

C-3 epimer cukoraminosavak és új típusú foldamereik szintézise, szerkezetvizsgálata

Doktori értekezés



Készítette:

Nagy Adrienn

Témavezető:

Prof. Dr. Perczel András

D.Sc., egyetemi tanár, MTA rendes tagja

Hevesy György Kémia Doktori Iskola

Vezető: Prof. Dr. Császár Attila

Szintetikus kémia, szerves és biomolekuláris kémia doktori program

Vezető: Prof. Dr. Perczel András

Eötvös Loránd Tudományegyetem
Természettudományi Kar, Kémiai Intézet
Szerkezeti Kémia és Biológia Laboratórium

Budapest, 2019

Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Perczel Andrásnak azért, hogy szakmai vezetésének köszönhetően mélyebben is beleláthattam és beletanulhattam a kutatás módszertanába, hogy a preparatív szerves kémia mellett lehetőségem volt különböző spektroszkópiai módszerek megtanulására is. Továbbá szeretném megköszönni számos előremutató ötletét, tanácsát valamint azt, hogy több konferencián való részvételemet is támogatta.

Köszönettel tartozom korábbi témavezetőimnek, Zsoldosné Dr. Mády Virágnak és Dr. Pintér Istvánnak, akik vezetésével beletanultam a szénhidrátkémia rejtjelmeibe, és akik doktori munkám során is sok értékes tanáccsal láttak el.

Szeretném megköszönni Dr. Farkas Vikornak, hogy segítségével beletanulhattam a peptidkémia és megismerkedhettem a kiroptikai spektroszkópia egyes rejtjelmeivel is. Köszönöm számos hasznos tanácsát és ötletét.

Hálásan köszönöm közvetlen munkatársaimnak, Goldschmidtné Gőz Vikóriának és Szaniszló Szabasziánnak a tőlük kapott segítségeket, hasznos tanácsokat és az együttgondolkodás hasznos örömét.

Köszönöm Dr. Horváth Dánielnek és Dr. Láng Andrásnak a 700 MHz NMR spektrométer használatának megismertetését, valamint a spektrumok felvételénél és kiértékelésénél nyújtott szakmai segítségüket. Szeretném megköszönni Dr. Vass Elemérnek a VCD mérésekben nyújtott segítségét, Dr. Keszei Ernőnek pedig a reakciókinetikai kérdések terén adott hasznos tanácsait. Köszönettel tartozom Dr. Schlosser Gittának és Kapros Anitának az MS mérésekért, Taricska Nórának a HPLC-s tisztításban, valamint az ECD mérésekben nyújtott segítségéért.

Külön köszönöm Dr. Csizmadia Imrének hasznos tanácsait és konzultációit, amelynek során bevezetett a szakmai publikációk megírásának rejtjelmeibe.

Köszönettel tartozom az Alapítvány a Magyar Peptid- és Fehérjekutatásért, valamint a Richter Gedeon Centenárium Alapítvány 4-4 hónapos pénzügyi támogatásért, amely lehetővé tette, hogy lezárhassam doktori tevékenységemet.

Nem utolsó sorban, hálás köszönettel tartozom családomnak, páromnak és barátaimnak, akik tanulmányaim során végig mellettem álltak és támogattak.

Publikációk jegyzéke

1. B. Csordás, A. Nagy, V. Harmat, V. Zsoldos-Mády, I. Leveles, I. Pintér, V. Farkas, A. Perczel, Origin of problems related to Staudinger reduction in carbopeptoid syntheses.

Amino Acids **2016**, *48*, 2619-2633.

2. A. Nagy, B. Csordás, V. Zsoldos-Mády, I. Pintér, V. Farkas, A. Perczel, C-3 epimers of sugar amino acids as foldameric building blocks: improved synthesis, useful derivatives, coupling strategies.

Amino Acids **2017**, *49*, 223-240.

3. A. Nagy, V. Goldschmidt Gőz, I. Pintér, V. Farkas, A. Perczel, α/β -Chimera peptide synthesis with cyclic β -sugar amino acids: the efficient coupling protocol.

Amino Acids **2019**, *51*, 669-678.

4. V. Farkas, A. Nagy, D. K. Menyhárd, A. Perczel, Assignment of vibrational circular dichroism cross-referenced electronic circular dichroism spectra of flexible foldamer building blocks: towards assigning foldamers' pure chiroptical properties.

Chem. Eur. J. **2019**, DOI: 10.1002/chem.201903023.

5. V. Goldschmidt Gőz, A. Nagy, V. Farkas, E. Keszei, A. Perczel, Unwanted hydrolysis or α/β -peptide bond formation: How long the rate-limiting coupling step should take?

RSC Advances, **2019**, közlésre elfogadva

Rövidítések jegyzéke

2-Cl-Trt-Cl	2-klór-tritil-klorid
ABHC	2-amino-6,6-dimetil-biciklo[3.1.1]-heptán-3-karbonsav
ACBC	2-aminociklobutánkarbonsav
ACC	2-aminociklopropánkarbonsav
AcCl	acetyl-klorid
ACHC	2-aminociklohexánkarbonsav
Ac ₂ O	ecetsavanhidrid
AcOH	ecetsav
ACPC	2-aminociklopentánkarbonsav
Ac-RibAFU(ip)-NMe	<i>N</i> -metil-1,2- <i>O</i> -izopropilidén-3-acetamido-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronamid
Ac-RibAFU(ip)-NMe ₂	<i>N,N</i> -dimetil-1,2- <i>O</i> -izopropilidén-3-acetamido-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronamid
Ac-XylAFU(ip)-NMe	<i>N</i> -metil-1,2- <i>O</i> -izopropilidén-3-acetamido-3-dezoxi- α -D-xilofurán-uronamid
Ac-RibAFU(ip)-NMe ₂	<i>N,N</i> -dimetil-1,2- <i>O</i> -izopropilidén-3-acetamido-3-dezoxi- α -D-xilofurán-uronamid
ATFC	2-aminotetrahidrofuránkarbonsav
ATPC	2-aminotetrahidropiránkarbonsav
BAIB	diacetoxi-jódbenzol
Boc	<i>tert</i> -butil-oxi-karbonil
BOP	benzotriazol-1-il-oxi-trisz-(dimetilamino)-foszfónium hexafluorofoszfát
COSY	<i>Correlation Spectroscopy</i>
DBU	1,8-diazabicikloundec-7-én
DCC	<i>N,N'</i> -diciklohexil-karbodiimid
DIC	<i>N,N'</i> -diizopropil-karbodiimid
DCM	diklórmétán
DFT	sűrűségfüggvény elmélet
DIEA	diizopropil-etil-amin
DMAP	4-dimetilamino-piridin
DMF	<i>N,N</i> -dimetil-formamid

DMSO	dimetil-szulfoxid
(DPP)-IV	dipeptidil-peptidáz-IV
ECD	elektronikus cirkuláris dikroizmus spektroszkópia
EDCI	<i>N</i> -etil- <i>N'</i> -(3-dimetilaminopropil)-karbodiimid
ESI-MS	elektrospray ionizációs tömegspektrometria
EtOAc	etil-acetát
Ex-4	<i>Exendine-4</i>
Fmoc	9-fluorenil-metoxi-karbonil
Fmoc-GlcAPU(Me)-OH	Metil 2,3-di- <i>O</i> -benzil- <i>N</i> -(9-fluorenil-metoxi-karbonil)-4-amino-4-dezoxi- α -D-glükopiranozid
Fmoc-RibAFU(ip)-OH	1,2- <i>O</i> -Izopropilidén- <i>N</i> -(9-fluorenil-metoxi-karbonil)-3-amino-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronsav
Fmoc-XylAFU(ip)-OH	1,2- <i>O</i> -Izopropilidén- <i>N</i> -(9-fluorenil-metoxi-karbonil)-3-amino-3-dezoxi- α -D-xilofurán-uronsav
FTIR-ATR	gyengített totálreflexiós Fourier-transzformációs infravörös spektroszkópia
GPCR	G-fehérje-kapcsolt receptor
GPL-1	<i>Glucagon-like peptide 1</i>
HATU	1-[bis-(dimetilamino)-metilén]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinium 3-oxid hexafluorofoszfát
HMPTA	hexametilfoszfortriamid
HOAt	1-hidroxi-7-azabenzotriazol
HOBt	1-hidroxi-benzotriazol
H-RibAFU(ip)-OH, <i>tX</i>	1,2- <i>O</i> -izopropilidén-3-amino-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronsav
HPLC	nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia
H-XylAFU(ip)-OH, <i>cX</i>	1,2- <i>O</i> -izopropilidén-3-amino-3-dezoxi- α -D-xilofurán-uronsav
IBCF	izobutil-kloroformát
IEF-PCM	<i>integral equation formalism-polarizable continuum model</i>
Im ₂ SO ₂	<i>N,N'</i> -szulfuril-diimidazol
MDCA	<i>Multidimensional Conformation Analysis</i>
MCMM	<i>Monte Carlo Multiple Minimum</i>
MsCl	metánszulfonil-klorid
N ₃ -RibAFU(ip)-OH	1,2- <i>O</i> -Izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronsav
N ₃ -XylAFU(ip)-OH	1,2- <i>O</i> -Izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-xilofurán-uronsav

NMR	mágneses magrezonancia spektroszkópia
NOESY	<i>Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy</i>
Oxyrna	2-ciano-2-(hidroxiimino)-acetát
PCC	piridinium-kloro-kromát
PPII	poliprolin-II
Py	piridin
PyBOP	benzotriazol-1-il-oxi-tri-(pirrolidino)-foszfónium hexafluorofoszfát
ROESY	<i>Rotating Frame Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy</i>
RP-HPLC	fordított fázisú nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia
SPPS	szilárd fázisú peptidszintézis
TD-DFT	időfüggő sűrűségfüggvény elmélet
TEA	triethyl-amin
TEMPO	2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-il)oxil
TFA	trifluorecetsav
TFE	2,2,2-trifluor-etanol
Tf ₂ O	trifluormetánszulfonsav-anhidrid
THF	tetrahydrofuran
THP	tetrahidropirán
TOCSY	<i>Total Correlation Spectroscopy</i>
TsCl	<i>p</i> -toluolszulfonil-klorid
VCD	vibrációs cirkuláris dikroizmus spektroszkópia
VRK	vékonyréteg kromatográfia

Tartalomjegyzék

Köszönetnyilvánítás	2
Publikációk jegyzéke.....	3
Rövidítések jegyzéke	4
Tartalomjegyzék.....	7
1. Bevezetés	11
2. Irodalmi áttekintés	13
2.1. A GLP-1 és az Exendine-4 hatóanyagok.....	13
2.2. A foldamer monomerek és oligomerek.....	14
2.3. A cukoraminosavak.....	16
2.4. Az aminofurán-uronsav származékok előállítása	18
2.4.1. Az 1,2- <i>O</i> -izopropilidén- <i>N</i> -(9-fluorenil-metoxi-karbonil)-3-amino-3-dezoxi- α -D- ribofurán-uronsav (Fmoc-RibAFU(ip)-OH) (1) szintézise.....	18
2.4.1.1. Az <i>N</i> -terminális prekursor kialakítása	18
2.4.1.2. A <i>C</i> -terminális kialakítása	19
2.4.1.3. Az aminocsoport kialakítása és védelme.....	20
2.4.2. Az 1,2- <i>O</i> -izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-xilofurán-uronsav (N ₃ -XylAFU(ip)- OH) (27) szintézise	23
2.5. Hagyományos szilárd fázisú peptidszintézis	24
2.5.1. Aktív észtert képző kapcsoló reagensek	25
2.5.2. Kapcsolási mechanizmusok	27
2.6. Áramlásos rendszerű peptidszintézis („Flow Chemistry”)	28
2.7. Foldamerek szintézise és szerkezetvizsgálata	29
2.7.1. Cikloalkán gyűrűs β -aminosavat tartalmazó oligomerek szintézise és szerkezetvizsgálata.....	30
2.7.2. Cukoraminosavat tartalmazó oligomerek szintézise és szerkezetvizsgálata.....	34
3. Célkitűzések	38
4. Eredmények bemutatása és értékelése	40
4.1. Az 1,2-<i>O</i>-izopropilidén-<i>N</i>-(9-fluorenil-metoxi-karbonil)-3-amino-3-dezoxi-α-D- ribofurán-uronsav (Fmoc-RibAFU(ip)-OH) (1) méretnövelt szintézise	40
4.1.1. A 3- <i>O</i> -szulfonil-származékok előállítása.....	40
4.1.2. A szulfonát \rightarrow azid csere	41
4.1.3. Szomszédcsoport hatása a szulfonát \rightarrow azid cserére	43

4.1.4. A C-terminális kialakítása	45
4.1.5. Az N-terminális redukciója és Fmoc-védelmének kialakítása	46
4.2. Az 1,2-O-izopropilidén-N-(9-fluorenil-metoxi-karbonil)-3-amino-3-dezoxi-α-D-xilofurán-uronsav (Fmoc-XylAFU(ip)-OH) (2) méretnövelt szintézise.....	48
4.2.1. A Swern oxidáció	48
4.2.2. Az Fmoc-védett xilofurán-uronsav (2) előállítása	49
4.3. Modellvegyületek előállítása.....	51
4.3.1. A C-terminálison monometil-amidcsoportot tartalmazó modellvegyületek.....	51
4.3.2. A C-terminálison dimetil-amidcsoportot tartalmazó modellvegyületek.....	53
4.4. Homo- és heterooligomerek előállítása.....	54
4.4.1. A H-AtX-OH (65), valamint a H-GGtXGG-OH (68) szekvenciájú α/β -modell peptidek előállítása szilárd fázisú peptidszintézissel	55
4.4.2. Aktív észter képződésének és stabilitásának vizsgálata.....	61
4.4.3. A -GXXG- szekvenciájú α/β -modell tetrapeptidek előállítása	67
4.4.4. Homooligomerek előállítása	72
4.4.5. Homo- és heterooligomerek előállítása áramlásos rendszerű peptid-szintetizátorral	74
4.5. Az α- és β-aminosavakból képzett aktív észterek stabilitásának vizsgálata	76
4.6. Modellvegyületek, hetero- és homooligomerek vizsgálata kiroptikai spektroszkópiával	83
4.6.1. Modellvegyületek vizsgálata VCD/ECD spektroszkópiát és DFT számításokat ötvöző módszerrel	84
4.6.2. Hetero- és homooligomerek vizsgálata ECD spektroszkópiával	92
4.7. Homooligomerek vizsgálata 2D NMR spektroszkópiával	93
4.7.1. A hexamer (86) szerkezetvizsgálata.....	94
5. Kísérleti rész	98
5.1. Általános módszerek	98
5.2. Reagensek és kiindulási anyagok előállítása	99
5.2.1. N,N'-Szulfuril-diimidazol (90)	99
5.2.2. 1,2:5,6-Di-O-izopropilidén- α -D-glükofuranóz (6)	99
5.2.3. 1,2:5,6-Di-O-izopropilidén- α -D-allofuranóz (22)	99
5.3. Az 1,2-O-izopropilidén-N-(9-fluorenil-metoxi-karbonil)-3-amino-3-dezoxi-α-D-ribofurán-uronsav (1) és az 1,2-O-izopropilidén-N-(9-fluorenil-metoxi-karbonil)-3-amino-3-dezoxi-α-D-xilofurán-uronsav (2) szintézise.....	100

5.3.1. 1,2:5,6-Di- <i>O</i> -izopropilidén-3- <i>O</i> -(<i>N</i> -imidazol-1-szulfonil)- α -D-glükofuranóz (10)	100
5.3.2. 1,2:5,6-Di- <i>O</i> -izopropilidén-3- <i>O</i> -(<i>N</i> -imidazol-1-szulfonil)- α -D-allofuranóz (45) .	100
5.3.3. 1,2:5,6-Di- <i>O</i> -izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-allofuranóz (11).....	101
5.3.4. 1,2:5,6-Di- <i>O</i> -izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-glükofuranóz (26)	101
5.3.5. 1,2- <i>O</i> -Izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-allofuranóz (14).....	102
5.3.6. 1,2- <i>O</i> -Izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-glükofuranóz (46).....	102
5.3.7. 1,2- <i>O</i> -Izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-ribofuran-uronsav (13)	103
5.3.8. 1,2- <i>O</i> -Izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-xilofuran-uronsav (27)	104
5.3.9. 1,2- <i>O</i> -Izopropilidén-3-amino-3-dezoxi- α -D-ribofuran-uronsav (3).....	104
5.3.10. 1,2- <i>O</i> -Izopropilidén-3-amino-3-dezoxi- α -D-xilofuran-uronsav (4)	104
5.3.11. 1,2- <i>O</i> -Izopropilidén- <i>N</i> -(9-fluorenil-metoxi-karbonil)-3-amino-3-dezoxi- α -D- ribofuran-uronsav (1)	104
5.3.12. 1,2- <i>O</i> -Izopropilidén- <i>N</i> -(9-fluorenil-metoxi-karbonil)-3-amino-3-dezoxi- α -D-xilo- furan-uronsav (2).....	105
5.4. Szomszédcsoport hatásának vizsgálata	106
5.4.1. 1,2- <i>O</i> -Izopropilidén-3- <i>O</i> -toluolszulfonil- α -D-glükofuranóz (36)	106
5.4.2. 1,2- <i>O</i> -Izopropilidén-3- <i>O</i> -toluolszulfonil- α -D-allofuranóz (47)	106
5.4.3. 1,2- <i>O</i> -Izopropilidén-3- <i>O</i> -toluolszulfonil- α -D-ribofuran-uronsav (91).....	106
5.4.4. 1,2- <i>O</i> -Izopropilidén-3- <i>O</i> -toluolszulfonil- α -D-xilofuran-uronsav (41).....	107
5.4.5. 1,2- <i>O</i> -Izopropilidén-3- <i>O</i> -toluolszulfonil- α -D-ribofuran-uronsav metilészter (48)	107
5.4.6. 1,2- <i>O</i> -Izopropilidén-3- <i>O</i> -toluolszulfonil- α -D-xilofuran-uronsav metilészter (38)	107
5.4.7. Metil-3-dezoxi-1,2- <i>O</i> -izopropilidén-D-glicero-pent-3-enofuranuronát (40)	108
5.5. Észter származékok	108
5.5.1. 1,2- <i>O</i> -Izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-ribofuran-uronsav metilészter (92)...	108
5.5.2. 1,2- <i>O</i> -Izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-ribofuran-uronsav izopropilészter (93).....	108
5.6. Uronamid származékok	109
5.6.1. <i>N</i> -Metil-1,2- <i>O</i> -izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-ribofuran-uronamid (49).....	109
5.6.2. <i>N</i> -Metil-1,2- <i>O</i> -izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-xilofuran-uronamid (52).....	110
5.6.3. <i>N</i> -Metil-1,2- <i>O</i> -izopropilidén-3-amino-3-dezoxi- α -D-ribofuran-uronamid (50) ...	110
5.6.4. <i>N</i> -Metil-1,2- <i>O</i> -izopropilidén-3-amino-3-dezoxi- α -D-xilofuran-uronamid (53)....	110
5.6.5. <i>N</i> -Metil-1,2- <i>O</i> -izopropilidén-3-acetamido-3-dezoxi- α -D-ribofuran-uronamid (51)	111

5.6.6. <i>N</i> -Metil-1,2- <i>O</i> -izopropilidén-3-acetamido-3-dezoxi- α -D-xilofurán-uronamid (54)	111
5.6.7. <i>N,N</i> -Dimetil-1,2- <i>O</i> -izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronamid (55)	111
5.6.8. <i>N,N</i> -Dimetil-1,2- <i>O</i> -izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-xilofurán-uronamid (58)	111
5.6.9. <i>N,N</i> -Dimetil-1,2- <i>O</i> -izopropilidén-3-amino-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronamid (56)	112
5.6.10. <i>N,N</i> -Dimetil-1,2- <i>O</i> -izopropilidén-3-amino-3-dezoxi- α -D-xilofurán-uronamid (59)	112
5.6.11. <i>N,N</i> -Dimetil-1,2- <i>O</i> -izopropilidén-3-acetamido-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronamid (57)	112
5.6.12. <i>N,N</i> -Dimetil-1,2- <i>O</i> -izopropilidén-3-acetamido-3-dezoxi- α -D-xilofurán-uronamid (60)	113
5.7. Szilárd fázisú peptidszintézis	113
5.7.1. Fmoc-technika protokoll 2-Cl-Trt-Cl gyantára	113
5.7.2. Általános eljárás azidocsoport redukciójára gyantán	114
5.7.3. H-AtX-OH (65)	114
5.7.4. H-GGtXGG-OH (68)	114
5.7.5. H-GtXtXG-OH (79)	116
5.7.6. H-GcXcXG-OH (82)	117
5.7.7. H-(tX) ₄ -OH (85)	117
5.7.8. H-(tX) ₆ -OH (86)	118
6. Eredmények összefoglalása	119
7. Summary	122
8. Irodalomjegyzék	125
9. Függelék	133
9.1. ESI-MS spektrumok	133
9.2. NMR spektrumok	140
9.3. ECD spektrumok	149
9.4. Aktív észter kialakulásának és hidrolízisének követése	151

1. Bevezetés

Az utóbbi évtizedek során a polipeptidek és fehérjék jelentősége megnőtt a gyógyszerkutatás terén is. Jól mutatja ezt az is, hogy jelenleg több, mint 60 engedélyezett polipeptid, illetve peptid-alapú gyógyszer van már kereskedelmi forgalomban [1]. Ezek többnyire a szervezetben megtalálható polipeptidek és fehérjék alkalmas variánsai. Felmerült ezért az az igény, hogy olyan mesterséges molekulákat hozzunk létre, amelyek önszerveződően, jól definiálható, specifikus és előre tervezhető térszerkezet felvételére képesek, miközben a fehérjékkel analóg tulajdonságaikat megőrzik. A foldamerkémia így vált az elmúlt 30 évben az orvostudományok, a farmakológia és a biológiai kutatások meghatározó területévé [2-4].

Alkalmas foldamer monomereknek bizonyultak mind a nyílt láncú, mind a cikloalkán gyűrűs β -aminosavak megfelelő származékai [5-11]. Ezen vegyülettípusok nagy előnye, hogy a belőlük felépülő peptidek a β -peptidkötés miatt a szervezetben sokkal ellenállóbbak lesznek a szokásos α -aminosavak polimerjeit bontó enzimekkel szemben.

A szénhidrát típusú foldamer monomerek elsősorban az utóbbi két évtized során terjedtek el, széleskörű használatuk ugyanakkor számos nehézségbe ütközik. Ma elsősorban az öt- és hattagú gyűrűs β -cukoraminosavak előállítása és beépítése ismert az irodalom szerint [12,13]. Pedig a cukoraminosavak egyesítik magukban a természetben legnagyobb számban előforduló szerves vegyületek, a szénhidrátok és az aminosavak előnyös tulajdonságait. A speciális cukoraminosavak a természetben nagy számban fordulnak elő, hiszen megtalálhatóak az antibiotikumok, a glikozidáz inhibitorok, valamint más fontos bioaktív vegyület szerkezeti elemeiként. E vegyületcsalád további előnyös tulajdonsága, hogy megnövelik a belőlük képződő oligo- és polimerek, valamint foldamerek vízoldhatóságát. Hidroxilcsoportjaik révén változatosan szubsztituálhatók, továbbá másodlagos szerkezeti elemekbe rendeződő molekuláris hajlandóságot mutatnak.

A Szerkezeti Kémia és Biológia Laboratórium – amelynek munkájába 2011-ben bekapcsolódtam – különböző öt- és hattagú cukoraminosavak szintézisét és foldamerré alakíthatóságát vizsgálja. Munkám során két C-3 epimer furánóz gyűrűs β -aminosav, az 1,2-*O*-izopropilidén-*N*-(9-fluorenil-metoxi-karbonil)-3-amino-3-dezoxi- α -D-ribofuran-uronsav (**1**) és az 1,2-*O*-izopropilidén-*N*-(9-fluorenil-metoxi-karbonil)-3-amino-3-dezoxi- α -D-xilofuran-uronsav (**2**) totálszintézisével, valamint ezen vegyületek kapcsolási tulajdonságainak a tesztelésével és az ezeket tartalmazó homo- és heterooligomerek előállításával és szerkezetvizsgálatával foglalkoztam.

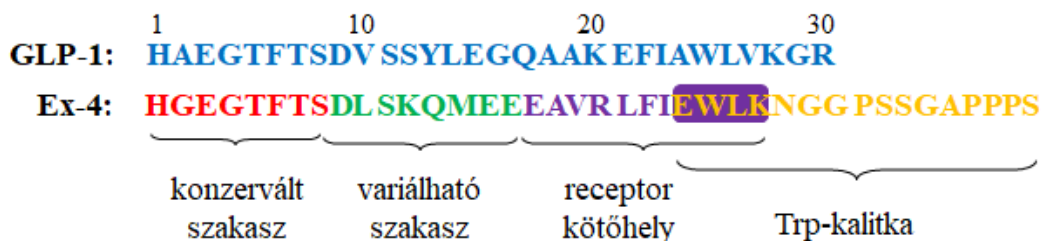
További terveim között szerepelt a cukoraminosav tartalmú oligomerek beépítése az Exendine-4 minifehérje variálható szakaszába, mely molekulát a II. típusú cukorbetegség jövőbeli kezelésére alkalmazhatnak a gyógyászatban [14,15]. A GLP-1 (*Glucagon-like peptide 1*) analóg polipeptidek kevésbé előnyös tulajdonsága ugyanis az, hogy rövid felezési idővel ürülnek ki a szervezetből. Az Exendine-4 variálható szakaszának megfelelő módosításával várhatóan jobb oldhatósági és farmakodinamikai sajátságokkal rendelkező molekulákat tudunk majd a jövőben előállítani.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. A GLP-1 és az Exendine-4 hatóanyagok

A *diabetes mellitus* a szervezet anyagcseréjének krónikus megbetegedése [15]. A betegségnek két típusát különböztetjük meg: az I. típus esetén inzulinhiányról, míg a II. típus esetén inzulinrezisztenciáról beszélünk.

A II. típusú cukorbetegség kialakulása során a GLP-1 hormon termelődése lecsökken. A GLP-1 egy 30 aminosavból álló, emlősökben termelődő hormon, amelynek feladata a hasnyálmirigyben az inzulin-elválasztása, a bevitt táplálék által megemelkedett vércukorszint csökkentése, a májban a glükóz termelés, valamint az éhségérzet szabályozása az agyban. A betegség kezelésének egyik lehetséges módja magának a GLP-1 hormonnak a szinten tartása folyamatos utánpótlással. Mivel ezt a hormont a dipeptidil-peptidáz (DPP)-IV enzim gyorsan bontja – felezési ideje rövid (mintegy 2 perc) –, ezért ez az eljárás aligha járható. A betegség kezelésére megoldás lehet további DPP-IV inhibitorok alkalmazása, amelyek az endogén GLP-1 bontását gátolják, valamint a GLP-1 receptor agonisták használata, amelyek szerkezetileg ugyan hasonlítanak a GLP-1-hez, de felezési idejük lényegesen hosszabb [15]. Ilyen GLP-1 receptor agonista az Exendine-4 minifehérje, amely 39 aminosavból épül fel, a *Heloderma suspectum* nyálából izolálták elsőként és a GLP-1-el hasonló bioaktivitást mutat [16].



1. ábra A GLP-1 és az Exendine-4 minifehérjék szekvenciájának összehasonlítása, valamint az utóbbi (röviden Ex-4) egyes szakaszainak funkciója.

Az Ex-4 szekvenciája közel 50%-ban megegyezik a GLP-1-el (**1. ábra**), térszerkezetükben azonban a szilárd- és az oldatfázisú NMR mérések alapján jelentős különbségek mutatkoznak. Mindkét molekula 7-28-as szakasza α -hélix térszerkezetet mutat, azonban míg a GLP-1 esetén a 16-os Gly-nek hélix destabilizáló hatása van, addig az Ex-4 ugyanezen pozíciójában található Glu éppen, hogy a hélixképződést segíti elő. Ezért az utóbbi molekula esetén jóval stabilabb hélix alakulhat ki [16]. Továbbá az Ex-4-nek van még egy rövidebb 3_{10} helikális szakasza, egy PPII (poliprolin-II) része a C-terminálison és egy

rendezetlen *N*-terminális szakasza is [16]. A GLP-1 alapvetően helikális polipeptidhez viszonyítva az Ex-4 összesen négy eltérő másodlagos szerkezeti elemet tartalmaz, s ezért az utóbbit fehérjeszerű, 3D-térszerkezettel rendelkező makromolekulaként jellemezzük.

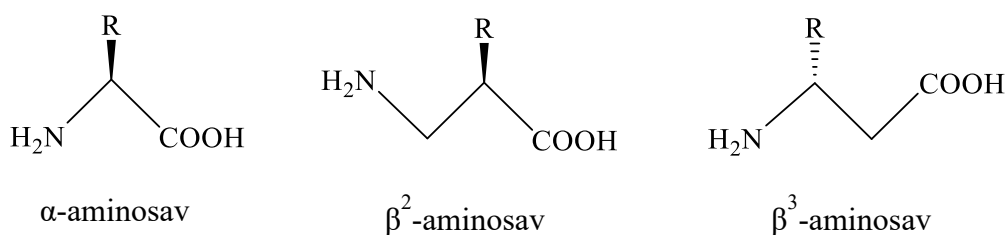
Mivel az Ex-4 felezési ideje 3-4 óra, így ez a kompaktabb fehérje már sokkal ellenállóbb a DPP-IV enzim bontó hatásával szemben, ezért a kezelés során napi kétszer adagolva is alkalmas hatást vált ki [15]. Ezen és további kedvező tulajdonságai miatt fejlesztették ki a minifehérje szintetikus változatát, az *Exenatide*-ot, amelyet mint peptid-alapú gyógyszert több országba, így hazánkban is alkalmaznak a II. típusú cukorbetegség kezelésére.

Elvben az Ex-4 felezési idejének és stabilitásának növelése elérhető az úgynevezett variálható szakasza megfelelő módosításával is. Ez olyan alkalmas aminosavak (pl. β -aminosavak) beépítésével lehetséges, amelyek úgy fokozzák a minifehérje stabilitását, hogy közben annak térszerkezetét és funkcióját nem változtatják meg. Erre alkalmasak lehetnek például a β -aminosavakat és/vagy β -cukoramino savakat tartalmazó foldamerek, ugyanis a β -peptidrészt beépítésével a molekula ellenállóbb lesz a szervezetben található enzimekkel szemben.

2.2. A foldamer monomerek és oligomerek

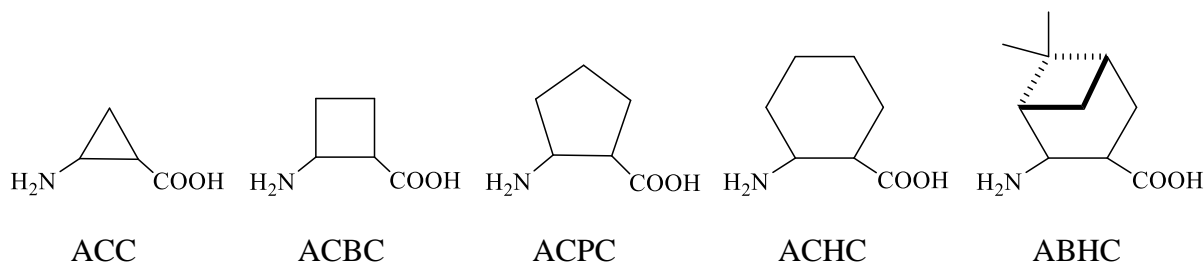
A foldamerek olyan nem természetes polimerek, amelyek önszerveződen jól definiálható, kompakt, specifikus és előre tervezhető térszerkezet felvételére képesek, amely a természetes biopolimerek másodlagos szerkezeti elemeihez (α -hélix, β -redő, β -kanyar) hasonló [2]. Ezen tulajdonságaik alapján kapták a peptidomimetikum elnevezést.

Az elmúlt évtizedekben a foldamerkémia egyre nagyobb érdeklődésre tett szert a biológiai, biokémiai kutatások körében. A foldamerek lehetnek homooligomerek, amelyekben a lánc ugyanazon aminosavból épül fel és lehetnek heterooligomerek, amelyekben különböző aminosavak kapcsolódnak egymáshoz. Továbbá maradhatnak lineáris szerkezetűek illetve ciklizálhatják őket. Kezdetben a β - és γ -peptidek – mint lehetséges foldamerek – vizsgálatával foglalkoztak. Ennek oka, hogy az α -peptidekhez képest ezek nagyobb proteolitikus stabilitást mutattak. A γ -peptidek esetén azonban megállapították, hogy kedvezőtlen, 5-7 tagú H-kötés rendszert alakítanak ki. A kutatások középpontjába így a β -peptidek kerültek, amelyeknél a kedvezőtlen H-kötés rendszer nem jellemző. A β -peptidek tehát a legszélesebb körben vizsgált foldamerek [2-9,11]. Jellemző építőköveik a β^2 - és β^3 -aminosavak, valamint a cikloalkán gyűrűs aminosavak (**2.** és **3. ábra**) [2,4,9-10].



2. ábra A peptidek jellemző nyíltláncú építőkövei.

A merevebb cikloalkán gyűrű korlátozott flexibilitást eredményez, amely a konformációs stabilitást fokozza és segíti a harmadlagos szerkezet kialakulását. Foldamer monomerként leginkább alkalmazott cikloalkán gyűrűs vegyületek a 3-, 4-, 5- és 6-tagú gyűrűs és biciklikus származékok (**3. ábra**).

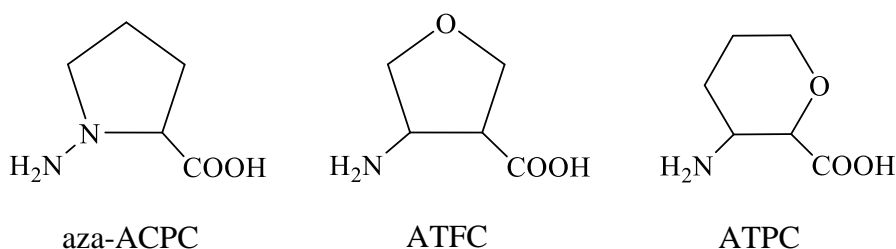


3. ábra Foldamerek felépítése céljából használt hidrofób ciklikus β -aminosavak: ACC (2-aminociklopropánkarbonsav) [17], ACBC (2-aminociklobutánkarbonsav) [18-21], ACPC (2-aminociklopentánkarbonsav) [2,22,23], ACHC (2-aminociklohexánkarbonsav) [2,3], ABHC (2-amino-6,6-dimetil-biciklo[3.1.1]-heptán-3-karbonsav) [24].

A foldamerekbe épített β -aminosavak nemcsak modulálják a peptid konformációját, dinamikáját és proteolitikus érzékenységét, hanem az ezeket tartalmazó β -peptidek biológiai hatással is rendelkeznek. A kisebb konformációs szabadság következtében ugyanis jobban kötődnek a receptorokhoz. Így többek között antimikrobiális, antiangiogenetikus hatást fejthetnek ki, fehérje-fehérje kölcsönhatás inhibitorok, valamint GPCR (G-fehérje-kapcsolt receptor) ligandum agonisták/antagonisták is lehetnek [4,8,10,11].

