

**Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei**

**Új heterotriciklust tartalmazó nukleozid analógok  
szintézise**

Kicsák Máté

Témavezető: Prof. Dr. Herczegh Pál



**DEBRECENI EGYETEM**

Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2018

## Új heterotriciklust tartalmazó nukleozid analógok szintézise

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében  
a gyógyszerészeti tudományok tudományágban

Írta: Kicsák Máté, okleveles gyógyszerész

Készült a Debreceni Egyetem Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskolája  
(Farmakológia programja) keretében

Témavezető: Prof. Dr. Herczegh Pál, az MTA doktora

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Prof. Dr. Gergely Lajos, az MTA doktora  
tagok: Dr. Agócs Attila, PhD  
Dr. Szakonyi Zsolt, PhD

A doktori szigorlat időpontja: Debreceni Egyetem GYTK, Gyógyszerhatástani Tanszék  
könyvtára (Elméleti Tömb 5. emelet)  
2018. május 8. 11 óra

Az értekezés bírálói:

Prof. Dr. Kiss Loránd, az MTA doktora  
Prof. Dr. Kurtán Tibor, az MTA doktora

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Gergely Lajos, az MTA doktora  
tagok: Prof. Dr. Kiss Loránd, az MTA doktora  
Prof. Dr. Kurtán Tibor, az MTA doktora  
Dr. Agócs Attila, PhD  
Dr. Szakonyi Zsolt, PhD

Az értekezés védésének időpontja: Debreceni Egyetem ÁOK, Belgyógyászati Intézet „A”  
épület tanterme  
2018. május 8. 13 óra

## Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke.....	3
1. A doktori értekezés előzményei és célkitűzései.....	5
1.1. Irodalmi előzmények .....	5
1.1.1. Nukleozid, illetve nukleotid típusú gyógyszermolekulák .....	5
1.1.2. Konformációsan stabilizált nukleozid származékok .....	6
1.1.3. Morfolinó nukleozid származékok.....	7
1.1.4. Módosított oligonukleotid származékok a terápiában.....	7
1.1.5. Trisz-(hidroximetil)-amino-metán reakciója különböző aldehid és keton származékokkal.....	8
1.2. Célkitűzés .....	8
2. Alkalmazott módszerek .....	9
3. Az értekezés új tudományos eredményei.....	10
3.1. Új módszer kidolgozása trifenilmetil-típusú védőcsoportok eltávolítására .....	10
3.2. Triciklusos nukleozid analógok előállítása.....	11
3.2.1. Uracil-triciklánó .....	11
3.2.2. Hipoxantin-triciklánó .....	12
3.2.3. Timin-triciklánó .....	12
3.2.4. Adenin-triciklánó .....	12
3.2.5. Citozin-triciklánó .....	12
3.2.6. Guanin-triciklánó .....	13
4. Összefoglalás .....	14
5. Az értekezés témájához kapcsolódó tudományos munkásság .....	15
6. Egyéb tudományos munkásság .....	16
7. Köszönetnyilvánítás .....	17

## Rövidítések jegyzéke

$^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC: proton-szén heteronukleáris többkötéses korrelációs spektroszkópia (heteronuclear multiple-bond correlation spectroscopy)

$^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC: proton-szén heteronukleáris egyszeres-kvantum korrelációs spektroszkópia (heteronuclear single-quantum correlation spectroscopy)

$^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY: proton-proton korrelációs spektroszkópia (correlation spectroscopy)

2D NMR: two-dimensional nuclear magnetic resonance, kétdimenziós mágneses magrezonancia

AIDS: acquired immune deficiency syndrome, szerzett immunhiányos tünetegyüttes

ALL: akut limfoid leukémia, akut limfoblasztos leukémia

AMD: age-related macular degeneration, időskori makuladegeneráció

AML: akut mieloid leukémia, akut mielogén leukémia

CLL: krónikus limfoid leukémia (chronic lymphocytic leukemia), B-sejtes krónikus limfocitás leukémia (B-CLL)

CML: krónikus mieloid leukémia (chronic myelogenous leukemia), krónikus mielogén leukémia

CMV: citomegalovírus (HHV-5)

DFT: density functional theory, sűrűségfunkcionál elmélet

DMTr: 4,4'-dimetoxitritil

DNS: deoxiribonukleinsav

ESI: electrospray ionization, elektropray ionizáció

FDA: Food and Drug Administration, Amerikai Élelmiszer- és Gyógyszerengedélyeztetési Hivatal

Fmoc: fluorenylmethyloxycarbonyl, fluorenil-metiloxi-karbonil

HHV: humán herpeszvírus

HIV: humán immundeficiencia vírus, humán immunelégtelenség vírus

HTLV: humán T-limfotróp vírus, humán T-nyiroksejt vírus

LNS: „lakatolt” nukleinsav, locked nucleic acid (LNA)

