

BÍRÁLAT

Dr. Borbás Anikó

Biológiailag aktív oligoszacharidok és analogonjaik szintézise

című
akadémiai doktori értekezéséről

Dr. Borbás Anikó akadémiai doktori értekezésében a PhD fokozata (1997) megszerzése után végzett munkáját foglalja össze. Az értekezés 20 publikációra épül, egy-két kivételtől eltekintve valamennyi jó színvonalú nemzetközi folyóiratban jelent meg. Dr. Borbás Anikó munkáját Debrecenben, az eredetileg a Kossuth Lajos Tudományegyetem Biokémia Tanszékén Dr. Lipták András vezetésével létrejött, majd számos reinkarnáción keresztül ment, végül, sajnálatos módon, megszűnt MTA Szénhidrátkémiai Kutatócsoportban végezte. Kutatómunkáját kezdetben Dr. Lipták András irányításával, majd később önállóan folytatta, de az utolsó időszakban már a kutatócsoport tényleges szakmai irányítója volt. Az értekezés alapját képező közlemények lefedik a kutatócsoport főbb kutatási területeit és publikációinak többségét.

Az értekezés témaköre, a biológiailag aktív oligoszacharidok és analogonjaik, mimetikumaik szintézise mindenképpen indokolt és aktuális kutatási terület. Valójában a szénhidrátkémiai kutatások túlnyomó része az egész világon ebbe a széles kategóriába sorolható, így aztán az ördög a részletekben rejlik, vagyis a kutatási téma fontosságának megítélése, csak a konkrétan vizsgált biológiai probléma, és a hozzá kapcsolódó kémiai megközelítés hatékonysága, újszerűsége alapján ítéltethető meg.

A 124 oldalas, 186 irodalmi hivatkozást tartalmazó értekezés négy fő részre tagozódik. Egy rövid bevezetést követően három fejezetben ismerteti a dolgozat tényleges tárgyát képező területeket:

- Növényi arabinogalaktánok oligoszacharid egységeinek szintézisét;
- Sziálsav tartalmú oligoszacharidok szulfonsav mimetikumainak előállítását;
- Heparin oligoszacharidok szulfonsav mimetikumainak szintézisét.

Ez utóbbi fejezetek hármas tagolásúak. Előbb a terület biológiai hátterét tárgyalja röviden, amit a szintetikus előzmények bemutatása után a saját vizsgálatok ismertetése követ. Ez a tárgyalásmód részint megkönnyíti a szakterületen járatlan olvasó számára a munka megértését, másrészt jó lehetőséget ad a Jelöltnek saját munkájának szélesebb perspektívába helyezésére, de ugyanakkor lehetőséget nyit a saját eredmények fokozott kihangsúlyozására is.

A dolgozat nem tartalmaz a hagyományos értelemben vett célkitűzést. Ezt egy oldalról feltétlenül pozitívan értékelendő, hiszen valószínűleg senki előtt nem ismeretlen az a gyakorlat, melyben a konkrét célkitűzések az eredmények megszületése után utólag, a dolgozat írásakor fogalmazódnak meg. A bíráló dolgát ugyanakkor ebben az esetben meg is nehezíti, hiszen tisztázatlan marad, hogy az elvégzett munka tényleges célja az egyes biológiai területeken felmerült problémák megoldásához való érdemi hozzájárulás volt, például volt-e a remélt biológiai hatás tényleges mértékével definiált cél, vagy a munka tényleges hajtóereje valójában a kémiai szempont, abban a reményben, hogy ha a szintetizálendő vegyületek és a kidolgozandó módszerek esetleg a biológiai probléma megoldásához is hasznosak, az csak bónusz. Az értekezésben összefoglalt munka alapvetően szintetikus kémiai jellegű, bírálatomban ezért a szintetikus kémiai munkára fogok fókuszálni, ugyanakkor szükségesnek tartom, hogy a Jelölt megközelítési módja miatt a kémiai biológiai résszel kapcsolatban is néhány megjegyzést tegyek.

