

Pécsi Tudományegyetem



Bioaktív vegyületek és mimetikumaik előállítása

Habilitációs tézisek

Dr. Agócs Attila
adjunktus

Pécs, 2010.

1. Bevezetés

A múlt század hetvenes-nyolcvanas éveitől kezdve egyre gyorsabb ütemben bővül a szerves kémiai szintézisben rendelkezésre álló módszerek, lehetőségek száma. Ahogy mondani szokták, ma már szinte bármilyen természetes anyag -akár enantioszelektív-előállítása lehetséges; az pusztán idő, pénz és elszántság kérdése.

A biomolekulák totálszintézisének szükségességét sokszor az indokolja, hogy természetes forrásokból nehezen, vagy csak nagy ráfordítással izolálhatók. Ugyanakkor mintegy "melléktermékként" számos alapvetően új szintézismódszer került (pl. enantioszelektív katalizátorokkal) kidolgozásra a sokszor meglehetősen bonyolult bioaktív vegyületek szintézise közben.

Különösen érdekes azon molekulák illetve analogonjaik előállítása, melyek fontos biológiai funkcióval vagy gyógyhatással rendelkeznek. Ezekben az esetekben a természetes anyag vezérmolekulaként szolgálhat hasonló hatású és még hatékonyabb vegyületek előállításához. Az előállított analogonok felhasználhatók a szerkezet-hatás összefüggések felderítésére, melyek nagy segítséget jelenthetnek az adott gyógyszer hatásmechanizmusának értelmezésében, illetve a megfelelő enzimatis, biokémiai folyamat mélyebb megértésben.

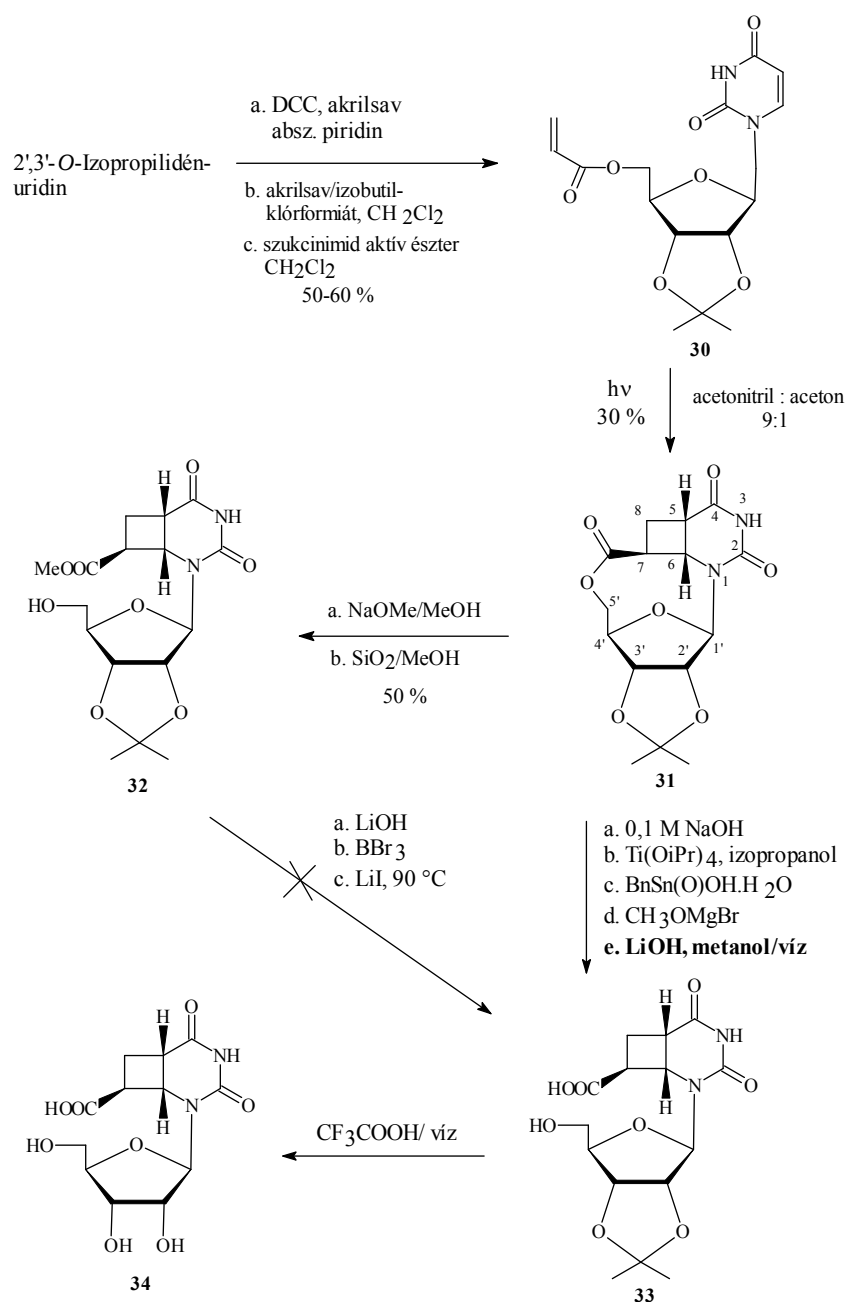
Az elmúlt 15 évben lehetőségem volt itthon és külföldön igen sokféle szintetikus feladat megoldásában résztvennem, ami rendkívül hasznos volt az elméletből ismert reakciók mélyebb megértésében. Az alábbiakban nem időrendben, hanem tematikusan csoportosítva próbálom bemutatni az elmúlt évek sokszínű munkáját.

2. Cikloaddíciók

A cikloaddíciós reakciók igen hasznos eszközei a szerves kémiának. Az egy- vagy többgyűrűs termékek kialakítása sok esetben rendkívül leegyszerűsödhet, egylépésessé válhat és a reakciókörülményeket is jól tűri a legtöbb molekula, illetve védőcsoport. Az ilyen típusú reakciókat ma már széleskörűen alkalmazzák biomimetikumok előállításában is. Sok esetben sztereoszelektív vagy azzá tehető reakciókról van szó, ami alapvető fontosságú az ilyen szintézisekben.

2.1 Dihidro-orotidin mimetikumok előállítása

Uridinszármazékok intra- és intermolekuláris [2+2] fotocikloaddícióit vizsgáltuk dihidro-orotidin analógok előállítása céljából. Az orotidinből (uridin-6-karbonsav) a szervezetben dekarboxileződéssel keletkezik uridin. A hasonló szerkezetű antimetabolitoktól vírus- vagy baktériumellenes hatás várható. Ezt a hatást az uridin bioszintézisébe való beavatkozás válthatja ki, előreláthatóan az *orotidin-5'-foszfát-dekarboxiláz*, vagy a az *orotát-foszforibozil-transzferáz* enzimek gátlásával.



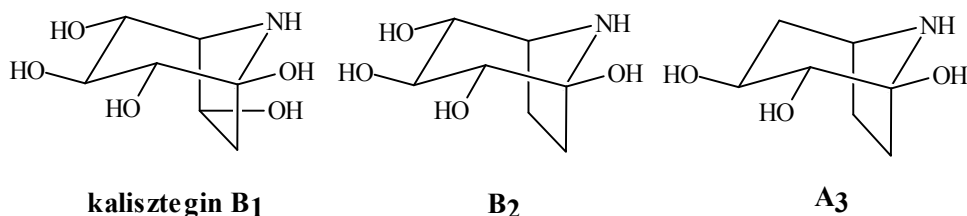
Uridinszármazékok akrilátok jelenlétében történő besugárzásával egy ciklobután-gyűrűt tartalmazó telített uridinanalógont kaptunk. Királis (pl. mentil) akrilátok esetén a

lehetséges 8 termék közül csak 2 keletkezett. Elvégeztük a reakció intramolekuláris variánsát is uridin-akrilátból (**30**) kiindulva, amikor is egy termék keletkezett, melyből a védőcsoportok eltávolítása után a **34** dihidro-orotidin analogont nyertük. A termék térszerkezetét NOE módszerrel állapítottuk meg. Érdekes megemlíteni, hogy a reakció csak formálisan cikloaddíció, valójában kettősgyök köztiterméken keresztül játszódik le.

