

I. Bevezetés

A támogatott kutatások célja a biológiai szabályozási és felismerési folyamatokban fontos szerepet játszó, negatív töltésű szénhidrátok szulfonsav-tartalmú analóg vegyületeinek előállítása volt. E származékok előállítása során a természetes szacharidokban található szulfátészter vagy N-acetil-neuraminsav molekularészlet helyén szulfonsav- vagy metilénszulfonsav-csoportot kívántunk a szénhidrát-vázhoz kapcsolni. Korábban nem volt arra példa, hogy szénhidrát mimetikumokban karboxil- vagy szulfátészter csoportokat szulfonsav csoportokkal helyettesítsenek.

Mivel a kutatások kezdetekor kizárólag monoszacharidok 6-szulfonsav származékának szintézise volt ismert az irodalomban, ezért első feladatunk annak feltérképezése volt, hogyan lehet szénhidrátokon szekunder helyzetű szulfonsavcsoportokat kialakítani. Az alábbi módszereket próbáltuk ki szekunder szulfonsavak előállítására:

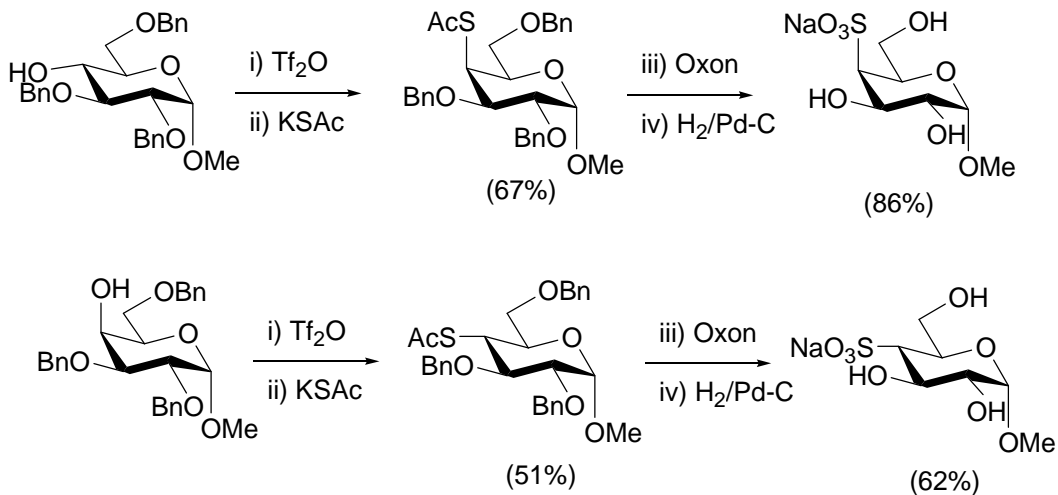
- 1.) Tiocsoport bevitele nukleofil szubsztitúcióval, majd oxidáció szulfonsavvá
- 2.) Etilmetánszulfonsavból generált karbanion addíciója karbonilra
- 3.) Tioladdíció és oxidáció vagy hidrogénszulfid anion addíciója exometilénre
- 4.) C-2 helyzetben távozó csoportot tartalmazó tioglikozidok reakciója O-, S- és azid-nukleofilekkel, és a képződő 2-tio származék oxidációja.

A mimetikumok szintézisét és az elvégzett biológiai vizsgálatokat az alkalmazott módszerek szerint csoportosítva ismertetem

II. Szintézis és biológiai vizsgálatok

II. 2. Tiocsoport bevitele nukleofil szubsztitúcióval

A szulfonsavcsoport kialakítására legegyszerűbbnek tűnt a megfelelő helyzetben kialakított távozó csoport nukleofil cseréje tioláttal, majd a képződő tiocsoport oxidációja szulfonsavvá. Mivel a tiocsoport bevitele inverzióval jár, a módszer használhatósága korlátozott. Megfelelően védett galaktozidból glükóz 4-szulfonsav, glükozidból galaktóz-4-szulfonsav származékokat állítottunk elő. A KSAc nukleofillel kialakított tioacetil csoportot savas közegben közvetlenül szulfonsavvá oxidáltuk oxonnal vagy hidrogén-peroxiddal.



1. ábra

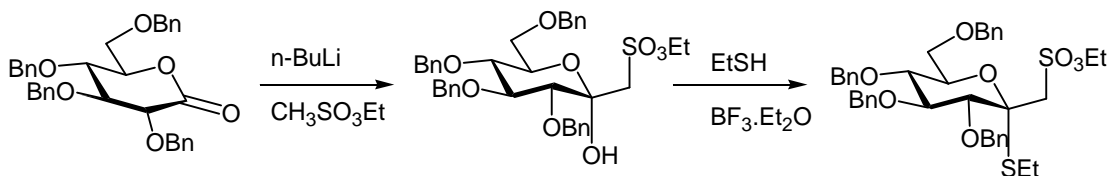
Mimetikumok szintézisére nem használtuk fel e módszert, de alkalmas volt az oxidáció reakciókörülményeinek optimalálására.

II.2. Etilmetánszulfonsavból generált karbanion addíciójával megvalósult szintézisek

A *Helicobacter pylori* ligandum-analógjainak előállítása

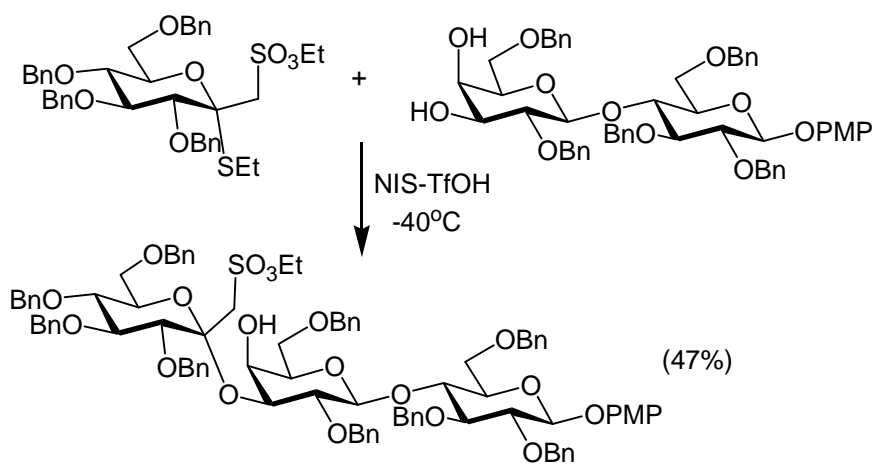
A gyomorfekély és a gyomorrák kialakulásáért felelős baktérium, a *Helicobacter pylori*, különböző szénhidrát egységek felismerése, és a hozzájuk történő asszociáció révén képes a nyálkahártyán megkötődni. A *Helicobacter pylori* receptorának liganduma, többek között, a 3'-szialilezett és a 3'-szulfatált laktóz. E molekulák megfelelő mimetikumai alkalmasak lehetnek - pl. táplálékkiegészítőként alkalmazva - a gyomorfekély kezelésére. Di és triszacharid mimetikumokat állítottunk elő karbanion addíciós reakciók felhasználásával

Az alábbi reakcióséma szerint, védett glükonsav-laktonból karbanion addíciót követő tioglikozid képzéssel glikozil donort állítottunk elő:



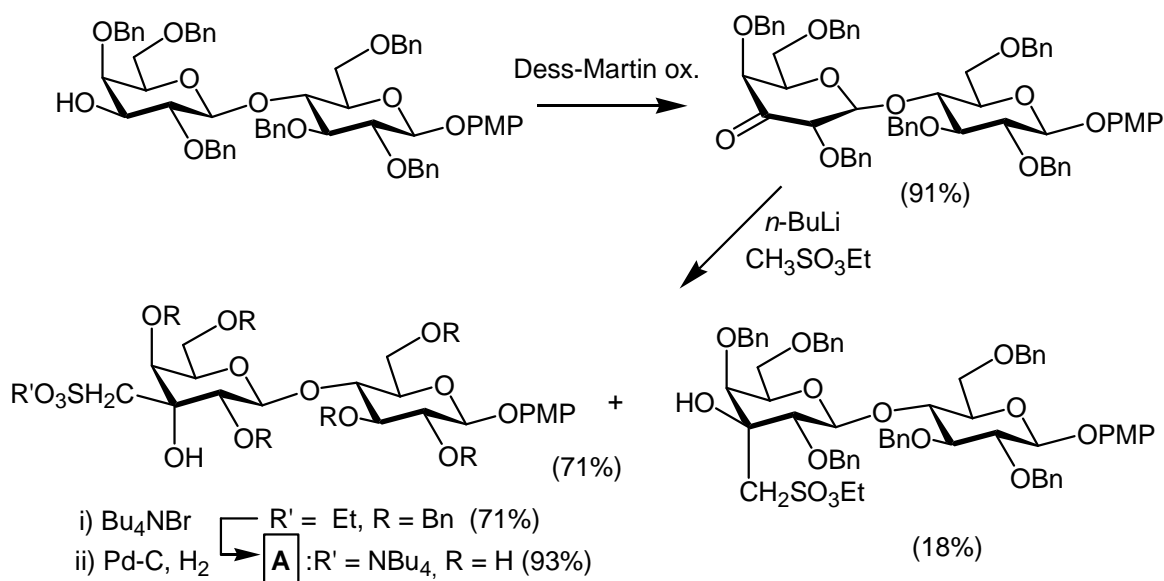
2. ábra

A tiglikozid donor felhasználásával az alábbi triszacharid mimetikumot szintetizáltuk:



3. ábra

Az etilmetánszulfonátból generált karbaniont a megfelelő ulózra addicionáltatva közvetlenül vittünk be metilénszulfonsav csoportot a megfelelő helyzetbe. Laktózból kiindulva 3'-metilénszulfonsav diszacharid-mimetikumot preparáltunk:

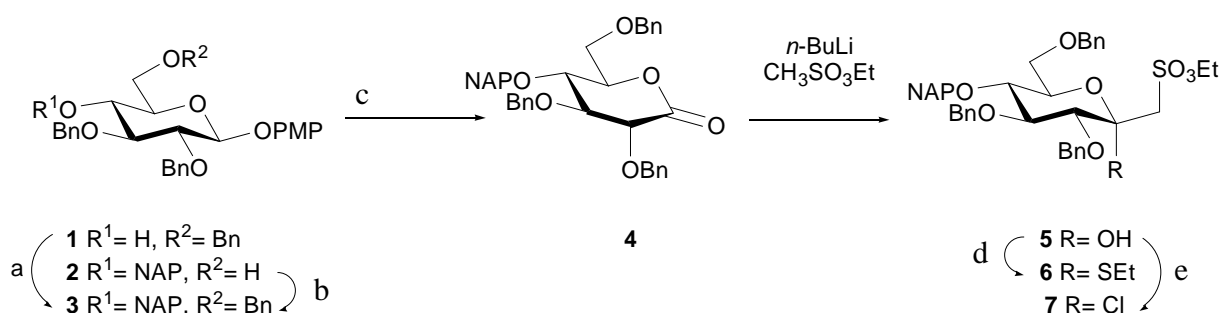


4. ábra

E munka keretében szulfonsavtartamú mono-, di- és triszacharidokat küldtünk Tucsonba (USA), a Cancer Research Centerbe, biológiai vizsgálatok céljából. Az előzetes adhéziós kísérletek alapján az A vegyületet ígéretesnek találták, nagyobb mennyiségben előállítottuk, a megismételt vizsgálatok során azonban a vegyület nem mutatott értékelhető antimetasztikus hatást.

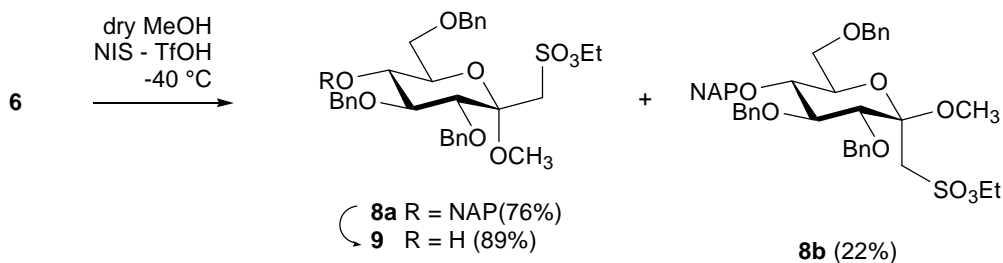
Poliszulfonilezett maltooligomerek szintézisére

Ismeretes a poliszulfatált maltooligomerek jelentős antikoaguláns és antimetasztikus hatása, és várható, hogy a poliszulfonilezett maltooligomerek is rendelkeznek ilyen hatással. A poliszulfonilezett maltooligomereket a karbanionaddícióval előállítható 1-dezoxi-1-etoxiszulfonilmetil-heptulóz donorral kívántuk előállítani. A megfelelő származékok szintézisékor a szulfonsav csoport kialakításán kívül az (1→4)- α glükozidos kötés szelektív kialakítása is komoly kihívás. A 4-es hidroxil szelektív védelmét 2-naftilmetilcsoport (NAP) alkalmazásával tudtuk megoldani. A megfelelő glikozildonor szintézise az alábbi módon történt:



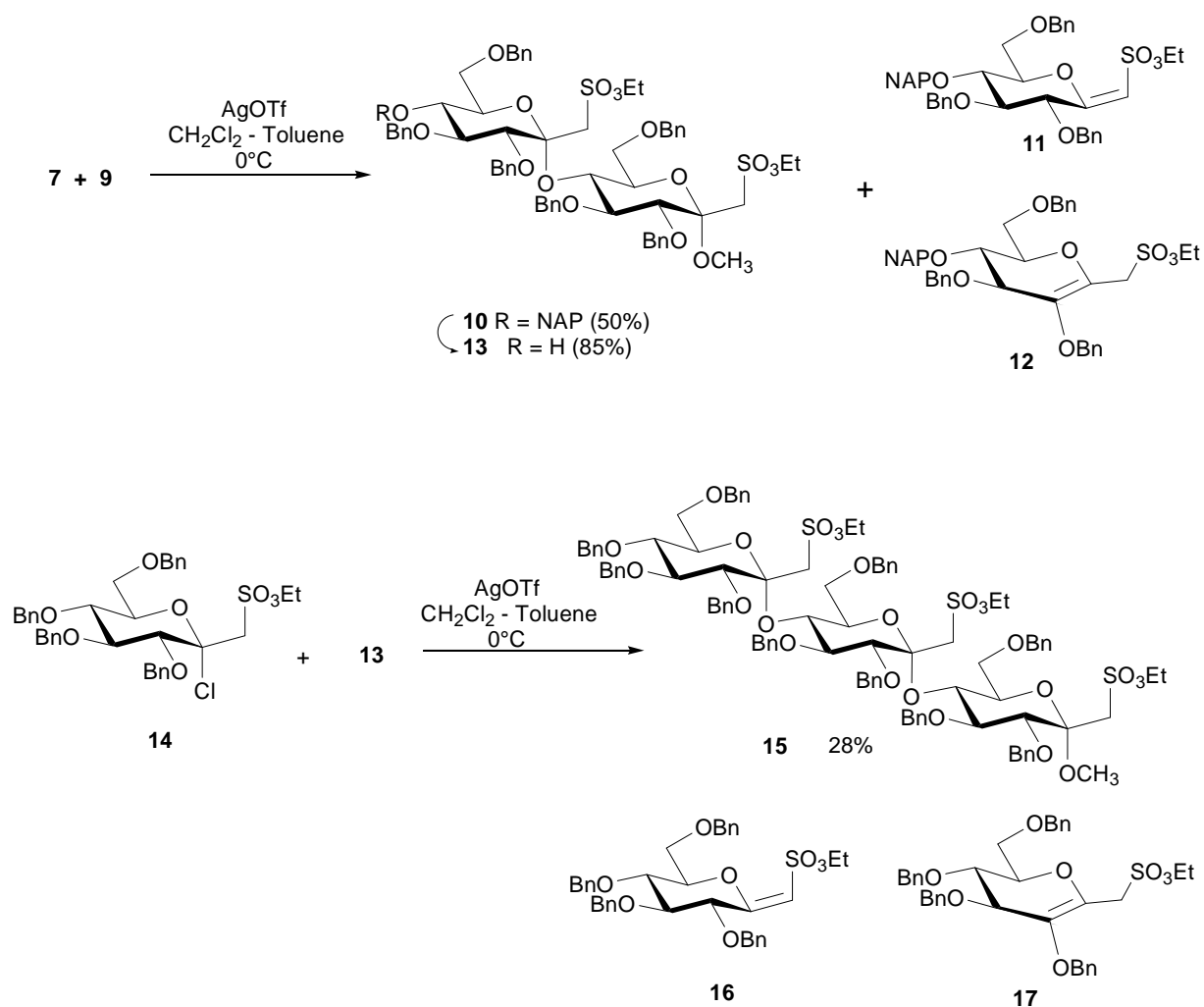
5. ábra

Mivel korábbi tapasztalataink szerint tioglikozid donorokkal történő reakciókban jelentős mennyiségű eliminációs melléktermék képződik, előállítottuk a megfelelő fluorid-, klorid- és bromid donorokat is, és megvizsgáltuk donor tulajdonságaikat. Magasabb tagszámú oligoszacharidok szintézisére csak a klorid (**7**) bizonyult alkalmasnak. A **6** tioglikozidból előállítottuk a **8a** metilglikozidot, majd akceptorrá alakítottuk:



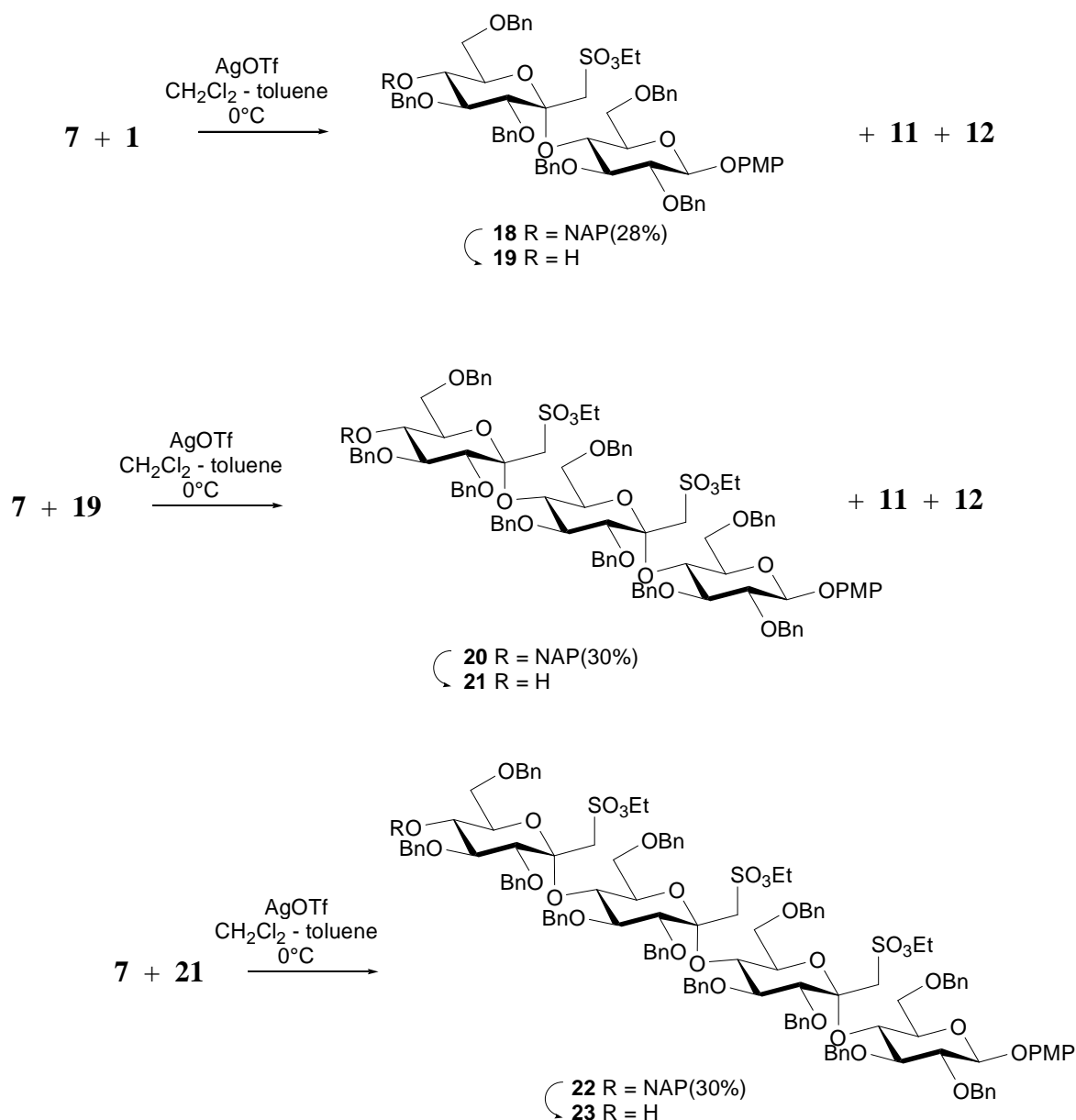
6. ábra

Az oligoszacharidok szintézisét a **7** klórcukorral valósítottuk meg:



7. ábra

A fenti iterációs módszerrel egy másik maltooligomer típusú sorozatot is előállítottunk, a különbséget az jelenti, hogy az első cukoregységen nincs szulfonsav csoport (9. ábra). A szintézist tetraszacharidig valósítottuk meg, de már előállítottuk az akceptorként felhasználható tetraszacharidot (**23**), amelyből pentaszacharidot kívánunk szintetizálni.

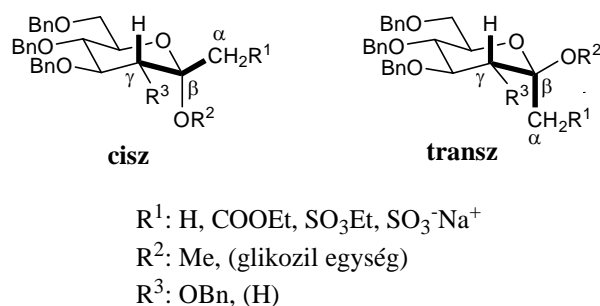


8. ábra

A fenti oligoszacharidok esetében a védőcsoport eltávolítás folyamatban van. A szabad származékok antikoaguláns és amiláz inhibitor hatását a közeljövőben kívánjuk megvizsgálatni.

A munka során problémát jelentett az anomer konfiguráció meghatározása. Az anomer pozícióban szulfonometil elágazást tartalmazó glikozidok anomer konfigurációját korábbi munkáink során a 3JC₁,H₃ három kötésen át ható csatolási állandó kimérésével határoztuk meg. Ez a módszer az irodalomban általánosan elterjedt ketopiranozil-glikozidok anomer konfigurációjának meghatározására, mivel a 3JC₁,H értéke, a 3JH₁,H csatolási állandóhoz

hasonlóan, a diédes szög függvényében változik, cisz elrendezésnél kis, transz elrendezésnél nagy csatolást eredményez. Néhány esetben azonban ellentmondást tapasztaltunk a diédes szög alapján várható, és a mért csatolási állandó között. Szisztematikus vizsgálatokba kezdtünk annak megállapítására, hogy egyértelműen meghatározható-e a ketozidok glikozidos kötésének térállása az NMR adatok ismeretében. Anomer helyzetben különböző elágazásokat tartalmazó ketopiranozidok alfa- és beta-glikozidjait állítottuk elő:

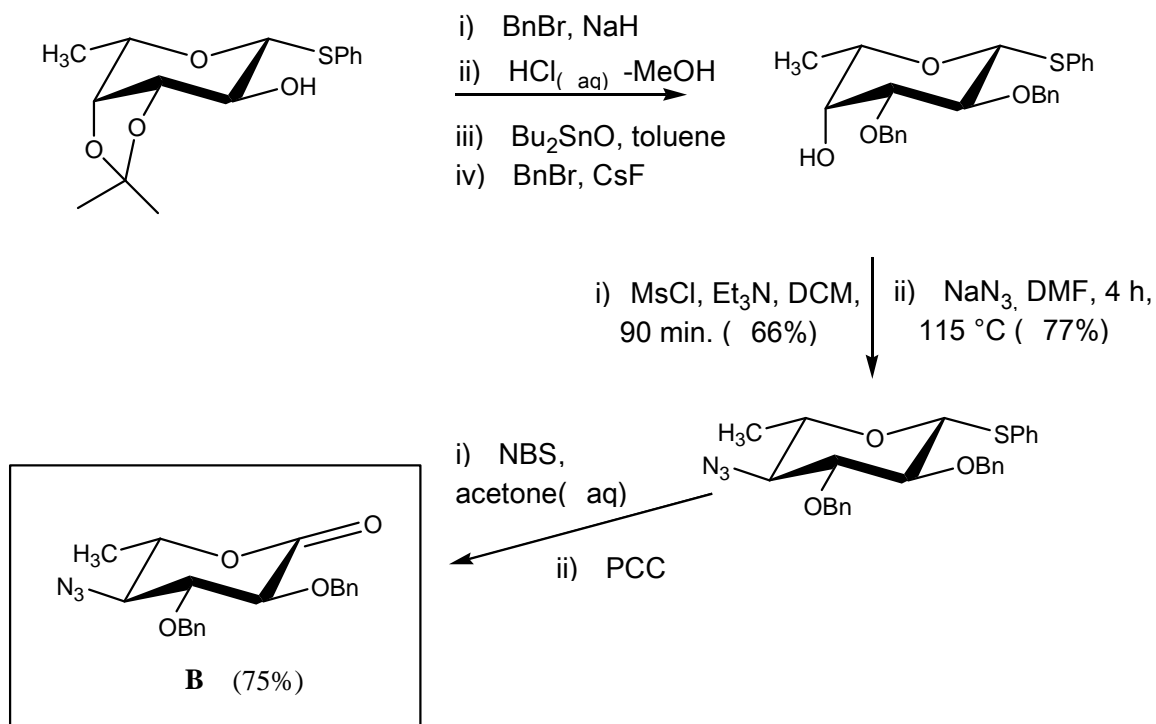


9. ábra

NMR és röntgendiffrakciós mérésekkel meghatároztuk a szerkezeteket. Megállapítottuk, hogy a $^3J_{C,H}$ értékek csak korlátozottan használhatók a C1-H3 torziós szög meghatározására, anomer párok esetében azonban egyértelmű hozzárendelést tesznek lehetővé.

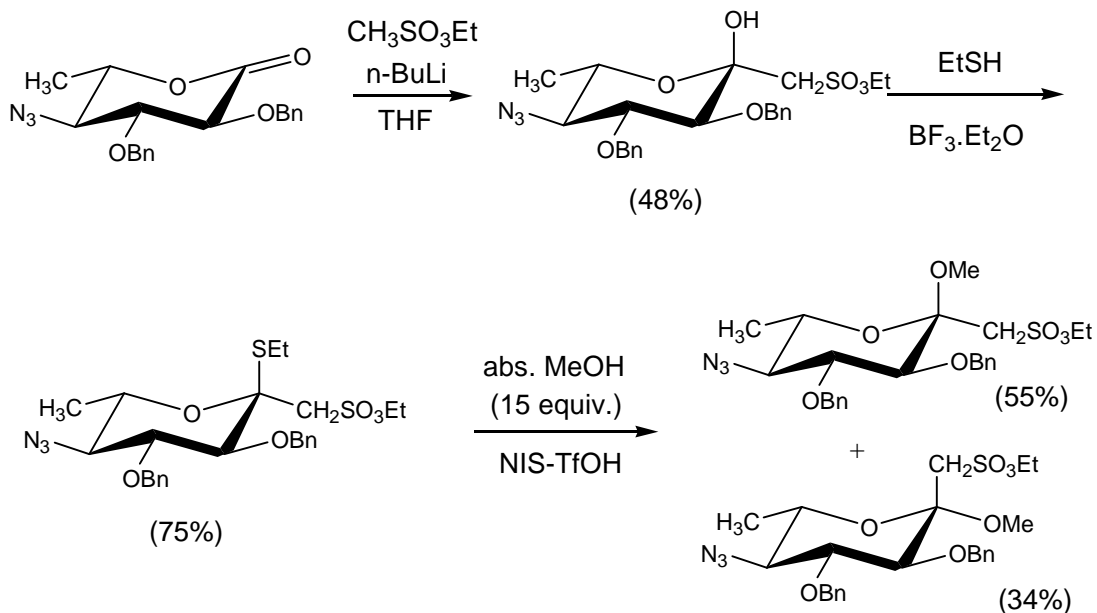
N-acetilneuraminsav szulfonsav-anlogonok előállítása

L-Fukózból képezett laktonból karbanion addícióval az N-acetilneuraminsav néhány szulfonsav anlogonját kívántuk előállítani. A megfelelő lakton (B) szintézise az alábbi módon történt:



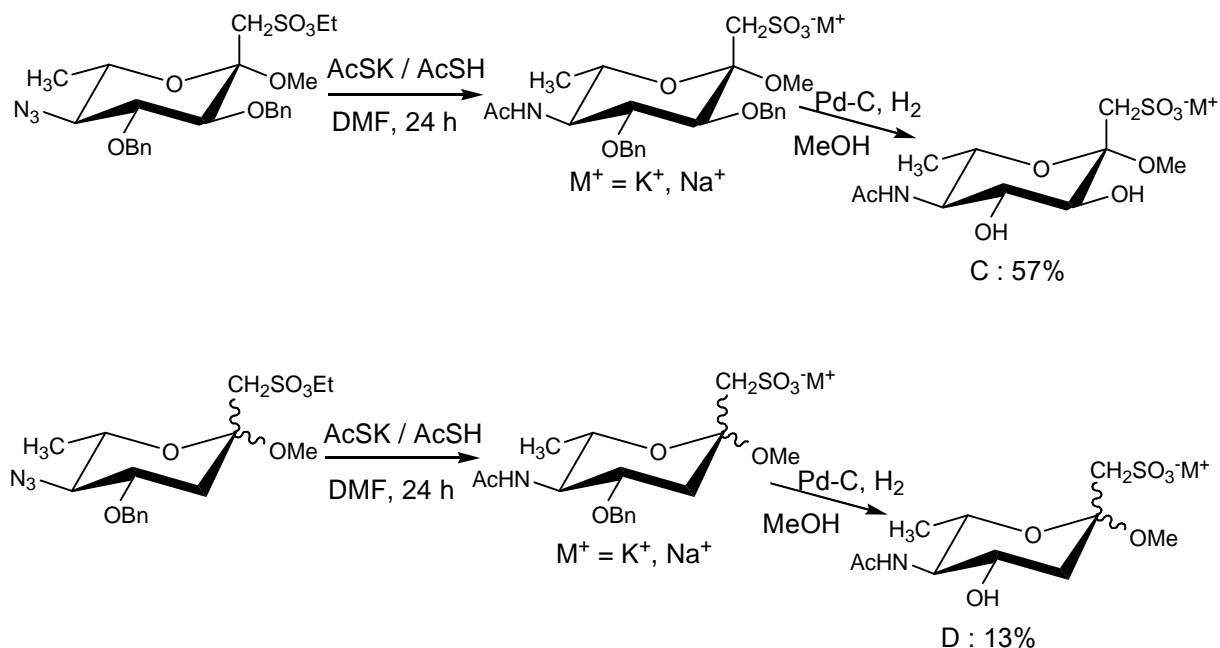
10. ábra

Az anomer szulfonometil-csoportot a már ismert módon alakítottuk ki, majd metil-glikozidokat képeztünk :



11. ábra

Az acetamid csoport kialakítása és a védőcsoportok eltávolítása után kaptuk a **C** és **D** végtermékeket:

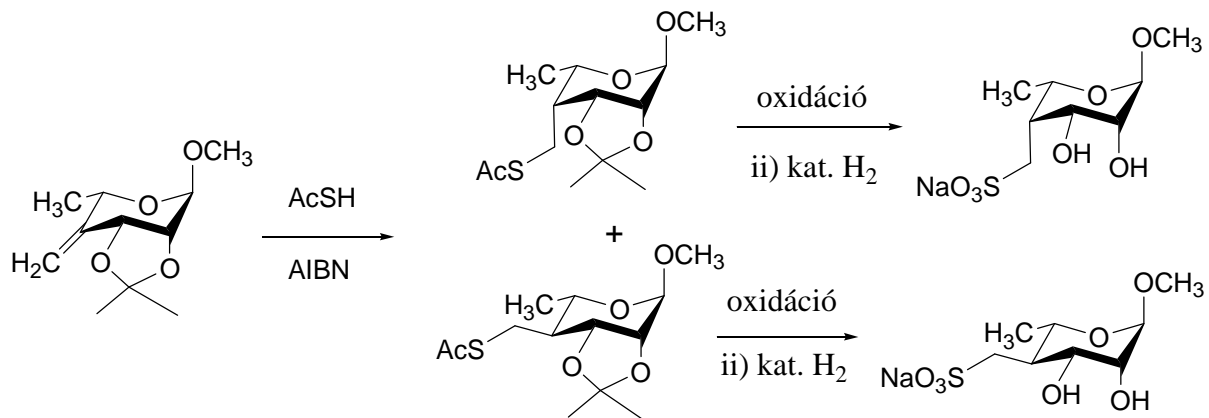


A származékok feltételezett neuraminidázgátló hatását *Clostridium perfringens* és *Vibrio Cholerae* eredetű neuraminidázon egyaránt teszteltük, szubsztrátként fetuint alkalmazva, UV-fotometriás detektálással. A mérések azonban nem voltak reprodukálhatók, ezért a vizsgálatokat megismételtük szubsztrátumként az N-acetil-neuraminsav 4-metilumbelliferil-glikozidját alkalmazva, fluoreszcens-detektálással. A **D** jelű vegyület csekély (~30%) gátlást mutatott 3mM-os koncentrációban. Jelentékenyebb gátlás eléréséhez tervezzük átmeneti állapot-analóg vegyületek előállítását.

III. Tioladdíció és oxidáció vagy hidrogénszulfid anion addíciója exometilénre

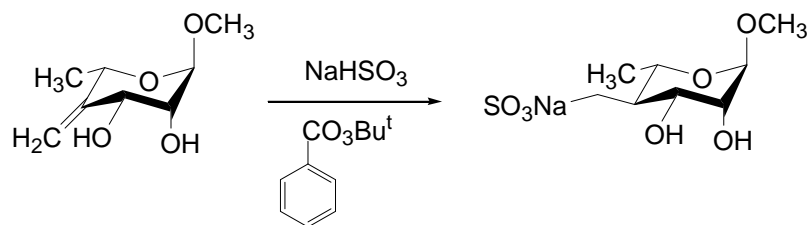
A *Mycobacterium avium* felületi antigénjében található szulfát-észter tartalmú szacharid egység szulfonsav analógjainak szintézise

A *M. avium* felületi antigénje egy glikopeptidolipid, amely tartalmaz egy 4-O-szulfatált 6-dezoxi-L-talopiranozid egységet. A 4-dezoxi-4-metilénszulfo-talopiranozid analógot kétféle úton is előállítottuk a megfelelő exometilén származékokból. A gyökös addíció és oxidáció talo- és ramnoszármazékok keverékét adta:



13. ábra

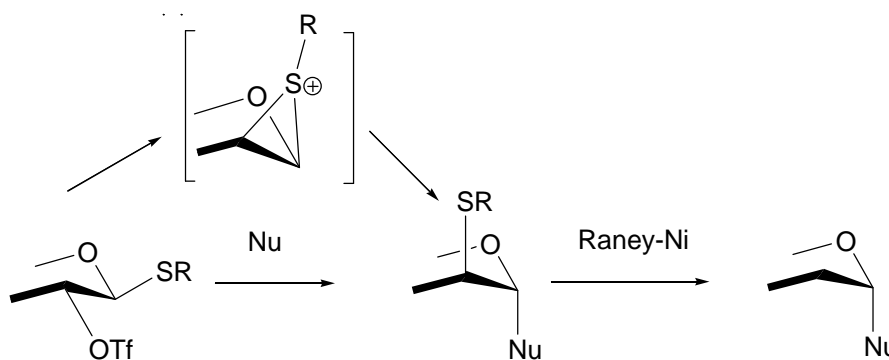
Az exometilénre történő hidrogénszulfít-addíció egy lépésben, sztereoszelektív módon eredményezte a célvegyületet:



14. ábra

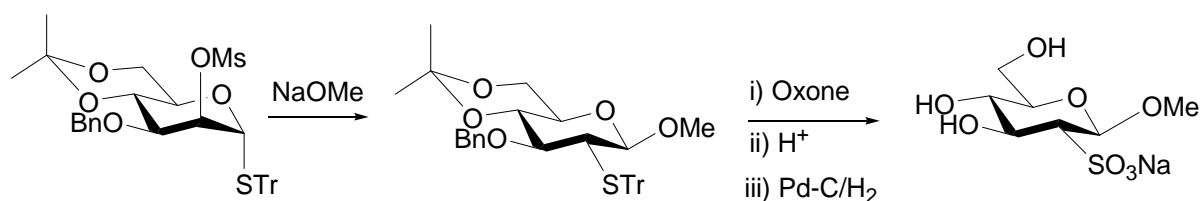
IV. Tioglikozidok reakciója O-, S- és azid-nukleofilekkel

2-Dezoxi cukrok előállításának egyik ismert módja az alábbi 1,2-tiovándorlási reakción alapul:



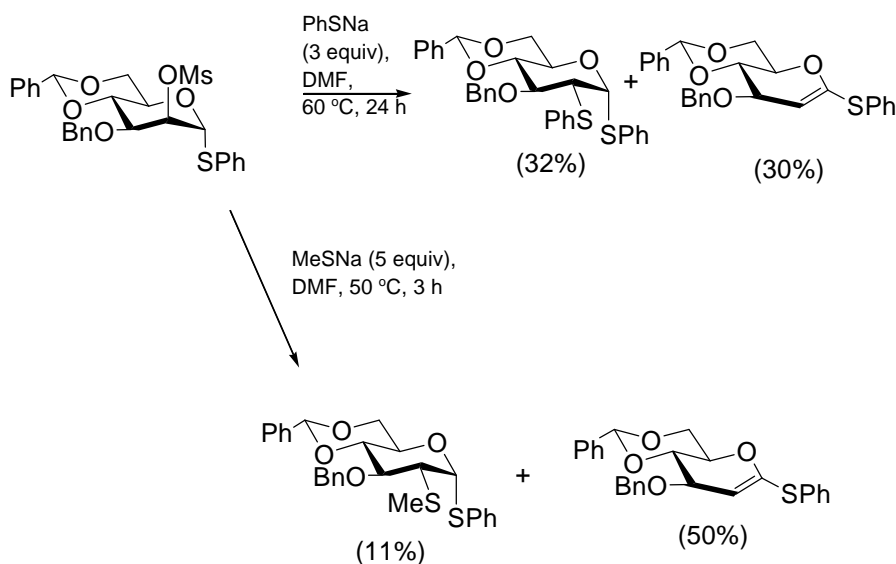
15. ábra

E reakciót használtuk fel savérzékeny tioglikozidok 2-metil/tozil származékaiból kiindulva C-szulfonsavak előállítására. Megfelelő O- és azid-nukleofileket használva e vegyületek episzulfónium-ionon keresztül 2-tio-származékká alakulnak át, amelyek savérzékeny tiol-védőcsoportjuknak köszönhetően közvetlenül, a védőcsoport eltávolítása nélkül, 2-szulfonsavvá oxidálhatók. Számos savérzékeny tióvédőcsoportot használtunk 1-tiogliko- és mannopiranozidokból kiindulva, és vizsgáltuk a reakciók sztereokémiai lefutását az oldószer, a hőmérséklet és a reagens függvényében. Mannozidok esetében pl. a tritiltio (STr) aglikon eredményezte a legjobb hozamot:



16. ábra

Legújabb vizsgálatainkat tionukleofilekkel végeztük. Ekkor azonban a C-2-re történő SN2 reakció került előtérbe és, bár szerény hozammal, 1,2-cisz-ditio származékokat sikerült előállítani:



17. ábra

Ezt a reakciótípust az alacsony hozamok miatt eddi nem alkalmaztuk mimetikumok előállítására