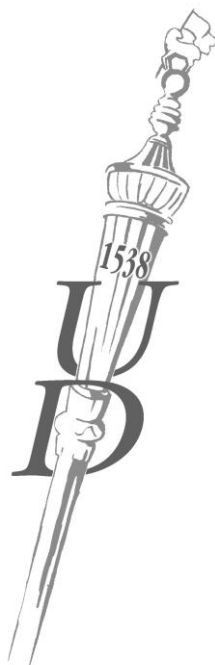


Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei

Kéntartalmú szénhidrát-mimetikumok szintézise

Eszenyi Dániel

Témavezető: Prof. Dr. Borbás Anikó

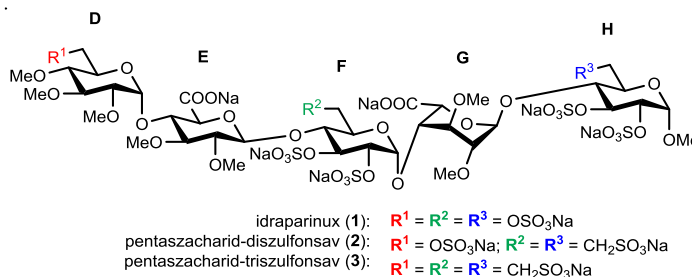


DEBRECENI EGYETEM
Kémiai Tudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2017.

1 Az értekezés előzményei és célkitűzései

A kiváló véralvadásgátló hatású heparin poliszacharidot és származékait évtizedek óta használják tromboembóliás betegségek kezelésében és megelőzésében. A heparin származékok az antitrombinhoz kötődve fejtik ki véralvadásgátló hatásukat, a kötődésben kulcsszerepe van a heparin szulfátészterei és az antitrombin lizin és arginin egységei között kialakuló ionos kötéseknek. Kutatócsoportunkban évek óta foglalkozunk véralvadásgátló heparinoid szulfonsavszármazékok szintézisével.



	Anti-Xa aktivitás (U/mg)
idraparinux (1)	1911 ± 193
pentaszacharid diszulfonsav (2)	2153 ± 153
pentaszacharid triszulfonsav (3)	384 ± 139

1. Táblázat A korábban előállított szulfonsav tartalmú származékok véralvadásgátló hatása

A szintetikus véralvadásgátló idraparinuxnak (1) olyan származékait állítjuk elő, melyeken a farmakofór szulfátésztereket szisztematikusan szulfonsavakra cseréljük. Az eddigi eredményekből kiderült, hogy ez a csere a pozíciótól függően javíthat és ronthat is az aktivitáson, vagyis kulcsfontosságú a szulfonsavcsoport helyzete (1. Táblázat). A fenti eredmények alapján a kutatócsoportban célul tűztük ki az idraparinux szekunder helyzetű szulfátésztereinek cseréjével a 2-es pentaszacharid olyan izomereinek előállítását, amelyek a **H** vagy **F** egység C-2 vagy C-3 helyzetében tartalmazzák a szulfonátometil csoportot. Mivel az irodalomban nincs általánosan használható módszer szulfonsavtartalmú építőelemek szintézisére, ezért módszert kívántunk fejleszteni *O*- és *S*-glikozidok szekunder szulfonátometil származékainak előállítására.

A pentaszacharid-szulfonsavak szintézise során a primer helyzetű szulfonsavcsoportot tartalmazó **F** egység kiindulási anyagának előállítása 2-acetoxiglikálon végrehajtott gyökös tioladdícióval történt. Kiderült, hogy a telítetlen szénhidrátok tioladdíciója kiaknázatlan terület. A munka során célul tűztük ki stabil diszacharid-mimetikumok szintézisét gyökös mechanizmusú

tioladdíciós reakcióval. Ennek során vizsgáljuk a módszer teljesítőképességét *endo*- és *exo*-glikálokon.

