

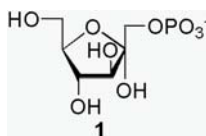
Szénhidrátkémiai kutatások a Debreceni Egyetemen

ANTUS Sándor*

Debreceni Egyetem Szerves Kémiai Tanszék, 4010 Debrecen, Pf. 20

és MTA Szénhidrátkémiai Kutatócsoport, 4010 Debrecen, Pf. 94

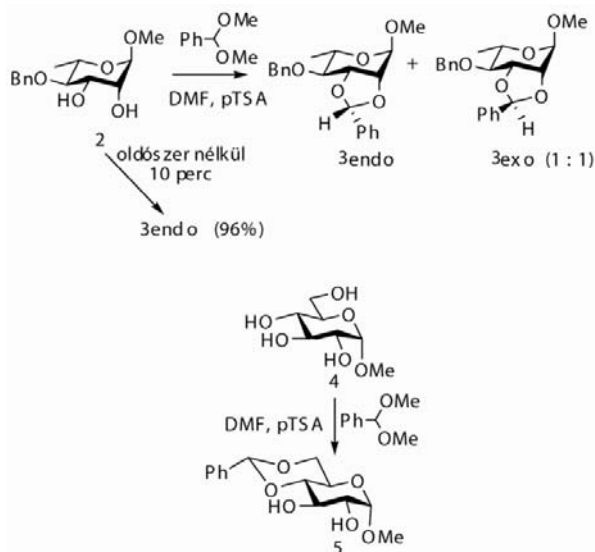
A szénhidrátkémiai kutatások Debrecenben az 1930-as évek közepén Tankó Béla (1905-1974) professzor irányításával kezdődtek meg, aki e területtel 1931-32 között Berlinben Neuberg professzor intézetében, majd ezt követően 1933-ban Londonban R. Robison professzor munkatársaként ismerkedett meg. Tudományos érdeklődésének középpontjában a szénhidrát anyagcsere három- és hat-szénatomos foszforilált intermedierjeinek vizsgálata állt. Robison professzor laboratóriumában elsőként ismerte fel és izolálta tiszta állapotban a fruktóz-1-foszfátot (**1**), amely Tankó-Robison észter néven vált ismertté a szakirodalomban¹ (1. ábra).



1. Ábra. A fruktóz-1-foszfát szerkezete.

Több biológiai fontosságú hexóz-foszfát kémiai szintézis mellett az ő nevéhez fűződik az acilvándorlás lehetőségének felismerése is a hexóz-származékok körében.² E mellett elsőként mutatta ki azt is, hogy a cukorlebontás alapvető lépései és a közbenső termékek a magasabbrendű növényekben, az állati sejtekben és az élesztőben azonosak.³ 1945-ben a felszabadulást követően tevékenyen vett részt a debreceni egyetemi élet és a kémiai oktatás újjászervezésében. Munkájának elismeréseként Szent-Györgyi Albert professzor javaslatára 1947-ben a szerves kémia professzorává nevezték ki, és a szénhidrátkémiai kutatásait a Simonyi út 4. sz. alatti családi villájuk alagsorában és földszintjén a tanítványai segítségével kialakított laboratóriumokban folytatta. Az így létrejött Szerves Kémiai Intézet 1949-ben a Debreceni Tudományegyetem központi épületébe költözött át, majd egy évvel később az Orvostudományi Egyetem különválását követően az újonnan létesült Biokémiai Intézet igazgatója lett, és a tudományos érdeklődése a nukleinsavak kémiája felé fordult. A Szerves Kémiai Intézet vezetésével Bognár Rezsőt (1913-1990) a Magyar Tudományos Akadémia (MTA) levelező tagját bízták meg. Bognár akadémikus Debrecenben folytatta a világszerte ismert szénhidrátkémikus, Zemplény Géza akadémikus (1883-1956) munkatársaként a Budapesti Műszaki Egyetem Szerves Kémiai Tanszékén megkezdett szénhidrátkémia kutatásait, és tevékenységének első két évtizede alatt jelentős eredmények születtek az *N*-, *O*- és *S*-glikozidok és a heterociklusos *C*-glikozil származékok szintézise és átalakítása területén, valamint új távlatokat nyitott meg az acetohalogén-cukrok előállításában az aszimmetrikus dihalogén-dimetiléterek alkalmazása is.⁴ E kutatások a tanszéken az MTA Antibiotikum-kémiai Kutatócsoport létrejöttével (1961)

