



Leinamicin antibiotikum analógok szintézise

doktori (PhD) értekezés

Szilágyi Ákos

Debreceni Egyetem
Debrecen, 2007.

Ezen értekezést a Debreceni Egyetem TTK Kémia Doktori Iskola „*Szénhidrátartalmú természetes és mesterséges anyagok kémiája, biokémiája és szerkezet-meghatározása*” című K/5 programja keretében készítettem a Debreceni Egyetem TTK doktori (PhD) fokozatának elnyerése céljából.

Debrecen, 2007.

.....

Szilágyi Ákos
jelölt

Tanúsítom, hogy *Szilágyi Ákos* doktorjelölt 2002-2005 között a fent megnevezett Doktori Iskola K/5 programjának keretében irányításommal végezte munkáját. Az értekezésben foglalt eredményekhez a jelölt önálló alkotó tevékenységével meghatározóan hozzájárult. Az értekezés elfogadását javasolom.

Debrecen, 2007.

.....

Dr. Herczegh Pál
egyetemi tanár
témavezető

„Gondolj merészeket, ne félj attól, hogy hibát követsz el,
ne kerüljék el a figyelmedet az apró részletek,
tartsd nyitva a szemed, és légy mindenben szerény,
kivéve a céljaidban.”

/Szent-Györgyi Albert (1893-1986) – ars poetica/

„A tudomány nagy tragédiája, hogy a csodálatos
elméleteket halomra döntik a ronda tények.”

/Niels Bohr (1885-1962)/

Köszönetemet fejezem ki

Elsőként témavezetőmnek, *Dr. Herczegh Pál* egyetemi tanárnak szeretnék köszönetet mondani, hiszen munkámat mindvégig irányította és az értékes útmutatásaival segítette. Köszönettel tartozom továbbá azért, hogy dolgozatom összeállításában a segítségemre volt és lehetőséget biztosított doktori munkámnak a Debreceni Egyetem OEC Gyógyszerészi Kémia Tanszéken való elvégzésére.

Ezúton szeretnék köszönetet mondani közvetlen munkatársaimnak, az *E-304-es laboratórium* minden volt és jelenlegi tagjának, köszönet a segítségért, amit kaptam tőlük.

Józsa Sándornénak és *Balla Sárának* az NMR mérésekért szeretnék köszönetet mondani. Köszönöm továbbá *Dr. Szabó Pálnak* és *Nagy Lajosnak* a tömegspektrometriai felvételek elkészítését.

Köszönettel tartozom a Debreceni Egyetem OEC Gyógyszertechnológiai Tanszék dolgozóinak, *Dr. Vecsernyés Miklós* egyetemi docensnek, *Dr. Bácskay Ildikó* egyetemi adjunktusnak, *Fenyvesi Ferencnek*, *Váradai Juditnak* és *Fehér Pálmának* a biológiai vizsgálatok elvégzéséhez és az elemzésükhöz nyújtott segítségért.

Baráti és meleg köszönet illeti a *barátaimat*, akikkel együtt indultunk el az élet rögzös útján és akik nélkül nem tarthatnék most itt.

És végül, de nem utolsó sorban *feleségemnek* szeretnék köszönetet mondani, hiszen az ő áldozatvállalása nélkül ez a dolgozat nem készülhetett volna el. Köszönöm a biztató szavakat, a sok-sok türelmet és megértést.

Tartalomjegyzék

1. BEVEZETÉS	5. oldal
2. IRODALMI ELŐZMÉNYEK	7. oldal
2.1. Természetes anyagok a gyógyászatban	7. oldal
2.2. Tumorellenes anyagok	7. oldal
2.2.1. Antimetabolitok – a nukleinsav anyagcserére ható szerek	8. oldal
2.2.2. Biológiai alkilezőszerek	8. oldal
2.2.3. Vegyes hatású citosztatikumok	9. oldal
2.2.4. Citotoxikus hatású antibiotikumok	10. oldal
2.3. A leinamicin: felfedezés és szerkezet	13. oldal
2.4. A leinamicin hatásmechanizmusa	14. oldal
2.5. Leinamicin analógok szintézise	19. oldal
3. SAJÁT VIZSGÁLATOK	31. oldal
3.1. Célkitűzések, retroszintetikus munkaterv	31. oldal
3.2. Megvalósított reakciók	34. oldal
3.2.1. Reakciók 3-fenil-propionaldehiddel	34. oldal
3.2.2. Reakciók arabinózzal	36. oldal
3.2.3. Reakciók nukleozidokkal: uridin	38. oldal
3.2.4. Reakciók nukleozidokkal: timidin	44. oldal
3.2.5. Kísérlet nukleozid spiroszarmazék előállítására	47. oldal
3.2.6. Egy második generációs leinamicin analóg előállítása	48. oldal
3.3. Biológiai vizsgálatok és eredmények	51. oldal
4. ÖSSZEFOGLALÁS	56. oldal
5. SUMMARY	58. oldal
6. KÍSÉRLETES RÉSZ	60. oldal
6.1. Általános módszerek	60. oldal
6.2. Receptek	62. oldal
7. FELHASZNÁLT IRODALOM	77. oldal

Rövidítések jegyzéke

Ac:	<i>acil</i>
Bu:	<i>butil</i>
Bu ¹ :	<i>izobutil</i>
Bu ^t :	<i>tercier-butil</i>
chex:	<i>ciklohexil</i>
DBU:	<i>1,8-diazabiciklo[5.4.0]undec-7-én</i>
DCC:	<i>diciklohexil-karbodiimid</i>
DKM:	<i>diklórmétán</i>
DMD:	<i>dimetil-dioxirán</i>
DMPU:	<i>3,4,5,6-tetrahidro-2-(1H)-pirimidindion</i>
DMSO:	<i>dimetil-szulfoxid</i>
DNS:	<i>deoxiribonukleinsav</i>
ESI TOF MS:	<i>elektrospray ionizációs módszer</i>
Et:	<i>etil</i>
fod:	<i>1,1,1,2,2,3,3-heptafluoro-7,7-dimetil-4,6-oktándionát</i>
iAm:	<i>izoamil</i>
MALDI TOF MS:	<i>mátrix segített lézer deszorpciós módszer</i>
MCPBA:	<i>meta-klór-perbenzoesav</i>
Me:	<i>metil</i>
MIC:	<i>minimális gátló koncentráció</i>
MOM:	<i>metoximetil</i>
MS:	<i>tömegspektrometria</i>
MTHP:	<i>metoxi-tetrahidropiránil</i>
mtsai:	<i>munkatársai</i>
NADPH:	<i>nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát</i>
NBS:	<i>N-brómszukcinimid</i>
nBu:	<i>normál-butil</i>
NMR:	<i>mag-mágneses rezonancia spektroszkópia</i>
PCC:	<i>piridínium-klór-kromát</i>
Ph:	<i>fenil</i>
pTs:	<i>para-toluolszulfonil</i>
py:	<i>piridin</i>
RNS:	<i>ribonukleinsav</i>
RT:	<i>szobahőmérséklet</i>
TBDMS:	<i>tercier-butil-dimetilszilil</i>
TFA:	<i>trifluorecetsav</i>
THF:	<i>tetrahidrofurán</i>
THP:	<i>tetrahidropirán</i>
TMS:	<i>trimetilszilil</i>
Ttkg:	<i>testtömegkilogramm</i>
VRK:	<i>vékonyréteg-kromatográfia</i>

1. Bevezetés

A tudatos gyógyítás az ókor népei (kínaiak, indiaiak, egyiptomiak) által alkalmazott kezdetleges eszközökkel, módszerekkel és hatóanyagokkal kezdődött. Fejlődését a középkorban az alkímia és a jatrokémia segítette elő. A gyógyszerkutatás és az erre épülő gyógyszeripar a XIX-XX. század fordulóján erősödött meg jelentősen. Az első antibiotikum, a penicillin FLEMING által való felfedezését azok gyors térhódítása követte a XX. században. Gyors térnyerésük és a tény, hogy esetenként nehezen, vagy egyáltalán nem pótolhatóak más vegyületekkel, tovább emelte értéküket és fokozta a kutatások intenzitását.

Mára az antibiotikumok félszintetikus és szintetikus analógjainak előállítása és módosítása önálló tudományággá vált, és szoros kapcsolatban áll a mikrobiológiával és a biokémiával. Az alkalmazásukat kísérő rezisztencia jelensége azonban megfontolt használatra int. Ugyan egyre-másra fedeztek fel olyan antibiotikumokat melyek az antibakteriális mellett daganatellenes hatást is mutatnak, a rezisztencia ellen való küzdelem mára központi kérdéssé vált.

Vizsgálataim tárgyának – a leinamicin antibiotikumnak – választását több tényező indokolta: a benne található heterogyűrű unikum az antibiotikumok körében, jóllehet léteznek más kéntartalmú antibakteriális vegyületek is. A molekulának csak egy kis része felelős az aktivitásért, így az analógok előállítása is könnyebb. Kései felfedezése (1989) miatt várható, hogy a törzsek nem, vagy alig rezisztensek vele szemben. Fontos tényező még, hogy ennek a – DNS hasításra képes – antibiotikumnak és származékainak citotoxicitását - jelen ismereteink szerint - eddig mindössze egyetlen esetben vizsgálták, akkor sem behatóan (esetleges szerkezet-hatás összefüggést keresve), és analógjainak száma is kevés.

Munkám során a leinamicin aktivitásáért felelős heterogyűrű új, egyszerűbb szintézisének kidolgozását, az aktív szerkezeti fragmentumok egyszerű hordozókra való felépítését és a kapott származékok citotoxikus aktivitás – kémiai szerkezet összefüggésének vizsgálatát tűztem ki célul.

2. Irodalmi előzmények

2.1. Természetes anyagok a gyógyászatban

Számos természetes eredetű hatóanyag (vagy félszintetikus származékaik) daganatok kezelésében való hatásossága régóta ismeretes. A (gyógy)növények közül néhány faj, mint pl. a *Taxus baccata* (tiszafa), a *Podophyllum peltatum* (észak-amerikai podofillum), a *Camptotheca acuminata* (kínai „örömfá”) a *Curcuma zedoaria* (zedoária) és a *Vinca rosea* (madagaszkári rózsameténg) tumorgátló hatása emlőrák esetén elfogadott és klinikai kísérletekben is igazolt. Más növényeknél, így például a *Panax ginseng* (ginszeng) és az *Allium sativum* (fokhagyma) esetében a tumorgátló hatást sejteken és állatkísérleti modelleken egyaránt igazolták. Szintén tumorelles anyagokat termelnek életciklusuk során a különböző gombafélék, mint például a *Streptomyces* és az *Actinomadura* törzsek.

Fontos tény azonban, hogy egy egészséges emberi sejt és egy tumorsejt között a (bio)kémiai különbség elenyésző, ezért nagyon nehéz szelektíven ható anyagokat találni, illetve készíteni. A hatás többféle mechanizmuson keresztül érvényesülhet. A természetes eredetű tumorelles anyagok egyedi vagy kombinációs terápiában, első vagy második vonalbeli kezelésként egyaránt használhatók.

2.2. Tumorelles anyagok¹

Napjainkban a vezető halálokok között az érrendszeri megbetegedések után a második helyen a daganatos betegségek foglalnak helyet. A rák elleni küzdelemben a sebészeti beavatkozások és a sugárkezelés mellett jelentős szerephez jut a kemoterápia is. Általánosságban citosztatikumnak nevezünk minden olyan anyagot, amely valamilyen módon gátolja a rákos folyamatokat és

optimális esetben pedig teljes felépüléshez vezet. A probléma az, hogy minden szervezet egyedileg reagál a rosszindulatú daganatokra. További nehézség, hogy még mindig nem ismerjük pontosan azokat a biokémiai folyamatokat, melyek gátlásával (vagy éppen felerősítésével) meg lehetne állítani a kóros sejtburjánzást, valamint a citosztatikumokkal szemben is kialakulhat rezisztencia. Ez lehet primer vagy szekunder aszerint, hogy a sejtek eleve érzéketlenek a hatóanyagra, vagy csak a kezelés kapcsán váltak ellenállókká. A szekunder rezisztencia kifejlődésének megakadályozására több, különböző hatásmechanizmusú és támadáspontú citosztatikumot alkalmaznak egyidejűleg kombinációs terápiában.

A citosztatikumok csoportosítása hatásmódjuk alapján:

1. Antimetabolitok: a nukleinsav-anyagcserére ható szerek
2. Biológiai alkilezőszerek
3. Vegyes, komplexképző hatású citosztatikumok

2.2.1. Antimetabolitok – a nukleinsav-anyagcserére ható szerek

Ebbe a csoportba olyan vegyületek tartoznak, amelyek a tumorsejtek metabolizmusában fontos szerepet játszó vegyületek helyét elfoglalva megállítják vagy „téves” irányba viszik a sejtzaporulatban fontos szerepet játszó DNS szintézisét. Legfontosabb képviselők:

1. folsav-antagonisták: *metotrexát*
2. purin-antagonisták: *azatioprin*
3. pirimidin-antagonisták: *5-fluoruracil, tegafur, citarabin, cytosar, gemcitabin, capecitabin.*

2.2.2. Biológiai alkilezőszerek

A citosztatikumoknak ebbe a csoportjába azok az anyagok tartoznak, amelyek fiziológiás körülmények között alkilezni képesek. Az alkilezőszerek támadási pontjaként elvben a szervezetben előforduló minden, nukleofil csoportot

tartalmazó vegyület szóba jöhet. Biológiai hatást azonban csak azoktól az alkilezésektől várhatunk, melyek a sejtek metabolizmusa szempontjából lényeges szerkezeti elemeken játszódnak le és ezáltal fontos folyamatokat gátolnak. A hatás az élő sejtben központi szerepet játszó DNS molekulát érintve a legszembetűnőbb: ebben az esetben a kettős hélix két fonala között létesítenek keresztkötéseket. Legfontosabb képviselők: *ciklofoszfamid*, *foszfamid*, *fotemusztin*, *karmusztin*, *temozolomid*, *dakarbazin*.

2.2.3. Vegyes hatású citosztatikumok

Platinavegyületek

Citosztatikus hatásukat ROSENBERG és munkatársai (1965) fedezték fel, amikor platinaelektródok közötti elektromos erőterben tanulmányozták az *E. coli* baktériumok szaporodását. Megállapították, hogy a bizonyos áramerősség mellett keletkező ammóniumkloro-platinát gátolja a szaporodását. Később kiderült, hogy azok az ammónia- és aminokomplexek aktívak biológiailag, melyekben legalább két *cisz*-térállású halogén (többnyire klór) van a nemesfémhez (platina, ródiium, ruténium) kötve síknégyzetes koordinációban. Ezek a vegyületek koordinációs keresztkötések kialakításával fejtik ki hatásukat.

Képviselők: *ciszplatin*, *karboplatin*.

Növényi eredetű anyagok, alkaloidok

Már régóta ismertek a sejtosztódást gátló készítmények között növényi eredetű anyagok, nem egy a népi gyógyászatból került át a hivatásos medicinába.

Képviselők: *kolchicin*, *vinblasztin*, *vinkrisztin*, *paklitaxel*, *etopozid*, *tenipozid*, *irinotekan*, *topotekan*.

Citotoxikus hatású antibiotikumok

1. *bleomicin*
2. Antraciklin-glikozid antibiotikumok: *daunorubicin, doxorubicin, epirubicin, idarubicin, mitoxantron*.
3. Éndiin antibiotikumok: *kalicheamicin, eszperamicin, neokarcinosztatin, dinemicin*.

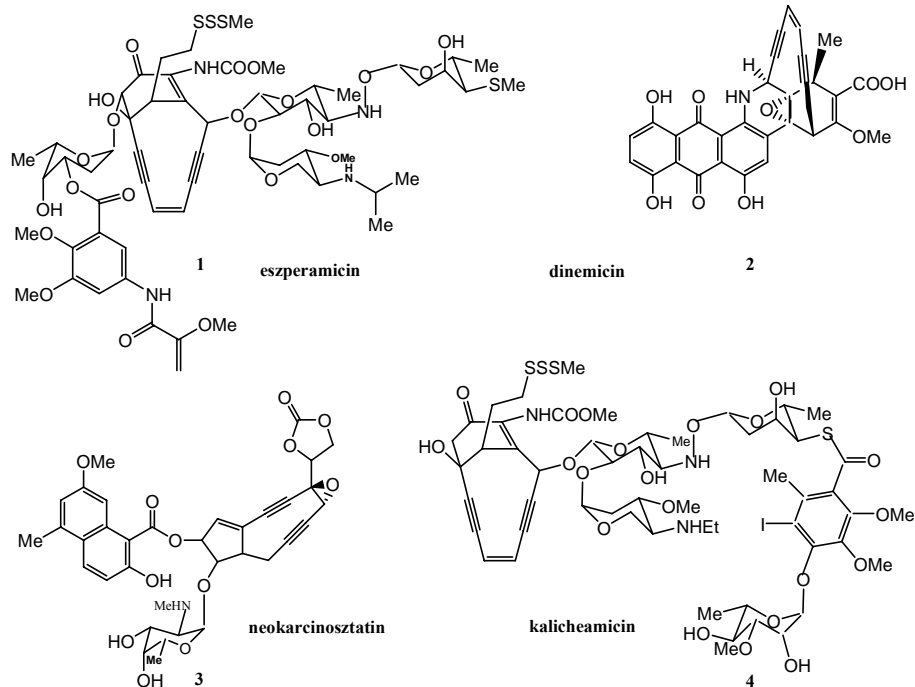
Hormonhatású tumorelles szerek

Ezen rákellenes anyagok nagy részének hatása azon alapszik, hogy míg a hím illetve női jelleggel összefüggő szerveket (emlő és nemi szervek) alkotó szövetek sejtjeit a megfelelő szexuálhormonok stimulálják, az ellenkező nem hormonjai a növekedésükben gátolják. Képviselek: *fosztesztrol, tamoxifen*.

2.2.4. Citotoxikus hatású antibiotikumok

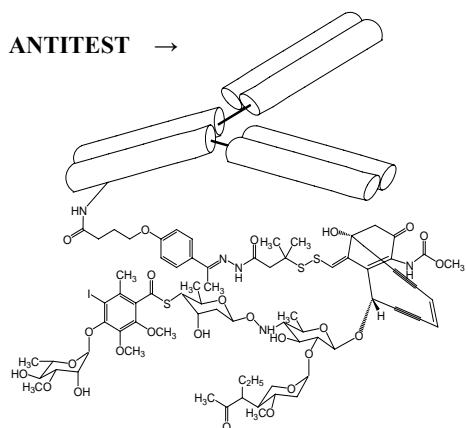
A múlt század 80-as éveinek felfedezettjei az *éndiin* szerkezetű antibiotikumok²⁻⁵. Szerkezetük megfejtése hosszú időbe telt, ám hatásmechanizmusuk tisztázása után gyorsan az érdeklődés középpontjába kerültek (1. ábra⁶). Négy csoportra oszthatjuk őket: *eszperamicinekre* (1), *dinemicinekre* (2), *neokarcinosztatinokra* (3) és *kalicheamicinekre* (4). A szintetikus változatok száma is jelentős⁶. Hatásmechanizmusuk kulcselemeként aktiválásuk után képesek sp^2 elektronszerkezetű szénatomot tartalmazó gyökök generálására. Minden esetben három szerkezeti elem megléte elengedhetetlen hatásuk kifejlődéséhez:

1. a hatás kifejtéséért felelős molekularészlet („robbanófej”/ „warhead”)
2. hordozó rendszer a „robbanófej” célbajuttatásához („delivery system”)
3. egy aktiváló egység, amely a DNS-hasító gyökök képződését elősegíti („trigger”)



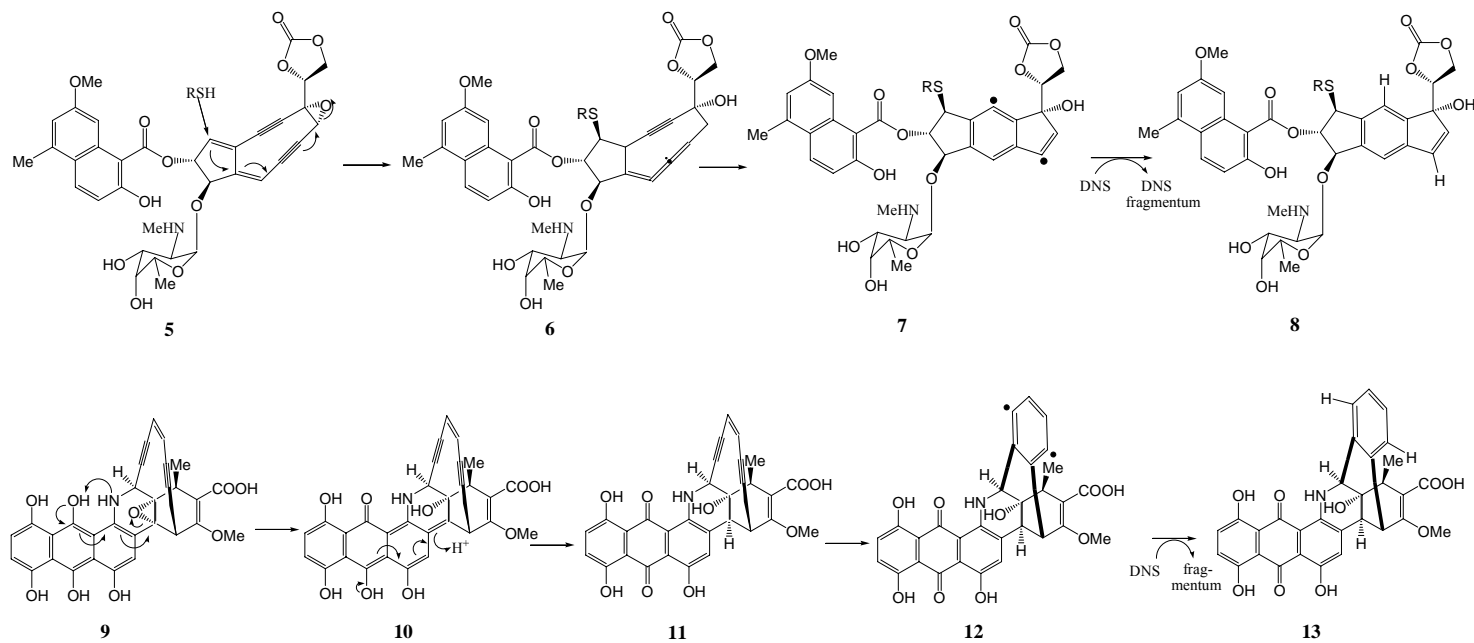
1. ábra Éndiin szerkezetű daganatellenes antibiotikumok

A gyökképződés folyamatát és mechanizmusát átfogóan elsőként BERGMANN és mtsai írták le ilyen rendszerekre⁷⁻⁹. Ennek lényege, hogy a cikloaromatizációs folyamat egy kettősgyök kulcsintermedieren keresztül valósul meg. Ez a folyamat manapság széles körben BERGMANN-oxidáció néven ismeretes (3. ábra⁶).



2. ábra Az ozogamicin (kalicheamicin)

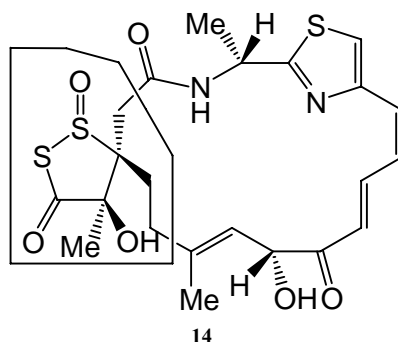
Bioaktív részleteik és az *éndiin* struktúra előállításában MYERS, DRAGOVICH és SAITO játszott úttörő szerepet¹⁰⁻¹³. Manapság az antitesthez kötött kalicheamicin (*Gemtuzumab ozogamicin*[®]) a rákellenes terápiában alkalmazott leghatékonyabb antibiotikumok közé tartozik.



3. ábra Éndiin szerkezetű antibiotikumok hatásmechanizmusa: *neokarcinosztatín* és *dinemicin*

2.3. Leinamicin – felfedezés és szerkezet

A *dinemicin* felfedezésével egy évben⁵, 1989-ben HARA és munkatársai daganatellenes antibiotikumok felkutatására irányuló screening vizsgálati programjuk keretében egy DC-107 kódjellel ellátott molekula izolálását jelentették be¹⁴, melyet a *Streptomyces atroolivaceus* fermentlevéből különítették el az általuk kidolgozott fermentációs módszerrel¹⁵. Kristályos, szilárd anyagot nyertek, melynek meghatározták fizikai és kémiai paramétereit. Tapasztalták, hogy a DC-107 is tartalmaz más, ismert daganatellenes antibiotikumokhoz hasonlóan kénatomot¹⁶. A szerkezetmeghatározás azonban egy új, az antibiotikumok körében eddig nem ismert szerkezeti részletet is feltárt. Ez azt a feltevést hordozta magában, hogy az új szerkezet (4. ábra) új hatásmechanizmussal párosul majd.

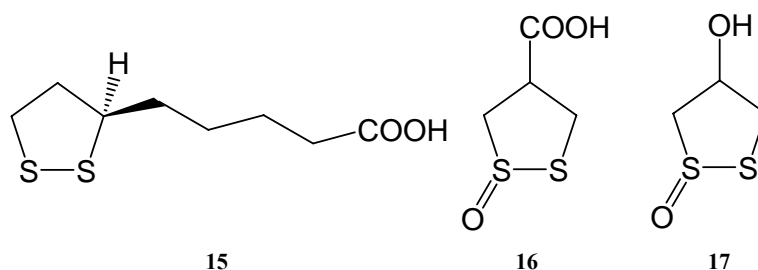


4. ábra A leinamicin szerkezete

Ugyanebben az évben HARA és mtsai a HIRAYAMA és MATSUZAWA által közölt röntgenkristallográfiai adatokra támaszkodva meghatározták a leinamicin relatív konfigurációját¹⁶. A kapott eredmény megerősítette a feltételezett új szerkezetet és kibővítette a molekulához kapcsolódó sztereokémiai ismereteket.

A leinamicin egy 18 tagú anza-makrolid, melyhez spirohelyzetben egy 1,2-ditiolán-3-on-S-oxid heterogyűrű kapcsolódik. A ditiolán gyűrű az antibiotikumok

körében unikum, ám a természetben több vegyületben is előfordul. Így például az α -liponsavban¹⁷ (15), az aszparaguzinsav-S-oxidban¹⁸ (16) vagy a brugierolban¹⁹ (17) (5. ábra).



