

Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei

ÚJ TÍPUSÚ GLÜKOPIRANOZILIDÉN-SPIRO-HETEROCIKLUSOK ÉS C-GLÜKOPIRANOZIL-1,2,4-TRIAZOLOK ELŐÁLLÍTÁSA

Szabó Erzsébet Katalin

Témavezető: Dr. Somsák László



DEBRECENI EGYETEM

Kémiai Tudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2018

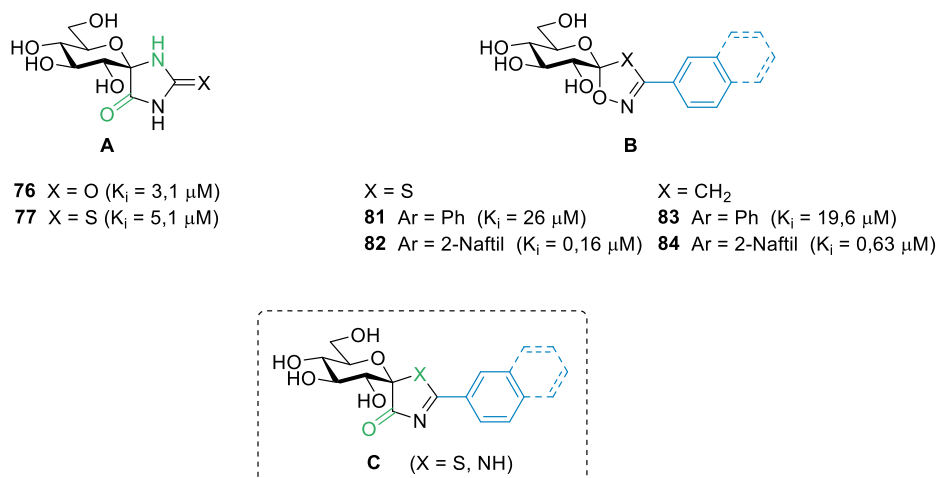
1. Az értekezés előzményei és célkitűzései

A cukorbetegség (*diabetes mellitus*) egy anyagcsere-rendellenesség, amely magas vércukorszintet eredményez (hiperglikémia). 2017-ben kb. 425 millióra becsülték a világon cukorbetegek számát, vagyis globális egészségügyi és gazdasági problémát jelent. A diabéteszes betegek száma több mint duplájára nőtt az elmúlt 20 év során, akik döntő többsége (kb. 90 %) a 2-es típusú betegségben szenved. A gyors terjedés mellett további aggasztó jelenség, hogy egyre fiatalabb korosztályt érint, akár már gyermek- vagy ifjúkorban kialakulhat a betegség. A kórosan magas vércukorszinttel járó állapot gyógyítására még nem képes az orvostudomány, a gyógyszeres kezelése során antidiabetikumokkal próbálják normál értékek között tartani a vér glükóz koncentrációját. Ugyanakkor a rendelkezésre álló hipoglikémiás szerek sokszor nem elég hatásosak, valamint számos mellékhatással járnak, ezáltal fontos az új terápiás lehetőségek kutatása a hatékonyabb kezelések kifejlesztése érdekében. A vércukorszint normál értéken tartása megvalósítható a glükózanyagcsere enzimeinek befolyásolásával, így egy terápiás lehetőség lehet, ha gátoljuk a májban a glikogén lebontását katalizáló glikogén foszforiláz (GP) enzimet.

Kutatócsoportunkban már több, mint 20 éve folynak kutatások a GP katalitikus helyéhez kötődő glükózanalog inhibitorok előállításának területén. Többféle vegyületcsalád tagjai is hatásos gátlószerek bizonyultak: *N*-acil-*N'*-glikozil-karbamidok, *C*- β -D-glükopiranozil-heterociklusok, glükopiranozilidén-spiro-heterociklusok. Doktori kutatásaimat az utóbbi két területen végeztem, amelyek új, öttagú spiro-heterociklust tartalmazó glükopiranozilidén származékok és *C*-glükozil-1,2,4-triazolok szintézisét célozták meg.

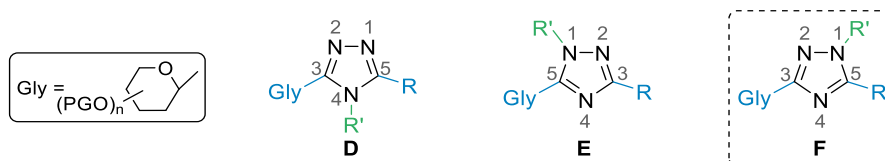
A glükopiranozilidén-spiro-hidantoin (1. ábra, **A**, X = O) illetve tiohidantoin (**A**, X = S) esetében kimutatták, hogy az erős kötődés az α -helyzetű karbonil csoportnak, illetve a β -NH csoport H-kötés donor tulajdonságának köszönhető. A glükopiranozilidén-spiro-oxatiazolinok (**B**, X = S) és izoxazolinok (**B**, X = CH₂) esetében a 2-naftil szubsztituált vegyületek egy nagyságrenddel jobb gátlási állandóval rendelkeznek. A szubmikromólos K_i a merev spirobicyklusos szerkezetnek és a nagyméretű aromás csoport jelenlétének tulajdonítható, ez utóbbi az enzim β -csatornájával tud kölcsönhatásokat kialakítani. Ezen szerkezet-hatás összefüggések alapján a fenti inhibitorok előnyös tulajdonságait egyesítve terveztük a vegyületek továbbfejlesztését. A célmolekulák (**C**) tehát tartalmazzanak α -helyzetben karbonil csoportot és közvetlenül a spirociklushoz kapcsolódóan nagy térkitöltésű aromás szubsztituenset. Vizsgálni kívántuk továbbá az X csoport szerepét, abban az esetben, ha a

heterociklus H-kötés donor NH-t, illetve hidrogénkötés kialakítására nem képes S atomot tartalmaz ebben a pozícióban.



1. ábra: Ismert spirociklusos GP inhibitorok (**A**, **B**) és gátlási állandók (RMGPb), valamint a célmolekulák szerkezete (**C**)

A kutatócsoportunkban korábban diszubsztituált C-glikozil-1,2,4-triazolok előállítására dolgoztak ki módszereket, mely vizsgálatokhoz kapcsolódva trisubsztituált 1,2,4-triazolok szintézis lehetőségeit is tanulmányozni kívántuk. A háromféle izomer szerkezet közül (2. ábra) a 3-glikozil-4,5-diszubsztituált triazol (**D**) és az 5-glikozil-1,3-diszubsztituált triazol (**E**) esetében sikerült korábban szintézis módszert kidolgozni. Ennélfogva célul tűztük ki a harmadik regioizomer, a 3-β-D-glükopiranozil-1,5-diszubsztituált-1,2,4-triazolok (**F**) előállítását.