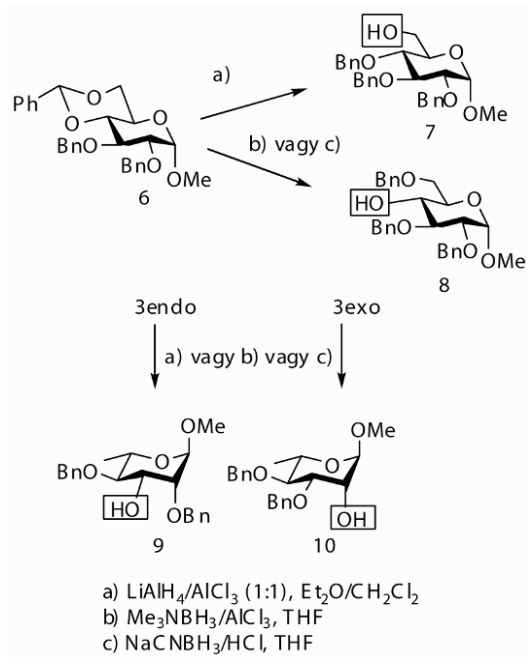
nemcsak számottevően bővültek, hanem a szénhidráttartalmú antibiotikumok izolálása, szerkezetfelfedezése és szintézise kapcsán erősen biológiai hatás-orientáltakká is váltak.^{5,6} A szénhidrátkémiai kutatások további szélesedéséhez vezetett, hogy Nánási Pál (1923-) professzor vezetésével^{7,8} 1970-ben megalakult a Biokémiai Tanszék, ahol a növényi eredetű glikozidok bioszintézisének⁹⁻¹² és a glikozidázok hatásmechanizmusának¹³⁻¹⁶ tanulmányozása, valamint Lipták András (1935-) professzor által kezdeményezett komplex oligoszacharidok szintézise során nemzetközileg is elismert eredmények születtek. Az összetett szerkezetű oligoszacharidok szintézisét főleg a glikozil akceptor (aglikon) oldaláról tanulmányozták behatóan, és a mono- és oligoszacharidok előállítása során új módszereket ismertek fel a szénhidrátokkal képzett acetálok és ketálok előállítására.



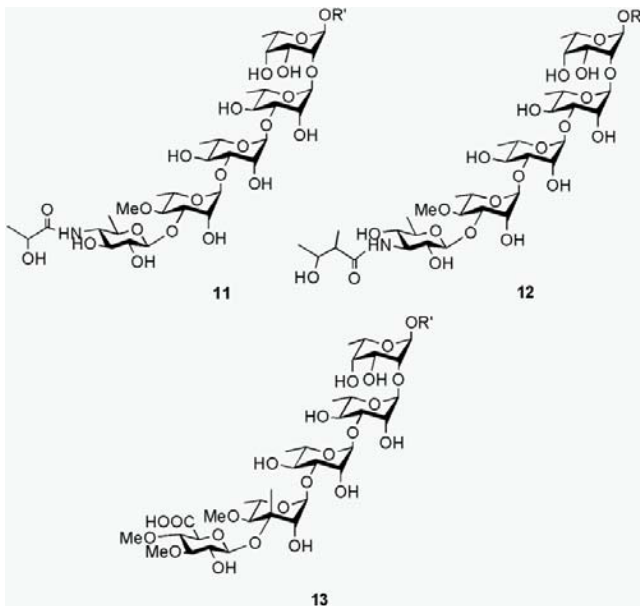
2. Ábra. 1,3-Dioxolán és 1,3-dioxán típusú benzilidén-acetálok szintézise.

Megfigyelték ugyanis, hogy a benzilidén-acetálok,¹⁷ valamint az izopropilidén-,¹⁸ és a metil-fenil ketálok¹⁹ előállítása legkedvezőbben a megfelelő oxovegyületek dimetilacetál- illetve ketáljaiból savkatalizált cserereakcióval valósítható meg. A körülmények megfelelő megválasztásával oldószer nélkül a dioxolán gyűrűs benzilidén acetálok előállításakor elérték, hogy a kinetikus kontroll érvényesült és csak az *endo*-fenil izomér (**2**→**3 endo**),²⁰ a dioxán-típusú acetálok esetében pedig kizárólag a termodinamikailag stabilabb izomér (**4**→**5**) keletkezett (2. ábra). E származékok szintetikus jelentőségét az adta meg, hogy mind a dioxolán, mind pedig a dioxán gyűrűt fémhidridekkel Lewis- vagy protikus-savak jelenlétében az 3. ábrán bemutatott *regio*-, *sztereo*- és *kemoszelektív* módon lehetett felnyitni.²¹

*Tel.: +36-52-512900/22471; e-mail: antus.sandor@science.unideb.hu



3. Ábra. 1,3-Dioxán és 1,3-dioxolán típusú benzilidén-acetátok regioselectív gyűrűnyitási reakciói.