MALDI: matrix-assisted laser desorption ionization, mátrix segített lézer deszorpciós ionizáció

MMTr: 4-monometoxitritil

NMR: nuclear magnetic resonance, mágneses magrezonancia

PMO: phosphorodiamidate morpholino oligomer, foszforodiamidát morfolinó oligomer

RNS: ribonukleinsav

TBAF: tetra-*n*-butilammónium-fluorid

TBDMS: *tert*-butil-dimetilszilil

TES: trietil-szilil

Trisz: trisz-(hidroximetil)-amino-metán

# 1. A doktori értekezés előzményei és célkitűzései

## 1.1. Irodalmi előzmények

### 1.1.1. Nukleozid, illetve nukleotid típusú gyógyszermolekulák

A gyógyászatban alkalmazott nukleozid, illetve nukleotid típusú gyógyszerhatóanyagok hatásmechanizmusukat tekintve változatosak. A sejtek szaporodását különböző pontokon gátolhatják, mint például replikáció, transzkripció, transláció, illetve egyéb biológiai funkciók. Mindegyik vegyületben közös az, hogy a heterociklusos bázist és/vagy a szénhidrátégyeséget szokták módosítani. A módosított származékok vagy monomerként, vagy oligomerként kerülnek felhasználásra. A vegyületek előállítása kémiai szintézissel történik, így igen jelentős feladat hárul a gyógyszerkémikusokra egy új hatóanyag kifejlesztése során.

A nukleinsavak bioszintézisét gátló tumorellenes és immunszuppresszív vegyületeket antimetabolitoknak nevezzük. Hatásukat úgy fejtik ki, hogy a szervezetben aktiválódva (foszforiláz, kináz által) valamilyen célponttal alakítanak ki kölcsönhatást, leggyakrabban enzimekkel (DNS-polimeráz, ribonukleotid-reduktáz), illetve beépülnek a DNS-be és/vagy RNS-be láncterminációt, -törést, -károsodást okozva. Gátolják a sejtproliferációt, ezáltal a sejt elpusztul.

A nukleozid-, illetve nukleotid analógok vegyületek kémiai szerkezetük szerint két csoportra oszthatók. A pirimidin (tegafur, floxuridin, doxifluridin, kapecitabin, 5-fluorouracil, citarabin, gemcitabin, azacitidin és decitabin), illetve purin antagonisták (6-merkaptopurin, 6-tioguanin, azatioprin, fludarabin-foszfát, kladribin, pentosztatin, klofarabin és nelarabin) vegyületeket daganatos megbetegedések, mint például hajas-sejtes leukémia, ALL, AML, CML, CLL, Hodgkin- és non-Hodgkin-limfóma, emlő-, petefészek-, hasnyálmirigy- és nem-kissejtes tüdődaganatok kezelésére, vagy immunszuppresszív terápiában: autoimmun gyulladásozó bélbetegségek (Crohn-betegség, kolitisz ulceróza), reumatoid artritisz, vesetranszplantáció esetén alkalmaznak.

Hasonlóan csoportosíthatók az antivirális nukleozid/nukleotid analóg hatóanyagok is. Támadáspontjuk a virális genom (DNS vagy RNS) és enzimek (polimerázok, kinázok, proteázok, integrázok). A purin- (aciklovir, valaciklovir, penciklovir, famciklovir, ganciklovir, valganciklovir, didanozin, abakavir, adefovir, adefovir-dipivoxil, tenofovir, tenofovir-dizoproxil, entekavir, ribavirin és viramidin), illetve pirimidin analóg (zidovudin, stavudin, lamivudin, emtricitabin, idoxuridin, brivudin, trifluridin, epervudin és cidofovir) gyógyszermolekulák hatásosak például a variola vírus, vaccinia vírus, herpeszvírusok, papillomavírusok, hepatitisz B vírus, a rotavírus, a rubeolavírus, flavivírus, hepatitisz C vírus,

coronavírus, kanyaró vírus, mumpsz vírus, influenzavírus, lyssavírus, Ebola- és Marburg-vírus, poliovírus, retrovírusok (HIV, HTLV), rhinovírus ellen.

### 1.1.2. Konformációsán stabilizált nukleozid származékok

A természetes nukleozidokban a furanóz gyűrű sosem síkalkatú, hanem boríték vagy félszék konformációjú. Ezt a folyamatot puckering-nek (gyűrődés, redőződés, hajtódás) nevezzük, melynek több formája jelentkezik a pszeudorotációs ciklus során. Leginkább kétfajta fő konformációs állapot van egyensúlyban: C2'-endo (S-típus, déli típus) és a C3'-endo (N-típus, északi típus). Az N-típus a ribonukleozidoknál fordul elő, ami az A-RNS, az S-típus a 2'-dezoxiribonukleozidoknál, ami a B-DNS dupla hélixét alkotja.