2. ábra: Trisubsztituált C-glikozil 1,2,4-triazolok lehetséges izomer szerkezetei

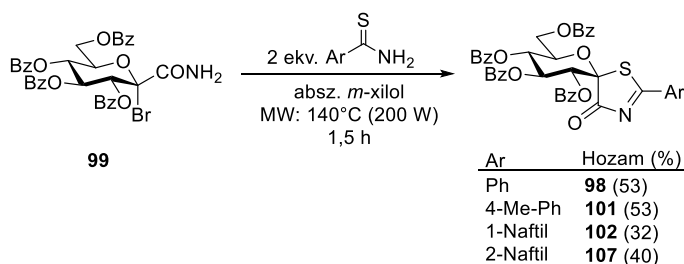
2. Az alkalmazott vizsgálati módszerek

Kísérleti munkánk során a modern szerves kémia makro-, félmikro- és mikro-módszereit alkalmaztuk. Vékonyréteg-kromatográfia által követtük a reakciókat és ellenőriztük az anyagok tisztaságát. Az előállított vegyületeket oszlopkromatográfiával és/vagy kristályosítással tisztítottuk. Az új vegyületek jellemzésére, azonosítására és szerkezetük igazolására klasszikus analitikai eljárásokat (olvadáspont, forgatóképesség, elemanalízis), egy- és kétdimenziós NMR spektroszkópiás módszereket, illetve tömegspektrometriát alkalmaztunk.

3. Új tudományos eredmények

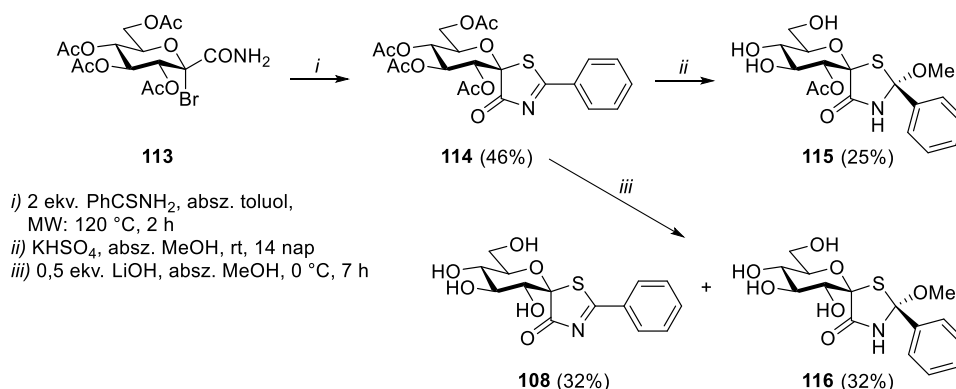
3.1. Módszert dolgoztunk ki *O*-acil védett (1'*R*)-1',5'-anhidro-D-glucitol-spiro-[1',5]-2-ariltiazolin-4-onok előállítására. A védőcsoportok eltávolítására irányuló kísérletek során új alkohol-, illetve vízáddíciós termékeket fedeztünk fel.

A C-(2,3,4,6-tetra-*O*-benzoil-1-brom-1-dezoxi-β-D-glükopiranozil)formamidot (**99**) aromás tioamidokkal magas hőmérsékleten, inert oldószerben reagáltatva glükopiranozilidén-spiro-tiazolinon (**98**, **101**, **102**, **107**) származékokat állítottunk elő (3. ábra). Elvégeztük a reakciókörülmények optimalizálását, és a klasszikus, olajfürdővel történő melegítés helyett mikrohullámú technikát alkalmazva a reakcióidő jelentősen lerövidült, valamint a hozamok is javultak (pl. a **98** tiazolinon esetében 33%-ról 53%-ra). Az anomer centrum konfigurációjának bizonyítása háromkötéses csatolási állandó mérésével történt (a **98** származéknál a $^3J_{H_2,CO} = 6,0$ Hz).



3. ábra: Perbenzoilezett 2-aril-glükopiranozilidén-spiro-tiazolin-4-onok szintézise

A benzoil védőcsoportok eltávolítását többféle módszerrel is megkíséreltük, ám a kívánt védetlen spiro-tiazolinont (**108**) nem sikerült előállítanunk. Mivel a debenzoilezésre alkalmas körülmények száma csekély, így a könnyebben eltávolítható acetil védőcsoportok felé fordultunk. Kísérleteket végeztünk a **114** vegyület dezacetilezésére és ekkor már két esetben tudtunk egységes terméket izolálni (4. ábra). A KHSO₄-os kezelés a **115** monoacetilezett származékot eredményezte, amelynél a tiazolinon gyűrű C=N kötéseire egy metanol molekula addíciója játszódott le. Lítium-hidroxidot alkalmazva teljes dezacetilezés történt és képződött a várt **108** termék, de csupán 1:1 arányú keverék formájában tudtuk izolálni az alkohol addícióval létrejövő **116** tiazolidinon származékkal együtt.



4. ábra: (1'*R*)-2',3',4',6'-Tetra-*O*-acetil-1',5'-anhidro-*D*-glucitol-spiro-[1',5]-2-feniltiazolin-4-on szintézise és dezacetilezési kísérletek

A továbbiakban megvizsgáltuk a C=N kötésre történő addíció jelenségét a védett spiro-tiazolinonokon (**98**, **114**) MeOH és EtOH esetében (1. táblázat, 1-4. sor). Egy főtermék sztereoizomer addukt (**117-120**) képződését figyeltük meg minden esetben, annak ellenére, hogy a planáris tioazolinon gyűrű mindkét oldaláról megtörténhet az alkohol nukleofil támadása. A jelenség magyarázata lehet a 2'-OAc ill. 2'-OBz csoportok szterikus gátlása, hiszen emiatt az addíció az ellentétes oldal irányából kedvezőbb lehet. Ha az oldószerként alkalmazott alkoholt enyhe melegítéssel (**117**: 80 °C, **119**: 60 °C) eltávolítottuk, visszanyertük a kiindulási spiro-tiazolinont, tehát az átalakulás feltételezhetően egyensúlyi folyamat. Nukleofilként vizet alkalmazva is elvégeztük a kísérletet (5. sor), ekkor az addíció nem játszódott le teljesen, így a **114** és **121** vegyületek keverékét kaptuk.