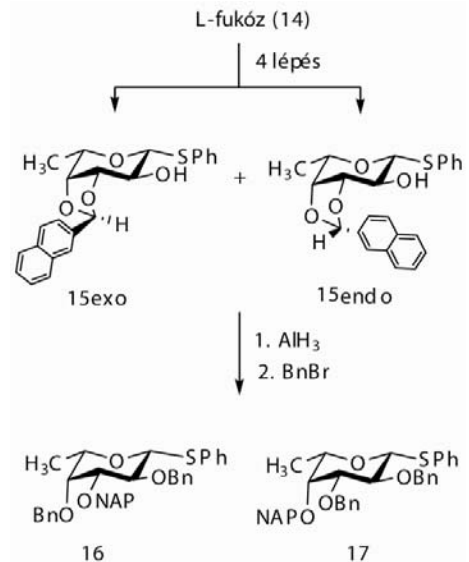


4. Ábra. *Mycobacterium avium* komplex 12-es (11), 17-es (12) és 19-es (13) szerovariánsának sejt felszíni antigénjei.

E módszerrel nyerhető vegyületek alkalmas akceptoroknak bizonyultak biológiailag aktív oligoszacharidok, így például a *Mycobacterium avium* 12-, 17- és 19-es (11-13) szerovariánsok sejt felszíni pentaszacharid antigénjeinek a szintézisének is²² (4. ábra). Minthogy e baktériumok súlyos fertőzéseket okoznak mind a legyengült immunrendszerű szervátültetett, mind pedig a HIV-fertőzött betegeknél, így a szintetikus antigénekből előállítható glikokonjugátumoknak nagy gyógyászati jelentősége van.

E kutatások számottevő szélesítésére adott lehetőséget, hogy az MTA 1996-ban a Biokémiai Tanszéken Lipták András

akadémikus irányításával Szénhidrátkémiai Kutatócsoportot hozott létre, és ezt követően hatalmas ismeretanyag gyűlt össze különösen a megfelelő védőcsoport-stratégia és kapcsolási módszer megválasztását illetően.^{22,23} Szintetikus szempontból különösen jelentős előrelépést jelentett, hogy sikerült a fentebb említett sztereoselectív védőcsoport-stratégiát a szénhidrátok dioxán- és dioxolán-típusú (2-naftil)metilén acetáljaira is kiterjeszteni és így például az L-fukózból (14) könnyen nyerhető dioxolán acetátok (*exo*-15 és *endo*-15) regioselectív gyűrűfelnyitásával a 16 és 17 (2-naftil)metil (NAP) étereket állították elő^{24,25} (5. ábra).