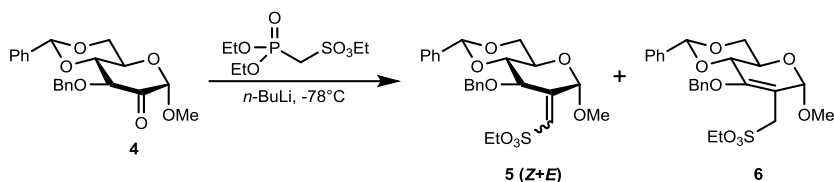
2 Az értekezés új tudományos eredményei

2.1 Szekunder szulfonátometil csoport kialakítása *O*- és *S*-glikozidokon

Korábban a kutatócsoport a szulfonsavbevitelt szénhidrát *exo*-metilén származékból kiindulva *terc*-butil-perbenzoát katalizálta reakcióban, gyökös körülmények között végezte, ez a módszer egyrészt hosszadalmas, másrészt tioglikozidokon a kénatom könnyű oxidálhatósága miatt nem alkalmazható. A célom egy olyan szulfonsavbeviteli módszer kidolgozása volt, amely tioglikozidokon is alkalmazható. Ennek során úgy gondoltuk, hogy a Horner-Wadsworth-Emmons (HWE) reakció és az azt követő redukció alkalmas lehet. A körülményeket először egy *O*-glikozidon optimaltunk, majd az optimalt körülményeket kívántuk alkalmazni *S*-glikozidokon is.

2.1.1 A HWE reakció és a redukció optimalása *O*-glikozidon

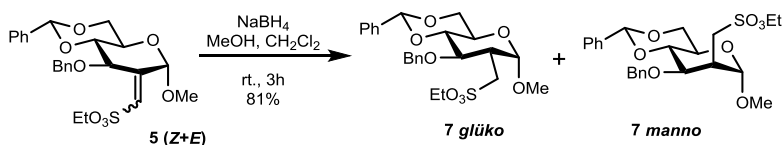
- A kísérletekhez előállítottuk a megfelelően védett 2-ulóz származékot (**4**) és a Horner-Wadsworth-Emmons-reakcióhoz (HWE-reakció) megfelelő foszfonát származékot. Ezt követően a **4**-es vegyületen a 2-es pozícióban HWE-reakcióval etil-szulfonátometilén csoportot alakítottunk ki (1. ábra).
- A reakciókörülményeket (reakcióidő, hőmérséklet, oldószer) optimalizáltuk, az eredményeket a 2. Táblázat foglalja össze.
- Megfigyeltük, hogy hosszabb reakcióidő és magasabb hőmérséklet esetén az **5**-ös alkén a nem kívánt **6** endociklusos származékká izomerizálódik. Az izomerizáció hajtóereje a **6** nagyobb termodinamikai stabilitása, ezt molekuladinamikai és DFT számításokkal igazoltunk.
- Az **5**-ös vegyületek konfigurációját ROESY NMR mérésekkel határoztuk meg. Az **5(Z)** ROESY spektrumán a szulfonátometilén csoport protonja, valamint a H-3 által adott keresztcsúcs *Z* konfigurációra enged következtetni.
- Megállapítottuk, hogy a reakcióidő és hőmérséklet kontrolljával a nem kívánt izomerizáció elkerülhető. A legjobb hozamot tetrahidrofuranban, 6 órás reakcióidővel sikerült elérni (2. Táblázat /c).



1. ábra A H egység szintézise I

Oldószer	T /°C	Reakcióidő	Hozam /%		
			5 (Z)	5 (E)	6
(a) THF	-78 → -15	4 h	52	15	-
(b) THF	-78 → rt	16 h	46	7	25
(c) THF	-78 → +10	6 h	61	17	-
(d) Et ₂ O	-78 → rt	6 h	10	6	2
(e) Bu ₂ O	-78 → rt	6 h	11	3	4
(f) <i>t</i> -BuOMe	-78 → rt	6 h	23	16	6

2. Táblázat A 4-es vegyület Wadsworth-Horner-Emmons-reakciója különböző körülmények között

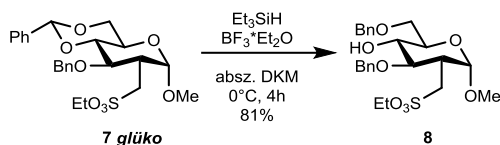


2. ábra A H egység szintézise II

- Tanulmányoztuk az **5(E)** és **5(Z)** származékok redukcióját (2. ábra), és megállapítottuk, hogy a keletkező termékek (**7**) aránya nem függ lényegesen sem a redukciós módszertől sem a kiindulási vegyület konfigurációjától (3. Táblázat).
- Nagyobb mennyiségű **5** hidrogénezésekor a NaBH₄ hatékonyabbnak bizonyult, mint a katalitikus hidrogénezés.

