

Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei

Theses of doctoral (PhD) dissertation

**Szénhidrátok acetál származékainak, valamint
antibiotikum-származékok cikloaddíciós reakcióinak
kvantumkémiai és dinamikai vizsgálata**

**Quantum chemical and dynamic investigations on acetal
derivatives of carbohydrates and cycloaddition reactions of
antibiotic derivatives**

Mándi Attila

Témavezető/Supervisor: Prof. Dr. Lipták András



DEBRECENI EGYETEM
Természettudományi Doktori Tanács
Kémia Doktori Iskola
Debrecen, 2011.

Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei

Theses of doctoral (PhD) dissertation

**Szénhidrátok acetál származékainak, valamint
antibiotikum-származékok cikloaddíciós reakcióinak
kvantumkémiai és dinamikai vizsgálata**

**Quantum chemical and dynamic investigations on acetal
derivatives of carbohydrates and cycloaddition reactions of
antibiotic derivatives**

Mándi Attila

Témavezető/Supervisor: Prof. Dr. Lipták András



DEBRECENI EGYETEM
Természettudományi Doktori Tanács
Kémia Doktori Iskola
Debrecen, 2011.

1. Az értekezés előzményei és célkitűzései

A ciklikus acetálok parciális hidrogenolízise nagy jelentőséggel bír a szénhidrátkémiában, ugyanis lehetővé teszi poliol rendszerek szelektív védelmét. A legelső és legismertebb példa a 4,6-*O*-benzilidén acetáloké, melyek egy elektrofilből és egy hidrid donorból álló reagenssel szelektíven nyithatók 4-*O*- ill. 6-*O*-benzil étereket eredményező reakciókban. Kevés olyan cikk jelent meg mindeddig azonban, mely a ciklikus acetálokon végzett parciális hidrogenolízis kinetikájával foglalkozna, vagy az adott reakciókat elméleti számításokkal kísérelné meg leírni, s a meglévő cikkek is nagyrészt a benzilidén-acetálok borános gyűrűnyitására korlátozódnak.

A 2,3-*O*-difenilmetilén-acetálok parciális hidrogenolízisét Hajkó és munkatársai LAH és AlCl_3 1 : 1 arányú elegyével (vagyis klóralánnal) hajtották végre éter/diklórmétán 1 : 1 oldószerben. Míg a 4-dezoxi és a 4-*O*-szubsztituált származékokból 2-*O*- és 3-*O*-difenilmetil éterek is képződnek, s az egyes reakciók főtermékét utóbbiak képezik, addig a szabad 4-es OH-val rendelkező származék esetén kizárólag 2-*O*-difenilmetil éter keletkezik. Ez utóbbi esetet magyarázandó, született ugyan egy mechanizmusvázlat, azonban ez nem adta meg az egyes elemi lépések sorrendjét, s minthogy a többi esetre nem volt kiterjeszthető, azok regio szelektivitását a szerzők a 2-es és 3-as oxigén elektronsűrűsége alapján igyekeztek értelmezni.

Elméleti számításokon és kinetikai méréseken alapuló vizsgálatokat végezve szerettünk volna a 4-es helyzetben szabad OH-t tartalmazó származék reakciójára egy, a korábbiaknál pontosabb mechanizmust megadni, illetve vizsgálni kívántuk, valóban magyarázható-e főként elektronsűrűségi alapon a különböző származékoknál tapasztalt eltérő szelektivitás.

Az Ellervik által a közelmúltban védőcsoportként alkalmazott 9-antraldehyd-acetál a benzilidén- és a difenilmetilén-acetálhoz hasonlóan szintén szelektíven nyitható, benzilidén acetálok mellől pedig szelektíven eltávolítható. Jól kristályosodó hajlama és erős UV-elnyelése okot adhat a védőcsoport szélesebb körű használatára.

Az 1930-as évek óta köztudott, hogy a 4,6-*O*-benzilidén-acetátok katalitikus hidrogénezés révén 4,6-diolokká redukálhatók. Azonban 4,6-*O*-(9'-antraceni)metilén-acetáttal védett glükóz származékokat katalitikus hidrogénezésnek alávetve meglepő módon nem a megfelelő diolok, hanem dihidroantraceni származékok keletkeztek, melyek hidrogén atmoszférában és Pd katalizátor jelenlétében is igen stabilnak mutatkoztak.

A reakcióban keletkező metil-4,6-*O*-(9',10'-dihidro-9'-antraceni)metilén-2,3-di-*O*-metil- α -D-glükopiranozid szerkezetét nem csak NMR spektroszkópiával és röntgenkristallográfiával, hanem magas hőmérsékletű dinamikával és DFT optimalásokkal is vizsgáltuk annak érdekében, hogy megismerjük az új védőcsoport alacsony energiájú konformációit, és magyarázatot kapjunk a szokatlan stabilitásra.

A perikozinok az *Aplysia kurodai* bélrendszerében élő *Periconia byssoides* nevű gomba által termelt antibiotikumok, melyek az elvégzett biológiai vizsgálatok alapján *in vitro* tumorelleses, a perikozin A pedig *in vivo* tumorelleses hatást is mutat.

Metil-galláttól kiindulva egy triciklusos perikozin-analógot terveztünk előállítani, ahol a triciklus kialakítását Diels-Alder cikloaddícióval kívántuk megvalósítani. A dién komplex volta (elektronküldő és elektronszívó csoportot egyszerre tartalmaz) és a reakció nagyfokú regio- és diasztereo-szelektivitása arra ösztönzött minket, hogy a szintézis kulcslépését jelentő reakciót elméleti módszerekkel is tanulmányozzuk.

A polién makrolidok fontos szerepet játszanak a gombás fertőzések gyógyszeres kezelésében. A makrolid láncban megtalálható (*E*)-konfigurációjú kettős kötések következtében a gyűrű bot alakot vesz fel, ami feltételezhetően fontos szerepet játszik a szterinekhez való kötődésben és a gombaellenes hatás kifejtésében. Vizsgálatainkhoz két makrolid antibiotikumot, a flavofungint és a natamicint választottuk ki, s ezeknek egy aza-dienofillel adott Diels-Alder cikloaddícióját és a keletkező adduktok konformációváltozásának gombaellenes aktivitásra gyakorolt hatását vizsgáltuk.

Az irodalomban csak néhány példát találunk poliéneken végzett Diels-Alder reakciókra. Ilyenkor az adott vegyületeket gyakorlatilag szubsztituált diéneknak tekinthetjük, ahol a regio- és sztereoselektivitás a szubsztituensek függvénye. Az egyik legmegalapozottabb elméleti munkát Turner és munkatársai végezték, akik azt találták, hogy a dienofil mindig a polién szélső dién egységével reagál. Nem találtunk azonban olyan példát, ahol a vizsgált polién egy gyűrű része lenne.

Mind a natamicin, mind pedig a flavofungin a 4-fenil-1,2,4-triazolin-3,5-dionnal végrehajtott cikloaddíciós reakcióban egyetlen terméket eredményezett, a keletkezett termékek *Candida* törzsön mért antifungális aktivitása pedig elmaradt a kiindulási vegyületekéhez képest, s ez a különbség főként natamicin esetén volt jelentős.