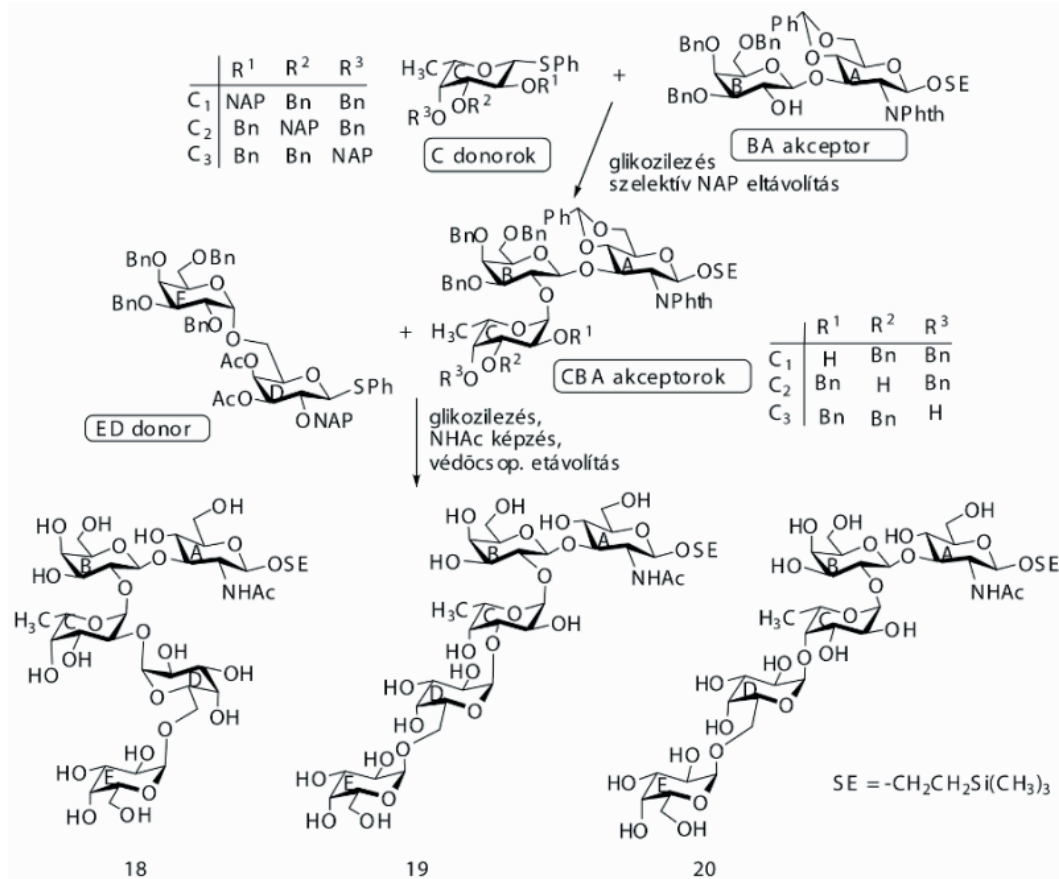


5. Ábra. Szénhidrátok (2-naftil)metilén-acetáljainak regioselectív felnyitása.

E védőcsoportok különlegessége az, hogy a *p*-metoxibenzil-étereknél kevésbé savérzékenyek, de hidrogenolízissel benzil-éterek, vagy -észterek mellett is lehasíthatók, DDQ-val (2,3-diklór-5,6-diciano-1,4-benzokinon) pedig könnyen eltávolíthatók acetyl, pivaloily, ftalamido, benzil és benzilidén csoportok jelenlétében is.

2005-ben Lipták akadémikust „*professor emeritus*”-á nevezték ki. Ezt követően a kutatócsoport a tanszékünkre került át és szakmai tanácsaira nap mint nap támaszkodva a kutatások a vezetéssel folytatódtak. A NAP védőcsoport előnyös sajátosságát használtuk ki a *Dictyostelium discoideum* talajlakó nyálkagomba glikoprotein szénhidrát részének egyértelmű szerkezetigazolásánál is. A 6. ábrán bemutatott 3+2 blokk szintézissel jutottunk a 18-20 pentaszacharid regioizomerekhez,²⁶ melyek összehasonlítása West és munkatársai által közöltekkel²⁷ nemcsak a C és D cukoregység összekapcsolódásának egyértelmű meghatározását tették lehetővé, hanem utat nyitottak a glikozilezési folyamat biológiájának alaposabb tanulmányozása előtt is.

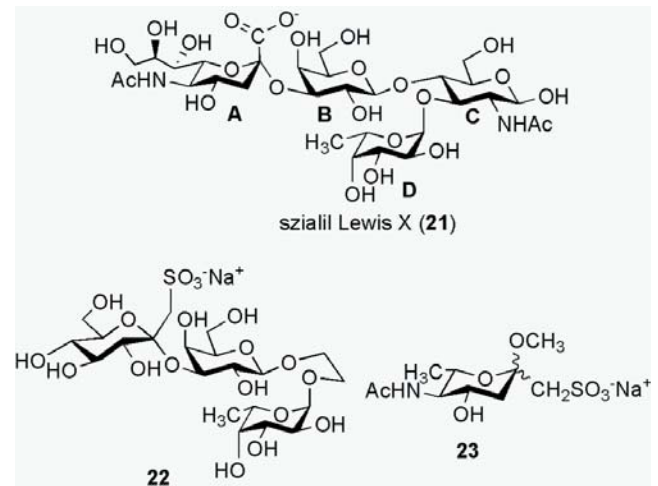
A szintézis kulcs lépése az *O*-(2-naftil)metil (NAP) csoportokat viselő donorok (C1-C3) és BA akceptor kapcsolása volt. Az így nyert triszacharidokat (CBA) kapcsoltuk a NAP csoportot is tartalmazó ED glikozil donorral, majd ezt követően a megfelelő védőcsoport-manipulációval már könnyen jutottunk a kívánt célvegyületekhez (18-20) (6. ábra).