1. táblázat: Alkohol- és vízaddíciók a **98** és **114** spiro-tiazolinonokra

98 (R = Bz) 114 (R = Ac) 117-121			
Sor	Kiindulási vegyület	R' csoport	Termék
1.	98	Me	117
2.		Et	118
3.	114	Me	119
4.		Et	120
5.		H	121 ^a

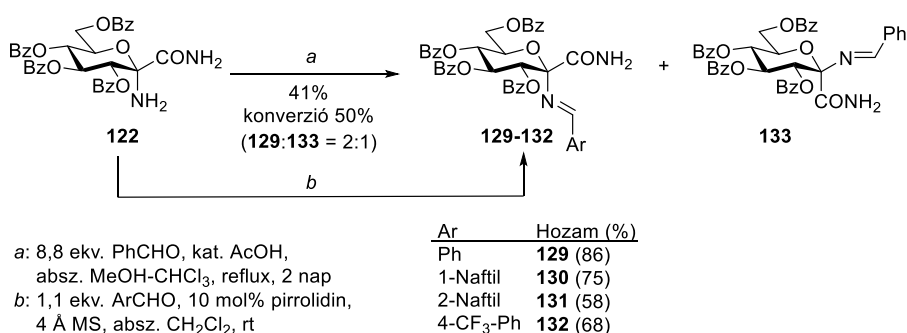
^aRészleges addíció játszódott le (**114**:**121** ~ 1:0,4 toluol-víz rendszer esetén; **114**:**121** ~ 1:0,7 dioxán-víz rendszerben), ¹H NMR alapján meghatározva az arány.

A **115-121** addíciós termékek esetében a C-2 abszolút konfigurációjának megállapítására NMR módszer nem állt rendelkezésünkre, így ECD mérések és TDDFT-ECD

számolások segítségével tudtuk azonosítani a képződött főtermékek pontos térszerkezetét. Ezen vizsgálatok elvégzésében Király Sándor Balázs, Mándi Attila és Kurtán Tibor nyújtott segítséget. A C-2 aszimmetriacentrum mellett a **114** vegyület C-1' spiro szénatomjának konfigurációját is meghatározták, amely alátámasztotta a korábbi HSQMBC mérés eredményét, miszerint a spirociklus karbonil csoportja α -térállású.

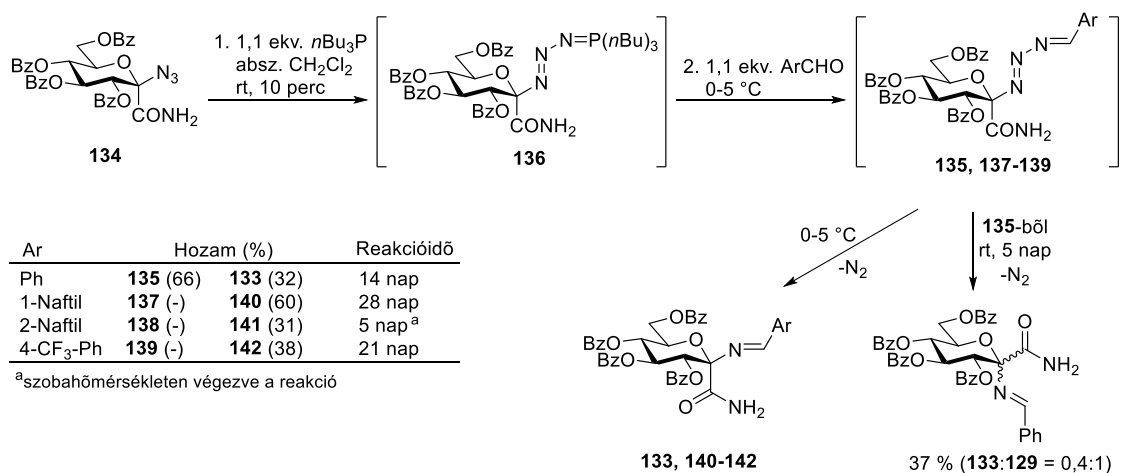
3.2. Sikeresen szintetizáltunk C-(1-arilidénamino-2,3,4,6-tetra-O-benzoil-1-dezoxi-D-glükopiranozil)formamidokat mindkét anomer konfigurációban, és ezekből új gyűrűzárási eljárást dolgoztunk ki (1'S)- illetve (1'R)-1',5'-anhidro-D-glucitol-spiro-[1',5]-2-aril-imidazolin-4-onok előállítására.

C-(1-Amino-2,3,4,6-tetra-O-benzoil-1-dezoxi- β -D-glükopiranozil)formamidot (**122**) savkatalizált kondenzációs reakcióban benzaldehiddel reagáltatva a megfelelő Schiff-bázisok (**129**, **133**) anomer keveréke képződött (5. ábra *a* módszer). Mivel a vegyületeket azonos kromatográfiás mozgékonyosságuk folytán nem tudtuk egymástól elválasztani, elvégeztük az átalakítást aminokatalitikus úton is (5. ábra *b* módszer), és ekkor konfigurációváltozás nélkül, jó hozamokkal képződtek a várt **129-132** arilidénamino-amidok.



5. ábra: C-(1-Amino-2,3,4,6-tetra-O-benzoil-1-dezoxi- β -D-glükopiranozil)formamid átalakítása a megfelelő arilidénamino-származékokká

Az epimer Schiff-bázis szintézisét C-(1-azido-2,3,4,6-tetra-O-benzoil-1-dezoxi- α -D-glükopiranozil)formamidból (**134**) kiindulva aza-Wittig reakcióval terveztük megvalósítani (6. ábra). Az átalakítás során a foszfazid (**136**) közttermékből a N₂ kihasadása nem történt meg, így második lépésben triazén származékok (**135-139**) keletkezését tapasztaltuk. Ezen vegyületek instabilnak bizonyultak (oldatban és oszlopkromatográfia során), így a szerkezetazonosítás céljából csupán a fenil szubsztituált molekulát (**135**) izoláltuk. Szobahőmérsékleten a nitrogénvesztést anomerizáció kísérte, ám alacsonyabb hőmérsékleten tartva (0-5 °C) a reakcióelegyet, már anomertiszta formában nyertük a **133**, **140-142** imineket.