5. ábra Az α -liponsav, az aszparaguzinsav-S-oxid és a brugierol szerkezete

2.4. A leinamicin hatásmechanizmusa

A leinamicin izolálását követő biológiai vizsgálatok kimutatták, hogy a vegyület citotoxikus és antimikrobiális hatással rendelkezik, ám a várakozással ellentétben antifungális aktivitást nem tapasztaltak. Az észlelt daganatellenes hatást *leukémia* és *szarkóma* esetében mutatták ki (a túlélésiidő-növekmény 23-57% között változott a dózistól (0,1-1,5 mg/ttkg) függően, az LD₅₀ küszöbérték 2,8 mg/ttkg) és ez biztató előfutára volt a későbbi, esetleges daganatellenes terápiás szerként való felhasználásának. A leinamicin mind a *Gram*-negatív, mind a *Gram*-pozitív baktériumtörzsek ellen hatásosnak bizonyult¹⁴. Az alábbi táblázatban látható néhány törzs, amikkel szemben a leinamicin biológiai aktivitását elsőként vizsgálták (1. táblázat).

Törzs	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	törzs	MIC ($\mu\text{g/ml}$)
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,6	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5,2
<i>Enterococcus faecium</i>	1,6	<i>Salmonella typhi</i>	20,8
<i>Bacillus subtilis</i>	0,08	<i>Proteus vulgaris</i>	83,3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1,6	<i>Shigella sonnei</i>	10,4
<i>Escherichia coli</i>	2,6	<i>Candida albicans</i>	> 100

1. táblázat A leinamicin biológiai aktivitása *Gram*-pozitív és *Gram*-negatív törzsek ellen

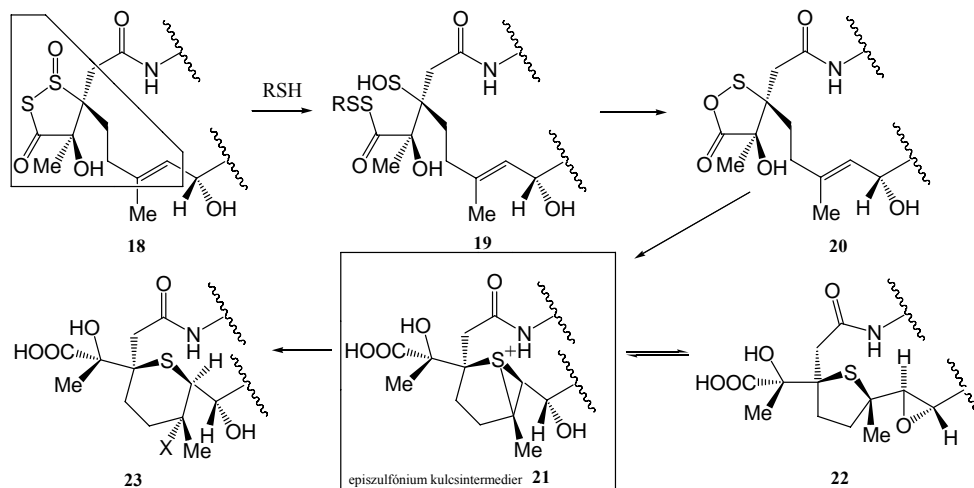
A vizsgálatokat DNS-hasítási kísérletekkel folytatták²⁰, ugyanis a citotoxikus aktivitás makroszkópicusan tumorelles hatásként jelentkezett, amely reményt keltő volt. Az első, *Bacillus subtilis*-szel történt vizsgálatok kiderítették, hogy a leinamicin már néhány $\mu\text{g/ml}$ koncentrációban gátolja a törzs növekedését. Közelebbről megvizsgálva kiderült: a molekula hatékonyan gátolja a makromolekulák (a DNS, illetőleg az RNS) és a fehérjék bioszintézisét.

Megfigyelték, hogy a hatás kifejtéséhez egy *merkaptovegyület* (pl. cisztein, 2-merkaptoetanol, ciszteamin) jelenléte is szükséges. Más, redukáló ágensek jelenlétében (pl. aszkorbinsav, NADPH) a vegyület nem fejtett ki hatást. A vizsgálati eredmények szerint a tiolokkal aktivált antibiotikum a DNS-hez kötődik termolabilis kovalens komplexet alkotva²⁰. A megállapított első hatásmechanizmusnál (ASAI és mtsai) megfigyelték, hogy a hatás kifejtéséhez egy kettőskötésre is szükség van.

Az elmélet szerint a tiol reakcióba lép a heterogyűrűvel és ez „indítja be” a hasító mechanizmust. A tiol egyfajta ravaszként, „trigger”-ként funkcionál (szerepét később sikerült is mások által tisztázni).

Az eredmények a ditiolán gyűrűt helyezték az érdeklődés és a vizsgálatok előterébe, ezt tekintették a molekula „robbanófejének” (warhead). Az erre épülő vizsgálatok során a mechanizmust részleteiben felderítették és elemezték, majd az alábbi általános megállapításokat tették²¹ a leinamicin biológiai aktivitására:

- Ha csak tiol aktivátor van jelen, a heterogyűrű felnyílik, majd a folyamat megáll.
- Nukleobázis jelenlétében kialakul egy kovalens leinamicin komplex²⁰, majd az N-glikozidos kötés mentén elhasad.
- A folyamat egy episzulfónium kulcsintermedieren²² keresztül játszódik le (6. ábra).



6. ábra A leinamicin hatásmechanizmusa ASAI és mtsai nyomán

A mechanizmus részletezése értelmében az RS^- (tiol) kofaktor felhasítja a ditiolán gyűrűt (18) majd acildiszulfid formában addicionálódik (19). A tiol iniciáló támadásának eredményeképpen képződött szulfénsav szerkezet egy 1,2-oxatiolán-5-on heterogyűrűvé záródik (20). Az elektrofil karakterű oxatiolán intramolekuláris reakcióba lép az antibiotikum makrociklus egységének C6-C7 alkén részletével és egy hattagú tiángyűrűvé rendeződik át (21). Ebben a szerkezetben pozitív töltés lokalizálódik a kénatomon és egy *episulfónium*-ion szerkezet alakul ki.

Ez a nagyenergiájú, feszített szerkezet két úton alakul tovább. Az episulfónium kulcsintermedier alkilezni képes a DNS-t és ez az alkilezés guanozin-specifikus. Kovalens kötést létesít a dezoxiguanozin 7-es nitrogénatomjával, ennek megfelelően reagál a nukleofillel, termolabilis, kovalens komplexet képezve (30) (7. ábra).

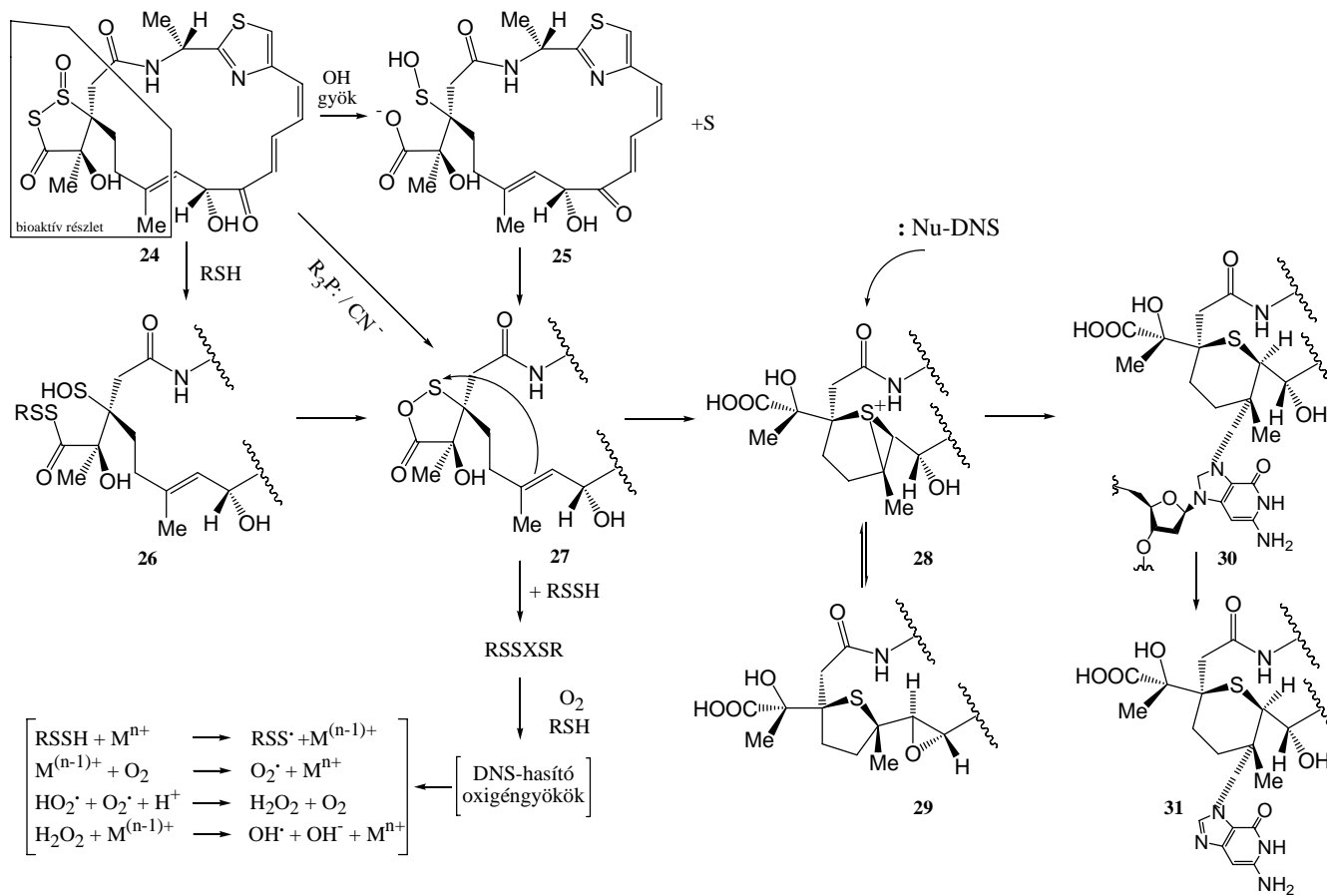
A komplex végül az N-glikozidos kötés felhasadásával szétesik és a hátramaradó szénhidrát egység oxidatív hasításnak esik áldozatul. A kapott származékot (31) izolálni is tudták. Másrészt egy egyensúlyi reakció termékeként képződik egy öttagú gyűrűs forma (29), amelyben a gyűrűtől 2 szénatomnyi távolságra lévő C-8-as hidroxil csoportból epoxid szerkezet képződik. Ez az epoxid

forma egyensúlyban van az episzulfónium szerkezettel és a reakció előrehaladtával fokozatosan eltűnik, átadva a helyét a komplex főterméknek.

ASAI és munkacsoportja mellett GATES és mtsai játszottak úttörő szerepet a mechanizmus vizsgálatában²³⁻²⁶. Ők a DNS-alkilezésen alapuló tiolaktivált, de oxidatív DNS-hasítást javasolták mechanizmusként: ebben az oxigényököt a hidrogénszulfid oxidációja eredményezte, s ehhez az oxatiolán szerkezettel bíró leinamicin módosulat a partner. Elméletüket egyszerű ditiolanon-S-oxid szerkezeteken sikeresen modellezték.

A problémát bonyolította, hogy GATES kutatócsoportja feltárt egy másik, tiolfüggetlen alkilatív DNS hasítási utat is, ahol vízmolekula szolgál „triggerként”²⁷ és szintén az episzulfónium-ion a kulcsintermedier (azonban ennek az útnak (24→25→27→28) a sebessége 3 nagyságrenddel kisebb a tiol által aktiválható képest (24→26→27→28)).

Később a hatásmechanizmus modelljét tovább adalékolták. GATES és mtsai kidolgozták a tioltól különböző, más soft nukleofilekkel aktivált hasítási módokat²⁸⁻²⁹. Ebben az esetben az elektrofil kénatommal készségesen reagáló cianid vagy foszfin hatására a molekula közvetlenül oxatiolán szerkezetté rendeződik (24→27), majd a már ismert lépéseken át (28→30→31) halad a mechanizmus. Az eredmények és a lehetséges utak összefoglalása a **7. ábrán** látható

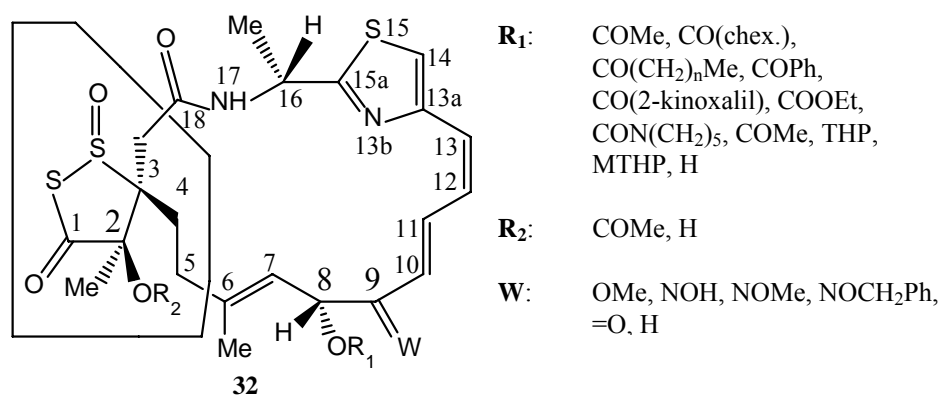


7. ábra A leinamicin hatásmechanizmusának összefoglaló ábrázolása

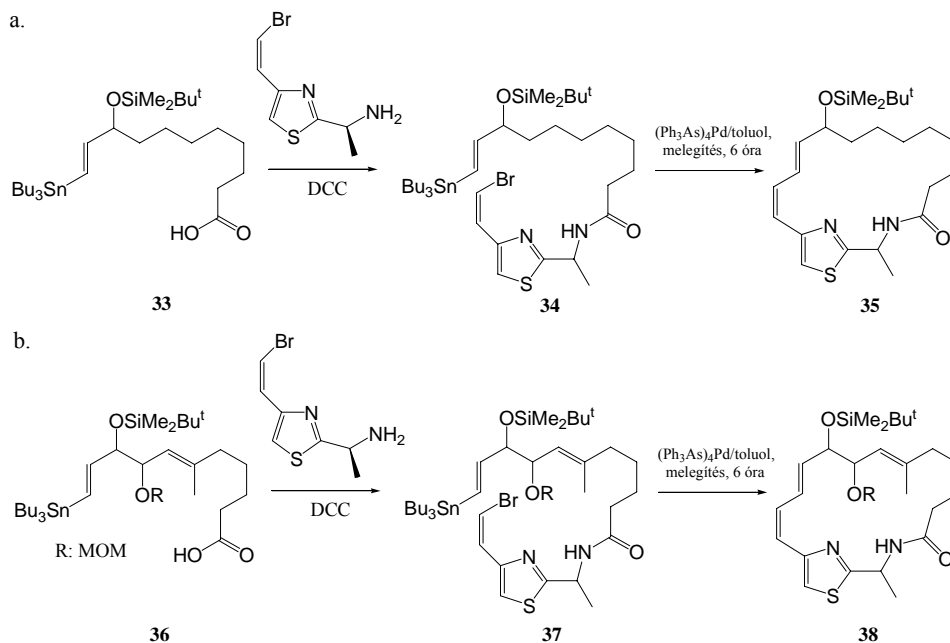
2.5. Leinamicin analógok szintézise

Az analógok szintézise a kilencvenes évek közepén indult meg nagyobb számban. Alapvetően 2 típusba sorolhatjuk be az előállított vegyületeket.

I. A leinamicin molekula módosításával előállított származékok és a makrociklus analógjai képviselik az egyik típust. Ezeket a KYOWA HAKKO KOGYO cég kutatói³⁰⁻³² (itt izolálták a leinamicint) valamint PATTENDEN és THOM³³ készítették. Ennek során a leinamicin C-2 és C-8 hidroxil-, valamint a C-9-es ketocsoportját módosították és néhány esetben sikerült az eredeti molekulánál hatékonyabbat találniuk (**8a. ábra**). PATTENDEN és THOM pedig a makrociklus analógjának szintézisét valósította meg (**8b. ábra**).

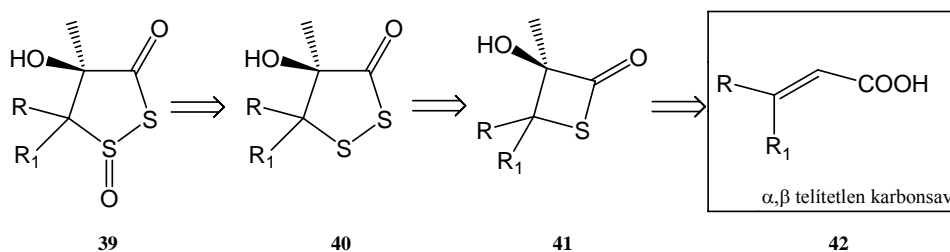


8a. ábra: Leinamicin származékok



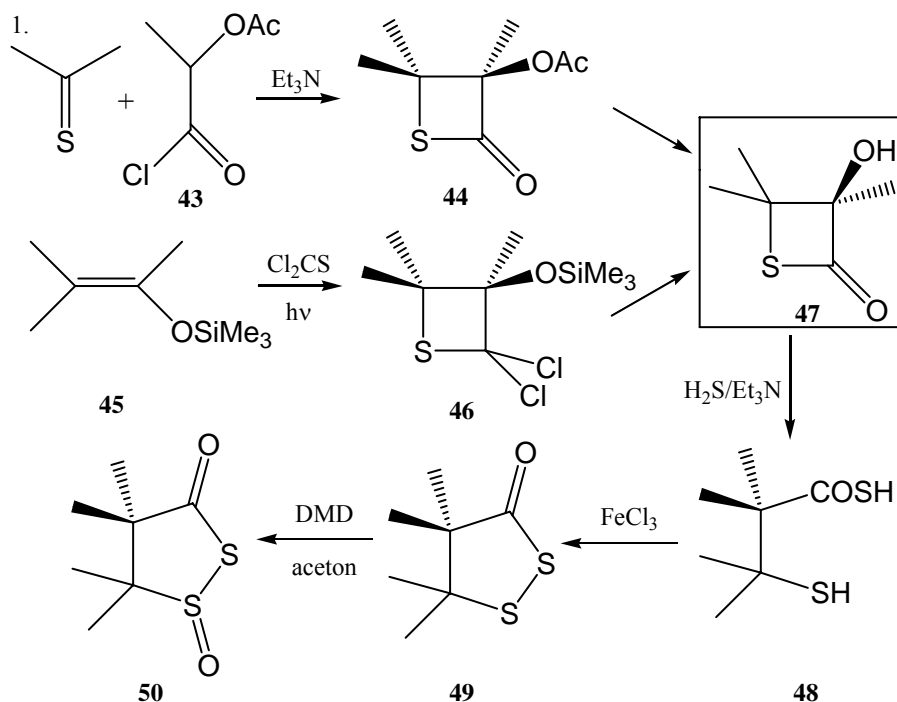
8b. ábra A leinamicin makrociklusának PATTENDEN és THOM szerinti szintézise

II. Ebbe a csoportba az antibiotikumok bioaktív részletének szintetikus modelljei kerültek. Ezek zömmel a heterogyűrűt megcélzó szintézisek voltak, hordozómolekula nélkül. Elsőként PATTENDEN és SUKER³⁴⁻³⁵ oldotta meg a gyűrű többirányú szintézisét, többek között tiolok [2+2] cikloaddíciós reakciójával. Később e mellé más módszerek is társultak. Az általuk követett retroszintetikus munkaterv lényegi eleme a ditiolán gyűrű α,β -telítetlen karbonsav szerkezetre való visszavezetése volt (**9. ábra**).



9. ábra A PATTENDEN-féle retroszintetikus út

A megvalósítás különféle módjai a **10-12. ábrán** láthatóak összefoglalva.



10. ábra A PATTENDEN-féle szintézisstratégiák és az előállított vegyületek:
 1. [2+2]-es Cikloaddíciós reakcióval, tiolakton intermedieren keresztül

A szintetikus eljárások a következők:

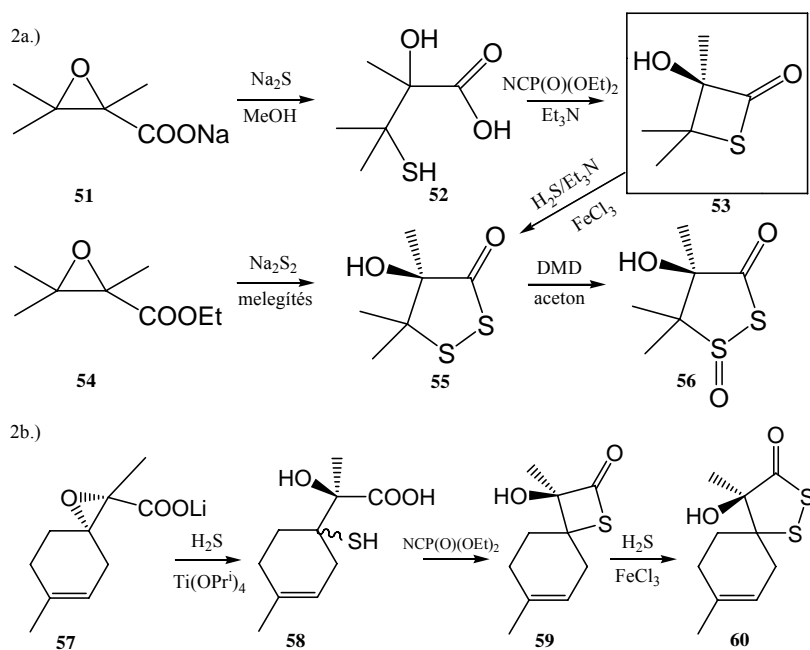
1. A **43** 2-acetoxi-propanoil-klorid bázis jelenlétében való gyűrűzárásával a **44** β -tiolaktont kapták. Ebből tiolízissel, majd az azt követő Fe^{3+} ionos oxidációval nyerték a **49** ditiolanont. Tiofoszgen és a **45** enoléter fotokatalitikus addíciójával a **46** diklór-tietánt nyerték, melynek enyhe hidrolízise a **47** tiolaktont eredményezte.

2a. Az **51**-es nátrium-glicidát nátrium-szulfiddal történő nukleofil felnyitásával az **52** 3-merkaptó-karbonsavat nyerték. Ennek cianfoszfonát reagenssel történő tiolaktonizációja az **53** tiolaktont eredményezte. A vegyület szokásos tiolízise az **55** ditiolanonhoz vezetett. Az **55** ditiolanont más úton az **54**-es

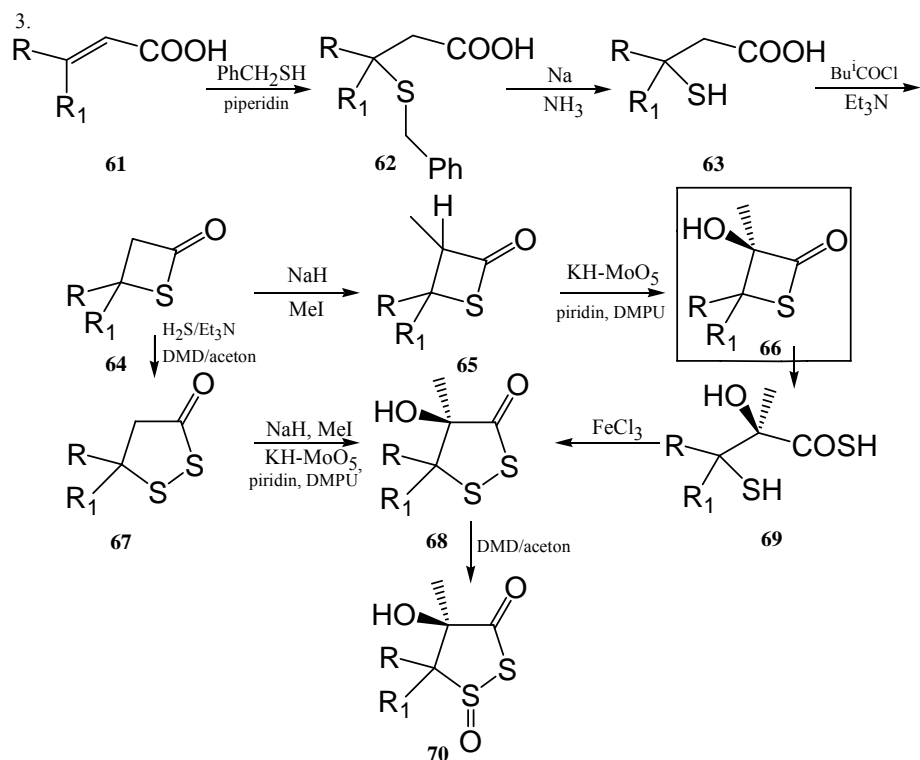
glicidészterből közvetlenül is elő lehetett állítani Na_2S_2 kettős nukleofil reakciójával.

2b. Ez a módszer szintén glicidátot (**57**) alkalmaz melyből a 2a variáns szerinti sorban nyerték a **60**-as spiroditiolanon származékot. A glicidátot titán-tetraizopropoxid jelenlétében kénhidrogénnel kezelték és a megfelelő 2-hidroxi-2-metil-3-merkaptokarbonsavak (**58**) 1:1 arányú diasztereomer elegyét kapták. Ebből cianfoszforsav-dietilészterrel képezték a β -tiolaktont (**59**), majd előállították a ditiolanont (**60**) és a ditiolanon-*S*-oxidot.

3. A 3. módszer kulcslépését a benzilmerkaptánnak a **61** α,β -telítetlen karbonsavra történő addíciója jelenti. A benzil védőcsoport redukzív eltávolítása után a kapott termék (**63**) vegyes anhidrides tiolaktonizációja a **64** tiolaktonhoz vezetett. Ebből a 2-es helyzetű hidroxilcsoport oxidatív bevitele után a szokásos módon lehetett eljutni az **66**-os kulcsvegyületig.