A különböző konformációs állapotok nagy szerepet játszanak a nukleozidok biológiai funkciói során. Az elmúlt két évtizedben ennek a jelenségnek a hasznosítása vezetett oda, hogy különböző konformációsán rögzített nukleozid, illetve nukleotid származékokat állítottak elő, melyek biológiai vizsgálata során számos megfigyelést és eredményt közöltek: az enzimekhez való kötődést, az enzimikus stabilitást, a hibridizációt, a duplex stabilitást befolyásolja a furanózból levezethető szubsztituált tetrahidrofuran gyűrű korlátozott konformációja. Ilyen származék az LNS („lakatolt” nukleinsav), melyben egy 2'-O,4'-C-CH<sub>2</sub>-áthidalással N-típusú rögzített konformációt alakítottak ki. A 2'-heteroatom,4'-C-áthidalt nukleozidok között a β-D-LNS tekinthető a „szülőnek”. Az évek során a családja különböző származékokkal bővült (β-D-xilo-LNS, α-L-LNS, α-L-xilo-LNS, β-L-LNS, α-D-LNS, β-L-xilo-LNS, α-L-xilo-LNS, 2'-tio-β-D-LNS, 2'-amino-β-D-LNS, foszforotioát-β-D-LNS, metilfoszfonát-β-D-LNS).

Megvizsgálták az LNS származékok tulajdonságait antiszensz oligonukleotidokba beépítve számos *in vitro* és *in vivo* biológiai kísérletben. Az LNS-tartalmú oligonukleotidok hatásos antiszensz vegyületek lehetnek, mivel kitűnően kötődnek a megfelelő komplementer szálhoz, és képesek blokkolni az RNS processzáló enzimeket, triplexképzésre is hajlamosak, illetve jelentős RNáz H aktivációt eredményeznek. A vizsgálatok adatai megerősítették, hogy a farmakokinetikai paraméterek érdekesen változtathatóak a megfelelő LNS kémia megválasztásával.

Jó néhány bi- és triciklusos nukleozid analóg szintézisét is megvalósították szintén abból a célból, hogy a nukleinsavakban található szénhidrátkomponens konformációját rögzítsék, és így növeljék a biológiai stabilitást. 2'-O,3'-C-CH<sub>2</sub>-, 2'-O,3'-C-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>- és 3'-C,5'-C-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-áthidalást, illetve egy 3,6,10-trioxatriciklo[5.3.1.0<sup>2,11</sup>]undekánt tartalmazó 2'-dezoxiribo- és ribonukleozid származékokat állítottak elő. Foszforamidit-kémiát alkalmazva ezek a vegyületek oligomerizálhatóak, így tanulmányozták különböző bi- és triciklusos

nukleotidokat tartalmazó oligomerek biológiai tulajdonságait. A vegyületek konformációját röntgendiffrakcióval, NMR-mérésekkel és molekuladinamikai számításokkal határozták meg.

### **1.1.3. Morfolinó nukleozid származékok**

A 20. század végén olyan oligonukleotid származék szintéziséről írtak, melyben a furanóz egységet és a foszfátészter gerincet is módosították. A ribofuranóz tetrahydrofuran gyűrűjét morfolin gyűrűvel helyettesítették, és olyan származékot állítottak elő, melyet a primer OH-csoportjánál és a morfolin NH-csoportjánál különböző kötések keresztül oligomerizálni lehet.

Többféle összekötőláncot is kipróbáltak, de végül figyelembe véve a célszekvenciához való kötődést, a szintézis költségét, illetve egyszerűségét, a kémiai stabilitást, a vízdékonyságot és az RNS-hez való affinitását, a foszforodiamidát-kötést választották alapul a morfolinók oligomerizációjához. Az így előállított oligomereket foszforodiamidát morfolinó oligomernek (PMO: phosphorodiamidate morpholino oligomer) nevezzük.

Biológiai vizsgálatok során kiderült, hogy nagyszámú degradáló enzimmel szemben ellenállóak, nagy hatékonysággal és specificitással kötődnek antiszenszként, így genetikai betegségek (pl. Duchenne-féle izomsorvadás) kezelésében ígéretesnek tűnik a használatuk. Mindezek mellett egyes fertőző betegségek kezelésében is jelentős eredményeket értek el morfolinó oligomerek alkalmazásával. Állatkísérletes vizsgálatokban dengue-vírus, Zaire Ebola-vírus és influenzavírus ellen igen jó aktivitást mutattak, gátolták a vírusok replikációját.

