mandity_449_26

**MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI**

# NAGYHATÉKONYSÁGÚ KÉMIAI ÁTALAKÍTÁSOK FEJLESZTÉSE ÉS ALKALMAZÁSA FOLYAMATOS ÁRAMLÁSÚ RENDSZEREKBEN: VÉDŐCSOPORT-ELTÁVOLÍTÁS, DEUTÉRIUMJELÖLÉS, ORGANOKATALÍZIS ÉS PEPTIDSZINTÉZIS

**MÁNDITY ISTVÁN**

SEMMELWEIS EGYETEM
SZERVES VEGYTANI INTÉZET

HUN-REN TTK
ANYAG- ÉS KÖRNYEZETKÉMIAI INTÉZET

2026

## Bevezetés és célkitűzések

A modern gyógyszerkutatásban egyre nagyobb igény mutatkozik új molekulák felfedezésére és előállítására, mivel a hagyományos hatóanyagok kémiai tere fokozatosan kimerül. Különös figyelem irányul a királis vegyületekre, amelyek esetében a térszerkezet döntően befolyásolja a receptorkötődést, a biológiai aktivitást és a farmakokinetikai viselkedést. A peptidalapú molekulák ebben a folyamatban kiemelt szerephez jutnak: szerkezeti változatosságuk, célzott hatásmechanizmusaik és természetes fehérjefunkciókat utánzó tulajdonságaik miatt a területen valódi reneszánsz figyelhető meg. A peptidmimetikumok és peptid-származékok ma már egyaránt jelen vannak terápiás és diagnosztikai alkalmazásokban.

Az új vegyületek felfedezését jelentősen felgyorsítja az áramlásos kémia (ÁK), amely pontosan szabályozható reakciókörülményeket, magas reprodukálhatóságot és biztonságos üzemeltetést kínál. Az ÁK rendszerekben olyan extrém hőmérsékleti, nyomás- és reagensfeltételek is alkalmazhatók, amelyek a hagyományos szakaszos technikákban alig vagy egyáltalán nem megvalósíthatók.

Kutatásunk célja a gyógyszeripar növekvő igényeire reagálva három ÁK technológiai irány fejlesztése volt: (*i*) hidrogenolízis és deuterálás kis molekulák gyors módosítására és izotópjelölésére, (*ii*) organokatalitikus ÁK folyamatok új királis építőegységek előállítására, valamint (*iii*) nagyhatékonyságú áramlásos peptidszintézis, amely természetes és mesterséges peptidmimetikumok gyors és zöld előállítását teszi lehetővé. E komplex megközelítéssel különböző kis molekulákat, peptideket és peptidmimetikumokat hoztunk létre, amelyek potenciálisan farmakológiai hatással rendelkezhetnek vagy természetes biológiai funkciókat képesek utánozni.

## Módszerek

Az ÁK hidrogénezési és deuterálási reakciókat ThalesNano H-Cube® reaktorban valósítottuk meg. A reakcióparaméterek precízen szabályozhatóak, ami gyors és reprodukálható reakcióoptimalizálást tett lehetővé; így a termékeket a reakció végén egyszerű bepárlással izoláltuk. Az ÁK organokatalízishez szükséges peptidkatalizátorokat manuálisan készítettük Fmoc/*t*Bu védőcsoport-rendszerrel TentaGel® és PS-MBHA gyantákon. Az immobilizált peptidkatalizátorokat TFA-só formában használtuk fel az organokatalitikus reakciókban, melyeket ugyancsak H-Cube® reaktorban valósítottunk meg. Az ÁK peptidszintézist TentaGel® R RAM gyantán hajtottuk végre 1,5 ekvivalens Fmoc-aminosav, DIC és OxymaPure® alkalmazásával az általunk fejlesztett reaktorban.