6. ábra: C-(1-azido-2,3,4,6-tetra-O-benzoil-1-dezoxi- α -D-glükopiranozil)formamid átalakulása aza-Wittig körülmények közt

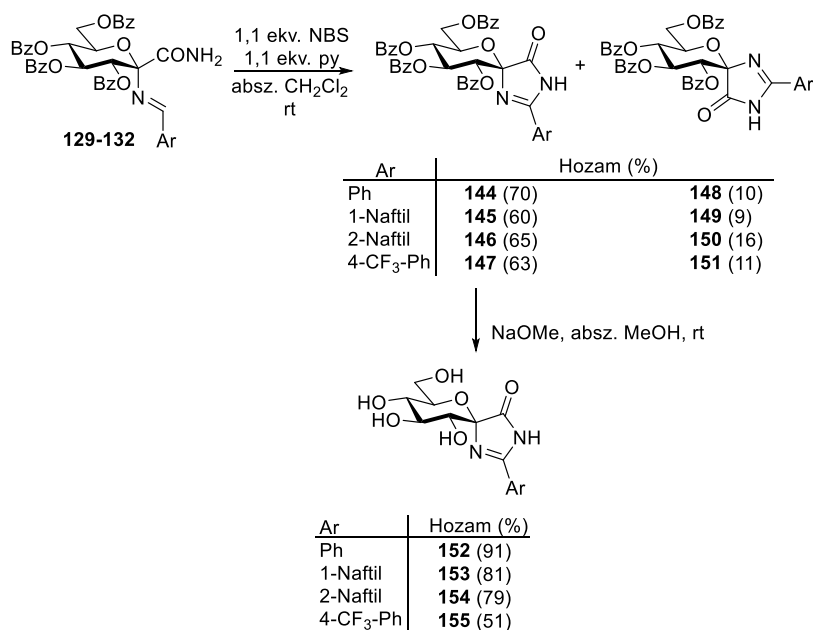
A gyűrűzárás kiváltására többféle módszert is kipróbáltunk a **129** iminből kiindulva (2. táblázat). Magas hőmérsékleten semleges közegben, illetve szobahőmérsékleten Lewis-sav hatására egy nem várt biciklusos oxazolin (**143**) képződött alacsony hozammal. Bázisos közegben bomlást tapasztaltunk. A célzott spiro-imidazolinont (**144**) NBS-sel történő aktiválás útján tudtuk előállítani. Az átalakítás során felszabaduló HBr megkötésére a reakcióelegyhez bázist adtunk, s így a hozam jelentősen javult (vö. az 2. táblázat 5-7. sorait). Ez a módszer az irodalomban eddig nem volt ismert hasonló gyűrűk előállítására. A gyűrűzárás folyamatának pontosabb megismerése érdekében ^1H NMR mérésekkel követtük a reakciót és javaslatot tettünk az átalakulás mechanizmusára. Megvizsgáltuk a **143** oxazolin gyűrűs vegyület képződését a **129**, **133** és **122** vegyületekből.

2. táblázat: C-(2,3,4,6-Tetra-O-benzoil-1-benzilidénamino-1-dezoxi- β -D-glükopiranozil)formamid gyűrűzárási kísérletei

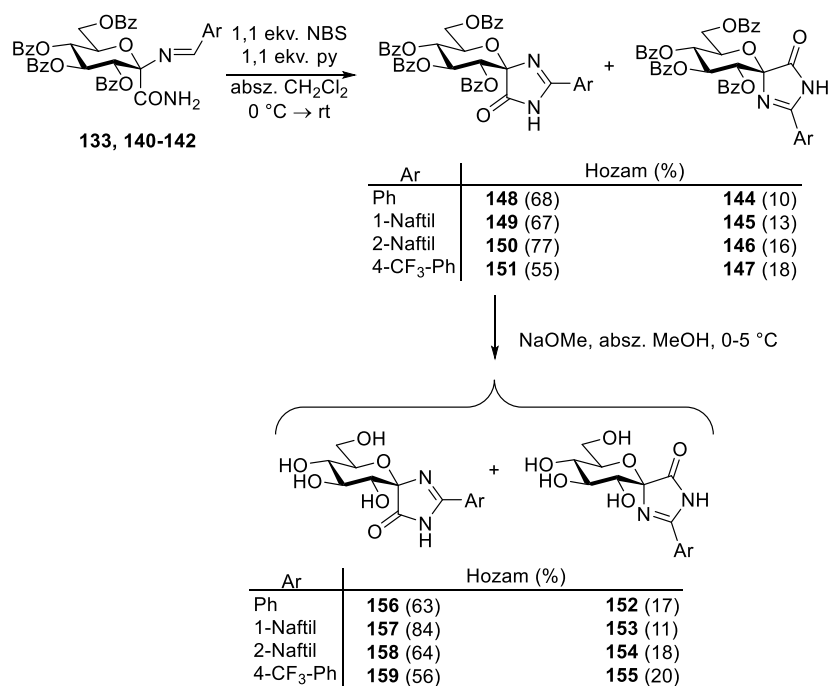
Sor	Reakciókörülmények	Tapasztalat
1.	DMF, 160°C , MW, 30 perc	143 (24 %)
2.	<i>m</i> -xilol, reflux, 3 nap	143 (17 %)
3.	20 mol% $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, CH_2Cl_2 , rt, 3 nap	143 (25 %)
4.	piridin, reflux, 2 nap	Bomlás
5.	NBS (1,1 ekv.), CH_2Cl_2 , rt, 2 nap	144 (41 %)
6.	NBS (1,1 ekv.), K_2CO_3 , CH_2Cl_2 , rt, 2 nap	144 (60 %)
7.	NBS, piridin (1,1 – 1,1 ekv.), CH_2Cl_2 , rt, 2 nap	144 (71 %)
Megfigyelt melléktermék:		

A rendelkezésre álló imin-származékokból (**129-133**, **140-142**) NBS/piridines kezeléssel jó hozamokkal állítottuk elő a spiro-imidazolinonokat (**144-151**, 7. és 8. ábra). Ugyanakkor a reakciók során anomertiszta kiindulási iminből is tapasztaltuk a spiro-epimer heterociklusok képződését, bár csekély mennyiségben. A **133**, **140-142** iminek gyűrűzárásakor szobahőmérsékleten jelentős mértékű anomerizációt figyeltünk meg. Az anomertiszta **133** benzilidénamino-formamidból kiindulva szobahőmérsékleten a várt **148** imidazolinon 43 %-kal, míg a **144** epimer 32 %-kal képződött. A reakciót megismételve jeges hűtés mellett az anomerizáció nagymértékben lecsökkent (**148** 68 % és **144** 10 %), így a további szubsztituensek esetében már ezen a hőmérsékleten végeztük a gyűrűzárást (**148-151**, 8. ábra). Utolsó lépésben a védőcsoportok eltávolítása Zemplén körülmények között történt, s jó hozamokkal kaptuk a védetlen **152-159** glükopiranozilidén-spiro-imidazolinonokat. A termékek elválasztását oszlopkromatográfiás tisztítással lehetett megvalósítani mindkét lépés során.

A védett származékok anomer konfigurációjának igazolására háromkötéses csatolási állandók meghatározása történt (**129**: $^3J_{H_2,CO} = 2,3$ Hz; **133**: $^3J_{H_2,CO} = 5,4$ Hz; **144**: $^3J_{H_2,CO} = 2,8$ Hz; **148**: $^3J_{H_2,CO} = 5,5$ Hz).



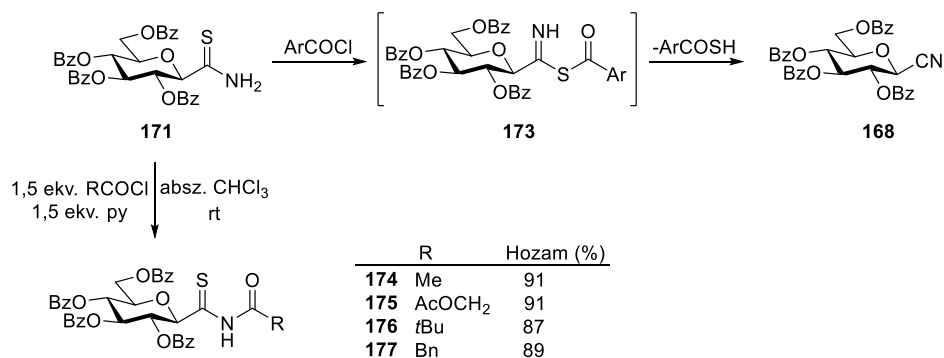
7. ábra: Az (1'*R*)-1',5'-anhidro-D-glucitol-spiro-[1',5]-2-aril-imidazolin-4-onok szintézise



8. ábra: Az (1'S)-1',5'-anhidro-D-glucitol-spiro-[1',5]-2-aryl-imidazolin-4-onok szintézise

3.3. Módszert dolgoztunk ki 3-β-D-glükopiranozil-1,5-diszubsztituált-1,2,4-triazolok szintézisére, és új 5-aryl-3-(β-D-glükopiranozil)-1,2,4-triazolok előállítását valósítottuk meg.

Kutatócsoportunkban C-glikozil-1,2,4-triazolok előállítása érdekében kiterjedt vizsgálatokat végeztek, melyhez kapcsolódva az én feladatomban a 3-β-D-glükopiranozil-1,5-diszubsztituált-1,2,4-triazolok szintézise volt. C-(2,3,4,6-tetra-O-benzoil-β-D-glükopiranozil)tioformamid (**171**) N-acilezését alifás savkloridokkal elvégezve kiváló hozamokkal tudtuk előállítani az N-acil-tioamid prekursorokat (9. ábra, **174-177**). Ezzel szemben aromás savkloridok esetén glikozil-cianid (**168**) képződését figyeltük meg. A jelenség magyarázata lehet, ha az első lépésben S-acilezett származék (**173**) képződik, melyből spontán tiosav elimináció vezet a megfigyelt **168** nitrilhez.



9. ábra: C-(2,3,4,6-Tetra-O-benzoil-β-D-glükopiranozil)tioformamid acilezési reakciói

A **174-177** származékokat hidrazinnal és szubsztituált hidrazinokkal reagáltatva jó hozamokkal kaptuk az 1,2,4-triazolokat (**178-190**, 3. táblázat). Az észter védőcsoportok Zemplén körülmények szerinti eltávolításával jutottunk a védetlen triazolokhoz (**191-199**).

3. táblázat: 3-β-D-Glükopiranozil-1,5-diszubsztituált-1,2,4-triazolok előállítása

Sor	Kiindulási vegyület	R	R'	Hozam (%)	
				R'' = Bz	R'' = H
1.	174	CH ₃	H	178^a (55)	-
2.			Ph	179 (67)	191 (70)
3.			C ₂ H ₄ OH	180 (70)	192 (72)
4.			Ts	181^a (63)	-
5.	175	AcOCH ₂	H	182^a (92)	-
6.			Ph	183 (70)	193 (84) R = CH ₂ OH
7.			C ₂ H ₄ OH	184 (65) R = CH ₂ OH	194 (62) R = CH ₂ OH
8.	176	<i>t</i> Bu	H	185^a (79)	-
9.			Ph	186 (66)	195 (50)
10.			C ₂ H ₄ OH	187 (65)	196 (65)
11.	177	Bn	H	188 (75)	197 (45)
12.			Ph	189 (71)	198 (70)
13.			C ₂ H ₄ OH	190 (90)	199 (51)

^a Kutatócsoportunkban (*N*¹-tozil-*C*-(2,3,4,6-tetra-*O*-benzoil-β-D-glükopiranozil) formamidrazon és a megfelelő savklorid reakciójával korábban már előállított vegyület.

Szubsztituált hidrazinok esetében csak egy regioizomer triazol képződött a gyűrűzárásokkor, köszönhetően a C=S és C=O csoportok eltérő reaktivitásának. A szerkezet igazolására a **191** vegyület esetében NOE mérést végeztünk (10. ábra), ami alapján a metilprotonok és a fenilcsoport térbeli közelségét állapítottuk meg, vagyis a **191a** szerkezet alakult ki a reakció során.



10. ábra: A **191** 1,2,4-triazol lehetséges regioizomer szerkezetei

A kidolgozott módszerrel jó hozammal lehet szintetizálni az irodalomban eddig ismeretlen C-glikozil di- és triszubsztituált 1,2,4-triazolokat, egyetlen hátránya, hogy az 5-ös pozícióban aromás csoportot ezen az úton nem lehet kialakítani.

Már ismert eljárás szerint sikerült előállítanunk új, a korábbi szintézisutakon nem hozzáférhető, diszubsztituált 1,2,4-triazol származékokat is (**210-212**), amelyek a szerkezet-hatás összefüggések tanulmányozása szempontjából érdekes vegyületek. A megfelelő anhidroaldonsav származékokat (**200**, **202**) a **201** és **203** savkloridokká alakítottuk, majd a következő lépésben aromás tioamidokkal reagáltatva jó hozamokkal képződtek a **204-206** N-glükopiranozilkarbonil-tiokarboxamidok. A kívánt 1,2,4-triazol gyűrű kialakítása hidrazin-hidrát segítségével történt. A **207** benzoil-védett vegyületet izoláltuk, míg a **208**, **209** molekulák védőcsoportjait feleslegben alkalmazott hidrazinnal 'one-pot' eljárásban távolítottuk el, s így jutottunk a védetlen 5-aryl-3-(2'-amino-2'-deoxi-β-D-glükopiranozil)-1,2,4-triazolokhoz (**211**, **212**). A **207** származék debenzoilezését NaOMe alkalmazásával végeztük el és kiváló hozammal nyertük a **210** triazolt.

4. táblázat: 5-Aril-3-(β-D-glükopiranozil)-1,2,4-triazolok előállítása

$R' = \text{Bz}$ 200 $X = \text{OH}$ $\xleftarrow{a}$ $R'' = \text{OBz}$ 201 $X = \text{Cl}$ $R' = \text{Ac}$ 202 $X = \text{OH}$ $\xleftarrow{a}$ $R'' = \text{NPh}$ 203 $X = \text{Cl}$ 204-206 $\xrightarrow{c}$ 207-209 $\downarrow d \text{ vagy } e$ 210-212 a) SOCl_2, reflux; b) 1,5 ekv. ArCSNH_2, 1,5 ekv. py, absz. CH_3CN; c) 1,2 ekv. $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$; d) kat. NaOMe, MeOH; e) 20 ekv. $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, reflux					
Sor	Termék	Ar	R'	R''	Hozam (%)
1.	204	1-Naftil	Bz	OBz	71
2.	205	Ph	Ac	NPh	82
3.	206	2-Naftil	Ac	NPh	74
4.	207	1-Naftil	Bz	OBz	70
5.	208	Ph	Ac	NPh	-
6.	209	2-Naftil	Ac	NPh	-
7.	210*	1-Naftil	-	OH	90
8.	211*	Ph	-	NH_2	40
9.	212*	2-Naftil	-	NH_2	68

*A **210** vegyület a d) módszerrel előállítva; a **211**, **212** vegyületek védőcsoportjai az e) módszer szerint eltávolítva.

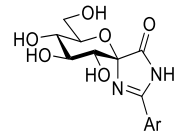
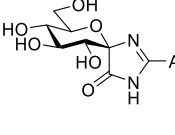
4. Enzimkinetikai vizsgálatok és a szerkezet–hatás összefüggések kibővítése

Az előállított védetlen vegyületek glikogén foszforiláz gátló tulajdonságait a Debreceni Egyetem Orvosi Vegytani Intézetében és a Thessaly Egyetem Biokémiai és Biotechnológiai Tanszékén (Biopolis, 41500 Larissa, Görögország) vizsgálták. Az enzimkinetikai mérések során a nyúl vázizomból izolált glikogén foszforiláz (RMGP) *a* és *b* formáját valamint a rekombináns emberi máj glikogén foszforiláz *a* (HLGPa) enzimet alkalmazták.

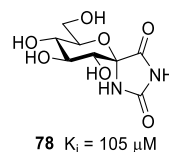
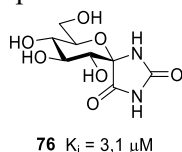
A glükopiranozilidén-spiro-tiazolinonok esetében nem tudtuk elvégezni a célul kitűzött glikogén foszforiláz enzimmel szembeni gátló hatás vizsgálatát. A védetlen spiro-tiazolinon származékot (**108**) csupán keverék formájában tudtuk izolálni a metanol addíció révén keletkező **116** molekulával együtt. Továbbá az enzimkinetikai mérések vizes közegében vízaddíció is történhet a tiazolinon gyűrű C=N kötésére, így nem kíséreltük meg a keverék tesztelését az enzimmel szemben.

A spiro-imidazolinonok gátlási állandóit az 5. táblázatban foglaltam össze. Az (1'R)-1',5'-anhidro-D-glucitol-spiro-[1',5]-2-aryl-imidazolin-4-onok (**152-155**) nem gátolták az enzimet vagy csak gyenge inhibitoroknak bizonyultak.

5. táblázat: Az 1',5'-anhidro-D-glucitol-spiro-[1',5]-2-aryl-imidazolin-4-onok gátló hatásai

Szerkezet	K _i (μM)			
	Ar	RMGP _b	RMGP _a	HLGPa
	Ph 152	135,5	34,17 ± 0,63	119,11 ± 6,15
	1-Naftil 153	nem gátol (625 μM)	653,78 ± 18,08	1173,67 ± 36,92
	2-Naftil 154	25 % (625 μM)	212,39 ± 15,94	370,79 ± 14,47
	4-CF ₃ -Ph 155	nem gátol (625 μM)	-	-
	Ph 156	8,97	4,45 ± 0,27	8,43 ± 0,41
	1-Naftil 157	12,98	6,64 ± 0,17	22,24 ± 0,90
	2-Naftil 158	2,14	1,13 ± 0,06	1,72 ± 0,07
	4-CF ₃ -Ph 159	nem gátol (625 μM)	-	-

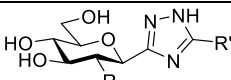
Korábban előállított spiro-hidantoinok gátlási állandói RMGP_b-vel szemben:



Feltehetően a karbonil-csoport β -állása kedvezőtlen az enzim aktív centrumához való kötődés szempontjából, és az aromás szubsztituens β -csatornába történő illeszkedése sem valósul meg ebben a konfigurációban. Hasonló jelenséget tapasztaltak a spiro-hidantoinok analóg anomerjeinek (**76**, **78**) a vizsgálatok során is. A **156-158** (1'S)-1',5'-anhidro-D-glucitol-spiro-[1',5]-2-aril-imidazolin-4-onok hatásos inhibitoroknak tekinthetők, bár a várakozásainkkal ellentétben nem érték el kiemelkedő gátló hatást. Röntgenkristallográfiai vizsgálatok még nem állnak rendelkezésre, de elképzelhető, hogy az imidazolinon gyűrű nem a megfelelő tautomer formában van jelen ahhoz, hogy a heterociklusbeli NH és az aktív centrum His377 oldallánca között hidrogénkötés alakulhasson ki.