2.2 Oxagranatán-alkaloidok előállítása

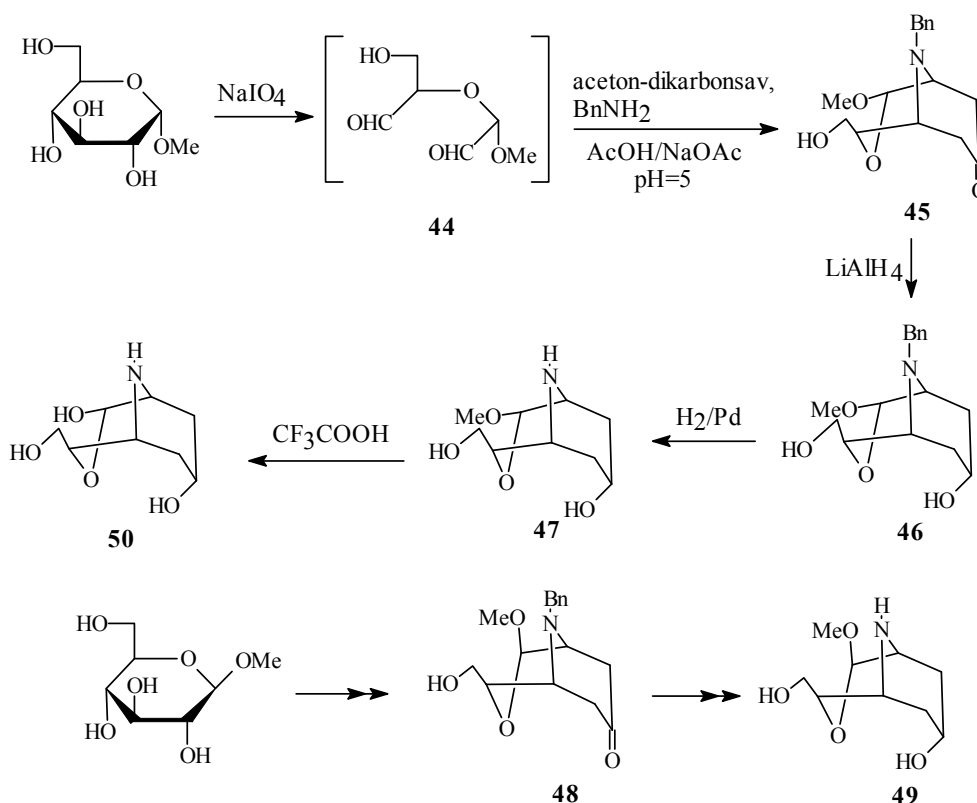
Gyűrűs nitrogént tartalmazó szénhidrátutánzatok (azacukrok: piperidinózok és pirrolidinózok) a glikozilhidroláz enzimekhez általában igen erősen kötődnek, azok kitűnő kompetitív inhibitorai, így hasznosak lehetnek különböző glikokonjugátumok biológiai szerepének tanulmányozásában. Ezen kívül a kemoterápiában is igen eredményesen vethetők be olyan betegségek kezelésében, mint a cukorbetegség, daganatos betegségek, gyulladásos betegségek, valamint vírusos fertőzések (köztük a HIV vírus). Ezek a vegyületek szerkezetileg az alkaloidok családjába tartoznak, általában növényekből izolálták őket, melyet a szintézis és az analógok előállítása követett.

Bár sok hatásos glikozidáz inhibitor ismeretes, gyakran gondot jelent a specifitás hiánya, ami ösztönzőleg hathat új azacukrok előállítására. Így például a már klasszikusnak számító *nojirimicin* és 1-dezoxi analógja is (melyek a D-glükóz szerkezetét utánozzák) több α - illetve β -glikozidáz inhibitora. A merevebb szerkezetű biciklusos *kasztanoszpermin* vagy a *szvainszonin* azonban már nagyobb specifitást mutat, a *kasztanoszpermin* specifikusan gátol α -mannozidázokat. A glikozidázgátló hatás ezeknél az anyagoknál a gyűrűs nitrogén oxigénét meghaladó bázicitásában keresendő, a specifitást eddigi tudásunk szerint a merevebb konformációjú gyűrűk okozhatják.



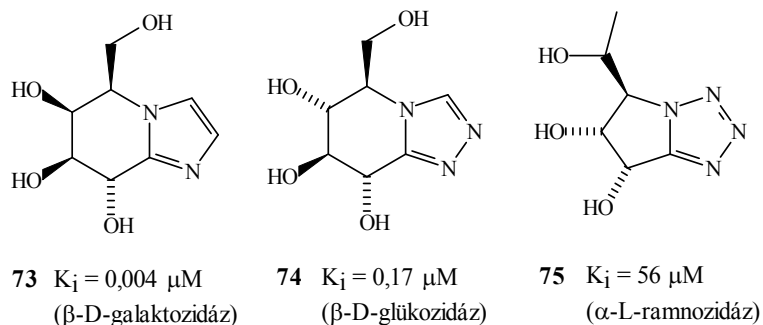
Érdekesek lehetnek ilyen szempontból is 90-es évek elején a *Calistegia sepium* gyökeréből izolált *kalisztegin*ek is, melyek néhány képviselőjét a fenti ábra mutatja. Ezen alkaloidok egyébként jelenlegi tudásunk szerint a gyökéren található baktériumok számára jelentenek nitrogén- és szénforrást. Szerkezetük alapja a hemiaminál részt tartalmazó nortropán-váz.

A kaliszteginekhez hasonló, de két hatos gyűrűből álló granatán-vázás alkaloidok előállítását valósítottuk meg Robinson-Schöpf reakcióval (**49**, **50**). A reakcióhoz metil- α - és β -glükopiranozidból készítettünk dialdehidet, majd egy lépésben a **45** oxagranatánt kaptuk, melyből a védőcsoportok eltávolítása után az **50** glikozidázgátló analógot kaptuk. Az enzimatis vizsgálatok szerint a termékek egyes glikozidáz enzimekre mérsékelt gátló hatást fejtenek ki.

