



***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 blokszintézisek, 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

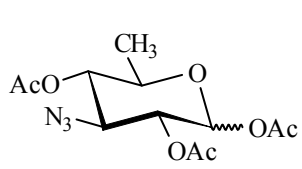
A dolgozatban *Mycobacterium avium* komplex 17-es szerovariáns (2*S*,3*S*)-nilinsavval acilezett pentaszacharidjának, továbbá a 12-es szerovariáns teljesen védett pentaszacharidjának szintézisét mutatjuk be.

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

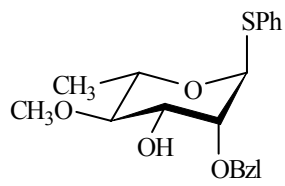
A terminális monoszacharid egység szintézisét D-glükózból kiindulva valósítottuk meg. A szintézis során két megoldandó feladatunk volt: a 3-as helyzetbe aminocsoport bevezetése illetve a 6-os helyzetű dezoxi funkció kialakítása. Az aminocsoport kialakítását azidon keresztül, míg a 6-os helyzet redukálását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

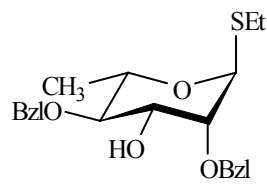
Az előállított monoszacharid egységekből elkészítettük a **4** triszacharidot, melyet az irodalomból ismert **5** diszacharidhoz kapcsolva kaptuk a **6** pentaszacharidot.



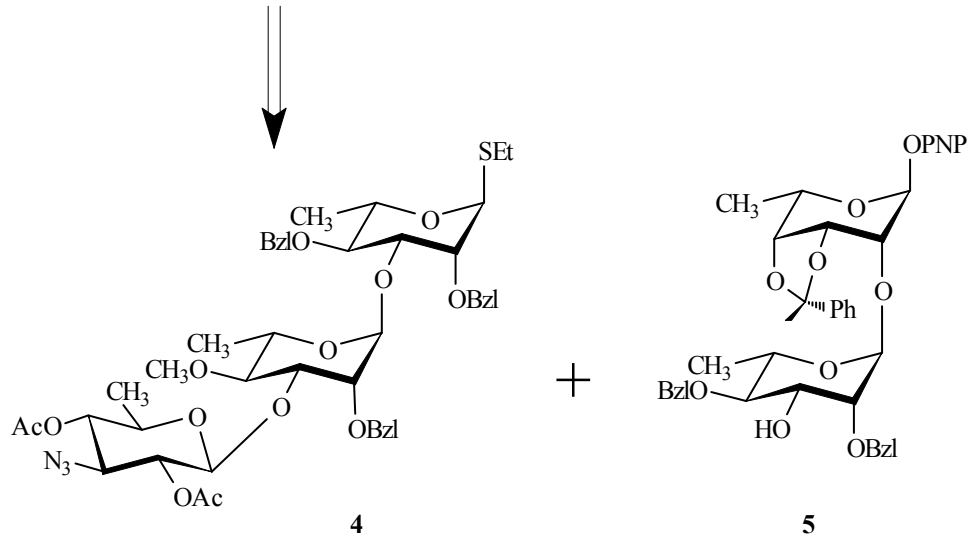
1



2

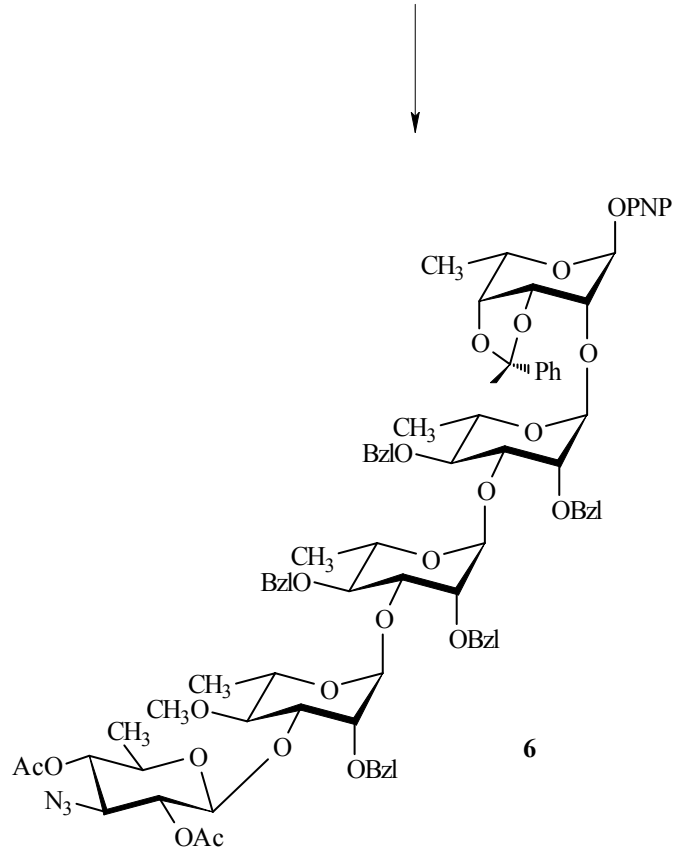


3



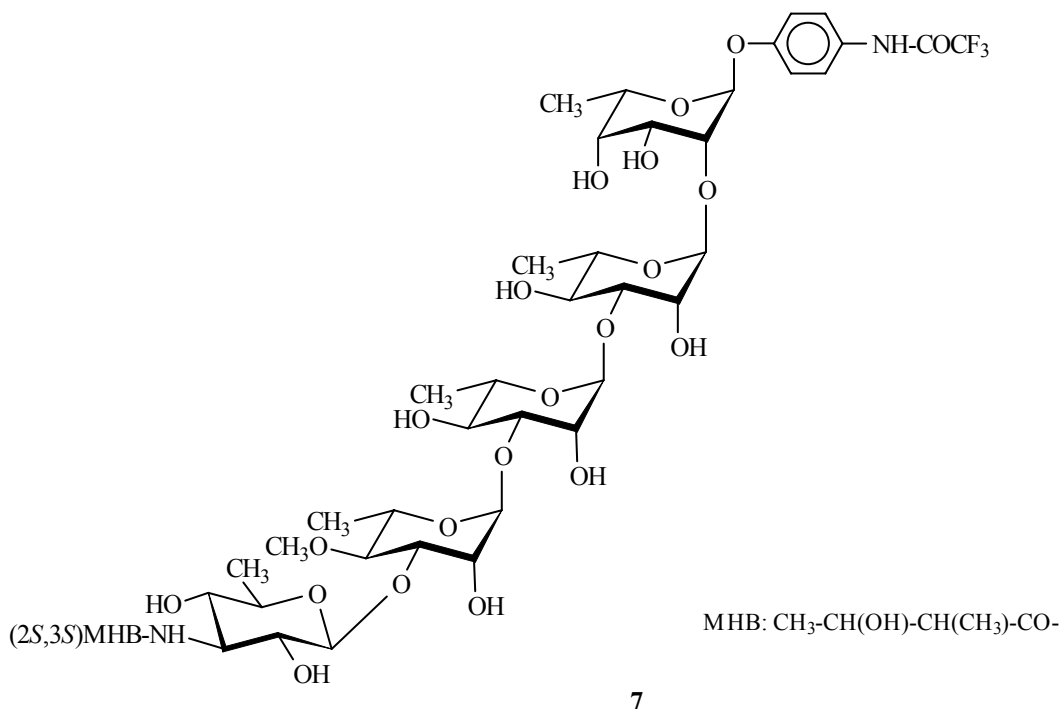
4

5



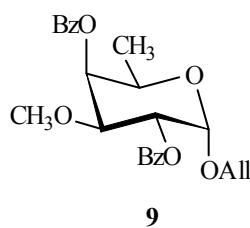
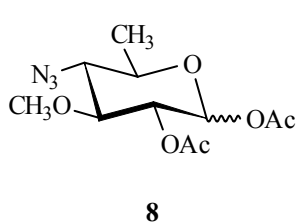
6

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

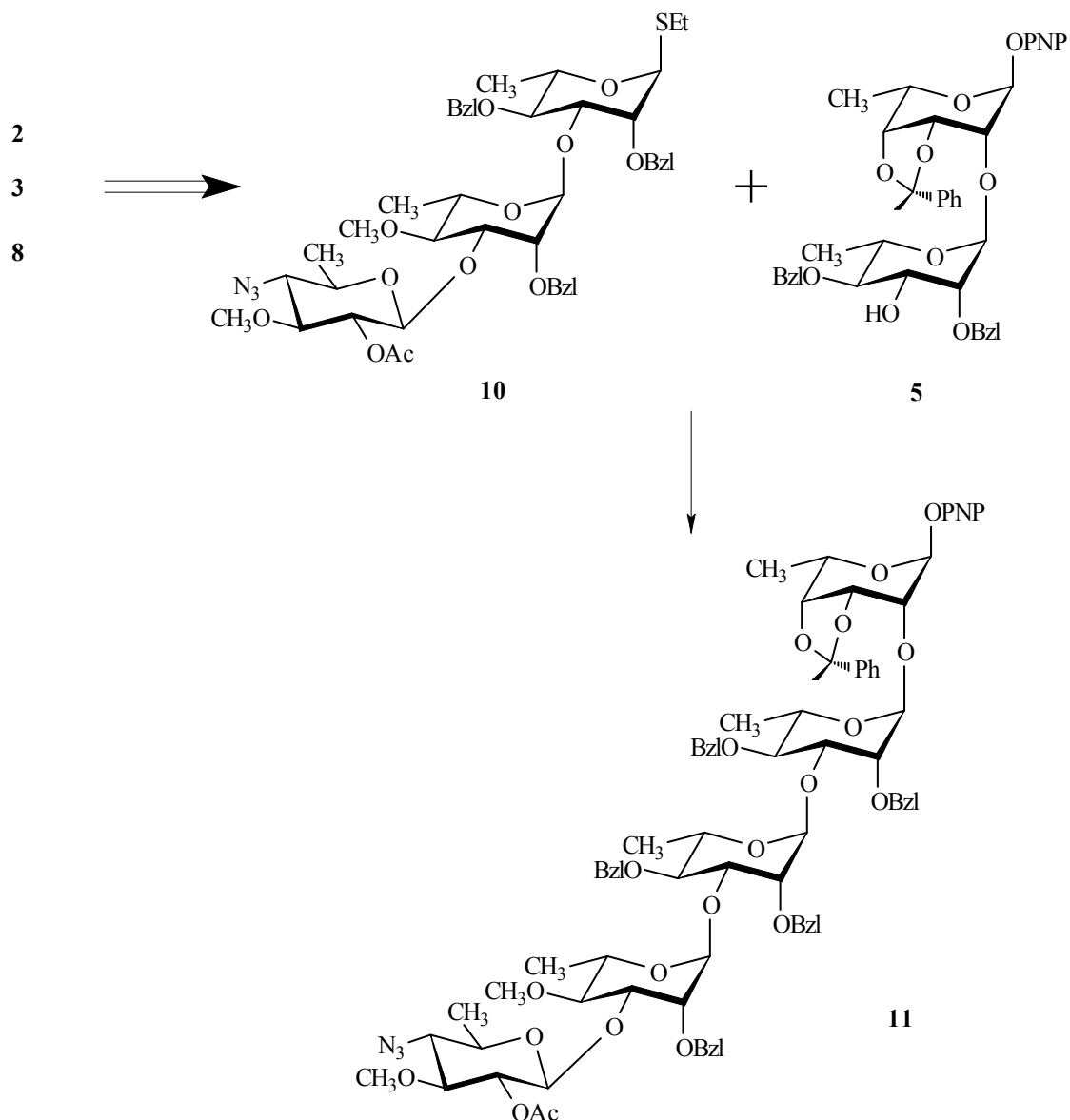


### ***III.1. A Mycobacterium avium komplex 12-es szerovariáns glikopeptidolipid antigénje pentaszacharid hapténjének előállítása***

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**

- 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***

- 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
- 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)
- 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.)
- 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)
- 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)
- 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  $\beta$ -D-mannose and  $\beta$ -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  $\beta$ -D-mannose and  $\beta$ -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:  $\beta$ -D-mannopiranozid tartalmú oligoszacharidok szintézise; *MKE XIX. Kémiai Előadói Napok, Szerves, Gyógyszer- és Biokémiai Szimpózium, Szeged, 1996* – előadás (Összefoglaló 58-60. oldal)