



***Mycobacteriumok* glikopeptidolipid antigénjei
pentaszacharid hapténjeinek szintézise**

doktori (PhD) értekezés tézisei

Varga Zsolt

témavezető: **Prof. Dr. Lipták András**

Debreceni Egyetem, Természettudományi Kar

Debrecen, 2001

I. Az értekezés előzményei és célkitűzései

A szénhidrátok az élő szervezetekben nemcsak mint energiaforrás vagy vázanyag játszanak fontos szerepet, de a biológiai információk hordozóiként is nagy jelentőségűek. Ezen felismerésre azután kerülhetett sor, hogy a glikokonjugátumok izolálása, tisztítása és szerkezetük meghatározása során alkalmazott technikák ill. műszerek (HPLC, MS, GC-MS, NMR) érzékenysége, felbontása terén nagymértékű fejlődés történt az elmúlt évtizedekben. Ezen fejlődésnek köszönhetően az utóbbi 20-30 évben számos biológiailag aktív szénhidrát (glikokonjugátumokból történő) izolálására és szerkezetének meghatározására került sor.

A glikokonjugátumok vizsgálataiból sikerült olyan összefüggésekre fényt deríteni, amelyekkel könnyebben, mélyebben megérthetjük a glikokonjugátumok szénhidrát részének szerepét, a sejtek és a környezetük közötti kapcsolattartást, a sejt–sejt kölcsönhatást, a sejtek szövetekké rendeződésének elvét.

Az oligoszacharidok biológiai jelentőségének felismerése újabb kihívást jelentett és jelent a kémikusok számára. A magasabb tagszámú, elágazó láncú oligoszacharidok szintézisének igénye maga után vonta új blokk szintézisek, védőcsoport stratégiák és újfajta, sztereospecifikus glikozilezési módszerek kidolgozását, ezzel együtt a vegyületek izolálásában, szerkezetük meghatározásában használt technikák további fejlődését. A biológiailag aktív természetes vegyületek illetve építőelemeik, analógjaik szintézise és vizsgálata lehetőséget nyújt a szerkezet és a hatás közötti összefüggések tanulmányozására is.

A DE TTK Biokémiai Tanszéke, illetve az MTA-DE Szénhidrátkémiai Kutatócsoportja jelentős eredményeket ért el a *Mycobacteriális* eredetű sejt felszíni oligoszacharid antigének szintézise területén. Előállították a *Mycobacterium smegmatis* és a *Mycobacterium kansasii* trehalóz tartalmú lipooligoszacharidjának, a *Mycobacterium leprae* fenolos glikolipidjének és a *Mycobacterium avium* komplex 8-as, 14-es és 20-as szerovariáns glikopeptidolipidjének oligoglikozil komponensét.

Értekezésem témája a *Mycobacterium avium* komplex 12-es és 17-es szerovariánsa glikopeptidolipidjéből izolált pentaszacharid haptének szintézise volt.

II. Az alkalmazott vizsgálati módszerek

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

A reakciók követésére, az anyagok tisztaságának ellenőrzésére, a termékarányok meghatározására vékonyréteg-, nagynyomású folyadék- és gázkromatográfias módszereket használtam. A nyerstermékek tisztítását, az izomerek elválasztását a klasszikus kristályosításon kívül oszlopkromatográfia segítségével oldottam meg.

Az előállított vegyületek szerkezetének igazolására a klasszikus eljárások (elemanalízis, olvadáspont, fajlagos forgatóképesség meghatározása) mellett a modern spektroszkópiai módszereket (egy- és kétdimenziós NMR, valamint tömegspektrometriai technikák) alkalmaztam.

III. Az értekezés új tudományos eredményei

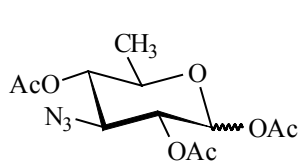
A dolgozatban *Mycobacterium avium* komplex 17-es szerovariáns (2*S*,3*S*)-nilinsavval acilezett pentaszacharidjának, továbbá a 12-es szerovariáns teljesen védett pentaszacharidjának szintézisét mutatjuk be.

III.1. A Mycobacterium avium komplex 17-es szerovariáns glikopeptidolipid antigénje pentaszacharid hapténjének előállítása

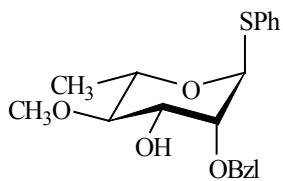
A terminális monoszacharid egység szintézisét D-glükózból kiindulva valósítottuk meg. A szintézis során két megoldandó feladatunk volt: a 3-as helyzetbe aminocsoport bevezetése illetve a 6-os helyzetű dezoxi funkció kialakítása. Az aminocsoport kialakítását azidon keresztül, míg a 6-os helyzet redukálását tozilcsoporton keresztül oldottuk meg (\rightarrow 1).

