

Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei
Theses of doctoral dissertation

ÚJ RISZTOCETIN- ÉS TEIKOPLANIN-SZÁRMAZÉKOK SZINTÉZISE
SYNTHESIS OF NEW DERIVATIVES OF RISTOCETIN AND TEICOPLANIN

Pintér Gábor

Témavezető/Supervisor: Dr. Herczegh Pál



DEBRECENI EGYETEM
Kémiai Tudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2010.

1. Bevezetés és célkitűzések

A glikopeptid típusú antibiotikumok több mint fél évszázados múltra tekintenek vissza. Első képviselőjüket, a vankomicint 1956-ban fedezték fel, majd ezt követte a risztocetin, és mintegy húsz évvel később a teikoplanin. A szennyezők okozta mellékhatások és meglehetősen szűk antibakteriális spektrumuk miatt sokáig háttérbe szorultak a meticillin, a cefalosporinok és a linkomicinek mellett. Szerkezetük pontos felderítése és hatásmechanizmusuk megismerése óriási lendületet adott a család újabb és újabb tagjainak felfedezéséhez és tisztább formában való izolálásukhoz. Az 1980-as évek elején a meticillin-rezisztens *Staphylococcus aureus* törzsek (MRSA) terjedésével az egyetlen fegyvert jelentették MRSA-fertőzés esetén. A gyógyászatban – és a mezőgazdaságban – való fokozott felhasználásuk miatt azonban tíz év múlva egyes *staphylococcusok* és *enterococcusok* már a vankomicinnek is ellenálltak, a kilencvenes évek második felében pedig már vankomicin- és teikoplanin-rezisztens törzsek okoztak súlyos infekciókat az Egyesült Államokban. A vankomicin mellett a risztocetin az egyik legrégebben felfedezett glikopeptid típusú antibiotikum. Annak ellenére, hogy igen jó *in vitro* aktivitással rendelkezik, nem használható az antibakteriális terápiában, mert a vérlemezkéket összezsugorítja.

Célul tűztük ki új risztocetin-származékok szintézisét, oly módon, hogy a szénhidrát-rész teljes eltávolításával kapott aglikon N-terminálisához különböző cukor-molekulákat kapcsolunk. Ezen vegyületektől azt vártuk, hogy a trombocita-aggregáló hatás megszűnése mellett az antibakteriális aktivitás is javul az anyavegyülethez képest.

Terveink közt szerepelt, hogy teikoplanin- és risztocetin-aglikonból kiindulva, olyan lipofil származékokat állítsunk elő, amelyek a glikopeptid-rezisztens törzsekkel szemben is hatásosak. Az ötletet a félszintetikus úgynevezett lipoglikopeptidek (oritavancin, dalbavancin, telavancin) adták, amely vegyületek *staphylococcusokkal* és *enterococcusokkal* szemben mutatott aktivitása rendkívül biztató. Habár ezen származékok esetében a szénhidrát-részt megtartották, mi feltételeztük, hogy az aglikont módosítva, legalább olyan hatásos antibiotikum-származékokhoz jutunk.

2. Alkalmazott módszerek

A vegyületek előállításához klasszikus preparatív szerves laboratóriumi technikákat alkalmaztunk. A reakciók követéséhez valamint a termékek tisztaságának meghatározásához vékonyréteg kromatográfiás módszert használtunk. Valamennyi anyagot flash kromatográfiával tisztítottuk, szerkezetük igazolásához a modern analitika módszereit (MALDI-TOF MS, ^1H - és ^{13}C -NMR (2D HSQC, COSY és TOCSY), FT-IR) használtuk fel. Az asszociációs tulajdonságot dinamikus fényszórás-fotometriai és DOSY-NMR mérések valamint molekula dinamikai számítások kombinálásával bizonyítottuk. A hatásmechanizmus molekuláris szintű tanulmányozására szaturáció transzfer differencia NMR spektroszkópiai és NOESY technikákat alkalmaztunk.

3. Új tudományos eredmények

3.1. A risztocetin új szénhidrát-származékai

3.1.1. Glikozil-tioureido-származékok

A Boger és mtsai által leírt módszert használva, vízmentes HF-dal deglikozileztük a risztocetin A-t (**3**). Az így nyert aglikont (**61**)* 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-D-glükopiranozil-izotiocianáttal és 2,3,6,2',3',4',6'-hepta-*O*-acetyl-D-maltozil-izotiocianáttal reagáltattuk. Az addíciós reakcióval kapott termékeket (**64a, b**) oszlopkromatográfiás tisztítás után Zemplén szerint dezacetilezve az *N*-β-D-glükopiranozil-tioureido és az *N*-β-D-maltozil-tioureido risztocetin-aglikonhoz (**65a, b**) jutottunk. A két új szénhidrát-származék néhány *staphylococcus* és *enterococcus* törzsszel szemben egészen jó aktivitást mutatott. A hematológiai hatás vizsgálata során egyik vegyület sem csapta össze a vérlemezkéket, sőt a glükozil-származék (**65a**) még gátolta is a risztocetin által kiváltott trombocita-aggregációt.