Vegyület	Reagens	Körülmények	Termékarány /%	
			7 glüko	7 manno
5(Z)	Pd(0)/C, H ₂	CH ₂ Cl ₂ , rt. 2h	95	5
5(E)	Pd(0)/C, H ₂	CH ₂ Cl ₂ , rt. 2h	89	11
5(Z)	NaBH ₄	MeOH, rt. 3h	87	13

3. Táblázat Az 5-ös vegyület redukciójának eredményei

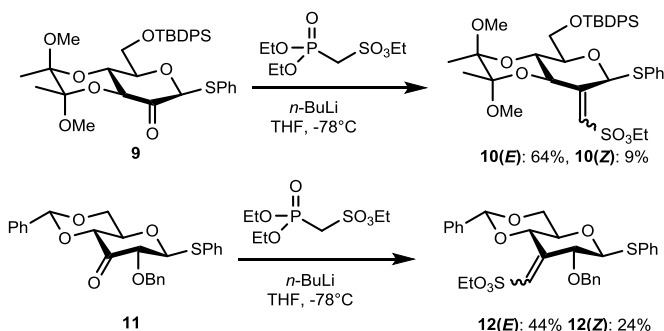


3. ábra A **7 gluco** származékon végzett gyűrűnyitás

- A hidrogénezés után a **7 gluco** vegyület 4,6-benzilidén-acetáljának redukzív gyűrűnyitásával előállítottuk a C-2-helyzetű szulfonátometil-csoportot tartalmazó glikozil akceptor építőelemmel (3. ábra).

2.1.2 Szekunder szulfonátometil csoport kialakítása tioglikozidokon

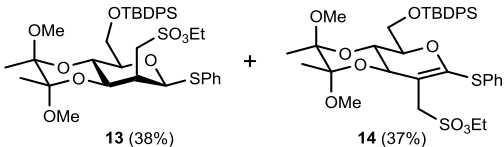
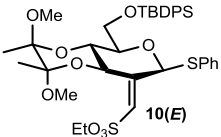
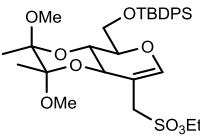
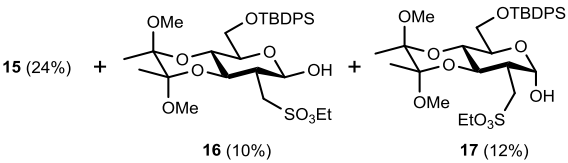
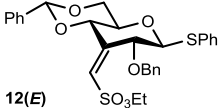
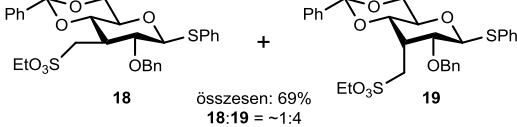
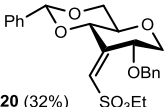
- Tioglikozidokon szekunder helyzetben elsőként hajtottunk végre HWE-reakciót.
- Megállapítottuk, hogy a **9** és a **11** vegyületeken az optimalizált körülményekkel C-2 és C-3 helyzetben is jó hozammal kialakítható a szulfonátometilén csoport (4. ábra).



4. ábra

- Részletesen vizsgáltuk a **10(E)** és **12(E)** vegyületek redukciós reakcióit. A **10(E)** és **12(E)** katalitikus hidrogénezéskor semmilyen körülmények között sem szolgáltatta a kívánt származékot, jellemzően *exo-endo* izomerizáció és/vagy deszulfurálás történt (4. Táblázat).
- A **10** nátrium-tetrahidrido-borátos redukciója során közepes hozammal sikerült a *manno*-konfigurációjú **13**-at előállítani, amely az első szekunder szulfonsav-tartalmú tioglikozid az irodalomban. Ez a vegyület többek között felhasználható a PI-88 tumorellenes szulfatált oligomannozid szulfonsav-mimetikumainak előállításához.