A munka érdemi részét tárgyaló első részben a növényi arabinogalaktánok szintézisével kapcsolatos munkáját ismerteti. Célvegyületei az *Echinacea purpurea* immunstimuláns hatásaért felelősnek vélt β -(1 $\rightarrow$ 6)-kötésű D-galaktán O-2-n β -L-arabinofuranózzal, vagy β -(1 $\rightarrow$ 5)-arabinofuranozil-arabinofuranózzal szubsztituált származékai. Védőcsoport-stratégiáját eredetileg a 2,2-dimetoxipropánnal kapott acetálozásokban a KLTE Biokémia Tanszékén korábban megfigyelt metoxi-izopropil (MIP) acetál képződésre alapozza, és a MIP csoportot próbálja meg oligoszacharid szintézisekben alkalmazni. A MIP csoport, korántsem váratlan, nagyfokú savérzékenysége miatt a szintézis-stratégiát többször is módosítja, de végül is sikeresen megvalósítja összesen hét, triszacharidtól nonaszacharidig terjedő méretű β -(1 $\rightarrow$ 2)-arabinofuranozil vagy di-arabinofuranozil oldalláncot tartalmazó β -(1 $\rightarrow$ 6)-galaktán oligoszacharid szintézisét. A dicséretes szintetikus munka sikerességét sajnos nem koronázzák a biológiai eredmények, hiszen időközben az arabinogalaktán szerkezetét revideálták, az arabinozil oldalláncok nem az O-2 hanem az O-3 helyzetben kapcsolódnak a galaktánhoz. Ez, azonban, természetesen nem von le semmit a szintetikus kémiai érdemeiből, hanem sokkal inkább jelzésértékű azokat a kockázatokat tekintve, amik a szintetikus vegyész számára jelentkeznek egy kémiai biológia projektben. (Ezekkel kapcsolatban talán nem felesleges Kuzmann János bon mot-jára emlékeztetnem: „A szintetikus kémikus számára a gyógyszerkutatásban csak két esetben válik problémássá a helyzet. Az egyik eset, ha hatásos vegyületet szintetizál, a másik, ha hatástalant.”)

A MIP acetálok védőcsoportként történő hasznosítását más területen is vizsgálja és sikeresen előállítja a ciklodextrinek szimmetrikusan 2,6-di-O-MIP-szubsztituált származékait.

A dolgozat másik vonulatát a különböző karbonsav vagy szulfát csoportot tartalmazó biológiailag aktív oligoszacharidok anionos csoportja helyett szulfonsavat tartalmazó analogonjainak szintézise alkotja.

A szialsav tartalmú lektin ligandumokkal foglalkozó rész első alfejezetében a szialil Lewis^x tetraszacharid olyan analógjainak a szintézisét ismerteti, amelyek az *N*-acetilneuraminsav helyett egy olyan *D*-glüko konfigurációjú monoszacharidot tartalmaznak, amelyben az anomer szénatomon lévő karboxil csoportot egy metilénszulfonil csoport helyettesíti. Védett *D*-glükonolakton származékból jó hozamú szintézis utat dolgoz ki a védett ulóz-2-onsav metilénszulfonil analogonjának a szintézisére. A szulfonsav tartalmú donorokkal végzett glikozilezés problémáinak leküzdése után végül is két szialil Lewis^x pszeudo-oligoszacharid analogont szintetizál szabad formában. (Szerepel a fejezetben egy további, az eredeti szerkezethez sokkal közelebb álló védett oligoszacharid (**162**) szintézise is, e vegyület esetében azonban a nem-védett oligoszacharid előállításának nem találtam nyomát.)

A szulfonsav tartalmú glikozil donorral történő glikozilezések nemcsak a hozamok, és mellékreakciók, hanem a reakcióban képződő anomerek konfigurációjának meghatározását illetően sem egyszerűek. Dr. Borbás Anikó igényességét jelzi, hogy NMR spektroszkópiával részletesen vizsgálja e konfiguráció meghatározásának lehetőségeit a háromkötéses C-H heteronukleáris csatolási állandó mérésével.

A szialsav analogonok következő alfejezetében *L*-fukózból kiindulva olyan vegyületeket állít elő, amelyek mind konformációjukat, mind funkciós csoportjaikat tekintve közelebb állnak az *N*-acetilneuraminsavhoz a korábban szintetizált származéknál.

A negyedik alfejezetben laktózból kiindulva a 3'-szialillaktóz egy, és a laktóz-3'-szulfát két szulfonsav mimetikumának szintézisét ismerteti. E vegyületeket a *Helicobacter pylori* fertőzések gyógyításában véli felhasználhatónak.

Az értekezés utolsó részében Jelölt a véralvadásgátló heparinoid szulfonsavak szintézisével kapcsolatos munkáját foglalja össze. A munka itt konkrétan az Idraparinux szulfonsav analogonjainak előállítását célozza. Ez a vegyület a heparin véralvadásgátlásáért felelős pentaszacharid gyógyszerként történő bevezetése után egy ideig, mint potenciális másodgenerációs termék, gyógyszerjelölt volt. Klinikai kipróbálásra is került, ám végül, kedvezőtlen farmakokinetikai tulajdonságai miatt a klinikai vizsgálatokat le kellett állítani. Az Idraparinux analogonok szintézisével kapcsolatban szintetizálja a pentaszacharid kisebb egységeinek szulfonsavval módosított mimetikumait, így 5 diszacharidot és 3 triszacharidot. A biológiai aktivitás szempontjából releváns pentaszacharid szinten egy diszulfonsav és egy triszulfonsav származék előállítását valósítja meg.

Az értekezés nagy mennyiségű, igényes szintetikus munkát foglal össze. További érdeme, hogy a munka jelentős része, értem ezen különösen a heparinnal kapcsolatos munkát, a szintetikus szénhidrátkémia egyik - mind metodikai, mind technikai szempontból - legnehezebb területén történt. Az ezen a területen elért eredményeket csak az tudja igazán értékelni, akinek magának is volt szerencséje (vagy balszerencséje) ezen a területen dolgozni.

Az értekezések bírálata általánosságban két dolgot takar: kritikát és értékelést. Mivel a dolgozatban foglalt munka már megjelent publikációkra épül, így keresztülment jelentős nemzetközi folyóiratok bírálóinak szakértő szűrőjén ezért észrevételeim, egy kivétellel, általános jelegűek.

Kémiai szempontból a dolgozat alapvetően két „kémiai gondolatot” jár körbe, mindkét esetben biológiai köntösbe elbújtatva. Az egyik a metoxi-izopropil (MIP) acetálok védőcsoportként történő alkalmazása, a másik a szénhidrátok szulfonsav származékainak szintézise és alkalmazási lehetőségei. Bár, természetesen mindkét témakör kutatásának lehet létjogosultsága, véleményem szerint nem tartoznak a szénhidrátkémia legégetőbb kérdései közé. Talán ennek is tudható be, hogy a disszertációban szereplő közleményekre viszonylag kevés hivatkozás történt. Metodikai újdonságként a munkából két reakciót tartok említésre méltónak: a piranózok exo-metilén származékaira történő sztereoszelektív hidrogénszulfid addíciót, és a (2-naftil)metil éterekkel kapcsolatos munkát. Meglepő módon, ez utóbbit a Jelölt „mostohagyerekként” kezeli, és míg a publikációk között két közlemény is ezzel kapcsolatos, a dolgozatban egyáltalán nem kerül ismertetésre.