### **1.1.4. Módosított oligonukleotid származékok a terápiában**

Az elmúlt húsz év során jelentős fejlődésnek indult módosított oligonukleotid gyógyszerhatóanyagok alkalmazása a terápiában. Ilyen például az antiszenszként ható fomivirsin, melyet az AIDS-betegek CMV felülfertőzés okozta retinitiszére alkalmaztak. Az eteplirsin a korábban említett Duchenne-féle izomsorvadás terápiájára az FDA gyorsított eljárásban elfogadta. A szintén öröklött betegség, spinális izomatrófia kezelésére a nusinersin hagyta jóvá. A mipomersin nevű antiszensz oligonukleotid származékot homozigóta familiáris hiperkoleszterinémia kezelésére alkalmazzák. Ígéretes szernek nyilvánult a klinikai III. fázisban lévő volanesorsin, melyet hipertrigliceridémia, familiáris kilomikronémia szindróma és familiáris részleges lipodisztrófia kezelésére fejlesztettek ki. Nem antiszenszként fejt ki hatását, de szintén oligonukleotid származék a pegaptanib, amely időskori makuladegeneráció (AMD) terápiájában használnak.

### 1.1.5. Trisz-(hidroximetil)-amino-metán reakciója különböző aldehid és keton származékokkal

Trisz és formaldehid 1:2 arányú kondenzációs reakciójával korábban már előállítottak olyan biciklusos származékot, az 5-hidroximetil-3,7-dioxa-1-azabiciklo-[3.3.0]oktánt, mely kettős *O,N*-acetált tartalmaz. Ezenkívül triciklusos származékok előállítását is megvalósították, trisz és hexán-2,5-dion 1:1 arányú reakciójában a 1,7-dimetil-4-hidroximetil-2,6-dioxa-10-azatriciklo-[5.2.1.0<sup>4,10</sup>]dekánt állították elő. Glioxál és trisz sztöchiometrikus arányú 2:2 ciklokondenzációjával egy pentaciklusos származékot szintetizáltak, melyet elneveztek „glytham”-nak. A reakció jó hozammal és teljes sztereoselektivitással ment végbe. Egyéb aminoalkohol származékokkal (szerinol és 2-amino-2-metil-propán-1,3-diol) sok esetben mellékreakciókat tapasztaltak vagy rossz hozammal sikerült csak előállítaniuk a célvegyületeket.

## 1.2. Célkitűzés

Doktori munkám során olyan nukleozid származékok előállítását tűztük ki célul, melyekben ribonukleozidokból kiindulva 2',3'-helyzetben a szekunder hidroxil-csoportokat gyűrűfelnylás közben szekodialdehiddé oxidáljuk metaperjodátot alkalmazva. Az így kapott szekodialdehid származékokat ezután trisz-(hidroximetil)-amino-metánnal (trisz) reagáltatva kondenzációs reakcióban egy teljesen új triciklusos származékot állítunk elő. A reakció során három új kiralitáscentrum generálódik, aminek következtében 2<sup>3</sup> diasztereomer keletkezhet.

A szintézishez kidolgozzuk a megfelelő védőcsoportok bevitelét, és a triciklizáció után annak eltávolítását. Vizsgáljuk a reakció sztereoselektivitását, a reaktánsok és reagensek védőcsoport kompatibilitását, illetve hogy az alkalmazott védőcsoportok befolyásolják-e a sztereoselektivitást. A köztitermékek és végtermékek szerkezetigazolásához tömegspektrometriás és NMR-spektroszkópiás méréseket, illetve konformációs és NMR számításokat végzünk. Továbbá szükséges legalább egy származékról egykristály röntgendiffrakciós mérés, melyeknek eredményeit összehasonlítva a vegyületek pontos szerkezete reményeink szerint meghatározható. A teljesen deprotektált, szabad származékok hidroxil-csoportjuk révén beépülhetnek nukleinsavakba, lánc törést okozhatnak, polimeráz vagy egyéb enzimgátlóként funkcionálhatnak, ezért kooperációban biológiai vizsgálatoknak kívánjuk alávetni, tanulmányozni citotoxikus és antivirális hatásukat.

## 2. Alkalmazott módszerek

A reakciókat vékonyréteg-kromatográfiásan követtem. Az előállított vegyületeket flash kromatográfiás technikával tisztítottam. A vegyületek optikai forgatóképességét polariméterrel határoztuk meg, szerkezetük azonosításához MALDI-TOF és ESI-TOF tömegspektrometriát, illetve  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC és  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC 2D NMR módszereket alkalmaztunk. Egy vegyület abszolút konfigurációját röntgenkristallográfiával határoztuk meg, melynek eredményeit felhasználtuk DFT NMR és konformációs számításokhoz további származékok szerkezetének meghatározásához.