Az áramlásos reakciók eredményeként kapott termékeket NMR spektroszkópiával MS mérésekkel jellemeztük. Az optikailag aktív vegyületek esetén az *ee* értékek meghatározása királis normál fázisú HPLC-vel történt, a diasztereomer arány kiszámításához pedig a nyers termékek $^{1}$H NMR spektrumát használtuk. A peptidek és foldamerek szerkezetét is 1D és 2D NMR mérésekkel jellemeztük. A másodlagos szerkezet további igazolására ECD és FT-IR méréseket alkalmaztunk. Az önasszociációt és nano-/mikroszerkezeteket TEM-mel vizsgáltuk. A molekulamodellezést molekula mechanikai és *ab initio* szinteken végeztük.

## Új tudományos eredmények

### 1. ÁK hidrogénezési és deuterálási reakciók

Egyszerű és hatékony módszert dolgoztunk ki benzil- és benzilidén-védett szénhidrátok védőcsoportjainak eltávolítására ÁK hidrogénező reaktorral. Az eljárás sav- és bázislabilis funkciók mellett is jól működik, amit acetil- és szilil-származékok sikeres reakciói igazolnak. A magas hatékonyság, a gyors reakcióidő és az egyszerű feldolgozás miatt különösen vonzó a szénhidrátkémiában. [1]

Ezzel párhuzamosan többféle kiindulási anyagra alkalmazható deuterálási módszert is fejlesztettünk, amely nagyságrendekkel gyorsabb (1 mg/perc) a korábbiaknál, és akár 99%-os nyerstermék-tisztaságot biztosít. Elvégeztük különböző C−C és C−N többszörös kötést tartalmazó vegyületek deutériummal való telítését. A $D_2O$-fogyasztás minden esetben rendkívül alacsony, így a technológia költség-, idő- és anyagtakarékos. [2]

A módszert heterociklusos vegyületek deutériumjelölésére is kiterjesztettük. A heteroaromás gyűrűk telítése erélyesebb körülményeket igényelt, de a szubsztituensek jelenléte nem rontotta sem a konverziót, sem a deutériumbeépülést, így nagyszámú rokon vegyület gyors előállítása vált lehetővé. [3]

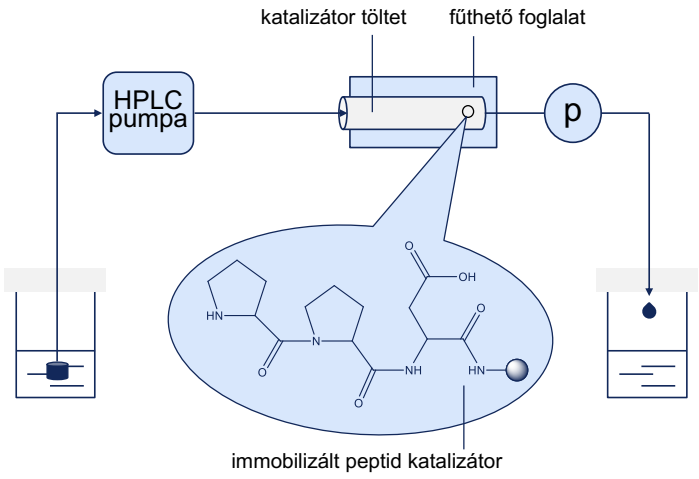
Kidolgoztuk az első palládiumkatalizált ÁK deuterodehalogénezést, amely csak magas hőmérsékleten és nyomáson, új, szférikus aktív szén hordozó és propilén-karbonát (PK) oldószer alkalmazásával adott teljes konverziót és >95%-os deutériumbeépülést. A brómtartalmú származékok kiváló eredményt adtak, a klórszármazékok szintén jól reagáltak. A fluoros vegyületeket viszont nem tudtuk reakcióba vinni, illetve a jódvegyületek mérgezték a katalizátort. Kiemelendő, hogy a benzilcsoport hidrogenolízise nem történt meg ezen erélyes körülmények között. [4]