6. Ábra. A *Dictyostelium discoideum* glikoprotein-pentaszacharid regioizomereinek szintézise.

A 90-es évek végén vált ismertté, hogy szénhidrát- fehérje adhézió alapuló fontos biológiai folyamatokban a szénhidrátok karboxil vagy szulfátészter csoportjai és a fehérjék bázikus csoportjai között kialakuló ionos kölcsönhatásoknak meghatározó szerepük van. Ilyen szénhidrát származék a szialil Lewis X (21) (7. ábra), amely gyulladásoz folyamatokban (pl. *Helicobacter pylori* által okozott gyomor- és nyombélfekély kialakulásában) játszik meghatározó szerepet. Hatásának eddig feltárt molekuláris háttere alapján joggal feltételezhető, hogy a mimetikumai potenciális gyógyszerek lehetnek ilyen típusú megbetegedések kezelésében. Ebben a reményben először a szialil Lewis X (21) pszeudotetraszacharid-mimetikumának (22) a szintézisére került sor^{28,29}. E vegyületben a szialil Lewis X (21) A-részt szulfonsavmetil-csoportot viselő heptulóz, a glükózamin-egységet (C) pedig az etilén-glikol híd molekula helyettesítette. Emellett számos cukor C-szulfonsav származék sztereoselektív szintézisét is kidolgoztuk, így például a *N*-acetyl-neuraminsav analógiáját (23) is³⁰ (7. ábra).

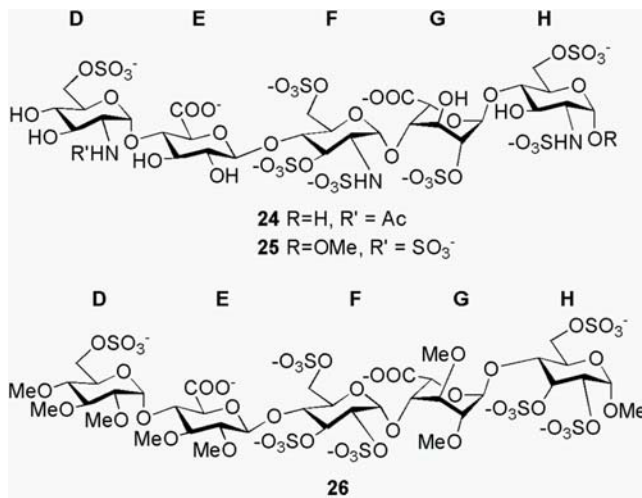
E származékok szintézise során szerzett tapasztalatok alapozták meg a heparin antitrombinkötő-pentaszacharid részének (24) szulfonsav-mimetikumaival kapcsolatos kutatásokat is. A heparin a gyógyászatban leghatékonyabban használt véralvadásgátló, glükózamin és hexuronsav (D-glükuronsav és L-iduronsav) egységekből felépülő polianionos lineáris poliszacharid, amely a sejtek felületén és az extracelluláris mátrixban proteoglikánok formájában fordul elő, és a fehérjékhez kötődve szabályozza azok biológiai működését. A kötődésért szulfátészter-



7. Ábra. A szialil Lewis X és szulfonsavmetil-csoportot tartalmazó származékai.

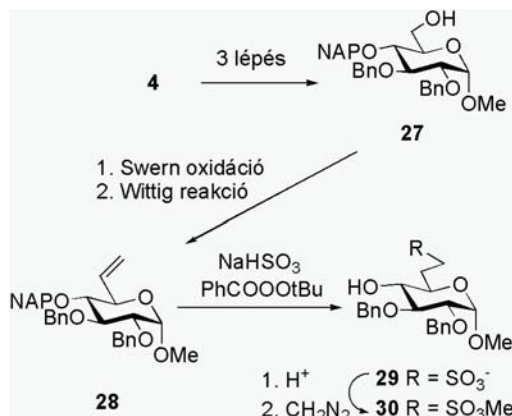
és karboxilcsoportjai, valamint az aminosavak bázikus csoportjai között kialakuló erős ionos kötések a felelősek. Az 1980-as években a DEFGH egységekből álló pentasacharidként (24) azonosították³¹ azon minimális részét, amely az antitrombin III fehérje (AT-III) aktiválásával a véralvadásgátló hatását kifejti (8. ábra). Arixtra néven a francia és holland kutatók által 55 lépéses kémiai szintézissel módosított analógja (25)³² véralvadásgátló gyógyszerként 2001 óta már forgalomban van. A nem glükózaminoglikán típusú Idraparinux (26) antikoagulánsról pedig a közelmúltban közölték,³³ hogy az aktivitása és