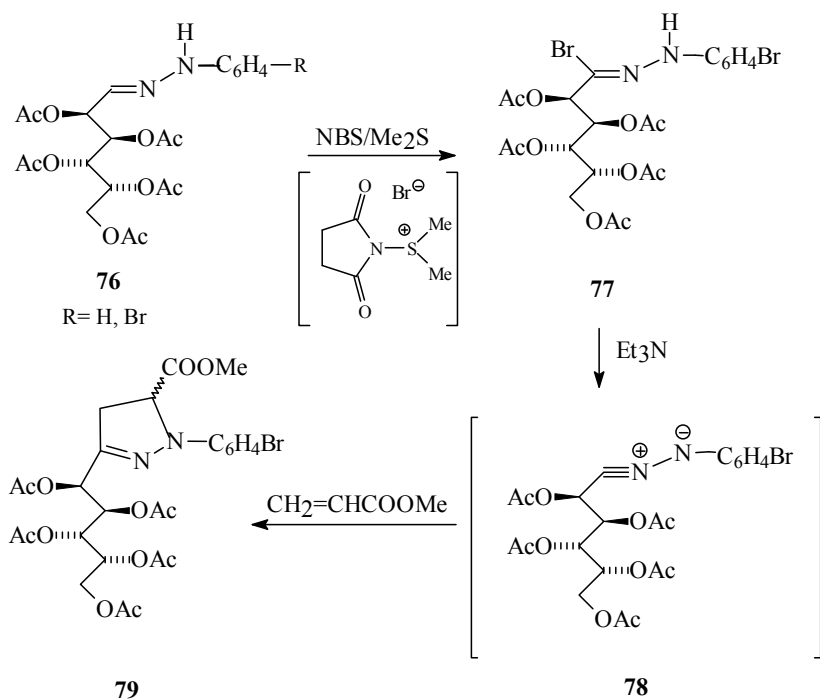


2.3 Szénhidrát nitriliminek 1,3-dipoláris cikloaddíciói

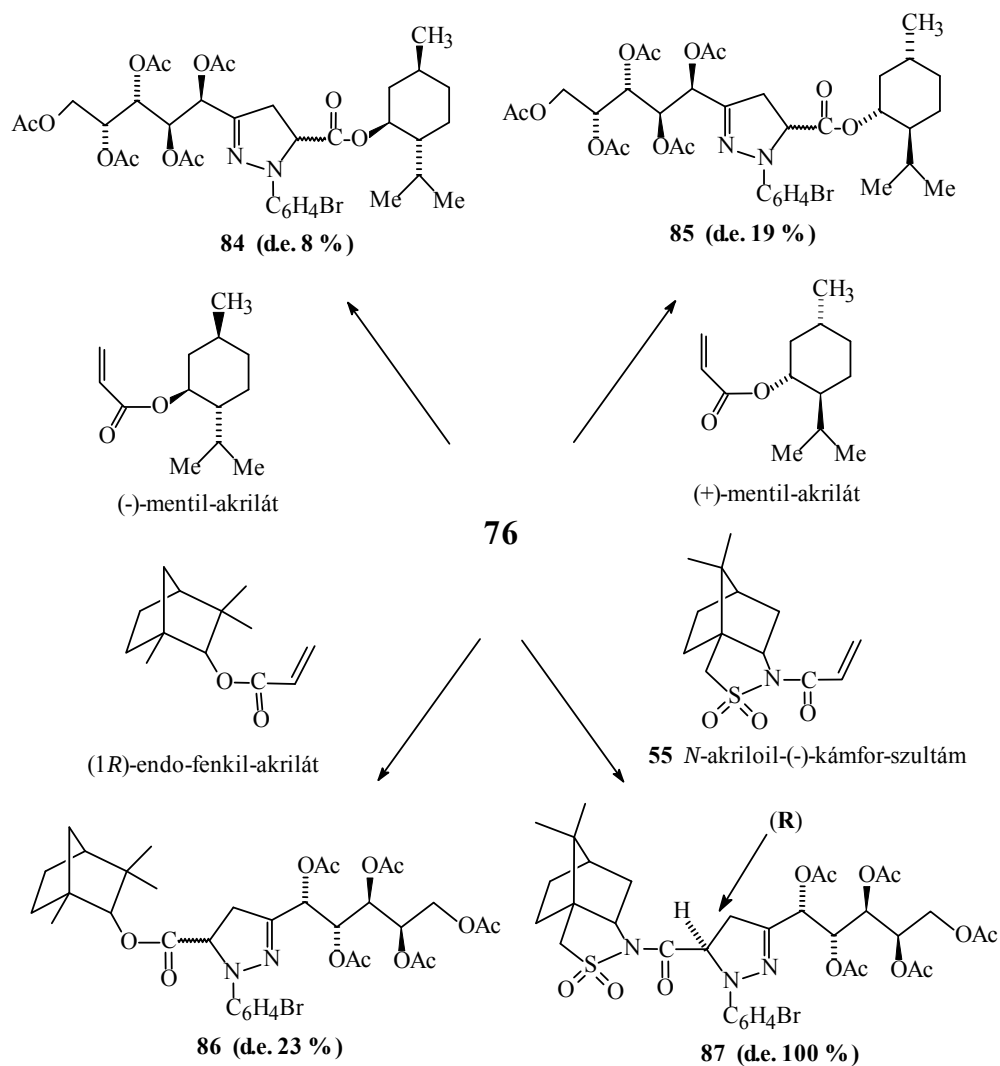
Mint azt láthattuk, a kasztanoszpermin és a hasonló, nitrogént tartalmazó merev biciklusos vegyületek hatékony glikozidáz-inhibitorok lehetnek. Mivel az inhibíciós hatásért a bázisos nitrogénatom a felelős, ésszerűnek látszott olyan analógok előállítása, melyek két nitrogént tartalmaznak. Ismeretesek továbbá olyan 1,3-diazol- (**73**), triazol- (**74**) és tetrazolgyűrűt (**75**) tartalmazó biciklusos vegyületek is, melyek egyes glikozidáz enzimek szelektív gátlószerei. Ez a tény is azt támasztotta alá, hogy hasonló szerkezetű részlegesen, vagy teljesen telített biciklusos pirazolszármazékok szintén hatékony enzim-inhibitorok lehetnek. A pirazolingyűrű két nitrogénatomját beépíthetjük a molekulákba nitriliminek segítségével is.



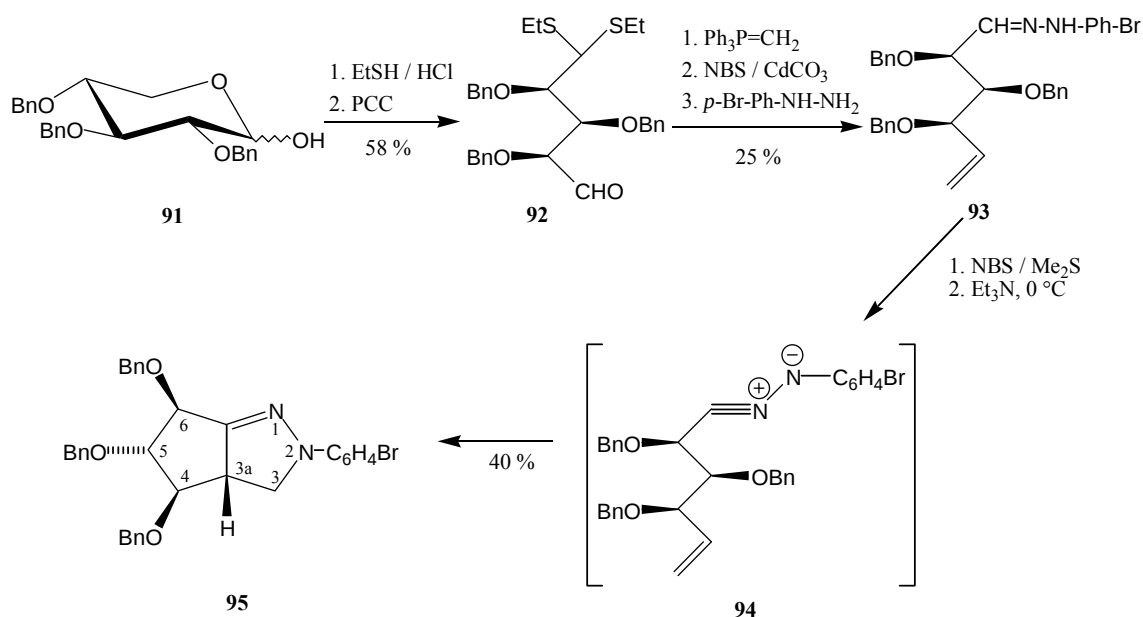
Bár a nitrilimine cikloaddíciós reakciói jól ismertek, munkánk megkezdésekor egyetlen példa sem volt található az irodalomban királis nitriliminekkal végzett reakciókra, különösen nem nitrilimine szénhidrátszármazékainak felhasználására. Ezért célkitűzéseink között szerepelt ezen terület feltérképezése is. A kapott eredményeket össze kívántuk vetni más, 1,3-dipólokkal kapott irodalmi adatokkal, különös tekintettel a reakciók sztereoszelektivitására.



A nitriliminek a megfelelő hidrazonoil-bromidok (**77**) dehidrohalogénezásával állítottuk elő *in situ* és különböző akirális és királis alkoholok akrilésztereivel reagáltattuk őket. Az akirális metil észternél gyakorlatilag csak a várható regioszelektivitást tapasztaltuk, míg a királis irányítók használatával sikerült növelni a diasztereoselektivitást, a (-)-kámfor-szultám származékkal (**55**) kizárólag az egyik diasztereomer keletkezett (**87**). A további vizsgálatok azt igazolták, hogy a (-)-szultám az "összeillő" pár, mert a szultám (+) izomerjével csak 60 %-os diasztereoselektivitást kaptunk.



