

## **Dr. Borbás Anikó „Biológiailag aktív oligoszacharidok és analogonjaik szintézise” című akadémiai doktori értekezésének véleményezése.**

Dr. Borbás Anikó doktori értekezésében azokat az eredményeket foglalta össze, amelyeket a szintetikus szénhidrátkémia területén a Debreceni Egyetemen az egyetemi doktori cím elnyerése (1997) után Lipták András akadémikus vezetésével elért. Szándékosan nem tértem ki a munkahelyek megnevezésére, mert ebben alighanem úgy járt, mint némely határon kívül rekedt honfitársunk, aki bár sohasem hagyta el szülőhelyét, a történelem és a sors jóvoltából mégis különböző országok állampolgára lett. Ennek analógiájára ő is váltott munkahelyet, annak ellenére, hogy ugyanazon egyetem ugyanazon kutatócsoportjának maradt mindvégig az egyik meghatározó, vezető egyénisége. Sőt. Lipták András egészségi állapotának fokozatosan romló állapota idején gyakorlatilag ő vette át a kutatócsoport szakmai irányítását. Szorgalmára, kitartására és tehetségére mi sem jellemzőbb mint az, hogy az említett területen mindvégig annak egyik legnehezebb és legmunkaigényesebb ágával, a különböző biológiailag aktív oligoszacharidok és analogonjaik szintézisével foglalkozott – még hozzá teljes sikerrel. Ezt mi sem bizonyítja jobban mint az, hogy ezalatt a 15 év alatt a munkájából 27 közleménye jelent meg nemzetközileg elismert, magas impaktfaktorú szakfolyóiratban, amelyek közül 20 képezi jelen értekezés tárgyát.

Értekezése elején egy nagyon jó 17 oldalas irodalmi áttekintést ad az oligoszacharidok biológiai szerepéről valamint szintézisük stratégiájáról, beleértve az alkalmazható védőcsoportokat, a glikozidos kötés kialakításának elméleti háttéréről és gyakorlati megvalósításáról. Ezt az összefoglalást érdemes lenne egy külön közleményben is publikálni, hogy mindazok a fiatal kezdő kutatók, akik a szénhidrátkémiával szeretnének foglalkozni tanulhassanak belőle.

A következő fejezetben a növényi eredetű arabinogalaktánok szintéziséről számol be. Először, miként a következő fejezetekben is, ismerteti a téma biológiai ill. élettani háttérét és a célvegyületek felépítését és szerepét a növényi sejtekben, valamint az emberre kifejtett kedvező, immunstimuláló hatását. Ezután a bonyolult szerkezetű poliszacharidok szerkezet felderítését

ismerteti és az ezzel párhuzamosan a világ több helyén megindult szintetikus munkát. Mivel a szerkezet felderítés bizonyos nyitott kérdéseket hagyott (mint pl. a poligalaktán lánchoz közvetve csatlakozó L-arabinofuranozil részek csatlakozásának a pontos helyét, ezek tisztázása is a szintetikus kémikusokra várt a megfelelő izomerek szintézise révén. A sors kegyetlen iróniája, hogy mind a külföldi csoportok, mind a debreceni csoport először a feltételezett 2-O-arabinofuranozidok sorozatát szintetizálta. Ezek közös vonása, hogy egy 1-6-helyzetben kapcsolódó poligalaktán láncból állnak, amely meghatározott helyen mono- ill. di-arabinofuranozil elágazásokat tartalmaznak. E munka során a jelölt a megfelelő szintézisstratégiák kidolgozásával számos oligoszacharidot állított elő, amelyek legnagyobb tagja 9 egységből állt, ami önmagában is elismerésre méltó teljesítmény. A szintézisek folyamán azonban több alacsonyabb móltömegű oligoszacharidot is előállítottak és ezek segítségével sikerült az *E. Purpurea* immunogén oligoszacharidjának a hatásért felelős szerkezeti egységét felderíteni. Mint az később a biológiai vizsgálatok során kiderült, a vegyületek nem mutatták a várt erősségű hatást, aminek az volt az oka, hogy a közben folyó szerkezet felderítések az eredeti koncepciót revideálták és azt állapították meg, hogy a természetes poliszacharidban az arabinofuranozil csoportok a galaktozid lánc egységek 3-helyzetű hidroxiljához kapcsolódnak. A munka ezután ebben az irányban folytatódott, de erről az értekezésben csak egy közlemény idézete árulkodik, további részletek ismertetése nélkül. Ezzel kapcsolatban tenném fel az első kérdést, nevezetesen azt, hogy itt abbahagyták a további munkát, mivel időközben külföldi csoportok már megoldották a megfelelő szerkezetű oligoszacharidok szintézisét, vagy szándékoznak-e újabb szintézis utakat kidolgozni ezen vegyületek előállítására?