felezési ideje nagyobb a természetes pentaszacharidénál (25) és így a heparinnál hatékonyabb véralvadásgátló.



8. Ábra. A heparin DEFGH fragmentének és analógjainak szerkezete.

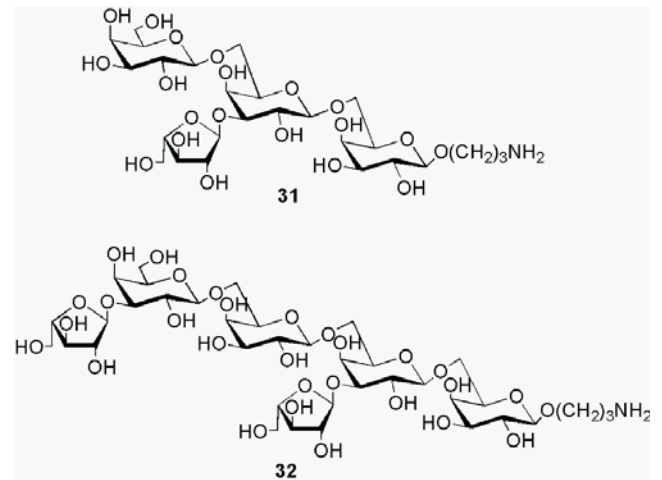
Ezen előzmények alapján kézenfekvő volt olyan oligoszacharidok szintézisét is megkísérelni, melyekben az Idraparinux (26) D és F glükózegységeiben lévő szulfátészter csoportok helyett egyenként, a bioizoszter metánszulfonsav csoportok vannak. Eddig a DEF-, EF- és GH-fragmentumok szulfonometil analógjainak szintézisét sikerült megvalósítani³⁴. A legnehezebb szintetikus feladat a különböző helyzetben szulfonometilézett H és F egységek glikozil akceptorként történő előállítását volt. A 9. ábrán a H egységnek megfelelő szulfonometilézett akceptor (30) előállítását mutatom be, melynek során a már fentebb is említett NAP-védőcsoport stratégiát sikerrel alkalmaztuk. Metil- α -D-glükopiranozidból (4) kiindulva három lépésben a 27 6-hidroxi- α -metil-glükozidot állítottuk elő, melyből Swern oxidációt követő Wittig reakcióval jutottunk a NAP csoporttal védett 6,7-telítetlen heptozidhoz (28). Ebből nátrium-hidrogénszulfid regioszelektív gyökös addíciójával a 2-naftilmetil (NAP) csoport hasítását követően jutottunk a 29 szulfonsav nátrium sójához, melyből két lépésben a kívánt szulfonsav-észtert (30) kaptuk meg.



9. Ábra. Az Idraparinux H egységének 6-szulfonsavmetil mimetikuma.

Számos gyógynövény, mint például az *Echinacea purpurea* (lángvörös kasvirág) immunstimuláló és antimetasztikus hatásáért a szöveteiben található arabinogalaktánok (AGPs) a felelősek. Szerkezetfelderítésük kapcsán számos arabinofuranozil elágazást hordozó arabinogalaktán

származékot állítottak már elő és a biológiai hatásukat is tanulmányozták.³⁵⁻³⁸ E kutatás folytatásaként a közelmúltban a 3,6 elágazású arabinogalaktánok szintézisével foglalkoztunk és 3-aminopropil kapcsolóelemet hordozó 31 tetra- és 32 hexaszacharidot állítottunk elő (10. ábra).³⁹



10. Ábra. 3,6-elágazású arabinogalaktánok szerkezete.