11. ábra A PATTENDEN-féle szintézisstratégiák és az előállított vegyületek:
2. Glicidát származékból kiindulva, tiolakton intermedieren keresztül

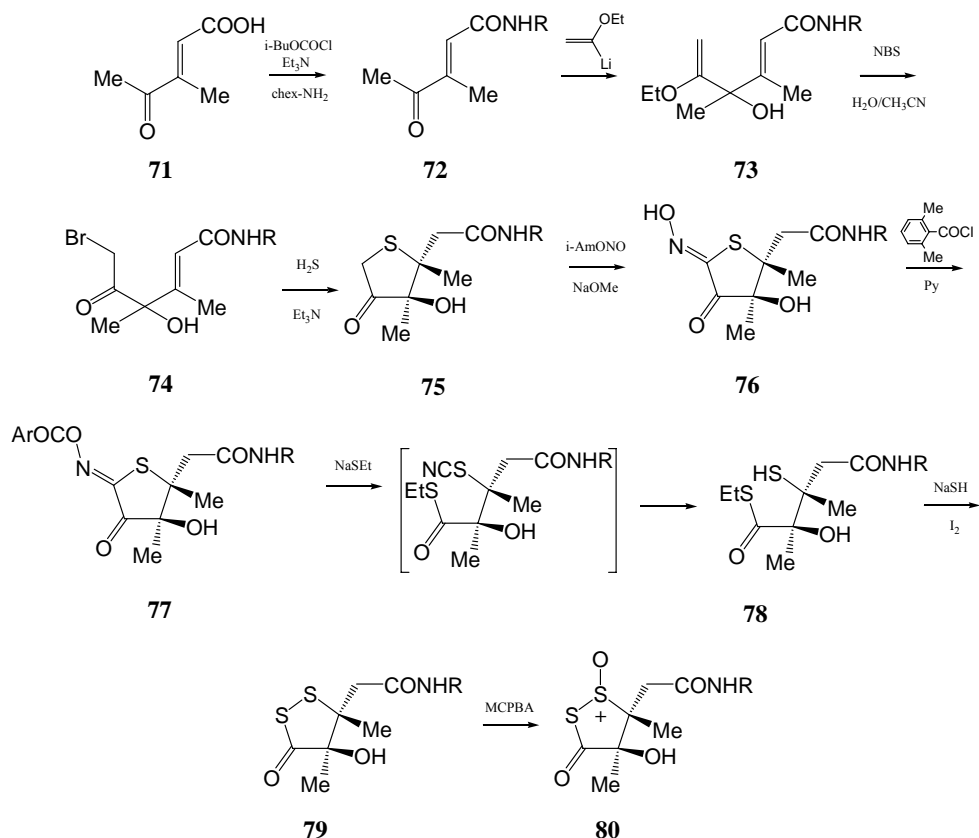


12. ábra A PATTENDEN-féle szintézisstratégiák és az előállított vegyületek:
3. α,β -telítetlen karbonsavból kiindulva, tiolakon intermedieren keresztül

KANDA, FUKUYAMA és SAITO is megvalósította a ditiolán gyűrű szintézisét, a PATTENDENÉKÉTŐL alapvetően eltérő úton³⁶ (13. ábra). Ők a molekuláriszlet pontos reprodukcióját tartották szem előtt.

Az általuk leírt szintézismód szerint a 71 4-oxo-3-metil-2-penténsavat vegyes anhidrid intermedieren keresztül a 72 ciklohexil-amid származékká alakították. A 72 keton ketocsoportjára α -etoxi-vinillítiumot addicionáltatva a 73-as származékot kapták, melyet továbbregálatva állították elő a 74-es α -bróm-ketont. A C-3 pozícióba trietilamin jelenlétében kénhidrogén segítségével juttatták be a tiolcsoportot, amely azután intramolekuláris nukleofil addíciós reakcióban a 75 szubsztituált tiolánon gyűrűs származékot eredményezett. A keton izonitrozálásával

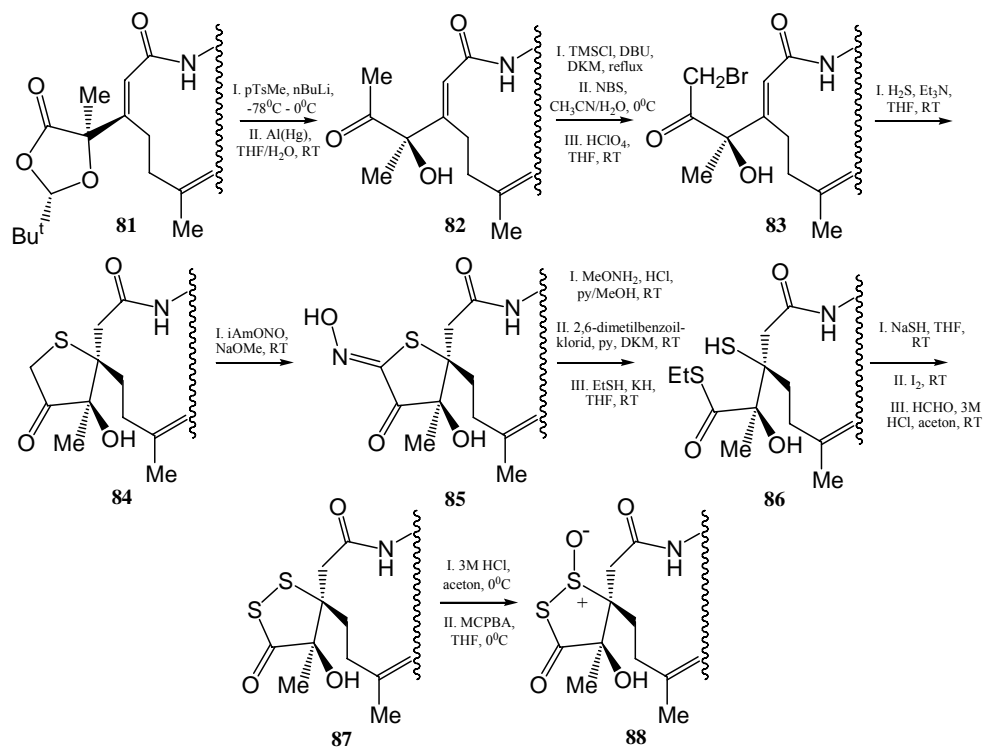
a **76**-os gyűrűs oxim szerkezetet nyerték, melyből az *O*-acilezéssel kapott **77** tiolitikus Beckmann-átrendeződésével a **78** β -merkapto tiolsav észterhez jutottak.



13. ábra A leinamicin heterogyűrűjének KANDA, SAITO és FUKUYAMA szerinti szintézise

Az így keletkezett **78** tiolésztert nátrium-hidrogénszulfiddal és az azt követő jódos oxidációval alakították ditiolanonná (**79**). A **80** *S*-oxid előállítását meta-klór-perbenzoesavval történt. (Ugyanezt a módszert alkalmazták a (+)-leinamicin szintézisének is.)

A (+)-leinamicin szintézisét KANDA és FUKUYAMA valósította meg 1993-ban³⁷. Ebben az esetben a 22 lépéses előállítás 8 lépését képviseli a heterogyűrű (**87**) kialakítása a fent említett módon (**14. ábra**).

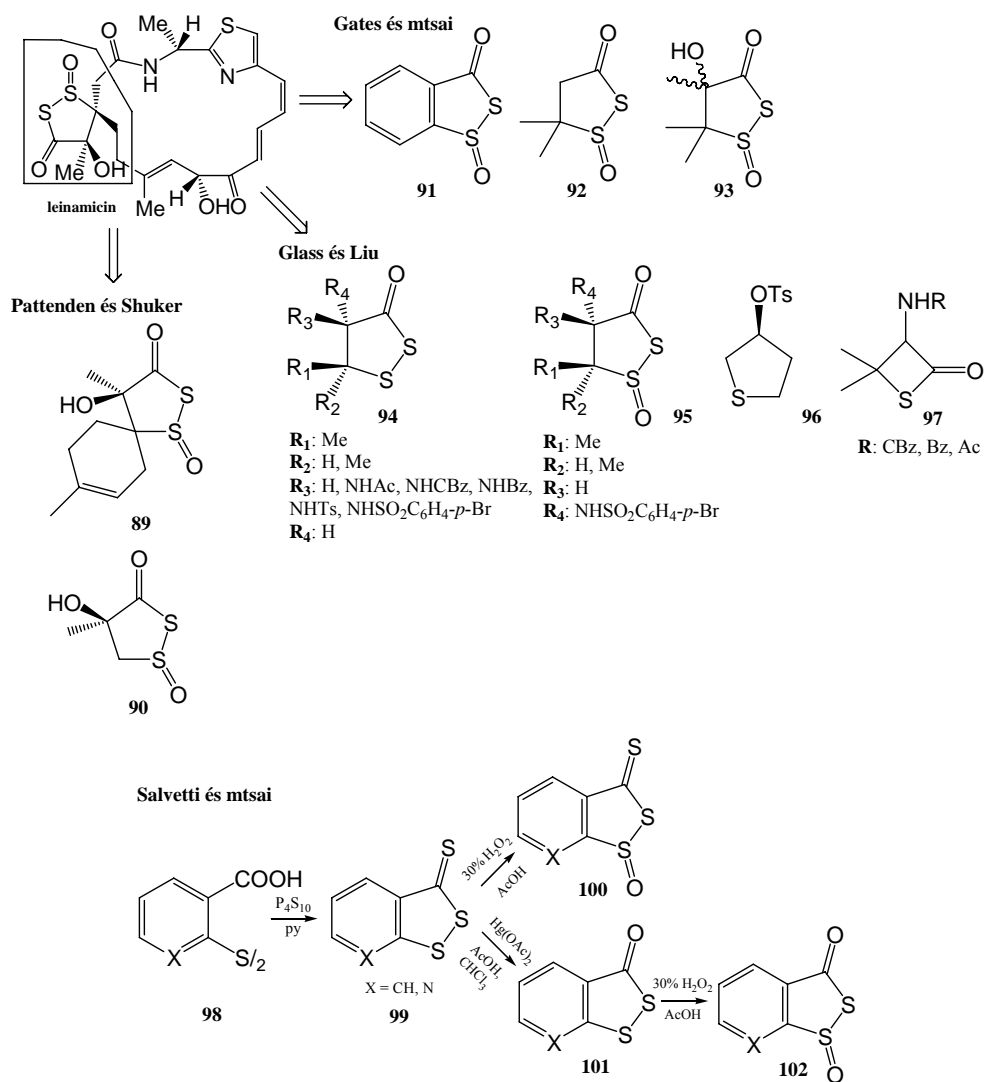


14. ábra: A ditiolán heterogyűrű felépítése a leinamicin teljes szintézise során

Az 1,2-ditiolán-3-on gyűrű néhány egyszerű szubsztituált származékának oxidációját és az oxidáció regioszelektivitását tanulmányozta GLASS és LIU³⁸ (94, 95). Megállapították, hogy a szubsztituensek a regioszelektivitást a *transz* diasztereomer képződése felé tolják el, s hogy a ditiolanonok esetében csak az 1-es kénatomon játszódik le az oxidáció. Ily módon a keletkező ditiolanon-S-oxidok sztereokémiai és szerkezetileg egységesekek. (Királis NMR shift-reagens: Eu(fod)₃ alkalmazásával tisztázták a keletkező diasztereomerek sztereokémiai viszonyait.)

Szintén egyszerű 1,2-ditiolán-3-on-1-oxid származékok előállítását valósították meg GATES és mtsai³⁹⁻⁴¹ (91, 92, 93), akik behatóan vizsgálták az előállított molekulák biológiai aktivitását is.

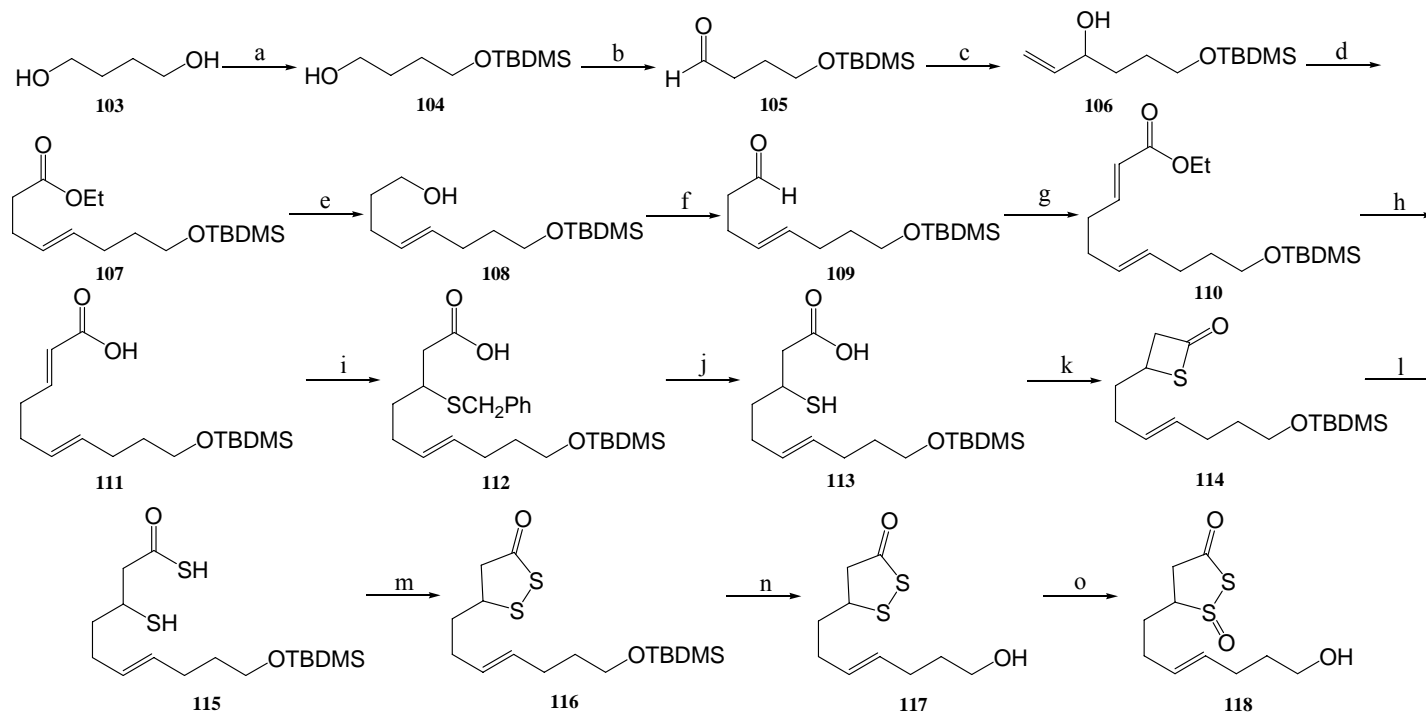
A heterogyűrű heterociklussal kondenzált változatait állították elő és tanulmányozták SALVETTI és mtsai⁴² (102). Az általuk előállított származékok *HL-60* sejtek ellen gyenge citotoxikus aktivitást mutattak. A különféle egyszerű szerkezetek (PATTENDEN, GATES, GLASS) és a SALVETTI-féle előállítási mód(ok) a 15. ábrán láthatóak.



15. ábra Egyszerű ditiolanon származékok

A közelmúltban (2003) LEE és mtsai 1,4-butándiolból kiindulva egy olyan származékot⁴³ nyertek, amely a ditiolán heterogyűrűt és a biológiai hatás kifejtéséhez szintén szükséges kettőskötést is tartalmazta. Ez volt az első kísérlet arra, hogy szintetikusán egyesítsék a leinamicinnél ismert tumorelleses aktivitásért felelős molekuláris elemeket. (A molekulában elhelyezett kettőskötés lehetőséget nyújt arra, hogy a leinamicin esetében legáltalánosabban elfogadott és bizonyított - episzulfónium szerkezeten át vezető - hatásmechanizmus szerint fejtsse ki hatását a molekula.)

A szintézis első lépése a **103**-as 1,4-butándiol monoszililezése volt, melyet annak oxidációja (**104**) követett. Az így nyert aldehidet (**105**) vinil-magnéziumbromiddal reagáltatták, majd a Grignard-reakció során nyert allil-alkohol származékot (**106**) trietil ortoacetáttal reagáltatva nyerték a **107**-es észtert. Ezt LiAlH₄-el reagáltatva a megfelelő alkoholt (**108**) kapták, melyet aztán PCC-vel reagáltatva jó hozammal állították elő a **109**-es aldehidet. Ebből Horner-Emmons reakcióval: trietil-foszfonoacetáttal képezték a *transz* geometriájú **110**-es telítetlen etilésztert. Az észter hidrolízise lítium-hidroxiddal történt. A kapott **111**-es karbonsavból annak β-tiobenzil származékát állították elő (**112**). A **113** β-merkaptó karbonsav előállítását redukív debenzilezéssel oldották meg. A ciklizáció első lépését a **114**-es β-tiolakton előállítása jelentette. Ezt követte a gyűrű felnyitása és a β-merkaptotíolsav szerkezet szintézise³⁵ (**115**). Az oxidatív gyűrűzárást NaIO₃-Al₂O₃ reagenssel végezték el (**116**). A védőcsoport eltávolítását sósavas etanollal hajtották végre, a kapott **117**-es ditiolanonból a **118**-as S-oxidot MCPBA-val képezték. (16. ábra)



(a) TBDMSCl, NaH, THF, szobahőmérséklet, 99%; (b) PCC, DKM, szobahőmérséklet, 77%; (c) CH_2CHMgBr , THF, $-70\text{ }^\circ\text{C}/0\text{ }^\circ\text{C}$, 86%; (d) trietil-ortoacetát, 4 óra, reflux, 96%; (e) LiAlH_4 , THF, $0\text{ }^\circ\text{C}$, 97%; (f) PCC, DKM, szobahőmérséklet, 70%; (g) trietil-foszfonoacetát, NaH, THF, $-70\text{ }^\circ\text{C}$, 75%; (h) LiOH, EtOH, 87%; (i) α -tiol-toluol, piperidin, reflux, 72%; (j) Li, $\text{NH}_3(\text{l})$, $-70\text{ }^\circ\text{C}/-60\text{ }^\circ\text{C}$, NH_4Cl , 96%; (k) izobutil-kloroformát, Et_3N , DKM, $-10\text{ }^\circ\text{C}/0\text{ }^\circ\text{C}$, 56%; (l) $\text{H}_2\text{S}(\text{g})$, Et_3N , $-40\text{ }^\circ\text{C}/-30\text{ }^\circ\text{C}$; $\text{HCl}(\text{aq})$, szobahőmérséklet, 88%; (m) $\text{NaIO}_3\text{-Al}_2\text{O}_3$, CHCl_3 -hexán, szobahőmérséklet, 80%; (n) $\text{HCl}(\text{aq})\text{-EtOH}$, szobahőmérséklet, 71%; (o) MCPBA, $-50\text{ }^\circ\text{C}/-40\text{ }^\circ\text{C}$, 45%.

16. ábra Nyílt láncú leinamicin analóg LEE-féle szintézise

Összefoglalva: a leinamicin felfedezése óta eltelt másfél évtized alatt intenzív kutatómunka folyt, mely az újkeletű mechanizmus részletesebb megismerésére és az eredeti molekulával összemérhető, vagy jobb biológiai aktivitású rész- vagy teljes analógok előállítására irányult. Ezen a téren jelentős eredményeket értek el.

Ugyanakkor nem történt próbálkozás (eltekintve LEE és mtsai 2003-as kezdeményezésétől) az összes bioaktív részlet (a heterogyűrű és a kettőskötés) egyszerű hordozókra történő felépítésére (a molekula ditiolanon gyűrűn és a megfelelő pozíciójú kettőskötésen kívüli része a tapasztalatok szerint „néma” a hatás szempontjából), s az így nyert származékok citotoxicitásának vizsgálatára. Szintén kevés figyelmet szenteltek az oxidálatlan heterogyűrűs (ditiolanon) származékok ezirányú vizsgálatának.

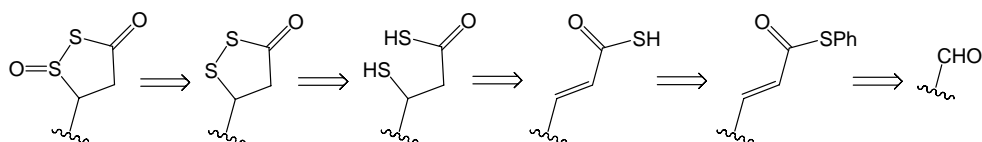
3. Saját vizsgálatok

3.1. Célkitűzések, retroszintetikus munkaterv

Munkánk első lépéseként a leinamicin antibiotikum biológiailag aktív molekularészletének egy új, általános szintézismódszerét kívántuk kidolgozni. Ezt az általános szintézismódszert kívántuk felhasználni, hogy egyszerű hordozókra építsük fel a ditiolanon, illetve a ditiolanon-*S*-oxid gyűrűt. Az így kapott származékok (mind a ditiolanonok, mind a ditiolanon-*S*-oxidok) citotoxicitását vizsgálni kívántuk, ugyanis feltételeztük, hogy biológiailag az oxidálatlan forma is aktív lehet. Igazolni kívántuk a tényt, miszerint az *S*-oxid forma a hatékonyabb.

Munkánk során célvegyületként nukleozidokat választottunk, ugyanis feltételezésünk szerint a módosított nukleozid bázis a szokványos módon hidrogénhidás komplexet képez a DNS bázisával, azaz a „hatóhelyen” rögzíti a molekulát. Ezáltal a DNS-hasítás hatékonysága megnövekedhet, sőt - esetlegesen - az előállított származék báziskomponensétől függően a hasítási helyet is meghatározhatjuk.

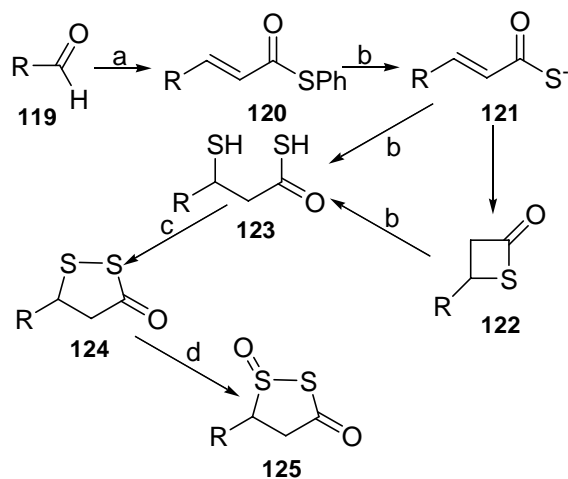
Munkánk során retroszintetikus munkaterv alapján (17. ábra) jártunk el. Az általunk kidolgozott terv a heterogyűrűt egy aldehid kiindulási molekulára vezette vissza, egy β -merkaptio-tiolsav és egy tiofenilészter intermedieren keresztül.



17. ábra Retroszintetikus tervezet

Mindenekelőtt új módszert dolgoztunk ki a leinamicin bioaktív részletének (heterogyűrűjének) szintézisére. A séma (18. ábra) szerint a kiindulási aldehidből (119) feniltiokarbonil-metilén-trifenilfoszforán⁴⁴ segítségével, Wittig-reakcióval⁴⁵⁻⁴⁶ α,β -telítetlen *transz* (*E*) tiofenilésztereket állíthatunk elő. Eme reakció előnye abban áll, hogy megfelelően megválasztott Wittig-reagens⁴⁶ segítségével gyakorlatilag 100%-os sztereoszelekcióval a 120 *transz* lánchosszabbított származék nyerhető. (Ezt minden esetben egy 6-7 ppm közé eső dupla dublett jel ($J=12-16$ Hz csatolási állandóval) igazolta az ¹H-NMR spektrumokban.) Más oldalról közelítve a Wittig származék –CH=CH– valamint C=O egysége a célzott heterogyűrű 2 szénatomját és karbonil részletét is magában hordozza.

Ezt az észtert nukleofil SH[−] anionnal reagáltatva (H₂S-ből *in situ* trietilamminnal képezve) konjugált addíciós és nukleofil addíciós reakciókban egy β -merkaptio-tiolsavat nyerhetünk (elsőként a tiofenil egység, mint jól távozó csoport cserélődik tiolszóra (121), majd a kettőskötés β -pozíciója telítődik egy második tiollal (123)).



(a) Ph₃PCHCOPh (1,2 – 1,4 ekvivalens), szobahőmérséklet, 16-48 óra; (b) Et₃N (2,1 ekvivalens), H₂S_(g), 1,4-dioxán, szobahőmérséklet, 2 óra; (c) K₃[Fe(CN)₆] (1,5 ekvivalens), 1,4-dioxán – víz, szobahőmérséklet, 12-16 óra; (d) dimetil-dioxirán (1 ekvivalens), aceton, szobahőmérséklet, 2 óra.

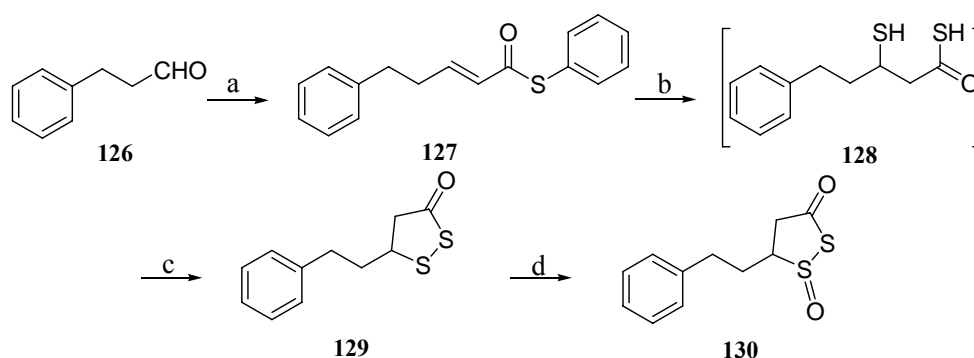
18. ábra

A kapott tiolsavat Fe(III)-ionokkal ($K_3[Fe(CN)_6]$) kezelve a **124** 1,2-ditiolán-3-on heterogyűrűs szerkezet képződik. Ebből az irodalomban már leírt módszer segítségével²⁵ dimetil-dioxiránnal, acetonban, enyhe körülmények között juthatunk az *S*-oxid származékhoz (**125**).

3.2. Megvalósított reakciók

3.2.1. Reakciók 3-fenil-propionaldehiddel

Munkánk első lépéseként 3-fenil-propionaldehdből (126), mint modellvegyületből kiindulva vizsgáltuk a kijelölt szintetikus út megvalósíthatóságát és teljesítőképességét. Az aldehidet Wittig-reagenssel, szobahőmérsékleten, toluolban reagáltatva jó hozammal nyertük az aktív észtert (127), melyet oszlopkromatográfiásan tisztítottunk. Az így kapott terméket a már ismertett eljárásnak vetettük alá, azaz trietilamin jelenlétében 1,4-dioxánban reagáltattuk kénhidrogénnel. A kapott homogén, mélysárga oldatot bepárolva sűrű szirupot kaptunk, melyet dioxánban oldottunk.