Mivel az előbb említett szintéziseknél az izopropilidén csoportok bevezetésekor használt 2,2-dimetoxi propán néhány esetben vegyes, metoxidimetilmetil-acetálokat is szolgáltatott, ennek a reakciónak a kiterjesztésével a ciklodextrinek sorában sikerült olyan módszert kifejlesztenie, amely nagytisztaságú 3,6-diszubsztituált termékek előállítását is lehetővé tette.

Az értekezés következő fejezetében a szíálsav-tartalmú lektin ligandumok szulfonsav mimetikumainak a szintéziséről számol be, amelyek a



humán szervezetben előforduló, biológiailag fontos természetes anyagok bioizosztér analogonjai és ennek megfelelően potenciális szelektin-antagonisták. Ezt a fejezetet is egy megfelelő irodalmi áttekintéssel vezeti be, amelyben nemcsak az anyagok biológiai szerepéről, de az addig az irodalomban közölt szintézisekről is rendkívül jó átfogó képet ad.

A saját kitűzött kutatási célok eléréséhez természetesen először az eddig ismeretlen cukor-C-szulfonsavak előállítását kellett megoldani és erre több szintézist is kidolgozott. Ezek közül az ulóz-2-onsavak szulfonsav analogonjai azért érdekesek, mert segítségükkel a gyulladásgátló szialil Lewis X tetraszacharid szulfonsav tartalmú mimetikumát is sikerült előállítani. Ezzel az alfejezettel kapcsolatos a következő kérdésem: a 61. oldalon feltüntetett reakcióban, amelyben a 134 jelű donorral reagáltatja a 142 jelű akceptor pszeudo triszacharidot egy eliminációs melléktermék mellett csak a 3-O-glikozidot izolálja. Számomra nem világos ennek a nagyfokú regio szelektivitásnak az oka, hiszen az akceptor molekulában mind a 3-, mind a 4-helyzetű OH csoport szabad. Igaz, hogy utóbbi axiális térállású, de sztereokémiai talán kevésbé gátolt, mint ekvatoriális párja, amelynek a szomszédságában egy nagy térkitöltésű benziloxi csoport foglal helyet. Lehet, hogy ennek a nagy regio szelektivitásnak a magyarázata szerepel a megfelelő közleményben, de ez sajnos nem állt a bíráló rendelkezésére. (Itt jegyezném meg, hogy általában a doktori értekezésekhez - akár külön kötetben is - mellékelni szokták a saját eredményeket tartalmazó közlemények különlenyomatait, amelyekben a bíráló utánanézhethet az őt érdeklő részleteknek).

A következő alfejezetben a jelölt részletesen elemzi a ketozil-glikozidok NMR vizsgálatainak eredményeit és ennek során számos példa elemzéséből azt a következtetést vonja le, hogy a kvaterner szénatomot tartalmazó szénhidrátok anomer konfigurációját a három kötésen át ható csatolódások alapján csak akkor lehet egyértelműen megállapítani, ha a vizsgálathoz mindkét anomer rendelkezésre áll, mivel a megfelelő csatolási állandók különbsége meglehetősen kicsi és ráadásul szerkezetenként változik.

Az ezt követő részben az *N*-acetyl-neuraminsav szulfonsav mimetikumának L-fukózból kiinduló szintéziséről számol be, amelyben a neuraminsav karboxil csoportját a vele bioizosztér metilszulfonsavval

helyettesítette. Mintegy előtanulmányként a megfelelő 3-hidroxi modellvegyületet is szintetizálta, majd sikerrel megoldotta a célvegyület, azaz a 3-dezoxi származék szintézisét is. Utóbbi NAc-neuraminsav mimetikum a várakozásnak megfelelően mM-os koncentrációban enzimgátló hatást mutatott a *Clostridium perfringens* neuraminidázon.

A negyedik alfejezetben a gyomor és nyombélfekély kialakulásáért felelős *Helicobacter pylori* fertőzés gyógyításában felhasználható anionos di- illetve triszacharodok szintézisét ismerteti. Mivel ezek a vegyületek csak gyenge gátlást mutattak, a hatás növelése céljából a továbbiakban ezek BSA-konjugátumait tervezik előállítani.