A 3- β -D-glükopiranozil-1,5-diszubsztituált-1,2,4-triazolok (**191-199**) nem mutattak gátlást 625 μ M koncentrációig. A korábban tesztelt jó gátló tulajdonságú diszubsztituált 1,2,4-triazolokkal összevetve a további szubsztituens jelenléte hátrányosan befolyásolta a kötődést. Ekkor a heterociklus már nem H-kötés donor, így nem alakulhat ki H-híd az enzimmel, valamint az új szubsztituens kedvezőtlen térhelyzete is gátolhatja a szoros kötődést. A **210-212** diszubsztituált 1,2,4-triazol szerkezetek gátolták a GP enzimet, bár nem kiemelkedő mértékben. A 2'-aminocsoportot tartalmazó glükóz származékok (**211**, **212**) egy nagyságrenddel nagyobb inhibíciós állandóval rendelkeznek az analóg glükopiranozil (**67**, **68**) vegyületekhez képest. Az enzim aminosav oldalláncaival kialakuló gyengébb hidrogénkötésnek köszönhető a gyengébb kötődés (az N-H $\cdots$ X hidrogénkötés gyengébb az O-H $\cdots$ X kötésekhez képest).

6. táblázat: C-glükopiranozil-1,2,4-triazolok gátlási állandói

Szerkezet			K_i (μ M)		
					
Sorszám	R	R'	RMGP _b	RMGP _a	HLGP _a
210	OH	1-Naftil	11,50 ± 0,23	3,38 ± 0,28	8,91 ± 0,44
211	NH ₂	Ph	35,2 ± 2,6	30,2 ± 2,2	30,8 ± 1,2
212	NH ₂	2-Naftil	4,8 ± 0,35	5,3 ± 0,4	7,6 ± 0,1
67*	OH	Ph	7	-	1,35
68*	OH	2-Naftil	0.41	-	0.172

*Korábban előállított vegyületek.

5. Az eredmények alkalmazási lehetőségei

Kutatómunkám keretében potenciális GP inhibítorként viselkedő vegyületek előállítását végeztem el. Az RMGPb enzimmel szemben gátló hatást mutató származékok további biológiai vizsgálatokat követően a kettes típusú cukorbetegség terápiás kezelésében lehetnek alkalmazhatók. Emellett egyéb glikogén metabolizmussal összefüggő betegségek esetében is felhasználást nyerhetnek (kardioprotektív, tumorelles hatás). A legújabb kutatások szerint a vesében található 2-es típusú nátriumfüggő glükóz kotranszporter (SGLT2) fehérje gátlásával is csökkenthető a vércukorszint. Az eddig engedélyezett gyógyszerhatóanyagok diárilmetán C-glikozid származékok, mely vegyületek módosításával további hatásos SGLT2 inhibítorok kifejlesztése lehetséges. A 3- β -D-glükopiranozil-1,5-diszubsztituált-1,2,4-triazolok előállítására kidolgozott szintézismódszer ezen a területen is alkalmazható reakcióutat jelenthet.



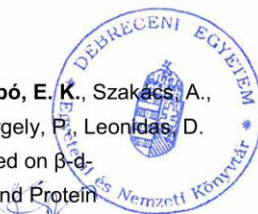
Nyilvántartási szám: DEENK/256/2018.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Szabó Erzsébet Katalin
Neptun kód: DMYXIS
Doktori Iskola: Kémiai Tudományok Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10047486

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

Idegen nyelvű tudományos közlemények külföldi folyóiratban (4)

1. Kun, S., Begum, J., Kyriakis, E., Stamati, E. C. V., Barkas, T. A., Szennyés, E., Bokor, É., **Szabó, E. K.**, Stravodimos, G. A., Sipos, Á., Docsa, T., Gergely, P., Moffatt, C., Patraskaki, M. S., Kokolaki, M. C., Gkerdi, A., Skamnaki, V. T., Leonidas, D. D., Somsák, L., Hayes, J. M.: A multidisciplinary study of 3-(β -D-glucopyranosyl)-5-substituted-1,2,4-triazole derivatives as glycogen phosphorylase inhibitors: computation, synthesis, crystallography and kinetics reveal new potent inhibitors.
Eur. J. Med. Chem. 147, 266-278, 2018. ISSN: 0223-5234.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.01.095>
IF: 4.519 (2016)
2. **Szabó, E. K.**, Páhi, A., Somsák, L.: C-Glycosyl 1,2,4-triazoles: Synthesis of the 3- β -d-glucopyranosyl-1,5-disubstituted and 5- β -d-glucopyranosyl-1,3-disubstituted variants.
Tetrahedron. 73 (27-28), 3810-3822, 2017. ISSN: 0040-4020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tet.2017.05.014>
IF: 2.651 (2016)
3. **Szabó, E. K.**, Kun, S., Mándi, A., Kurtán, T., Somsák, L.: Glucopyranosylidene-Spiro-Thiazolinones: Synthetic Studies and Determination of Absolute Configuration by TDDFT-ECD Calculations.
Molecules. 22 (10), 1760-1774, 2017. EISSN: 1420-3049.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules22101760>
IF: 2.861 (2016)
4. Bokor, É., Kyriakis, E., Solovou, T. G. A., Koppány, C., Kantsadi, A. L., **Szabó, E. K.**, Szakacs, A., Stravodimos, G. A., Docsa, T., Skamnaki, V. T., Zographos, S. E., Gergely, P., Leonidas, D. D., Somsák, L.: Nanomolar Inhibitors of Glycogen Phosphorylase Based on β -d-Glucosaminyl Heterocycles: A Combined Synthetic, Enzyme Kinetic, and Protein Crystallography Study.
J. Med. Chem. 60 (22), 9251-9262, 2017. ISSN: 0022-2623.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b01056>
IF: 6.259 (2016)





További közlemények

Idegen nyelvű tudományos közlemények külföldi folyóiratban (5)