- A **12(E)** vegyület nátrium-bórhidrides redukciója sikeres volt, a képződött *allo:glüko* 4:1 arányú izomerelegy azonban kromatográfiásan nagyon nehezen választható el (4. Táblázat /e).

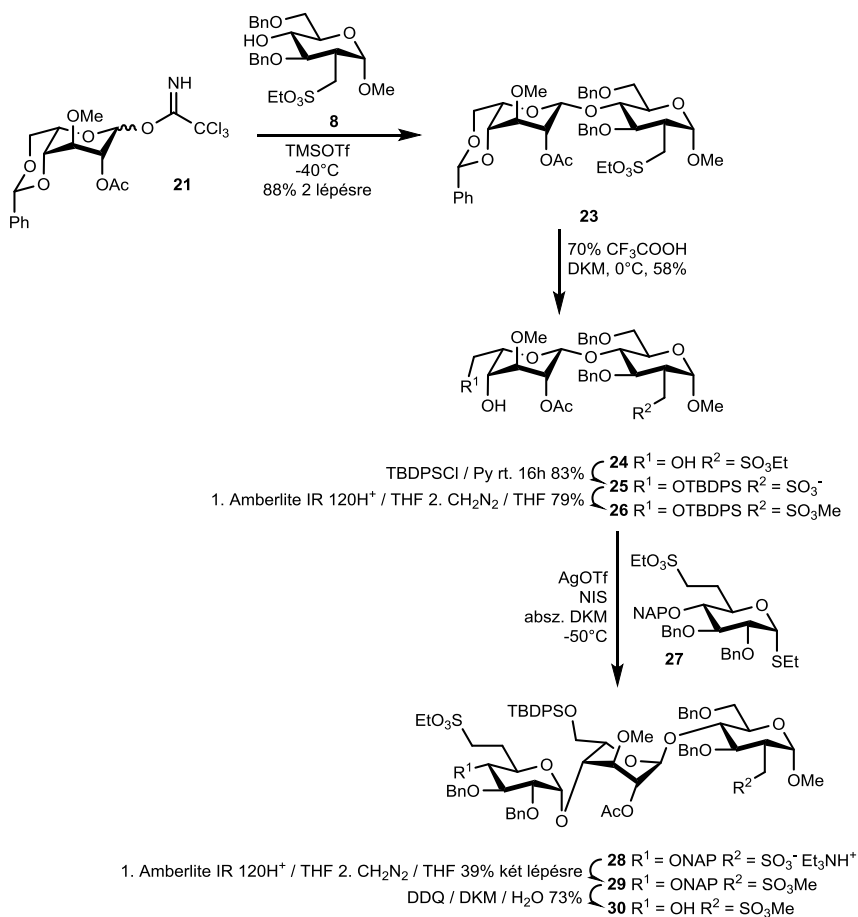
Kiindulási vegyület	Körülmények	Termék(ek)
	(a) NaBH ₄ , MeOH rt., 3h	 13 (38%) + 14 (37%)
 10(E)	(b) Pd(0)C, 10 bar H ₂ rt. 60h	 15 (b: 35%; c: 78%)
	(c) Raney-Ni, H ₂ 16h	
	(d) Pd(0)C, 10 ekv. Et ₃ SiH rt., 1h	 15 (24%) + 16 (10%) + 17 (12%)
 12(E)	(e) NaBH ₄ , MeOH rt., 3h	 18 + 19 összesen: 69% 18:19 = ~1:4
	(f) Raney-Ni, H ₂ 16h	 20 (32%)

4. Táblázat A 10(E) és 12(E) származék hidrogénezése különböző körülmények között

- Megállapítottuk, hogy a HWE-reakció és az azt követő NaBH₄-es redukció megfelelő módszer tioglikozidok szekunder szulfonátometil származékainak szintézisére.
- Az alkalmazott védőcsoportok mellett és/vagy β-anomer konfiguráció esetén a redukció során axiális állású szulfonátometil csoport képződése kedvezményezett.

2.2 Szekunder szulfonsavat tartalmazó idraparinux-analóg pentaszacharid szintézise

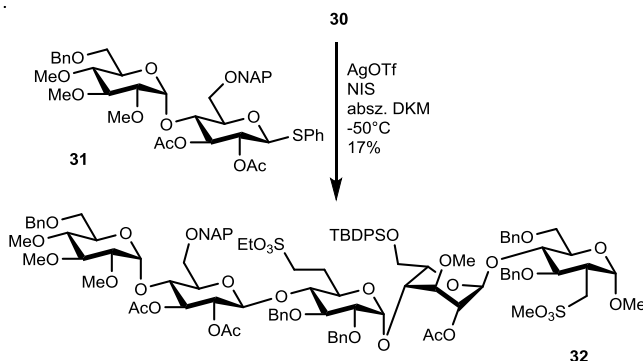
- A **8**-as építőelem felhasználásával megterveztük egy új idraparinux-analóg pentaszacharid-diszulfonsav szintézisét. A szintézisterv új eleme volt, hogy a D-glükuronsav és L-iduronsav egységek kialakítását pentaszacharid szinten terveztük a D-glükóz és L-idóz prekursorok egyidejű oxidációjával.
- A [2+3] (**DE+FGH**) blokk szintetikus tervnek megfelelően az **FGH** triszacharid akceptor építőelemhez előállítottam a **GH** diszacharid akceptort (**26**), amelyet a **27** donorral glikozileztem. A teljesen védett **29** száрмаéket a 4''-O-NAP csoport eltávolításával a **30** akceptorra alakítottam (5. ábra).



5. ábra A megfelelően védett **FGH** diszacharid előállítása

- A szintézis során két ízben is megtörtént a C-2 szulfonsavészter lehasadása. Ez négy lépéssel megnövelte a szintézisutat és lecsökkentette a hozamot.

- A **31** diszacharid donor és a **30** glikozilezési reakciójával sikeresen előállítottam a tervezett szekunder szulfonsavtartalmú védett pentaszacharidot (6. ábra).
- A szintézis összhozama mindössze 1,6 % volt. A munka folytatásához a **32** újbóli előállítása szükséges egy hatékonyabb útvonalon.

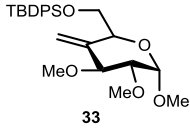
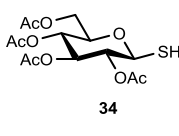
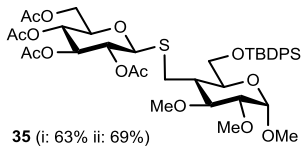
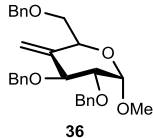
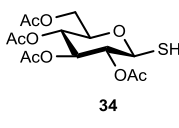
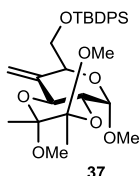
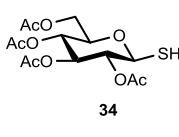
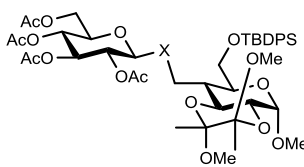
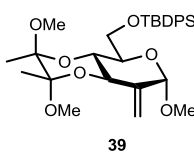
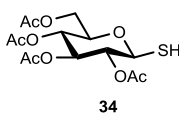
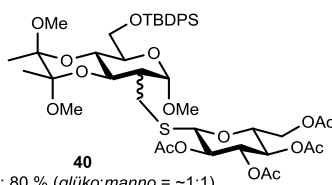


6. ábra A megfelelően védett pentaszacharid előállítása

2.3 Fotoiniciált, gyökös mechanizmusú tioladdíciós reakciók vizsgálata

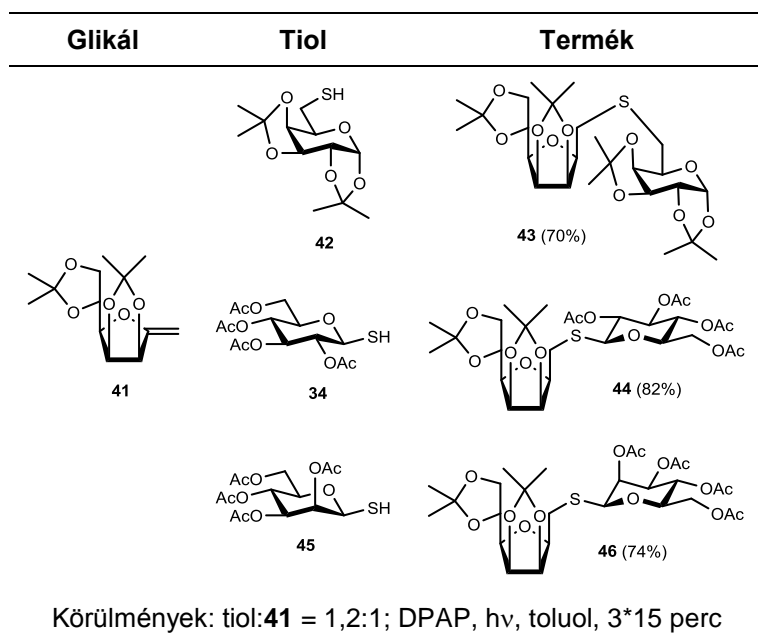
2.3.1 Tioladdíció *exo*-metilén csoportra

- Vizsgáltam piranozidok *C*-2 és *C*-4 exometilén származékain a gyökös mechanizmusú tioladdíciós reakciókat.
- A **36**-os és **34**-es vegyület addíciója az iniciálás módjától függetlenül, komplex elegyet eredményezett, amelyből nem tudtam terméket izolálni. (5. Táblázat /b).
- A **37** és **33** 4-*exo*-metilén származékokon a fotoiniciált tioladdíció jó hozammal és teljes sztereoselektivitással ment végbe, és a várt *glüko*-konfigurációjú terméket adta. (5. Táblázat /a és c).
- Megállapítottam, hogy a **38**-as vegyület oxidációra hajlamos, amely a **38a** izolálhatóságát és a szerkezetmeghatározást jelentősen megnehezítette. Az oxidációra való hajlam a butándion dimetilacetátnak tulajdonítható.
- A **39** *C*-2 *exo*-metilén származékon történő tioladdíció során *glüko* és *manno* konfigurációjú izomerek közel 1:1 arányú képződését figyeltük meg (5. Táblázat /d).

Glikál	Tiol	Termék / körülmények	
		(i) 1,2 ekv. Et ₃ B 1,4 ekv pirokatechin CH ₂ Cl ₂ rt. 45 perc	(ii) 3*0,1 ekv. DPAP, hv toluol, rt. 3*15 perc
<p>(a)</p>  <p>33</p>	 <p>34</p>	 <p>35 (i: 63% ii: 69%)</p>	
<p>(b)</p>  <p>36</p>	 <p>34</p>	i: komplex reakcióelegy	ii: komplex reakcióelegy
<p>(c)</p>  <p>37</p>	 <p>34</p>	 <p>38a X: S 38b X: S=O i: n/a ii: 38a+38b= 74 %</p>	
<p>(d)</p>  <p>39</p>	 <p>34</p>	 <p>40 i: n/a ii: 80 % (glüko:manno = ~1:1)</p>	

5. Táblázat

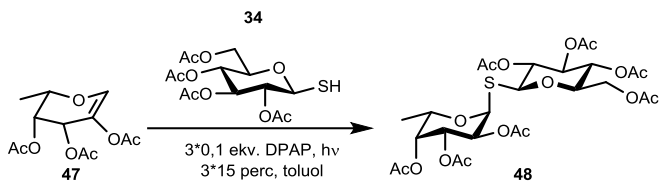
- A **41** furánózgyűrűs 1-*exo*-glikál származék több különböző tiollal (**34**, **42**, **45**) is teljes sztereoselektivitással és jó hozammal eredményezte a β-mannofuranozid tartalmú C-S kötésű diszacharid-mimetikumokat (6. Táblázat).



6. Táblázat

2.3.2 Tioladdíció *endo*-glikálokra

- Tioladdíciós reakciókat eddig kizárólag D-sorbeli *endo*-glikálokra végeztek, mi az addíciót L-cukrokra is kiterjesztettük.
- A 2-acetoxi-L-fukál (**47**) addícióját vizsgálva azt tapasztaltuk, hogy a szobahőmérsékleten gyenge konverziót mutató reakció hozama jelentősen javítható a hőmérséklet csökkentésével (7. Táblázat). Tudomásunk szerint az irodalomban eddig nem volt ilyenre példa.
- A biológiailag fontos α -L-fukozidok tiomimetikumainak előállítására kiváló hozamú, egyszerű módszert dolgoztunk ki.
- A konverzió növelése céljából részletesen vizsgáltuk a reakció oldószerfüggését is, azonban az oldószerek változtatásával nem értünk el javulást.



Hőmérséklet	Konverzió
(a) Nem szabályzott	~5% (VRK alapján)
(b) 0-5°C	33% (¹ H NMR alapján)
(c) -40°C	66% (¹ H NMR alapján)
(d) -80°C	92% (¹ H NMR alapján)
	90% (izolált hozam)

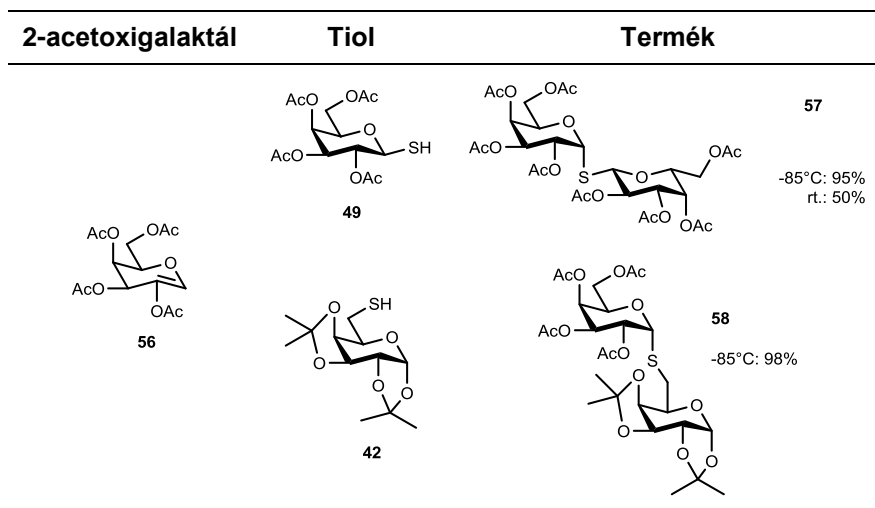
7. Táblázat A hőmérséklet hatása **47** és **48** addíciós reakciójára

- Ezután további tiolok addícióját vizsgáltuk **47**-re -85 °C-on (8. Táblázat). A tiol reaktivitásától függően közepes/jó/kiváló konverziókat értünk el.

Tiol	Termék
<p>49</p>	<p>50</p> <p>-85°C: 95% (rt.: 33%)</p>
<p>42</p>	<p>51 (91%)</p>
<p>52</p>	<p>53 (75%)</p>
<p>54</p>	<p>55 (58%)</p>

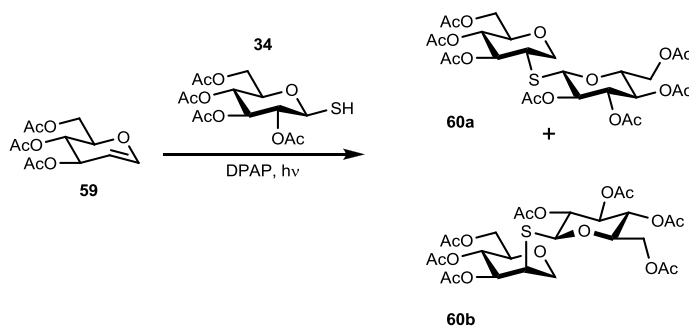
8. Táblázat Különböző tiolok fotoiniciált addíciója **47**-re -85 °C-on, toluolban

- A fenti körülményeket alkalmaztuk 2-acetoxigalaktálra is, ezzel szintén kitűnő hozamokat értünk el (9. Táblázat).



9. Táblázat

- Megvizsgáltuk, hogy a hőmérséklet csökkentése milyen hatással van egy szobahőmérsékleten gyenge sztereoselektivitású reakcióra (10. Táblázat). Megállapítottuk, hogy a reakció hűtése kedvezően befolyásolja a sztereoselektivitást, valamint lehetővé teszi a tiolfelesleg jelentős csökkentését.



Hőmérséklet	34 mennyisége	Hozam	62a / 62b
szobahőmérséklet	6 ekv.	80%	57:43
-80°C	1,2 ekv.	84%	89:11
-120°C	1,2 ekv.	72%	80:20

10. Táblázat



Nyilvántartási szám: DEENK/19/2017.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Eszenyi Dániel
Neptun kód: LOCPIS
Doktori Iskola: Kémiai Tudományok Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10038073

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

Idegen nyelvű tudományos közlemények külföldi folyóiratban (2)

1. Mező, E., **Eszenyi, D.**, Varga, E., Herczeg, M., Borbás, A.: A Modular Synthetic Approach to Isosteric Sulfonic Acid Analogues of the Anticoagulant Pentasaccharide Idraparinux. *Molecules*. 21 (11), 1497-1515, 2016. EISSN: 1420-3049.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules21111497>
IF: 2.465 (2015)
2. **Eszenyi, D.**, Mándi, A., Herczeg, M., Bényei, A., Komáromi, I., Borbás, A.: Synthesis of C-2- and C-3-Sulfonatomethyl O- and S-Glycosides by Horner-Wadsworth-Emmons Olefination. *Eur. J. Org. Chem.* 2016 (22), 3884-3893, 2016. ISSN: 1434-193X.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/ejoc.201600526>
IF: 3.068 (2015)

További közlemények

Magyar nyelvű közlemények hazai folyóiratban (2)

3. Herczeg, M., Csávás, M., Bereczki, I., Mező, E., **Eszenyi, D.**, Kicsák, M., Hadházi, Á., Tollas, S., Varga, E., Szilágyi, E., Molnár, J. D., Bege, M., Péntzes, A., Herczegh, P., Borbás, A.: Gyógyhatású szénhidrátok - a véralvadástól a géncsendesítésig. *Magy. Kém. F.* 121 (1), 13-21, 2015. ISSN: 0025-0155.
4. Mező, E., Herczeg, M., **Eszenyi, D.**, Antus, S., Borbás, A.: Antikoaguláns hatású pentaszacharidszulfonsav sorozat moduláris szintézise problémák és megoldások. *Magyar Kém. L.* 69 (6), 184-187, 2014. ISSN: 0025-0163.



Idegen nyelvű közlemények külföldi folyóiratban (4)

5. Mező, E., Herczeg, M., **Eszenyi, D.**, Borbás, A.: Large-scale synthesis of 6-deoxy-6-sulfonatomethyl glycosides and their application for novel synthesis of a heparinoid pentasaccharide trisulfonic acid of anticoagulant activity.
Carbohydr. Res. 388, 19-29, 2014. ISSN: 0008-6215.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carres.2014.02.012>
IF: 1.929
6. Herczeg, M., Mező, E., **Eszenyi, D.**, Antus, S., Borbás, A.: New synthesis of idraparinux, the non-glycosaminoglycan analogue of the antithrombin-binding domain of heparin.
Tetrahedron. 70 (18), 2919-2927, 2014. ISSN: 0040-4020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tet.2014.03.033>
IF: 2.641
7. Fekete, A., **Eszenyi, D.**, Herczeg, M., Pozsgay, V., Borbás, A.: Preparation of synthetic oligosaccharide-conjugates of poly-[beta]-(1-6)-N-acetyl glucosamine.
Carbohydr. Res. 386, 33-40, 2014. ISSN: 0008-6215.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carres.2013.12.022>
IF: 1.929
8. Herczeg, M., Mező, E., **Eszenyi, D.**, Lázár, L., Csávás, M., Bereczki, I., Antus, S., Borbás, A.: Synthesis of 6-Sulfonatomethyl Thioglycosides by Nucleophilic Substitution: Methods to Prevent 1,6 Anomeric Group Migration of Thioglycoside 6-O-Triflates.
Eur. J. Org. Chem. 2013 (25), 5570-5573, 2013. ISSN: 1434-193X.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/ejoc.201300681>
IF: 3.154

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 15,186

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
5,533**

A DEENK a Jelölt által az IDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2017.02.03.