Az értekezés utolsó nagy fejezetében a jelölt a véralvadásgátló heparinoid pentaszacharid-szulfonsavak szintézisét ismerteti. Az első 3 alfejezetben itt is először a heparin szerkezetét és szerepét illetve a véralvadásgátlás mechanizmusát ismerteti, beleértve azokat a szintetikus törekvéseket, amelyek célkitűzése egyszerűbb szerkezetű szintetikus antitrombotikumok előállítása volt. Ezek végül az idrapiranux nevű pentaszacharidhoz vezettek, amely eljutott egészen a klinikai vizsgálatok III. fázisába, de a túlságosan hosszú felezési ideje miatt esetenként fellépő vérzékenység következtében nem vált belőle gyógyszer.

A cukor szulfonsavak területén eddig szerzett tapasztalatok birtokában a jelölt azt a feladatot tűzte ki, hogy az idrapiranux olyan mimetikumait állítsa elő, amelyek abban különböztek az előbbtől, hogy a molekulában szimmetrikusan elhelyezkedő 3 glükopiranóz egység (D,F,H) terminális szénatomján elhelyezkedő O-szulfát csoportok közül kettőt, illetve mindhárom C-szulfát csoportokkal helyettesítse, azaz valódi bioizoszter származékokat állítson elő. Aki, mint magam is, belekóstolt a heparin analógok szintézisébe, az tisztában van azzal a kihívással, amelyet egy ilyen szintézis kidolgozása jelent. A jelölt először az ismert pentaszacharid új totálszintézisét ismerteti, amelyet a hozamok javítása céljából kétféle stratégia szerint is megoldott. A feladat nehézségét és bonyolultságát mi sem szemlélteti jobban, mint az, hogy itt egy 43 illetve 41 lépéses szintézisről van szó, amelynek eddig két variánsát írták le és ezek közül az első 42, a második 51 lépésből állt. Ezután rátért a bioizoszter származékok szintézisére, amelyeket nagyon elegáns módon, az (F,H) diszulfonsav esetében egy 24



lépéses, a (D,F,H) triszulfonsav esetében pedig egy 12 lépéses szintézissel oldott meg. A lépések száma persze megtévesztő, hiszen ezekhez a szintézisekhez számos korábban előállított intermediert is felhasznált, így realisabb lett volna egy 53, illetve 50 lépéses szintézisről beszélni. Az új vegyületek biológiai vizsgálata ahhoz a meglepő eredményhez vezetett, hogy míg a kétszeres szubsztitúció egy az eredeti molekulához képest aktívabb származékot eredményezett, addig a háromszoros szubsztitúció a hatás jelentős csökkenését vonta maga után. Ezt a jelölt konformációs okokra vezeti vissza, mivel ismert az irodalomból, hogy a biológiailag aktív eredeti pentaszacharid G-helyén szereplő iduronsav egység a  ${}^2S_0$  konformációt veszi fel. Ugyanez vonatkozik a diszulfonsav analógra is, míg a triszulfonsav esetében ugyanez az egység az NMR vizsgálatok szerint ettől eltérő konformációban van jelen. Elismerve utóbbi tényt, nem tudom ezt a különbséget megmagyarázni, hiszen az L-iduronsav két szomszédját képező szubsztituált glükopiranóz egység mindkét vegyületnél azonos, és csak a sokkal távolabbi, terminális glükóz egység szubsztitúciójában különbözik! Számomra nehezen értelmezhető, hogy míg a két szomszédos (F,H) egység szubsztitúció cseréje nincs hatással a kettejük által közrefogott iduronsav egység konformációjára, addig a távolabb levő (D) glükopiranózon végzett hasonló átalakítás ennyire befolyásolná ezt. Egyébként ennek az állításnak az alátámasztására szükség lenne a diszubsztitált analógok esetén a másik két lehetséges regioizomer, azaz az 1,6-helyzetű (D,H), valamint a 3,6-helyzetű (D,F) glükopiranóz egységen ugyanezt a szubsztitúció cserét végrehajtani, ami esetleg bizonyíthatja ezt a feltételezést.

**Összefoglalva megállapítom, hogy a Dr. Borbás Anikó által benyújtott értekezésben foglalt eredmények messzemenően megfelelnek egy akadémiai doktori értekezésnek és ennek megfelelően a magam részéről az elfogadását, valamint a nyilvános vitára való kitűzését és a doktori cím odaítélését egyértelműen javaslom és támogatom.**

Budapest, 2013, január 23.



Dr Kuzmann János  
A Kémiai Tud. Doktora