Az irodalomban több példát is találtunk szénhidrátok 1,3-dipoláris intramolekuláris cikloaddíciójára, melyek sztereoselektivitása jó vagy kiváló, épp ezért a nitrilimines addíció intramolekuláris változatát is megvalósítottuk.



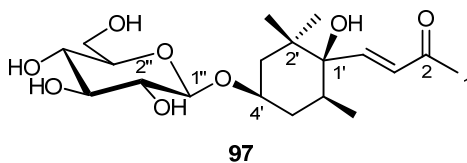
Ebben az esetben sokkal jobb sztereoszelektivitás várható, amit kísérleteink részben igazoltak is. A 2,3,4-tri-*O*-benzil-D-xilózból (**91**) hat lépésben állítottuk elő a kettős kötést is tartalmazó nitrilimint, melynek cikloaddíciójakor egyetlen diasztereomer (**95**) keletkezett. Hasonló módon eljárva D-ribózból és L-arabínózból is biciklusos adduktumokat készítettünk, ezekben az esetekben azonban két diasztereomer keletkezett 2:1 arányban. A reakcióban hasonló diasztereomerek keletkeztek, mint más dipolarofilekkel végzett reakciókban. A *xilo*, *ribo* és *arabino* konfigurációjú nitriliminek sztereoszelektivitása közti különbségre az átmeneti állapot molekulamechanikai és energetikai vizsgálata adott magyarázatot.

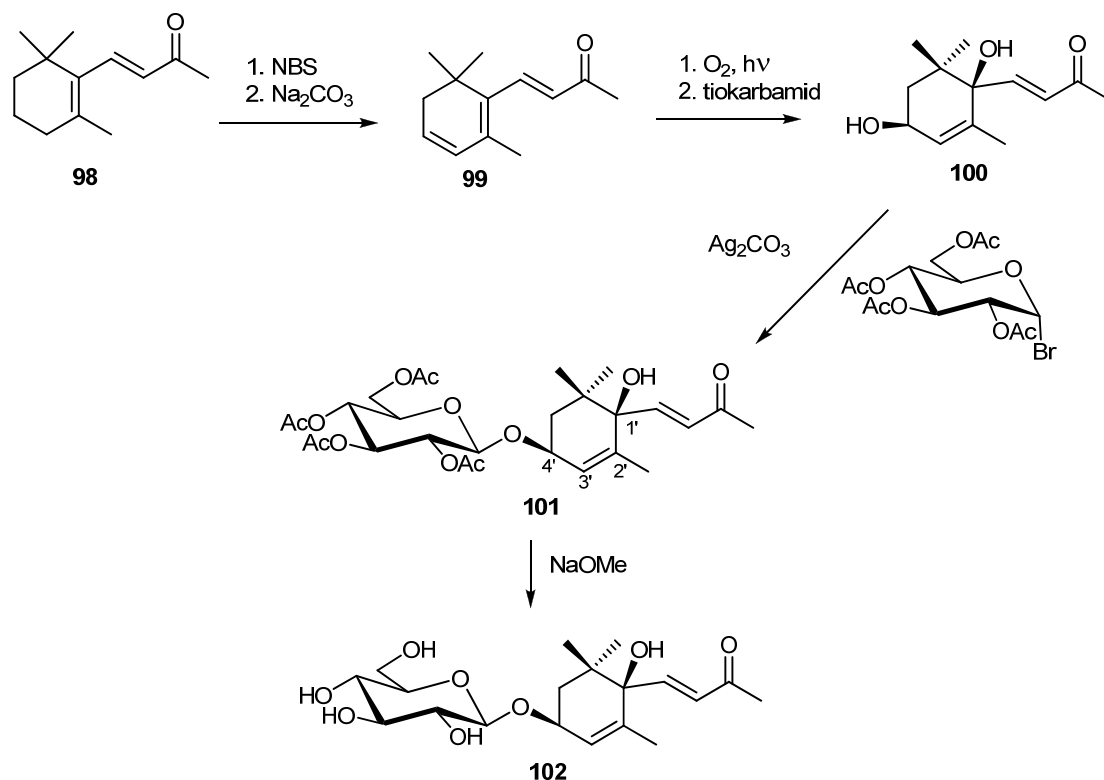
A **87** adduktum esetében sikerült egykristályt növesztenünk és szerkezetét röntgenkristallográfiás módszerrel is azonosítanunk. A többi esetben 2D NOE módszerekkel határoztuk meg a keletkezett aszimmetriacentrumok konfigurációját.

3. Glikozilezések

3.1 A dehidro-boscialin glükozid totálszintézise

A *boscialint*, mely egy jonon jellegű természetes anyag, először egy afrikai fa leveleiből izolálták. A népi gyógyászatban főzetét antibakteriális és antifungális gyógyszerként használják. Később Bangladesben a 4'-*O*-β-D-glükopiranozid-boscialint (**97**) izolálták levelekből. Ez utóbbi anyag patkányokban elősegítette az inzulin kiválasztását, így potenciálisan a II. típusú diabétesz kezelésében is felhasználható. Az irodalomban már leírták ennek az anyagnak a totálszintézisét, amely meglehetősen bonyolult. Mi úgy rövidítettük le jelentősen a szintézist, hogy a dehidro-β-jonont (**99**) fotokémiaileg oxidáltuk, majd tiokarbamiddal redukáltuk és így szelektíven a **100** *cisz*-diol keletkezett, melyet már "csak" glikozilezni kellett, hogy megkapjuk **97** dehidro analógját, **102**-t.



