. Makowski**, M. Jegwinski, M. Pawelczak, H. Koroniak, P. Kafarski
Peptide p-nitroanilides containing (E)-dehydrophenylalanine-synthesis, structural studies and evaluation of their activity towards cathepsin C.
New J. Chem., **2006**, *30*, 1009-1018
4. R. Latajka, M. Jegwinski, **M. Makowski**, M. Pawelczak, T. Huber, N. Sewald, P. Kafarski
Pentapeptides containing two dehydrophenylalanine residues-synthesis, structural studies and evaluation of their activity towards cathepsin C.
J. Peptide Sci., **2008**, *14*, 1084-1095
5. R. Latajka, M. Jegwiński, **M. Makowski**, A. Krężel
Conformational studies of hexapeptides containing two dehydroamino acid residues in position 3 and 5 in peptide chain.
J. Molecular Structure, **2008**, *892*, 446-451
5. R. Latajka, M. Jegwinski, **M. Makowski**, A. Krężel, S. Paluch,
Conformational Studies of Hexapeptides Containing Two Dehydroamino Acid Residues in Position 2 and 5 in Peptide Chain.
Biopolymers, **2008**, *89*, 691-699
7. M. Lisowski, R. Latajka, B. Picur, T. Lis, I. Bryndal, M. Rospenk, **M. Makowski**, P. Kafarski
Combined Effect of the Δ Phe or Δ Ala Residue and the p-Nitroanilide Group on

a Dehydropeptides Conformation.

Biopolymers, 2008, 89, 220-234

8. M. Lisowski, Ł. Jaremko, M. Jaremko, A. Mazur, R. Latajka, **M. Makowski**
**Effect of the Δ Phe Residua Configuration on a Didehydropeptides Conformation:
A Combined CD and NMR Study.**
Biopolymers, 2010, 93, 1055-1064.
9. A. Buczek, **M. Makowski**, M. Jegwiński, R. Latajka, T. Kupka, M. A. Broda
**Toward Engineering Efficient Peptidomimetics. Screening Conformational
Lasndscape of Two Modified Dehydroaminoacids.**
Biopolymers, 2013, 101, 28-40
10. M. Jaremko, Ł. Jaremko, A. Mazur, **M. Makowski**, M. Lisowski
**Enhanced β -turn conformational stability of tripeptides containing Δ Phe in *cis* over
trans configuration.**
Amino Acids 2013, 45, 865-875
11. M. Jegwiński, J. Krzciuk-Gula, **M. Makowski**, R. Latajka, P. Kafarski
**Conformation of dehydropentapeptides containing four achiral amino acids
residues- Controlling the role of L-Valine.**
Beilstein J. Org. Chem., 2014, 10, 660-666
12. **M. Makowski**, P. Lenartowicz, B. Oszywa, M. Jegwiński, M. Pawełczak, P. Kafarski
Synthesis of dehydrodipeptide esters and their evaluation as inhibitor catepsin C.
Med. Chem. Res. 2015, 24 (8), 3157-3165
13. **M. Makowski**, M. Jegwiński, J. Hurek, A. Paliwoda, P. Kafarski
Kinetics of photochemical isomerization of TFA-Gly-^Z Δ Phe into TFA-Gly-^E Δ Phe
Arkivoc 2017, part iv, 88-94
14. Dane niepublikowane

Maciej Makowski