3.1.2. Click-reakcióval előállított szénhidrát-származékok

3.1.2.1. A szénhidrát-származékok szintézise

A risztocetin-aglikon további szénhidrát-származékait állítottuk elő a Sharpless és Meldal nevéhez fűződő réz(I)-katalizálta azid-alkin 1,3-dipoláris cikloaddíciós (click) reakciót felhasználva. A kapcsoláshoz szükséges azidocsoportot a risztocetin-aglikon (**61**) primer aminocsoportjából képeztük diazotranszfer reakció segítségével. Az aglikont frissen készített trifluormetán-szulfonsav-aziddal reagáltatva az *N*-terminális fenil-glicin konfigurációjának megtartásával, kielégítő hozammal kaptuk az azido-risztocetin-aglikont (**66**).

A click-reakcióhoz szükséges terminális alkin funkciót öt különböző szénhidráton (D-glükóz, D-mannóz, D-maltóz, *N*-acetyl-D-glükózamin, L-ramnóz) alakítottuk ki Fischer-féle, sav katalizálta (szilikára adszorbeált kénsav) glikozilezéssel propargil-alkoholt használva glikozil akceptorként. A propargil-glikozidokat piridinben ecetsav-anhidriddel acetileztük, majd a per-*O*-acetilezett propargil-glikozidokat réz(I)-jodid katalizátor jelenlétében azido risztocetin-aglikonnal reagáltatva rendre a megfelelő glikozil-oximetil-triazolil-származékokat (**70a-e**) kaptuk. A molekulák szénhidrát-részéről Zemplén szerint eltávolítva az acetyl csoportokat, a risztocetin-aglikon α-D-glükopiranozil (**71a**), α-D-mannopiranozil (**71b**), α-D-maltopiranozil (**71c**), *N*-acetyl-α-D-glükózaminil (**71d**) és α-L-ramnopiranozil (**71e**) származékait kaptuk.

* A vegyületek szerkezetét az 1, 2, 3. táblázat tartalmazza (13-15. oldal).

3.1.2.2. Antibakteriális vizsgálatok

Megvizsgáltuk mind az acetilezett, mind pedig a dezacetilezett származékok antibakteriális aktivitását néhány jelentős Gram-pozitív törzs esetében. Azt tapasztaltuk, hogy az N-terminálison kialakított cukor-rész igen kedvezően befolyásolta a risztocetin-aglikon antibakteriális hatását. Az eredmények azt mutatták, hogy míg a D-konfigurációjú cukor-származékok (**70a-d** ill. **71a-d**) aktivitása között nem volt számottevő különbség, addig az L-ramnózzal képzett vegyületek (**70e**, **71e**) esetében jóval nagyobb MIC (Minimum Inhibitory Concentration, minimális gátló koncentráció) értékeket kaptunk. Ez az eredmény – habár csak kevés származékról van szó – arra enged következtetni, hogy a szacharid oldallánc sztereokémiájának nagy jelentősége van az antibakteriális aktivitásban. Az acetilezett és a szabad cukrot hordozó risztocetin-aglikon származékok hatásában csak csekély különbség volt megfigyelhető, ami talán a táptalajban jelen lévő aspecifikus észterázok működésével magyarázható.

3.1.2.3. Antivirális vizsgálatok

Az antibakteriális mellett antivirális tesztek is végeztünk az új szénhidrát-származékainkkal. Az acetilezett maltozil- (**70c**) és a két ramnozil-származék (**70e**, **71e**) kivételével valamennyi vegyület igen jó aktivitást mutatott az influenza A vírus H1N1 altípusával szemben, mindamellet, hogy citotoxicitásuk is biztatóan csekélynek bizonyult.

3.1.2.4. Trombocita-aggregációs mérések

Megvizsgáltuk a dezacetilezett szénhidrát-származékok (**71a-e**) trombocita-aggregáló tulajdonságát. Habár ezek oldékonysága elmaradt a glikozil-tiokarbamid-származékokéitól, de még így is sokkal jobban oldódtak vízben, mint a risztocetin-aglikon. Az egyes vegyületekből az elkészíthető legtöményebb (0,5 – 2,5 mg/ml) oldatokat alkalmazva azt tapasztaltuk, hogy egyik származék sem csapta össze a vérlemezkéket. A risztocetin indukálta trombocita-aggregációt a glükozil- (**71a**) és maltozil- (**71c**) gátolta, a ramnozil- (**71e**) kis mértékben fokozta, míg a mannozil- (**71b**) és *N*-acetil-glükózaminil-származék (**71d**) nem befolyásolta.