(a) $\text{Ph}_3\text{PCHCOSPh}$ (1,3 ekvivalens), toluol, szobahőmérséklet, 48 óra, 80%; (b) Et_3N (2,1 ekvivalens), H_2S , 1,4-dioxán, szobahőmérséklet, 2 óra; (c) $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (1,5 ekvivalens), 1,4-dioxán – víz, szobahőmérséklet, 12 óra, 60% (b+c); (d) dimetil-dioxirán (1 ekvivalens), aceton, szobahőmérséklet, 2 óra, 97%.

19. ábra 3-fenil-propionaldehiddel megvalósított reakciók

Ezt követően a nyers reakcióelegyhez kálium-hexacianoferrát vizes oldatát csöpögtettük, a kiindulási aldehidre számolt másfél ekvivalens mennyiségben.

A fél ekvivalensnyi feleslegre a konjugált addíció melléktermékeként a rendszerben jelen lévő tiofenol miatt volt szükség, melyet így teljes mértékben difenil-diszulfiddá alakítottunk és a továbbiakban nem zavart.

A β -merkaptotiosav tiolcsoportjainak diszulfiddá történő oxidációjára más módszereket is kipróbáltunk, ám azok gyenge hozammal, vagy egyáltalán nem mentek. Ilyen volt a jóddal történő oxidáció, mely a 3-fenil-propionaldehid és a - később tárgyalásra kerülő - arabinóz esetében volt csak sikeres, de ott is a Fe(III)-ionos módszerhez képest 13-17 %-kal gyengébb hozammal volt kivitelezhető. A levegő oxigénjének hatására is végbement az oxidáció, ám mindössze 7 %-os átalakulást eredményezett.

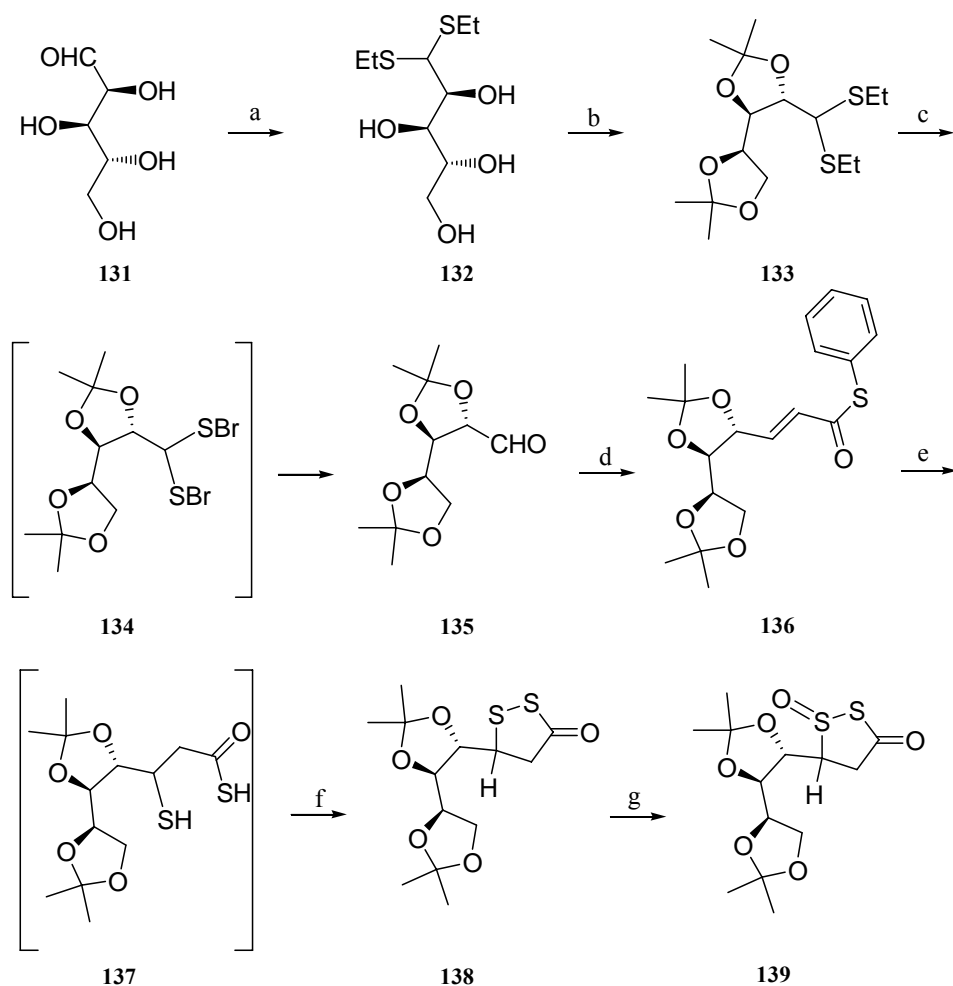
A reakcióelegyet vékonyréteges vizsgálata után oszlopkromatográfiásan tisztítottuk és jó hozammal kaptuk a **129**-es ditiolanon származékot, melynek szerkezetét az NMR és MS mérési eredmények is megerősítették. Ebből a **130**-as S-oxid származékot dimetil-dioxirános oxidációval, közel kvantitatíven nyertük. Mind a **129**-es, mind a **130**-as vegyület citotoxicitását megvizsgáltuk.

3.2.2. Reakciók D-arabinózzal

Miután a modellvegyület segítségével az 1,2-ditiolanon gyűrű szintézisének kivitelezhetőségét igazoltuk, a megcélzott nukleozidokkal való munka előtt – köztes lépésként – egy egyszerű szénhidrátra kívántuk felépíteni a heterogyűrűt. Ezzel egyrészt többet megtudhatunk a reakciósor teljesítőképességéről, másrészt, amennyiben a szénhidrát származékunk számottevő biológiai aktivitást mutat, igazolhatjuk azon feltételezésünket is, miszerint a heterogyűrű önmagában is hatékony.

Elsőként a kiindulási D-arabinóz (131) dietil-merkaptálját (132) állítottuk elő savas közegben⁴⁷, etilmerkaptán segítségével, hogy a védőcsoportok kilakításakor ez a pozíció védve legyen. Folytatásként 2,2-dimetoxipropánnal 2,3- és 4,5-O-izopropilidén védőcsoportokat alakítottunk ki⁴⁸ (133). A merkaptál védőcsoport eltávolítására az irodalomban leírt receptet⁴⁹ módosítva N-brómszukcinimidet használtunk CdCO₃ jelenlétében, aceton-víz elegyben. Az ily módon aldehid végcsoportúvá alakított terméket (135) Wittig-reagenssel szobahőmérsékleten, toluolban reagáltatva jó hozammal (81%) nyertük a 136-os *transz*-hepténsav származékot.

A Wittig származékból kiindulva a 138-as ditiolanonnak a 137-es köztiterméken keresztül történő előállításához felhasznált nukleofil addíciós és konjugált addíciós reakciók jó hozammal (73%) valósultak meg. Ennek eredményeként a D-arabinóz 1,2-ditiolán-3-on-S-oxid származékának diasztereomer elegyét kaptuk jó hozammal. A folytatásban a dimetil-dioxiránnal történt oxidáció – csakúgy, mint a 3-fenil-propionaldehid esetében – közel kvantitatíve szolgáltatja az S-oxidot. A kapott 138-as ditiolanont és a 139-es S-oxidot citotoxicitás-vizsgálatnak vetettük alá.



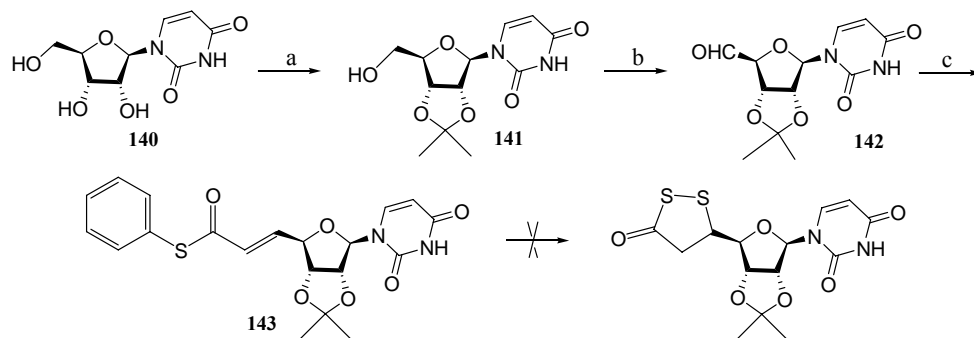
(a) cc. HCl, EtSH, 0 °C, 15 perc; (b) 2,2-dimetoxipropán (1 ekvivalens), *p*TsOH (kat. menny.), aceton, szobahőmérséklet, 6 óra, 97%; (c) CdCO₃, NBS (2,2 ekvivalens), aceton:víz 9:1, szobahőmérséklet, 45 perc, 98%; (d) Ph₃PCHCOPh (1,3 ekvivalens), toluol, szobahőmérséklet, 48 óra, 81%; (e) Et₃N (2,1 ekvivalens), H₂S, 1,4-dioxán, szobahőmérséklet, 2 óra; (f) K₃[Fe(CN)₆] (1,5 ekvivalens), 1,4-dioxán – víz, szobahőmérséklet, 14 óra, 73% (e+f); (g) dimetil-dioxirán (1 ekvivalens), aceton, szobahőmérséklet, 2 óra, 95%.

20. ábra D-arabinózzal megvalósított reakciók

3.2.3. Reakció nukleozidokkal: uridin

A 3-fenil-propionaldehidnél, illetve a D-arabinóznál szerzett tapasztalatokat összegezve munkánk folytatásaképpen megkíséreltük a heterogyűrű nukleozidok 5'-pozíciójában kialakítani. A sorban elsőként, modellvegyületnek, uridint választottunk (**21. ábra**).

Az uridinnel való kísérletek első lépéseként a nukleozidból (**140**) savas katalizátor, továbbá aceton segítségével⁵⁰ egy 2',3'-*O*-izopropilidén származékot állítottunk elő (**141**). A dioxolán gyűrű kialakítását követően az 5' helyzetű hidroxilcsoportot PFITZNER-MOFFAT körülmények között⁵¹ TRONCHET és VALERO⁵² módszerét alapul véve dimetil-szulfoxidban, diklór-ecetsav és diciklohexil-karbodiimid (DCC) segítségével aldehiddé oxidáltuk (**142**). Az ily módon kapott terméket tisztítás nélkül használtuk fel, és egy Wittig lánchosszabítási reakciót hajtottunk végre, s jó hozammal (71%) kaptuk az 5'-tioészter származékot (**143**). Befejező lépésként az észter tiolízise, egy konjugált és egy nukleofil addíció következett volna, majd a sort a Fe (III)-ionokkal történő oxidáció zárta volna.



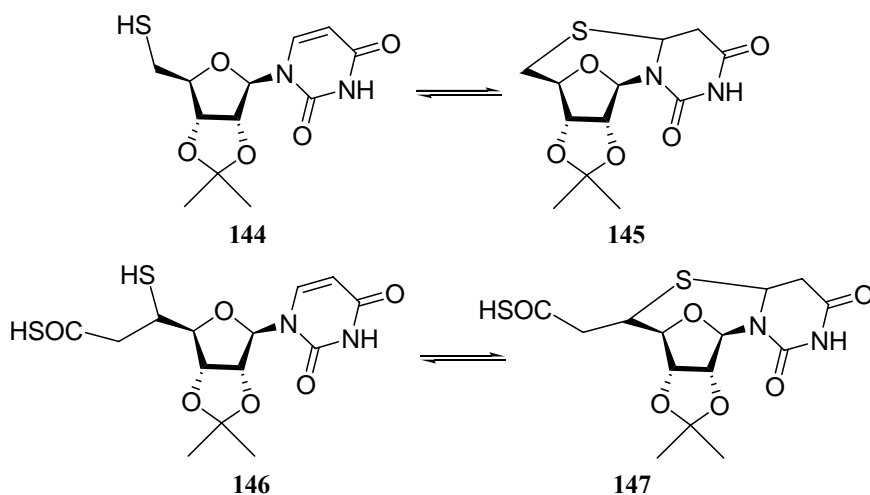
(a) HC(OEt)₃ (2 ekvivalens), *p*TsOH (kat. menny.), aceton, szobahőmérséklet, 1,5 óra, 97%; (b) DCC (1 ekvivalens), diklórecetsav (1 ekvivalens), DMSO:EtOAc = 1:5, szobahőmérséklet, 1,5 óra; oxálsav, szobahőmérséklet, 30 perc; piridin, szobahőmérséklet, 14 óra; (c) Ph₃PCHCOPh (1,2 ekvivalens), etilacetát, szobahőmérséklet, 15 óra, 71% (b+c).

21. ábra Izopropilidén-uridinnel megvalósított reakciók

Tapasztalatunk szerint a reakció nem az általunk elképzelt módon ment végbe. A vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálatok szerint egy bonyolult reakcióelegyet kaptunk, melyben több kéntartalmú komponens volt megtalálható. Az NMR spektrumok tanúsága szerint a képződött vegyületek között nem volt ditiolanon tartalmú. Újbóli kísérleteink alkalmával más diszulfidképző reagenciával próbálkoztunk. Jódot alkalmazva az eredmény megegyezett a Fe(III) ionos kezelésével, míg dinátrium-diszulfid reagens hatására a reakció a diszulfid részlet addíciójánál végetért.

Az első két esetet figyelembe véve a problémát úgy magyarázhatjuk, hogy az 5' helyzetben található –SH csoportnak lehetősége nyílik intramolekuláris reakcióba lépni a térben hozzá közel eső uracil nukleobázis kettőskötésével (22. *ábra*), egy áthidalt gyűrűs szerkezetet hozva létre.

Feltételezésünket a szakirodalom is megerősítette: GOODMAN és mtsai⁵³ számoltak be arról, hogy amennyiben az ilyen védőcsoporttal ellátott uridin 5'-helyzetében tiol vagy tiolsav csoport található (144, 146), az könnyedén képez áthidalt gyűrűs formát (145, 147), azaz ez a reakció és a képződött szerkezet előnyt élvez a számunkra kívánatos gyűrűképzéssel szemben (22. *ábra*). A mi esetünkben is ennek a bekövetkeztét segítette elő az izopropilidén védőcsoport teremtette feszített térszerkezet. Így a reakcióelegyben a Fe(III), illetve a jód által generált különböző alternatív szerkezetek és bomlástermékek voltak megtalálhatóak a kívánt 5'-ditiolanon származék helyett. Azt is megemlíti az irodalom, hogy dezoxinukleozidok (mint például a timidin) esetében (ahol nincs lehetőség dioxolán gyűrű kialakítására, tehát térszerkezeti feszítettségre sem) elvégzett kísérleteknél ezt nem tapasztalták.



22. ábra 5'-merkaptó izopropilidén-uridin egyensúlya GOODMAN szerint

Kísérletes eredményeink birtokában megváltoztattuk védőcsoport taktikánkat és szililéter típusú csoportra: *tercier*-butil-dimetilszililre (TBDMS) váltottunk. Döntésünket egyrészt az indokolta, hogy ennél az éter típusú védőcsoportnál nincs lehetőség olyasfajta térszerkezeti torzulásra, mint az izopropilidén esetében. Másrészt ez a csoport is könnyen eltávolítható savas reakciókörülmények között, hasonlóan az izopropilidénhez. Harmadrészt a védőcsoport kiválasztásával közel egyidőben értesültünk a szakirodalomból arról, hogy a szililéter védőcsoport egyes esetekben fokozza egy molekula biológiai aktivitását⁵⁴⁻⁵⁵. Ennek ismeretében most már azt is igazolni kívántuk, hogy az irodalomban leírt vegyületektől gyökeresen eltérő szerkezetű molekulák esetében, azaz általánosabban is igaz lehet-e ez az elmélet. Ennek megfelelően a terveink szerint előállítandó 5'-ditiolanon és ditiolanon-S-oxid származékok védőcsoporttal ellátott és védőcsoport-mentes származékait egyaránt biológiai vizsgálatra kívántuk küldeni.

A kiindulási uridinből (148) TBDMS-kloriddal, száraz piridines közegben⁵⁶⁻⁵⁷, szobahőmérsékleten, trisz-2',3',5'-TBDMS származékot képeztünk, kiváló hozammal (149), majd a trisz-szililezett származék 5'-helyzetéből az éter védőcsoportot szelektíven lehasítottuk trifluoecetsav segítségével diklórmetán-víz elegyben⁵⁴ (150). A fennmaradó védőcsoportok érzékenysége miatt a reakcióelegy feldolgozását (extrakciós lépések) 0 °C-on végeztük, maga a csoporteltávolítás igen jó hozammal valósult meg és az NMR-vizsgálatok tanúsága szerint a termékmolekula egyik szilil védőcsoportja sem sérült. A bisz-szililezett származékot (150) Dess-Martin-perjodinán reagens segítségével 5'-helyzetben formil végcsoportúvá oxidáltuk⁵⁸⁻⁵⁹ (151), majd a kapott reakcióelegyet vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálata után szintén 0 °C-on feldolgoztuk. Ezt követően foszforán reagenssel, szobahőmérsékleten előállítottuk az aktív észtert (152). Eme két reakciólépést egy folyamatban, köztes kromatográfiás tisztítás nélkül végeztük az 5'-aldehid nukleozid köztitermék érzékenysége miatt. (Próbálkoztunk a köztes oszlopkromatográfiás tisztítással, ám a hozam így jelentősen csökkent az aldehid oszlopon való bomlása miatt.) A két lépés összhatásfoka ily módon is jó (79 %) lett.

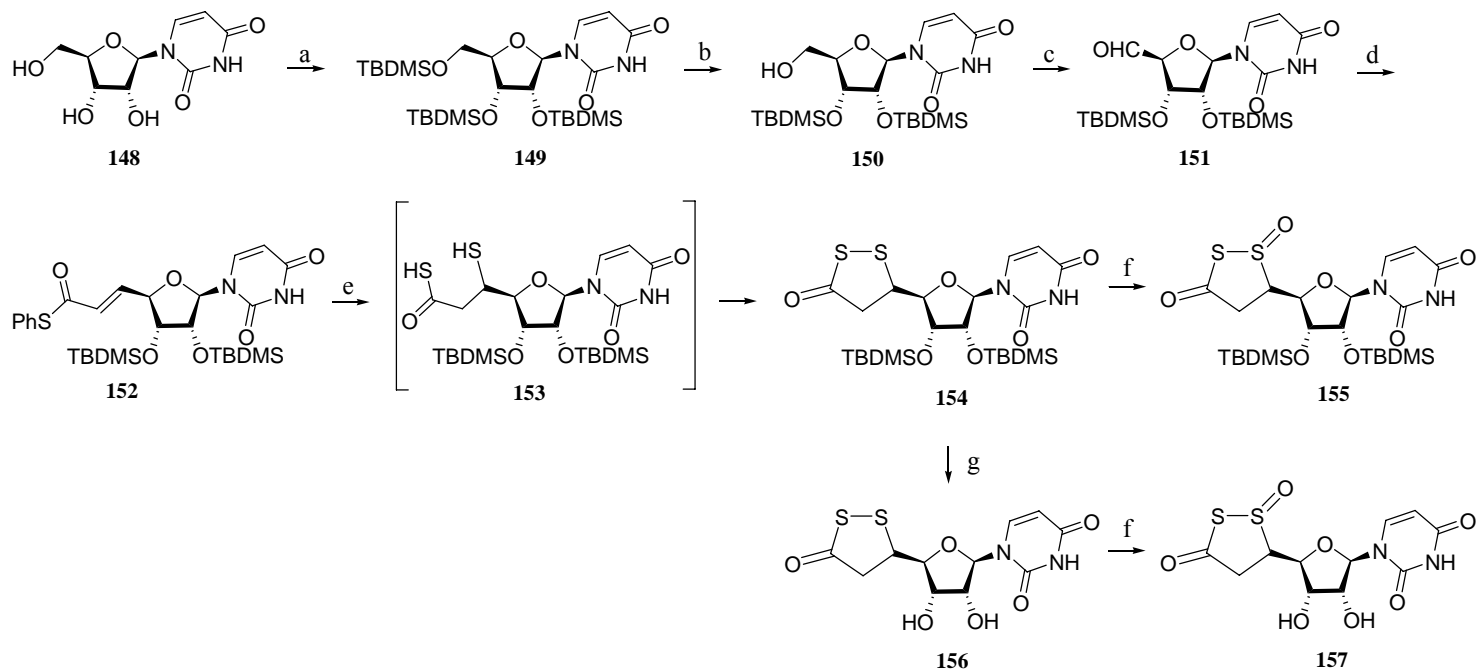
A megtisztított észtert a 2',3'-izopropilidén-uridinnél már próbált módon vittük reakcióba, azaz *S*-nukleofil tiol-ionokkal β -merkapto-tiolsavat képeztünk belőle (153), majd vörösvérlúgsó segítségével kialakítottuk az uridin 5'-ditiolanon származékot (154). Szililéter védőcsoportok mellett a gyűrűképzés problémamentesen, közepes-jó (63 %) hozammal sikerült. Az NMR spektrumok tanúsága szerint a reakció enantioszelektíven játszódott le, ám a spektrumból nem derült ki, hogy melyik enantiomer keletkezett.

A pontos szerkezetmeghatározáshoz megkíséreltük egykristály növesztését, de nem jártunk sikerrel. Ugyancsak sikertelen volt az irányú törekvésünk, hogy *p*-nitro-fenil-észterét képezve egy jól kristályosodó származékot nyerjünk, melyből röntgenkrisztallográfiai vizsgálatokhoz egykristály növeszthető.

A következő megoldandó feladat a védőcsoportok eltávolítása volt. Elsőként az irodalomban jól ismert módszerrel tetrabutil-ammóniumfluoriddal kíséreltük meg eltávolítani, tetrahidrofuránban, 0 °C-on⁶⁰, azonban vegyületünk már fél óra elteltével bomlani kezdett. Folytatásként szulfonsav-típusú kationcserélő gyantával katalizált hidrolízissel⁶¹ próbáltuk meg eltávolítani a TBDMS-csoportokat acetonitril-víz elegyben, ám a reakció 3 nap elteltével, illetve melegítés (35-40 °C) hatására sem indult meg. Harmadikként *p*-toluolszulfonsavat alkalmaztunk dioxán-víz elegyben, szobahőmérsékleten, s ez meghozta a kívánt eredményt: a védőcsoport a molekula további bomlása nélkül hasadt le, ám a hozam csak közepes (42-44 %) volt. Következő próbálkozásunk TFA:THF:H₂O eleggyel történő hidrolízis volt⁶², melyet 0 °C-on alkalmaztunk. A bomlás nélküli tiszta hasadás mellett a hozam is jelentősen javult (23. ábra) és a termékünk (**156**) minimális tisztítást igényelt.

A dimetil-dioxirános oxidáció körülményei mind a **154**-es szililezett, mind a **156**-os deszililezett származék esetében megegyeztek: az oxidálni kívánt vegyületet szobahőmérsékleten acetoneban oldottuk, majd egy ekvivalensnyi DMD-t tartalmazó acetoneos oldatot adtunk hozzá és 2 órán át kevertettük. Ezekben az esetekben a vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálatok nem voltak informatívak, mert a kiindulási vegyület és az oxidált származék retenciós faktora (R_f) gyakorlatilag megegyezett. A reakció(k) követésére a ¹³C NMR és a tömegspektrometria szolgált alapul.

Az ily módon nyert **156**-os és **157**-es deszililezett uridin származékokat, továbbá a **154**-es és **155**-ös szililezett párjaikat biológiai vizsgálatnak vetettük alá.



(a) TBDMSCl (3 ekvivalens), piridin, szobahőmérséklet, 1 óra; 65 °C, 22 óra, 97%; (b) TFA:H₂O 10:1, DKM, szobahőmérséklet, 45 perc; 0 °C, 30 perc, 89%; (c) Dess-Martin-perjodinán (1,5 ekvivalens), DKM, 0 °C/szobahőmérséklet, 1,5 óra; (d) Ph₃PCHCOSPh (1,4 ekvivalens), 1,4-dioxán, szobahőmérséklet, 22 óra, 79% (c+d); (e) Et₃N (2,1 ekvivalens), H₂S, 1,4-dioxán, szobahőmérséklet, 2 óra; K₃[Fe(CN)₆] (1,5 ekvivalens), 1,4-dioxán – víz, szobahőmérséklet, 16 óra, 63%; (f) dimetil-dioxirán (1 ekvivalens), acetone, szobahőmérséklet, 2 óra, 96%, 95%; (g) TFA:H₂O:THF 1:1:4, 0 °C, 6 óra, 94%;

23. ábra Uridinnel megvalósított reakciók

3.2.4. Reakció nukleozidokkal: timidin

Az uridinnél szerzett tapasztalatoknak megfelelően a timidinnel végzett kísérleteink során csak TBDMS védőcsoportokkal dolgoztunk. A szintézis metódusa szorosán követte az uridinnél megvalósítottakat.

Ennek megfelelően a kiindulási timidinből (**158**) TBDMS-kloriddal, száraz piridines közegben, szobahőmérsékleten, bisz 2',3',5'-TBDMS származékot képeztünk, kitűnő hozammal (**159**). Ezt követően a bisz-szililezett származékunk 5'-helyzetű éter védőcsoportját trifluorecetsav segítségével, diklórmétán-víz elegyben szelektíven hidrolizáltuk (**160**). (A fennmaradó 3'-helyzetű védőcsoport érzékenysége okán a reakcióelegy feldolgozását (extrakciós lépések) 0 °C-on végeztük. A védőcsoport hasítása igen jó hozammal valósult meg (továblépés előtt kromatográfiásan tisztítottuk) és az NMR-vizsgálatok tanúsága szerint a termékmolekula fennmaradó (3'-helyzetű) védőcsoportja sem sérült.