Másik általános jellegű észrevételem, hogy a Jelölt oligoszacharid szintézisei során előszeretettel használja azt a régi szintézis-stratégiát, amelyben valamilyen funkcionizálatlan glikozil donorral (pl. acetobróm-glükózzal vagy -galaktózzal) glikozilez és az így kapott származékokat a további átalakításokhoz di- vagy triszacharid szinten számos lépésben újrafunkcionalizálja. Ez a stratégia, amely egy ideig egyetlenként létezett, a ma már széles körben rendelkezésre álló könnyen funkcionizálható glikozil donorok kifejlesztése után, napjainkra már szinte teljesen kiszorult. Hátrányai, egyebek között, hogy szükségtelenül megnöveli a szintézisek során az értékesebb „advanced stage” intermediereken végrehajtott lépések számát, a párhuzamos lépések rovására növeli a szintézisek szekvenciális lépéseinek arányát, és ezúttal időigényét. Így az arabinogalaktánok szintézise során a Jelölt számos di- illetve triszacharid modult szintetizál, minden esetben oligoszacharid szinten történő többlépéses funkcionizálással. Ugyanakkor az összes általa szintetizált vegyület, és minden egyéb további szerkezeti variáns, mindössze 2-3 egyszerűen, ráadásul egymásból előállítható galaktóz donorból is megoldható lett volna. Hasonló a helyzet a heparin oligoszacharidok terén is (88. ábra), ahol acetobróm-glükózzal előbb három különböző diszacharidot szintetizál, majd az egyes diszacharidokat további 7 lépésben alakítja a kívánt terméké. Egy gondosan tervezett, közös glikozil donorral mindhárom esetben jelentősen csökkenthető lett volna a diszacharid szinten végrehajtott lépések száma.

Mint korábban már említettem, a dolgozatban foglalt munka már átesett különböző folyóiratok bírálóinak szűrőjén. Bár a konkrét észrevételek ezért könnyen „kákán is csomót keresésnek” tűnhetnek, egy problémát, amely megütötte a szememet, és nem találtam rá magyarázatot sem a dolgozatban, sem a publikációban mégis szóvá kell tennem.

A 95. ábrán a **252** diszacharidot, amelynek mind a karboxil mind a szulfonsav csoportja metil észter formában védett, előbb Zemplén dezacetilezésnek, majd ezt követően NaH és MeI segítségével történő metilezésnek veti alá. Meglepő módon a metilezést követően a termékben (**254**) az eredetileg metil észterként védett csoportok szabad sav formájában jelennek meg. Hasonló a helyzet a 95. ábrán a **253**→**256** illetve a 96. ábrán a **251**→**258** + **259** átalakítások esetén is.

A dolgozat gyógyszerkutatási/kémiai biológiai aspektusait nem tartanám szerencsésnek részletesen bírálni. Megjegyzéseim/észrevételeim ezért csak egy konkrét problémára és egy általános kérdésre szorítkoznak.

Az *Echinacea purpurea* biológiai hatásosságát a 25. oldalon két érveléssel támasztja alá, nevezetesen, hogy az indiánok évszázadokon át használták, másrészt, hogy alkoholos kivonata gyógyszerárban kapható. Egy vérbeli szkeptikus számára mindkét érv eleve gyanúsnak tűnhet, számomra azonban először az alkoholos kivonat, és az arabinogalaktánok tulajdonságairól korábban a dolgozatban olvasottak és az abból következően várható oldhatóság közötti ellentmondás vetett fel problémát. Nevezetesen, hogy mi(k) is az *Echinacea purpurea* igazi hatóanyaga(i)? Egy rövid irodalomkeresés során, egy meglehetősen ellentmondásos területből kaptam ízelítőt, ahol egyre újabb és újabb kérdések merültek fel. Így aztán a következő kérdésekre kérnék választ a Jelölttől:

Bizonyított-e az *Echinacea purpurea* kivonatok *in vivo* hatásossága?

Ha igen, konkrétan milyen *in vivo* hatásokat fejt ki?

Melyek az *in vivo* hatásért felelős vegyületek?

Mi az arabinogalaktánok jelentősége ezek között?

A dolgozat biológiai vonatkozásaival kapcsolatos általános jellegű kérdésem: Mennyire vitte előre a munka az egyes konkrét részterületeken a biológiai problémák megoldását?

Összefoglalva megállapítom, hogy Dr. Borbás Anikó doktori dolgozatában új, nagy mennyiségű szintetikus munkáról számol be, a szintetizált célvegyületeknek biológiai vonatkozásai is vannak. Az elvégzett munka mennyisége és minősége messzemenően megfelel az MTA doktori cím követelményeinek. Ezért a dolgozat nyilvános vitára bocsátását, és sikeres megvédése esetén az akadémiai doktori cím odaítélését javaslom.

Budapest, 2013. május 6.

(Dr. Fügedi Péter)
a kémiai tudomány kandidátusa