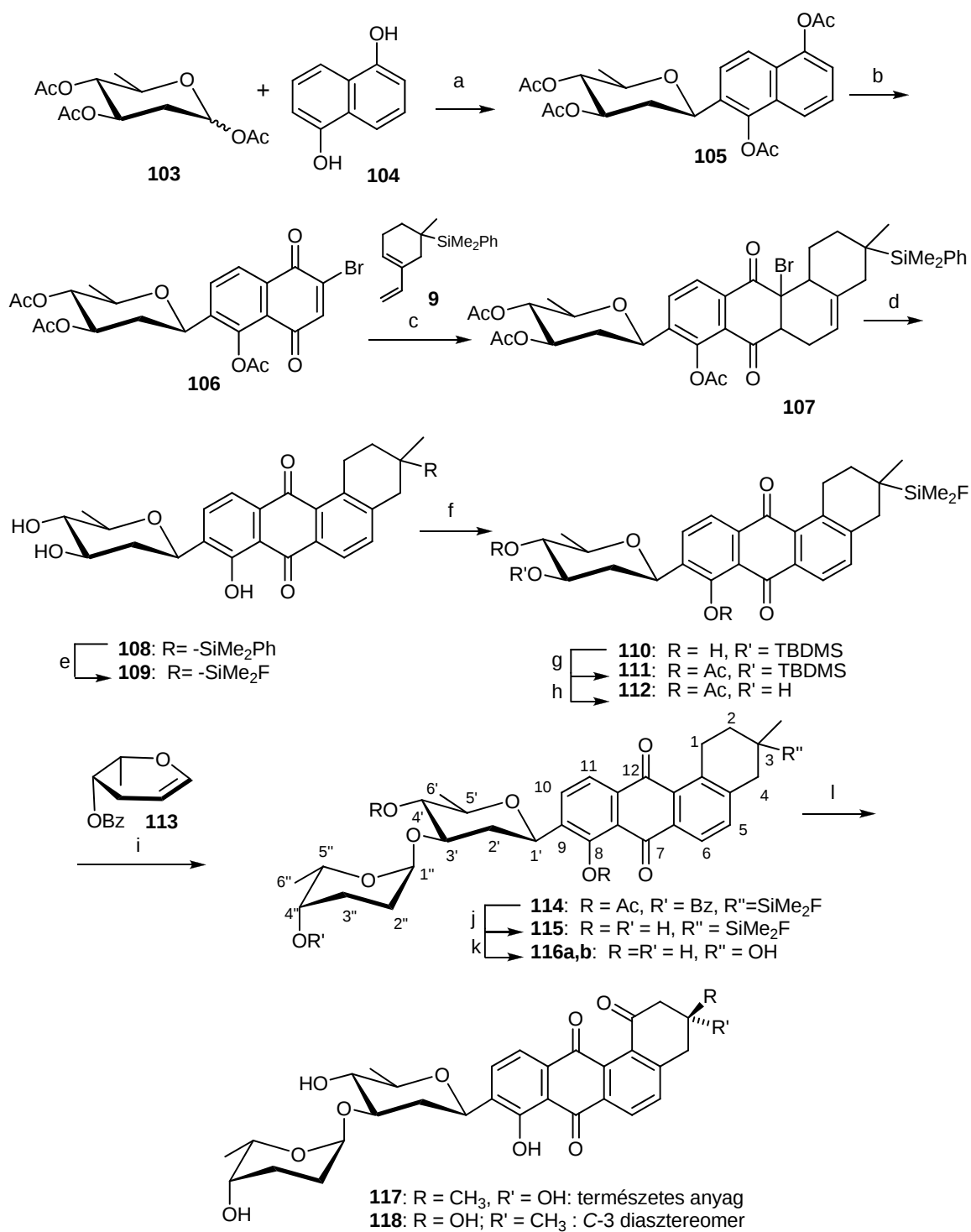


3.2 Egy dezoxi-diszacharid angluciklin antibiotikum szintézise

Célunk a **117**-es antibiotikum ("antibiotikum-101") totálszintézise volt néhány már ismert és néhány újonnan alkalmazott reakcióval. A totálszintézis főbb lépései voltak:

1. a **104** dinaftol C-glikozilezése D-olivózzal (**103**)
2. **106** Diels-Alder reakciója a **9** diénnel
3. a D-olivóz rész szelektív védeke és glikozilezése L-rodinállal (**113**)
4. a szilil-védőcsoport oxidatív eltávolítása
5. **116** fotooxidációja és a két diasztereomer szétválasztása

Ez a reakciósor jelentős egyszerűsítéseket tartalmaz a korábbi totálszintézisekkel szemben. Később részben módosítottuk a szintézis menetét, a fotooxidációt egy korábbi szakaszban elvégezve már csak a természetes anyagnak megfelelő diasztereomerrel tovább dolgozva.

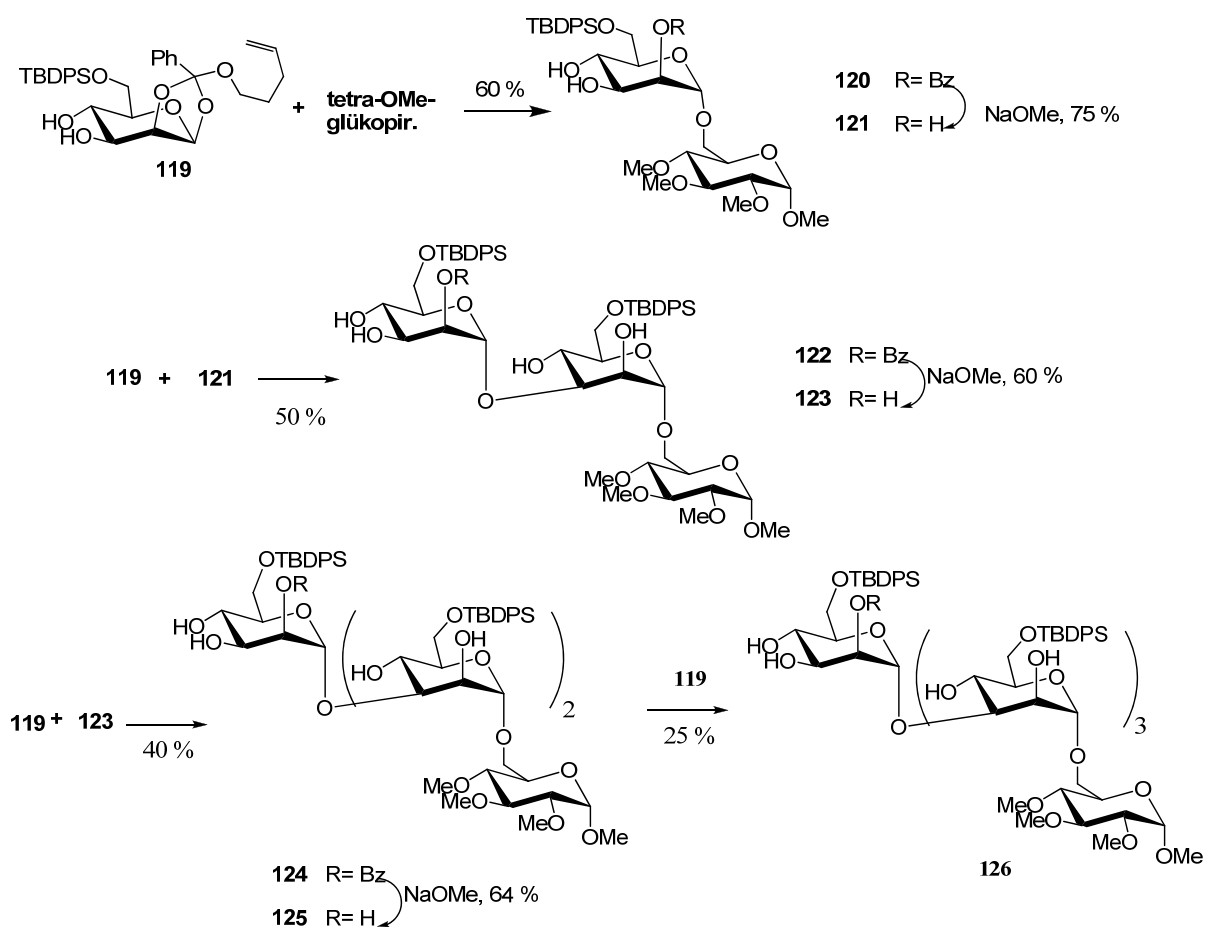


a) 1. CH₃CN, BF₃ Et₂O; 2. Ac₂O/py (43 %). b) NBS, H₂O/CH₃CN, 86 %. c) toluol, 6 h, 70 °C. d) K₂CO₃, metanol (76 %, 2 lépés). e) HBF₄ · Et₂O (60 %). f) TBDMSCl/imidazol, DMF. g) Ac₂O/py. h) HF/CH₃CN (76 %, 3 lépés). i) Sc(OTf)₃/CH₂Cl₂ (72 %, 70 % konverzió). j) NaOMe/MeOH, (87 %). k) THF/MeOH, KHCO₃, KF, H₂O₂. l) O₂/hv, metanol (17 %).