5. Szőcs, B., Bokor, É., **Szabó, E. K.**, Kiss-Szikszai, A., Tóth, M., Somsák, L.: Synthesis of 5-aryl-3-C-glycosyl- and unsymmetrical 3,5-diaryl-1,2,4-triazoles from alkylidene-amidrazones.
RSC Advances. 5 (54), 43620-43629, 2015. ISSN: 2046-2069.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1039/C5RA05702G>
IF: 3.289
6. Kuki, Á., Nagy, L., **Szabó, E. K.**, Antal, B., Zsuga, M., Kéki, S.: Activation Energies of Fragmentations of Disaccharides by Tandem Mass Spectrometry.
J. Am. Soc. Mass Spectrom. 25 (3), 439-443, 2014. ISSN: 1044-0305.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s13361-013-0793-8>
IF: 2.945
7. Nagy, L., Kuki, Á., **Szabó, E. K.**, Sipos, A., Zsuga, M., Kéki, S.: Fragmentation study of nescapine derivatives under electrospray conditions.
Rapid Commun. Mass Spectrom. 28 (7), 822-828, 2014. ISSN: 0951-4198.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/rcm.6847>
IF: 2.253
8. Kuki, Á., **Szabó, E. K.**, Nagy, L., Zsuga, M., Kéki, S.: Rapid identification of disaccharides by tandem mass spectrometry.
J. Mass Spectrom. 48 (12), 1276-1280, 2013. ISSN: 1076-5174.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/jms.3294>
IF: 2.709
9. Fazekas, E., **Szabó, E. K.**, Kandra, L., Gyémánt, G.: Unexpected mode of action of sweet potato β -amylase on maltooligomer substrates.
BBA-Proteins Proteomics. 1834 (10), 1976-1981, 2013. ISSN: 1570-9639.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbapap.2013.06.017>
IF: 3.191

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 30,677

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapján szolgáló közleményekre):
16,29**

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, 2018.06.19.



Konferencia részvétel

Előadások

1. M. Tóth, B. Szőcs, T. Kaszás, **K. E. Szabó**, T. Docsa, P. Gergely, L. Somsák
Synthesis of C-(β -D-Glucopyranosyl) Heterocycles and 4-(β -D-Glucopyranosyl) Semicarbazones: Potent Glycogen Phosphorylase Inhibitors
4th German-Hungarian Workshop, Synthesis, Isolation, and Biological Activity of Natural Products and Related Systems
June 14-16, 2011, Debrecen, Hungary. Oral presentation, Book of Abstracts OP-7.
2. B. Szőcs, T. Kaszás, **K. E. Szabó**, M. Tóth, L. Somsák
Glükózhoz kapcsolt acilhidrazon származékok heterociklizációja
MTA Szénhidrát-, Nukleinsav- és Antibiotikum Munkabizottsága előadóülése
Debrecen, 2012. máj. 31-jún. 1.
3. B. Szőcs, S. Kun, M. Tóth, **K. E. Szabó**, É. Bokor, K. Czifrák, L. Juhász, G. Varga, A. Páhi, T. Docsa, P. Gergely, L. Somsák
Synthesis of 3-glucopyranosyl-5-substituted-1,2,4-triazoles and their evaluation as glycogen phosphorylase inhibitors
MTA Szénhidrát-, Nukleinsav- és Antibiotikum Munkabizottsága előadóülése
Mátrafüred, 2013. máj. 22-24.
4. **K. E. Szabó**, A. Páhi, L. Somsák
Synthesis of trisubstituted C-glucopyranosyl-1,2,4-triazoles
MTA Szénhidrát-, Nukleinsav- és Antibiotikum Munkabizottsága előadóülése
Mátraháza, 2015. máj. 27-29.
5. **K. E. Szabó**, A. Páhi, L. Somsák
Trisubsztituált C-(β -D-Glükopiranozil)-1,2,4-triazolok szintézise
Innováció a Természettudományban Doktorandusz Konferencia
Szeged, 2015. szeptember 26.
6. **K. E. Szabó**, S. Kun, L. Somsák
Experiments towards new glucopyranosilidene-spiro-heterocycles
MTA Szénhidrát-, Nukleinsav- és Antibiotikum Munkabizottsága előadóülése
Mátraháza, 2016. máj. 25-27.
7. **K. E. Szabó**, S. Kun, A. Mándi, T. Kurtán, L. Somsák
Further results towards new glucopyranosylidene-spiro-heterocycles
MTA Szénhidrát-, Nukleinsav- és Antibiotikum Munkabizottsága előadóülése
Mátraháza, 2017. máj. 31-jún 1.

8. **K. E. Szabó**, S. Kun, L. Somsák
Kísérletek új típusú glükopiranozilidén-spiro-heterociklusok előállítására
MTA Heterociklusos és Elemorganikus Kémiai Munkabizottsági Ülés
Balatonszemes, 2018. Június 6-8.

Poszterek

9. B. Szócs, T. Kaszás, **K. E. Szabó**, M. Tóth, T. Docsa, P. Gergely, L. Somsák
Synthesis of C-(β -D-Glucopyranosyl) Heterocycles and 4-(β -D-Glucopyranosyl) Semicarbazones
4th European Conference on Chemistry for Life Sciences, Budapest, 2011. August 31-September 3.
10. **K. E. Szabó**, A. Páhi, L. Somsák
Synthesis of 5-(β -D-glucopyranosyl)-1,3-disubstituted- and 3-(β -D-glucopyranosyl)-1,5-disubstituted)-1,2,4-triazoles
18th European Carbohydrate Symposium Moscow, Russia, 2015. August 2-6.
11. **K. E. Szabó**, A. Páhi, L. Somsák
5-(β -D-glükopiranozil)-1,3-diszubsztituált- és 3-(β -D-glükopiranozil)-1,5-diszubsztituált-1,2,4-triazolok szintézise
Magyar Kémikusok Egyesülete 2. Nemzeti Konferencia
Hajdúszoboszló, 2015. augusztus 31- szeptember 2.
12. **K. E. Szabó**, A. Páhi, L. Somsák
Preparation of trisubstituted C-(β -D-glucopyranosyl)-1,2,4-triazoles
András Lipták Memorial Conference
Debrecen, 2015. november 6-8.
13. S. Kun, **K. E. Szabó**, N. Kánya, N. Galó, A. Páhi, A. Mándi, T. Kurtán, L. Somsák
Glucopyranosylidene-spirocycles with five and six membered heterorings: synthesis, CD studies and inhibition of glycogen phosphorylase
19th European Carbohydrate Symposium, Barcelona, Spain, 2017. July 2-6.