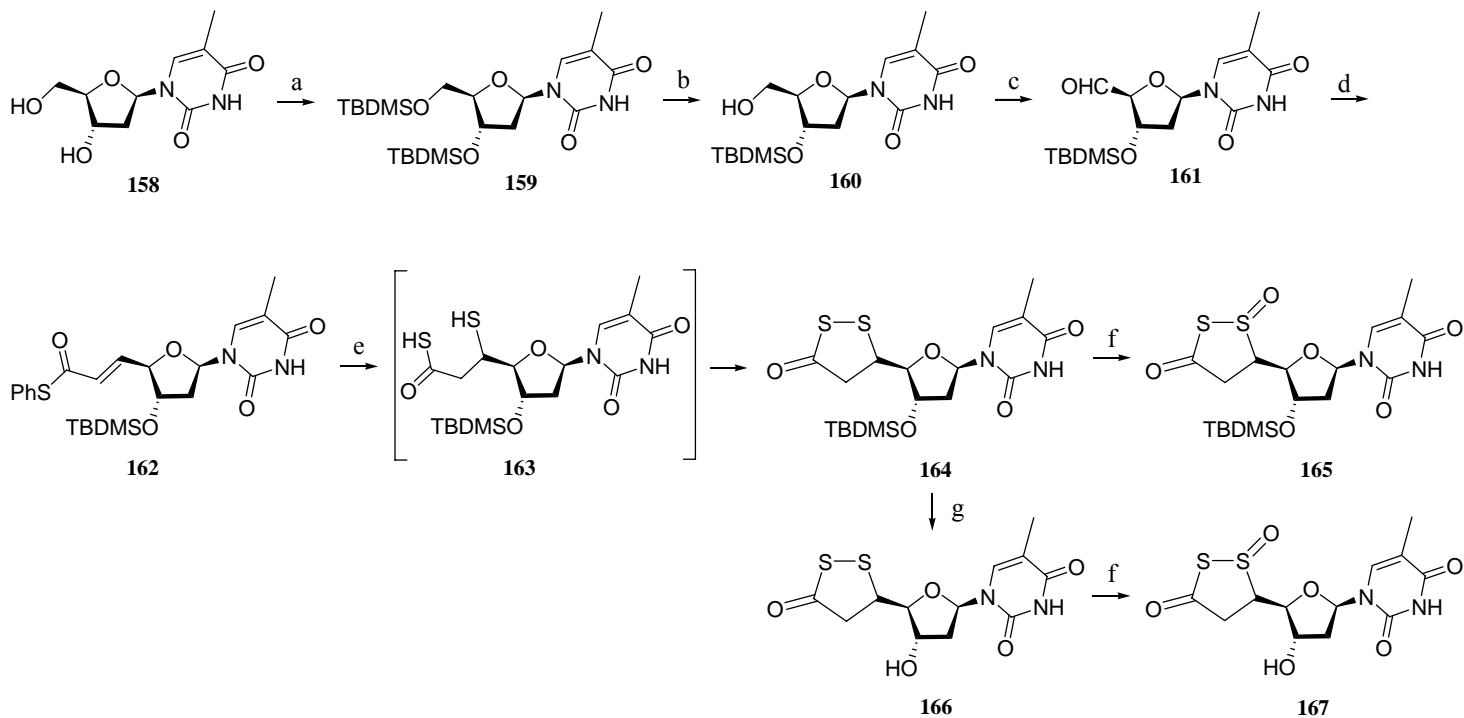
A 3'-monoszililezett származékot (**160**) Dess-Martin-perjodinán reagens segítségével 5'-helyzetben formil végcsoportúvá oxidáltuk (**161**), majd az így kapott reakcióelegyet szintén 0 °C-on feldolgoztuk. A szintézis folytatásaként Wittig-reagenssel, szobahőmérsékleten, dioxánban reagáltatva nyertük az aktív észtert (**162**). E két reakciólépés között - csakúgy mint az uridin esetében - köztes kromatográfiás tisztítást nem végeztünk, az 5'-aldehido nukleozid köztermék érzékenysége miatt. A két reakciólépés összhozama jó (77 %) lett.

Az oszlopkromatográfiásan megtisztított észtert a már ismert módon reagáltattuk kénhidrogénből trietilamin által generált tiolát ionnal, majd a kapott β -merkaptó-tiolsavból (**163**) vörösvérlúgsó segítségével kialakítottuk a 3'-TBDMS timidin 5'-ditiolanon származékot (**164**). A gyűrűképzés ebben az esetben is problémamentesen, közepes-jó (68 %) hozammal sikerült. Az NMR spektrumok tanúsága szerint ez a reakció is diasztereoszzelektíven játszódott le, ám ebben az esetben sem derült ki, hogy melyik enantiomert nyertük ki.

A védőcsoportok eltávolítására kipróbáltuk a *p*-toluolszulfonsavat dioxán-víz elegyben, szobahőmérsékleten, s a hasítás sikeres volt, ám a hozam nem volt túl jó, és az uridinnel összevetve sem volt jó a hozam (53-55 %). A TFA:THF:H₂O eleggyel történő hasítás bomlás nélküli, tiszta terméket eredményezett és a termékünk (**166**) ebben az esetben is csak minimális tisztítást igényelt.

Az oxidáció körülményei a szililezett (**164**) és a deszililezett (**166**) származék esetében itt is megegyeztek: dimetil-dioxirán acetonos oldatával reagáltattuk a vegyületeket szobahőmérsékleten, 2 órán át. Az R_F értékek minimális eltérése miatt a reakció(k) követésére itt is a ¹³C NMR és a tömegspektrometria szolgált alapul.

Az ily módon nyert **166**-os és **167**-es deszililezett timidin származékokat, továbbá a **164**-es és **165**-ös szililezett párjaikat biológiai vizsgálatnak vetettük alá.

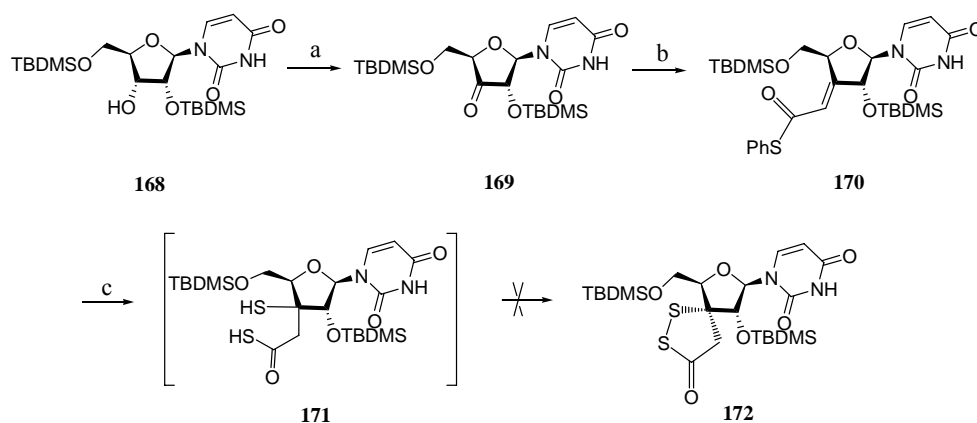


(a) TBDMSCl (2 ekvivalens), piridin, szobahőmérséklet, 1 óra; 65 °C, 22 óra, 94%; (b) TFA:H₂O 10:1, DKM, szobahőmérséklet, 45 perc; 0 °C, 30 perc, 85%; (c) Dess-Martin-perjodinán (1,5 ekvivalens), DKM, 0 °C/szobahőmérséklet, 1,5 óra; (d) Ph₃PCHCOPh (1,4 ekvivalens), 1,4-dioxán, szobahőmérséklet, 22 óra, 77% (c+d); (e) Et₃N (2,1 ekvivalens), H₂S, 1,4-dioxán, szobahőmérséklet, 2 óra; K₃[Fe(CN)₆] (1,5 ekvivalens), 1,4-dioxán – víz, szobahőmérséklet, 15 óra, 68%; (f) dimetil-dioxirán (1 ekvivalens), aceton, szobahőmérséklet, 2 óra, 94%, 95%; (g) TFA:H₂O:THF 1:1:4, 0 °C, 6 óra, 95%.

24. ábra Timidinnel megvalósított reakciók

3.2.5. Reakció nukleozidokkal: kísérlet spirozármasok előállítására

A továbbiakban megkíséreltük a heterogyrú szekunder szénre történő felépítést, remélve, hogy ezáltal biológiailag aktív spirozármasokhoz jutunk. Kiindulási vegyületnek 2',5'-bisz-TBDMS uridint (**168**) választottunk. A 3'-helyzetű hidroxilcsoportot Dess-Martin reagens segítségével ketocsoporttá oxidáltuk. Az így nyert **169**-es ketonszármasokot feldolgozás nélkül Wittig-reakcióba vittük, majd tisztítottuk. Az így kapott **170**-es 3'-tiofenilészter szármasokot a bevált protokoll szerint tiolizáltuk (**171**), majd ezt követően jóddal, illetve vörösvérúgósóval is oxidáltuk. Mind a jódos, mind a vörösvérúgósó oxidáció esetében a képződött termék nem ditiolanon-szármasok (**172**), hanem egy ismeretlen kéntartalmú szerkezet lett. Az észter-tiolsav átalakulás mindkét esetben maradéktalanul lejátszódott (a keletkező **171**-es tiolsav a vékonyréteg-kromatográfiás rendszerben a startpontra került). A 3'- β -merkaptó tiolsav intermedier (egyben az oxidáció kiindulási vegyülete) mindkét oxidáció esetében részben megmaradt.



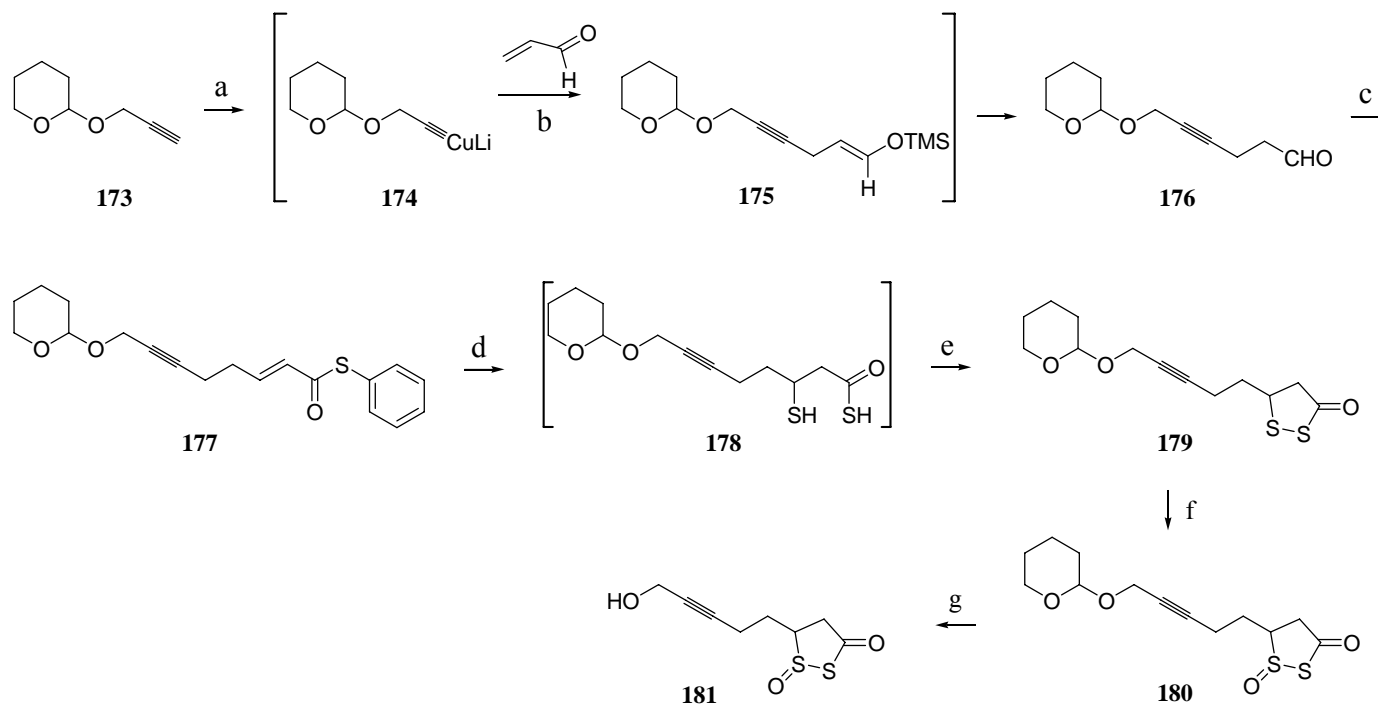
(a) Dess-Martin reagens (1,5 ekvivalens), DKM, 0 °C/szobahőmérséklet, 3,5 óra; (b) $\text{Ph}_3\text{PCHCOPh}$ (1,5 ekvivalens), 1,4-dioxán, szobahőmérséklet, 34 óra, 56% (a+b); (c) Et_3N (2,1 ekvivalens), H_2S , 1,4-dioxán, szobahőmérséklet, 4,5 óra; (d) $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (1,5 ekvivalens), 1,4-dioxán – víz, szobahőmérséklet, 47 óra.

25. ábra Spirozármasok előállítására való kísérlet uridin modellen

3.2.6. Egy második generációs leinamicin-analóg előállítása

Az irodalmi bevezetőben (28. oldal) már utaltam arra, hogy a közelmúltban (2003) már tettek kísérletet⁴³ olyan analóg előállítására, amely együtt tartalmazza a bioaktivásért felelős molekulaszervezeti fragmentumokat. Az általunk megvalósított analógszintézis annyiban tér el ettől, hogy az episzulfónium kulcsintermedier kialakulásáért felelős γ -pozíciójú kettőskötést egy kémiailag reaktívabb hármaskötéssel helyettesítettük, továbbá lerövidítettük a szintézist az általunk kidolgozott módszernek megfelelően.

Ennek során a kiindulási 2,3-dihidro-1*H*-piránból és propargil-alkoholból savas ioncserélő gyanta segítségével tetrahidropiranyl-propargil-étert (**173**) képeztünk⁶³. A propargil-csoport alkinrészének kapcsolását⁶⁴⁻⁶⁶ a **174**-ből litiokuprálással kapott karbanionnak az akroleinre történő Michael-addíciójával valósítottuk meg trimetil-jódszilán jelenlétében. Ez a reagens trimetil-szilil-enoléter intermedier formában stabilizálta a terméket (**175**), melyet izolálás nélkül hidrolizáltunk, s a **176**-es alkinált nyertük. A továbbiakban a kidolgozott protokoll szerint a kapcsolást Wittig-reakció (**177**-es tiofenilészter), majd a tiolízis és a kétlépcsős oxidáció (**179** és **180**) követte. A THP védőcsoportot szintén savas ioncserélő gyanta segítségével távolítottuk el, így kaptuk meg a **181**-es vegyületet. Az ily módon nyert **179** és **180** ditiolanon és ditiolanon-*S*-oxid származékoknak is megvizsgáltuk a citotoxicitását



(a) n-BuLi (1 ekvivalens), THF, -10 °C, 15 perc; Cu(I)I·0.75Me₂S (1,1 ekvivalens), THF, -10 °C, 45 perc; (b) Me₃SiI (1 ekvivalens), THF, -78 °C, 10 perc; akrolein (1 ekvivalens), THF, -78 °C; -30 °C, 2,5 óra, 42% (a+b); (c) Ph₃PCHCOPh (1,25 ekvivalens), 1,4-dioxán, szobahőmérséklet, 16 óra, 75%; (d) Et₃N (2,1 ekvivalens), H₂S, 1,4-dioxán, szobahőmérséklet, 2 óra; (e) K₃[Fe(CN)₆] (1,5 ekvivalens), 1,4-dioxán – víz, szobahőmérséklet, 17 óra, 62% (d+e); (f) dimetil-dioxirán (1 ekvivalens), aceton, szobahőmérséklet, 2 óra, 98%; (g) Dowex 50W X4 ioncserélő gyanta, DKM, szobahőmérséklet, 2 óra, 94%.

26. ábra Második generációs leinamicin-analóg előállítása

3.3. Biológiai vizsgálatok és eredmények

A módszer: A *HeLa* széles körben ismert és gyakran alkalmazott sejtvonal különféle kémiai anyagok toxicitásának vizsgálatára. (A *HeLa* sejtek humán méhnyakdaganatból származó epitheliális morfológiájú sejtek. A sejtvonal Henrietta Lacks-tól származik, aki 1951-ben hunyt el rákban.)

A megfelelő sejtvonal kiválasztása mellett egy egyszerű és reprodukálható tesztre is szükség van, amellyel nagy számú vegyület citotoxicitása gyorsan és pontosan mérhető. Az egyik leggyakrabban alkalmazott *in vitro* citotoxicitási teszt az *MTT kolorimetriás* teszt, mellyel egyszerűen, jól reprodukálhatóan és szelektíven végezhetjük el a kívánt vizsgálatokat.

Az MTT-s protokollt elsőként MOSMANN írta le 1983-ban⁶⁷. A teszt az MTT mitokondriumon belüli reakcióján alapul. Maga az MTT egy sárga színű tetrazólium só, ami ibolyaszínű formazán formává alakul át az aktív anyagcserét folytató sejtek mitokondriumában szukcinát-dehidrogenáz enzim segítségével. A só könnyen átjut a sejtmembránon, míg a formazán számára a sejtmembrán impermeábilis, emiatt képes akkumulálódni a sejtben, illetve a mitokondriumban. Az MTT-teszten kívül alkalmaznak más tesztek is, mint pl. az NRR (*Neutral Red Release*)-t. FOTAKIS és mtsai tanulmányukban összehasonlították⁶⁸ az MTT-s és az NRR-es eredményeket, és megállapították, hogy az MTT-s sokkalta reprodukálhatóbb és jelentősebb *in vitro/in vivo* korrelációt mutat.

Az MTT elterjedését követően később több bizonyíték is felmerült arra vonatkozóan, hogy az MTT redukciója a NADH és NADPH által bekövetkezhet a sejteken belül, de a mitokondriumon kívül⁶⁹. Éppen ezért DENZION és LANG⁷⁰ valamint HANSEN és mtsai⁷¹ a MOSMANN által leírt protokoll módosítását javasolták a módszer érzékenységének és reprodukálhatóságának javítása céljából.

Mérési metódus:⁷² A *HeLa* sejteket 37 °C-os, 5 százaléknyi széndioxidot tartalmazó inkubátorban és Dulbecco-féle módosított médiumban tartották, melyet kiegészítettek 10%-os, hővel inaktivált borjúsérummal, 2 mM-os L-glutaminnal és 100 mg/l koncentrációjú gentamicin oldattal. A sejteket 24 lyukú plate-be osztották, minden egyes lyukba 5×10^4 sejtet és 1,00 ml médiumot tettek, majd 24 óra múlva, miután a sejtek letapadtak, illetve konfluens réteget alkottak, hozzáadták a vizsgálandó vegyület oldatának különböző mennyiségeit valamint esetenként a tiol aktivátort. A plateket 72 órán át inkubálták, majd a médiumot friss, 0,5 mg/ml MTT tartalmú médiumra cserélték és 3 órán át 37 °C-os, 5 százaléknyi széndioxidot tartalmazó inkubátorban kezelték tovább. Az MTT-tartalmú oldatot eltávolították és 1,00 ml savas izopropanolt adtak a mintákhoz, hogy feloldják a képződött formazán kristályokat. Lila színű oldatsort kaptak, melynek abszorbanciáját 560 nm-en, spektrofotometriásan mérték.

Az eredmények: A vegyületek citotoxicitási adatait a tiol aktivátor és a lipofilitás függvényében elemeztük. Az oktanol/víz megoszlási koefficiens logaritmus formáját (ClogP) elméleti úton számításokkal meg lehet közelíteni⁷³, s ezt az adatot széles körben alkalmazzák a vízdékonyság, illetve a membrántranszport jellemzésére is. A molekulák ClogP értékeinek a megállapítására a BioByte által forgalmazott Bio-Loom[®] (www.biobyte.com/bb/prod/cqsar.html), illetve a Cambridgesoft által forgalmazott ChemDraw Ultra[®] szoftvert használtuk fel.

A kapott eredményeket IC₅₀-értékekben (inhibition concentration) adtuk meg, a kapott gátlási értékek $\mu\text{mol/l}$ mennyiségben vannak feltüntetve.

Sajnálatos módon a biológiai vizsgálatokhoz használt sejt kultúrán nem tudtuk tesztelni a *leinamicint*, ugyanis az kereskedelmi forgalomban nem beszerezhető. Megkeresésünkre a *Kyowa Hakko Kogyo* munkatársai érdemben nem

válaszoltak. Ezért összehasonlító standardként a daganatellenes terápiában jól ismert és elterjedten használt *daunomicint* használtuk. A táblázatban található gátlási koncentráció-értékek 3 párhuzamos mérés átlagértékeit jelentik.

Vegyület	IC ₅₀	IC ₅₀ (+EtSH)	ClogP
Daunomicin	2,96	-	-1,621
129	257,7	65,54	3,607
130	68,43	24,75	1,875
138	35,93	16,87	2,338
139	18,15	12,60	0,634
154	10,04	7,84	5,397
155	3,68	2,67	3,694
156	62,23	20,72	-1,449
157	50,71	7,01	-3,152
164	n.a.	16,69	2,766
165	43,12	6,61	1,063
166	298,8	54,62	-0,615
167	118,7	29,69	-2,318
179	123,7	20,11	2,831
180	41,31	8,33	1,009

2. táblázat A célvegyületek biológiai aktivitásának összefoglalása

A kapott vizsgálati eredményeket elemezve és a szerkezetekkel összevetve az alábbiakat állapítottuk meg:

- Mind a semleges- mind a célszubsztrátot tartalmazó ditiolanon származékaink citotoxikusnak bizonyultak, mely citotoxicitás a mikromoláris koncentrációtartományba esett. Ez – a semleges szubsztráthordozók esetét (**129**, **130**, **138**, **139**) alapul véve igazolni látszik azt a feltételezést, miszerint az 1,2-ditiolán-3-on, illetve *S*-oxid gyűrűpárja önmagában is citotoxikus hatást biztosít.

- A táblázat adataiból megállapítható, hogy a tiol kofaktor jelenléte minden esetben növelte a citotoxikus aktivitást, értékesen csökkentve ezáltal a gátláshoz szükséges hatóanyag-koncentrációt, ami terápiás szempontból igen előnyös.

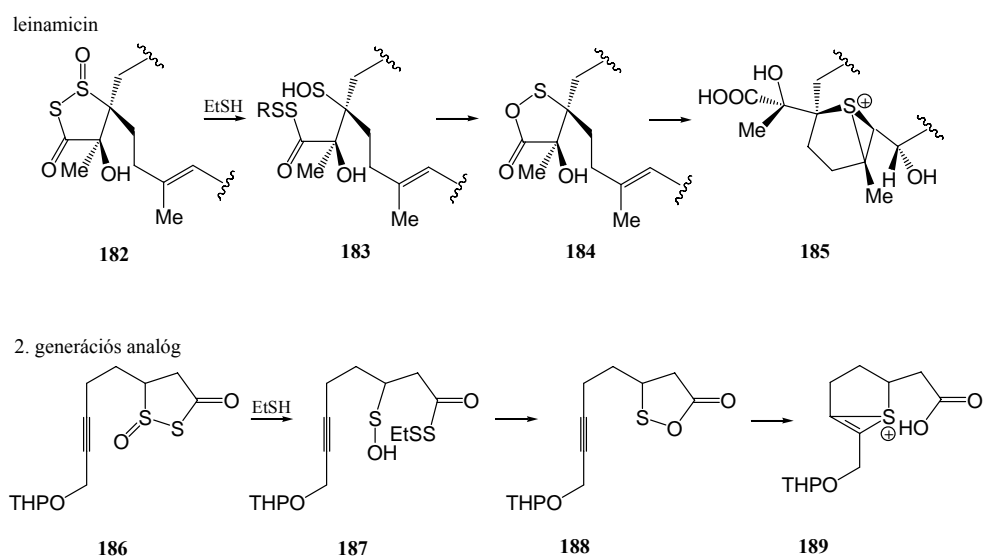
- További érdekesség, hogy az oxidálatlan heterogyűrűt tartalmazó származékok (129, 138, 154, 156, 164, 166 és 179) is aktívnak bizonyultak, jóllehet az aktivitás mértéke egyetlen esetben sem haladta meg az oxidált pármolekula aktivitását. Ez a tény azért is fontos, mert lehetőséget nyújt a potenciálisan bioaktív molekulák körének kiszélesítésére, esetlegesen új bioaktív molekulák felfedezésére.

- A nukleozid származékok (154, 155, 156, 157, 164, 165, 166 és 167) mutatták a legjobb aktivitást. A jó citotoxikus hatás igazolni látszik prekonceptiókat, miszerint a nukleozidok hidrogénhidas kötéssel kapcsolódnak, a molekula ezáltal a hatóhelyen rögzül, megnövelve a hasítás hatékonyságát. Másrészt a nukelobázis pirimidindion báziskomponensének kettőskötése helyettesítheti az eredeti molekulában található γ -helyzetű kettőskötést, lehetőséget biztosítva ezáltal az episzulfónium szerkezetté történő átrendeződésre.

- A nukleozidok esetében megállapítottuk, hogy a negatívabb ClogP-vel bíró (szililéter-mentes) származékok (156, 157, 166 és 167) citotoxikus aktivitása minden esetben gyengébb, mint a szililezett (154, 155, 164 és 165) vegyülepárjuké. Ez az eredmény megerősíti a PADRÓN és mtsai által a szililéter csoportok - tőlünk független szerkezetű molekulák esetén - kedvező hatásáról tett megállapítását.

- A hármaskötést tartalmazó származék (180) jó aktivitására a molekula egyszerűsége (és a bázispárképzés lehetőségének hiánya) ellenére magyarázatul

szolgálhat, hogy megfelelő átrendeződéssel⁷⁴ képes lehet a biológiai aktivitásért felelős episzulfónium szerkezet (**186**→**189**) kialakítására (**27. ábra**):



27. ábra A második generációs leinamicin-analóg lehetséges episzulfónium-szerkezet képzése

4. Összefoglalás

Munkánk során a leinamicin daganatellenes antibiotikum biológiailag aktív molekularészleteinek változatos, egyszerű hordozókra történő felépítését valósítottuk meg. Elsőként az antibiotikum bioaktív molekularészletének egy új, általános szintézismódszerét dolgoztuk ki. Ennek megvalósításához különféle aldehidekből Wittig-reakcióval aktív tiofenilésztereket állítottunk elő, melyekből tiol segítségével, 3-merkaptó tiolsav és β -tiolakton intermediéren keresztül állítottuk elő az 1,2-ditiolán-3-on-t, majd ebből a megfelelő *S*-oxidokat.

Munkánk során aromás, alifás, szénhidrát- és különféle nukleozid hordozókon valósítottuk meg az általunk eszközölt szintézismódot.

Az így kapott származékok - mind a ditiolanonok, mind a ditiolanon-*S*-oxidok - citotoxicitását általánosan, aktivátor és a lipofilitás függvényében is vizsgáltuk és elemeztük *HeLa-3* sejtvonalon.

Feltételezésünket, miszerint a citotoxicitás a DNS-hasítás következtében manifesztálódik és ezt a tiol jelenléte elősegíti a biológia vizsgálatok eredményei igazolták. Ezek után joggal feltételezhetjük, hogy a ditiolanon-*S*-oxid aktivitásához valóban szükség van a tiol jelenlétére. Ugyanakkor nagyon érdekes, hogy megvizsgálván a heterogyűrűt csak diszulfid formában tartalmazó szintetikus intermediereket (**129**, **138**, **154**, **156**, **164**, **166** és **179**), azok is mutattak aktivitást, bár kisebb mértékűt, mint a kémiaileg reaktívabb *S*-oxid párjaik (**130**, **139**, **155**, **157**, **165**, **167** és **180**).