## 2. ÁK organokatalitikus átalakítások

Elsőként valósítottuk meg γ-nitroaldehidek szelektív, aszimmetrikus szintézisét ÁK körülmények között, szilárd hordozóra rögzített peptidkatalizátorokkal. A katalizátorok előállítása és immobilizálása egy lépésben történt, ami jelentősen egyszerűsíti a folyamatot, lehetővé teszi az újrahasznosítást, a könnyű léptéknövelést és a termék gyors izolálását. A reakció optimalizálása a hozamot és a sztereoszelektivitást a szakaszos eljárásokkal azonos szintre emelte, lényegesen rövidebb szintetikus idők mellett. [5]

ÁK módszert dolgoztunk ki aszimmetrikus aldol reakcióra is, amelyben a peptidalapú organokatalizátor szilárd hordozós peptidszintézis (SzHPSz) eljárással készült és a szintézis során azonnal rögzítésre került. Mivel a lehasítás szükségtelen, nincs további feldolgozás vagy tisztítás, így ezért a módszer kimondottan fenntartható. Optimalizált körülmények között a β-hidroxiketonok magas hozammal és sztereoszelektivitással, mindössze 6 perces tartózkodási idő mellett készültek, miközben a katalizátor többször újrahasznosítható maradt. [6]

Harmadik fejlesztésünkben egyszerű, gyantára rögzített prolin–aszparaginsav dipeptid katalizátort alkalmaztunk aldehidek és DBAD reakciójában. Az ÁK technológia és a tartózkodási idő tudatos szabályozása együttesen tette lehetővé, hogy magas enantioszelektivitást és nagy hatékonyságot érjünk el, 90–99 % *ee* értékkel jellemezhető α-hidrazino alkoholok szintézisével. A heterogén katalizátor kiemelkedően stabilnak bizonyult: 20 órás folyamatos működés során sem mutatkozott deaktiválódás. Az eredmények igazolják, hogy a tartózkodási idő finomhangolása hatékony eszköz labilis konfigurációjú termékek aszimmetrikus előállításában. [7]



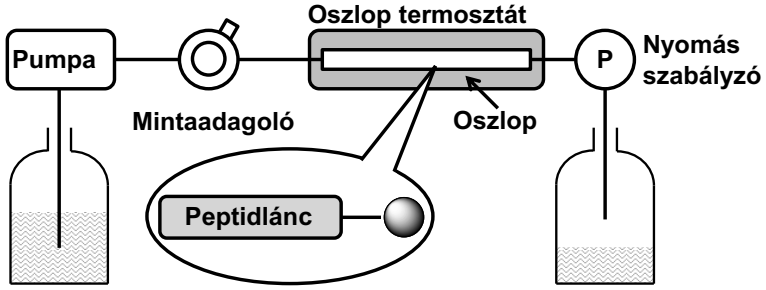

**1. ábra**

### 3. Nagy-hatékonyságú ÁK SzHPSz technika fejlesztése és szintetikus kiterjesztése

Rendkívül hatékony ÁK SzHPSz módszert fejlesztettünk ki, amely mindössze 1,5 ekvivalens aminosav alkalmazásával is közel kvantitatív konverziót biztosít kapcsolási lépésenként. Az ÁK reaktorral lehetővé vált a magas hőmérséklet és nyomás használata, ami jelentősen gyorsította az amidkötés képződését, miközben a kapcsolási és deprotektálási idők, valamint az oldószerfogyasztás is minimálisra csökkent. Optimalizált körülmények között mind a 20 proteinogén aminosavat sikeresen beépítettük, és nehezen szintetizálható peptidek esetében is kiváló tisztaságot értünk el. A módszer különösen értékes, mert aliciklusos oldalláncot tartalmazó β-peptid foldamereket is magas hozammal állítottunk elő, ami lehetővé teszi ritka, drága mesterséges aminosavak beépítését is rendkívül alacsony ekvivalencia mellett. [8]

Gyors és egyszerű ÁK peptidszintézist valósítottunk meg *N*-metilezett alanin- és valinszekvenciák előállítására. Az optimalizálás során igazoltuk, hogy a kapcsoláshoz általánosan elegendő 1,5 ekvivalens aminosav, így a módszer idő- és költséghatékony, illetve lényegesen kevesebb oldószert igényel. Lényeges előny, hogy az aminosavak gyantán történő *N*-metilezését teljesen kiiktattuk, így három szintézislépés volt megtakarítható. Változatos *N*-metilezett pentaalaninokat és nehéz szekvenciaként pentavalinokat készítettünk; utóbbiaknál a kiváló tisztaság eléréséhez DIC/Oxyma rendszer és 2 ekvivalens aminosav alkalmazása bizonyult optimálisnak. [9]

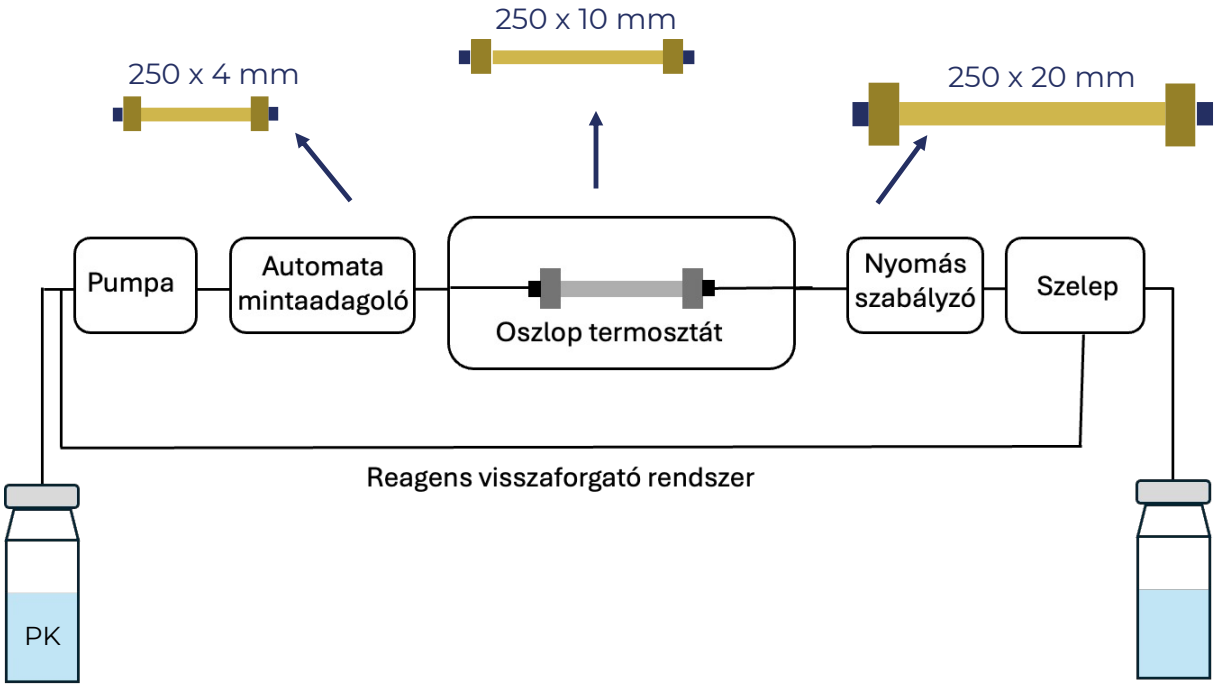
Az ÁK SzHPSz technológiával hatékonyan állítottunk elő teljesen védett peptideket is, gondos reakcióparaméter-optimalizálás után. A gyanta, a linker, a hőmérséklet és az aminosavfelesleg finomhangolásával a kapcsolási konverzió teljes lett, miközben a szintézis időtartama kevesebb mint felére csökkent a hagyományos módszerekhez képest. Az oldószerfelhasználás mintegy egy nagyságrenddel alacsonyabb, így az eljárás kiemelkedően környezetbarát. A módszer jól tolerálta a különböző védőcsoportokat, és sikeresen alkalmaztuk védett kalcitonin- és kortikotropin-fragmensek előállítására is. [10]