Molekuladinamikai és kvantumkémiái számítások segítségével szeretnénk volna magyarázatot kapni a kísérletek során tapasztalt nagyfokú regioszelektivitásra, és az antifungális aktivitás elvesztésére. Továbbá a korábban már leírt, a karbonil-csoport poliének cikloaddíciós reakciói esetén tapasztalt irányító hatását szofisztikált módszerekkel is szeretnénk volna megvizsgálni.

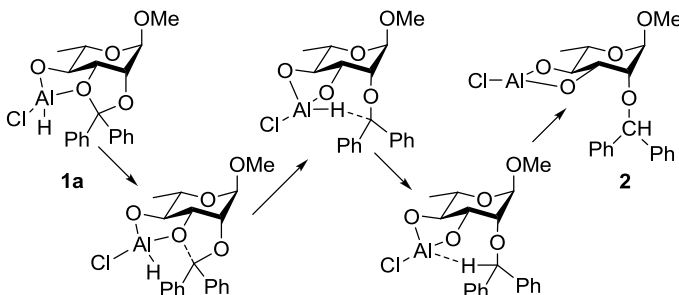
2. Az alkalmazott vizsgálati módszerek

A kvantumkémiái számítások (optimalizációk, TS- és IRC számítások) nagy részét a Gaussian 03 programcsomaggal végeztük. A szemiempirikus szintű optimalizációk és átmeneti állapotok számításához ezen kívül a MOPAC programcsomagot is felhasználtuk. Az állandó, magas hőmérsékleten végzett molekuladinamikai számításokhoz pedig az AMBER 10 programcsomagot alkalmaztuk. A kinetikai mérések során a kiindulási anyag és a termék koncentrációjának változását HPLC-s mérésekkel követtük.

3. Az értekezés új tudományos eredményei

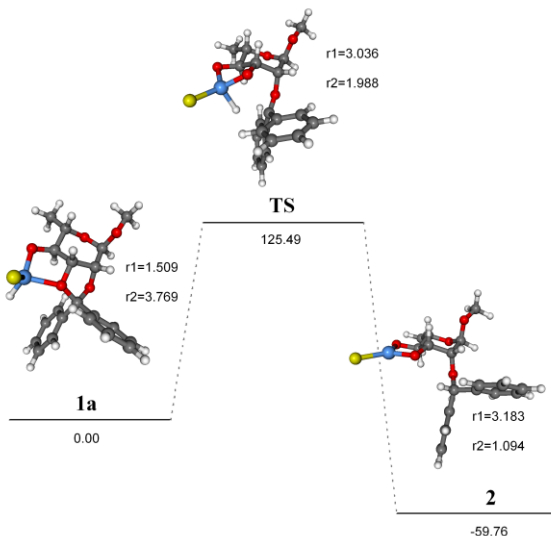
3.1. Dioxolán típusú acetálok klóralános gyűrűnyitásának vizsgálata

A LAH/ AlCl_3 reagenssel végrehajtott gyűrűnyitás mechanizmusának tisztázása érdekében végzett kvantumkémiai számítások eredményeként metil-2,3-O-difenilmetilén- α -L-ramnopiranozid esetén egy, a korábbinál jóval pontosabb mechanizmus-javaslattal álltunk elő, mely megadja a parciális hidrogenolízis elemi lépéseinek sorrendjét. A számítások alapján az alumínium spontán, egy szinte teljes mértékben kialakult egyszeres kötést létrehozva koordinálódik a 3-as oxigénhez, ami valószínűleg hard karakterének tudható be. Ez a koordináció meggyengíti az $\text{O}_{\text{acetálos}}$ kötést. Az így kialakult speciesz a reakció stabil intermedierjének tekinthető (**1a**). A C-O kötés hasadása és a C-H kötés kialakulása egy erősen aszinkron folyamat során megy végbe, melynek első felében a C-O kötés nyúlása, a második felében pedig a C-H kötés rövidülése a domináns.



1. ábra A számítások alapján valószínűsíthető mechanizmus, mely egyetlen, erősen aszinkron, egy átmeneti állapotot tartalmazó lépésként értelmezi a gyűrűfelfnyílást és a hidrid donációt

A reakció aktiválási energiája a DFT számítások alapján 125-130 kJ/mol körül van, míg a HF, MP2 és ONIOM szinteken számolt aktiválási energiák ennél valamivel nagyobbak adódtak.



2. ábra A reakció energiaprofilja B3LYP/6-311+G(d,p) szinten; r_1 = C_{acetálos}-O3 távolság, r_2 = C_{acetálos}-H távolság. Az energiák kJ/mol-ban, a távolságok pedig Å-ben értendők

A számítási eredmények alátámasztása érdekében kinetikai vizsgálatokat is végeztünk, melyek során kísérletesen is meghatároztuk a reakció termodinamikai paramétereit. A metil-2,3-O-difenilmetilén- α -L-ramnopiranozid, LAH és AlCl_3 között lejátszódó reakciót különböző hőmérsékleteken többször megismételtük. A koncentrációváltozások alapján elsőrendű kinetikát feltételezve meghatároztuk a sebességi állandókat és ebből az Eyring-Polányi összefüggést felhasználva az aktiválási szabadentalpia max. 100 kJ/mol körüli értéknek adódott.

Nem szabad elfelejtenünk azonban, hogy a gyakorlatban az egyes reakciólépéseket nem tudjuk különválasztani, így a mért aktiválási energia négy reakció összege, mely magában foglalja az alkoxi-alumínium-hidrid AlCl_3 -dal történő reakcióját, a feleslegben maradt LAH és AlCl_3 közti többszörös egyensúlyi reakciót, az általunk számított reakciót és az acetál gyűrű teljes hidrolízisét, mely metil- α -L-ramnopiranozidot eredményez.

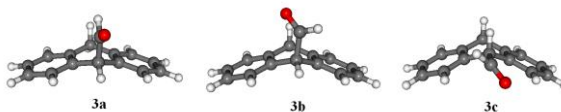
A kísérleti és számított aktiválási energiák különbsége részben abból is adódhat, hogy az elméleti számításoknál nem vettük figyelembe az oldószer hatását,

illetve hogy a reakció erősen aszimmetrikus volta miatt az alagúthatás valószínűleg nem elhanyagolható mértékű.

A metil-2,3-*O*-difenilmetilén- α -L-ramnopiranozid származékokon és a különböző 2,3-*O*-acetálokon végzett számítások arra engednek következtetni, hogy a korábbi feltételezésekkel ellentétben az egyes oxigének parciális negatív töltése nem meghatározó jelentőségű a dioxolán típusú 2,3-*O*-acetál rendszerek parciális hidrogenolízise során a keletkező termék szempontjából.