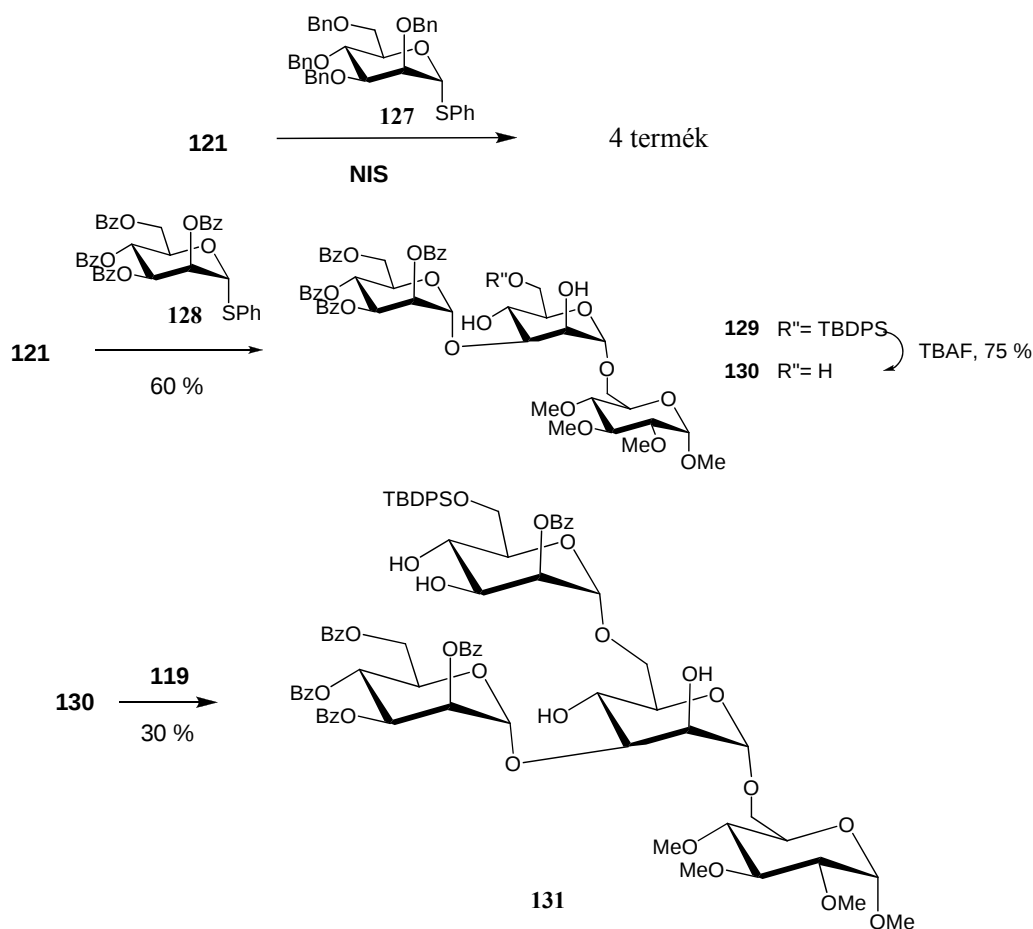
3.3 Oligoszacharidok szelektív előállítása részlegesen védett monomerekkel

Hatékony ortogonális módszert dolgoztunk D-mannóz poliolok és n-pentenil-ortoészterek regioszelektív glikozilezési reakcióival. Az eljárás lehetővé teszi lineáris és elágazó oligoszacharidok szintézisét is minimális mértékű védőcsoport használatával.

A védőcsoportok használata általában jelentősen meghosszabbítja az oligoszacharidok szintézisét, ezért a 2000-es években olyan stratégiát, a *reciprok donor-akceptor szelektivitást* (RDAS) dolgozták ki, melynek segítségével bizonyos oligoszacharidok előállítása jelentősen leegyszerűsíthető. A módszerben 3 típusú donor: az "aktivált" (**128**), a "dezaktivált" (**129**) és az ortoészter (**119**) segítségével megvizsgáltuk a már említett donor-akceptor kettős összefüggéseit a szelektivitás tekintetében és felhasználtuk az alább ábrán látható 1→3-pentaszacharid (**126**), valamint hasonló módon, mindig csak a szilil védőcsoport eltávolításával egy 1→6-hexaszacharid előállítására.



Mint az előre várható, az aktivált donor szelektivitása kisebb volt a 2,3,4-védetlen **121**-el történő reakcióban, mint a dezaktiválté (**128**). A képződött triszacharidot szeletíven glikozilezhetjük az ortoészterrel a **131** tetraszacharidot kapva.



Ehhez a témakörhöz kapcsolódóan a szelektivitások ismeretében olyan reakciókat is megvalósítottunk, ahol két donort egyszerre reagáltatva a védetlen cukorral szelektíven egy-egy tri-, illetve tetraszacharidhoz jutottunk EGY lépésben.

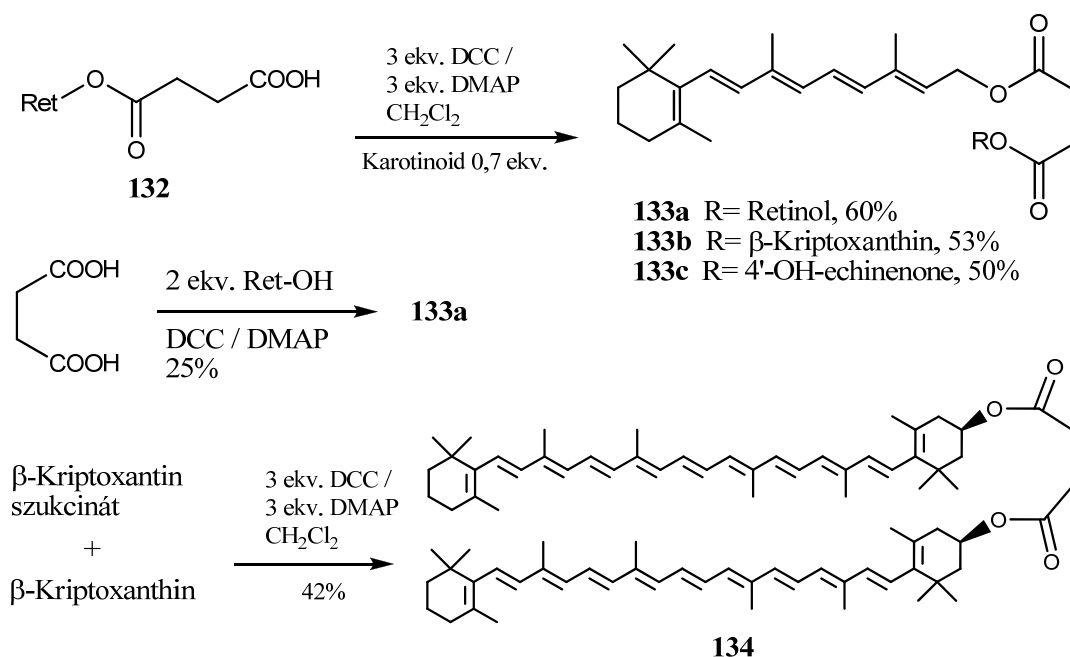
3.4 Szulfonometil analógok előállítása

2-Aldulonsavak szulfonometil analógjait állítottuk elő etil-metánszulfonát aldolaktionokra történő reakciójával. Az új szulfonometil-aldulonsav felhasználásával a szialil Lewis X tetraszacharid analógiát állítottuk elő.

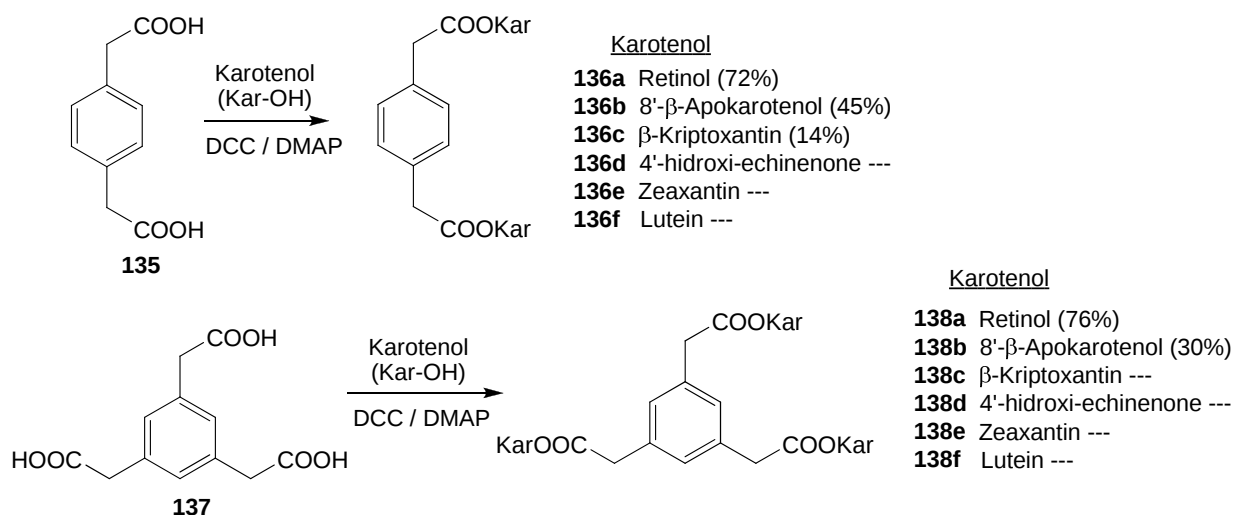
4. Karotinoidszármazékok előállítása

Az elmúlt öt év kutatásainak egyik egyik fő célja karotinoid dendrimerek első generációjának előállítása di- és trikarboxil magok észterezésével, valamint új típusú kapcsolási reakciók bevonásával. Ezek a vegyületek és az ilyen típusú, nagy molekulatömegű, több karotinoid egységet is tartalmazó molekulák teljesen ismeretlenek az irodalomban..

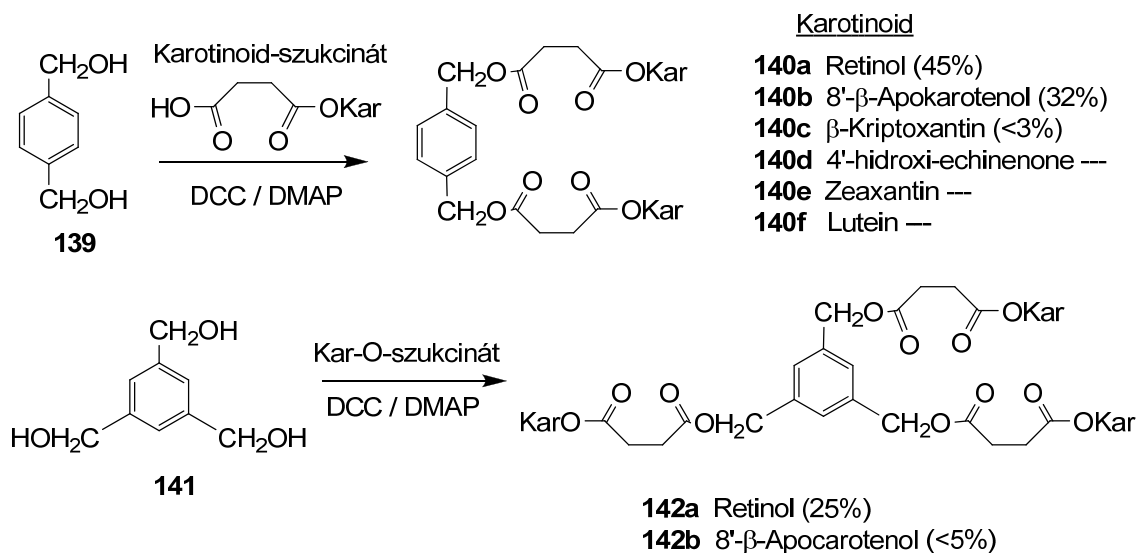
Különböző mono- vagy dihidroxi-karotinoidokból kiindulva sokféle új vegyületet kaphatunk, ahol a 2-3 karotinoid részt aromás (**136**, **138**, **140**) vagy nem aromás (**133**, **134**) összekötő elemekkel kapcsolódik össze. Ha a viszonylag könnyen előállítható karotinoid szukcináttal bi- vagy trifenolokat észteressítünk, hasonló jellegű molekulák jönnek létre. Az összekötő elemek valószínűleg szükségesek szterikus okok miatt, ugyanakkor az esetleges intramolekuláris aggregáció tanulmányozásához merevebb szerkezetű molekulákra lenne szükség. Mindezek ellenére mind az antioxidáns hatás, mind az aggregációs tulajdonságok jelentősen megváltozhatnak a természetes karotinoidokhoz képest. Az antioxidáns aktivitást intézetünkben sejtkultúrán rutinszerűen vizsgálják, így rendelkezésre állnak több karotinra is összehasonlító adatok. Néhány éve penicillin és kefalosporin podandok szintézisét végeztük el, ahol szintén volt módosulás a biológiai aktivitásban, ha nem is jelentős. Bár látszólag egyszerű reakciókról van szó, a karotinoidok érzékenysége miatt ezek is sok optimalizálást igényelnek, illetve sokszor rossz kitermeléssel mennek csak végbe.



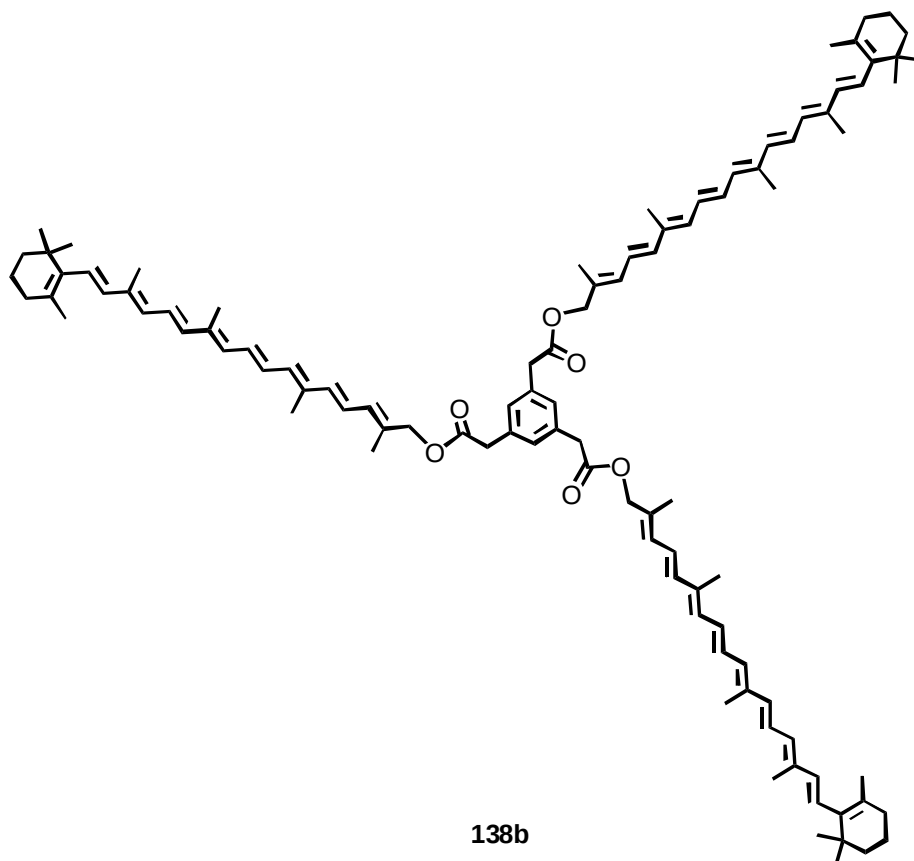
Karotinoid-szukcinátok felhasználásával karotinoid homo- és heterodimereket állítottunk elő (**133**, **134**). Mint az alábbiakban látható, aromás di- és triecetsavval főleg az apokarotinoidok reagáltak, ekkor közepes kitermeléssel kaptuk a dimereket (**136**) és trimereket (**137**).



Benzil-alkoholokkal valamivel rosszabb eredményt kaptunk, ekkor a dimerek és a trimerek rosszabb kitermeléssel keletkeztek és kizárólag apokarotinoidokból (**140** és **142**).



A trimerek érdekes propellerszerű struktúrával rendelkeznek, melynek karjai természetesen szabadon elfordulhatnak minden irányba (**138b**).