3.2. Új, lipofil teikoplanin- és risztocetin-aglikon származékok

3.2.1. A lipofil származékok szintézise

A teikoplanint (2) is a Boger-féle módszerrel deglikozileztük. A risztocetintől eltérően egy részlegesen deglikozilezett (az *N*-acetyl-glükóزامint tartalmazó) terméket, a teikoplanin-pszepudoaglikont (72) kaptuk. A lipofil származékok előállítását réz(I)-katalizálta azid-alkin cikloaddíciónal valósítottuk meg, amihez a risztocetin-aglikon és a teikoplanin-pszepudoaglikon primer aminocsoportját azidra cseréltük. A terminális alkin-részt a kapcsolni kívánt lipofil molekulákon alakítottuk ki: *n*-decil-propargil-étert és 4-propargiloxi-bifenilt képeztünk *n*-dekanol és 4-fenil-fenol propargilezésével.

A két propargil-származékot katalitikus mennyiségű réz(I)-jodid jelenlétében reagáltatva az azidokkal (66, 72), a megfelelő 1,2,3-triazolokat (77-78, 79-80) kaptuk.

3.2.2. Antibakteriális vizsgálatok

Megvizsgáltuk mind az azidok (66, 72), mind pedig a két-két lipofil származék (77-78, 79-80) hatását néhány Gram-pozitív baktérium esetében. A két azido-származék (66, 72) közepes aktivitást mutatott. A risztocetin-aglikonból képzett vegyületek teljesen hatástalanok voltak, a teikoplanin-pszepudoaglikon lipofil származékai pedig épp ellenkezőleg, kitűnő bakteriosztatikus és baktericid tulajdonságot mutattak még a legellenállóbb törzsekkel szemben is.

3.2.3. Antivirális vizsgálatok

Az antivirális tesztek során csupán a risztocetin-aglikon decil származéka (79) volt aktív a vizsgált két influenza A és egy influenza B vírus esetében. Hatása felülmúlta a forgalomban lévő oszeltamivir-karboxilátéét.

3.2.4. Antibakteriális hatás-szerkezet összefüggések

3.2.4.1. A C-terminális és az N-acetil-glükózamin szerepe

Megállapítottuk, hogy a teikoplanin-pszeudoaglikon decil származékának (77) karboxilcsoportját metil-észterré alakítva (82) nem csökken a kiváló bakteriosztatikus aktivitás, megszűnik azonban a cid hatás az *enterococcusok* esetében. Amennyiben az észterképzés mellett az aminocukrot is eltávolítottuk (85), akkor inaktív származékhoz jutottunk. Ezek az eredmények az N-acetil-D-glükózamin antibakteriális aktivitásban betöltött jelentős szerepét mutatják. A fenti változtatások a vírusellenes hatást nem befolyásolják.

3.2.4.2. Az aggregáció szerepe

A teikoplanin-pszeudoaglikon n-decil származékából (77) Na-sót képezve vizes közegben vizsgáltuk viselkedését. A molekula erős aggregációs tulajdonságát dinamikus fényszórás fotometriai valamint diffúzió kontrollálta NMR spektroszkópiái (DOSY) mérések és molekula dinamikai számítások kombinálásával igazoltuk. Kimutattuk, hogy mintegy 240 molekula egy kb. 390 kDa tömegű asszociátum kialakítására képes, aminek – véleményünk szerint – jelentős szerepe lehet a kiváló antibakteriális hatásban.

3.2.4.3. Kölcsönhatás a bakteriális sejtfal-prekurzor analóggal

A hatásmechanizmus molekuláris szintű tanulmányozására szaturáció transzfer differencia (STD) NMR spektroszkópiai méréseket végeztünk, amelyek során kimutattuk, hogy a lipofil teikoplanin-pszeudoaglikon-származék (77) decil oldallánca erős apoláris kölcsönhatást mutat mind a vankomicin-szenzitív törzsekre jellemző N α ,N ϵ -diacetyl-L-lizinil-D-alanil-D-alanin (A-ligandum), mind pedig a rezisztens baktériumok sejtfal prekurzorát szimuláló N α ,N ϵ -diacetyl-L-lizinil-D-alanil-D-tejsav (B-ligandum) modell peptid-származékok N-acetil szubsztituen-seinek metilcsoportjaival éppúgy, mint a két alanin (A-ligandum) vagy az alanin és a tejsav (B-ligandum) metiljeivel.

NOESY kísérletekkel pedig további intermolekuláris kölcsönhatás jelenlétét igazoltuk a bakteriális sejtfal-prekurzor modell tripeptid és a teikoplanin-pszeudoaglikon-származék N-acetil-glükózaminja között.