3.2. Parciálisan hidrogénezett (9-antracenil)metilén-acetálok és (9-antracenil)metil-éterek konformációs vizsgálata

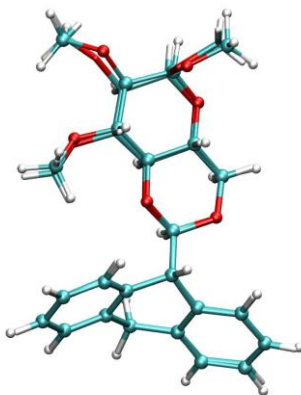
A glükózszármazék tanulmányozása előtt először egy egyszerű aldehidet (a 9,10-dihidro-9-antraldehydet, **3**) választottunk modellvegyületnek, melyen konstans hőmérsékletű (1200 K) molekuladinamikai számításokat végeztünk. A dinamika során vett minták mindegyikét GAFF-fal optimáltuk, majd az így kapott geometriákat energia és RMSD alapján klasztereztük, az egyes klaszterek legalacsonyabb energiájú képviselőit pedig B3LYP/6-31G(d) szinten újraoptimáltuk. Meglepetésünkre az axiális aldehid-csoport energetikailag jóval kedvezőbbnek mutatkozott az ekvatoriálishoz képest.



3. ábra A 9,10-dihidro-9-antraldehyd esetén talált 3 stabil konformer

Ugyanezeket a számításokat elvégeztük metil-4,6-*O*-(9',10'-dihidro-9'-antracenil)metilén-2,3-di-*O*-metil- α -D-glükopiranozidon (**4**) is. Nem meglepő módon a parciálisan hidrogénezett antracenilmetilén csoport az ekvatoriális helyzetet preferálja, azonban az acetálos szén a modell vegyülethez hasonlóan axiális helyzetben van a dihidroantracenil gyűrűhöz képest. A vegyület szerkezetét röntgendiffrakcióval is meghatároztuk, s kiderült, hogy az szinte teljesen azonos a

GAFF által legalacsonyabb energiájúnak adódó konformerrel (**4a**), s ez a konformer DFT energiája alapján is magasan populált.

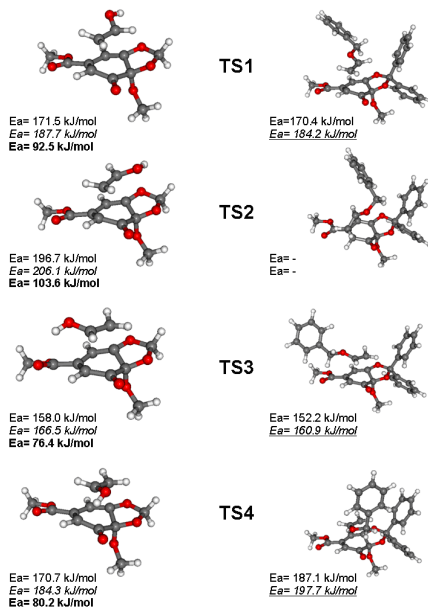


4. ábra A röntgenszerkezet (**4**) és a számított szerkezet (**4a**) összehasonlítása

A konformációs analízis kimutatta, hogy a védőcsoportnak több magasan populált axiális konformere létezik, s ezek jóval alacsonyabb energiát képviselnek, mint az ekvatoriális konformerek. Bár a röntgenfelvétel alapján szilárd fázisban egyetlen axiális konformer dominál, oldatban több axiális konformer is jelen lehet. Az axiális orientáció és a védőcsoport tetőszerű alakja nagymértékben hozzájárulhat a tapasztalt reaktivitás-csökkenéshez, ugyanis a síkalkat elvesztése miatt a védőcsoport nem illeszkedik megfelelően a katalizátor felületéhez.

3.3. Egy, a Houk-szabályt sértő Diels-Alder cikloaddíciós reakció tanulmányozása

A triciklus kialakítására irányuló Diels-Alder reakciókban a lehetséges átmeneti állapotok *in silico* vizsgálata a kísérleti tapasztalatokkal egyező eredményt szolgáltatott. Miután a fenil- és benzil-csoportokat hidrogénre cserélve nyert modellünk esetén is hasonló eredményeket kaptunk, feltételezhető, hogy a reakciót elsősorban elektronos hatások irányítják.

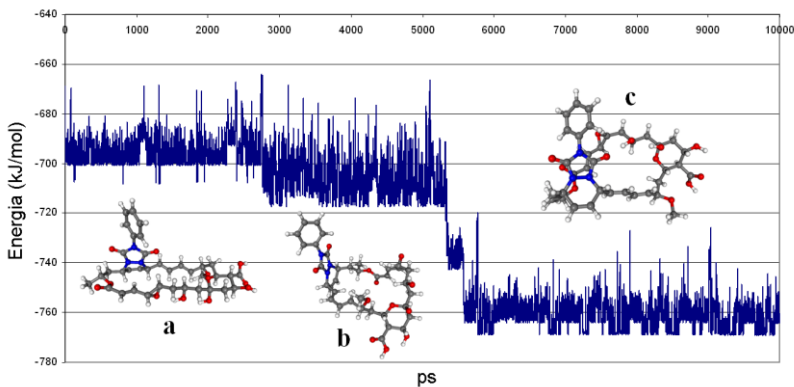


5. ábra A modell és a teljes rendszer TS-ei esetén kapott geometriák és aktiválási energiák (HF/6-31G, HF/6-31G(d), HF/6-31G(d,p) és **B3LYP/6-31G(d)**)

Az MO analízis alapján a reakció egy inverz elektronszükségletű Diels-Alder cikloaddíció. A gyakorlatban tapasztalt szelektivitás azonban a pályakoefficiensek és a szimmetria alapján nem értelmezhető, azaz az általunk vizsgált reakció mind a teljes rendszer, mind pedig a modellvegyület esetén sérti a Houk-szabályt. A valóságban képződő és a TS számítások által is jósolt átmeneti állapotot megvizsgálva egy nem elhanyagolható erősségű másodlagos kölcsönhatást találtunk több HOMO pályában, mely a -COOMe karbonil oxigénje és a benzil -CH₂- egyik hidrogénje között alakul ki. Ez a kölcsönhatás stabilizálhatja a megfelelő átmeneti állapotot. Az eredmények jól példázzák a másodlagos kölcsönhatások fontosságát és a HOMO-LUMO kölcsönhatások alkalmazhatóságának korlátait.

3.4. Makrolid antibiotikum-származékok cikloaddíciós reakciójának vizsgálata

Magas hőmérsékletű dinamikai számításokat, optimálásokat, TS számításokat és MO analízist végeztünk a flavofunginon, polién karbonsavakon (a flavofungin elméleti modelljein), a natamicin egy elméleti modelljén és a natamicin-PTAD addukton. A dinamikai számítások és az optimálások kimutatták, hogy a gyűrűk flexibilitása lehetővé teszi mindkét makrolid esetén valamennyi ciszoid konformáció létrejöttét. A TS számítások alapján a natamicin modell esetén valamennyi alkalmazott módszerrel a kísérleteknek megfelelő termékhez vezető átmeneti állapot energiája adódott a legalacsonyabbnak annak ellenére, hogy a nagy térkitöltésű cukrot egy OMe csoporttal helyettesítettük. Polién karbonsavak esetén szintén a kísérletekkel egyező eredményt kaptunk. Ezek alapján mindkét esetben főként elektronos természetűnek gondoljuk a tapasztalt regioselektivitást. Ezzel szemben a flavofungin esetén módszerfüggést tapasztaltunk. Bár a molekula mérete, flexibilitása és az oldószer elhanyagolása is közrejátszhat a tapasztaltakban, a polién rész legalább HF szinten történő számítása elégségesnek bizonyult ahhoz, hogy a kísérletekkel azonos eredményre jussunk.



6. ábra Az átmeneti állapot szerű terméken végzett dinamika során végbemenő energiaváltozások és a 3 jellemző geometria (natamicin addukt)

A natamicin-PTAD addukton végzett dinamikai számításokból kiderül, hogy az átmeneti állapot-szerű termék (**a**) feltételezhetően rövid időn belül egy jóval kedvezőbb energiájú konformációt vesz fel (**c**), melyet két hidrogén híd stabilizál. Ez a konformáció pedig már nem bot alakú, ami magyarázatot adhat a biológiai hatás nagyfokú csökkenésére.

4. Összefoglalás

A tézisekben bemutatott kutatómunka négy területet ölel fel, melyek során szénhidrátszármazékok acetál típusú védőcsoportjainak parciális hidrogenolízisét és konformációit, illetve antibiotikum-származékok cikloaddíciós reakcióit tanulmányoztuk kvantumkémiái és molekuladinamikai módszerekkel.

Metil-2,3-*O*-difenilmetilén- α -L-ramnospiranozid esetén a számítási és kinetikai eredmények alapján a klóralánnal végrehajtott parciális hidrogenolízis magyarázatára a korábbinál jóval pontosabb reakciómechanizmust sikerült felírunk. Tisztáztuk az egyes elemi lépések sorrendjét, és valószínűsítettük, hogy a sebesség-meghatározó lépés esetén reaktánsként szereplő szerkezet már szinte teljes mértékben kialakult Al-O3 egyszeres kötéssel rendelkezik, és a teljes reakció stabil intermedierjének tekinthető.

Parciálisan hidrogénezett antracénilmetilén származékok konformációs analízisével szokatlan, axiális helyzetet preferáló szerkezetekre bukkantunk. A védőcsoport tetőszerű alakja magyarázza a katalitikus hidrogénezéssel szembeni nagyfokú stabilitást.

Vizsgáltuk egy, a Houk-szabályt sértő Diels-Alder reakció nagyfokú szelektivitásának okát, és magyaráztuk a szabálytól való eltérést.

Makrolid antibiotikumok nagyfokú regio szelektivitást mutató reakcióinak elméleti tanulmányozásával a kísérletivel egyező eredményre jutottunk. Vizsgáltuk a karbonil-csoport poliénrendszerek esetén tapasztalható irányító hatását és magyaráztuk a natamicin addukt antifungális aktivitásvesztését.

5. Publikációk jegyzéke / List of publications

5.1. A dolgozat témakörében megjelent közlemények jegyzéke / Papers related to the subject of the dissertation

1. Zsolt Fejes, Attila Mándi, István Komáromi, Attila Bényei, Lieve Naesens, Ferenc Fenyvesi, László Szilágyi, Pál Herczegh: Synthesis of a pericosine analogue with bicyclo[2.2.2]octene skeleton, *Tetrahedron*, **2009**, 65, 8171-8175.
2. Zsolt Jakab, Attila Mándi, Anikó Borbás, Attila Bényei, István Komáromi, László Lázár, Sándor Antus, András Lipták: Synthesis, regioselective hydrogenolysis, partial hydrogenation and conformational study of dioxane and dioxolane type (9'-anthracenyl)methylene acetals of sugars, *Carbohydr. Res.*, **2009**, 344, 2444-2453.
3. Zsolt Fejes, Attila Mándi, István Komáromi, László Majoros, Gyula Batta, Pál Herczegh: A synthetic and in silico study on the highly regioselective Diels-Alder reaction of the polyenic antifungal antibiotics natamycin and flavofungin, *Tetrahedron Lett.*, **2010**, 51, 4968-4971.
4. Attila Mándi, István Komáromi, Anikó Borbás, Dezső Szikra, István P. Nagy, András Lipták, Sándor Antus: Quantum chemical studies on the partial hydrogenolysis of methyl 2,3-O-diphenylmethylene- α -L-rhamnopyranoside, *Tetrahedron Lett.*, **2011**, 52, 1256-1259.
5. Dezső Szikra, Attila Mándi,* Anikó Borbás, István P. Nagy, István Komáromi, Attila Kiss-Szikszai, Mihály Herczeg, Sándor Antus: A kinetic study on the reductive opening of methyl 2,3-O-diphenylmethylene- α -L-rhamnopyranoside, *Carbohydr. Res.*, **2011**, doi: 10.1016/j.carres.2011.04.041.

5.2. Publikációk egyéb témában / Other papers

1. Mándi Attila, Nagy István: A kémiai adatbázisok története, *Természet Világa*, **2006**, 137, 184-185.
2. Mándi Attila, Borbás Anikó, Nagy István: A szénhidrátok és szimbólumaik, *Természet Világa*, **2006**, 137, 568-569.
3. Attila Mándi: Kagaku Deetabeesu no Rekishigaiyou, *Kagaku Keizai*, **2009**, 56, 65-72.
4. Gábor Pintér, Gyula Batta, Sándor Kéki, Attila Mándi, István Komáromi, Krisztina Novák, Ferenc Sztaricskai, Erzsébet Róth, Ferenc Rozgonyi, Eszter Ostorházi, Lieve Naesens, Pál Herczegh: A Diazo Transfer – Click Reaction Route to New, Lipophilic Teicoplanin and Ristocetin Aglycon Derivatives with High Antibacterial and Anti-influenza Virus Activity: An Aggregation and Receptor Binding Study, *J. Med. Chem.*, **2009**, 52, 6053-6061.
5. You-Sheng Cai, Tibor Kurtán, Ze-Hong Miao, Attila Mándi, István Komáromi, Hai-Li Liu, Jian Ding, Yue-Wei Guo: Palmarumycins BG1–BG7 and Preussomerin BG1, and Establishment of Their Absolute Configurations Using Theoretical

Calculations of Electronic Circular Dichroism Spectra, *J. Org. Chem.*, **2011**, 76, 1821-1830.