Minden származékunk citotoxikusnak bizonyult mikromólos koncentrációban. Még a feltételezett hatásmechanizmus szempontjából érdektelen hordozómolekulákhoz történő kapcsolás esetében is tapasztaltunk aktivitást (**129** és **130**).

Nukleozidszármazékaink (**154**, **155**, **156**, **157**, **164**, **165**, **166** és **167**) viszonylag erőteljes citotoxicitást mutattak. A szililétert tartalmazó **155** a

daunomicinét meghaladó, míg a **154**, **157** és **165** a daunomicinével összemérhető aktivitással rendelkeznek. Feltételezzük, hogy - munkahipotézisünknek megfelelően - e nukleozid-leinamicin analógok jó hatása a DNS-sel való bázispároképzéssel magyarázható.

Bizonyítást nyert továbbá az is, miszerint a lipofil szililcsoportok jelenléte minden esetben megnövelte az általunk szintetizált analógok emberi tumorsejtekkel szemben mutatott citotoxicitását. A **154-156**, **155-157**, valamint a **164-166** és a **165-167** szabad -OH-csoportot, illetve szilil védőcsoportot tartalmazó vegyületepárjaink esetében kitűnően megfigyelhető az, hogy a lipofil szililvegyületek citotoxicitása jobb, mint a negatív CLogP-vel bíró párjuké.

A **180**-as vegyületünk, mely a leinamicin DNS-hasító hatásáért felelős molekularészletének $-C\equiv C-$ hármaskötéses analógiát tartalmazza, szerkezeti egyszerűsége – és a bázispároképzés lehetőségének hiánya ellenére - vegyületsorozatunknak viszonylag aktívabb (5.) tagja.

Végezetül elmondhatjuk, hogy ugyan mindeddig nem vizsgálták meg egyszerű leinamicin-analógok citotoxicitását, mégis e munkánk alapján megállapíthatjuk, hogy az antibiotikum erősen leegyszerűsített szerkezetű analógiái is mutatnak olyan mértékű citotoxicitást, hogy az egyszerű ditiolanon-S-oxidok további - ilyen irányú - vizsgálata hasznos lehet. E célra alkalmasnak látszik a dolgozatban ismertett egyszerű szintetikus módszerünk, mely könnyen alkalmazható más aldehidekre is.

Véleményünk szerint az a tény, hogy a szililéterek citotoxicitás-növelő hatását PADRÓN és munkatársai után – azoktól teljesen eltérő szerkezetű vegyületeken – mi is bizonyítottuk, további ilyen irányú szisztematikus vizsgálatok szükségességére hívja fel a figyelmet.

5. Summary

In our work we incorporated the bioactive part of the antitumor antibiotic leinamycin into different single carrier molecules and studied their cytotoxicity.

First we elaborated a new synthetic method to prepare the potentially bioactive moiety (1,3-dioxo-1,2-dithiolan-3-on-S-oxide) of the antibiotic. To achieve this we prepared active tiophenyl esters from various aldehydes using a Wittig reaction. In the presence of thiol we synthesized the 1,2-dithiolan-3-ones from the esters in a nucleophilic addition step and then we prepared the convenient *S*-oxide derivatives. During our work we used the building-up methodology on aromatic, aliphatic, carbohydrate and different nucleoside carriers. We studied the cytotoxic activity of both of the dithiolanons and the *S*-oxides. First in general, then in the presence of thiols and analyzed the results in relation with their lipophilicity (on a *HeLa3* cell line).

It is also clear that ethanethiol significantly enhanced the cytotoxic effect in each case, so the assumption that for the activity of the dithiolanon-*S*-oxides the presence of a thiol is necessary is correct. At the same time, it is very interesting that the cyclic disulfide-type intermediates (**129**, **130**, **154**, **156**, **164**, **166** and **179**) are also active, although to a less extent, than the corresponding *S*-oxide analogs (**130**, **139**, **156**, **157**, **165**, **167** and **180**), which are chemically more reactive. In the case of compounds **129**, and **130** the “warhead” was coupled to molecules that are not as important as considered on the basis of the mechanism of action, but a slight activity was still observed also in these cases.

The nucleoside derivatives (**154**, **155**, **156**, **157**, **164**, **165**, **166** and **167**) possessed strong cytotoxicity. The silyl ether-containing **155** was more active than the antibiotic daunomycin and the activity of the compounds **154**, **157** and **165** was comparable to that. In agreement with our working hypothesis, it is assumed that

the comparatively good efficacy of these nucleoside-leinamycin analogs is attributed to the formation of base-pairs with DNA.

The cytotoxicity data of our compounds was also investigated in relation with their lipophilic character. Data show that the lipophilic silyl group-containing compounds were more reactive against human tumor cells than the desilylated ones. In the case of the pair of compounds **154–156**, **155–157**, **164–166** and **165–167**, carrying free hydroxyl and silyl-protecting group, the cytotoxicity of the lipophilic silylated compounds is higher than that of the respective pair with a negative CLogP value.

Compound **180** that carries a triple bond-analog of the molecular fragment of leinamycin responsible for the DNA cleaving effect is also a comparatively active member (5th) of the series.

Summarizing our works finally we can note that the cytotoxicity of simple leinamycin analogs has not been extensively investigated. The results presented here demonstrate that some derivatives of leinamycin with very simplified structures, such as the dithiolanon-*S*-oxides possess comparative efficacy. Therefore further investigations of related compounds may be worthwhile. For this purpose noncomplicated, convenient synthetic procedures like that was described in this work can be extended to additional aldehydes. It is believed that we have also succeeded in proving the cytotoxicity-enhancing properties of silyl ethers, first reported by PADRÓN et al. by using completely different structures, and this encourages further systematic studies on the topic.

6. Kísérletes rész

6.1. Általános módszerek

A kiindulási vegyszereket és az oldószereket a Sigma-Aldrich Kft.-től, illetve a Spektrum 3D Kft.-től szereztük be. Valamennyi oldószert tisztítottuk és ha szükséges volt szárítottuk felhasználás előtt. A diklórmetánt P₂O₅-ről desztilláltuk le és 4 Å-ös molekulaszitán tároltuk felhasználásig. A tetrahydrofuránt nátrium/benzofenon rendszerrel desztilláltuk le közvetlenül felhasználás előtt.

Az ¹H és a ¹³C NMR spektrumokat 400,13 és 100,61 MHz-en Bruker WP-400 SY, illetve 360,13 és 90,55 MHz-en Bruker WP-360 SY típusú spektrométeren vettük fel, CDCl₃-ot, (CD₃)₂CO-ot és d₆-DMSO-t használva oldószerként, valamint tetrametilszilánt belső standardként. A csatolási állandók (*J* értékek) Hertz-ben (Hz) kerültek megadásra, a jelmultiplicitások az ¹H NMR spektrumok esetén a következők: s, szingulett; d, dublett; t, triplett; dt, dupla triplett; q, kvartett; m, multipllett; br, széles jel, bs, széles szingulett.

A tömegspektrometriai felvételeket Bruker Biflex-III MALDI TOF MS valamint Bruker BioTOF II ESI TOF MS készülékeken vettük fel.

A vékonyréteg-kromatográfiai vizsgálatokhoz (VRK) Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck) réteget használtunk. A preparatív réteges elválasztáshoz 2 mm-es rétegvastagságú Merck Kieselgel F₂₅₄ lemezt használtunk. Oszlopkromatográfiához Merck szilikagélt (Kieselgel 60), 0,063-0,200 mm (70-230 mesh) használtunk. Az egyes kromatográfiai elválasztásoknál az alábbi eluensrendszereket alkalmaztuk: (A) 97:3 hexán-etilacetát; (B) 95:5 hexán-etilacetát; (C) 9:1 hexán-etilacetát; (D) 8:2 hexán-etilacetát; (E) 4:1 diklórmetán-aceton; (F) 7:3 hexán-aceton; (G) 7:3 diklórmetán-aceton; (H) 85:15 hexán-etilacetát és (I) 8:2 hexán-aceton.

A foltokat UV elnyelésük (254 nm) alapján, illetve 7%-os ammónium-molibdenát 0,5 M kénsavas oldatával történő lepermetezéssel és az azt követő

hevítéssel (hőpuska), valamint anilines hexánoldat + Br_{2(g)} felhasználásával detektáltuk.

Az oldószerbepárlásokat csökkentett nyomáson, 35-40 °C-os vízfürdőn végeztük. A szerves fázisokat MgSO₄-on és Na₂SO₄-on, a preparátumokat P₂O₅ fölött, vákuumexszikkátorban szárítottuk.

Az olvadáspontokat Kofler-féle mikroszkópos olvadáspontmérő készüléken határoztuk meg, a megadott értékek korrigálatlanok.

6.2. Receptek

(E)-S-fenil 5-fenilpent-2-éntioát (127)

126 (2,68 g, 20,0 mmol) száraz toluolos (80 ml) oldatához szobahőmérsékleten feniltio-karbonil-metiléntifenilfoszforánt ($\text{Ph}_3\text{PCHCOSPh}$: 9,88 g, 24 mmol, 1,2 ekvivalens) adunk, majd 48 órán át kevertetjük. Ha a reakció lejátszódott, (VRK: A rendszer), a reakcióelegyet bepároljuk, és a kapott maradékot feloldjuk egy kevés etilacetátban, majd oszlopkromatográfiásan tisztítjuk (A rendszer). A kapott termék: **127** (4,28 g, 80%-os hozam) viszkózus szirup. VRK: R_f 0,35 (A rendszer). $^1\text{H-NMR}$ (360 MHz, CDCl_3) δ 2,80 (2H, t, H-5), 2,57 (2H, m, H-4), 6,22 (1H, d, $J = 17,2$ Hz, H-2), 7,02 (1H, d, H-3), 7,38-7,45 (10H, m, Ar). $^{13}\text{C NMR}$ (90 MHz, CDCl_3) δ 33,7 (C-5, C-4), 126,1 (Ar), 127,4 (Ar), 127,7 (Ar), 128,1 (Ar), 128,9 (Ar), 134,4 (Ar), 143,8 (Ar), 151,1 (C-2), 154,2 (C-3), 201,3 (C=O). MS számított: $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{OSNa} [\text{M} + \text{Na}]^+$: 291,15, talált: 291,17. Elemanalízis számított: C: 76,08; H: 6,01; S: 11,95, talált: C: 76,12; H: 5,98; S: 11,99.

5-feniletil-[1,2]-ditiolán-3-on (129)

127-et (2,0 g, 7,45 mmol) száraz dioxánban (50 ml) oldunk, majd trietilamint (2,6 ml, 16,39 mmol, 2,5 ekvivalens) adunk hozzá és kénhidrogén gázt vezetünk át rajta, közepes ütemben, 15 percen át (az oldat színe sötétsárgára változik). 2 órán át szobahőmérsékleten kevertetjük a reakcióelegyet, ezalatt vékonyréteg-kromatográfiásan követjük a reakciót (B rendszer). A reakcióelegyet 2 óra elteltével bepároljuk és a maradékot feloldjuk száraz dioxánban (60 ml), majd (az előző lépésben 100%-os átalakulással számolva) $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (3,70 g, 11,17 mmol, 1,5 ekvivalens) vizes oldatát (15 ml) csöpögtetjük hozzá, 5 perc alatt. Szobahőmérsékleten 16 órán át kevertetjük, majd bepároljuk és a maradékot feloldjuk etilacetátban (100 ml). Választótölcsérben a szerves fázist mossuk telített NaHCO_3 -oldattal (15 ml), szárítjuk MgSO_4 -on, bepároljuk, és a maradékot

oszlopkromatográfiásan tisztítjuk (B rendszer). A termék: **129** (1,01 g, 60%-os hozam) halványsárga szirup. VRK: R_f 0,33 (B rendszer). $^1\text{H-NMR}$ (360 MHz, CDCl_3) δ 2,12 (2H, m, H-1'), 2,76 (2H, m, H-2'), 3,04 (2H, d, $J = 16$ Hz, H-4), 3,64 (1H, m, H-5), 7,21-7,26 (5H, m, Ar). $^{13}\text{C-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3) δ 33,6 (C-2'), 34,2 (C-1'), 47,8 (C-4), 49 (C-5), 126,2 (Ar), 128,2 (Ar), 128,5 (Ar), 142,1 (Ar), 206 (C=O). MS számított: $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{OS}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 225,33, talált: 225,29. Elemanalízis számított: C: 58,89; H: 5,39; S: 28,58, talált: C: 58,95; H: 5,34; S: 28,64.

5-feniletil-[1,2]-ditiolán-3-on 1-oxid (130)

129 (93 mg, 0,416 mmol) halványsárga, acetonos (15 ml) oldatához szobahőmérsékleten dimetil-dioxirán acetonos oldatát adjuk (5,7 ml, $C = 0,073$ mol/l, 1,0 ekvivalens), majd 2 órán át kevertetjük. Bepárlás után halványsárga szirup marad vissza: **130** (96,8 mg, 97%-os hozam). VRK: R_f 0,35 (B rendszer). $^1\text{H-NMR}$ (360 MHz, CDCl_3) δ 2,14 (2H, m, H-1'), 2,79 (2H, m, H-2'), 3,08 (2H, d, $J = 16$ Hz, H-4), 3,84 (1H, m, H-5), 7,22-7,28 (5H, m, Ar) $^{13}\text{C-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3) δ 33,4 (C-2'), 34,4 (C-1'), 47,5 (C-4), 58,6 (C-5) 126,8 (Ar), 129,1 (Ar), 129,3 (Ar), 140,8 (Ar), 203 (C=O). MS számított: $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_2\text{S}_2\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 263,22, talált: 263,19. Elemanalízis számított: C: 54,97; H: 5,03; S: 26,68, talált: C: 55,03; H: 5,09; S: 26,62.

(E)-S-fenil 3-((4'R,5'S)-5'-(R)-2'',2''-dimetil-1'',3''-dioxolán-4''-il)-2',2'-dimetil-1',3'-dioxolán-4'-il)prop-2-éntioát (136)

A 2,3:4,5-di-*O*-izopropilidén-*aldehydo*-D-arabinóz **135** (0,80 g, 3,48 mmol) foszforánnal ($\text{Ph}_3\text{PCHCOSPh}$: 1,57 g, 3,83 mmol, 1,1 ekvivalens) száraz toluolban (50 ml) történő reakciójának körülményei megegyeznek a **127**-es vegyületnél leírtakkal. A kapott termék: **136** (1,02 g, 81 %-os hozam) halványsárga szirup. VRK: R_f 0,65 (C rendszer). $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 0,44 (6H, s, $\text{C}(\underline{\text{CH}}_3)_2$),

0,58 (6H, s, C(CH₃)₂), 2,85 (1H, t, H-5'), 3,10 (1H, m, H-4''), 3,25 (2H, m, H-5''), 3,74 (1H, m, H-4'), 5,65 (1H, d, *J* = 12 Hz, H-2), 6,12 (1H, d, H-3), 6,54 (5H, s, Ar). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 23,9 (C(CH₃)₂), 24,6 (C(CH₃)₂), 63,2 (C-5''), 74,9 (C-4''), 77,9 (C-4'), 79,2 (C-5'), 106,6 (C(CH₃)₂), 107,4 (C(CH₃)₂), 122,1 (Ar), 126,1 (Ar), 128,5 (Ar), 131,5 (Ar), 139,1 (C-3), 142,1 (C-2), 192,1 (C=O). MS számított: C₁₉H₂₅O₅S [M + H]⁺: 365,42, talált: 365,37. Elemanalízis számított: C: 62,61; H: 6,64; S: 8,80, talált: C: 62,56; H: 6,70; S: 8,73.

5-((4'S,5'R)-5'-((R)-2'',2''-dimetil-1'',3''-dioxolán-4''-il)-2',2'-dimetil-1',3'-dioxolán-4'-il)-1,2-ditiolán-3-on (138)

136 (1,0 g, 2,74 mmol) száraz dioxános (40 ml) oldatához szobahőmérsékleten trietilamint adunk (0,95 ml, 6,86 mmol), majd a **129**-nél leírtak szerint kénhidrogénnel kezeljük, és a reakciót vékonyréteg-kromatográfiásan követjük (D rendszer). Ezt követően az ott leírtak szerint feldolgozzuk, majd K₃[Fe(CN)₆] (1,36 g, 4,11 mmol, 1,5 ekvivalens) vizes oldatát adjuk hozzá (10 ml), és 16 órán át kevertetjük. A kapott termék: **138** (0,64 g, 73%-os hozam) halványsárga szirup. VRK: R_f 0,35 (D rendszer). ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0,98 (6H, s, C(CH₃)₂), 1,48 (6H, s, C(CH₃)₂), 3,30 (1H, m, H-5), 3,60 (1H, m, H-5'), 3,70 (2H, m, H-4), 3,80 (1H, m, H-4''), 4,20 (2H, m, H-5'), 5,18 (1H, dt, H-4'). ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 28,1 (C(CH₃)₂), 29,3 (C(CH₃)₂), 46,1 (C-4), 50,7 (C-5), 68,1 (C-5''), 78,2 (C-4''), 78,9 (C-5'), 82,1 (C-4'), 111,1 (C(CH₃)₂), 112,1 (C(CH₃)₂), 203,1 (C=O). MS számított: C₁₃H₂₁O₅S₂ [M + H]⁺: 321,42, talált: 321,39. Elemanalízis számított: C: 48,73; H: 6,29; S: 20,01, talált: C: 48,67; H: 6,35; S: 20,09.

5-((4'S,5'R)-5'-((R)-2'',2''-dimetil-1'',3''-dioxolán-4''-il)-2',2'-dimetil-1',3'-dioxolán-4'-il)-1,2-ditiolán-3-on 1-oxid (139)

138 (80 mg, 0,25 mmol) acetonos oldatának (3,8 ml) reakciója dimetil-dioxirán acetonos oldatával (3,75 ml, C = 0,067 mol/l, 1,0 ekvivalens) megegyezik a **130**-as

vegyületnél leírtakkal. A kapott *S*-oxid termék: **139** (79,8 mg, 95%-os hozam) viszkózus, sárga szirup. VRK: R_f 0,38 (D rendszer). $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 1,08 (6H, s, $\text{C}(\underline{\text{CH}}_3)_2$), 1,46 (6H, s, $\text{C}(\underline{\text{CH}}_3)_2$), 3,57 (1H, m, H-5), 3,66 (1H, m, H-5'), 3,75 (2H, m, H-4), 3,82 (1H, s, H-4''), 4,22 (2H, m, H-5''), 4,87 (1H, m, H-4'). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 20,5 ($\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$), 24,5 ($\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$), 38,8 (C-4), 43,8 (C-5), 62,4 (C-5''), 72,3 (C-5'), 74,8 (C-4''), 75,2 (C-4'), 108,9 ($\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_2$), 109,9 ($\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_2$), 190,5 (C=O). MS számított: $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{O}_6\text{S}_2\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 359,21, talált: 359,17. Elemanalízis számított: C: 46,41; H: 5,99; S: 19,06, talált: C: 46,35; H: 6,05; S: 19,11.

(*E*)-*S*-fenil 3-(6-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2*H*)-il)-2,2-dimetil-tetrahydrofuro[3,4-*d*][1,3]dioxol-4-il)prop-2-éntioát (143)

141 5 g-ját (17,6 mmol) szobahőmérsékleten 100 ml etil-acetát és 20 ml DMSO elegyében oldjuk. Ezt követően 10,9 g (2,8 mmol, 0,16 ekvivalens) DCC-t oldunk fel az elegyben, majd a fehér csapadék megjelenése után (diciklohexil-karbamid) 3,5 ml diklórecetsavat adagolunk hozzá (8,8 mmol, 0,5 ekvivalens). Másfél órán át kevertetjük, majd 4,43 g kristályvizes oxálsavat adunk hozzá (35,2 mmol, 2 ekvivalens), hogy a fölös reagenst elbontsuk. Újabb félóra elteltével piridinnel közömbösítjük (a $\text{pH} \approx 7$ legyen, a védőcsoport savérzékenysége miatt). 14 órán át szobahőmérsékleten kevertetjük, 10 g 4Å-ös molekulaszita mellett. Ezt követően szűrjük, mossuk kevés etil-acetáttal, az egyesített szerves fázisokat MgSO_4 -on szárítjuk, majd bepároljuk. A maradékot etil-acetátban felvesszük (115 ml) és 9,42 g feniltio-karbonil-metiléntrifenilfoszforánt (22,88 mmol, 1,3 ekvivalens) hozzáadva szobahőmérsékleten további 15 órán át kevertetjük. Szűrjük, mossuk kevés etil-acetáttal (15 ml), bepároljuk. A maradékot felvesszük diklórmétánban (150 ml), választótölcsérben mossuk 3×50 ml vízzel, 2×50 ml telített NaHCO_3 oldattal. Magnézium-szulfáton szárítjuk, bepároljuk, majd oszlopkromatográfiásan tisztítjuk. (D rendszer). A termék: **143** (5,21 g, 71%-os hozam) sárga, szilárd anyag.

VRK: R_f 0,27 (D rendszer). $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 1,58 (6H, s, $\text{C}(\underline{\text{CH}}_3)_2$), 4,66 (1H, m, H-4'), 4,87 (1H, t, H-3'), 5,09 (1H, t, H-2'), 5,61 (1H, d, H-5''), 5,74 (1H, dd, H-1'), 6,32-6,40 (1H, d, $J=14,4\text{Hz}$, H-2), 6,98-7,06 (1H, d, H-3), 7,42 (5H, s, Ar), 8,72 (1H, s, NH). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 27,1 ($\text{C}(\underline{\text{CH}}_3)_2$), 71,1 (C-4'), 84,1 (C-2'), 85,2 (C-3'), 86,9 (C-1'), 95,5 (C-5''), 102,9 ($\text{C}(\underline{\text{CH}}_3)_2$), 127,8 (Ar), 129,2 (Ar), 132,1 (Ar), 134,4 (Ar), 142,7 (C-6''), 147,6 (C-2), 150,3 (C-3), 157,1 (C=O), 166,5 (C=O), 183,2 (C=O). MS számított: $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_6\text{N}_2\text{SNa}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 439,44, talált: 439,37. Op. 68-70 °C. Elemanalízis számított: C: 57,68; H: 4,84; N: 6,73; S: 7,70, talált: C: 57,59; H: 4,72; N: 6,85; S: 7,83.

(E)-S-fenil-3-((2'R,3'S,4'R,5'R)-3',4'-bisz(tercier-butil-dimetilsziloxi)-5'-(2'',4''-dioxo-3'',4''-dihidropirimidin-1''-(2H)-il)-tetrahydrofuran-2'-il)prop-2-éntioát (152)

Dess-Martin reagens (636 mg, 1,5 mmol) 0 °C-ra hűtött, száraz diklórmétanos (15 ml) szuszpenziójához **150** (472 mg, 1,0 mmol) diklórmétanos oldatát (10 ml) csepegtetjük 5 perc alatt, kevertetés közben. További 15 percen át 0 °C-on kevertetjük tovább, majd ezt követően 1 órán át szobahőmérsékleten reagáltatjuk. A reakciót vékonyréteg-kromatográfiásan követjük (E rendszer). Ezt követően a reakcióelegyet hígítjuk 60 ml előhűtött (0 °C-os) dietiléterrel, majd választótölcsérben két részletben (2×30 ml) mossuk 0 °C-os telített NaHCO_3 oldattal (melyben előzetesen 3,20 g vízmentes $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -ot oldottunk). A szerves fázist MgSO_4 -on megszáritjuk, szűrjük és bepároljuk. Az aldehid nyersterméket (**151**) dioxánban (35 ml) oldjuk és a korábban már ismertetett módon foszforánnal reagáltatjuk ($\text{Ph}_3\text{PCHCOSPh}$: 618 mg, 1,5 mmol, 1,5 ekvivalens). A Wittig-reakciót vékonyréteg-kromatográfiásan követjük (F rendszer), majd feldolgozás (szűrés és bepárlás) után oszlopkromatográfiásan tisztítjuk (F rendszer). A termék: **152** (477 mg, 79%-os hozam) sárga, szilárd anyag. VRK: R_f 0,40 (F rendszer). $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 0,09 (12H, s, $\text{Si}(\underline{\text{CH}}_3)_2$), 0,92 (18H, s, $\text{C}(\underline{\text{CH}}_3)_3$), 3,86-

3,90 (1H, dd, H-2'), 4,23 (1H, t, H-3'), 4,66 (1H, t, H-4'), 5,30 (1H, s, H-5'), 5,69-5,71 (1H, d, H-5''), 6,48-6,56 (1H, dd, $J = 14,4\text{Hz}$, H-2), 6,93-7,01 (1H, dd, H-3), 7,29-7,33 (1H, d, H-6''), 7,45 (5H, s, Ar), 8,62 (NH). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 16,1 ($\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$), 20,4 ($\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$), 20,8 ($\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$), 25,9 ($\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$), 74,8 (C-3'), 75,1 (C-4'), 82,2 (C-5'), 92,2 (C-2'), 102,8 (C-5''), 127,2 (Ar), 129,2 (Ar), 130 (Ar), 134,5 (Ar), 139,5 (C-3), 140,3 (C-2), 142,3 (C-6''), 155,9 (C=O), 163,5 (C=O), 187,7 (C=O). MS számított: $\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{O}_6\text{N}_2\text{SSi}_2\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 627,94, talált: 627,91. Op. 55-57 °C. Elemanalízis számított: C: 57,85; H: 7,33; N: 4,63; S: 5,30, talált: C: 57,80; H: 7,28; N: 4,70; S: 5,37.

