



*Arabinogalaktán-típusú oligoszacharid-sorozat szintézise*

doktori (PhD) értekezés tézisei

**Csávás Magdolna**

*Témavezető: Prof. Dr. Lipták András*

Debreceni Egyetem, Természettudományi Kar

Debrecen, 2003

## 1. AZ ÉRTEKEZÉS ELŐZMÉNYEI ÉS CÉLKITŰZÉSEI

A biokémia és a molekuláris biológia intenzív fejlődése során jelentősen átértékelődött a szénhidrátok biológiai szerepe. Az 1970-es évekig a szénhidrátoknak mindössze szerkezeti szerepet tulajdonítottak (vázanyagok), illetve anyagcsere-folyamatok szubsztrátjainak tekintették. A szerkezetvizsgálati módszerek lendületes fejlődése is elősegítette a szemléletváltást. Ismertté vált, hogy a sejtek felületén elhelyezkedő glikokonjugátumok biztosítják a sejt-sejt, sejt-külvilág, sejt-vírus felismerési folyamatot.

Az elválasztástechnikai módszerek finomítása és a szerkezetfelderítési módszerek fejlettsége ellenére nagy kihívást jelent a különböző biológiai rendszerekből izolált igen komplex szerkezetű glikokonjugátumok és szénhidrátok analízise.

A szintetikus szénhidrátkémia egyik feladata feltételezett szerkezetű, magas biológiai aktivitással bíró szénhidrátalapú mimetikumok szintézise, illetve ismert szerkezetű hatóanyagok analóg származékainak előállítása. A kívánt struktúrájú szintetikus szénhidrátok birtokában igazolható a feltételezett szerkezet helyessége, és vizsgálható, hogy a szénhidrátmolekula mely szerkezeti egységei, funkciós csoportjai esszenciálisak a biológiai hatás eléréséhez. További feladatunk az immunológiai hatásokért felelős minimális molekularészlet (epitóp) előállítása.

Doktori munkám során olyan arabinogalaktán-típusú oligoszacharidok szintézisét valósítottam meg, melyek mind növény-, mind humánbiológiai szempontból fontos szerepet játszanak. A szintetikus feladat az *Echinacea purpurea*-ból izolált magas farmakológiai aktivitással bíró oligoszacharidok szintézise, ahol az aktív epitóp szerkezete pontosan nem ismert.

Dolgozatomban beszámolok ezen oligoszacharid sorozat szintéziséről, ennek során bemutatom az alkalmazott védőcsoportok kompatibilitását más védőcsoportokkal, alkalmazásuk korlátait, illetve egy olyan ortogonális védőcsoport-stratégiát, mely a célvegyületek előállításának útját jelentősen lerövidítette. Remélhetően a bemutatott szintetikus módszerek alkalmazásra találnak egyéb komplex oligoszacharidok szintézisében is.

## 2. AZ ALKALMAZOTT VIZSGÁLATI MÓDSZEREK

Szintetikus munkám során a modern preparatív szerves kémia makro-, félmikro- és mikromódszereit alkalmaztam.

A reakciók követésére, az anyagok tisztaságának ellenőrzésére, a termékarányok meghatározására vékonyréteg-, nagynyomású folyadék- és gázkromatográfiás módszereket használtam. A nyerstekek tisztítására, az izomerek szétválasztására kristályosítást és oszlopkromatográfiát alkalmaztam.

Az előállított vegyületek jellemzésére, azonosítására és szerkezetének igazolására elemanalízist, olvadáspont- és fajlagos forgatóképesség-meghatározást, egy- és kétdimenziós NMR spektroszkópiát és MALDI-TOF tömegspektrometriai technikát használtam.

