

Doktori (PhD) értekezés tézisei

Tiol-én addíciós reakciók telítetlen szénhidrátokon

Dr. Kelemen Viktor

Témavezető: Prof. Dr. Borbás Anikó



Debreceni Egyetem

Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2021

Tiol-én addíciós reakciók telítetlen szénhidrátokon

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében
a gyógyszerészi kémia tudományágban

Írta: Dr. Kelemen Viktor, okleveles gyógyszerész

Készült a Debreceni Egyetem Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskola
(Farmakológia program) keretében

Témavezető: Prof. Dr. Borbás Anikó, az MTA doktora

Az értekezés bírálói:

Prof. Dr. Sente Lajos, az MTA doktora

Dr. Juhász László, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Tósaki Árpád, az MTA doktora

tagok: Prof. Dr. Sente Lajos, az MTA doktora

Dr. Juhász László, PhD

Dr. Agócs Attila, PhD

Dr. Fenyvesi Ferenc, PhD

Az értekezés védésének (online formátumban) időpontja: 2021. június 22. 13:00 óra.
A nyilvánosságot online módon biztosítjuk. Amennyiben a vitán részt kíván venni, úgy jelezze a kelemen.viktor@pharm.unideb.hu e-mail címre a vitát megelőző nap (2021. június 21.) 16 óráig. A határidő lejártát követően technikai okok miatt már nincs lehetőség a védéshez kapcsolódni.

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés.....	5
2. Irodalmi előzmények.....	5
2.1 1,2- <i>Transz</i> - és 1,2- <i>cisz</i> -1-tiocukrok előállítása.....	5
2.2. A gyökös tiol-én addíciós reakció	6
3. Célkitűzés	7
4. Módszerek	7
5. Az értekezés új tudományos eredményei	8
5.1. 2-szubsztituált hexoglikálok vizsgálatai	8
5.2. Trehalóz típusú α -1-tiocukrok és α - α -tiodiszacharidok kialakítása	10
5.3. Addíciók 2,3-telítetlen glikozidokra.....	11
6. Összefoglalás.....	12
7. Tudományos közlemények.....	14

Rövidítések jegyzéke

Ac = acetylcsoport

AIBN = azo-bisz-izobutironitril

Bn = benzilcsoport

Bz = benzoilcsoport

DKM = diklórmétán

DMF = dimetil-formamid

DPAP = 2,2-dimetoxi-2-fenil-acetofenon

ekv = ekvivalens

HFIP = hexafluor-izopropanol

MALDI-ToF MS = Matrix Assisted Laser Desorption and Ionization - Time Of Flight
tömegspektrometria

MAP = 4-metoxi-acetofenon

NMR = mágneses magrezonancia spektroszkópia

rt = room temperature, szobahőmérséklet

VRK = vékonyréteg-kromatográfia

1. Bevezetés

A szénhidrátok az élő rendszerek felépítésének meghatározó alapkövei, szerepük sokrétű. Fontos biológiai információhordozók, alaposabb megismerésük érdekében kiemelt jelentőségű a szintézisük. Az *O*-glikozidos kötéssel rendelkező származékok stabilitása biológiai közegben azonban gyakran túl alacsony ahhoz, hogy lehetővé tegye a behatóbb tanulmányozást, ezért különösen nagy jelentőségűnek tartjuk a stabil, a glikozidos oxigén helyett ként tartalmazó szénhidrátok előállítását. Ezen származékok vizsgálatával fény derülhet az egyébként rendkívül összetett szerepeket játszó szénhidrátok eddig még nem ismert tulajdonságaira. A glikozidos kötéstípusok közül különösen nagy szintetikus kihívást jelent az 1,2-*cisz*- α -tioglikozidos kötés kialakítása, általános megoldás az irodalomból nem ismert a szintézisére. PhD munkám során célul tűztük ki egy olyan módszer kidolgozását és átfogó tanulmányozását, mellyel ezt a problémát át tudjuk hidalni.

2. Irodalmi előzmények

Amennyiben az oxigénhez nagyon hasonló elektronszerkezetű ként választják heteroatomnak a glikozidos oxigén helyett, az eredetihez nagyon hasonló, ám az enzimatis és savas bontásnak jóval ellenállóbb származékokat lehet előállítani. Ezen tulajdonságaik lehetővé teszik a szélesebb körű alkalmazásukat mind a molekuláris azonosítást kutató tanulmányok, mind a gyógyszerkutatás terén. A tioglikozidok kutatását nagy érdeklődés övezte az elmúlt évtizedek során, számos szintézismódszert dolgoztak ki az előállításukra.

2.1 1,2-*Transz*- és 1,2-*cisz*-1-tiocukrok előállítása

Az anomer csoport és a 2-es helyzetben lévő csoport egymáshoz viszonyított térállásától függően megkülönböztetünk 1,2-*cisz*-, illetve 1,2-*transz* helyzeteket. A kétféle relatív térhelyzetű glikozid előállítása szintetikus nehézségét tekintve rendkívüli mértékben különböző. Az 1,2-*transz*-*O*- és *S*-glikozidos kötés kialakítása általában könnyű feladat, mivel a 2-es helyzetben alkalmazott résztvevő (vagy irányító) védőcsoporttal nagyfokú vagy teljes sztereoselektivitás érhető el. Az 1,2-*cisz*- α -1-tiocukrok előállítása, az 1,2-*transz*- β -konfigurációjú származékokkal ellentétben, igen nehéz feladat. Szelektív *cisz* irányítás szomszédcsoport-részvétellel nem kivitelezhető, vizes közegben a tiocukrok mutarotációja minimális, így az α és β származékok egymásba való átalakítása sem egyszerű. Biológiai jelentőségük miatt viszont igen nagy az érdeklődés az 1,2-*cisz*- α -1-tiocukrok iránt, mégis kevés módszert publikáltak eddig előállításukra, és általánosan alkalmazható eljárás idáig az irodalomból nem ismert.

1,2-*transz*-1-tiocukrok sav által katalizált epimerizációs reakcióban átalakíthatóak 1,2-*cisz* konfigurációjúvá. A különféle, benzoillel védett 1-tiopentózokat és -hexózokat Lewis-savval, TiCl_4 -dal reagáltatták piridin jelenlétében, ezzel hozva létre a kívánt 1,2-*cisz* térállású szénhidrátokat. Védett, *gliuko*- és *galakto*-konfigurációjú, 1,6-anhidrocukrokból előállíthatók α -1-tiocukrok kiváló hozammal és teljes sztereoselektivitással. A szénhidrátok 1,3-dioxolángyűrűjét bisz-(trimetil-szilil)-szulfid $(\text{TMS})_2\text{S}$ nukleofillel nyitották fel, katalitikus mennyiségű trimetil-szilil-trifluorometán-szulfonát (TMSOTf)

jelenlétében. Tioecetsav alkalmazásával pedig, gyökös tioladdícióval a védett 2-acetoxi-D-glükálból előállítható 1-tiocukor, iniciátorként kumul-hidroperoxidot alkalmazva. Ezek a módszerek azonban nem alkalmazhatóak általánosan, csupán bizonyos konfigurációjú szénhidrátokra vagy bizonyos védőcsoportokkal ellátott származékokra.

2.2. A gyökös tiol-én addíciós reakció

A gyökös tiol-én addíciós reakció kiválóan alkalmas tio-kötésű glikokonjugátumok szintézisére, munkám során ezt a módszert alkalmaztam elsősorban. A tiol-én addíció a click reakciók csoportjába tartozik, azaz általánosságban elmondható róla, hogy a reakció gyors, a használatával kvantitatív hozamok érhetőek el, beindításához és fenntartásához kis mennyiségű iniciátor vagy katalizátor elegendő, feldolgozása egyszerű, maga a reakció nem érzékeny a víz vagy az oxigén jelenlétére, és a reaktánsok (tiolok és telítetlen származékok) rendkívül széles skálájára alkalmazható. Iniciálására számos módszer alkalmas. Lehet például oxigénnel, szonikusan, termikusan vagy fénybesugárással iniciálni, ám egyes tiolok addíciói végbemennek katalizátor vagy iniciátor alkalmazása nélkül is. Munkám során elsősorban hasadó fotoiniciátor, 2,2-dimetoxi-2-fenil-acetofenon jelenlétében végeztem a tioladdíciókat.

A reakció során az alkalmazott iniciátortól függő módon első lépésben létrejön a tiilgyök. Ez aztán a propagációs, azaz lánckezdő, egyensúlyi lépés során a kettős kötésre reverzibilisen addicionálva kialakít egy széngyök intermediert. Fontos, hogy elektrofil addíció lévén a kettős kötésnek elektronban kellőképpen gazdagnak kell lennie, az elektronszívó csoportok jelenléte a Michael-addícióval ellentétben itt a konverzió jelentős romlását okozza, vagy akár meg is akadályozza a reakciót. Ez a kialakult széngyök ezután a láncevívő lépésben hidrogéngyököt von el egy új tiolból, ezzel kialakítva új tiilgyököt, míg önmaga stabilizálódik, az újonnan kialakult tiilgyök pedig folytatja a láncreakciót. A fragmentációs, más néven reverz propagációs lépés során a széngyök visszaalakul tiilgyökké és kettős kötést tartalmazó kiindulási anyaggá. Amennyiben az intermedier széngyök stabilitása kicsi, életideje nem elég lesz hosszú ahhoz, hogy a láncevívő lépés megtörténhessen, akkor a láncfolyamatnak ez az első, egyensúlyi lépése a kiindulási anyagok irányába tolódik el. A teljes konverzió létrejöttét ez a fragmentációs lépés akadályozhatja a gyűrűs vegyületeknél, amennyiben az intermedier túl instabil.

Dondoni és kutatócsoportja alkalmazta először a fotoiniciált gyökös tiol-én addíciós reakciót tiodiszacharidok, létrehozására. Piranozid 5- és furanozid 4-exometiléneket reagáltattak 1-tioaldózzal fotoiniciált körülmények között. Az addíciók kiváló hozammal, teljes regioszelektivitással, valamint többnyire teljes vagy jó sztereoszelektivitással mentek végbe, (1→5) és (1→6) kötésű tiodiszacharidokat eredményezve, illetve (1→2)-S-kötésű pszeudodiszacharidokat is előállítottak glikálokra történő szénhidráttiol-addícióval. A regioszelektivitás mindig teljes volt, 2-es helyzetbe kapcsolódott a szénhidráttiol, a sztereoszelektivitás viszont erősen függött a glikál konfigurációjától.

A DE Gyógyszerészi Kémia Tanszékén 2-szubsztituált glikálok és 2,3-telítetlen glikozidok tioladdícióit vizsgálták. Sikerült click körülményeket elérni, minimális tiolfelesleggel is jó hozammal végbementek a reakciók, ezáltal a módszer alkalmassá vált nem csak tiodiszacharidok, hanem S-kötésű glikokonjugátumok előállítására is. A 2-acetoxi-glikálok hidrotiolálása során a kéngyök az anomercentrumba kapcsolódik be, ezáltal lehetőség nyílik az 1,2-*cisz*- α -1-tioglikozidos kötés kialakítására teljes sztereoselektivitással.

Megfigyeltük, hogy az addíció hatékonysága nagymértékben függ a glikálok konfigurációjától, illetve az alkalmazott hőmérséklettől. Míg a 2-acetoxi-D-glükál és 1-tioglikóz-peracetát reakciója kiváló konverzióval ment végbe szobahőmérsékleten, a többi 2-szubsztituált szénhidrát jóval kisebb konverzióval reagált tiol reakciópartnereivel azonos hőmérsékleten. Alacsonyabb hőmérsékleten jelentős javulás mutatkozott a konverzióban, a hűtés további fokozásával pedig sikerült olyan konverziókat elérni, mint a *gliko* konfigurációjú származék esetében szobahőmérsékleten. Megfigyeltük továbbá, hogy a hőmérséklet emelése éppen ellenkező hatást váltott ki, minden esetben jelentősen csökkentette a konverziót.

3. Célkitűzés

A tioglikozidok rendkívül fontos szénhidrát-mimetikumok, ám behatóbb tanulmányozásukat korlátozza nehézkes előállíthatóságuk. A Tanszékünk eredményei szerint az 1,2-*cisz*-tioglikozidos kötés kialakítására, ami kivételesen nehéz feladat, kiváló, teljes sztereoselektivitású módszer a tiol-én addíciós reakció. A közelmúltban végzett vizsgálatok során derült fény a glikálkonfiguráció és az alkalmazott hőmérséklet igen jelentős szerepére. Célunk volt a munka folytatása, az enókok és tiolok körének kiterjesztése, különféle telítetlen szénhidrátokat alkalmazva alkénként, a gyűrűn belüli és néhány esetben terminális kettős kötésre történő tiol-én addíciós reakciók átfogó vizsgálata, a reakciókörülmények optimalizálási lehetőségeinek felderítése, ezáltal a reakció teljesítőképességének és határainak jobb megismerése.

Célunk volt változatos konfigurációjú telítetlen szénhidrátok, azaz peracetilezett, 2-szubsztituált D- és L-hexoglikálok, különféle aglikonnal rendelkező 2,3-telítetlen szénhidrátok, és tiolok, többek között egyszerű alifás tiolok, aminosav karakterű tiolok, illetve 1-es helyzetben tioszubsztituált szénhidrátok széles skáláján vizsgálni a reaktánsok és reakciókörülmények konverzióra gyakorolt szerepét. Célul tűztük ki az α -tioglikozidok előállításán túl egy hatékony reakcióút kidolgozását 1,2-*cisz*- α -1-tiocukrok előállítására, illetve azokból α - α -adduktumok széles skálájának kialakítását. Végül a 2,3-telítetlen glikozidok (*O*-, *C*-, *N*- glikozidok) esetében terveztük az aglikonnak és az enozidkonfigurációnak a reakcióra gyakorolt hatásainak tanulmányozását.

4. Módszerek

A reakciókat vékonyréteg-kromatográfiás módszerrel követtük. A termékek tisztítását flash oszlopkromatográfiával hajtottuk végre. A vegyületek szerkezetét egy- és kétdimenziós ^1H , ^{13}C , COSY

és HSQC NMR mérésekkel, illetve MALDI-ToF és ESI MS mérésekkel igazoltuk. Az optikai forgatóképességeket szobahőmérsékleten mértük automatikus polariméterrel.

A fotoiniciált tiol-én addíciós reakciókat bórszilikát edényben hajtottuk végre, a besugárzást 75 W teljesítményű higanylámpával végeztük, a maximális emissziós hullámhossz 365 nm volt. A higanylámpát kívülről vízhűtéses immerziós köpennyel védtük. A mintákat 10-50 mL űrtartalmú bórszilikát lombikokba tettük, és a lámpától legfeljebb 2 cm-re helyeztük el. A mintákat nem buborékolattuk át inert gázzal előtte, és nem kevertettük a besugárzások alatt. Az alacsony hőmérsékleten végrehajtott reakciók esetében a lombikot hűtőfürdőbe helyeztük (folyékony nitrogénnel, Dewar-edényben az adott hőmérsékletre hűtöttünk acetont, majd ebbe helyeztük a reakcióedényt).

5. Az értekezés új tudományos eredményei

5.1. 2-szubsztituált glikálok vizsgálatai

A fotoiniciált tiol-én addíciós reakciókon végzett korábbi kutatásokat folytattuk 2-szubsztituált enókok és tiolok széles skáláján. Enózként 2-acetoxi-D-glükált, 2-acetoxi-D-galaktált, 2-acetamido-D-glükált, 2-acetoxi-L-fukált és 2-acetoxi-D-maltált használtunk, tiolként pedig *n*-propil- és izopropil-tiolt, tioecetsavat, etán-ditiol-monoacetátot, tioglikolsavat, 2-merkaptóetanolt, *N*-acetyl-L-ciszteint, β -1-tioglükóz-, β -1-tiogalaktóz-, β -1-tiomaltóz-, valamint α - és β -1-tiomannóz-peracetátot.

Először az 2-acetoxi-D-glükál és rövid láncú alifás, valamint funkcionális alifás tiolok reakcióinak hőmérsékletfüggését vizsgáltuk. Először 5,0 ekv *n*-propiltiolt, illetve izopropiltiolt alkalmazva tiolként, szobahőmérsékleten hajtottuk végre a reakciót, és azt tapasztaltuk, hogy a hozamok alacsonyak voltak, a 35%-ot sem, vagy csak alig érték el. Ennek hátterében a glikál csekély mértékű konverziója állt. Az egyensúlyi tioladdíciós lépésnek a termékképződés felé tolása érdekében 3x5 ekvivalens tiolfelesleget használtunk, és azt tapasztaltuk, hogy a konverzió és ezáltal az izolált hozam is jelentősen növekedett, meghaladta az 50%-ot. A reakcióelegy 0 °C-ra történő hűtése rendkívül előnyös volt a reakció kimenetele szempontjából, 5,0 ekvivalens tiolfelesleget használva a konverzió körülbelül a kétszerese volt a szobahőmérsékleten megfigyeltnek.

Ezt követően vizsgáltuk a másik terminálisán is funkcionális csoporttal rendelkező alifás tiolok reakcióit. Mind az etán-ditiol-monoacetát, mind a 2-merkaptóetanol, mind a tioglikolsav szobahőmérsékleten történő reakciója jóval magasabb konverzióval ment végbe, mint az előbbieken tárgyalt egyszerű alifás tiolok reakciói, sőt ezekben a reakciókban elegendő volt kisebb tiolfelesleg alkalmazása. A hűtés valamennyi esetben jelentősen javította a konverziót. Ugyanezt figyeltük meg a 2-acetoxi-D-galaktál és 2-acetamido-D-glükál esetében is. A hőmérsékletfüggés szerepét jól mutatja a 2-merkaptóetanol addíciója 2-acetoxi-D-galaktálra: szobahőmérsékleten 58%-os hozammal izoláltuk a terméket, viszont a reakcióelegyet -80 °C-ra hűtve ez a hozam 86% volt, és kisebb tiolfelesleg is elegendő volt a magas konverzió eléréséhez.

Kiterjesztettük a fotoiniciált tiol-én addíciós reakciót diszacharid karakterű glikálra és diszacharidtiolra, vizsgálva azt, hogy a módszer alkalmas-e oligoszacharidok szintézisére is. Először a telítetlen monoszacharidokra történő diszacharid-addíciót tanulmányoztuk, kezdve a 2-acetoxi-D-glükálra történő 1-tiomaltóz-peracetát addíciójával. Itt szobahőmérsékleten nagyon alacsony konverziót sikerült csak elérni, mindössze nyomokban képződött a termék. A hőmérséklet csökkentésével viszont, a korábban tapasztaltakhoz hasonlóan, a konverzió jelentős javulását figyeltük meg, és bár 0 °C-on és -20 °C-on még mindig csekély mértékű volt az átalakulás, -40 °C-on az izolált hozam elérte a 29%-ot, és -80 °C-on a hozam már 58% volt. Hasonló eredményt értünk el a 2-acetoxi-D-galakttalra történő addíciók során is, -40 °C-on az izolált hozam 35% volt, lehűtve az eleget -80 °C-ra már 75%-os hozammal sikerült izolálni a terméket. A 2-acetamido-D-glükál esetében viszont a reakció hőmérsékleti optimuma -40 °C volt, ahol 65%-os hozamot értünk el, -80 °C-on viszont a reakció hozama lecsökkent 33%-ra.

A diszacharidtiol addícióit követően vizsgáltuk a D-malto konfigurációjú glikálra történő tioladdíció hőmérsékletfüggését is. Az *N*-acetil-L-cisztein addíciója során azt tapasztaltuk, hogy -20 és -40 °C hőmérsékleten közel azonos, 75-80% hozammal ment végbe a reakció, viszont -80 °C-on a hozam jelentősen csökkent, 56%-ra. Ugyanezt figyeltük meg az 1-tioglükóz-peracetát addíciójakor is, ahol úgyszintén a -20 és -40 °C közötti tartomány volt az optimális. Végül a tetraszacharidképzés hatékonyságát vizsgáltuk a 1-tiomaltóz-peracetát addíciójával, ahol a reakció hőmérsékletfüggése az előző példával mutatott hasonlóságot, a legjobb hozammal -40 °C-on ment végbe a reakció, ám a hozam itt csupán 35% volt.

A korábbi kutatásokhoz hasonlóan ezekben az esetekben is kivétel nélkül 1-es helyzetbe addicionálódtak a tiolok teljes regio- és teljes 1,2-*cisz*- α -sztereoselektivitással. A reakció hatékonyságát jelentősen befolyásolta a szén- és tiolgyök intermedierek stabilitása. A gyökös köztitermék a stabilitása a lánckezdő és reverz propagációs lépések aktiválásienergia-különbségétől függ, melyet a kiindulási anyagok (glikál és tiolgyök) és a szénközpontú intermedier gyök energiaszint-különbsége határoz meg. Az eddig vizsgált reakciók során mindössze néhány esetben volt az intermedier elég stabil szobahőmérsékleten ahhoz, hogy jó konverzióval végbemehessen az addíciós reakció, viszont hűtéssel jelentős javulást értünk el. Habár a hűtés minden esetben előnyösnek bizonyult, annak optimális mértéke függött a glikálok szubsztituenseitől és konfigurációjától, illetve a tiolok természetétől. Feltételezéseink szerint a nagyon alacsony hőmérséklet túlzottan stabilizálja az alkil-tiol gyököket, eltolva a kezdeti lépés egyensúlyát a reverz propagáció irányába, de az is lehetséges, hogy a túl alacsony hőmérséklet azáltal gátolja a reakciót végbemenetelét, hogy megakadályozza a hidrogénelvonási lépést.

Feltételezzük, hogy a 2-szubsztituált hexoglikálok esetében a gyors, reverzibilis tioladdíciós lépés, illetve a 4C_1 szék konformer kivételes stabilitása együttesen biztosítja a reakció 1,2-*cisz*- α -sztereoselektivitását. A kiindulási hexoglikálok interkonverziós egyensúlyban vannak a 4H_5 és 5H_4

félszék konformerek között. Bár a tiilgyök mindkét konformerre, mindkét irányból képes támadni, az egyetlen produktív támadás az, amely a 4H_5 konformerre történik alsó irányból, melyből a stabil, 4C_1 konformerű, C-2 központú széngyök intermedier keletkezik. Ez a szék konformáció a nagy térkitöltésű C-6 szubsztituensnek köszönhetően kivételes stabilitással rendelkezik. A többi irányból történő támadás hatására a piranózgyűrű nagy energiájú csavart kád konformációkba billenne át, melyek gyorsan el is bomlanak. Eredményeink szerint a 2-szubsztituált D-hexoglikálok gyökös tiol-én addíciói mind az előbb említett útvonalon mennek végbe. Ezzel analóg módon, az L-hexózok (például a vizsgált L-fukóz) esetén az 1C_4 konformerű állapota bír kivételes stabilitással, éppen ezért a reakciók a megfelelő 5H_4 fél szék és 1C_4 szék konformereken át mennek végbe.

5.2. α -1-tiocukrok és trehalóz típusú α - α -tiodiszacharidok kialakítása

Bár a biológiai szempontból igen érdekes és fontos trehalóz és analógja, a tiotrehalóz szintézisére számos módszert írtak már le, egyéb α - α -tiodiszacharidok általánosan alkalmazható előállítására idáig még nem volt módszer. A fő áthidalandó akadály ebben az esetben az α -szénhidráttiolok előállítása, ám módszerünkkel két lépésben szintetizálhatók ezek a vegyületek a megfelelő 2-szubsztituált glikálokból. Fotoiniciált tioladdícióval összekapcsolható a tioecetsav a glikállal, létrehozva ezzel az 1,2-*cis*- α -S-acetil származékokat, melyekből szelektív S-dezacetilezéssel képezhető a megfelelő α -glikozil-tiol. Ezt követően a szabad α -tiol addicionáltható a 2-szubsztituált szénhidrátra, így nyerve a tiodi-, tri- és tetraszacharid származékokat. A szintézisút kulcsfontosságú lépése az α -S-acetil származékok hatékony előállítása volt, melyekből aztán a tiolok felszabadíthatók.

Az optimalizálási vizsgálatok során megfigyeltük, hogy bár a DPAP mint iniciátor minden esetben elegendő volt a reakció elindításához, számos esetben a konverzió jelentősen javítható volt ko-iniciátor használatával. A vizsgált reakciók egy részében egy fotoszenzitivizátor vegyületet, MAP-ot (4-metoxi-acetofenont) adtunk a reakcióelegyhez, mely szinte minden esetben jelentősen javította a konverziót, más esetekben pedig akridinnarancsot használtunk ko-iniciátorként. Megfigyeltük továbbá, hogy amennyiben a szokásos 3x15 perces ciklusok egyikét 60 perc hosszúságúra növeltük, az is a konverzió jelentős javulását eredményezte, akár csak a nagy tiolfelesleg, és a tiol minden iniciációs ciklus előtti újbóli adagolása. Egyes reakcióknál trifluorecetsavat vagy hexafluoro-izopropanolt (HFIP-t) is adtunk a reakcióelegyhez, annak érdekében, hogy a tioecetsav deprotonálódását megakadályozzuk.

Az újonnan kidolgozott módszerekkel sikerült jó hozammal, hatékonyan előállítani az összes kívánt 1-S-acetilszármazékokat. A 2-acetoxi-D-glükállal végzett reakciók közül 60%-os hozamot értünk el, a perbenzoilezett 2-benzoiloxi-D-glükállal 44%-ot, a 2-acetoxi-D-galaktállal 77%, a 2-acetoxi-L-fukállal 96%, 2-acetamido-D-glükállal 80%, a 2-acetoxi-D-allállal 56%, míg a 2-acetoxi-D-maltállal 58%-os hozammal ment végbe a reakció.

Az így nyert származékokat szelektív S-dezacetilezéssel alakítottuk szabad tiollá. Minden reakció kvantitatív hozammal ment végbe. Ezeket a tiolokat ezután trehalóz típusú α - α -tiodiszacharidok

előállításához használtuk. Fotoiniciált tiol-én addíciós reakciót használva előállítottunk és karakterizáltunk 24 α - α -tio-kötésű oligoszacharidot. Kiindulási telítetlen glikálként 2-benzoiloxi-D-glükált, 2-acetoxi- és 2-acetamido-D-glükált, -galaktált, -allált, -maltált és -L-fukált használtunk. A reakciók kivétel nélkül jó vagy kiváló hozammal mentek végbe, sikeresen előállítottuk az összes lehetséges kombinációjú di- tri- és tetraszacharid-mimetikumot. Melléktermékképződést a tiolok diszulfiddá alakulásán kívül nem figyeltünk meg. Optimális hőmérsékletnek, a korábbi vizsgálatokhoz hasonlóan, -40 és -80 °C-ot állapítottunk meg.

5.3. Addíciók 2,3-telítetlen glikozidokra

Az 1,2-telítetlen glikálok reakcióit követően 2,3-telítetlen származékok addícióit vizsgáltuk. Tanulmányoztuk, hogy a telítetlen szénhidrát aglikonja és a glikozidos kötést kialakító atom milyen hatásokat gyakorol az addícióra. Vizsgáltuk továbbá a telítetlen glikozid konfigurációjának és az előbbi vizsgálatokhoz hasonlóan a hőmérsékletnek a hatását a reakciók konverziójára és a szteroselektivitására.

Vizsgálatainkat a 2,3-telítetlen, 2,3-didezoxi, *D-eritro*-hexopiranozil *O*-glikozidok addícióival kezdtük. Elsőként *O*-etil aglikonnal rendelkező származékkal foglalkoztunk, többféle körülmény között addicionáltattunk rá β -1-tioglükóz-peracetátot, a módszerek összehasonlítása céljából. Összehasonlítottuk a fotoiniciált módszert kétféle hőmérsékleten, valamint a termikus aktivációt és a trietilborán-pirokatechin iniciálta módszert.

Az előbbieken vizsgált *O*-etil glikozidhoz ezután funkcionális alkil-tiolokat kapcsoltunk. Az etán-ditiol-monoacetát 0 °C-on történő addíciója jó konverzióval ment végbe, az izolált hozam 69% volt, lehűtve viszont -80 °C-ra a hozam a harmadára esett vissza. Ez a kapott eredmény teljes mértékben megegyezik a 2-szubsztituált-glikálok esetében tapasztaltakkal, ahol szintén 0 °C-on volt a legmagasabb a konverzió. A tioglikolsav addíciójakor viszont a -80 °C-os hőmérséklet előnyösebb volt, mint a 0 °C, mely szintén korrelál az 1,2-telítetlen származékokra történő addícióknál tapasztaltakkal. Itt 0 °C-on a hozam 46% volt, míg -80 °C-ra hűtve a reakcióelegyet, 68%-os hozammal izoláltuk a terméket. Ezek a termékek a 2-es helyzetben lévő funkcióik révén a későbbiekben elágazó oligoszacharidok építőegységei lehetnek. Ezt követően a reakciót kiterjesztettük egyéb aglikonnal (2-brómetil, fenil, allil) rendelkező 2,3-telítetlen *D-eritro*-hexopiranozidokra is, és a reakciók minden esetben kiváló hozammal mentek végbe alacsony hőmérsékleten. A C-4 szubsztituens szerepét vizsgálva a 2,3-telítetlen etil-D-*treo*-hexopiranozidon, a reakciók meglepő módon regioizomer keveréket eredményeztek, mind 3-dezoxi-2-tio, mind a 2-dezoxi-3-tio származékok képződtek minden vizsgált reakcióban.

Vizsgáltuk a 2-szubsztituált, 2,3-telítetlen *O*-glikozidokra történő addíciókat is, különös tekintettel a C-2 szubsztituensének hatására a reakció regio- és sztereoselektivitására. A kiindulási vegyületek előállítása során anomerkeverések keletkeztek, viszont nem tudtuk egymástól elválasztani az α - β anomereket, ezért az addíciós reakciókat ezeken az anomerkeverék enozidokon hajtottuk végre.

Megfigyeltük, hogy a reakció regio szelektivitása jól kontrollálható a 2-es helyzetű szubsztituálással, a tiol-én addíciók teljes regio- és sztereoszelektivitással mentek végbe. A reakciók sztereokémiai kimenetele elsősorban a tiol konfigurációjától függött. Figyelemreméltó volt továbbá a kiindulási α anomer jóval nagyobb reaktivitása. Habár jelentős mértékben jelen volt a β anomer is a kiindulási anyagokban, az etil-glikozid reakcióiban nem izoláltunk semmilyen β -etil-glikozid terméket, vagyis izolálható mennyiségben nem képződött a reakcióban.

Az *O*-glikozidok sikeres addícióit követően vizsgálatainkat a *C*-glikozidokkal folytattuk, és vizsgáltuk a terminális és belső kettős kötés reaktivitása közötti különbséget. A 2,3-telítetlen-*C*-allil-glikozid származékra addicionáltattunk 1-tioglikóz-peracetátot, és azt tapasztaltuk, hogy 1,0 ekvivalens tiolt használva, kizárólag a terminális kettős kötésen ment végbe az addíció, egyféle termék keletkezett, 40%-os hozammal. Az alacsony hozam háttérében a csekély mértékű konverzió állt. A korábbiakban előnyös $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os hőmérsékleten, 2,5-szeres tiolfelesleget alkalmazva szintén csak ezt az egy terméket izoláltuk, bár itt jóval nagyobb, 58%-os hozammal. A gyűrűbeli kettős kötés mindkét esetben inert maradt.

Végül *N*-glikozidokra történő tioladdíciókat vizsgáltunk. A kiindulási 2,3-telítetlen *N*-glikozid itt is egy 3:1 arányú, szétválaszthatatlan α : β keverék volt. Ezt 1-tioglikóz-peracetáttal reagáltatva szobahőmérsékleten és $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on egyáltalán nem keletkezett termék, a hőmérséklet csökkentésével viszont már tapasztaltunk termékképződést. Érdekes módon az izolált tioladdíciós termékek mind β -*N*-glikozidok voltak. Tekintve, hogy a gyökös tiol-én addícióhoz elektronban gazdag kettős kötés szükséges, az eredményekből az következik, hogy a kettős kötések elektronsűrűsége jelentősen eltér a két anomer esetében. Hasonlóképpen a korábban a 2-acetoxi-2,3-telítetlen származékokkal végzett vizsgálatokhoz, a reakció sztereokémiai kimenetelét elsősorban a tiolok konfigurációja határozta meg.

6. Összefoglalás

Munkám során 2-szubsztituált hexoglikálok, valamint 2,3-telítetlen glikozidok fotoiniciált, gyökös tiol-én addíciós reakcióival foglalkoztam elsősorban. Vizsgáltuk az alkalmazott hőmérséklet, illetve a tiolok és telítetlen származékok szerkezetének, konfigurációjának hatását a reakció konverziójára és sztereokémiai kimenetelére. A 2-szubsztituált glikálok reakciói esetében, ahogy a Tanszék munkatársai már megfigyelték, a reakciók teljes 1,2-cisz- α -sztereoszelektivitással mentek végbe, viszont a konverzió jelentős mértékben függött az alkalmazott hőmérséklettől és a reaktánsok szerkezetétől, reaktivitásától. A hűtés minden esetben kedvező volt, leginkább a -40 és $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti tartomány kedvezett a szénhidrát-tiolok addícióinak, és a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os hőmérséklet az alkiltiolok addícióinak. A reakció kiterjeszhető mind diszacharid glikálra, mind diszacharid tiolra.

Különleges eset volt a vizsgálatok között a tioecetsav addíciója, mert a korábbi, egyéb tiolokra optimalizált körülmények egyike sem eredményezett olyan reakciót, ami során a tioecetsav jó hozammal addicionált volna a vizsgált glikálokra. Ezek a reakciók nem tioglikozidokat, hanem α -*S*-acetil

származékokat eredményeznek, melyeket szelektív *S*-deacetilezést követően később kiindulási anyagként használtuk 1-tiotrehalóz-analógok szintéziséhez. A vizsgált glikálokhoz sikerült újonnan kidolgoznunk olyan reakciókörülményeket, melyek alkalmazásával jó hozammal előállíthatók ezek a kívánt 1,2-*cisz*- α -*S*-acetilszármazékok. Megfigyeltük, hogy az összes addíció esetében hasznos volt az egyik 15 perces besugárzási ciklust 60 percesre nyújtani, illetve ko-iniciátorként 4-metoxi-acetofenont vagy akridinnarancsot adva a reakciók jelentős részénél sikerült magasabb konverziót elérni. A 2-acetamido-*D*-glükál esetének kivételével optimális reakció-hőmérsékletnek a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ bizonyult. Szelektív *S*-deacetilezést követően az újonnan nyert α -1-tiocukrokat homo- és heterodimer szerkezetű α,α -tiodiszacharidok előállításához használtuk fel. Ezek a reakciók, a β -szénhidrátolokhoz hasonlóan, magas konverzióval és jó hozammal mentek végbe, és teljes regio- és sztereoszelektivitást tapasztaltunk.

Vizsgáltunk változatos aglikonú *O*-glikozidokat, valamint *C*- és *N*-glikozidokat, tanulmányoztuk az anomer heteroatom hatását a reakcióra. Kimutattuk, hogy a 2,3-telítetlen *D-eritro* konfigurációjú *O*-etil-, allil-, fenil- és 2-brómetil-glikozidok fotoiniciált tioladdíciói teljes regio-, és teljes axiális sztereoszelektivitással alakították ki a *C*-2-axiálisan kapcsolt termékeket. A hőmérséklet csökkentése a reakciók jelentős részénél előnyös hatású volt. A *D-treo* konfigurációjú 2,3-telítetlen glikozid esetében szintén teljes axiális szelektivitást figyeltünk meg, viszont *C*-2 és *C*-3 helyzetbe addicionált termékek is létrejöttek. Mind a hozamot, mind a szelektivitást lehetett hűtéssel javítani. A *C*-2 helyzetben szubsztituált származékok esetében az addíció kisebb reaktivitással és ellentétes regioszelektivitással ment végbe, feltehetőleg a szterikus zsúfoltság miatt. A sztereoszelektivitást a tiolok szerkezete határozta itt meg, a két elvégzett addícióban teljes, de ellentétes sztereoszelektivitást figyeltünk meg. A vizsgált *N*-glikozid reaktivitása jóval alacsonyabb volt az *O*-glikozidokénál, itt 20% alatti termékkepződést figyeltünk meg. A *C*-allil glikozid esetében pedig az anomer oxigénatom hiánya szignifikánsan csökkentette a terminális kettős kötés reaktivitását, és teljes mértékben meggátolta a gyűrűn belüli kettős kötésre történő addíciót.

7. Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretném köszönetemet kifejezni mindazok felé, akik támogattak PhD kutatásaim során, akik nélkül nem jöhetett volna létre ez a munka.

Elsősorban témavezetőmnek, Prof. Dr. Borbás Anikó tanszékvezető egyetemi tanárnak szeretnék köszönetet mondani, aki mindvégig támogatott, bármikor fordulhattam hozzá akár gyakorlati segítségért, akár elméleti konzultációért, munkámat mindvégig figyelemmel és nagy türelemmel kísérte, építő tanácsai rendkívül hasznosak voltak.

Köszönöm tutoromnak, Prof. Dr. Herczegh Pál professor emeritusnak, hogy figyelemmel kísérte munkámat, szakmai tanácsaival és gyakorlati útmutatásaival előrehaladásomat segítette, illetve tutoromnak, Dr. Kovácsné Prof. Dr. Bácskay Ildikó Katalin egyetemi tanárnak, hogy számíthattam támogatására.

Hálásan köszönöm Bodza Márta vegyésztechnikusnak, hogy értékes szakmai segítségére és rengeteg tapasztalatára mindig támaszkodhattam, munkám során bármilyen problémába ütköztem, mindig segített azt megoldani.

Köszönetemet fejezem ki Dr. Hevesi-Mező Erika és Demeter Fruzsina tanársegédeknek, és Dr. Bege Miklós tudományos segédmunkatársnak az NMR mérések és értékelések során nyújtott segítségükért, és nem utolsósorban társaságukért a laboratóriumban, ahol jó hangulatú légkört teremtettek, segítségükre és kritikájukra mindig bizton számíthattam, és megmutatták, hogy a munkahelyén is érezheti jól magát az ember.

Köszönöm Dr. Bakai-Bereczki Ilona adjunktusnak és Terdikné Dr. Csávás Magdolna tudományos főmunkatársnak a MALDI-ToF méréseket és kiértékeléseket, Prof. Dr. Batta Gyula egyetemi tanárnak, Dr. Herczeg Mihály tudományos munkatársnak, Debreczeni Nóra PhD hallgatónak, Dr. Eszenyi Dánielnek, Dr. Szűcs Zsoltnak és Dr. Kicsák Máténak az NMR méréseket.

Hálás köszönetemet fejezem ki Oláh Réka Gabriella, Magyar Péter, Reem Sherif Hegazy, Gőz Ildikó, Hotzi Judit, és Pető Réka egyetemi hallgatóknak, akikkel volt szerencsém együtt dolgozni ezen a munkán, társaságukért és segítségükért a szintetikus folyamatok rögzös útján.

Köszönöm Róth Józsefné, Fekete Dóra és Varga Mariann vegyésztechnikusoknak a gyakorlati munka és alapanyaggyártás során nyújtott segítségüket, illetve az optikai forgatóképességek mérését.

Köszönettel tartozom Molnár-Koszorus Zsuzsa ügyintézőnek, hogy munkám és PhD tanulmányaim adminisztratív oldalát figyelő szemmel követte, és gyakorlatias látásmódja rengeteg problémán segített át.

Köszönöm barátomnak és kollégámnak, Dr. Nemes Dánielnek a támogatást és rengeteg segítségét, hogy felváltva segítettük át egymást a doktori képzés rögzös útjain.

Együttesen köszönöm a Gyógyszerészi Kémia Tanszék valamennyi dolgozójának, munkatársamnak a munkám során nyújtott segítséget.

Köszönettel tartozom a Richter Gedeon Talentum Alapítvány felé (1103 Budapest, Gyömrői út 19-21.), amiért számomra a PhD ösztöndíjukat odaítélték, illetve a NKFIH (TÉT_15_IN-1-2016-0071 és OTKA K 109208), a GINOP-2.3.2-15-2016-00008 és a GINOP-2.3.4-15-2020-00008 kódszámú pályázatoknak, a Debrecen Venture Catapult Program EFOP-3.6.1-16-2016-00022 és az Emberi Erőforrások Minisztériuma ÚNKP-18-3 és ÚNKP-19-3 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjainak az anyagi támogatásért.

Végül, de nem utolsósorban szeretném hálás köszönetemet kifejezni Édesanyámnak, Édesapámnak, Kedvesemnek, családom többi tagjának és barátaimnak, hogy a PhD kutatásaim során mindvégig támogattak, és megteremtették azt a légkört, amiben fel tudtam otthon tölteni.



Nyilvántartási szám: DEENK/90/2021.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Kelemen Viktor
Doktori Iskola: Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Kelemen, V.**, Csávás, M., Hotzi, J., Herczeg, M., Poonam., Rath, B., Herczegh, P., Jain, N., Borbás, A.: Photoinitiated Thiol-Ene Reactions of Various 2,3-Unsaturated O-, C- S- and N-Glycosides: scope and Limitations Study.
Chem.-Asian J. 15 (6), 876-891, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/asia.201901560>
IF: 4.056 (2019)
2. **Kelemen, V.**, Bege, M., Eszenyi, D., Debreczeni, N., Bényei, A., Stürzer, T., Herczegh, P., Borbás, A.: Stereoselective Thioconjugation by Photoinduced Thiol-ene Coupling Reactions of Hexo- and Pentopyranosyl D- and L-Glycals at Low-Temperature: Reactivity and Stereoselectivity Study.
Chem.-Eur. J. 25 (64), 14555-14571, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/chem.201903095>
IF: 4.857

További közlemények

3. Nemes, D., Kovács, R. L., Nagy, F., Tóth, Z., Herczegh, P., Borbás, A., **Kelemen, V.**, Pfliegler, V. P., Rebenku, I., Hajdu, P., Fehér, P., Ujhelyi, Z., Fenyvesi, F., Váradi, J., Vecsernyés, M., Bácskay, I.: Comparative biocompatibility and antimicrobial studies of sorbic acid derivatives.
Eur. J. Pharm. Sci. 143, 1-9, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejps.2019.105162>
IF: 3.616 (2019)
4. **Kelemen, V.**, Borbás, A.: Glycomimetics with unnatural glycosidic linkages.
In: Recent Trends in Carbohydrate Chemistry. Ed.: Rauter Amélia Pilar, Christensen Bjrn E., Somsák László, Kosma Paul, Adamo Roberto, Elsevier, Amsterdam, 161-215, 2020





5. Le Thai, S., Malinovská, L., Vaskova, M., Mező, E., **Kelemen, V.**, Borbás, A., Hodek, P., Wimmerová, M., Csávás, M.: Investigation of the Binding Affinity of a Broad Array of I-Fucosides with Six Fucose-Specific Lectins of Bacterial and Fungal Origin.
Molecules. 24 (12), 1-17, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules24122262>
IF: 3.267
6. Eszenyi, D., **Kelemen, V.**, Balogh, F., Bege, M., Csávás, M., Herczegh, P., Borbás, A.: Promotion of a Reaction by Cooling: stereoselective 1,2-cis- α -Thioglycoconjugation by Thiol-Ene Coupling at -80C.
Chem.-Eur. J. 24 (18), 4532-4536, 2018.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/chem.201800668>
IF: 5.16
7. Herczeg, M., Demeter, F., Balogh, T., **Kelemen, V.**, Borbás, A.: Rapid Synthesis of L-Idosyl Glycosyl Donors from [alfa]-Thioglucosides for the Preparation of Heparin Disaccharides.
Eur. J. Org. Chem. 2018 (25), 3312-3316, 2018.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/ejoc.201800425>
IF: 3.029
8. Szűcs, Z., **Kelemen, V.**, Le Thai, S., Csávás, M., Röth, E., Batta, G., Stevaert, A., Vanderlinden, E., Naesens, L., Herczegh, P., Borbás, A.: Structure-activity relationship studies of lipophilic teicoplanin pseudoaglycon derivatives as new anti-influenza virus agents.
Eur. J. Med. Chem. 157, 1017-1030, 2018.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.08.058>
IF: 4.833

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 28,818

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre): 8,913

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

Debrecen, 2021.03.10.