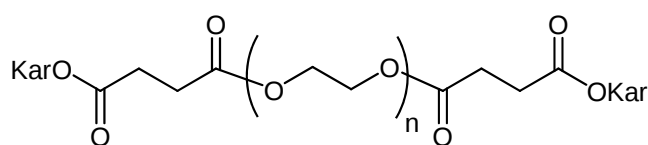
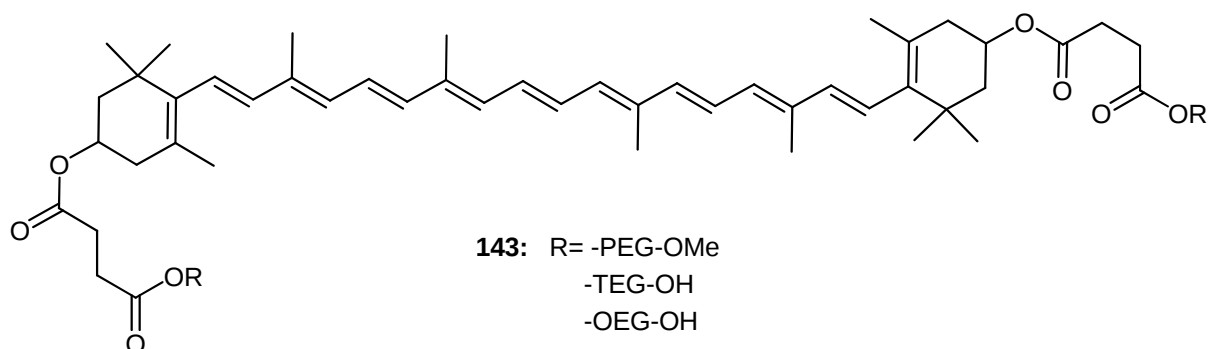


A karotinoidok hidrofób vegyületek és természetben általában észtereszített formában fordulnak elő. A terápiás alkalmazás megkönnyítésére szükség van olyan származékokra is, melyek bizonyos mértékben vízoldhatóak. Az irodalomban csak néhány példa található ilyen típusú származékokra: a lutein és az asztaxantin diszukcinát-, difoszfát- és aminosav-származékai.

A polietilén-glikolt (PEG) széleskörűen alkalmazzák hidrofób vegyületek – mint például karotinoidok szolubizálására, azonban nincs irodalmi adat karotinoidok PEG származékaira, amikor kémiai kötés is létesül a két vegyület között. Számos lehetőség kínálkozik, amellyel a részben, vagy teljesen funkcionizált PEG származékot a karotinoidhoz kapcsolhatjuk: észterezés, éterképzés, cikloaddíció (pl. „click”-reakció).

Eddigi munkánk során karotinoidok különböző hosszúságú PEG-gel észtereszített származékait állítottuk elő. Az alábbi ábrán a zeaxantin (**143**) példáján látható, hogy karotinoid szukcinátokat használtunk a reakciókhoz. Ezen vegyületek többé-kevésbé vízoldhatóak a PEG egységek számának és hosszának függvényében. Vizsgáltuk a vegyületek védőhatását oxidatív stresszben májsejtkultúrán és a karotinoidokhoz képest jelentős védőhatás növekedést találtunk.

A korábbi származékokhoz hasonló dimereket is előállítottunk (**144**), ahol az összekötő elem tetra- (TEG), vagy oktaetilén-glikol (OEG) volt. Ezeknek a dimereknek a vízdoldhatósága már lényegesen rosszabb volt.



144: n= 4 vagy 8 (TEG ill. OEG)

5. Szerves kémia és oktatás

Az elmúlt években sok helyen, sokféleképpen volt szerencsém szűkebb kutatási területemet, a szerves kémiát oktatni. Elmondható, hogy "nincsenek csodák", a különböző intézményekben és országokban hasonló módon történik az oktatás, a gyakorlatok igen fontos szerepet töltenek be a tananyag elmélyítésében, hiszen a kémiát könyvből megtanulni lehetetlen. Természetesen sokkal hálásabb feladat a vegyész vagy kémia szakos hallgatók oktatása, akik fogékonyabbak a szerves kémia részleteiben történő megismerésére. A gyógyszerész- és méginkább az orvostanhallgatóknál sokkal nehezebb egyes kémiai problémák, eljárások fontosságára hatékonyan felhívni a figyelmet. Mivel a hallgatók ingerküszöbe is magasabb lett, sok esetben le kell "nyűgözni" őket, hogy aktívan részt vegyenek a munkában és "mellesleg" az oktató által fontosnak tartott dolgokat is elsajátítsák.

Mindezen problémákhoz járul a felvett hallgatók hiányos előképzettsége, emiatt több helyen, így intézetünkben is szintrehozó, felzárkóztató kurzusok bevezetésére volt szükség (ilyen pl. az általam vezetett *General chemistry* orvostanhallgatóknak). Sok esetben a kémiával eddig csak érintőlegesen találkozó diák kerül hozzánk, akikkel előbb meg kell értetni és szerettetni a kémiai gondolkodásmódot, hogy motiválva legyenek a mélyebb ismertek elsajátítására. Az orvostanhallgatóknál elsősorban a bioaktív vegyületek és

gyógyszerként is használható anyagok kémiája tart érdeklődésre számot. Intézetünkben hagyománya is van az ezzel foglalkozó választható tantárgyaknak (Bioszervetlen kémia, Bioaktív vegyületek kémiája, Antibiotikumkémia), melyek továbbvitele és új tartalommal való feltöltése elsősorban szerves kémikus munkatársaimmal együtt a következő évek feladata lesz.

6. A tézisek témáihoz kapcsolódó közlemények

1. Pál Herczegh, Imre Kovács, Tamás Varga, Attila Agócs, Gyöngyi Erdősi, László Szilágyi, Ferenc Sztaricskai, Gabor Lukacs, Alain Olesker, Amaya Berecibar, ***Pure and Applied Chemistry***, 69 (1997), 519-524.
2. Attila Agócs, Attila Bényei, Gyula Batta and Pál Herczegh, ***Tetrahedron Asymmetry***, 9 (1998), 3359-3363.
3. Anikó Borbás, Gabriella Szabovik, Zsuzsa Antal, Pál Herczegh, Attila Agócs, András Lipták, ***Tetrahedron Letters***, 40 (1999), 3639-3642.
4. Attila Agócs, Pál Herczegh, Szilvia Jäger, László Kiss, Gyula Batta, ***Tetrahedron***, 57 (2001), 235-239.
5. Attila Agócs, Gyula Batta, Tamás Gunda, Árpád Kovács-Kulyassa, Pál Herczegh, ***Tetrahedron Asymmetry***, 12 (2001), 469-476.
6. Attila Agócs, Pál Herczegh, Ferenc Sztaricskai, Zsuzsa Gál, Ferenc Hernádi, ***Journal of Antibiotics***, 55 (2002), 524-527.
7. Karsten Krohn, Attila Agócs, Christiane Bäuerlein, ***Journal of Carbohydrate Chemistry***, 22 (2003), 579-592.
8. Attila Agócs, Gyula Batta, József Jekő, Pál Herczegh, ***Tetrahedron Asymmetry***, 15 (2004), 283-287.
9. Ana María Gómez,, Attila Agócs, Clara Uriel , José Cristóbal López, , Bert Fraser-Reid ***Chemical Communication***, 40 (2005) 5088-90.
10. Clara Uriel, Attila Agócs, José Cristóbal López, Ana María Gómez, Bert Fraser-Reid ***Organic Letters***, 7 (2005), 4899-4902.
11. Karsten Krohn, Attila Agócs ***Arkivoc***, 2007 (v), 46-49.
12. Magdolna Háda, Veronika Nagy, Anikó Takátsy, József Deli, Attila Agócs, ***Tetrahedron Letters***, 49 (2008), 3524-3526.
13. Magdolna Háda, Veronika Nagy, Gergely Gulyás-Fekete, József Deli, Attila Agócs, ***Helvetica Chimica Acta*** (2010), megjelenés alatt.