1-((2'R,3'R,4'R,5'S)-3',4'-bisz(tercier-butil-dimetilsziloxi)-5'-((S)-5''-oxo-1'',2''-ditiolán-3''-il)-tetrahydrofuran-2'-il)pirimidin-2,4(1H,3H)-dion (154)

152 (452 mg, 0,748 mmol) száraz dioxános oldatához (20 ml) trietilamint (0,27 ml, 1,87 mmol, 2,5 ekvivalens) adunk, majd a korábban már (**129**) ismertetett módon kénhidrogénnel kezeljük. Bepároljuk, a maradékot dioxánban (25 ml) felvesszük és $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (369 mg, 1,12 mmol, 1,5 ekvivalens) vizes oldatát (10 ml) csepegtetjük hozzá, és egy éjszakán át szobahőmérsékleten reagáltatjuk. A reakciót vékonyréteg-kromatográfiásan követjük (F rendszer), majd bepárlás után oszlopkromatográfiásan tisztítjuk (F rendszer). A termék: **154** (263 mg, 63%-os hozam) sárga, szilárd anyag. VRK: R_f 0,30 (F rendszer). $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 0,08-0,12 (12H, s, $\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$), 0,81-0,85 (18H, s, $\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$), 3,15 (2H, m, H-4''), 4,11 (1H, m, H-5'), 4,18 (1H, t, H-3''), 4,35 (1H, t, H-4'), 4,96-4,99 (1H, q, H-3'), 5,54-5,58 (1H, d, H-5), 5,64-5,68 (1H, d, H-2'), 7,09-7,11 and 7,53-7,55 (1H, dd, H-6), 9,11 (NH). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 17,8 ($\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$), 20,9 ($\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$), 21,1 ($\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$), 25,7 ($\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$), 46,1 (C-3''), 48,2 (C-4''), 73,2 (C-4', C-5'), 74,3 (C-3'), 84,7 (C-2'), 102,3 (C-5), 144,7 (C-6), 150,1 (C=O), 163,5 (C=O), 205,4 (C=O). MS számított: $\text{C}_{23}\text{H}_{40}\text{O}_6\text{N}_2\text{S}_2\text{Si}_2\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 583,81, kapott:

583,85. Op. 49-51 °C. Elemanalízis számított: C: 49,25; H: 7,19; N: 4,99; S: 11,43, talált: C: 49,31; H: 7,26; N: 5,05; S: 11,35.

1-((2'R,3'R,4'R,5'S)-3',4'-bisz(*tercier*-butil-dimetilsziloxi)-5'-((S)-[5''-(2'',5''-dioxo-1'',2''-ditiolán-3''-il)]-tetrahydrofuran-2'-il)pirimidin-2,4(1*H*,3*H*)-dion (155)

154 (55 mg, 0,099 mmol) halványsárga, száraz acetonos oldatához (5 ml) szobahőmérsékleten dimetil-dioxirán acetonos oldatát adjuk (1,60 ml, C = 0,062 mol/l, 1,0 ekvivalens), majd a reakcióelegyet 2 órán át kevertetjük. Bepárlás után fehér, szilárd anyag marad vissza: **155** (54,7 mg, 96%-os hozam). VRK: R_f 0,33 (F rendszer). ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0,09-0,14 (12H, s, Si(CH₃)₂), 0,91-0,95 (18H, s, C(CH₃)₃), 3,12 (2H, m, H-4''), 4,11 (1H, t, H-5'), 4,21 (1H, m, H-3''), 4,42 (1H, t, H-4'), 4,89 (1H, s, H-3'), 5,59-5,61 (1H, d, H-2'), 5,70-5,75 (1H, q, H-5), 7,10-7,13 and 7,53-7,56 (1H, dd, H-6), 9,16 (NH). ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 18,1 (Si(CH₃)₂), 20,7 (C(CH₃)₃), 21,2 (C(CH₃)₃), 25,2 (C(CH₃)₃), 44,8 (C-3''), 53,3 (C-4''), 70,6 (C-4', C-5'), 81,1 (C-3'), 84,6 (C-2'), 103,1 (C-5), 143,44 (C-6), 153,4 (C=O), 163,6 (C=O), 206,5 (C=O). MS számított: C₂₃H₄₀O₇N₂S₂Si₂Na [M + Na]⁺: 599,84, talált: 599,79. Op. 51-53 °C. Elemanalízis számított: C: 47,89; H: 6,90; N: 4,86; S: 11,12, talált: C: 47,81; H: 6,85; N: 4,93; S: 11,17.

1-((2'R,3'R,4'S,5'S)-3',4'-dihidroxi-5'-((S)-5''-oxo-1'',2''-ditiolán-3''-il)-tetrahydrofuran-2'-il)pirimidin-2,4(1*H*,3*H*)-dion (156)

A **154**-es szililszármazék (115 mg, 0,20 mmol) lehűtött (0 °C-os), kevertetett, tetrahydrofurános (4 ml) oldatához trifluorecetsav-víz 1:1 arányú keverékét adjuk (2 ml) és ezen a hőmérsékleten 6 órán át kevertetjük. Vékonyréteg-kromatográfiásan követjük (F rendszer). A szintelen reakcióelegyet telített NaHCO₃-oldattal közömbösítjük (5 ml) és etil-acetáttal hígítjuk (25 ml). A szerves fázist elválasztjuk, majd vízzel (8 ml) mossuk és MgSO₄-on szárítjuk. Ezt követően

bepároljuk és a maradékot oszlopkromatográfiásan tisztítjuk (F rendszer). A termék: **156** (62,4 mg, 94%-os hozam) fehér, szilárd anyag. VRK R_f 0,05 (F rendszer). $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO) δ 2,98-3,18 (2H, m, H-4''), 3,92-4,02 (bs, OH), 4,21 (1H, s, H-3''), 4,26 (1H, s, H-5'), 4,38 (1H, s, H-4'), 5,01 (1H, m, H-3'), 5,61-5,63 (1H, d, H-2'), 5,67-5,76 (1H, q, H-5), 7,11-7,16 és 7,57-7,61 (1H, dd, H-6), 8,81 (NH). $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, d_6 -DMSO) δ 45,5 (C-3''), 48,2 (C-4''), 74,1 (C-3'), 75,9 (C-4', C-5'), 87,2 (C-2'), 91,3 (C-5), 138,5 (C-6), 152,1 (C=O), 165 (C=O), 206,9 (C=O), MS számított: $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_6\text{N}_2\text{S}_2\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 355,37, talált: 355,31. Op. 162-164 °C. Elemanalízis számított: C: 39,75; H: 3,64; N: 8,43; S: 19,30, talált: C: 39,82; H: 3,71; N: 8,50; S: 19,22.

1-((2'R,3'R,4'S,5'S)-3',4'-dihidroxi-5'-((S)-[5'-(2'',5''-dioxo-1'',2''-ditiolán-3''-il)]-tetrahidrofuran-2'-il)pirimidin-2,4(1H,3H)-dion (157)

A **156** (33 mg, 0,099 mmol) oxidációja száraz acetonban (5 ml) dimetil-dioxirán oldattal (1,60 ml, $C = 0,062$ mol/l, 1,0 ekvivalens) megegyezik a korábban már ismertetett (**155**) eljárással. Az *S*-oxid termék: **157** (32,7 mg, 95%-os hozam) fehér, szilárd anyag. VRK: R_f 0,08 (F rendszer). $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO) δ 2,88-2,91 (2H, d, H-4''), 3,86-3,98 (bs, OH); 4,15 (1H, s, H-3''), 4,20 (1H, s, H-5'), 4,28 (1H, s, H-4'), 5,68 (1H, m, H-3'), 5,90-5,92 (1H, d, H-2'), 6,02-6,08 (1H, q, H-5), 7,08-7,10 és 7,82-7,84 (1H, dd, H-6), 9,48 (NH). $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, d_6 -DMSO) δ 46,1 (C-3''), 51,5 (C-4''), 74 (C-3'), 75,5 (C-4', C-5'), 86,8 (C-2'), 90,5 (C-5), 138 (C-6), 151,9 (C=O), 164,8 (C=O), 207,1 (C=O). MS számított: $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_7\text{N}_2\text{S}_2\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 371,36, talált: 371,34. Op. 164-166 °C. Elemanalízis számított: C: 37,93; H: 3,47; N: 8,04; S: 18,41, talált: C: 37,99; H: 3,53; N: 7,99; S: 18,36.

(E)-S-fenil 3-((2'R,3'S,5'R)-3'-(tercier-butil-dimetilszililoxi)-5'-(5''-metil-2'',4''-dioxo-3'',4''-dihidropirimidin-1''(2H)-il)-tetrahydrofuran-2'-il)prop-2-éntioát (162)

A **160**-as alkohol (3,56 g, 10 mmol) **162**-es prop-2-éntioát származékká történő kétlépéses átalakítása a **161**-es intermedieren keresztül (R_f : 0,44, D rendszerben) megegyezik a korábban a **152**-nél már leírt Dess-Martin oxidációval (Dess-Martin reagens: 6,35 g, 15 mmol). a Wittig-reakció ($\text{Ph}_3\text{PCHCOSPh}$: 4,94 g, 12 mmol, 1,2 ekvivalens) körülményei megegyeznek a **152**-es előállításánál leírtakkal. A termék **162** (3,61 g, 74%-os hozam) halványsárga, szilárd anyag. VRK: R_f 0,30 (D rendszer). $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 0,12 (6H, s, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0,92 (9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1,96 (3H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)$), 2,28 (2H, m, H-4'), 4,12 (1H, q, H-5'), 4,28 (1H, m, H-2'), 4,44 (1H, t, H-3'), 6,32 (1H, t, H-6'), 6,44 (1H, dd, $J = 12$ Hz, H-2), 6,96 (1H, dd, H-3), 7,48 (5H, s, Ar), 8,48 (NH). $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ -2,2 ($\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 18,3 ($\text{C}(\text{CH}_3)$), 25,3 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 25,8 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 62,3 (C-4'), 74,9 (C-3'), 78,9 (C-5'), 81,1 (C-2'), 84,5 (C-8), 108,1 (C-5''), 128,6 (Ar), 129,3 (Ar), 133,8 (Ar), 134,2 (Ar), 143,2 (C-2), 149,7 (C-3), 163,4 (C-6''), 186,4 (C=O), 194,2 (C=O), 206,4 (C=O). Op. 59-61 °C. MS számított: $\text{C}_{24}\text{H}_{33}\text{N}_2\text{O}_5\text{SSi}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 489,67, talált: 489,61. Elemanalízis számított: C: 58,99; H: 6,60; N: 5,73; S: 6,56, talált: C: 59,04; H: 6,67; N: 5,80; S: 6,50.

1-((2'R,4'S,5'S)-4'-(tercier-butil-dimetilszililoxi)-5'-(S)-5''-oxo-1'',2''-ditiolán-3''-il)-tetrahydrofuran-2''-il]-5-metilpirimidin-2,4(1H,3H)-dion (164)

162 (1,0 g, 2,05 mmol) száraz dioxános (50 ml) oldatához szobahőmérsékleten trietilamint (0,75 ml, 5,125 mmol, 2,5 ekvivalens) adunk, majd kénhidrogén gázzal kezeljük. Bepároljuk, dioxánban felvesszük (40 ml), majd $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (1,01 g, 3,075 mmol, 1,5 ekvivalens) vizes oldatát (20 ml) csepegtetjük hozzá és egy éjszakán át szobahőmérsékleten kevertetjük. A reakciót vékonyréteg-kromatográfiásan követjük (D rendszer), majd bepárlás után

oszlopkromatográfiásan tisztítjuk (D rendszer). A termék: **164** (0,591 g, 65%-os hozam) sárga, szilárd anyag. VRK: R_f 0,35 (D rendszer). $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 0,14 (6H, s, $\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$), 0,94 (9H, s, $\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$), 1,96 (3H, s, $\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)$), 2,30-2,60 (2H, m, H-3'), 3,10 (2H, d, $J = 8$ Hz, H-4''), 4,16 (2H, m, H-4', H-3''), 4,50 (1H, m, H-5'), 6,10 (1H, dt (gátolt rotáció), H-2'), 7,42 (1H, s, H-6), 8,70 (NH). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ -2,7 ($\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$), 12 ($\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)$), 27,4 ($\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$), 32 ($\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$), 38,8 (C-3''), 40,8 (C-3'), 48,4 (C-4''), 73,2 (C-4'), 74,8 (C-2'), 88,6 (C-5'), 111,2 (C-5), 136,4 (C-6), 152,4 (C=O), 164 (C=O), 204,8 (C=O). MS számított: $\text{C}_{18}\text{H}_{29}\text{S}_2\text{O}_5\text{N}_2\text{Si}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 445,34, talált: 445,38, számított: $\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{S}_2\text{O}_5\text{N}_2\text{SiCl}$ $[\text{M} + \text{Cl}]^-$: 480,25, talált: 480,22. Op. 58-60 °C. Elemanalízis számított: C: 48,62; H: 6,35; N: 6,30; S: 14,42, talált: C: 48,57; H: 6,41; N: 6,37; S: 14,36.

1-((2'R,4'S,5'S)-4'-(tercier-butil-dimetilsziloxi)-5'-((S)-[5''-(2'',5''-dioxo-1'',2''-ditiolán-3''-il)]-tetrahydrofuran-2'-il]-5-metilpirimidin-2,4(1H,3H)-dion (165)
164 (222 mg, 0,50 mmol) száraz acetonos (25 ml) oldatához szobahőmérsékleten dimetil-dioxirán acetonos oldatát (6,25 ml, $C = 0,080$ mol/l, 1,0 ekvivalens) adjuk, majd 2 órán át kevertetjük. A bepárlás után visszamaradó termék: **165** (216 mg, 94%-os hozam) halványsárga, szilárd anyag. VRK: R_f 0,33 (D rendszer). $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 0,17 (6H, s, $\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$), 0,89 (9H, s, $\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$), 1,89 (3H, s, $\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)$), 2,32 (2H, m, H-3'), 3,14 (2H, d, $J = 8$ Hz, H-4''), 3,25 (1H, m, H-3''), 4,10 (1H, m, H-4'), 4,59 (1H, m, H-5'), 6,13 (1H, dt (gátolt rotáció), H-2'), 7,39 (1H, d, $J = 4$ Hz, H-6), 8,44 (NH). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ -3,1 ($\text{Si}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$), 12,9 ($\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)$), 27,1 ($\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$), 30,2 ($\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$), 38,2 (C-3''), 40,9 (C-3'), 51,9 (C-4''), 73,8 (C-4'), 75,1 (C-2'), 89,1 (C-5'), 112,1 (C-5), 137,1 (C-8), 151,1 (C=O), 164,1 (C=O), 205,5 (C=O). MS számított: $\text{C}_{18}\text{H}_{29}\text{S}_2\text{O}_6\text{N}_2\text{Si}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 461,73, talált: 461,76. Op. 54-56 °C. Elemanalízis számított: C: 46,93; H: 6,13; N: 6,08; S: 13,92, talált: C: 46,99; H: 6,19; N: 6,16; S: 13,85.

**1-((2'R,4'S,5'S)-4'-hidroxi-5'-((S)-5''-oxo-1'',2''-ditiolán-3''-il)-
tetrahidrofurán-2'-il)-5-metilpirimidin-2,4(1H,3H)-dion (166)**

A **164** (100 mg, 0,225 mmol) *O*-deszililezése tetrahidrofuránban (4 ml) megegyezik a korábban a **156**-nál már leírt THF:TFA:víz elegyes módszerrel (TFA:víz = 1 ml:1 ml). A feldolgozást követő oszlopkromatográfiás tisztítással (G rendszer) kapott termék: **166** (70,5 mg, 95%-os hozam) fehér, szilárd anyag. VRK: R_f 0,22 (G rendszer). $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO) δ 1,76 (3H, s, C(CH₃)), 2,38 (2H, m, H-3'), 3,07 (2H, m, H-4''), 3,27 (bs, OH), 4,04 (1H, d, H-4'), 4,22 (1H, m, H-5'), 4,30 (1H, m, H-3''), 6,26 (1H, t, H-2'), 7,41 (1H, s, H-6), 10,29 (NH). $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, d_6 -DMSO) δ 13,1 (C(CH₃)), 39,6 (C-3''), 45,8 (C-3'), 51,2 (C-4''), 73,1 (C-4'), 86,2 (C-2'), 87,5 (C-5'), 112,5 (C-5), 137,1 (C-6), 153,1 (C=O), 163,9 (C=O), 201,4 (C=O). MS számított: $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{S}_2\text{O}_5\text{N}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 331,34, talált: 331,31, számított: $\text{C}_{24}\text{H}_{29}\text{S}_4\text{O}_{10}\text{N}_4$ $[2\text{M} + \text{H}]^+$: 661,63, talált: 661,67. Op. 169-171 °C. Elemanalízis számított: C: 43,63; H: 4,27; N: 8,48; S: 19,41, talált: C: 43,70; H: 4,35; N: 8,40; S: 19,49.

**1-((2'R,4'S,5'S)-4'-hidroxi-5'-((S)-[5''-(2'',5''-dioxo-1'',2''-ditiolán-3''-il)]-
tetrahidrofurán-2'-il)-5-metilpirimidin-2,4(1H,3H)-dion (167)**

A **166** (55 mg, 0,167 mmol) acetonos oldatának (5 ml) szobahőmérsékleten dimetildioxirán oldattal (2,88 ml, C = 0,058 mol/l, 1,0 ekvivalens) történő oxidációjának módsere megegyezik a korábban a **155**-nél már leírtakkal. A termék: **167** (54,9 mg, 95%-os hozam) fehér, szilárd anyag. VRK: R_f 0,26 (G rendszer). $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) δ 1,79 (3H, s, C(CH₃)), 2,30-2,50 (2H, m, H-3'), 3,00 (2H, d, $J = 12$ Hz, H-4''), 3,45 (bs, OH), 3,90 (1H, d, H-3''), 4,26 (2H, m, H-4', H-5'), 6,20 (1H, t, H-2'), 7,52 (1H, s, H-6), 11,34 (NH). $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) δ 13,1 (C(CH₃)), 38,2 (C-3''), 42,7 (C-3'), 50,5 (C-4''), 73,9 (C-4'), 74,9 (C-2'), 89,9 (C-5'), 112,1 (C-5), 137,6 (C-6), 152,1 (C=O), 164,1 (C=O), 205,5 (C=O). MS számított: $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{S}_2\text{O}_6\text{N}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 347,42, talált: 347,45, számított:

$C_{12}H_{14}S_2O_6N_2Na$ $[M + Na]^+$: 369,44, talált: 369,41. Op. 139-141 °C. Elemanalízis számított: C: 41,61; H: 4,07; N: 8,09; S: 18,51, talált: C: 41,53; H: 4,16; N: 8,16; S: 18,43.

(E)-S-fenil 2-((2S,4R,5R)-4-(tercier-butil-dimetilsziloxi)-2-((tercier-butil-dimetilsziloxi)metil)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-dihidrofurán-3(2H)-ilidén)etántioát (170)

Dess-Martin reagens (636 mg, 1,5 mmol) 0 °C-ra hűtött, száraz diklórometános (25 ml) szuszpenziójához 168 (472 mg, 1,0 mmol) diklórometános oldatát (12 ml) csepegtetjük 5 perc alatt, kevertetés közben. További 15 percen át 0 °C-on kevertetjük tovább, majd ezt követően 3,5 órán át szobahőmérsékleten reagáltatjuk. A reakciót vékonyréteg-kromatográfiásan követjük (E rendszer). Ezt követően a reakcióelegyet higítjuk 65 ml előhűtött (0 °C-os) dietiléterrel, majd választótölcsérben két részletben (2×30 ml) mossuk 0 °C-os telített $NaHCO_3$ oldattal (melyben előzetesen 3,20 g vízmentes $Na_2S_2O_3$ -ot oldottunk). A szerves fázist $MgSO_4$ -on megszáritjuk, szűrjük és bepároljuk. Az aldehid nyersterméket (169) dioxánban (35 ml) oldjuk és a korábban már ismertetett (152, 162) módon foszforánnal reagáltatjuk ($Ph_3PCHCOSPh$: 618 mg, 1,5 mmol, 1,5 ekvivalens). A Wittig-reakciót vékonyréteg-kromatográfiásan követjük (F rendszer), majd feldolgozás (szűrés és bepárlás) után oszlop-kromatográfiásan tisztítjuk (F rendszer). A termék: 170 (338 mg, 56%-os hozam) sárgásfehér, szilárd anyag. VRK: R_f 0,36 (F rendszer). 1H -NMR (360 MHz, $CDCl_3$) δ 0,13 (12H, s, $Si(CH_3)_2$), 0,94 (18H, s, $C(CH_3)_3$), 3,97 (2H, m, H-5'), 4,22-4,24 (1H, d, $J = 8,3Hz$, H-4'), 4,31 (1H, s, H-2'), 5,69-5,71 (1H, d, H-5''), 6,33-6,35 (1H, d, $J = 7,9Hz$, H-1'), 6,76-6,78 (1H, d, $J = 7,9Hz$, H-2), 7,36 (5H, s, Ar), 7,84-7,86 (1H, d, H-6''), 9,28 (NH). ^{13}C -NMR (90 MHz, $CDCl_3$) δ 13,2 ($Si(CH_3)_2$), 18,7 ($C(CH_3)_3$), 20,8 ($C(CH_3)_3$), 26,1, 26,5 ($C(CH_3)_3$), 63,1 (C-5'), 77,5 (C-4'), 82,1 (C-1'), 84,3 (C-2'), 104,7 (C-5''), 123,2 (Ar), 124,6 (Ar), 125 (Ar), 128,8 (Ar), 139,4 (C-6''), 146,4 (C-2), 151,1

(C=O), 163,4 (C=O), 175,2 (C-3'), 191,9 (C=O). MS számított: C₂₉H₄₄O₆N₂SSi₂Na [M + Na]⁺: 627,89, talált: 627,81. Op. 59-61 °C. Elemanalízis számított: C: 57,85; H: 7,33; N: 4,63; S: 5,30, talált: C: 57,77; H: 7,26; N: 4,72; S: 5,35.

6-(tetrahydro-2H-pirán-2-iloxi)hex-4-inál (176)

173 (2,38 g, 17 mmol) lehűtött (-10 °C-os), tetrahydrofuranos oldatához (75 ml) 7,27 ml n-butillítium oldatot (17 mmol n-BuLi, 15 %-os hexános oldatban) csepegtetünk. A homogén sárga oldatot további 20 percen át -10 °C-on kevertetjük, majd 4,36 g (18,7 mmol, 1,1 ekvivalens) Cu(I)I·0,75 Me₂S-ot adunk hozzá (gyorsan!) egyben. A kevertetést -10 °C-on további 45 percen át folytatjuk. A reakcióelegyet -78 °C-ra hűtjük, majd jóditrimetilszilán (2,42 ml, 17 mmol) előhűtött, tetrahydrofuranos (2 ml) oldatát injektáljuk be és 5 percen át ezen a hőmérsékleten kevertetjük az elegyet. Ezután adjuk be a szintén előhűtött akrolein (1,12 ml, 17 mmol, 1,0 ekvivalens) tetrahydrofuranos (2 ml) oldatát. A reakcióelegyet további 2,5 órán át -30 °C alatt tartjuk, ezalatt az elegy színe sárgáról fokozatosan narancssárgává válik és homogén lesz. Telített NaHCO₃-oldatot adunk hozzá (15 ml) és hagyjuk szobahőmérsékletre felmelegedni (közben intenzíven kevertetjük). A szerves fázist elválasztjuk, a vizes fázist extraháljuk dietiléterrel (2×15 ml). Az egyesített szerves fázisokat mossuk Na₂S₂O₃ oldattal (15 ml) és vízzel (15 ml). MgSO₄-on szárítjuk, bepároljuk és oszlopkromatográfiásan tisztítjuk (H rendszer). A termék: **176** (1,39 g, 42%-os hozam) halványsárga szirup. VRK: R_f 0,32 (H rendszer). ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1,54-1,65 (6H, m, THP), 2,55 (2H, s, H-2), 2,67-2,69 (2H, d, H-3), 3,51-3,53 (2H, m, THP), 4,17-4,29 (2H, q, H-6), 4,77 (1H, s, THP), 9,79 (CHO). ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 11,7 (C-3), 18,8 (THP), 25,0 (THP), 29,9 (THP), 42,1 (C-2), 54,1 (C-6), 61,6 (THP), 76,5 (C-4), 83,9 (C-5), 96,4 (THP), 199,9 (C=O), MS számított: C₁₁H₁₆O₃Na [M + Na]⁺: 219,19, talált: 219,21.

(E)-S-fenil 8-(tetrahydro-2H-pirán-2-iloxi)okt-2-én-6-intioát (177)

176 (392 mg, 2,0 mmol) halványsárga, dioxános oldatához (30 ml) feniltio-karbonil-metilént-trifenilfoszforánt adunk ($\text{Ph}_3\text{PCHCOSPh}$: 989 mg, 2,4 mmol, 1,2 ekvivalens) és a reakcióelegyet szobahőmérsékleten 16 órán át kevertetjük. Szűrjük, bepároljuk és oszlopkromatográfiásan tisztítjuk (I rendszer). A termék: **177** (495 mg, 75%-os hozam) halványsárga szirup. VRK: R_f 0,30 (I rendszer). $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 1,52-1,67 (6H, m, THP), 2,42 (4H, s, H-5, H-4), 3,53 and 3,83 (2H, t, THP), 4,18-4,31 (2H, q, H-8), 4,81 (1H, t, THP), 6,22-6,26 (1H, d, $J = 15,6$ Hz, H-2), 6,96-7,00 (1H, d, H-3), 7,39-7,44 (5H, m, Ar). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 17,5 (C-5), 18,9 (THP), 25,2 (THP), 30,1 (C-4), 31,1 (THP), 54,2 (C-8), 61,8 (THP), 77,1 (C-6), 84,2 (C-7), 96,5 (THP), 127,4 (Ar), 128,5 (Ar), 128,9 (Ar), 129,2 (Ar), 134,4 (C-2), 143,8 (C-3), 187,5 (C=O). MS számított: $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{O}_3\text{SNa}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 353,11, talált: 353,08. Elemanalízis számított: C: 69,06; H: 6,71; S: 9,70, talált: C: 69,12; H: 6,65; S: 9,75.

5-(5'-(tetrahydro-2H-pirán-2'-iloxi)pent-3'-inil)-1,2-ditolán-3-on (179)

177 (345 mg, 1,045 mmol) száraz dioxános oldatához (30 ml) szobahőmérsékleten trietilamint (0,36 ml, 2,61 mmol, 2,5 ekvivalens) adunk, majd kénhidrogén gázzal kezeljük a korábban már **129**-nél leírtak szerint. Feldolgozzuk, majd ezt követően $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (518,9 mg, 1,567 mmol, 1,5 ekvivalens) vizes oldatát (10 ml) csöpögtetjük hozzá és egy éjszakán át kevertetjük. Bepároljuk, majd a maradékot oszlopkromatográfiásan tisztítjuk (C rendszer). A termék: **179** (185 mg, 62%-os hozam) sárga szirup. VRK: R_f 0,18 (C rendszer). $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 1,54-1,69 (6H, m, THP), 2,01-2,10 (2H, m, H-2'), 2,40-2,45 (2H, m, H-1'), 2,69-2,75 and 3,05-3,11 (2H, dd, H-4), 3,50-3,55 (2H, m, THP), 3,78-3,88 (2H, m, H-5'), 4,17-4,31 (1H, q, H-5), 4,78 (1H, t, THP). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 17,6 (C-2'), 19,3 (THP), 25,6 (THP), 30,5 (THP), 31,5 (C-1'), 49,2 (C-5), 47,2 (C-5', C-4), 62,3 (THP), 78,1 (C-3'), 84,4 (C-4'), 97,1 (THP), 206,3 (C=O). MS számított:

$C_{13}H_{18}O_3S_2Na$ $[M + Na]^+$: 309,05, talált: 309,02. Elemanalízis számított: C: 54,52; H: 6,33; S: 22,39, talált: C: 54,60; H: 6,38; S: 22,33.