Az *L-ramno* szénhidrát egységek (B és C) előállításának kulcslépését, a 2-es helyzetű regioselektív benzilezést, kétfázisú módszerrel végeztük és így a **2** illetve **3** szintonokhoz jutottunk.

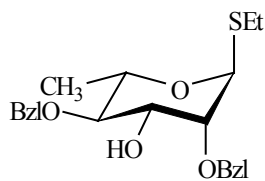
Az előállított monoszacharid egységekből elkészítettük a **4** triszacharidot, melyet az irodalomból ismert **5** diszacharidhoz kapcsolva kaptuk a **6** pentaszacharidot.



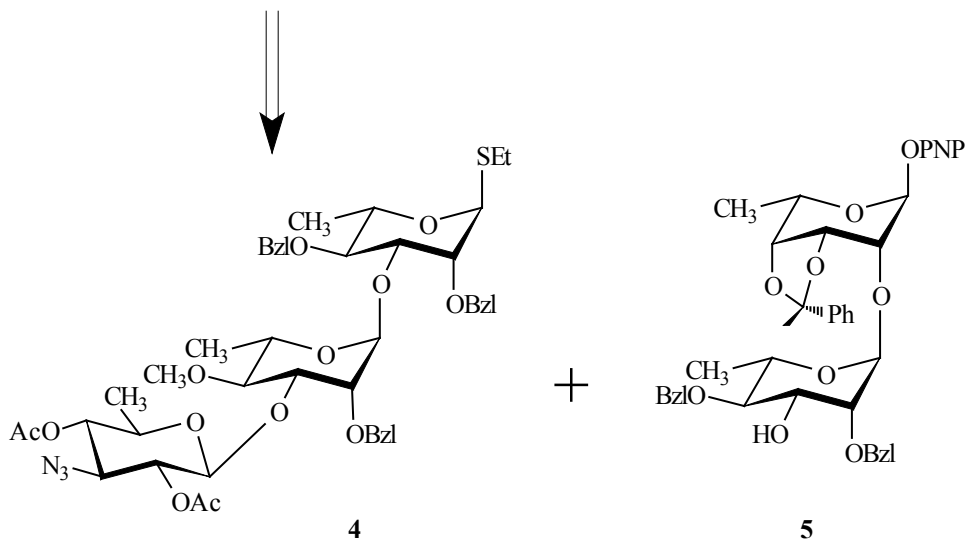
1



2

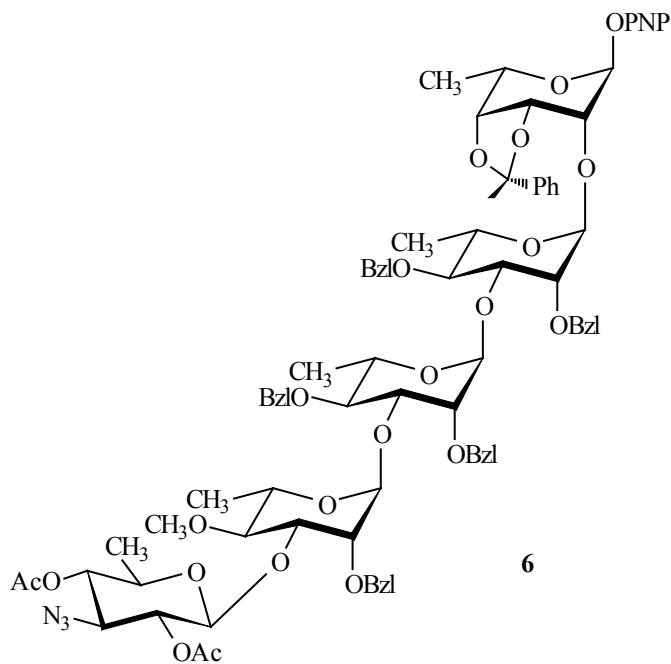


3



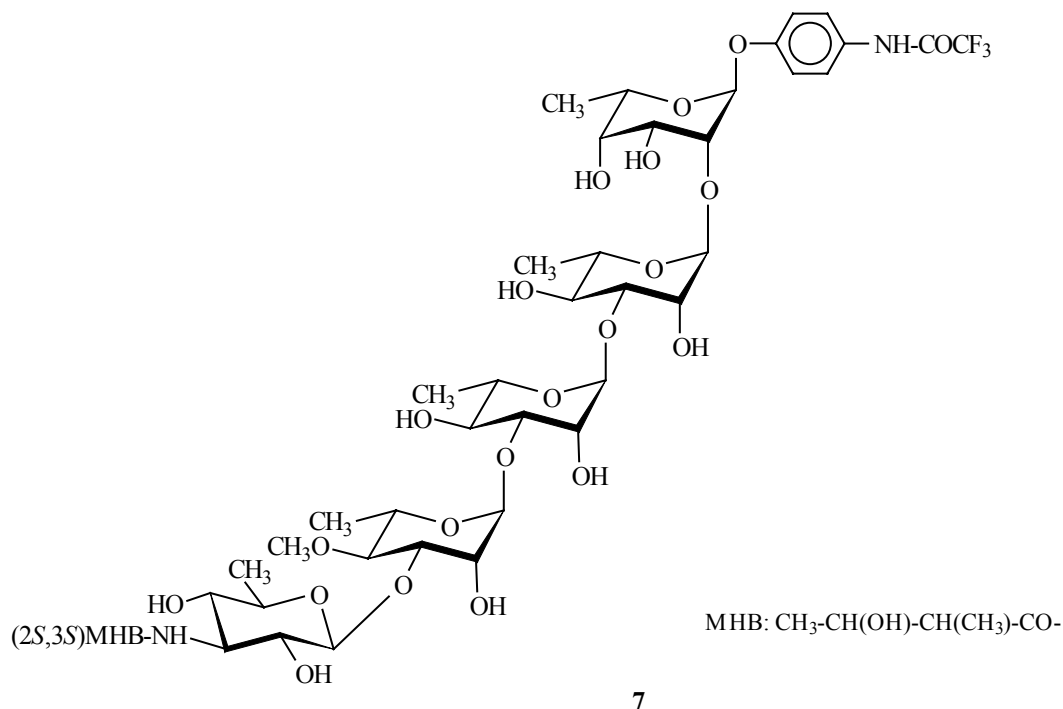
4

5



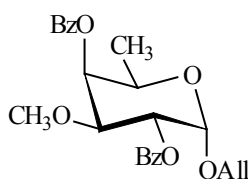
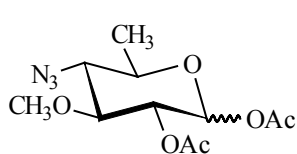
6

Az azidcsoport redukálásával kapott amint az (2*S*,3*S*)-nilinsavval acileztük, majd az aglikon átalakításával, illetve a védőcsoportok eltávolításával a 7 célvegyülethez jutottunk.

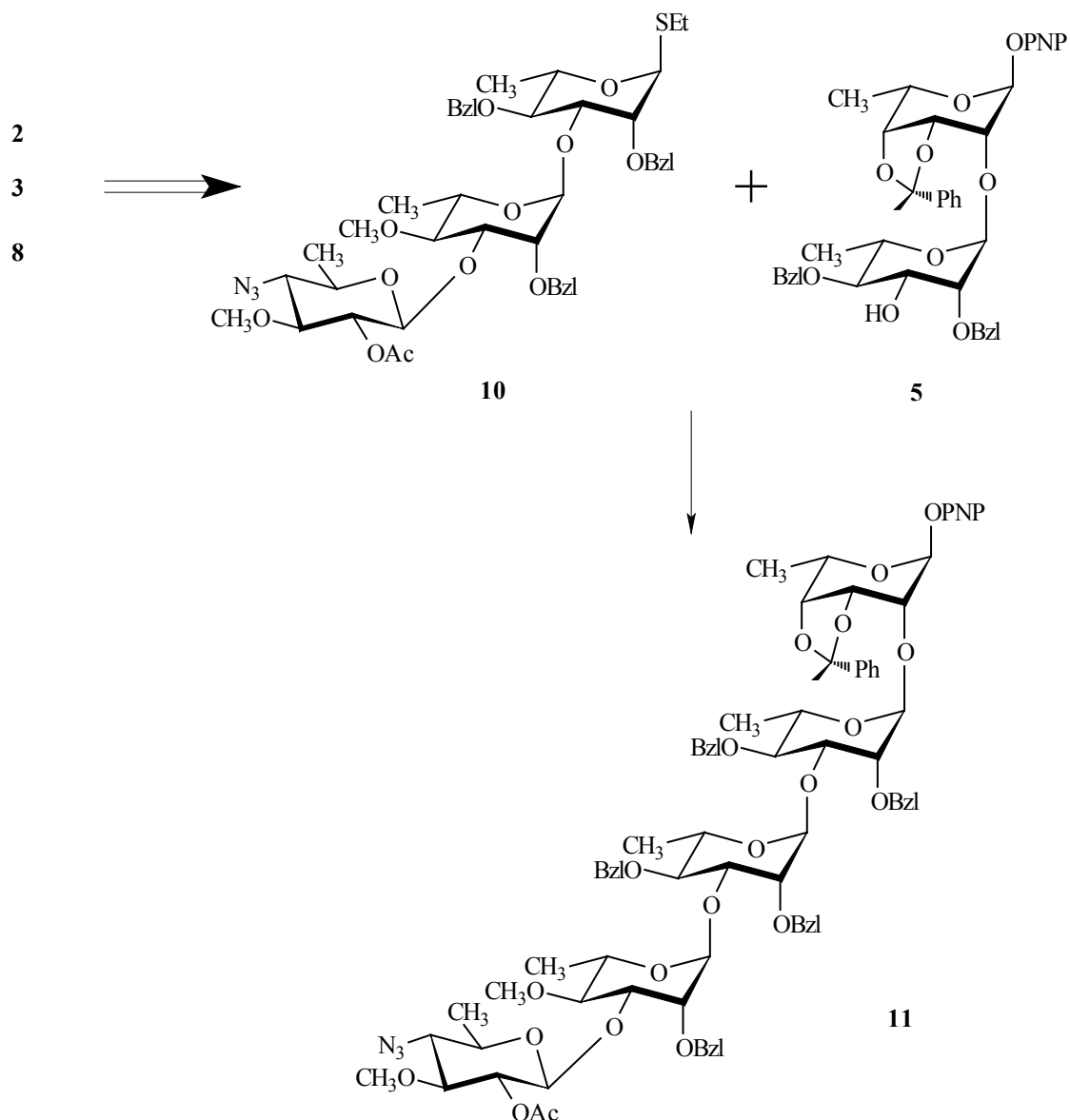


III.1. A Mycobacterium avium komplex 12-es szerovariáns glikopeptidolipid antigénje pentaszacharid hapténjének előállítása

A terminális monoszacharid egység szintézisét D-galaktózból kiindulva valósítottuk meg. A szintézis során három megoldandó feladatunk volt: a 3-as helyzetű hidroxilcsoport metilezése, a 4-es helyzetbe aminocsoport bevezetése illetve a 6-os helyzetű dezoxi funkció kialakítása. A metilezést diazo-metánnal, az aminocsoport kialakítását azidon keresztül, míg a 6-os helyzet redukálását tozilcsoporton keresztül oldottuk meg (\rightarrow 8). A szintézis során megfigyeltük az anomális Zemplén szerinti átészterezés egy új típusát: a 2-es és 4-es helyzetben is izolált acil-csoportot tartalmazó, D-galakto származék (9) esetében, nátrium-metilát metanolos oldatában a 4-*O*-acil csoport bizonyult stabilabbnak.



A **2**, **3** és **8** monoszacharid egységekből elkészítettük a **10** triszacharidot, melyet az **5** diszacharidhoz kapcsolva kaptuk a **11** pentaszacharidot.



IV. Az eredmények hasznosításának lehetőségei

Az előállított pentaszacharid haptének – megfelelő hordozóhoz kapcsolva – immunológiai vizsgálatokban használhatók fel a *Mycobacterialis* fertőzések szerodiagnózisa során.

Az anomális Zemplén-féle átészterezési reakció általunk megfigyelt új típusa segítséget nyújthat egyéb szintézisek védőcsoport stratégiájának kidolgozásában.

V. Publikációk jegyzéke

V.1. Közlemények az értekezés témájában

1. Bajza István, Borbás Anikó, Hajkó János, Ron Legas, Szabovik Gabriella, **Varga Zsolt**, Lipták András: Glikolipid és glikopeptidolipid típusú mycobacteriális antigének kémiája. *Magyar Kémikusok Lapja*, **1996**, 51, 464-475.
2. **Zsolt Varga**, István Bajza, Gyula Batta, András Lipták: Synthesis of the pentasaccharide hapten from the glycopeptidolipid antigen of *Mycobacterium avium* serovar 17. *Tetrahedron Letters*, **2001**, 42, 5283-5286. **IF 2000: 2,558**
3. **Zsolt Varga**, István Bajza, Gyula Batta, András Lipták: Synthesis of the pentasaccharide hapten from the glycopeptidolipid antigen of *Mycobacterium avium* serovar 12. *Tetrahedron Letters*, **2002**, 43, 3145-3148. **IF 2000: 2,558**

V.2. Közlemények egyéb témákban

1. István F. Pelyvás, Mária Mádi-Puskás, Zoltán G. Tóth, **Zsolt Varga**, Gyula Batta, Ferenc Sztaricskai: Novel aminocyclitol antibiotics derived from natural carbohydrates. *Carbohydrate Research*, **1995**, 272, C5-C9. **IF 1995: 1,506**
2. István F. Pelyvás, Mária Mádi-Puskás, Zoltán G. Tóth, **Zsolt Varga**, Gyula Batta, Miklós Hornyák, Ferenc Sztaricskai: Synthesis of New Pseudodisaccharide Aminoglycoside Antibiotics from Carbohydrates. *The Journal of Antibiotics*, **1995**, 48, 683-695. **IF 1995: 1,436**
3. László Pál, Mádiné Puskás Mária, Tóth Zoltán Gábor, **Varga Zsolt**, Hornyák Miklós, Batta Gyula, Pelyvás F. István, Sztaricskai Ferenc: Antibiotikumok szintézise szénhidrátokból. Pseudodiszacharid aminoglikozidok. *Magyar Kémiai Folyóirat*, **1997**, 103, 147-162. **IF 1997: 0,215**

4. Gabriella Szabovik, Adél Medgyes, Zsuzsa Antal, **Zsolt Varga**, W. Knott, András Lipták: The Use of a New Magnesium-Derived Hydride Reagent for Carbohydrate Derivatives.
Polish Journal of Chemistry, **1999**, 73, 1003-1009. **IF 1999: 0,595**

V.3. Konferencia előadások és poszterek az értekezés témájában

1. **Zsolt Varga**: Synthesis of the terminal aminosugars of the surface antigens of *Mycobacterium avium* serovars 12 and 17; *Annual Meeting of Carbohydrate Working Group of Hungarian Academy of Sciences, Debrecen, 1994* – előadás
2. **Zsolt Varga**, András Lipták: Synthesis of the terminal aminosugars and their acyl components of the surface antigens of *Mycobacterium avium* serovars 12 and 17; *3rd European Training Course on Carbohydrates, Kerkrade, 1994* – poszter (P-42)
3. András Lipták, **Zsolt Varga**, Gabriella Szabovik, István Bajza: Synthesis of the terminal aminosugars and their acyl components of the surface antigens of *Mycobacterium avium* serovars 12 and 17; *XVII. International Carbohydrate Symposium, Ottawa, 1994* – poszter (Book of Abstracts B-2.6.)
4. András Lipták, **Zsolt Varga**, István Bajza: Surface antigens of the MAIS complex. Synthesis of two pentasaccharides characteristic of serovars 14 and 17; *207th ACS National Meeting, San Diego, California, 1994* – poszter (CARB 0016)
5. **Varga Zsolt**, Lipták András: A *Mycobacterium avium* 12-es és 17-es szerovariánsa terminális aminocukrainak és azok acil komponenseinek szintézise; *MKE XVII. Kémiai Előadói Napok, Szerves, Gyógyszer- és Biokémiai Szimpózium, Szeged, 1994* – előadás (Összefoglaló 36. oldal)
6. **Varga Zsolt**: A *Mycobacterium avium* 12-es és 17-es szerovariánsai terminális aminocukrainak és azok acil komponenseinek szintézise; *Pro Scientia Érmesek Második Szakmai Konferenciája, Budapest, 1994* – előadás

7. **Zsolt Varga**, Zsuzsa Antal, András Lipták: Novel synthesis of the terminal aminosugars of the surface antigens of *Mycobacterium avium* serovars 12 and 17; *Annual Meeting of Carbohydrate Working Group of Hungarian Academy of Sciences, Debrecen, 1995* – előadás
8. **Zsolt Varga**, Zsuzsa Antal, András Lipták: Novel synthesis of the terminal aminosugars of the surface antigens of *Mycobacterium avium* serovars 12 and 17; *VIII. European Carbohydrate Symposium, Seville, 1995* – poszter (Book of Abstracts A-140)
9. **Varga Zsolt**, Antal Zsuzsa, Lipták András: A *Mycobacterium avium* 12-es és 17-es szerovariánsa terminális aminocukrainak szintézise; *MKE Vegyészkonferencia, Debrecen, 1995* – poszter (Összefoglaló 174. oldal)
10. **Zsolt Varga**, András Lipták: Synthesis of pentasaccharide antigen from *Mycobacterium avium* serovariant 17; *Annual Meeting of Carbohydrate Working Group of Hungarian Academy of Sciences, Mátrafüred, 1997* - előadás
11. **Varga Zsolt**, Bajza István, Lipták András: Mycobacteriális sejtfelszíni haptének előállítás; *MKE Vegyészkonferencia, Hajdúszoboszló, 2001* – poszter (P-92)

V.4. Konferencia előadások és poszterek egyéb témákban

1. Pelyvás F. István, László Pál, **Varga Zsolt**, Sztaricskai Ferenc: Pszeudodiszacharid típusú antibiotikumok szintézise; *VIII. Fermentációs Kollokvium, Hajdúszoboszló, 1992* – poszter (Összefoglaló 99. oldal)
2. **Varga Zsolt**, Pelyvás F. István, Sztaricskai Ferenc: Pszeudodiszacharid antibiotikum modellek szintézise; *MTA Antibiotikum-kémiai Munkabizottságának előadó ülése, Debrecen, 1993* – előadás
3. **Varga Zsolt**: Pszeudodiszacharid antibiotikum modellek szintézise; *XXI. Országos Tudományos Diákköri Konferencia, Nyíregyháza, 1993* – előadás

4. István F. Pelyvás, **Zsolt Varga**, Pál László, Ferenc Sztaricskai: Synthesis of pseudodisaccharide-type antibiotic models; VII. European Carbohydrate Symposium, Cracow, 1993 – poszter (Book of Abstracts A-115)
5. **Zsolt Varga**: Synthesis of pseudodisaccharide-type antibiotic models; *Scientific Meeting of Dutch and Hungarian PhD Students, Debrecen*, 1993 – előadás
6. **Varga Zsolt**: Pszeudodiszacharid antibiotikum modellek szintézise; *MKE Kémiai Előadói Napok XVI. Tudományos Szimpózium, Szeged, 1993* – előadás (Összefoglaló 17. oldal)
7. **Zsolt Varga**, István F. Pelyvás, Zoltán G. Tóth, Ferenc Sztaricskai: Synthesis of Pseudodisaccharide Antibiotic Models; *Annual Meeting of Carbohydrate Working Group of Hungarian Academy of Sciences, Debrecen, 1994* – előadás
8. Zoltán G. Tóth, István F. Pelyvás, Mária Mádi-Puskás, **Zsolt Varga**, Miklós Hornyák, Gyula Batta, Ferenc Sztaricskai: Synthesis of new aminoglycoside antibiotics from carbohydrates; *Annual Meeting of Carbohydrate Working Group of Hungarian Academy of Sciences, Debrecen, 1995* - előadás
9. István F. Pelyvás, Zoltán G. Tóth, Mária Mádi-Puskás, **Zsolt Varga**, Miklós Hornyák, Gyula Batta, Ferenc Sztaricskai: Synthesis of pseudodisaccharide-type antibiotic models; *VIII. European Carbohydrate Symposium, Seville, 1995* – poszter (Book of Abstracts A-152)
10. Heinz-Ulrich May, Berndt Werner, **Zsolt Varga**, Frieder W. Lichtenthaler: Hexopyranos-2-ulosyl bromides as versatile glycosyl donors for the construction of oligosaccharides containing β -D-mannose and β -D-mannosamine units; *XVIII. International Carbohydrate Symposium, Milano, 1996* – poszter (Book of Abstracts BP267)

11. Heinz-Ulrich May, Berndt Werner, **Zsolt Varga**, Frieder W. Lichtenthaler: Hexopyranos-2-ulosyl bromides as versatile glycosyl donors for the construction of oligosaccharides containing β -D-mannose and β -D-mannosamine units; *5th International Conference on Chemical Synthesis of Antibiotics, Debrecen, 1996* – poszter (Book of Abstracts P-32)

12. **Varga Zsolt**, Lipták András, Frieder W. Lichtenthaler: Az ulozil-bromid stratégia: β -D-mannopiranozid tartalmú oligoszacharidok szintézise; *MKE XIX. Kémiai Előadói Napok, Szerves, Gyógyszer- és Biokémiai Szimpózium, Szeged, 1996* – előadás (Összefoglaló 58-60. oldal)