### 3. Az értekezés új tudományos eredményei

#### 3.1. Új módszer kidolgozása trifenilmetil-típusú védőcsoportok eltávolítására

A nukleozidkémiaiában előszeretettel használják a Tr-, MMTr- és DMTr-védőcsoportokat, melyek eltávolítására általában valamilyen erős protikus savat: HCl, HCOOH, AcOH, TsOH, F<sub>3</sub>CCOOH, Cl<sub>3</sub>CCOOH, Cl<sub>2</sub>CHCOOH, és redukáló segédanyagot: Et<sub>3</sub>SiH használnak. A szilárdfázisú oligonukleotid szintézisben a sokkal savérzékenyebb dimetoxitritil-védőcsoportot alkalmazzák, melyet 2-3% Cl<sub>3</sub>CCOOH vagy Cl<sub>2</sub>CHCOOH diklórmétános vagy toluolos oldatával távolítják el. A nagyon erőyes savas körülmény viszont depurinációt okozhat a procedúra során, különösen a 2'-deoxiadenozin esetében.

A fent említett reakciókörülmények azonban nagyon erőyesek a triciklusos vegyületeink számára, így egy új reagens kombináció kidolgozását kaptam feladatul. A protikus savak mellett Lewis-savak, mint például a FeCl<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O, Yb(OTf)<sub>3</sub>, Ce(OTf)<sub>4</sub>, In(OTf)<sub>3</sub>, BCl<sub>3</sub>, ZnBr<sub>2</sub>, BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O, MgBr<sub>2</sub> vagy TMSOTf/TESOTf is alkalmasak trifenilmetil-típusú védőcsoportok eltávolítására. Ugyanakkor az enyhe protikus sav 1,1,1,3,3,3-hexafluor-izopropanol is hatékony a DMTr-védőcsoport deprotektálásban. Továbbá nem csak protikus, hanem Lewis-sav mellett is használható redukáló segédanyagként a Et<sub>3</sub>SiH. Ezek közül a reagensek közül jó néhány enyhe körülményű, azonban sok esetben a reakcióidő meglehetősen hosszú kimenetelű, ami mellékreakciók lejátszódására ad lehetőséget.

Az új ismereteknek a birtokában kísérleteket végeztem tritil-védőcsoport hasítására Lewis-savakat: MgBr<sub>2</sub>·Et<sub>2</sub>O, Yb(OTf)<sub>3</sub>, FeCl<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O, Cu(OTf)<sub>2</sub>, BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O, ZnCl<sub>2</sub>, hexafluor-izopropanollal és Et<sub>3</sub>SiH-nal kombinációban alkalmazva. Legígéretesebbnek a Cu(OTf)<sub>2</sub> és BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O nyilvánult, melyekkel optimaltam a reakciókörülményeket az 5'-O-tritil-uridin modellvegyületen.

A háromkomponensű reagens kombinációknak mechanizmusa feltételezhetően az alkotó komponensek szinergizmusa révén magyarázható. A gyenge protikus sav hexafluor-izopropanol az általában használatos savakhoz hasonlóan protonálja a heteroatomot, melynek következtében trifenilmetil-típusú kation és szabad funkciós csoport (OH, NH<sub>2</sub>, SH) képződik. Egy másik útvonalon a Lewis-sav koordinálódva a heteroatomhoz szintén hasítja a védőcsoportot, és az így generálódó trifenilmetil-típusú kationt a trietil-szilán redukálja trifenilmetán származékká eltolva az egyensúlyt.

Az optimalizálást követően új reagens kombinációknak védőcsoport-kompatibilitását is megvizsgáltuk. A trifenilmetil-védőcsoportok széles palettáját kezeltük új reagens kombinációkkal. Különböző szénhidrát és nukleozid származékok, illetve egy cisztein

származék *O*-Tr, *O*-DMTr, *N*-MMTr, *N*-Tr és *S*-Tr védőcsoportjait távolítottuk el sikeresen enyhe körülmények között, rövid idő alatt, preparatív léptékben.

Összességében jó hozammal mentek végbe a védőcsoport-hasítások. Módszerünk többfajta védőcsoporttal (*O*Ac, izopropilidén ketál, TBDMS-éter, *N*-Bz, illetve *-i*PrCO, valamint *N*-Fmoc) kompatibilis, és változatos szubsztrátumokon alkalmazható. Emellett egy esetben sem tapasztaltunk depurinációt, ami szilárdfázisú oligonukleotid szintézisekben a standard DMTr-eltávolításnál gondot szokott okozni.

### 3.2. Triciklusos nukleozid analógok előállítása

Metaperjodátos oxidációt követően keletkezett szekodialhideket trisz-(hidroximetil)-amino-metánnal (trisz) reagáltatva új típusú triciklusos nukleozid analógokat állítottam elő. A képződő anellált 3,7,10-trioxa-11-azatriciklo[5.3.1.0<sup>5,11</sup>]undekán tartalmaz egy morfolin és két oxazolidin gyűrűt, melyek magukban foglalnak egy kettős *O,N*-acetált. Az új vegyületcsaládunkat a morfolinók után elneveztük triciklánóknak. Korábban előállítottak már különböző bi-, tri- és pentaciklusos áthidalt és anellált heterociklusokat ketonok vagy aldehidek és trisz reakciójával, de a triciklánó magját alkotó heterociklusos vegyületet még nem írták le eddig.

A szintézis során három új kiralitáscentrum generálódik, aminek következtében 2<sup>3</sup> diasztereomer keletkezésére van lehetőség. A reakciónál azonban vékonyréteg-kromatográfián minden esetben egy fő termék képződését tapasztaltam minimálisan elhanyagolható és nem izolálható melléktermékek mellett. A <sup>1</sup>H-NMR spektrumokban, általában a H-1' vagy néhány bázis CH, illetve NH protonjának kémiai eltolódásához hasonló értéknél, körülbelül 3-7%-ban megfigyelhető volt valamilyen melléktermék, ami feltételezhetően egy másik diasztereomer volt. Néhány esetben gyenge, illetve közepes hozammal sikerült izolálni a triciklánó származékokat, de ez valószínűleg a rossz oldékonyság következménye lehet. Ezek alapján elmondható, hogy a reakció nagyfokú diasztereoszelektivitással megy végbe. Mindez azért fontos, mert a legújabb irányelvek alapján a királis gyógyszermolekulákat enantiomer-, illetve diasztereomertiszta formában lehet csak törzskönyveztetni és forgalomba hozni.

#### 3.2.1. Uracil-triciklánó

Először szabad uridinből állítottam elő az első triciklusos nukleozid analógot közepes hozammal (két lépésre), de nagy diasztereoszelektivitással. Majd ezek után vizsgáltam, hogy különböző védőcsoportok hogyan befolyásolják a sztereoszelektivitást és a kitermelést. Sikeresen előállítottam a TBDMS- és Tr-védett uracil-triciklánó származékokat jelentős hozamnöveléssel. Végül a TBDMS-védőcsoportot TBAF-dal, a Tr-csoportot pedig tovább

hangolva az általunk kidolgozott reagens elegyet, a Lewis-savat  $ZnCl_2$ -ra cserélve, annak segítségével távolítottam el. Ezenkívül a Tr-védett uracil-triciklánó származékból acetát észtert képeztem, hátha az így szintetizált vegyület kristályosítható lesz, azonban nem sikerült megfelelő mintát nyerni röntgendiffrakciós méréshez.

### 3.2.2. Hipoxantin-triciklánó

Megpróbáltam a szabad származékot közvetlenül inozinból előállítani. Feltehetően a rossz oldékonyságból adódóan csak rossz hozammal sikerült izolálni a várt terméket. Ezután az uridinnél is bevált TBDMS- és Tr-védőcsoportokat alkalmazva is végrehajtottam a triciklizációt közepes hozamokkal. Mindkét védőcsoport eltávolítása az uracil származékkal analóg módon történt, és hasonló hozamokkal sikerült izolálni a terméket. A Tr-védett hipoxantin-triciklánó származékból szintén acetát észtert képeztem. Az így kapott terméket forró *i*-PrOH-ból átkristályosítva sikerült olyan mintát nyernem, melyből röntgenkristallográfiával meghatározható lett a vegyület abszolút konfigurációja.

### 3.2.3. Timin-triciklánó

Ribotimidinből is elvégeztem a triciklusképzést. Védőcsoport nélkül és Tr-védőcsoport alkalmazásával is előállítottam a timin tartalmú triciklusos származékokat, illetve a tritil-csoport eltávolítását is végrehajtottam. A szabad származékból diacetát észtert képezve olyan származékhoz jutottam, melyet szintén felhasználtunk konformációs, illetve NMR számításokhoz, és így a szerkezetmeghatározáshoz.

### 3.2.4. Adenin-triciklánó

Az amino-csoporttal rendelkező nukleozidok nagyon rossz oldékonyságát figyelembe véve mindenképp szükség volt valamilyen védőcsoport bevitelére. A védőcsoport stratégia kidolgozása során a trifenilmetil-típusú védőcsoportok tűntek a legjobb választásnak, így az adenzin esetében a *bisz*tritol származékon hajtottam végre az oxidációt, majd a triciklusképzést közepes hozammal. A kapott védett származékot deprotektálva az új reagens kombinációkkal előállítottam a szabad adenin-triciklánó származékot.

### 3.2.5. Citozin-triciklánó

A citozin származéknál is szintén a *bisz*tritol-védelmet alkalmazva állítottam elő a triciklusos származékot jó hozammal. A tritol-védőcsoportok hasítása azonban csak az 5'-*O*-helyzetből sikerült, így a sokkal savlabilisabb DMTr-csoport használata mellett döntöttem. A vegyes *N*-DMTr és *O*-Tr védett citidinből kiindulva jó hozammal izoláltam a triciklusos származékot, amiből utána a jól bevált reagens kombinációt alkalmazva előállítottam a szabad citozin-triciklánót. Az alacsony hozam, a közel teljes konverzió ellenére, valószínűleg a nagyon rossz

oldékonyságnak tudható be.