A teljesség igénye nélkül, a fentebb ismertetett eredmények talán meggyőzően igazolják, hogy Debrecenben Tankó professzor által megalapozott és Bognár akadémikus által a „Zemplén iskola” hagyományival megtermékenyített szénhidrátkémiai kutatások napjainkban is eredményes folynak. Meggyőződésem, hogy e kutatások nemcsak jó lehetőséget adtak a hallgatóknak a szintetikus szerves kémia elmélyültebb művelésére, hanem a többnyire biológiailag aktív vegyületek előállítását, hatás és szerkezeti összefüggéseik vizsgálata során megélhették a felfedező gyógyszerkutatás örömeit is.

Köszönetnyilvánítás

Őszinte köszönetemet szeretném kifejezni Lipták András akadémikus úrnak, hogy a szénhidrátkémiai kutatások rejtelmével megismerkedhettem, és munkatársaival átélhettem e terület alkotó örömeit. Megköszönöm Dr. Borbás Anikó tudományos főmunkatársnak, hogy munkámban segítségemre volt, és mindennapi tanácsaival a kutatócsoport munkáját hatékonyan elősegítette. Köszönöm Herczeg Mihály tudományos segédmunkatársnak a kézirat nyomdai előkészítésében nyújtott segítségét.

Hivatkozások

1. Tankó, B.; Robison, R. *Biochem J.* **1935**, *29*, 961-972.
2. Tankó, B. *Acta Physiol. Hung.* **1952**, *3*, 15-24.
3. Tankó, B. *Biochem J.* **1936**, *30*, 692-700.
4. Gaál, Gy. (szerk.) *Kutatási eredmények 1950-1973, Jubileumi kötet Bognár Rezső hatvanadik születésnapjára*, Alföldi Nyomda, Debrecen, **1973**, 11-216.
5. Sztaricskai, F.; Pelyvás, I.; Bognár, R. *Magy. Kém. Lapja* **1986**, *41*, 147-161.
6. Sztaricskai, F. *Debreceni Szemle* **1999**, *2*, 229-250.
7. Nánási, P. *Az adenilsav rendszer kémiaja és biokémiaja. Egyetemi doktori értekezés (Témavezető: Prof. Dr. Tankó, B.) Debreceni Egyetem*, **1946**
8. Nánási, P. *A glükozilamin származékok kémiaja. Kandidátusi*