**2. ábra**

4. **Fentartható ÁK SzHPSz technika és amidkötés kialakítási módszerek fejlesztése**

Gyors, környezetbarát és léptéknövelhető ÁK szilárd hordozós technológiát fejlesztettünk ki peptidek és foldamerek előállítására PK oldószerrel. A cél a DMF fenntarthatóbb alternatívával való kiváltása volt; a PK négy α-peptid szintézisében is kiváló hozamot és tisztaságot adott. A módszer hatékonyságát további négy β-peptid foldamer és egy α/β-kiméra sikeres előállítása igazolta. Az eljárást >4 g-os mértékre is léptéknöveltük, rendkívül alacsony PK-felhasználással. A PMI értékek mindkét léptékben állandók maradtak (434–693), és ezek jól összevethetők a kis molekulák szintézisével. [11]




**3. ábra.**

Fenntartható ÁK eljárást dolgoztunk ki aminok szelektív *N*-acetilezésére, olcsó alumínium-oxid katalizátorral és ipari melléktermékként keletkező acetonitrillel mint kíméletes acetilező reagenssel. A módszer gyors (27 perces tartózkodási idő), költséghatékony és jó–kiváló konverziót ad aromás, valamint primer és szekunder alifás aminok esetében; kivételt csak a nitro-anilinek jelentettek. Kiemelten fontos, hogy a paracetamol hatóanyag nagy hozammal készült, és az enantiomertiszta 1-feniletil-amin acetilezése racemizáció nélkül zajlott. [12]

Emellett ÁK technológiával közvetlen amidképzést is megvalósítottunk alumínium-oxid és szén-diszulfid alkalmazásával. Tizenöt amid szintézisét végeztük el három karbonsav és öt amin felhasználásával, szinte teljes konverzióval, kiváló hozamokkal és minimális tisztítást igényelve. A katalizátor 30 futásig megőrizte aktivitását, és a reakciót 2 g-os léptékre is sikeresen léptéknöveltük. [13]