1. Introduction

Glycopeptide antibiotics have a more than half century-old history. Their first representative, vancomycin was discovered in 1956, then that was followed by ristocetin, and about twenty years later by teicoplanin. Because of their side effects caused by the impurities, and of their quite narrow antibacterial spectrum they were pushed into the background by methicillin, cephalosporins and lincomycins for a long time. Exact exploration of their structure and action mechanism gave a huge stimulus to the discovery of additional members of this family and isolation in purer form. They were the only weapon in case of MRSA infection early in 1980s, when the methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains began to spread. Ten years later some *staphylococci* and *enterococci* gained resistance against vancomycin because of their increased application in medicine and agriculture. In the second part of the nineties vancomycin- and teicoplanin-resistant strains caused serious infections in the United States. Like vancomycin, ristocetin is one of the firstly discovered glycopeptide type antibiotics. In spite of its good *in vitro* activity it is inapplicable in the antibacterial therapy, because it causes platelet aggregation.

Our goal was to synthesize new ristocetin derivatives binding different sugar molecules to the N-terminus of the aglycon obtained by removing the whole carbohydrate part. In addition to the cessation of the thrombocyte aggregation effect, the improvement of the antibacterial activity compared with the parent antibiotic was expected from these compounds.

Starting from teicoplanin and ristocetin aglycon we planned to synthesize lipophilic derivatives with good activity against glycopeptide-resistant bacterium strains, too. We were inspired by the semisynthetic, so called lipoglycopeptides (oritavancin, dalbavancin, telavancin) which have a very promising activity against *staphylococci* and *enterococci*. Although these derivatives contain the carbohydrate part, we supposed to obtain similarly effective antibiotic derivatives modifying the aglycon.

2. Methods

Classical organic preparative laboratory methods were used for the syntheses. Thin layer chromatography was applied to follow the reactions and determine the purity of the products. All of the compounds were purified by flash chromatography, their structure was proved by modern analytical methods (MALDI-TOF MS, ^1H and ^{13}C NMR (2D HSQC, COSY and TOCSY), FT-IR). The association property was established by combination of dynamic light scattering and DOSY NMR measurements as well as the molecular dynamics calculations. Saturation transfer difference (STD) NMR spectroscopy and NOESY experiments were used to study the action mechanism on molecular level.

3. Results

3.1. New carbohydrate derivatives of ristocetin

3.1.1. Glycosylthioureido derivatives

Ristocetin A (**3**) was deglycosylated by anhydrous HF using the Boger's method. The resulted aglycon (**61**)* was reacted with 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-D-glucopyranosyl isothiocyanate and 2,3,6,2',3',4',6'-hepta-*O*-acetyl-D-maltosyl isothiocyanate. After purification of the addition products (**64a, b**) by column chromatography, the Zemplén deacetylation afforded *N*-β-D-glucopyranosylthioureido and *N*-β-D-maltosylthioureido ristocetin aglycon (**65a, b**). Both new carbohydrate derivatives exhibited quite a good activity against several *staphylococci* and *enterococci* strains. Examining the haematological effect of the compounds, neither of them caused platelet-aggregation, moreover the glucosyl derivative (**65a**) inhibited the ristocetin induced thrombocyte-aggregation.

3.1.2. Carbohydrate derivatives produced by click-reaction

3.1.2.1. Synthesis of the carbohydrate derivatives

Additional carbohydrate derivatives of ristocetin aglycon were synthesized using the copper-catalyzed azide-alkyne 1,3-dipolar cycloaddition (click) reaction discovered by Sharpless and Meldal. The azido group required to the binding was formed from the primary amino group of ristocetin aglycon (**61**) by diazotransfer reaction. Treating of the aglycon with freshly prepared trifluoromethanesulfonyl azide resulted in the azido ristocetin aglycon (**66**) in a moderate yield, retaining the configuration of the N-terminal phenylglycin.

The terminal alkyne function was formed on five different carbohydrate molecules (D-glucose, D-mannose, D-maltose, *N*-acetyl-D-glucosamine and L-rhamnose) by Fischer's acid-catalyzed (sulfuric acid on silica) glycosylation using propargyl alcohol as glycosyl acceptor. The propargyl glycosides were acetylated by acetic anhydride in pyridine. The reaction of the per-*O*-acetylated propargyl glycosides with the azido ristocetin aglycon in the presence of cuprous iodide resulted in the corresponding glycosyl-oxymethyl-triazolyl derivatives (**70a-e**). Removing the acetyl groups from the carbohydrate part of the molecules by Zemplén led to the α-D-glucopyranosyl (**71a**), α-D-mannopyranosyl (**71b**), α-D-maltopyranosyl (**71c**), α-D-*N*-acetylglucosaminyl (**71d**) and α-L-rhamnopyranosyl (**71e**) derivatives of ristocetin aglycon.

* Table 1, 2 and 3 show the structure of the compounds (pages 13-15).

3.1.2.2. Antibacterial assay

The antibacterial activity of the acetylated and deacetylated derivatives was investigated in case of some important Gram-positive strains. We found that introduction of the sugar moieties at the N-terminus into the ristocetin aglycon molecule had a beneficial effect on the antibacterial activity. The results showed that the D-sugar containing derivatives (**70a-d** and **71a-d**) do not have considerable difference in the activity, however the L-rhamnose containing compounds (**70e**, **71e**) had much higher MIC (Minimum Inhibitory Concentration) values. It may be concluded that the stereochemistry of the saccharide sidechain has a great influence on the antibacterial activity. There was only a slight difference between the antibacterial effects of compounds having acetylated or free sugars, which can be explained by a possible deacetylation in the culture media by aspecific esterases.