6. Renáta Csütörtöki, István Szatmári, Attila Mándi, Tibor Kurtán, Ferenc Fülöp: Synthesis of Hydroxynaphthyl-Substituted α -Amino Acid Derivatives via a Modified Mannich Reaction, *Synlett*, **2011**, 22, 1940-1946.
7. Cui Li, Ming-Ping La, Peng Sun, Tibor Kurtán, Attila Mándi, Hua Tang, Bao-Shu Liu, Yang-Hua Yi, Ling Li, Wen Zhang: Bioactive (3Z,5E)-11,20-Epoxybriara-3,5-dien-7,18-olide Diterpenoids from the South China Sea Gorgonian *Dichotella gemmacea*, *Mar. Drugs*, **2011**, 9, 1403-1418.
8. Magdolna Csávás, Gábor Májer, Mihály Herczeg, Judit Remenyik, László Lázár, Attila Mándi, Anikó Borbás, Sándor Antus: Investigation of glycosylating properties of 1-deoxy-1-ethoxysulfonyl-hept-2-ulopyranosyl derivatives. Synthesis of a new sulfonic acid mimetic of the sialyl Lewis X tetrasaccharide, *Carbohydr. Res.*, **2011**, 346, 1527-1533.
9. Mihály Herczeg, László Lázár, Attila Mándi, Anikó Borbás, István Komáromi, András Lipták, Sándor Antus: Synthesis of disaccharide fragments of the AT-III binding domain of heparin and their sulfonatomethyl analogues, *Carbohydr. Res.*, **2011**, doi: 10.1016/j.carres.2011.06.021.
10. Shan Lu, Tibor Kurtán, Genjin Yang, Peng Sun, Attila Mándi, Karsten Krohn, Siegfried Draeger, Barbara Schulz, Yanghua Yi, Ling Li, Wen Zhang: Cytosporolides A-E, Novel Nonanolides from an Endophytic Fungus, *Cytospora* sp., *Eur. J. Org. Chem.*, **2011**, doi: 10.1002/ejoc.201100675.
11. Yaming Zhou, Attila Mándi, Abdessamad Debbab, Victor Wray, Barbara Schulz, Werner E. G. Müller, WenHan Lin, Peter Proksch, Tibor Kurtán, Amal H. Aly: New Austalides from the Sponge-Associated Fungus *Aspergillus* sp., *Eur. J. Org. Chem.*, **2011**, doi: 10.1002/ejoc.201100670.
12. Dehai Li, Li Chen, Tianjiao Zhu, Tibor Kurtán, Attila Mándi, Zhimin Zhao, Jing Li, Qianqun Gu: Chloctanspirones A and B, novel chlorinated polyketides with an unprecedented skeleton, from marine sediment derived fungus *Penicillium terrestre*, *Tetrahedron*, **2011**, doi: 10.1016/j.tet.2011.08.037.

A megjelent és közlésre elfogadott közlemények összesített IF-je / Aggregate IF of the published and accepted publications: 40.319

5.3. A dolgozat témakörében bemutatott előadások (E) és posztterek (P) jegyzéke / Oral presentations (E) and posters (P) related to the dissertation

1. A. Mándi, I. Komáromi, A. Borbás, A. Lipták, S. Antus: In silico studies of the partial hydrogenolysis of methyl 2,3-O-diphenylmethyle- α -L-rhamnopyranoside derivatives, Annual Meeting of Carbohydrate Working Group of Hungarian Academy of Sciences, **2008**, Mátrafüred, Hungary. (E)
2. A. Mándi, I. Komáromi, A. Borbás, D. Szikra, I. P. Nagy, A. Lipták: Partial hydrogenolysis of methyl 2,3-O-diphenylmethyle- α -L-rhamnopyranoside

derivatives studied by quantumchemical and experimental kinetic methods, XXIV International Carbohydrate Symposium, **2008**, Oslo, Norway. (P)

3. Mándi A., Komáromi I., Fejes Zs., Pintér G., Herczegh P.: Elméleti számítások antibiotikum-származékok szintézisének alkalmazott reakciókra, Az MTA Nukleotid Kémiai Munkabizottságának és az MTA Antibiotikum Kémiai Munkabizottságának közös tudományos ülése, **2009**, Debrecen. (E)
4. Fejes Zs., Mándi A., Komáromi I., Antus S., Kurtán T., Szilágyi L., Naesens L., Fenyvesi F., Herczegh P.: A perikozin antibiotikum analógjainak szintézise, Az MTA Nukleotid Kémiai Munkabizottságának és az MTA Antibiotikum Kémiai Munkabizottságának közös tudományos ülése, **2009**, Debrecen. (E)
5. Mándi A., Komáromi I., Fejes Zs., Herczegh P.: Antibiotikum-származékok szintézisében alkalmazott Diels-Alder reakciók mechanizmusának elméleti vizsgálata, Elméleti Szerves Kémiai Munkabizottsági Ülés, **2009**, Budapest. (E)
6. Mándi A., Komáromi I., Borbás A., Lipták A., Antus S.: Dioxolán típusú acetálok klóralános gyűrűnyitását kvantumkémiai vizsgálata, Elméleti Szerves Kémiai Munkabizottsági Ülés, **2009**, Budapest. (E)

5.4. Előadások (E) és poszterek (P) egyéb témában / Other oral presentations (E) and posters (P)

1. A. Mándi: Oligosaccharide Database and Visualisation, Second German-Hungarian Workshop, **2006**, Debrecen, Hungary. (E)
2. Pintér G., Batta Gy., Kéki S., Mándi A., Komáromi I., Takácsné Novák K., Sztaricskai F., Róth E., Ostorházi E., Rozgonyi F., Naesens L., Herczegh P.: Új, lipofil teikoplanin- és risztocetin-aglikon származékok szintézise és antimikrobiális vizsgálata, Az MTA Nukleotid Kémiai Munkabizottságának és az MTA Antibiotikum Kémiai Munkabizottságának közös tudományos ülése, **2009**, Debrecen. (E)
3. Mándi A., Komáromi I., Németh I., Kiss-Szikszai A., Kurtán T., Antus S.: Flavanon származékok PIDA-val végrehajtott gyűrűszűkülési reakcióinak tanulmányozása elméleti módszerekkel, KeMoMo-QSAR 2010 Konferencia, **2010**, Szeged. (E)
4. Gulácsi K., Csillag K., Tóth E., Kurtán T., Mándi A., Antus S.: Pterokarpánszármazékok szintézise Heck-féle oxiarilezési reakcióval és kiralis HPLC-CD vizsgálatuk, Heterociklusos Kémiai Munkabizottsági Ülés, **2010**, Balatonszemes. (E)
5. Papp T., Mándi A., Antus S., Kurtán T.: Optikailag aktív tetrahidro-2,6-metano-1-benzoxocin származékok szintézise és kiroptikai vizsgálata, Heterociklusos Kémiai Munkabizottsági Ülés, **2010**, Balatonszemes. (E)
6. Németh I., Kiss A., Mándi A., Antus S.: Flavanon gyűrűszűkülési reakciójának felülvizsgálata, Vegyészkonferencia és 53. Magyar Spektrokémiai Vándorgyűlés, **2010**, Hajdúszoboszló. (P)