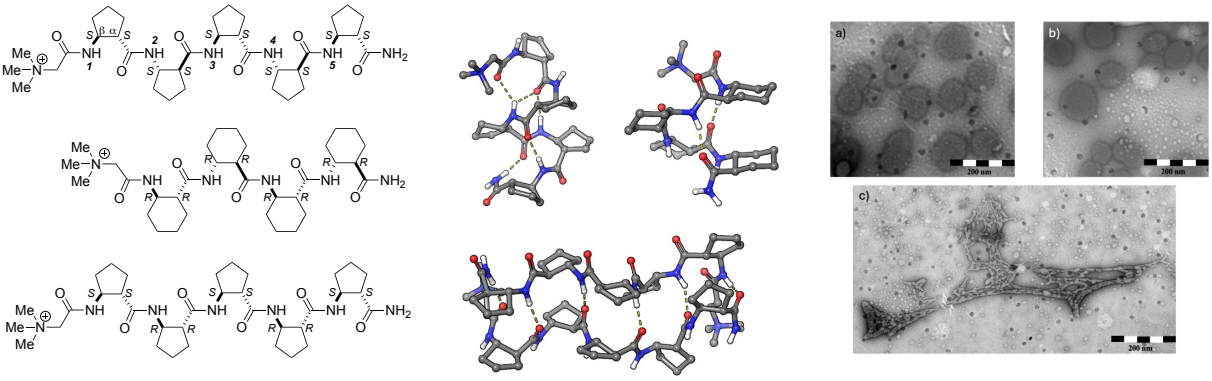

**4. ábra**

## 5. Nagyhatékonyságú ÁK SzHPSz technika alkalmazásainak kiterjesztése

A fejlesztett ÁK SzHPSz technológiánk lehetővé tette aromás oldalláncok beépítését H10/12 helikális β-peptidekbe, mellyel a másodlagos szerkezet extra stabilizálását tudtuk elérni. Az 1-amino-1,2,3,4-tetrahidronaftalin-2-karbonsav egységek alternáló, heterokirális, gyűrűs *cisz*-β-aminosavakból felépülő szekvenciákba illesztve CH–π kölcsönhatások kialakulását tették lehetővé, amit elméleti számítások is alátámasztottak. NMR és CD mérések igazolták a H10/12 hélix létét szerves oldószerekben, és elsőként sikerült stabil H10/12 hélixet kimutatni mindössze tetramer lánchossz esetén. Metanolban önasszociációval képződő vezikulák jelentek meg, melyek méretét az aromás oldalláncok számának növelése tovább fokozta. [14]

Az ÁK SzHPSz módszerünk lehetővé tette hat új pentamer β-peptid gazdaságos előállítását H14 hélixképző hajlamuk vizsgálatára. A központi diexo-3-aminobiciklo[2.2.1]hept-5-én-2-karbonsav vagy diexo-3-amino-7-oxabiciklo[2.2.1]hept-5-én-2-karbonsav egység konfigurációja meghatározta az önszerveződést: egy adott enantiomer építőelem H14 hélixet eredményezett, míg annak tükörképi párja konformációs torzulás miatt nem alakított ki helikális szerkezetet. A *Z*-dehidro-β-alanin merev, konjugált szakaszként szintén megnyúlt konformációhoz vezetett. [15]

A módszerünkkel PK oldószerben előállított, betainnal való konjugált vegyületek esetén a bevezetett kvaterner töltés jelentősen módosította a β-peptidek önrendeződését és oldhatóságát. Az [1*S*,2*S*]-2-aminociklopentánkarbonsav (ACPC) pentamer megtartotta H12 hélixet, de erős önasszociációt mutatott, 130–180 nm-es vezikulák alakjában. Az [1*R*,2*R*]-2-aminociklohexánkarbonsav tetramer esetében a betain konjugáció hatására a várt H10 helyett H14 hélix alakult ki, és már szonikálás után is ~200 nm-es vezikulák jelentek meg. Az alternáló, heterokirális ACPC pentamer oldhatósága nőtt, és a várt szálstruktúrához kapcsolódó, fibrinháló-szerű aggregátumok alakultak ki. [16]




**5. ábra**

## 6. Mesterséges proteinmimetikus kloridion transzporter konjugátum fejlesztése

Létrehoztuk a ConjuPepDB-t, az első szabadon hozzáférhető, átfogó adatbázist peptid–gyógyszer konjugátumokról. A gondos, manuálisan gyűjtött adatok tartalmazzák a konjugátum szerkezetét, CAS-számát, a peptid és a gyógyszermolekula nevét, a farmakológiai alkalmazást és a kovalens kapcsolódást biztosító kötéstípust. A jelenlegi 1645 bejegyzés 238 publikációból és 95 folyóiratból származik, és az egyik legteljesebb forrás ezen a gyorsan fejlődő kutatási területen. [17]

Létrehoztuk a CPP1708 adatbázist is, amely jelenleg a legnagyobb és legmegbízhatóbb sejtmembrán penetráló peptid (CPP) gyűjtemény. Erre építve fejlesztettük a GraphCPP modellt, egy gráf neurális háló alapú predikciós rendszert, amely a peptid molekuláris gráfjából automatikusan tanulja meg a topológiai és térbeli jellemzőket. A modell minden tesztelt paraméterben felülmúlta a korábbi módszereket, és különösen nagy pontossággal működik 40 aminosavnál rövidebb peptidek esetében. [18]

Teljes atomi molekula dinamikai (MD) szimulációkban vizsgáltuk CPP–gyógyszer konjugátumok membránkölcsönhatását. Teljes penetráció nem történt, de a penetratin jelentős szerkezeti átrendeződést és membránkötést mutatott, míg a merevebb analógok stabilak maradtak. A konjugált kismolekulák polaritása erősen befolyásolta a membránnal való kölcsönhatást. [19]

Kifejlesztettünk továbbá egy biokompatibilis, penetratin-alapú, tiokarbamid funkciós csoporttal konjugált kloridion-transzportert. A proteomimetikus konstrukció hatékony membránpermeabilitással és kloridszelektivitással rendelkezik, és alkalmas a CFTR-funkció sejtes pótlására. A vizsgált kisméretű könyvtárból a CLTR2 bizonyult leginkább megfelelőnek: mesterséges membránokon és sejtekben kiemelkedő transzportaktivitást mutatott, alacsony citotoxicitás mellett. NMR és MD vizsgálatok igazolták a kloridszelektivitást. Polarizált légúti hámsejteken a CLTR2 helyreállította a kloridáramot, dózisfüggően növelte a légúti felszíni

folyadék és a periciliáris réteg magasságát, miközben megőrizte a barrierintegritást. Xenopus oocitákon végzett mérések CFTR-független kloridáramot igazoltak, amelyhez a penetratin és a tiokarbamid egység egyaránt szükséges volt. [20]

## Referenciák

[1] Ekholm, F. S.; **Mándity, I. M.**; Fülöp, F.; Leino, R. Rapid, Simple, and Efficient Deprotection of Benzyl/Benzylidene Protected Carbohydrates by Utilization of Flow Chemistry. *Tetrahedron Letters* **2011**, *52*, 1839−1841. DOI: 10.1016/j.tetlet.2010.12.109.

[2] **Mándity, I. M.;** Martinek, T. A.; Darvas, F.; Fülöp, F. A Simple, Efficient, and Selective Deuteration via a Flow Chemistry Approach. *Tetrahedron Letters* **2009**, *50*, 4372−4374. DOI: 10.1016/j.tetlet.2009.05.050.

[3] Ötvös, S. B.; **Mándity, I. M.**; Fülöp, F. Highly Selective Deuteration of Pharmaceutically Relevant Nitrogen-Containing Heterocycles: A Flow Chemistry Approach. *Molecular Diversity* **2011**, *15*, 605−611. DOI: 10.1007/s11030-010-9276-z.

[4] Orsy, G.; Fülöp, F.; **Mándity, I. M.** Continuous-Flow Catalytic Deuterodehalogenation Carried Out in Propylene Carbonate. *Green Chemistry* **2019**, *21*, 956−961. DOI: 10.1039/C8GC03192D.

[5] Ötvös, S. B.; **Mándity, I. M.;** Fülöp, F. Highly Efficient 1,4-Addition of Aldehydes to Nitroolefins: Organocatalysis in Continuous Flow by Solid-Supported Peptidic Catalysts. *ChemSusChem* **2012**, *5*, 266−269. DOI: 10.1002/cssc.201100332.

[6] Ötvös, S. B.; **Mándity, I. M.**; Fülöp, F. Asymmetric Aldol Reaction in a Continuous-Flow Reactor Catalyzed by a Highly Reusable Heterogeneous Peptide. *Journal of Catalysis* **2012**, *295*, 179−185. DOI: 10.1016/j.jcat.2012.08.006.

[7] Ötvös, S. B.; Szloszár, A.; **Mándity, I. M.**; Fülöp, F. Heterogeneous Dipeptide-Catalyzed α-Amination of Aldehydes in a Continuous-Flow Reactor: Effect of Residence Time on Enantioselectivity. *Adv. Synth. Catal.* **2015**, *357*, 3671−3680. DOI: 10.1002/adsc.201500375.

[8] **Mándity, I. M.**; Olasz, B.; Ötvös, S. B.; Fülöp, F. Continuous-Flow Solid-Phase Peptide Synthesis: A Revolutionary Reduction of the Amino Acid Excess. *ChemSusChem* **2014**, *7*, 3172−3176. DOI: 10.1002/cssc.201402436.

[9] Szloszár, A.; **Mándity, I. M.**; Fülöp, F. Sustainable Synthesis of N-Methylated Peptides in a Continuous-Flow Fixed Bed Reactor. *Journal of Flow Chemistry* **2018**, *8*, 21−27. DOI: 10.1007/s41981-018-0002-9.

[10] Szloszár, A.; Fülöp, F.; **Mándity, I. M.** Accelerated Synthesis of Protected Peptides in a Continuous-Flow Fixed-Bed Reactor. *ChemistrySelect* **2017**, *2*, 6036−6039. DOI: 10.1002/slct.201701489.

[11] Varró, N.; Huszka, B. M.; Erdei, E.; Mándoki, A.; **Mándity, I. M.** Upscaled Synthesis of α- and β-Peptides in a Continuous-Flow Reactor Using Propylene Carbonate as an Eco-Friendly Solvent. *Chemistry-Methods* **2025,** *5*, e202500010. DOI: 10.1002/cmtd.202500010.

[12] Orsy, G.; Fülöp, F.; **Mándity, I. M.** N-Acetylation of Amines in Continuous-Flow with Acetonitrile—No Need for Hazardous and Toxic Carboxylic Acid Derivatives. *Molecules* **2020**, *25,* No. 1985. DOI: 10.3390/molecules25081985.

[13] Orsy, G.; Fülöp, F.; **Mándity, I. M.** Direct Amide Formation in a Continuous-Flow System Mediated by Carbon Disulfide. *Catalysis Science & Technology* **2020**, *10*, 7814−7818. DOI: 10.1039/D0CY01603A.

[14] **Mándity, I. M.;** Monsignori, A.; Fülöp, L.; Forró, E.; Fülöp, F. Exploiting Aromatic Interactions for β-Peptide Foldamer Helix Stabilization: A Significant Design Element. *Chemistry – A European Journal* **2014**, *20*, 4591−4597. DOI: 10.1002/chem.201304448.

[15] Nekkaa, I.; Bogdán, D.; Gáti, T.; Béni, S.; Juhász, T.; Palkó, M.; Paragi, G.; Tóth, G. K.; Fülöp, F.; **Mándity, I. M.** Flow-Chemistry-Enabled Efficient Synthesis of β-Peptides: Backbone Topology vs. Helix Formation. *Chemical Communications* **2019**, *55*, 3061−3064, DOI: 10.1039/C8CC10147G.

[16] Varró, N.; Erdei, E.; Bogdán, D.; Kalydi, E.; Deme, R.; Balogh, B.; Szigyártó, I. C.; Beke-Somfai, T.; Varga, Z.; Szabó, P.; **Mándity, I. M.** Betaine-Conjugated ß-Peptide Foldamers: Influence of Quaternary Charge on Self-Organization and Morphology Formation. *ChemistryOpen* **2025**, e202500340. DOI: 10.1002/open.202500340.

[17] Balogh, B.; Ivánczi, M.; Nizami, B.; Beke-Somfai, T.; **Mándity, I. M.** ConjuPepDB: a Database of Peptide–Drug Conjugates. *Nucleic Acids Research* **2020**, *49*, D1102−D1112. DOI: 10.1093/nar/gkaa950.

[18] Imre, A.; Balogh, B.; **Mándity, I. M.** GraphCPP: The New State-of-the-Art Method for Cell-Penetrating Peptide Prediction via Graph Neural Networks. *British Journal of Pharmacology* **2025**, *182*, 495−509. DOI: 10.1111/bph.17388.

[19] Ivánczi, M.; Balogh, B.; Kis, L.; **Mándity, I. M.** Molecular Dynamics Simulations of Drug-Conjugated Cell-Penetrating Peptides. *Pharmaceuticals* **2023**, *16*, No. 1251. DOI: 10.3390/ph16091251.

[20] Mándity, I.; Maléth, J.; Varga, Z.; Varró, N.; Bereczki-Szakál, D.; Basa-Dénes, O. *Peptide-based synthetic chloride ion transporters*, US Patent Office, US 62/944,606, filling date: 12/6/2019 (Assignee: Tavanta Therapeutics Hungary).