## 3. AZ ÉRTEKEZÉS ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEI

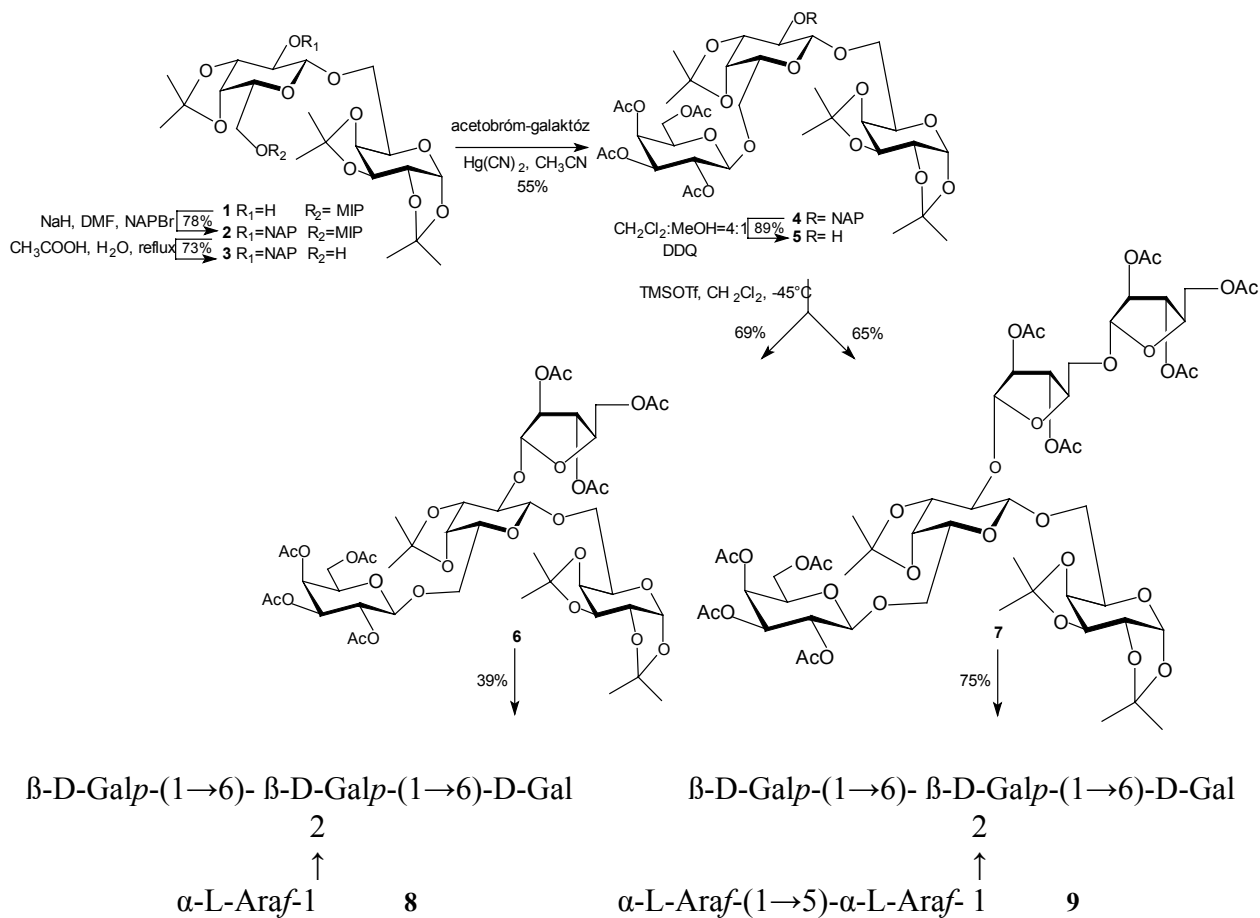
A dolgozatban az *Echinacea purpurea*-ból (lángvörös kasvirág) izolált arabinogalaktánokkal analóg struktúrájú arabinogalaktán oligoszacharid-sorozat szintézisét mutatjuk be. A növényből izolált poliszacharidok szerkezete pontosan nem ismert, egy  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 6)-kötésű galaktopiranozil vázat feltételezünk, melynek minden második vagy harmadik egysége 2-es pozícióban  $\alpha$ -L-arabinofuranozil vagy  $\alpha$ -L-arabinofuranozil-(1 $\rightarrow$ 5)- $\alpha$ -L-arabinofuranozil elágazást hordoz.

### 3.1. Arabinogalaktán típusú tetra- és pentaszacharid szintézise

Az előállított szabad tetra- és pentaszacharid közös  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 6)-kötésű trigalaktán vázzal rendelkezik, melyet az ismert **1** digalaktózból állítottunk elő az alábbi úton: az **1** diszacharidot 2-pozícióban (2-naftil)metil-éterrel (NAP) védjük (**2**), majd a 6'-O-MIP csoport eltávolítása után (**3**) glikozileztük acetobrom-galaktózzal. A teljesen védett **4** triszacharidról a NAP-csoportot oxidatív úton távolítottuk el és a kapott **5** származékot glikozil akceptorként alkalmaztuk arabinozilezési reakciókban.

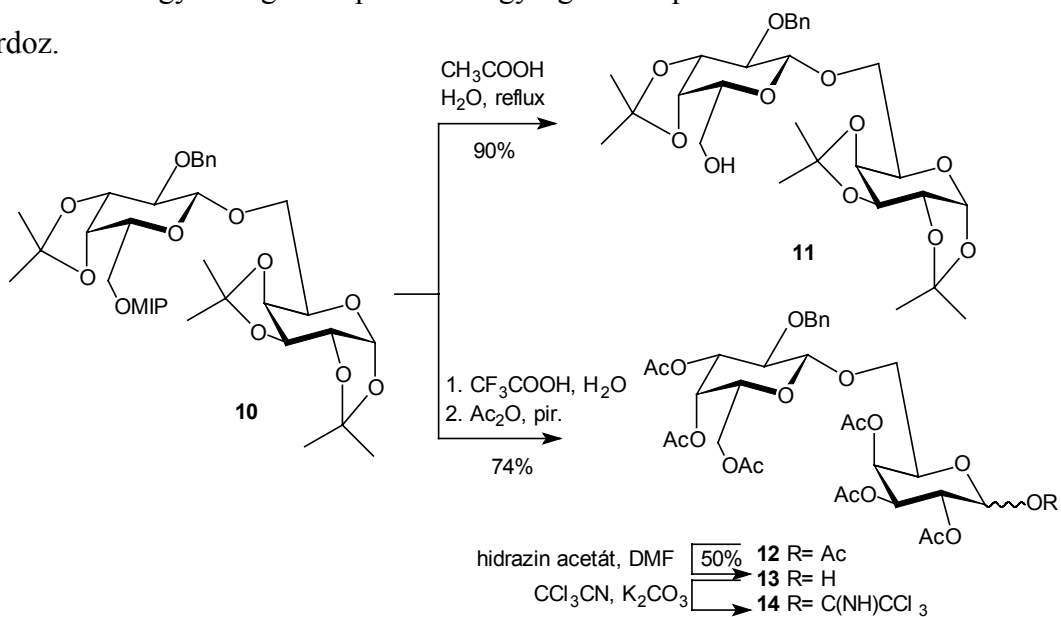
A tetra és- a pentaszacharid előállításához az **5** akceptort glikozileztük egyrészt megfelelő arabinofuranozil-imidát vegyülettel, másrészt a diarabinozil-imidát donorral, majd izoláltuk a kívánt, teljesen védett oligoszacharidokat (**6**, **7**). A védőcsoportok eltávolítása mindkét származéknál azonos módszerrel történt: Zemplén-féle dezacetilezést követően az

izopropilidén acetálokat trifluoecetsavval hidrolizáltuk, és jó hozammal kaptuk a szabad arabinogalaktán-típusú epitópokat (**8, 9**).



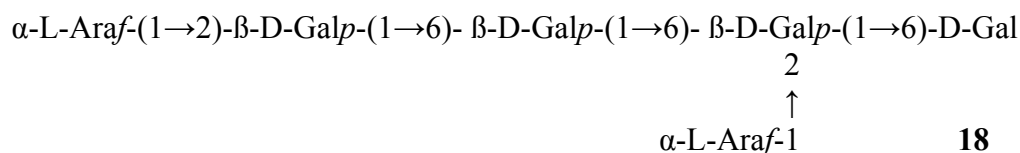
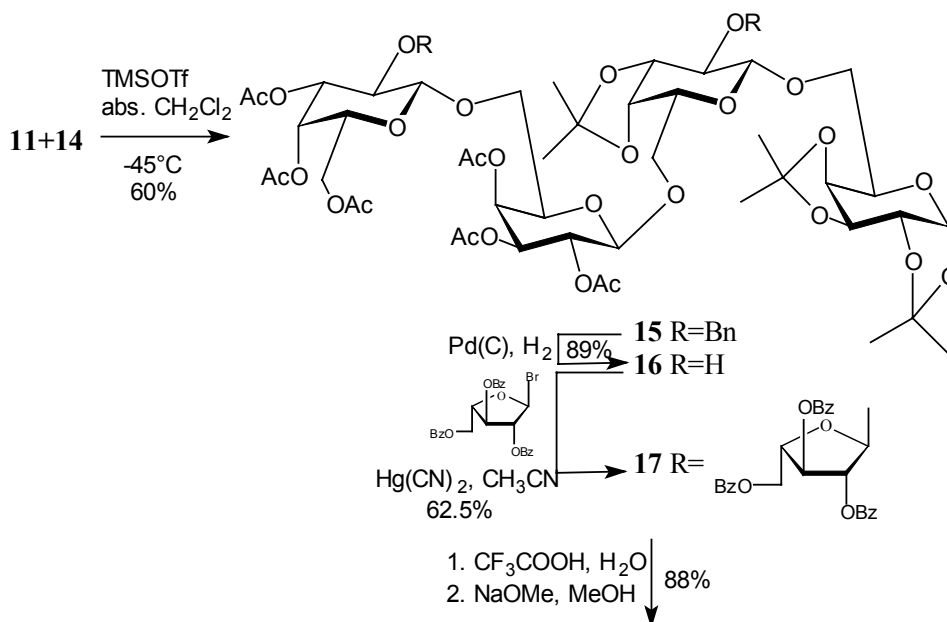
### 3.2. Az arabinogalaktán hexaszacharid előállítása

A tervezett epitóp egy  $\beta\text{(1}\rightarrow\text{6)}$ -kötéssel rendelkező tetragalaktán váz, melynek második és negyedik galaktopiranozil egysége 2-es pozícióban arabinofuranozil elágazást hordoz.



A kutatócsoport munkatársai által előállított **10** diszacharid alkalmasnak tűnt mind glikozil akceptor, mind glikozil donor előállítására egy tetragalaktozid váz szintéziséhez.

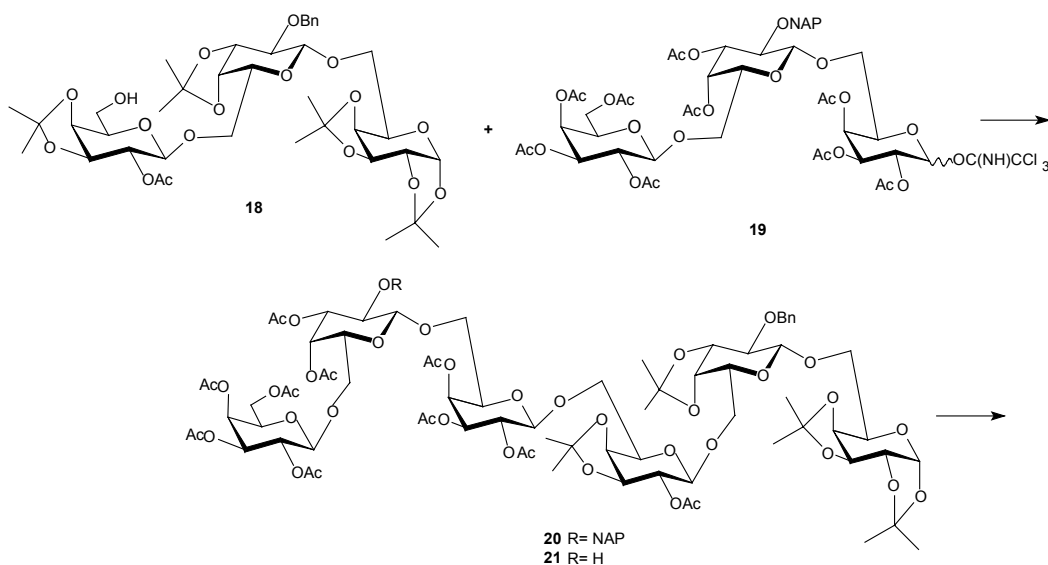
A **10** termékről egyrészt a MIP-étert savval eltávolítva kapjuk a **11** akceptor digalaktozidot, másrészt deizopropilidénezés, acetilezés (**12**), anomer acetil-csoport eltávolítás (**13**) és triklóracetimidoil-vegyületté való alakítás után nyerhető a digalaktozid donor (**14**) komponens.



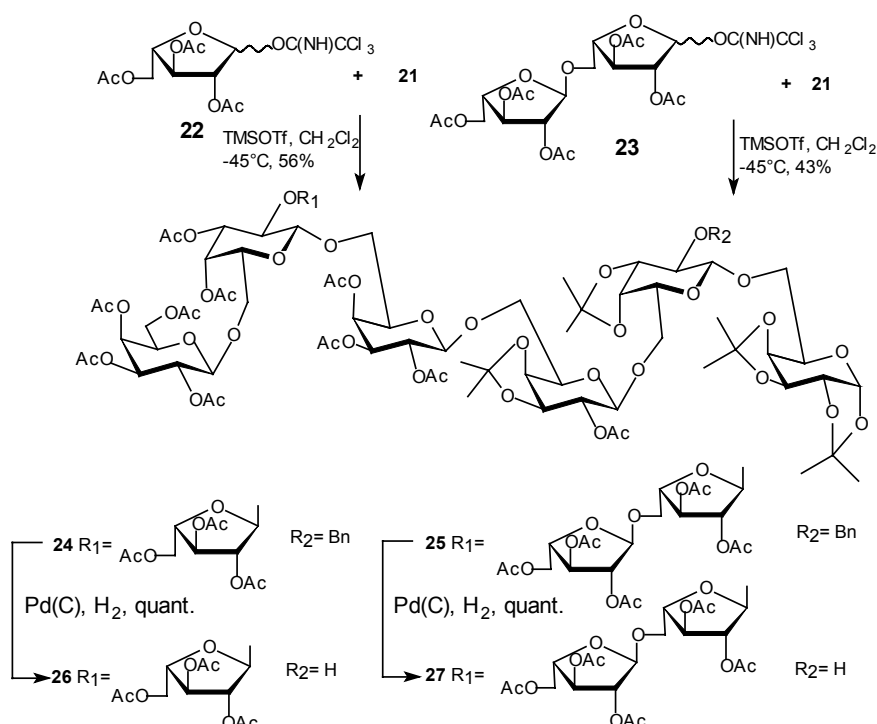
A TMSOTf által aktivált glikozilezési reakcióban képződő tetragalaktozánról (**15**) a két benzil-csoportot hidrogenolízissel eltávolítottuk (**16**), így lehetőség nyílt az arabinofuranozil elágazások egy lépésben történő bevezetésére. Az izolált védett hexaszacharidról (**17**) a védőcsoportokat Zemplén-féle dezacilezéssel, majd savas hidrolízissel eltávolítva kaptuk a szabad arabinogalaktozán hexaszacharidot (**18**).

### 3.2. Arabinogalaktozán-típusú okta- és két izomer nonaszacharid szintézise. Védőcsoport-stratégia összehangolása

Szintetikus tervünk egy közös, (1→6)-kötésű β-D-Galp hexaszacharid vázzal rendelkező okta- és két izomer nonaszacharid szintézise volt, a szintézis során a második és ötödik monoszacharid egység 2-es pozíciójában alakítottunk ki mono- illetve diarabinozil elágazásokat. Az első lépés a hexagalaktozid váz előállítása volt, melyet 3+3 blokk szintézissel oldottunk meg. Előállítottuk a trigalaktán akceptor vegyületet (**18**), mely 2'-*O*-Bn védőcsoportot tartalmaz és a trigalaktán donor származékot (**19**), mely 2'-*O*-NAP védőcsoporttal bír. A védett hexagalaktán (**20**) előállítása TMSOTf-aktiválással történt, 59%-os hozammal.

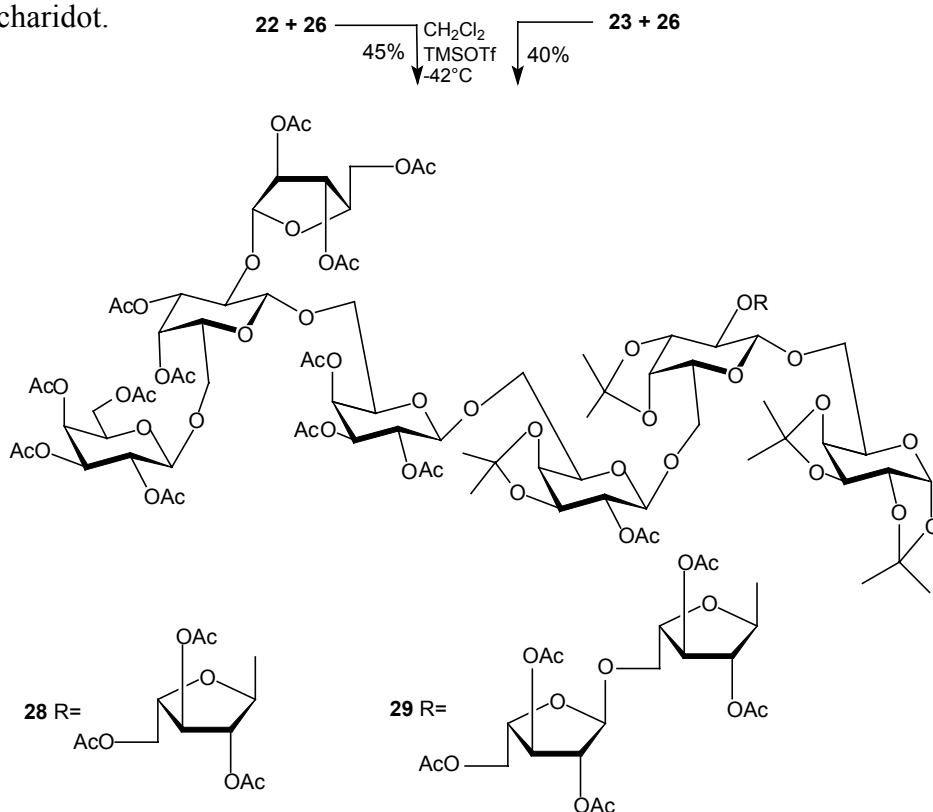


Az *O*-NAP étert szelektíven eltávolítottam benzil-éter jelenlétében oxidatív úton, így jutottam az egyetlen szabad hidroxil-csoportot tartalmazó hexaszacharid akceptorhoz (**21**), melyre elágazás vezethető be mono- (**22**), ill. diarabinofuranozil (**23**) donorral.

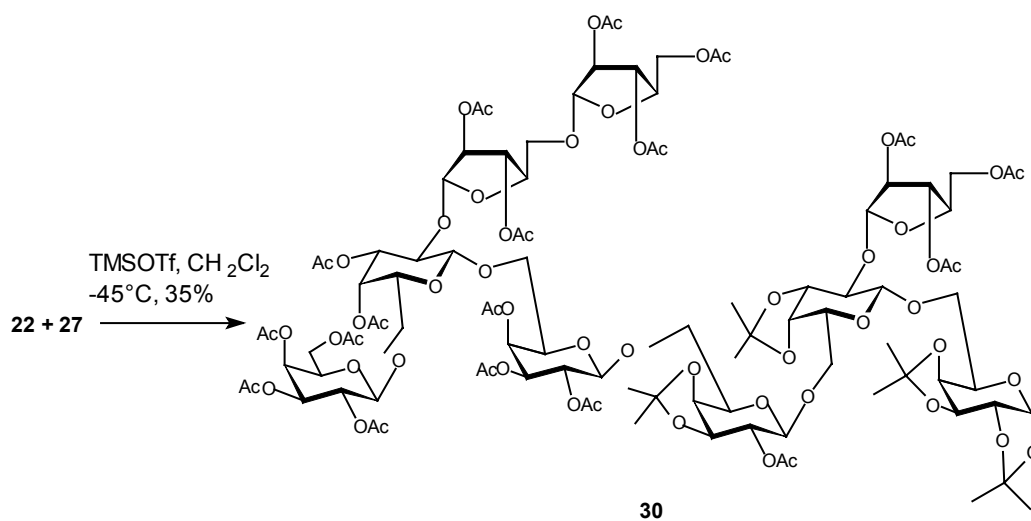


A kapott **24** hepta- és **25** oktaszacharidból, a benzil-csoportok hidrogenolízise után két újabb glikozil akceptort nyertem (**26** és **27**).

A **26** heptaszacharid akceptorra ismét bevezethető volt arabinozil elágazás, mind a **22**, mind a **23** donorvegyülettel, TMSOTf-által aktivált glikozilezési folyamatban. A glikozilezések során jó hozammal nyertem a **28** védett arabinogalaktán oktaszacharidot és a **29** nonaszacharidot.



Végül a **27** oktaszacharid akceptorra vezettem be arabinofuranozil oldalláncot a **22** donor segítségével és izoláltam a második izomer nonaszacharidot (**30**).





## 5. Publikációk jegyzéke

### A dolgozat témakörében megjelent közlemények jegyzéke:

1. Csávás, M., Borbás, A., Jánossy, L., Batta, Gy., Lipták, A.  
Synthesis of the  $\alpha$ -L-Araf-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 6)-  $\beta$ -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 6)-[ $\alpha$ -L-Araf-(1 $\rightarrow$ 2)]-  $\beta$ -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 6)-D-Gal hexasaccharide as a possible repeating unit of the cell-cultured exudates of *Echinacea purpurea* arabinogalactan  
*Carbohydr. Res.* **336** (2001) 107-115.
2. Csávás, M., Borbás, A., Szilágyi, L., Lipták, A.  
Successful combination of (methoxydimethyl)methyl (MIP) and (2-naphthyl)methyl (NAP) ether for the synthesis of arabinogalactan-type oligosaccharides  
*Synlett*, **6** (2002) 887-890.
3. Csávás, M., Borbás, A., Jánossy, L., Lipták, A.  
Synthesis of an arabinogalactan-type octa- and two isomeric nonasaccharides. Suitable tuning of protecting groups  
*Tetrahedron Lett.*, **44** (2003) 631-635.

### Publikáció egyéb témában:

1. Borbás, A., Szabovik, G., Antal, Zs., Fehér, K., Csávás, M., Szilágyi, L., Herczegh, P., Lipták, A.  
Sulfonic acid analogues of the sialyl Lewis X tetrasaccharide  
*Tetrahedron:Asymmetry*, **11** (2000) 549-566.

### A dolgozat körében bemutatott előadások és poszterek jegyzéke:

1. Csávás, M., Borbás, A., Jánossy, L., Batta, Gy., Lipták, A.  
Anticipated repeating unit of the cell-cultured exudates of *Echinacea purpurea* arabinogalactan. Synthesis of the  $\alpha$ -L-Araf-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 6)-[ $\alpha$ -L-Araf-(1 $\rightarrow$ 2)]- $\beta$ -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 6)-D-Gal hexasaccharide  
*Annual Meeting of the Committee of Carbohydrates of Chemistry of the Hungarian Academy of Sciences. 2001, Mátrafüred, Hungary.*

2. Csávás, M., Borbás, A., Jánossy, L., Batta, Gy., Lipták, A.

Az *Echinacea purpurea* sejtenyészetéből izolált arabinogalaktánban ismétlődő egységként előforduló hexaszacharid szintézise

*MKE-Vegyészkonferencia*, 2001, Hajdúszoboszló.

3. Csávás, M., Borbás, A., Jánossy, L., Batta, Gy., Lipták, A.

Synthesis of the anticipated repeating hexasaccharide unit of the cell-cultured exudates of *Echinacea purpurea* arabinogalactan

*11<sup>th</sup> European Carbohydrate Symposium, 2001, Lisszabon, Portugal.*

4. Csávás, M., Borbás, A., Jánossy, L., Lipták, A.

Synthesis of an arabinogalactan-type oligosaccharide series

*Annual Meeting of the Committee of Carbohydrates of Chemistry of the Hungarian Academy of Sciences. 2002, Mátrafüred, Hungary.*

5. Csávás, M., Borbás, A., Jánossy, L., Lipták, A.

Suitable tuning of protecting groups. Synthesis of an arabinogalactan-type oligosaccharide series

*Summer Course Glycosciences. 7<sup>th</sup> European Training Course on Carbohydrates, 2002, Wageningen, The Netherlands.*

#### **Előadások és poszterek egyéb témákban:**

1. Csávás, M., Borbás, A., Lipták, A.

Synthesis of the sulfonic-acid analogues of the sialyl Lewis X tetrasaccharide

*2<sup>nd</sup> East-European Carbohydrate Workshop, 1999, Güstrow, Germany.*

2. Csávás, M., Borbás, A., Lipták, A.

Szénhidrát ligandumok szulfonsav analógjainak szintézise

*OTDK Konferencia, 2001, Gödöllő.*