7. A. Mándi, T. Kurtán, I. Komáromi: Joint application of MacroModel with Gaussian and AMBER, First Hungarian Schrödinger User Group Meeting, **2010**, Budapest, Hungary. (E)
8. Mándi A., Komáromi I., Németh I., Kiss-Sziksai A., Kurtán T., Antus S.: A PIDA hatása flavanon-származékok gyűrűszükülési reakcióira, Elméleti Szerves Kémiai Munkabizottsági Ülés, **2010**, Budapest. (E)
9. Mándi A., Kurtán T., Komáromi I., Antus S., Cai Y. S., Guo Y. W.: Bruguiera gymnorrhizából izolált palmarumicin- és preusszomerin származékok sztereokémiai vizsgálata, MKE 1. Nemzeti Konferencia, **2011**, Sopron. (P)
10. Pilling D., Papp T., Mándi A., Gulácsi K., Antus S., Kurtán T.: Szubsztituált benzil alkoholok átalakítása 1,3-dihidroizobenzofurán származékokká, MKE 1. Nemzeti Konferencia, **2011**, Sopron. (P)
11. Papp T., Mándi A., Antus S., Kurtán T.: Sernanderin és analógjainak szintézise, MKE 1. Nemzeti Konferencia, **2011**, Sopron. (P)
12. T. Kurtán, A. Mándi, T. Papp, D. Pilling, S. Antus, A. D. Zamfir, F. Peter: Stereochemical studies of natural and synthetic derivatives, 12th Edition of Academic Days Timisoara, **2011**, Timisoara, Romania. (E)
13. K. Gulácsi, T. Kurtán, A. Mándi, T. Papp, E. Tóth, Á. Szappanos, A. D. Zamfir, F. Peter, S. Antus: Synthesis of 6-substituted pterocarpanes and their HPLC-CD studies, 12th Edition of Academic Days Timisoara, **2011**, Timisoara, Romania. (E)
14. T. Papp, A. Mándi, S. Antus, A. D. Zamfir, F. Peter, T. Kurtán: Synthesis of sernanderin and its analogues, 12th Edition of Academic Days Timisoara, **2011**, Timisoara, Romania. (E)
15. A. Mándi, I. Komáromi, S. Antus, Y. W. Guo, W. Zhang, D. Li, T. Kurtán: Elucidation of the absolute configuration of fungi-derived natural products by solution and solid-state ECD approach, 4th German-Hungarian Workshop, **2011**, Debrecen-Vaja, Hungary. (E)
16. T. Papp, A. Mándi, S. Antus, A. Bényei, K. E. Kövér, A. D. Zamfir, F. Peter, T. Kurtán: Synthesis of sernanderin and its analogues, 4th German-Hungarian Workshop, **2011**, Debrecen-Vaja, Hungary. (E)
17. K. Gulácsi, T. Kurtán, A. Mándi, Á. Szappanos, Á. Petrohai, S. Antus: Synthesis of 6-substituted pterocarpanes and their HPLC-CD studies, 4th German-Hungarian Workshop, **2011**, Debrecen-Vaja, Hungary. (E)
18. T. Kurtán, A. Mándi, T. Papp, D. Pilling, S. Antus, A. D. Zamfir, F. Peter: Circular dichroism studies in solution and solid state, 4th German-Hungarian Workshop, **2011**, Debrecen-Vaja, Hungary. (E)
19. T. Kovács, M. Herczeg, A. Mándi, A. Borbás, S. Antus: Synthesis of L-iduronic acid from D-glucuronic acid fixed in ¹C₄ conformation by bulky silyl substituents, 4th German-Hungarian Workshop, **2011**, Debrecen-Vaja, Hungary. (P)

1 Introduction

Partial hydrogenolysis of cyclic acetals is very important in synthetic carbohydrate chemistry, facilitating selective protection of polyol systems. Good examples are the 4,6-*O*-benzylidene acetals of hexopyranosides, which can be opened selectively applying an electrophile and a hydride donor. Very few kinetic experiments and theoretical work can be found in the literature, however, for the ring opening of cyclic acetal derivatives, and these papers deal mainly with benzylidene acetals and borane reagents.

Reductive opening of methyl 2,3-*O*-diphenylmethylene- α -L-rhamnopyranoside derivatives was studied by Hajkó et al. applying LAH and AlCl_3 in a 1 : 1 ratio (i.e. chloroalane) in $\text{Et}_2\text{O}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 1 : 1. While at the 4-unsubstituted derivative only the 2-*O*-diphenylmethyl product was formed, at the 4-OMe or the 4-deoxy cases the reaction resulted in a mixture of 2-*O*- and 3-*O*-diphenylmethylene ethers, where the latter ones were the major products. In the 4-unsubstituted case a schematic reaction mechanism was proposed in which first a 4-*O*-chloroalane derivative forms, followed by the opening of the dioxolane ring, and finally this compound is hydrolyzed by addition of water.

Using theoretical and kinetic methods we attempted to refine the previous assumption on the partial hydrogenolysis of methyl 2,3-*O*-diphenylmethylene- α -L-rhamnopyranoside and investigate, whether regioselectivity is mainly driven by electronic effects.

Recently the 9-anthraldehyde acetal as a new protecting group was proposed by Ellervik reporting the synthesis of (9'-anthracenyl)methylene acetals in an acetal exchange reaction. The anthraldehyde acetals can be cleaved under reductive conditions to give 6-*O*-(9'-anthracenyl)methyl ethers, and can be selectively removed in the presence of benzylidene acetals. Due to the good crystalline properties and strong absorbance and fluorescence the (9'-anthracenyl)methylene acetal and (9'-anthracenyl)methyl ether may become useful as new protecting groups. These results prompted us to do further investigations on this novel protecting group.

It has been known since the 1930s that 4,6-*O*-benzylidene acetals of glucose can be catalytically reduced into the corresponding 4,6-diols. However, catalytic hydrogenation of a 4,6-*O*-(9'-anthracenyl)methylene acetal derivative of glucose surprisingly did not affect the acetalic center, but affected the anthracenyl ring resulting in a 4,6-*O*-(9',10'-dihydro-9'-anthracenyl)methylene residue which was stable under hydrogen atmosphere in the presence of Pd catalyst for as long as five days.

The structure of the forming methyl 4,6-*O*-(9',10'-dihydro-9'-anthracenyl)methylene-2,3-di-*O*-methyl- α -D-glucopyranoside was determined not only with NMR spectroscopy and X-ray crystallography, but also with high temperature molecular dynamics and DFT optimizations in order to investigate the low energy conformations of the new protecting group and interpret the unusual stability.

Pericosines A-E are natural compounds isolated from the fungus *Periconia byssoides* found in the gastrointestinal tract of the sea hare *Aplysia kurodai*. Pericosines display *in vitro* antitumor activity, and pericosine A was shown to have *in vivo* antitumor activity, as well.

Starting from methyl gallate a tricyclic pericosine analogue was planned to synthesize, where the key step was a highly regio- and diastereoselective Diels-Alder reaction. Our dienophile has an electron releasing substituent, therefore an inverse electron demand Diels-Alder reaction could be suspected, but the presence of both electron releasing and electron withdrawing substituents of the diene prompted us for a theoretical study of this reaction.

Polyene macrolide antibiotics are important therapeutics for the treatment of fungal infections. Their structure consists of four to eight conjugated carbon-carbon double bonds with (*E*)-configuration. This structural unit results in the rod-shaped form of these molecules. This conformation probably plays an important role in binding to fungal sterol molecules resulting in the antifungal action of these antibiotics. Two representatives of the polyene macrolide antibiotic family,

natamycin and flavofungin, were chosen to study a Diels-Alder reaction on their polyenic moiety, as well as the influence of the newly formed pyridazine ring annelation on the conformation of the macrocycle and on the antifungal activity.

Only a few examples have been published on Diels-Alder reactions where the reacting diene is part of a polyene. In these cases the polyene can be regarded as a substituted diene for which the regio- and/or stereoselectivity is determined by its substituents (e.g., the remainder of the polyene). A detailed experimental and theoretical analysis of DA reactions of this type was reported by Turner et al. They found that the dienophile always reacts with the outermost diene unit of the polyene, and the theoretical calculations carried out for a model compound supported their findings. They also found that a simple model based on the frontier molecular orbital coefficients for the prediction of regioselectivity of DA reactions was not always applicable for such systems. No examples have been found, however, in the literature where geometrical constraints exist for the polyene, for example, when a linear polyene is assembled in a cyclic compound as in the case of polyene macrolide antibiotics.

Diels-Alder reaction of both natamycin and flavofungin with 4-phenyl-1,2,4-triazoline-3,5-dione led to a single product, respectively, and these products showed highly decreased antifungal activity against *Candida* strains, especially in the case of natamycin.

We aimed to interpret the highly selective nature of these reactions and the loss of antiviral activity using molecular dynamics and quantum chemical calculations. We also attempted to describe the former observations on the directing effect of carbonyl groups in the case of cycloaddition reactions of polyenes at a sophisticated level.

2 Applied methods

The quantum chemical calculations (optimizations, TS and IRC calculations) were carried out using mainly the Gaussian 03 package. For semiempirical optimizations and TS calculations also MOPAC suite was

applied. The AMBER software package was used for constant high-temperature molecular dynamic calculations. During kinetic experiments the concentration of reactant and product was determined using HPLC measurements.

3 Results

3.1 Investigations on the chloroalane induced partial hydrogenolysis of dioxolane-type acetals

Based on the quantum chemical calculations, a modified reaction mechanism was proposed for the dioxolane ring opening. We found that the aluminium spontaneously coordinates to the O3 atom forming a strong, almost fully developed single bond, which leads to weakening of the O3-C_{acetalic} bond. There follows a single step reaction which is, however, rather asynchronous. First the C-O bond practically vanishes, and only then begins the C-H bond formation.

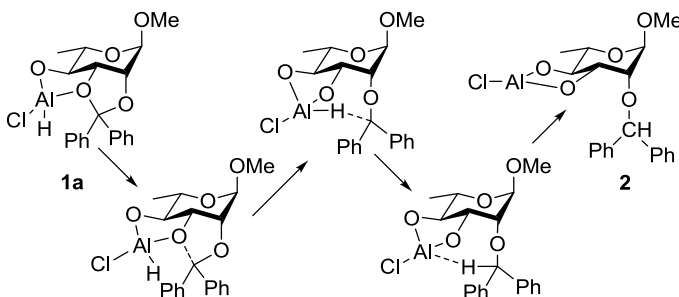


Figure 1. Mechanism of the rate determining step of the partial hydrogenolysis reaction according to the computational results

Zero point corrected activation energies were found to be around 125-130 kJ/mol with DFT methods, consistently, while HF, MP2 and ONIOM calculations resulted in somewhat higher transition state energies.

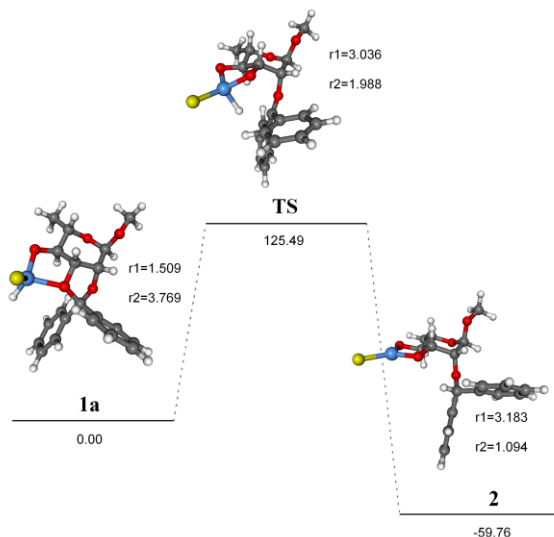


Figure 2. Reaction profile at B3LYP/6-311+G(d,p) level; r1 is the C_{acetalic}-O distance while r2 is the C_{acetalic}-H; energies and distances are given in kJ/mol and Å, respectively

In order to further support the theoretical results, we have performed kinetic measurements to determine the activation energy of the reaction experimentally. The reaction between methyl 2,3-*O*-diphenylmethylene- α -L-rhamnopyranoside, LAH and AlCl₃ was carried out at different temperatures. Rate constants and activation free energy have been determined supposing first order kinetics. The latter was found to be not greater than ca. 100 kJ/mol.

In this experiment, however, the reaction steps from the full reaction can not be separated, i.e. it includes the reaction of alkoxy-aluminium hydride with AlCl₃, the multiple equilibrium reaction between the excess of LAH and AlCl₃, the theoretically calculated reaction and the hydrolysis of the acetal ring resulting in the unprotected methyl α -L-rhamnopyranoside.

Nevertheless, one of the main reasons of the discrepancy probably resides in the fact that no solvent molecules were included in the theoretical calculations. In solvent phase the polar solvent molecules with non-bonding electron pairs can solvate more effectively the transition state than the reactant due to the increased

hard character of aluminium at transition state geometry compared to the reactant geometry. This more prevalent solvation effect results in both decreased activation energy and loss of entropy at transition state compared to the hypothetical gas phase reaction. Another important reason can be that the previously calculated rate limiting reaction is strongly asynchronous, since the C-O bond breaking precedes the C-H bond formation and the transition state corresponds dominantly to a hydride anion transfer. For such systems the contribution of tunneling effect is usually non negligible.

Further calculations on methyl 2,3-*O*-diphenylmethylene- α -L-rhamnopyranoside derivatives and other 2,3-*O*-acetal derivatives have shown, that previously proposed electronic effects may play little role in the regioselectivity of partial hydrogenolysis of dioxolane type 2,3-*O*-acetal systems.

3.2 Conformational analysis of partially hydrogenated (9-anthacenyl)methylene acetals and (9-anthacenyl)methyl ethers

Before starting with the glucose derivative, first, a simple aldehyde was chosen as a model compound for the computational studies. Constant temperature molecular dynamics simulation has been carried out at 1200 K on the partially hydrogenated 9,10-dihydro-9-anthraldehyde (**3**) in order to explore the low energy regions of the conformational energy (hyper) surface. Every snapshot taken during the dynamics was minimized applying the GAFF empirical force field. Geometries obtained this way were clustered upon energy and RMSD, and the lowest energy member of each cluster was further optimized at DFT level. We found, that the axial position of the aldehyde group is substantially more preferable than the equatorial one.



Figure 3. The 3 stable conformers found in the case of 9,10-dihydro-9-anthraldehyde

Same computational protocol was applied for the methyl 4,6-*O*-(9',10'-dihydro-9'-anthracenyl)methylene-2,3-di-*O*-methyl- α -D-glucopyranoside (**4**). Not surprisingly, the partially hydrogenated anthracenylmethylene group favors the equatorial position to the sugar ring. On the other hand, acetalic C became axial to C-9' as it was expected, based on the conformational analysis of the model compound. The structure of 4,6-*O*-(9',10'-dihydro-9'-anthracenyl)methylene derivative determined by X-ray measurements corresponds perfectly to one of the computed structures (**4a**), which is predicted as the most stable structure by GAFF and showed one of the considerably populated one suggested by B3LYP/6-31G(d) method.

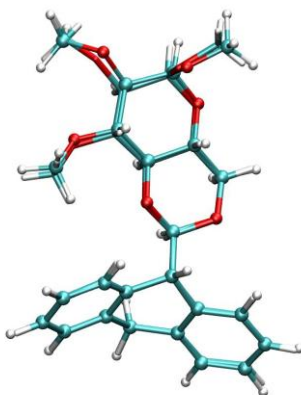


Figure 4. Correlation of X-ray structure of **4** and DFT optimized **4a** structure

The computational studies showed that more than one local energy minimum with non-negligible population exist which correspond to axial acetalic orientations and they are substantially more stable than the equatorial ones. It means that although the X-ray experiment shows the global minimum in a solid phase, in solution the existence of other axial conformation also might have contribution to the observed properties. Another consequence of the axial acetal conformation and the roof-type shape of the hydrogenated anthracenyl group is the loss of tight fit to the surface of catalysator and this way the loss of full hydrogenation.

3.3 Investigations on a Houk's rule violating Diels-Alder cycloaddition reaction

Upon examination of the possible transition states we found that the lowest energy belongs to the TS leading to the only product isolated from the Diels-Alder reaction. Using model reactants (i.e., replacing the phenyl and benzyl groups by hydrogen atoms, this way distinguishing between the steric and electronic effects) gave the same result. It suggests a strong electronic contribution to the observed selectivity.

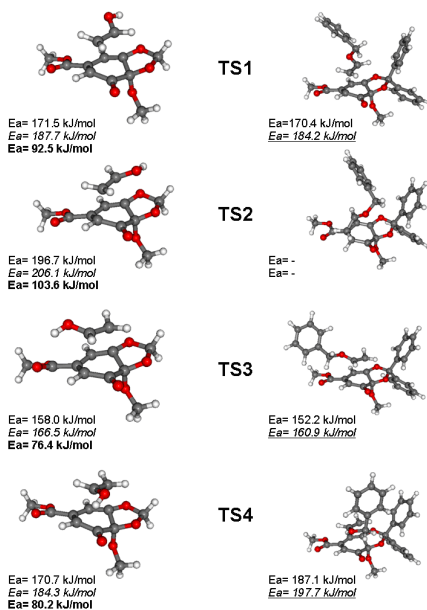


Figure 5. Transition state structures and activation energies for the full and the model systems (HF/6-31G, HF/6-31G(d), HF/6-31G(d,p) and B3LYP/6-31G(d))

The HOMO and LUMO orbital energies, orbital shapes, and the coefficients of the atomic orbital contributions to the HOMO and LUMO at the diene and dienophile were calculated. The cycloaddition turned out to be an inverse

electron demand reaction. Regarding the coefficients of the atomic orbitals, the computationally predicted and experimentally observed products do not match, so the reaction violates the Houk rule. Examining the TS geometry, a non-negligible secondary interaction was obtained between the carbonyl oxygen of -COOMe and a H atom of the benzyl -CH₂- group, which stabilizes the TS and it becomes the most favorable one even if it violates the Houk rule. These facts clearly show the qualitative-only features of the HOMO-LUMO interactions and the importance of the secondary interactions.

3.4 Investigations on cycloaddition reactions of macrolide antibiotics

High-temperature molecular dynamics, optimizations, TS calculations and FMO analysis were carried out on flavofungin, polyenoic acids (theoretical models of flavofungin), a theoretical model of natamycin and its adduct at different levels of theory. Dynamics and optimizations demonstrated that despite the cyclic structures of flavofungin and natamycin, the flexibility of these molecules allows the presence of the cisoid conformation at any position of the polyene unit of the macrocycles. In the case of the natamycin theoretical model, all the applied quantum chemical methods supported the same regioselectivity preference in perfect agreement with the experimental findings despite the missing bulky sugar group. The applied semiempirical and ab initio quantum chemical calculations on polyenoic acids also predict a product in agreement with the experiments. From these facts we favor a mainly electronic nature of the observed DA regioselectivity. In contrast, carrying out theoretical calculations on flavofungin itself shows a somewhat different picture since in this case the predicted regioselectivity showed method dependency. However, applying the ab initio HF/6-31G method as an ‘intermediate’ level of theory for the polyenoic acid part in ONIOM calculations was sufficient to predict the experimentally observed regioselectivity. In the case of natamycin the theoretical calculations demonstrated that the rod-shaped conformation of the antibiotic was deformed as a consequence of the DA reaction, leading to a more compact geometry. The elongated shape is probably necessary for a sterol complex

formation, which might explain the loss of the antifungal activity of natamycin adduct compared to the parent compound.

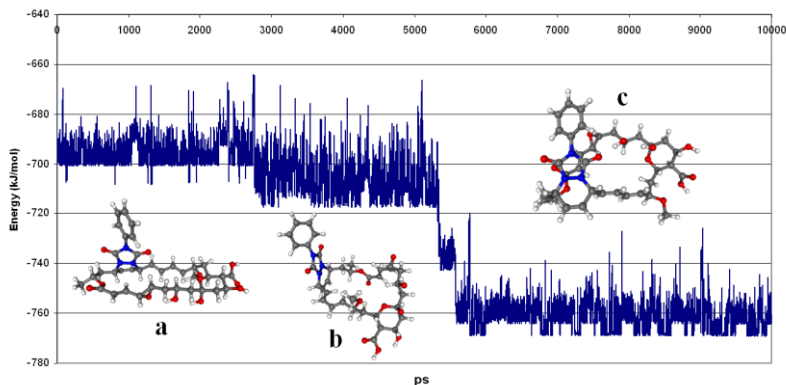


Figure 6. Total energy of the natamycin Diels-Alder adduct model during 10 ns molecular dynamics simulation for one of the representative trajectories leading to the most frequently found conformation

4. Summary

The scientific work described above includes four main research fields: we have investigated the partial hydrogenolysis and conformations of acetal type protecting groups of carbohydrate derivatives, such as cycloaddition reactions of antibiotic derivatives using quantum chemical and molecular dynamic methods.

For the chloroalane induced partial hydrogenolysis of methyl 2,3-*O*-diphenylmethylene- α -L-rhamnopyranoside we have proposed a more detailed mechanism, defined the sequence of the elementary steps and suggested that the reactant of the rate-determining step containing an almost fully formed Al-O3 single bond can be considered as stable intermediate of the full reaction upon theoretical and kinetic results.

Conformational analysis of partially hydrogenated anthracenylmethylene derivatives led to unusual conformers preferring the axial positions. Roof-type shape of the newly formed protecting group is thought to be responsible for the high stability against catalytic hydrogenation.

We have investigated a Houk's rule violating highly selective Diels-Alder reaction, and explained selectivity such as the reason of violation.

Theoretical investigations on highly regioselective cycloaddition reactions of macrolide antibiotics led to results being in agreement with the experimental findings. Directing effect of carbonyl groups such as antifungal activity loss of natamycin Diels-Alder adduct were also investigated.

5. List of Publications

For publications see pp. 11-14.