- értekezés (Témavezető: Prof. Dr. Bognár, R.) Debrecen, **1956**
9. Nánási, P.; Lenkey, B.; Tétényi, P. *Phytochem.* **1975**, *14*, 1755-1757.
 10. Lenkey, B.; Nánási, P.; Tétényi, P. *Planta Medica* **1981**, *43*, 409-411.
 11. Kandra, L.; Severeson, R.; Wagner, G. J. *Eur. J. Biochem.* **1990**, *188*, 385-391.
 12. Kandra, L.; Wagner, G. J. *Phytochem.* **1998**, *49*, 1599-1604.
 13. Kiss, L.; Berki, L.; Nánási, P. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1981**, *98*, 792-799.
 14. Kiss, L.; Dér, I.; Nánási, P. *Acta Biochim. Biophys. Acad.* **1984**, *19*, 7.
 15. Pócsi, I.; Kiss, L.; Nánási, P. *Biochem. Biophys. Acta* **1990**, *1039*, 110-118.
 16. Black, T.S.; Kiss, L.; Tull, D.; Withers, S. *Carbohydr. Res.* **1993**, *250*, 195-202.
 17. Harangi, J.; Lipták, A.; Oláh, V. A.; Nánási, P. *Carbohydr. Res.* **1981**, *98*, 165-171.
 18. Lipták, A.; Imre, J.; Nánási, P. *Carbohydr. Res.* **1981**, *92*, 154-156.
 19. Lipták, A.; Fügedi, P. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1983**, *22*, 255-256, *Angew. Chem.* **1983**, *95*, 245, *Angew. Chem. Suppl.* **1983**, 254
 20. Kerékgyártó, J.; Lipták, A. *Carbohydr. Res.* **1993**, *248*, 361-364.
 21. Lipták, A.; Jodál, I.; Nánási, P. *Carbohydr. Res.* **1975**, *44*, 313-325.
 22. Lipták, A.; Borbás, A.; Bajza, I. *Med. Res. Reviews.* **1994**, *14*, 1-11.
 23. Bajza, I.; Borbás, A.; Hajkó, J.; Lagas, R.; Szabovik, G.; Varga, Zs.; Lipták, A. *Magyar Kémikusok Lapja* **1996**, *51*, 464-475.
 24. Borbás, A.; Szabó, Z. B.; Szilágyi, L.; Bényei, A.; Lipták, A. *Carbohydr. Res.* **2002**, *337*, 1941-1951.
 25. Szabó, Z. B.; Borbás, A.; Bajza, I.; Lipták, A. *Tetrahedron: Asymm.* **2005**, *16*, 83-95.
 26. Szabó, Z. B.; Herczeg, M.; Fekete, A.; Batta, Gy.; Borbás, A.; Lipták, A.; Antus, S. *Tetrahedron: Asymm.* **2009**, *20*, 808-820.
 27. Teng-umnuay, P.; Morris, H.R.; Dell, A.; Panico, M.; Paxton, T.; West, C.M. *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 18242-18249.
 28. Borbás, A.; Szabovik, G.; Antal, Zs.; Herczegh, P.; Agócs, A.; Lipták, A. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 3639-3642.
 29. Borbás, A.; Szabovik, G.; Antal, Zs.; Fehér, K.; Csávás, M.; Szilágyi, L.; Herczegh, P.; Lipták, A. *Tetrahedron: Asymm.* **2000**, *11*, 549-566.
 30. Szabó, Z. B.; Borbás, A.; Bajza, I.; Lipták, A.; Antus, S. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 1196-1198.
 31. Thunberg, L.; Backström, G.; Lindahl, U. *Carbohydr. Res.* **1982**, *100*, 393-410.
 32. van Boeckel, C. A. A.; Petitou, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1993**, *32*, 1671-1690.
 33. Petitou, M.; van Boeckel, C. A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 3118-3133.
 34. Herczeg, M.; Lázár, L.; Borbás, A.; Antus, S.; Lipták, A. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 2619-2622.
 35. Csávás, M.; Borbás, A.; Jánossy, L.; Batta, G.; Lipták, A. *Carbohydr. Res.* **2001**, *336*, 107-115.
 36. Csávás, M.; Borbás, A.; Szilágyi, L.; Lipták, A. *Synlett* **2002**, 887-890.
 37. Csávás, M.; Borbás, A.; Jánossy, L.; Lipták, A. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 631-635.
 38. Classen, B.; Csávás, M.; Borbás, A.; Dingermann, T.; Zündorf, I. *Planta Medicina* **2004**, *70*, 861-865.
 39. Fekete, A.; Borbás, A.; Antus, S.; Lipták, A. *Carbohydr. Res.* **2009**, *344*, 1434-1441.

Carbohydrate chemistry at University of Debrecen

The review briefly summarizes the main research topics and the most important results of the Research Group for Carbohydrates of the Hungarian Academy of Sciences between 1996 and 2010.

It outlines the historical origin of carbohydrate chemistry in Debrecen (Prof. Béla Tankó, Prof. Rezső Bognár and Prof. Pál Nánási) and also presents the first regioselective reductive ring opening methodology of carbohydrate benzylidene acetals introduced by the founder of the Research Group, Professor András Lipták. The acetal-transformation reaction was utilized in the synthesis of a wide range of complex oligosaccharides of bacterial origin (**11-13**).

As an extension of this research the Group applied the regioselective opening method for the dioxolane-type (2-naphthyl)methylene acetal derivatives of phenyl-1-thio- α -L-fucoside (**15_{exo}** and **15_{endo}**) to obtain the regioisomeric (2-naphthyl)methyl ethers **16** and **17**. These building blocks were used for the synthesis of pentasaccharide constituents (**18-20**) of a mould glycoprotein.

Sialic acid-containing oligosaccharides are ligands for adhesion proteins (selectins) and human pathogenic bacteria (*Helicobacter pylori*), therefore their analogues might possess therapeutical importance. In order to obtain carbohydrates of potential anti-inflammatory or antibacterial activity sulfonatomethyl mimetics of sialic acid as well as of sialyl Lewis X tetrasaccharide (**22** and **23**) were prepared.

The synthetic heparinoid pentasaccharides fondaparinux (**25**) and idraparinux (**26**) display high anticoagulant activity by blocking the coagulation enzyme factor Xa. For the synthesis of new anticoagulant heparinoids 6-deoxy-6-sulfonatomethyl-containing building blocks (**29** and **30**) were prepared by means of Wittig reaction and subsequent sulfite radical addition using the (2-naphthyl)methyl-protected intermediers **27** and **28**.

Synthesis of tetra- and hexasaccharide components (**31** and **32**) of the highly branched immunostimulant arabinogalactanes of plant origin have been also carried out recently.