3.1.2.3. Antiviral assay

In addition to the antibacterial assay the antiviral activity of our new carbohydrate derivatives was tested. All of the compounds except the acetylated maltosyl (**70c**) and the two rhamnosyl derivatives (**70e**, **71e**) exhibited a very good activity against the H1N1 subtype of influenza A virus, nevertheless, their cytotoxicity was sufficiently low.

3.1.2.4. Thrombocyte-aggregation tests

The platelet aggregation property of the deacetylated carbohydrate derivatives (**71a-e**) was studied. Although their solubility was lower than that of the glycosylthioureido derivatives, but they dissolved much better in water than the ristocetin aglycon. Examining the most concentrated solution of the derivatives (0.5 – 2.5 mg/mL) none of them caused thrombocyte aggregation. The D-glucose and D-maltose analogues (**71a** and **71c**) inhibited the ristocetin induced platelet aggregation. The D-mannose and D-glucosamine derivatives (**71b** and **71d**) had no influence, but the L-rhamnose derivative (**71e**) increased the intensity of aggregation.

3.2. New lipophilic teicoplanin and ristocetin aglycon derivatives

3.2.1. Synthesis of the lipophilic derivatives

Teicoplanin was deacetylated by the Boger's method, too. In contrast to ristocetin we obtained a partially deglycosylated product, (containing *N*-acetyl-glucosamine), the teicoplanin pseudoaglycon (**72**). The synthesis of the lipophilic derivatives was carried out by copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition, to which the primary amino group of the

ristocetin aglycon and teicoplanin pseudoaglycon was exchanged for an azido function. The terminal alkyne moiety was formed on the lipophilic molecules: n-decyl-propargyl ether and 4-propargyloxybiphenyl were prepared by propargylation of n-decanol and 4-phenyl-phenol. The latter compounds were allowed to react with the azides (**66**, **72**) in the presence of a catalytic amount of cuprous iodide, resulting in the 1,2,3-triazoles (**77-78**, **79-80**).

3.2.2. Antibacterial assay

The antibacterial activity of the azides (**66**, **72**) and the lipophilic derivatives (**77-78**, **79-80**) was tested in case of several Gram-positive bacteria. The azido derivatives (**66**, **72**) showed intermediate activity. The compounds prepared from ristocetin aglycon proved to be completely inactive. However, the lipophilic derivatives of the teicoplanin pseudoaglycon exhibited excellent bacteriostatic and bactericidal property against the most resistant strains, too.

3.2.3. Antiviral assay

In the antiviral tests only the decyl derivative of the ristocetin aglycon (**79**) was active against the examined two influenza A and one influenza B viruses. Its activity was superior to that of the therapeutically used oseltamivir carboxylate.

3.2.4. Antibacterial structure-activity relationships

3.2.4.1. The role of the C-terminal and the N-acetyl-glucosamine

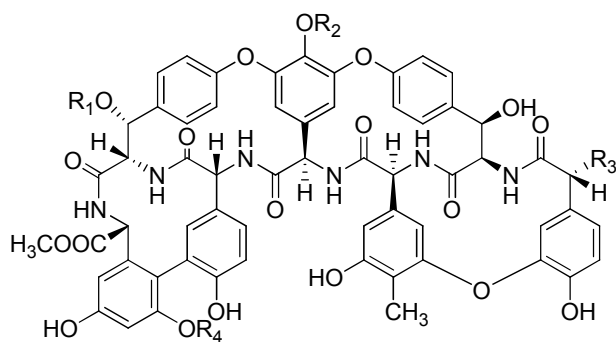
We established that converting the carboxyl group of the decyl derivative of the teicoplanin pseudoaglycon (**77**) to methyl ester (**82**) the excellent bacteriostatic activity does not decrease, but the cid effect against *enterococci* ceases. When the amino sugar was removed in addition to the ester formation (**85**), an inactive derivative was obtained. These results show an important role of the N-acetyl-D-glucosamine in the antibacterial activity. The above changes do not influence the antiviral activity.

3.2.4.2. The role of the aggregation

Forming sodium salt from the n-decyl derivative of the teicoplanin pseudoaglycon (**77**) its behavior in aqueous media was investigated. The strong aggregation property of this molecule was proved by combination of dynamic light scattering and diffusion ordered NMR spectroscopic measurements and molecular dynamics calculations. We demonstrated that about 240 molecules can form one aggregate with 390 kDa mass which – in our opinion – can have an important role in the antibacterial activity.

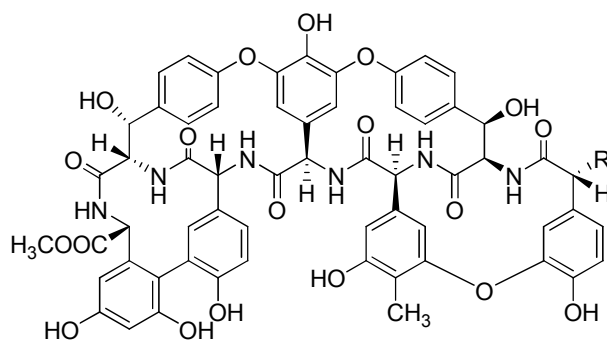
3.2.4.3. Interaction with the bacterial cell wall precursor analogue

To study the action mechanism on molecular level saturation transfer difference NMR spectroscopic measurements were performed. It was demonstrated that the decyl sidechain of the lipophilic teicoplanin pseudoaglycon derivative (**77**) shows a strong apolar interaction with the methyl groups of *N*-acetyl substituents of the cell wall precursor analogue peptide $N\alpha,N\epsilon$ -diacetyl-L-lisyl-D-alanyl-D-alanine (ligand A) typical of vancomycin-sensitive strains and $N\alpha,N\epsilon$ -diacetyl-L-lisyl-D-alanyl-D-lactate (ligand B) typical of resistant bacteria, as well as with the two alanine methyl groups (ligand A) or the alanine and lactate methyls (ligand B). With the help of NOESY experiments the presence of additional intermolecular interactions was established between the bacterial cell wall precursor model tripeptide and the *N*-acetyl-glucosamine part of the teicoplanin pseudoaglycon.



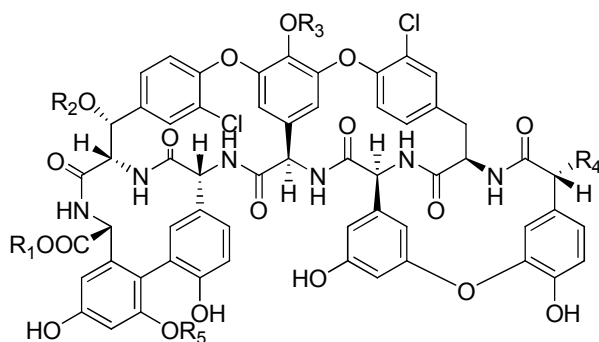
Vegyület (Compound)	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
3			NH ₂	
61	H	H	NH ₂	H
64a	H	H		H
64b	H	H		H
65a	H	H		H
65b	H	H		H

1. Táblázat / Table 1. A risztocetin A (**3**), a risztocetin-aglikon (**61**) és az aglikon glikozil-tioureido-származékainak szerkezete / The structure of risticetin A (**3**), risticetin aglycon (**61**) and the glycosylthioureido derivatives of the aglycon



Vegyület (Compound)	R	Vegyület (Compound)	R
66	N ₃		
70a		71a	
70b		71b	
70c		71c	
70d		71d	
70e		71e	
79		80	

2. Táblázat / Table 2. Az azido-risztocetin-aglikon (**66**) és a click reakcióval előállított szénhidrát- (**70a-e**, **71a-e**) és lipofil-származékok (**79**, **80**) szerkezete / The structure of azido ristocetin-aglycon (**66**) and the carbohydrate (**70a-e**, **71a-e**) and lipophilic (**79**, **80**) derivatives synthesized by click reaction



Vegyület (Compound)	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
2	H			NH ₂	
62	H		H	NH ₂	H
83	CH ₃	H	H	NH ₂	H
72	H		H	N ₃	H
77	H		H		H
78	H		H		H
81	CH ₃		H	N ₃	H
82	CH ₃		H		H
84	CH ₃	H	H	N ₃	H
85	CH ₃	H	H		H

3. Táblázat / Table 3. A teikoplanin (**2**) és származékainak szerkezete / The structure of teicoplanin (**2**) and its derivatives.

Köszönetnyilvánítás

Hálás köszönettel tartozom témavezetőmnek, Dr. Herczegh Pálnak, a Debreceni Egyetem OEC Gyógyszerészi Kémiai Tanszék tanszékvezető egyetemi tanárának, aki mindvégig figyelemmel kísérte munkámat, hasznos tanácsaival segített, és mindig szívesen fogadta ötleteimet, elképzeléseimet. Köszönetet mondok a Gyógyszerészi Kémiai Tanszéken dolgozó és dolgozott egykori munkatársaknak.

Köszönöm Dr. Batta Gyulának az NMR-mérések terén végzett nélkülözhetetlen munkáját, Dr. Kéki Sándornak és Dr. Nagy Lajosnak a tömegspektrometriás és fényszórás-fotometriás mérésekben nyújtott segítséget.

Köszönet illeti Dr. Rozgonyi Ferencet és Dr. Ostorházi Esztert az antibakteriális, Dr. Lieve Naesens-t az antivirális vizsgálatokért, Takácsné Dr. Novák Krisztinát a logP számításokért.

Köszönet Dr. Hollósi Miklósnak, aki a hidrogén-fluoridos deglikozilezésben volt segítségünkre, és Dr. Hermecz Istvánnak, aki a kísérletek alapját jelentő teikoplaninnal segítette munkámat.

Köszönetet mondok Dr. Boda Zoltánnak és Szarvas Mariannak az elvégzett trombocita-aggregációs mérésekért, Dr. Komáromi Istvánnak és Mándi Attilának a molekula dinamikai számításokért.

Köszönöm feleségemnek a türelmet, szüleimnek a támogatást, rokonaimnak, barátaimnak a biztatást.

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények / Publications related to the dissertation

1. Ferenc Sztaricskai, **Gábor Pintér**, Erzsébet Róth, Pál Herczegh, Szilvia Kardos, Ferenc Rozgonyi, Zoltán Boda. N-Glycosylthioureido Aglyco-ristocetins Without Platelet Aggregation Activity. *Journal of Antibiotics*, **2007**, 60, 529-533. (IF: 1,27)
2. **Gábor Pintér**, Gyula Batta, Sándor Kéki, Attila Mándi, István Komáromi, Krisztina Takács-Novák, Ferenc Sztaricskai, Erzsébet Róth, Eszter Ostorházi, Ferenc Rozgonyi, Lieve Naesens, Pál Herczegh. A Diazo Transfer – Click Reaction Route to New, Lipophilic Teicoplanin and Ristocetin Aglycon Derivatives with High Antibacterial and Anti-influenza Virus Activity. An Aggregation and Receptor Binding Study. *Journal of Medicinal Chemistry*, **2009**, 62, 6053-6061. (IF: 4,89)
3. **Gábor Pintér**, Ilona Bereczki, Gyula Batta, Réka Ötvös, Ferenc Sztaricskai, Erzsébet Róth, Eszter Ostorházi, Ferenc Rozgonyi, Lieve Naesens, Zoltán Boda, Pál Herczegh. Click Reaction Synthesis of Carbohydrate Derivatives from Ristocetin Aglycon with Antibacterial and Antiviral Activity. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **2010**. közlésre elfogadva/accepted for publishing. (IF: 2,53)

Az értekezés témájában elhangzott előadások és kiállított poszterek / Presentations and posters related to the dissertation

1. **Pintér Gábor**, Herczegh Pál, Glikopeptid antibiotikumok módosítása 1,3-dipoláris cikloaddíciós reakcióval, Gyógyszerkémiai és Gyógyszertechnológiai Szimpózium, Zalakaros, szeptember 29-30, **2008**. (E)
2. **Pintér Gábor**, Ötvös Réka, Glikopeptid típusú antibiotikumok módosítása 1,3-dipoláris cikloaddíciós reakcióval, IX. Clauder Ottó Emlékverseny, Budapest, április 23-24, **2009**. (E)
3. **Gábor Pintér**, Réka Ötvös, Gyula Batta, Ilona Bakai-Bereczki, Ferenc Sztaricskai, Erzsébet Róth, Ferenc Rozgonyi, Eszter Ostorházi, Lieve Naesens, Pál Herczegh, Synthetic study on the role of the carbohydrates on the antimicrobial activity of several glycopeptide antibiotics, Annual Meeting of the Group for Carbohydrate Chemistry of the Hungarian Academy of Sciences, Mátrafüred, május 28-29, **2009**. (E)

4. Pál Herczegh, **Gábor Pintér**, Gyula Batta, Sándor Kéki, Attila Mándi, István Komáromi, Krisztina Takács-Novák, Ferenc Sztaricskai, Erzsébet Rőth, Eszter Ostorházi, Ferenc Rozgonyi, Lieve Naesens, A Diazo Transfer – Click Reaction Route to New, Lipophilic Teicoplanin and Ristocetin Aglycon Derivatives with High Antibacterial and Anti-influenza Virus Activity, 11th International Conference on the Chemistry of Antibiotics and Other Bioactive Compounds (ICCA-11), San Sebastian, Baszkföld, Spanyolország, szeptember 29 – október 2, **2009**. (E)
5. Bakai-Bereczki Ilona, **Pintér Gábor**, Ötvös Réka, Batta Gyula, Sztaricskai Ferenc, Rőth Erzsébet, Ostorházi Eszter, Rozgonyi Ferenc, Lieve Naesens, Szarvas Mariann, Boda Zoltán, Herczegh Pál. A risztocetin aglikon új típusú szénhidrát származékainak szintézise és biológiai hatása, Antibiotikum és Nukleotidkémiai Munkabizottsági Ülés, Debrecen, november 19-20, **2009**. (E)
6. **Pintér Gábor**, Batta Gyula, Kéki Sándor, Mándi Attila, Komáromi István, Takácsné Novák Krisztina, Sztaricskai Ferenc, Rőth Józsefné, Ostorházi Eszter, Rozgonyi Ferenc, Lieve Naesens, Herczegh Pál, Új, lipofil teikoplanin- és risztocetin-aglikon származékok szintézise és antimikrobiális vizsgálata, Antibiotikum és Nukleotidkémiai Munkabizottsági Ülés, Debrecen, november 19-20, **2009**. (E)

Egyéb közlemények / Other publications

1. **Gábor Pintér**, Gyula Batta, Pál Horváth, István Löki, Tibor Kurtán, Sándor Antus, Sándor Kéki, Miklós Zsuga, Gábor Nagy, János Aradi, Tamás Gunda and Pál Herczegh. Supramolecular Polymers Based on Quadruplex Formation of Ditopic Guanosine Macromonomers in Nonaqueous Media. *Langmuir*, **2007**, 23, 5283 -5285. (IF: 4,09)
2. Sándor Kéki, Lajos Nagy, Ákos Kuki, **Gábor Pintér**, Pál Herczegh, Miklós Zsuga. Tandem mass spectrometric study of ciprofloxacin–poly(ethylene glycol) conjugate in the presence of alkali metal ions. *International Journal of Mass Spectrometry*, **2008**, 275, 104-109. (IF: 2,44)
3. **Gábor Pintér**, Pál Horváth, Sándor Bujdosó, Ferenc Sztaricskai, Sándor Kéki, Miklós Zsuga, Szilvia Kardos, Ferenc Rozgonyi, Pál Herczegh. Synthesis and Antimicrobial Activity of Ciprofloxacin and Norfloxacin Permanently Bonded to Polyethylene Glycol by a Thiourea Linker. *Journal of Antibiotics*, **2009**, 62, 113-116. (IF: 1,27)

Egyéb előadások, poszterek / Other presentations and posters

1. **Gábor Pintér**, Ákos Szilágyi, Gyula Batta, Pál Horváth, István Löki, Tibor Kurtán, Sándor Antus, Sándor Kéki, Miklós Zsuga, Gábor Nagy, János Aradi, Tamás Gunda and Pál Herczegh, Synthesis of New Polyethylene Glycol Derivatives: Aggregates, Antibiotics, Second German-Hungarian Workshop, Somogyaszaló, Magyarország, április 4-8, **2006**. (E)
2. Pál Herczegh, Ákos Szilágyi, István Pelyvás, Gyula Batta, **Gábor Pintér**, Pál Horváth, Sándor Antus, Tibor Kurtán, Sándor Kéki, Miklós Zsuga, Nucleosides in antibiotic analogs and in new nano-aggregates, VIII. Jornades de carbohidrats (RSEQ), Alcalá de Henares (Madrid), Spanyolország, szeptember 13-15, **2006**. (E)
3. **Pintér Gábor**, Batta Gyula, Horváth Pál, Löki István, Kurtán Tibor, Antus Sándor, Kéki Sándor, Zsuga Miklós, Nagy Gábor, Aradi János, Gunda Tamás and Herczegh Pál, Guanozin tartalmú polimerek asszociációja, MTA Műanyag és Természetes Polimerek Munkabizottsági ülés, Budapest, április 12, **2007**. (E)
4. **Gábor Pintér**, Gyula Batta, Pál Horváth, István Löki, Tibor Kurtán, Sándor Antus, Sándor Kéki, Miklós Zsuga, Gábor Nagy, János Aradi, Tamás Gunda and Pál Herczegh, Supramolecular Polymers Based on Quadruplex Formation of Ditopic Guanosine Macromonomers in Nonaqueous Media, The 2nd BBBB Conference on Pharmaceutical Sciences, Tallinn-Tartu, Észtország, szeptember 13-15, **2007**. (P)
5. **Pintér Gábor**, Kovalens polietilén-glikol-származékok potenciális terápiás felhasználása, Immunfarmakonok és Biológiai hatóanyagok Gyógyszertana, Debrecen, december 10, **2007**. (E)
6. Herczegh Pál, **Pintér Gábor**, Szilágyi Ákos, Synthesis of Antibiotic analogs, 1st Hungarian-Singaporean Workshop on Drug Discovery and Biomaterials, Hungarian Academy of Sciences, Budapest, március 10-11, **2008**. (E)
7. **Pintér Gábor**, Oludotun Adebayo Phillips, Herczegh Pál, Biológiai Aktív Molekulák Kovalens Kapcsolása 1,3-Dipoláris Cikloaddícióval, Vegyészkonferencia, Hajdúszoboszló, június 19-21, **2008**. (P)
8. **Gábor Pintér**, Gyula Batta, Pál Horváth, István Löki, Tibor Kurtán, Sándor Antus, Sándor Kéki, Miklós Zsuga, Gábor Nagy, János Aradi, Tamás Gunda and Pál Herczegh, Supramolecular Polymers Based on Guanosine Macromonomers, PORANAL 2008 Symposium, Debrecen augusztus 27-29, **2008**. (P)