### 3.2.6. Guanin-triciklánó

Guanozinnál először szintén tritil-védőcsoportot alkalmaztam. A triciklusos származékot jó hozammal állítottam elő, azonban a detritilezést követően nem sikerült a várt terméket izolálni. Három napos reakcióidő után valószínűsíthető, hogy a kettős *O,N*-acetál hidrolizált. Próbálkoztam a Tr-védőcsoportok H<sub>2</sub>-nel történő redukciójával Pd/C katalizátorral, illetve nátrium-naftalenidet alkalmazva, de nem jártam sikerrel.

Bízva a citozin származék szintézisének tapasztalataiban *bisz*(dimetoxitritil) származékból is előállítottam a védett guanin-triciklánót, amit sajnos a reagens kombinációval kezelve közepes konverzió mellett csak nagyon rossz hozammal lehetett deprotektálni, és így izolálni a szabad guanin-triciklánót. A reakcióban képződött még a részlegesen dedimetoxitritilezett származék is.

## 4. Összefoglalás

Doktori munkám során új típusú heterotriciklust tartalmazó nukleozid analógok előállításával foglalkoztam. Biológiailag aktív vegyületek előállítása volt a cél, mivel számos nukleozid-, illetve nukleotid analóg gyógyszermolekulát alkalmaznak a daganatellenes és antivirális terápiában. Továbbá jelentős fejlődésnek indult az oligonukleotid származékok alkalmazása ritka, genetikai, illetve anyagcserebetegségek (Duchenne izomdisztrófia, spinális izomatrófia, familiáris hiperkoleszterinémia, hipertrigliceridémia, időskori makuladegeneráció, stb.) kezelésében, valamint gyógyításában.

Alapötletként szolgált, hogy különböző konformációsan korlátozott bi- és triciklusos nukleozid származékokat állítottak már elő, melyek közül néhányak biológiai tulajdonságait is tanulmányozták. Ezek a vegyületek a szénhidráttegység konformációjának rögzítése következtében ellenállóbbak lettek a degradáló enzimekkel szemben, nagyobb hatékonysággal és specificitással hibridizálódtak természetes nukleinsav szálakhoz, RNáz H aktivációt indukáltak.

Védőcsoport nélküli, illetve megfelelően védett ribonukleozidokból kiindulva, metaperjodátos oxidációval szekodialdehideket állítottam elő, melyeket utána Trisszel reagáltattam. A kondenzációs reakcióban egy új anellált heterotriciklusos vázat alakítottam ki a D-ribofuranózt helyettesítve. A keletkező triciklusban három új aszimmetriacentrum képződött, aminek következtében nyolc diasztereomer kialakulására volt lehetőség. A reakciók azonban nagyfokú diasztereoselektivitással mentek végbe. A morfolinó nukleozidok mintájára új vegyületeinket elneveztük triciklánóknak.

A szerkezetmeghatározáshoz az egyik származéknak sikeresen meghatároztuk az abszolút konfigurációját egykristály röntgendiffrakcióval. További három másik vegyületnek DFT NMR és konformációs analíziséből nyert adatait összevetettük a kísérletes NMR kémiai eltolódásokkal. Eredményként mind a négy származék esetében azonos konfigurációt kaptunk.

A szintézis során olyan védőcsoportok alkalmazása volt szükséges, amelyek kompatibilisek a metaperjodátos oxidációval, a triciklizációval és eltávolításuk is lehetséges. Figyelembe véve ezeket a kritériumokat egy új módszert dolgoztunk ki trifenilmetil-típusú védőcsoportok eltávolítására. Háromkomponensű reagens kombinációnk egy Lewis-savat,  $\text{Et}_3\text{SiH}$ -t és hexafluor-izopropanolt tartalmaz, mely gyors és enyhe körülményű védőcsoport-eltávolítást eredményez, ezenkívül számos védőcsoporttal kompatibilis és nagymértékben hangolható. Alkalmazva az új módszerünket, sikeresen előállítottam a szabad triciklánó származékokat uridinből, inozinból, ribotimidinből, adenzinből, citidinből és guanozinból.

## 5. Az értekezés témájához kapcsolódó tudományos munkásság



**DEBRECENI  
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM  
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400  
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

Nyilvántartási szám: DEENK/59/2018.PL  
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Kicsák Máté  
Neptun kód: I00F0W  
Doktori Iskola: Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskola  
MTMT azonosító: 10048006

### A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Kicsák, M.**, Mándi, A., Varga, S., Herczeg, M., Batta, G., Bényei, A., Borbás, A., Herczegh, P.:  
Tricyclanos: conformationally constrained nucleoside analogues with a new heterocycle  
obtained from a D-ribofuranose unit.  
Org. Biomol. Chem. 16 (3), 393-401, 2018.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1039/C7OB02296D>  
IF: 3.564 (2016)
2. **Kicsák, M.**, Bege, M., Bereczki, I., Csávás, M., Herczeg, M., Kupihar, Z., Kovács, L., Borbás, A.,  
Herczegh, P.: A three-component reagent system for rapid and mild removal of O-, N- and S-  
trityl protecting groups.  
Org. Biomol. Chem. 14 (12), 3190-3192, 2016.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1039/C6OB00067C>  
IF: 3.564



## 6. Egyéb tudományos munkásság



**DEBRECENI  
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM  
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**  
H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400  
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

### További közlemények

3. Bege, M., Bereczki, I., Herczeg, M., **Kicsák, M.**, Eszenyi, D., Herczegh, P., Borbás, A.: A low-temperature, photoinduced thiol-ene click reaction: a mild and efficient method for the synthesis of sugar-modified nucleosides.  
Org. Biomol. Chem. 15 (43), 9226-9233, 2017.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1039/C7OB02184D>  
IF: 3.564 (2016)
4. Bereczki, I., **Kicsák, M.**, Dobray, L., Borbás, A., Batta, G., Kéki, S., Nemes Nikodém, É., Ostorházi, E., Rozgonyi, F., Vanderlinden, E., Naesens, L., Herczegh, P.: Semisynthetic teicoplanin derivatives as new influenza virus binding inhibitors: synthesis and antiviral studies.  
Bioorg. Med. Chem. Lett. 24 (15), 3251-3254, 2014.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2014.06.018>  
IF: 2.42

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora:** 13,112

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapján szolgáló közleményekre):**  
7,128

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, 2018.03.07.



## 7. Köszönetnyilvánítás

Köszönetemet fejezem ki témavezetőmnek, *Prof. Dr. Herczegh Pál* egyetemi tanárnak és *Prof. Dr. Borbás Anikó* tanszékvezető egyetemi tanárnak, hogy lehetővé tették számomra a doktori munkám elvégzését a DE GYTK Gyógyszerészi Kémiai Tanszékén, és szakmai tanácsokkal segítettek kísérletes munkámat és dolgozatom elkészítését.

Köszönöm *Dr. Bakai-Bereczki Ilona* és *Dr. Csávás Magdolna* egyetemi adjunktusoknak Tanszékünkéről, továbbá *Dr. Nagy Lajos* és *Dr. Nagy Tibor* egyetemi adjunktusoknak, illetve *Antal Borbálának* a DE TTK Alkalmazott Kémiai Tanszékéről, hogy elvégezték a tömegspektrometriás méréseket, rendelkezésünkre bocsátották a szükséges műszert.

Köszönetet szeretnék mondani *Prof. Dr. Batta Gyula* egyetemi tanárnak a DE TTK Szerves Kémiai Tanszékéről, és a DE GYTK Gyógyszerészi Kémiai Tanszékéről *Dr. Mező Erika* és *Dr. Eszenyi Dániel* egyetemi tanársegédeknek, hogy elvégezték az NMR spektrumok felvételét, amíg meg nem szereztem az NMR operátori képesítést.

*Dr. Mándi Attila* tudományos munkatársnak a DE TTK Szerves Kémiai Tanszékéről szeretném megköszönni a konformációs és NMR számítások elvégzését, az adatok kiértékelését és interpretálását.

Köszönöm *Dr. Bényei Attila* egyetemi docensnek a DE TTK Fizikai Kémiai Tanszékéről és *Dr. Dyanne Cruickshanknek* (Rigaku Oxford Diffraction) a röntgendiffrakciós meghatározásban nyújtott segítségüket.

Szeretném megköszönni *Varga Mariann* vegyésztechnikusnak a vegyületek optikai forgatóképességének a meghatározását. Köszönet illeti *Róth Józsefné* vegyésztechnikust és a Tanszék további munkatársait segítségükért.

Köszönettel tartozom *dr. Bege Miklós* és *dr. Szűcs Zsolt* PhD hallgatóknak, illetve *Varga Mariann* vegyésztechnikusnak hasznos szakmai tanácsaikért és segítségükért a mindennapos preparatív laboratóriumi feladatokban, illetve hogy kellemesebbé és barátságossá tették a légkört munkánk során.

És végül, de nem utolsósorban, köszönöm *családomnak: szüleimnek, nagyszüleimnek, testvéremnek* és *családjának, nagynénémnek* a szakmai, szellemi és anyagi támogatásukat.

A kutatás a GINOP-2.3.2-15-2016-00008 számú projekt keretében, az Európai Unió támogatásával, az Európai Regionális Fejlesztési Alap társfinanszírozásával valósult meg. Továbbá köszönet illeti az EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00009, a TÁMOP-4.2.2.B-15/1/KONV-2015-0001 és a TÁMOP-4.2.1.C-14/1/KONV-2015-0004 azonosító számú projektek támogatását.