5-(5'-(tetrahidro-2*H*-pirán-2'-iloxi)pent-3'-inil)-1,2-ditolán-3-on-1-oxid (180)

179 (70 mg, 0,245 mmol) acetonos oldatához (5 ml) szobahőmérsékleten dimetildioxirán oldatot adunk (3,65 ml, $C = 0,067$ mol/l, 1,0 ekvivalens), majd a reakcióelegyet 2 órán át kevertetjük, ezt követően bepároljuk. A termék: **180** (73 mg, 98%-os hozam) sárga szirup. VRK: R_f 0,15 (C rendszer). 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 1,54-1,75 (6H, m, THP), 2,00-2,12 (2H, m, H-1'), 2,45-2,51 (2H, s, H-2'), 2,68-2,76 and 3,04-3,12 (2H, dd, H-4), 3,51-3,55 (2H, m, THP), 3,70-3,87 (2H, m, H-5'), 4,16-4,33 (1H, q, H-5), 4,74 (1H, t, THP). ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 17,8 (C-2'), 19,5 (THP), 27,3 (THP), 28,1 (C-1'), 31,6 (THP), 41,8 (C-4), 42,5 (C-5'), 62,4 (THP), 63,4 (C-5), 79,5 (C-3'), 84,4 (C-4'), 97,4 (THP), 201,6 (C=O). MS számított: $C_{13}H_{18}O_4S_2Na$ $[M + Na]^+$: 325,04, talált: 325,01. Elemanalízis számított: C: 51,63; H: 5,93; S: 21,21, talált: C: 51,59; H: 5,98; S: 21,28.

5-(5'-hidroxi-pent-3'-inil)-1,2-ditolán-3-on-1-oxid (181)

180 (120 mg, 0,397 mmol) száraz diklórometános oldatához (15 ml) szobahőmérsékleten 1 ml Dowex 50W X4 savas karakterű ioncserélő gyantát adunk és vékonyréteg-kromatográfiásan követjük a reakciót. Két óra elteltével a reakcióelegyet szűrjük, és a szűrletet csökkentett nyomáson bepároljuk. A kapott maradékot preparatív vastagrétegen tisztítjuk (D rendszer). A termék: **181** (81 mg, 94%-os hozam) halványsárga szirup. VRK: R_f 0,12 (D rendszer). 1H -NMR (360 MHz, $CDCl_3$) δ 2,04-2,11 (2H, m, H-1'), 2,43-2,50 (2H, s, H-2'), 2,70-2,78 és 3,01-3,09 (2H, dd, H-4), 3,72-3,85 (2H, m, H-5'), 4,02 (1H, bs, OH), 4,20-4,33 (1H, q, H-5). ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 18,2 (C-2'), 27,5 (C-1'), 42,9 (C-4), 53,2 (C-5'), 62,9 (C-5), 78,2 (C-3'), 85,1 (C-4'), 194,3 (C=O). MS számított: $C_8H_{10}O_3S_2Na$ $[M + Na]^+$: 241,23, talált: 241,16. Elemanalízis számított: C: 44,02; H: 4,62; S: 21,99, talált: C: 44,12; H: 4,56; S: 21,91.

7. Felhasznált irodalom

- [1] Sztaricskai F., Gunda T., A gyógyszerészi kémia alapjai III. kötet, 192-220, előadásjegyzet, Debreceni Egyetem, **2005**.
- [2] K. Edo, M. Mizugaki, Y. Koide, H. Seto, K. Furihata, N. Otake, N. Ishida, The structure of neocarzinostatin chromophore possessing a novel bicyclo-[7,3,0]dodecadiyne system, *Tetrahedron Lett.*, *26*, 331-334, **1985**.
- [3] M. D. Lee, T. S. Dunne, M. M. Siegel, C. C. Chang, G. O. Morton, D. E. Border, Calicheimicins, a novel family of antitumor antibiotics. 1. Chemistry and partial structure of calicheimicin gamma II, *J. Am. Chem. Soc.*, *109*, 3464-3466, **1987**.
- [4] J. Golik, J. Wardy, G. Dubay, G. Groenewold, H. Kawaguchi, M. Kosnishi, B. Krishnan, H. Ohkuma, K. Saitoh, T. W. Doyle, Esperamicins, a novel class of potent antitumor antibiotics. 2. Structure of esperamicin X, *J. Am. Chem. Soc.*, *109*, 3461-3462, **1987**.
- [5] M. Konishi, H. Ohkuma, K. Matsumoto, T. Tsuno, H. Kamei, T. Miyaki, T. Oki, H. Kawaguchi, G. D. van Duyne, J. Clardy, Dynemicin A, a novel antibiotic with the anthraquinone and 1,5-diyne-3-ene subunit, *J. Antibiot.*, *42*, 1449-1453, **1989**.
- [6] K. C. Nikolau, W.-M. Dai, Chemistry and biology of the endiyne anticancer antibiotics, *Angew. Chem. Ed. Eng.*, *30*, 1387-1416, **1991**.
- [7] R. R. Jones, R. G. Bergmann, p-Benzynes. Generation as an intermediate in a thermal isomerization reaction and trapping evidence for the 1,4-benzenediyl structure, *J. Am. Chem. Soc.*, *94*, 660-661, **1972**.

- [8] R. G. Bergmann, Reactive 1,4-dehydroaromatics, *Acc. Chem. Res.*, **6**, 25-31, **1973**.
- [9] T. P. Lockhart, P. B. Comita, R. G. Bergmann, Kinetic evidence for the formation of discrete 1,4-dehydrobenzene intermediates. Trapping by inter- and intramolecular hydrogen atom transfer and observation of high-temperature CIDNP, *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, 4082-4090, **1981**.
- [10] A. G. Meyers, P. S. Dragovich, Design and dynamics of a chemically triggered reaction cascade leading to biradical formation at subambient temperature, *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 9130-9132, **1989**.
- [11] A. G. Meyers, P. M. Harrington, E. Y. Kuo, Enantioselective synthesis of the epoxy diyne core of neocarzinostatin chromophore, *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 694-695, **1991**.
- [12] R. Nagata, H. Yamanaka, E. Okazaki, I. Saito, Biradical formation from acyclic conjugated eneyne-allene system related to neocarzinostatin and esperamicin-calicheamicin, *Tetrahedron Lett.*, **30**, 4995-4998, **1989**.
- [13] R. Nagata, H. Yamanaka, E. Murahashi, I. Saito, DNA cleavage by acyclic eneyne-allene systems related to neocarzinostatin and esperamicin-calicheamicin, *Tetrahedron Lett.*, **31**, 2907-2910, **1990**.
- [14] M. Hara, I. Takahashi, M. Yoshida, K. Asano, I. Kawamoto, M. Morimoto, H. Nakano, DC 107, a novel antitumor antibiotic produced by a streptomyces sp., *J. Antibiot.*, **42**, 333-335, **1989**.
- [15] M. Hara, K. Asano, I. Kawamoto, T. Takiguchi, S. Katsumata, K.-I. Takahashi, H. Nakano, Leinamycin, a new antitumor antibiotic from

- streptomycetes: producing organism, fermentation and isolation, *J. Antibiot.*, *42*, 1768-1774, **1989**.
- [16] N. Hirayama, E. S. Matsuzawa, Molecular structure of a novel antitumor antibiotic leinamycin, *Chem. Lett.*, 1957-1958, **1993**.
- [17] L. J. Reed, B. G. De Busk, I. C. Gunsalus, Crystalline α -lipoic acid: a catalytic agent with pyruvate dehydrogenase, *Science*, 93-94, **1951**.
- [18] H. Yanagawa, T. Kato, Y. Kitahara, Asparagusic acid-S-oxides, new plant growth regulators in etiolated young asparagus shoots, *Tetrahedron Lett.*, *14*, 1073-1075, **1973**.
- [19] Brugierol and isobrugierol, *trans*- and *cis*-1,2-dithiolane-1-oxide from *brugiera conjugata*, *Tetrahedron Lett.*, *13*, 203-206, **1972**.
- [20] M. Hara, Y. Saitoh, H. Nakano, DNA strand scission by the novel antitumor antibiotic leinamycin, *Biochemistry*, *29*, 5676-5681, **1990**.
- [21] A. Asai, M. Hara, S. Kakita, Y. Kanda, M. Yoshida, H. Saito, Y. Saitoh, Thiol-mediated DNA alkylation by the novel antitumor antibiotic leinamycin, *J. Am. Chem. Soc.*, *118*, 6802-6803, **1996**.
- [22] A. Asai, H. Saito, Y. Saitoh, Thiol-independent DNA cleavage by a leinamycin degradation product, *Bioorg. Med. Chem.* *5*, 723-729, **1997**.
- [23] K. S. Gates, Mechanisms of DNA damage by leinamycin, *Chem. Res. Toxicol.*, *13*, 953-956, **2000**.
- [24] K. Mitra, W. Kim, J. S. Daniels, K. S. Gates, Oxidative DNA cleavage by the antitumor antibiotic leinamycin and simple 1,2-dithiolan-3-one 1-oxides:

evidence for thiol-dependent conversion of molecular oxygen to DNA-cleaving oxygen radicals mediated by polysulfides, *J. Am. Chem. Soc.*, *119*, 11691-11692, **1997**.

- [25] L. Breydo, K. S. Gates, Thiol-dependent DNA cleavage by 3*H*-1,2-benzodithiol-3-one 1,1-dioxide, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* *10*, 885-889, **2000**.
- [26] L. Breydo, K. S. Gates, Activation of leinamycin by thiols: a theoretical study, *J. Org. Chem.*, *67*, 9054-9060, **2002**.
- [27] L. Breydo, H. Zang, K. Mitra, K. S. Gates, Thiol-independent DNA alkylation by leinamycin, *J. Am. Chem. Soc.*, *123*, 2060-2061, **2001**.
- [28] H. Zang, L. Breydo, K. Mitra, J. Dannaldson, K. S. Gates, DNA alkylation by leinamicin can be triggered by cyanide and phosphines, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, *11*, 1511-1515, **2001**.
- [29] K. Mitra, K. S. Gates, Chemistry of thiol-dependent DNA damage by the antitumor antibiotic leinamycin, *Rec. Res. Dev. Org. Chem.*, *3*, 311-317, **1999**.
- [30] Y. Kanda, T. Ashizawa, Y. Saitoh, H. Saito, K. Gomi, M. Okabe, Synthesis and antitumor activity of leinamycin derivatives: modifications of C-8 hydroxy and C-9 keto groups, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, *8*, 909-912, **1998**.
- [31] Y. Kanda, T. Ashizawa, S. Kakita, Y. Takahashi, M. Kono, M. Yoshida, Y. Saitoh, M. Okabe, Synthesis and antitumor activity of novel thioester derivatives of leinamycin, *J. Med. Chem.*, *42*, 1330-1332, **1999**.
- [32] Y. Kanda, T. Ashizawa, K. Kawashima, S. Ikeda, T. Tamoki, Synthesis and

antitumor activity of novel C-8 derivatives of leinamycin, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, *13*, 455-458, **2003**.

- [33] G. Pattenden, S. M. Thom, Polyene macrolactam construction using a stille vinyl-vinyl coupling protocol: an approach to the antitumor antibiotic substance leinamycin, *Synlett*, 215-216, **1993**.
- [34] G. Pattenden, A. J. Shuker, Natural 1,2-dithiolan 1-oxides. A synthetic approach based on [2+2] cycloaddition reactions with thiones, *Synlett*, 717-718, **1991**.
- [35] G. Pattenden, A. J. Shuker, Synthetic approaches towards the novel 1,3-dioxo-1,2-dithiolane moiety in the antitumor substance leinamycin, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, 1215-1221, **1992**.
- [36] Y. Kanda, H. Saito, T. Fukuyama, Synthetic studies on leinamycin. A synthesis of the 1-oxo-1,2-dithiolanon-3-one moiety, *Tetrahedron Lett.*, *33*, 5701-5704, **1992**.
- [37] Y. Kanda, T. Fukuyama, Total synthesis of (+) leinamycin, *J. Am. Chem. Soc.*, *115*, 8451-8452, **1993**.
- [38] R. S. Glass, Y. Liu, Diastereoselective oxidation of substituted 1,2-dithiolan-3-ones, *Tetrahedron Lett.*, *35*, 3887-3888, **1994**.
- [39] S. J. Behroozi, W. Kim, J. Dannaldson, K. S. Gates, 1,2-dithiolan-3-one 1-oxides: a class of thiol-activated DNA-cleaving agents that are structurally related to the natural product leinamycin, *Biochemistry*, *35*, 1768-1774, **1996**.
- [40] T. Chatterji, M. Kizil, K. Keerthi, G. Chowdhury, T. Pospisil, K. S. Gates, Small molecules that mimic the thiol-triggered alkylating properties seen in

- the natural product leinamycin, *J. Am. Chem. Soc.*, *125*, 4996-4997, **2003**.
- [41] S. J. Behroozi, C. L. Barnes, K. S. Gates, Crystal structure of 1*H*-1,2-denzodithiol-3-one 1-oxide, *J. Chem. Crystallog.*, *28*, 689-690, **1998**.
- [42] R. Salvetti, G. Martinetti, D. Ubiali, M. Pregnolato, G. Pagani, 1,2-dithiolan-3-ones and derivatives structurally related to leinamycin. Synthesis and biological evaluation, *Il Farmaco*, *58*, 995-998, **2003**.
- [43] A. H. F. Lee, A. S. C. Chan, T. Li, Synthesis of 5-(7-hydroxyhept-3-enyl)-1,2-dithiolan-3-one 1-oxide, a core functionality of antibiotic leinamycin, *Tetrahedron*, *59*, 833-839, **2003**.
- [44] G. Emmer, Synthesis of (2*RS*,*E*)-3-ethylidene-azetidine-2-carboxylic acid (rac. Polyoximic acid), *Tetrahedron*, *48*, 7165-7172, **1992**.
- [45] Organophosphorus reagents in organic synthesis (J. I. G. Cadogan ed.), Chapter 2.: *Transformations via phosphorus stabilized anions 1: stereoselective syntheses of alkenes via the Wittig reaction* (I. Gosney, A. G. Rowley), 17-142, **1979**, Academic Press, London.
- [46] H. J. Bestmann, Phosphacumulene ylides and phosphallene ylides: new synthetic methods, *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, *16*, 349-364, **1977**.
- [47] E. Dubost, T. Tschamber, J. Streith, Increasing the inhibitory potency of L-arabino-imidazolo-[1,2]-piperidinose towards β -D-glucosidase and β -D-galactosidase, *Tetrahedron Lett.*, *44*, 3667-3670, **2003**.
- [48] J. Ohlsson, G. Magnusson, A short and practical route to 3-*O*-benzoyl azidosphingosine, *Carbohydrate Res.*, *331*, 91-94, **2001**.

- [49] M. Y. H. Wong, G. R. Gray, 2-Deoxypentoses. Stereoselective reduction of ketene dithioacetals, *J. Am. Chem. Soc.*, *100*, 3548-3553, **1978**.
- [50] A. Hampton, Nucleosides II. A new procedure for the conversion of ribonucleosides to 2',3'-O-isopropylidene derivatives, *J. Am. Chem. Soc.*, *83*, 3640-3645, **1961**.
- [51] K. E. Pfitzner, J. G. Moffat, A new and selective oxidation of alcohols, *J. Am. Chem. Soc.*, *85*, 3027-3028, **1964**.
- [52] J. M. J. Tronchet, M. J. Valero, Recherche d'analogues de nucléosides á activité antivirale, *Helv. Chim. Acta*, *62*, 2788-2792, **1979**.
- [53] E. J. Reist, A. Benitez, L. Goodman, The synthesis of some 5'-thiopentofuranosylpyrimidines, *J. Org. Chem.*, *29*, 554-558, **1964**.
- [54] O. J. Donadel, T. Martín, V. S. Martín, J. Villar, J. M. Padrón, The tert-butyl dimethyl silyl group as an enhancer of drug cytotoxicity against human tumor cells, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, *15*, 3536-3539, **2005**.
- [55] W. K. Anderson, R. Kasliwal, D. M. Houston, Y. Wang, V. L. Narayanan, R. D. Haguwitz, J. Plowman, Synthesis, antitumor activity and chemical properties of silplatin and related platinum(II) and platinum(IV) complexes derived from β -silyl amines, *J. Med. Chem.*, *38*, 3789-3797, **1995**.
- [56] K. K. Ogilvie, S. L. Beaucage, A. L. Schifman, N. Y. Theriault, K. L. Sadana, The synthesis of oligoribonucleotides II. The use of silyl protecting groups in nucleoside and nucleotide chemistry VII., *Can. J. Chem.*, *56*, 2768-2780, **1978**.

- [57] K. K. Ogilvie, D. P. C. McGee, S. M. Boisvert, G. H. Hakimelani, Z. A. Proba, The preparation of protected arabinonucleosides, *Can. J. Chem.*, *61*, 1204-1212, **1983**.
- [58] D. B. Dess, J. C. Martin, Readily accessible 12-I-5 oxidant for the conversion of primary and secondary alcohols to aldehydes and ketones, *J. Org. Chem.*, *48*, 4155-4156, **1983**.
- [59] V. Samano, M. J. Robins, Nucleic acid related compounds 60. Mild periodinane oxidation of protected nucleosides to give 2' and 3' ketonucleosides. The first isolation of a purine 2'-deoxy-3'-ketonucleoside derivative, *J. Org. Chem.*, *55*, 5186-5188, **1990**.
- [60] J. Hiebl, E. Zbiral, J. Balzarini, E. De Clercq, Synthesis and antiretrovirus properties of 5'-deoxythymidine, 5'-isocyano-2',5'-dideoxyuridine, 3'-azido-5'-isocyano-3',5'-dideoxythymidine and 3'-azido-5'-isocyano-2',3',5'-trideoxy-uridine, *J. Med. Chem.*, *34*, 1426-1430, **1991**.
- [61] V. Farina, R. A. Firestone, A new approach to thymidylate synthetase inhibitors, *Tetrahedron*, *49*, 803-810, **1993**.
- [62] X.-F. Zhu, H. J. Williams, A. I. Scott, Facile and highly selective 5'-desilylation of multisilylated nucleosides, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 2305-2306, **2000**.
- [63] D. Stien, D. Crich, M. P. Bertrand, Chiral acyl radical equivalents: 5-exo-cyclization of conformationally constrained 1,3-dioxolanyl radicals, *Tetrahedron*, *54*, 10779-10788, **1998**.

- [64] M. Eriksson, T. Iliefski, M. Nilsson, T. Olsson, Iodotrimethylsilane-promoted 1,4-addition of copper acetylides to α,β -unsaturated ketones and aldehydes, *J. Org. Chem.*, *62*, 182-187, **1997**.
- [65] H. O. House, C.-Y. Chu, J. M. Wilkins, M. J. Ulmen, Chemistry of carbanions XXVII: Convenient precursor for the generation of lithium organocuprates, *J. Org. Chem.*, *40*, 1460-1469, **1975**.
- [66] M. E. Jung, M. A. Lyster, Cleavage of methyl ethers with iodotrimethylsilane: cyclohexanol from cyclohexyl methyl ether, *Org. Synth.*, *59*, 35-41, **1982**.
- [67] T. Mosmann, Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays, *J. Immunol. Meth.*, *65*, 55-63, **1983**.
- [68] G. Fotakis, J. A. Timbrell, In vivo cytotoxicity assays: comparison of LDH, Neutral Red, MTT and Protein assay in hepatoma cell lines following exposure to cadmium chloride, *Toxicol. Lett.*, *160*, 171-177, **2006**.
- [69] V. M. Berridge, S. A. Tan, Characterisation of the cellular reduction of 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT): subcellular localization, substrate dependence and involvement of mitochondria electron transport in MTT reduction, *Arch. Biochem. Biophys.*, *303*, 474-482, **1992**.
- [70] F. Denzot, R. Lang, Rapid colorimetric assay for cell growth and survival, *J. Immunol. Meth.*, *89*, 271-277, **1986**.
- [71] B. M. Hansen, E. S. Nielsen, K. Berg, Re-examination and further development of a precise and rapid dye method for measuring cell growth/cell kill. *J. Immunol. Meth.*, *119*, 203-210, **1989**.

- [72] I. Bácskay, R. Kocsán, F. Fenyvesi, P. Fehér, T. Sipos, J. Váradi, M. Vecsernyés, Cytotoxicity of different types of surfactants on HeLa cells, *Eur. J. Pharm. Sci.*, 25S1, S46-S47, **2005**.
- [73] Burger's medicinal chemistry and drug discovery 6th Ed. Volume 1: Drug discovery (D. J. Abraham ed.) Chapter 1.: *History of quantitative structure-activity relationships*, (C. D. Selassie), 1-48, **2003**, John Wiley & sons, Inc, New York.
- [74] W. Adam, S. G. Bosio, B. Fröhling, D. Leusser, D. Stalke, Unusual sulfur chemistry in the thermal reaction of sultene and thiophene endoperoxide sulfur donors with cyclic alkynes: reversible formation of a persistent thiirenium ion and trapping of a thiirene by [4+2] cycloaddition, *J. Am. Chem. Soc.*, 124, 8316-8320, **2002**.

Az értekezés témájában megjelent közlemények:

1.

Ákos Szilágyi, István F. Pelyvás, Orsolya Majercsik, Pál Herczegh, *Incorporation of the bioactive moiety of leinamycin into thymidine*, Tetrahedron Letters, 45, 4307-4309, **2004**. IF: **2.484**

2.

Ákos Szilágyi, Ferenc Fenyvesi, Orsolya Majercsik, István F. Pelyvás, Ildikó Bácskay, Pálma Fehér, Judit Váradi, Miklós Vecsernyés, Pál Herczegh, *Synthesis and cytotoxicity of leinamycin antibiotic analogs*, Journal of Medicinal Chemistry, 49, 5626-5630, **2006**. IF: **5.104**

Az értekezés témájában elhangzott előadások:

1.

Herczegh Pál, **Szilágyi Ákos**: *Leinamicin analógok szintézise*, A Magyar Kemoterápiai Társaság XVI. Konferenciája, Hajdúszoboszló, Magyarország, május 24-26., **2001**.

2.

Herczegh Pál, **Szilágyi Ákos**: *Leinamicin analógok szintézise*, A Magyar Kemoterápiai Társaság XVII. Konferenciája, Szeged, Magyarország, június 7-8., **2002**.

3.

Pál Herczegh, **Ákos Szilágyi**: *Synthesis of new leinamycin analogs*, 9th Blue Danube Symposium on Heterocyclic Chemistry, Tatranská Lomnica, Szlovák Köztársaság, június 16-20., **2002**.

4.

Ákos Szilágyi, Pál Herczegh: *Synthesis of new leinamycin analogs*, 1st Austria-Hungary Carbonhydrate Chemistry Conference, Burgsteining, Ausztria, szeptember 10-12., **2003**.

5.

Szilágyi Ákos, Herczegh Pál: *Új leinamicin analógok szintézise*, Szénhidrátkémiai Munkabizottsági ülés, Debrecen, Magyarország, november 5., **2004**.

6.

Ákos Szilágyi: *Synthesis of new leinamycin analogs*, Sugars in the Synthesis of Natural Products Conference, Paszkówka, Lengyelország, június 8-12., **2005**.

7.

Gábor Pintér, **Ákos Szilágyi**, Gyula Batta, Pál Horváth, István Löki, Tibor Kurtán, Sándor Antus, Sándor Kéki, Miklós Zsuga, Gábor Nagy, János Aradi, Pál Herczegh, *Synthesis of New Polyethylene Glycol Derivatives: Aggregates, Antibiotics*, Second German-Hungarian Workshop, Somogyaszaló, Magyarország, április 4-8., **2006**.

8.

Pál Herczegh, **Ákos Szilágyi**, István Pelyvás, Gyula Batta, Gábor Pintér, Pál Horváth, Sándor Antus, Tibor Kurtán, Sándor Kéki, Miklós Zsuga, *Nucleosides in antibiotic analogs and in new nano-aggregates*, VIII. Jornadas de carbohidratos (RSEQ), Alcalá de Henares (Madrid), Spanyolország, szeptember 13-15., **2006**.

9. Szilágyi Ákos, Fenyvesi Ferenc, Majercsik Orsolya, Pelyvás F. István, Bácskay Ildikó, Fehér Palma, Váradi Judit, Vecsernyés Miklós, Herczegh Pál, *A leinamicin antibiotikum analógjainak szintézise és biológiai vizsgálata*, MTA Antibiotikum Munkabizottsági Tudományos Ülés, Debrecen, Magyarország, Szeptember 21., **2006**.

Az értekezés témájában kiállított poszterek:

1.

Ákos Szilágyi, Ferenc Fenyvesi, Orsolya Majercsik, Ildikó Bácskay, Pálma Fehér, Miklós Vecsernyés, Pál Herczegh, *Synthesis and cytotoxicity of leinamycin antibiotic analogs*, 1st BBBB Conference of Pharmaceutical Sciences, Siófok, Magyarország, szeptember 26-28., **2005**.

2.

Ákos Szilágyi, Pál Herczegh, *Synthesis and cytotoxicity of leinamycin antibiotic analogs*, 9th International Conference on the Chemistry of Antibiotics and other Bioactive Compounds (ICCA), Bordeaux-Arcachon, Franciaország, szeptember 25-29., **2005**.

Leinamicin antibiotikum analógok szintézise

Synthesis of leinamycin antibiotic analogs

Értekezés a doktori (Ph.D.) fokozat megszerzése érdekében a kémia tudományágban

Írta: Szilágyi Ákos, okleveles vegyész.

Készült a Debreceni Egyetem TTK Kémia Doktori Iskolája
(*Szénhidráttartalmú természetes és mesterséges anyagok kémiája, biokémiája és szerkezet-meghatározása c. (K/5) alprogramja*) keretében

Témavezető: Dr. Herczegh Pál

A doktori szigorlati bizottság:

elnök:
tagok:
.....

A doktori szigorlat időpontja:

Az értekezés bírálói:

.....
.....

A bíráló bizottság:

elnök:
tagok:
.....
.....

Az értekezés védésének időpontja: