



**C-GLIKOZIL-IMIN TÍPUSÚ VEGYÜLETEK ÉS
C-GLIKOZIL-METILÉN-KARBÉNEK ELŐÁLLÍTÁSA ÉS SAJÁTSÁGAIK
VIZSGÁLATA**

Doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

*Készítette:
Vágvölgyiné Tóth Marietta*

*Témavezető:
Dr. Somsák László
egyetemi docens*

**Debreceni Egyetem
Debrecen, 2002.**

1. Az értekezés előzményei és célkitűzése

Az utóbbi két évtizedben a szénhidrátok biológiai szerepéről gyökeresen új felfogás alakult ki. Míg korábban úgy gondolták, hogy a szénhidrátok a szervezetben csupán vázanyag, illetve (tartalék)tápanyag funkciót töltenek be, mára kiderült, hogy szerepük, jelentőségük valójában ennél sokkal nagyobb. A szénhidrátszármazékok: oligoszacharidok és konjugátumaik (glikolipidek és glikoproteinek) a főszereplői olyan, az élő sejtek felületén lejátszódó folyamatoknak, mint például a sejtadhézió, a sejtosztódás kontakt gátlása, vírusok, baktériumok, hormonok, toxinok megkötődése a sejteken, az immunválasz kialakulása, az ivarsejtek egymásra találása stb.. Az említett jelenségek minél alaposabb megértéséhez a kulcsfontosságú szénhidrátok molekuláris biológiai szerepének megismerése vihet közelebb. Ezekhez a biológiai, biokémiai vizsgálódásokhoz a szénhidrátszármazékok nagyobb mennyiségére van szükség, melyek természetes forrásokból már nem izolálhatók. Ezért az adott vegyületek, illetve azok alkotóelemeinek kémiai szintézise, valamint az ezekkel szerkezetükben és vagy hatásukban analóg vegyületek (mimetikumok) előállítása a szerkezet-hatás összefüggések megismerése szempontjából elengedhetetlen.

Valamennyi biológiailag jelentős szénhidrátszármazék felépítésében és lebontásában alapvető a glikozidos kötések képződése és hasadása. Az ilyen folyamatokat glikozil-transzferáz és glikozid-hidroláz (glikozidáz) enzimek katalizálják. A glikozidázok fontos szerepet játszanak számos alapvető biológiai folyamatban, mint például a tápanyaglebontás és felszívódás szabályozásában, a glikoproteinek katabolizmusában és ezek transzláció utáni módosításában. Ezeknek az enzimeknek ma már számos inhibitora ismert, melyek egy része reverzibilisen, más részük pedig irreverzibilisen kötődik a glikozidázokhoz. A reverzibilis és az irreverzibilis inhibitorok egyaránt széles alkalmazási területekkel rendelkeznek.

A glikozidázgátlók fontos szerepet játszanak a glikozidázok enzimológiájának felderítésében, valamint az aktív centrum feltérképezésében. Ezenkívül gyógyászatban való alkalmazásuk is nagy lehetőségeket rejt magában. Aktívan kutatják a glikozidázgátlók használatát például a rák és az AIDS kezelési stratégiájaként.

Az ismert inhibitorok egy része előfordul a természetben, más részük pedig szintetikus eredetű. E gátlószerek a glikomimetikumok egyik fontos csoportját alkotják, melyek előállítása a modern szénhidrátkémia egyik fontos feladata. Ennek révén például terápiás vagy biotechnológiai célokra alkalmazható vegyületek nyerhetők. Ilyenek például az eltérő gyűrűtagszámú azacukrok, amelyek közül a héttagú származékok is jó glikozidáz inhibitorok.

A szeptanózgyűrűt tartalmazó cukorszármazékok a gyűrű flexibilitása miatt a héttagú azacukrokhoz hasonlóan kötődhetnek a glikozidáz enzimekhez. Nem véletlen tehát, hogy napjainkban a szénhidrátkémiai kutatások egyik igen érdekes területét jelentik a szeptanózgyűrűt tartalmazó cukorszármazékok szintézisei.

Munkánk egyik célja az anomer centrumhoz kapcsolódó exociklusos szénatomon karbén képzése és reaktivitásának vizsgálata volt, mely új utat nyithat többek között a szeptanózgyűrűs cukorszármazékok intramolekuláris karbén beékelődési reakción alapuló általános szintézisének kidolgozására.

Munkánk másik célja az anomer centrumhoz kapcsolódó exociklusos szénatomon C=N kötést tartalmazó szénhidrátszármazékok szintézise volt. Bár az imin-típusú vegyületek átalakítási lehetőségei igen sokfélék – nukleofilek, valamint gyökök intra-, illetve intermolekuláris addíciója a C=N kötésre, cikloaddíciós reakciók, Mannich-típusú reakciók, tozilhidrazonok Bamford-Stevens reakciója stb. – az általunk előállítani kívánt vegyülettípus csak kevésbé ismert a szénhidrátkémia területén.

2. Az alkalmazott vizsgálati módszerek

Szintetikus munkánk során a modern preparatív szerves kémia makro-, félmikro- és mikromódszereit egyaránt alkalmaztuk. A reakciók követésére, az anyagok tisztaságának ellenőrzésére vékonyrétegekromatográfiát, míg a reakcióelegyek tisztítására oszlop-kromatográfiát alkalmaztunk. Az előállított vegyületek jellemzésére, azonosítására és szerkezetének igazolására a klasszikus analitikai eljárások (elemanalízis, olvadáspont és fajlagos forgatóképesség meghatározása) mellett a modern IR, ^1H - és ^{13}C -NMR spektroszkópiai módszereket, valamint röntgenkristallográfiát alkalmaztunk.

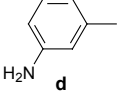
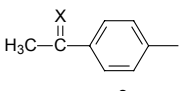
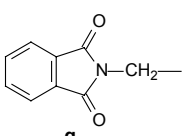
3. Az értekezés új tudományos eredményei

3.1. Nitrilek átalakítása aldehid-tozil-hidrazonokká

Általános módszert dolgoztunk ki a nitrilek aldehid-tozil-hidrazonokká történő átalakítására. Az új *“egytál reakció”* során a nitrilt Raney-nikkel és nátrium-hipofoszfít jelenlétében víz-ecetsav-piridin elegyben szobahőmérsékleten vagy 40 °C-on tozil-hidrazin csapdázó ágens mellett redukáltuk. Az eljárást sikerrel alkalmaztuk néhány aromás

(**264a-f**¹), egy alifás nitril (**264g**) (1. táblázat), illetve számos anhidro-aldononitril (**210a-g**) esetén (2. táblázat). A kívánt termékeket (**265a-e,g**, **266a-g**) a **265f** piridin származék (20%) kivételével jó hozamban (55-100%) izoláltuk.

1. táblázat Aromás és alifás nitrilek átalakítása aldehid-tozil-hidrazonokká

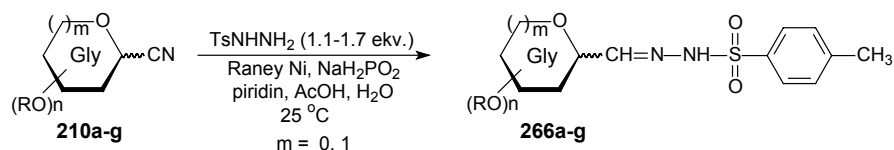
$\text{R-CN} \xrightarrow[\text{Raney Ni, NaH}_2\text{PO}_2, \text{piridin, AcOH, H}_2\text{O}, 25^\circ\text{C}]{\text{TsNHNH}_2 (1.7 \text{ ekv.})} \text{R-CH=N-NHTs}$		
264a-g	265a-g	
Sorszám	R	Izolált hozam (%)
1		96
	a	
2		85
	b	
3		88
	c	
4		83
	d	
5		80 ^a
	e	
	X = O a kiindulási anyagban	
	X = NNHTs a termékben	
6		20 ^b
	f	
7		75
	g	

^a A reakciót 3 ekv. TsNHNH₂-nal végeztük.

^b A reakciót ecetsav-víz elegyében végeztük.

¹ A tézisekben a vegyületek számozása megegyezik a disszertációban használttal.

2. táblázat Anhidro-aldononitrilek átalakítása anhidro-aldóz-tozil-hidrazonokká



Sorszám	Gly	TsNHNH ₂ (ekv.)	Izolált hozam (%)
1		1.7	55
2		1.1	90 ^a
3		1.7	60 ^b
4		1.2	58
5		1.2	73
6		1.2	69
7		1.7	sok komponensű reakcióelegy 64 ^c
8		1.7	
9		1.7	100 ^a

^a Nyerstermék.

^b 94%-os konverzió.

^c Reakciót hőmérséklet: 40 °C.

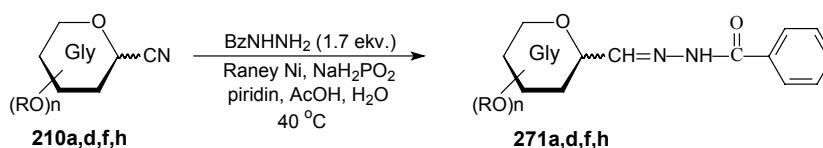
A módszer nem volt alkalmas 1-szubsztituált-glikozil-cianidok (1-szubsztituensek: **267**, NHAc; **268**, OAc; **105**, N₃; **269**, F), illetve az 1-ciano-galaktál (**270**) tozil-hidrazonná való átalakítására. A **105**, **268-270** származékok több komponensű reakcióelegyekhez vezettek, melyekből nem tudtunk tozil-hidrazont izolálni. A **267** ciano-acetamid pedig magasabb hőmérsékleten (60 °C) sem alakult át.

3.2. Anhidro-aldononitrilek átalakítása anhidro-aldóz-benzoil-hidrazonokká és -szemikarbazonokká

Csapdázó ágensként benzoil-hidrazint alkalmazva az anhidro-aldononitrileket (**210a,d,f,h**) 58-90%-os hozamban alakítottuk át a megfelelő anhidro-aldóz-benzoil-hidrazonokká (**271a,d,f,h**) (3. táblázat), míg szemikarbazid alkalmazásával a **272a,d,f,h** anhidro-aldóz-szemikarbazonokat állítottuk elő 54-89%-os hozamban (4. táblázat).

Az eljárást megpróbáltuk kiterjeszteni oximok, illetve Schiff-bázisok szintézisére is. A 3,4,5,7-tetra-*O*-acetyl-2,6-anhidro-D-glicero-L-manno-heptononitril (**210a**) hidroxil-amin és *O*-benzil-hidroxil-amin hidrokloridjával, illetve benzil-amminnal végzett reakciói során a **263** 1-formil-galaktált (15-69%), valamint néhány esetben a kiindulási anhidro-aldononitrilt (**210a**) (5-38%) izoláltuk a reakcióelegyből. Az anilinnel és fenil-hidrazin-hidrokloriddal végzett átalakítások pedig több komponensű reakcióelegyekhez vezettek, melyeknél a komponensek szétválasztása oszlopkromatográfián nem volt megoldható.

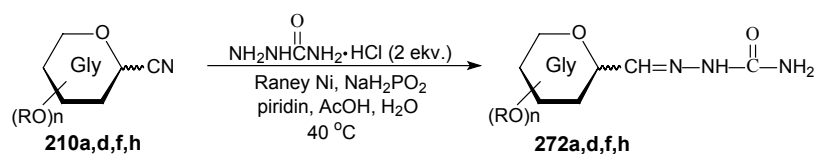
3. táblázat Anhidro-aldononitrilek átalakítása anhidro-aldóz-benzoil-hidrazonokká



Sorszám	Gly	Izolált hozam (%)
1		86
2		58
3		84 ^a
4		90 ^a

^a Nyerstermék.

4. táblázat Anhidro-aldononitrilek átalakítása anhidro-aldóz-szemikarbazonokká



Sorszám	Gly	Izolált hozam (%)
1		54
2		89 ^a
3		65 ^a
4		63

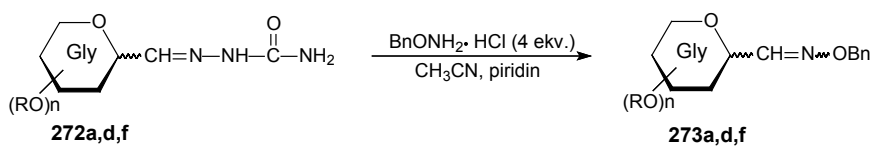
^a Nyerstermék.

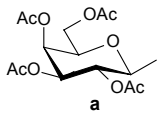
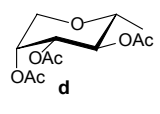
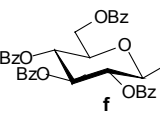
3.3. *O*-benzil-(anhidro-aldóz)-oximok, anhidro-aldóz-oximok és -tioszemikarbazonok előállítása

Az anhidro-aldóz-szemikarbazonok transziminálási reakcióival megoldottuk az *O*-benzil-(anhidro-aldóz)-oximok, illetve az anhidro-aldóz-oximok előállítását. A reakciók során a megfelelő anhidro-aldóz-szemikarbazonokat (**272a,d,f**) acetonitril-piridin elegyében *O*-benzil-hidroxil-amin, illetve hidroxil-amin hidrokloridjával reagáltattuk szobahőmérsékleten. A megfelelő *O*-benzil-oximok (**273a,d,f**) diasztereomer keverékeit 79-95%-os (5. táblázat), az oximok (**186a,g,f**) diasztereomer keverékeit 65-96%-os hozamban (7. táblázat) izoláltuk. A diaszteromerek elválasztását oszlopkromatográfiásan nem tudtuk megoldani.

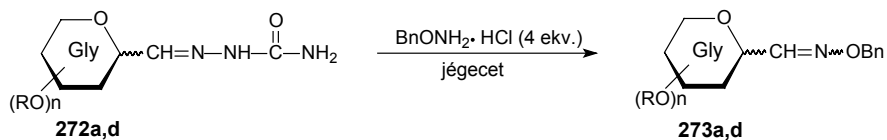
A reakció egyszerűsítése érdekében a **272a** és **272d** vegyületek esetében a reakciót *O*-benzil-hidroxil-amin-hidrokloriddal jégcetben is elvégeztük, a megfelelő *O*-benzil-oximokat (**273a**, **273d**) diasztereomerek keverékeként 90-79%-os hozamban izoláltuk (6. táblázat).

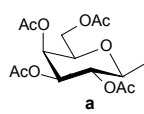
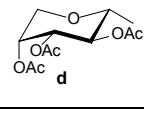
5. táblázat Anhidro-aldóz-szemikarbazonok átalakítása *O*-benzil-(anhidro-aldóz)-oximokká I.



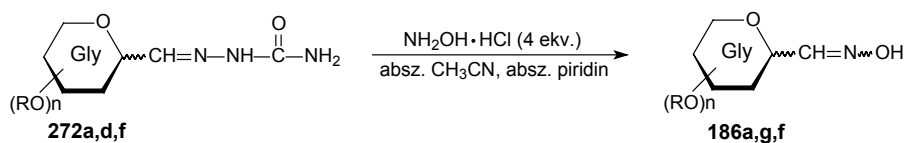
Sorszám	Gly	Reakcióidő (h)	Diasztereomer arány (<i>E/Z</i>)	Izolált hozam (%)
1		27	13:1	95
2		19	5:1	79
3		19	7:1	84

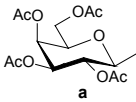
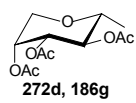
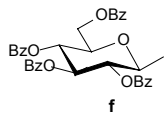
6. táblázat Anhidro-aldóz-szemikarbazonok átalakítása *O*-benzil-(anhidro-aldóz)-oximokká II.



Sorszám	Gly	Reakcióidő (h)	Diasztereomer arány (<i>E/Z</i>)	Izolált hozam (%)
1		24	11:1	90
2		24	10:1	79

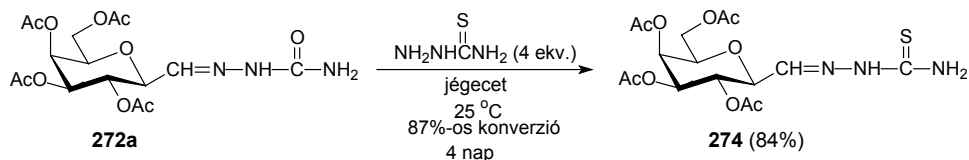
7. táblázat Anhidro-aldóz-szemikarbazonok átalakítása anhidro-aldóz-oximokká



Sorszám	Gly	Reakcióidő (h)	Diasztereomer arány (E/Z)	Izolált hozam (%)
1		24	7:1	65
2		24	5:1	96 ^a
3		24	20:1	91

^a Nyerstermék.

A transziminálási reakcióval a 3,4,5,7-tetra-*O*-acetyl-2,6-anhidro-D-glicero-L-manno-heptóz-szemikarbazonból (**272a**) előállítottuk a megfelelő tioszemikarbazont (**274**). Jó hozamot (84%, 87%-os konverzió mellett) azonban csak akkor értünk el, amikor az eredetileg alkalmazott acetonitril-piridin elegy helyett jégecetet használtunk oldószerként (1. ábra):



1. ábra

A Schiff-bázisok szintézisét a szemikarbazonok transziminálásával sem tudtuk megvalósítani. Az anilin-, valamint benzil-amin-hidrokloriddal acetonitril-piridin elegyben, illetve jégecetben végzett reakciók során még több nap elteltével és 10 ekvivalens amin származék alkalmazása esetén sem tapasztaltunk átalakulást.

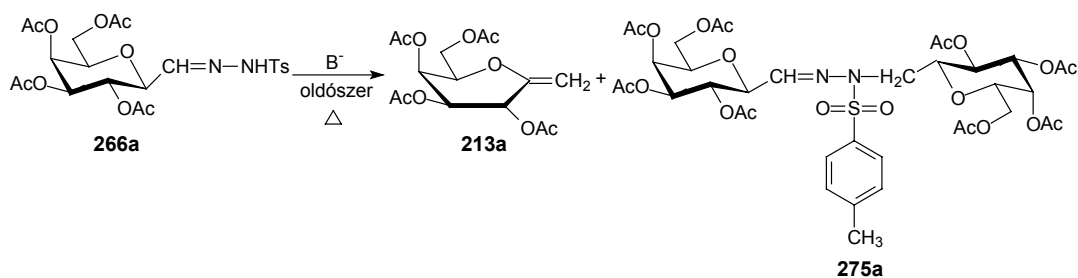
3.4. *Exo*-glikálok (2,5- vagy 2,6-anhidro-1-dezoxi-hex- vagy -hept-1-enókok) előállítása

A termolitikus úton történő karbénképzést, a reakciókörülmények optimalizálását először a könnyen hozzáférhető D-galakto származékkal (**266a**) végeztük el. A reakciókat vízmentes oldószerekben, forráshőmérsékleten hajtottuk végre. A reakciók minden esetben két termék, a **213a** *exo*-glikál, valamint a **275a** tozil-hidrazon származék képződéséhez vezettek (8. táblázat).

Mivel a legjobb hozamot a nátrium-hidrid – 1,4-dioxán összeállítás során érték el, ezért e reakció optimalizálásával, a reakcióhőmérséklet, illetve a bázis mennyiségének változtatásával próbáltuk meg a reakciót az *exo*-glikál képződésének irányába vinni (8. táblázat)

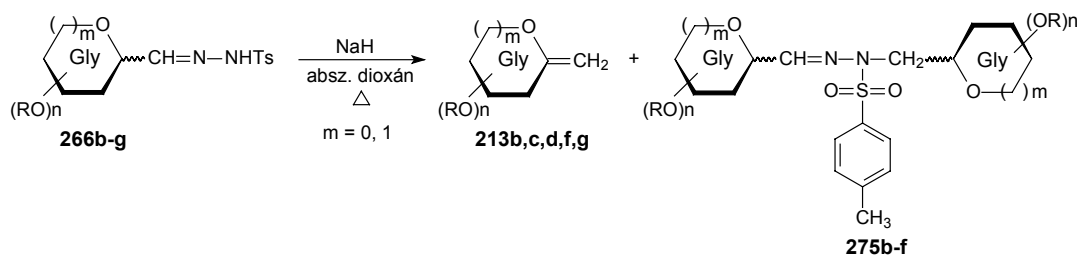
Vizsgálatainkat később más anhidro-aldononitrilekre is kiterjesztettük, kísérleteink eredményeit a 9. táblázatban foglaltuk össze.

8. táblázat A **266a** anhidro-aldóz-tozil-hidrazon sók termolízise



Sorszám	Bázis (ekv.)	Oldószer	T (°C)	Izolált hozam (%)	
				213a	275a
1	Bu ₄ NOH (1.5)	nitrobenzol	210	nem izoláltuk	
2	KOt-Bu (2)	<i>t</i> -BuOH	80	7	nem izoláltuk
3	NaOMe (2)	1,4-dioxán	100	26	19
4	NaH (1.2)	1,4-dioxán	100	52	17
5	NaH (2.4)	diglim	110	8	18
6	NaOMe (3)	diglim	110	15	14
7	NaH (1.2)	1,4-dioxán	40	nincs átalakulás	
8	NaH (1.2)	1,4-dioxán	60	nincs átalakulás	
9	NaH (1.2)	1,4-dioxán	80	10	31
10	NaH (5)	1,4-dioxán	100	59	nem izoláltuk
11	NaH (10)	1,4-dioxán	100	77	nem képződött

9. táblázat Anhidro-aldóz-tozil-hidrazon sók termolízise

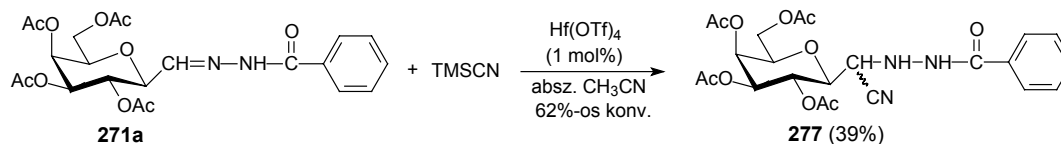


Sorszám	Gly	NaH (ekv.)	Izolált hozam (%)	
			213	275
1		1.7	11	59
2		10	39	22
3		10	74	nem képződött
4		1.2	25	30
5		10	86	nem képződött
6		2	18	nem izoláltuk
7		10	7	nem képződött
	266e, 213d			
8		2.2	16	45
9		10	72	nem képződött
10		2	50	nem képződött

3.5. C-nukleofilek addíciójának vizsgálata a 3,4,5,7-tetra-O-acetil-2,6-anhidro-D-glicero-L-manno-heptóz-benzoil-hidrazon C=N kötésére

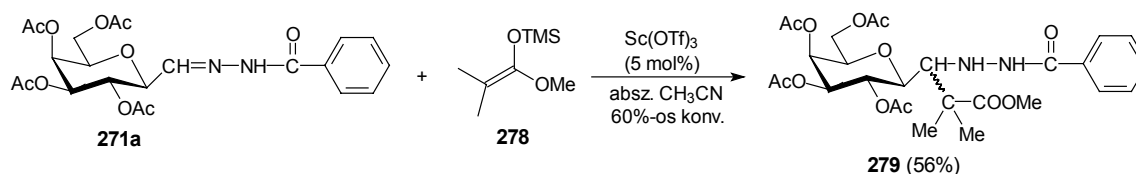
Előkísérleteket végeztünk a benzoil-hidrazonok C=N kötésére történő nukleofil addíciók területén. A 3,4,5,7-tetra-O-acetil-2,6-anhidro-D-glicero-L-manno-heptóz-benzoil-

hidrazon (**271a**) trimetil-szilil-cianiddal $\text{Hf}(\text{OTf})_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ jelenlétében végzett reakciója során egy α -amino- α -(β -D-galaktopiranozil)-ecetsav származékot (**277**) állítottunk elő 39%-os hozamban 62%-os konverzió mellett (2. ábra).



2. ábra

A **271a** Mannich típusú reakciója során a kiindulási benzoil-hidrazont a **278** ketén-szilil-acetál származékkal reagáltattuk $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ jelenlétében, a **279** α -(β -D-galaktopiranozil)- β -amino-karbonsav származékot 60%-os konverzió mellett 56%-os hozamban izoláltuk (3. ábra).



3. ábra

4. Az eredmények hasznosításának lehetőségei

A bemutatott munka elsősorban szénhidrátkémiai alapkutatás, melynek során metodikai fejlesztést végeztünk. A *C*-glikozil-imin típusú vegyületek előállítási módszerei új, alternatív eljárások, amelyek elkerülhetővé teszik pl. az erősen mérgező ónvegyületek használatát.

A $\text{C}=\text{N}$ kötésre történő addíciók új utakat nyithatnak számos glikobiológiailag fontos származék, mint például a *C*-glikozil-aminosavak, a *C*-glikozidok, *C*-diszacharidok, valamint a potenciális glikozil-transzferáz inhibitor *C*-glikozil-metil-foszfónátok szintézise felé. Számos lehetőséget kínálnak ezenkívül a $\text{C}=\text{N}$ kötésre történő cikloaddíciók is, melyek fontos termékei lehetnek például a cukor- β -laktám származékok.

Az *exo*-glikálokhoz vezető új szintézis főleg az acilezett származékok előállítását könnyíti meg.

5. Publikációk

1. **Marietta Tóth**, László Somsák
One-pot transformation of nitriles into aldehyde tosylhydrazones
Tetrahedron Letters **2001**, 42, 2723-2725
2. **Marietta Tóth**, László Somsák
exo-Glycals from glycosyl cyanides. First generation of C-glycosylmethylene carbenes from 2,5- and 2,6-anhydroaldose tosylhydrazones
J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1 **2001**, 942-943
3. László Somsák, László Kovács, **Marietta Tóth**, Erzsébet Ósz, László Szilágyi, Zoltán Györgydeák, Zoltán Dinya, Tibor Docsa, Béla Tóth, Pál Gergely
Synthesis of and a Comparative Study on the Inhibition of Muscle and Liver Glycogen Phosphorylases by Epimeric Pairs of D-Gluco- and D-Xylopyranosylidene-spiro-(thio)hydantoins and *N*-(D-Glucopyranosyl) Amides
J. Med. Chem. **2001**, 44, 2843-2848
4. Tünde Kiss, Andrea Székely, **Marietta Tóth**, László Somsák, László Kiss
Inhibition of β -D-xylosidase (EC 3.2.1.37) from *Aspergillus carbonarius* by β -D-xylopyranose and D-xylal derivatives
előkészületben
5. **Marietta Tóth**, Katalin E. Kövér, Attila Bényei, László Somsák
C-Glycosylmethylene Carbenes: Synthesis of Anhydro-aldose-tosylhydrazones as Precursors, Generation, and a New Route to *exo*-Glycals
előkészületben
6. **Marietta Tóth**, László Somsák
Synthesis of C-glycosylimine derivatives
előkészületben

6. Előadások, poszterek

1. **Marietta Tóth**, László Somsák
Studies on the generation and reactivity of glycosyl-methylene carbenes
MTA Szénhidrátkémiai Munkabizottság előadójelentése, Mátrafüred, 1999. máj. 26-27., előadás
2. **Marietta Tóth**, Veronika Nagy, László Somsák
Synthesis of D-gluco- and D-xylopyranosylidene-spiro(thio)hydantoins and their effect on muscle and liver glycogen phosphorylases
MTA Szénhidrátkémiai Munkabizottság előadójelentése, Mátrafüred, 1999. máj. 26-27., előadás

3. Somsák László, Ősz Erzsébet, Kovács László, Gyóllai Viktor, **Tóth Marietta**, Szilágyi László
Glikozilidén-spiro-heterociklusok: a glikomimetikumok újabb képviselői
MTA Heterociklusos Kémiai Munkabizottság előadóülése, Balatonszemes, 1999. máj. 27-28., előadás
4. Kovács László, **Tóth Marietta**, Ősz Erzsébet, Szilágyi László, Docsa Tibor, Tóth Béla, Gergely Pál
Glikopiranozilidén-spiro-(tio)hidantoinok szintézise és glikogén-foszforiláz inhibíciós hatásuk vizsgálata
MKE, Vegyészkonferencia, Eger, 1999. jún. 22-24., 58. o., poszter
5. Tibor Docsa, Béla Tóth, Pál Gergely, Erzsébet Ősz, László Kovács, **Marietta Tóth**, László Somsák and László Szilágyi
Inhibition of muscle and liver glycogen phosphorylases by glycopyranosylidene-spiro-(thio)hydantoins – *in vitro and in vivo* studies
Eurocarb 10, Galway, Ireland, July 11-16 1999, PD013, p 385., poszter
6. **Tóth Marietta**
Glikozil-metilén-karbének generálása és reakcióik vizsgálata
MKE, XXII. Kémiai Előadói Napok, Szeged, 1999. nov. 1-3., előadás
7. **Marietta Tóth**, László Somsák
Synthesis and transformation of C-glycosyl-aldehyde-hydrazones
MTA Szénhidrátkémiai Munkabizottság előadóülése, Mátrafüred, 2000. máj. 31-jún. 1., előadás
8. **Marietta Tóth**, László Somsák
Synthesis of C-glycosyl-aldehyde-hydrazones and their transformation to *exo*-glycals
20th International Carbohydrate Symposium, Hamburg, Germany, Aug 27-Sep 1 2000, B-364, poszter
9. **Tóth Marietta**, Somsák László
C-glikozil-aldehyd-hidrazonok szintézise és átalakításuk *exo*-glikálokká
Magyar Kémikusok Egyesülete, Vegyészkonferencia, Hajdúszoboszló, 2001. jún. 27-29., 122. o., poszter
10. **Marietta Tóth**, László Somsák
Synthesis of C-glycosyl-aldehyde-hydrazone, -semicarbazone and -oxime derivatives
MTA Szénhidrátkémiai Munkabizottság előadóülése, Mátrafüred, 2001. máj. 21-23., előadás