A biológiai hasznosíthatóság szempontjából előnyös, ha a β -aminosavakat tartalmazó oligomerek vízoldhatók. Ez elérhető például monomer szinten a cikloalkán gyűrűbe beépített heteroatommal. Így kerültek a figyelem középpontjába az aza-származékok [25], valamint a biológiailag aktív vegyületek alapvázaként is sokszor előforduló tetrahydrofuran (THF) és tetrahydropyran (THP) gyűrű (**4. ábra**) [26-29]. A belőlük létrehozott oligomerek vízben is stabil másodlagos szerkezetet mutattak. A *cisz/transz*-ACPC THF analógjaiból (ATFC) felépülő

homokirális homooligomerek térszerkezetét vizsgálva azt találták, hogy a *transz* monomert tartalmazó peptid a *transz*-ACPC homooligomerjével analóg 12-hélix szerkezetet vett fel. A *cisz* homooligomer esetén viszont, míg az ACPC szálas elrendeződést mutatott, addig a THF analógnál megjelent a helicitás, 14-hélix szerkezetet vett fel. Ennek oka a THF gyűrű kompaktsága, valamint a gyűrűs O-atom és a gerinc NH közötti kedvezményezettebb kölcsönhatás [30]. A *transz*-ACHC THF analógaiból (ATPC) D-alaninnal építettek fel heterooligomereket. NMR mérések segítségével megállapították, hogy a peptidok 9/11-hélix szerkezetbe rendeződtek [29].



4. ábra Heteroatomot is tartalmazó, vízoldhatóbb gyűrűs β -aminosavak: aza-ACPC (2-aza-2-aminociklopentánkarbonsav) [25], ATFC (2-aminotetrahidrofuránkarbonsav) [26-28], ATPC (2-aminotetrahidropiránkarbonsav) [29].

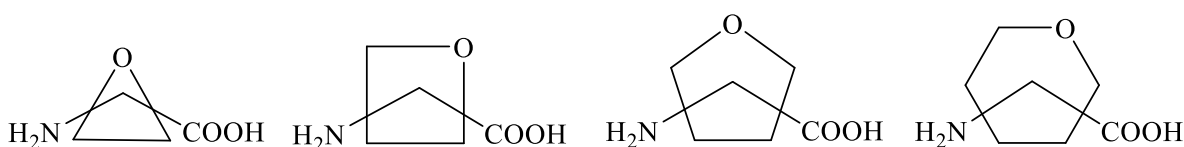
Alkalmos foldamer monomerek lehetnek a ciklikus aminosavakkal analóg, viszont vízoldható cukoraminosavak is, amelyekben a gyűrűs O-atom mellett a gyűrű hidroxilcsoportjai tovább növelik mind a monomerek, mind az oligomerek hidrofilitását.

2.3. A cukoraminosavak

A cukoraminosavak olyan nyílt láncú vagy gyűrűs szénhidrát származékok, amelyek az aminosavakhoz hasonlóan amino- és karboxilcsoporttal rendelkeznek, tehát egyesítik magukban a természetben legnagyobb számban előforduló szerves vegyületek, a szénhidrátok és az aminosavak előnyös tulajdonságait. Nem tekinthetők cukoraminosavaknak azok a ciklikus aminosavak, amelyekben a N-atom a gyűrű része, a nukleozid származékok, az aza cukoraminosavak, valamint a cukrot oldalláncként tartalmazó aminosavak [12]. A lánchossz illetve gyűrűméret, valamint a funkciócsoportok egymáshoz képesti elhelyezkedése alapján nagy számban előforduló, változatos építőelemek. A természetben is nagyon elterjedt vegyületesalád. Elsősorban, mint antibiotikumok, glikozidáz inhibitorok, valamint szerkezeti elemek fordulnak elő. Egyik képviselőjük a szialinsav, amely szinte minden élő szervezetben megtalálható. A szialinsav kötő fehérjék ligandumaként képes szabályozni a jelátviteli

folyamatokat és a sejt-sejt kölcsönhatást. A belőle felépülő poliszíálsav pedig egy tumor-asszociált poliszacharid, amely kapcsolatba hozható a tumor metasztázis kialakulásával [31].

A cukoramínosavak további előnye, hogy olcsó és könnyen elérhető kiindulási anyagokból állíthatók elő, hidroxilcsoportjaik változatosan szubsztituálhatók, illetve nem utolsó sorban hidroxilcsoportjaik révén vízdoldhatók, tehát mint foldamer monomerek előnyösen változtathatják a peptidek tulajdonságait. A gyűrűs változatok esetén a cikloalkánokhoz hasonlóan 3-, 4-, 5- és 6-tagú származékokról (**5. ábra**) illetve biciklikus vegyületekről beszélhetünk. A funkciós csoportok elhelyezkedése alapján pedig α -, β -, γ -, δ -, ε - és ζ -származékok ismertek [12,13,32].



5. ábra A gyűrűs cukoramínosavak csoportosítása a gyűrű mérete alapján: 3-, 4-, 5- és 6-tagú gyűrűs származékok. Az amino- és karboxilcsoport a gyűrű tetszőleges C-atomjához kapcsolódhat.

Foldamerbe építésre a természetben legnagyobb számban jelen levő 5- és 6-tagú gyűrűs vegyületek alkalmasak. Ennek megfelelően a kutatócsoportok a furanóz és piranóz gyűrűs β -cukoramínosavak szintézisére és foldamerekbe építésére orientálódtak változatos homo- és heterooligomereket alkotva [33-38].

Kutatócsoportunk szénhidrátkémiával foglalkozó részlegének kutatási középpontjába is a β -cukoramínosavak kerültek. Különböző 5- és 6-tagú gyűrűs cukoramínosavak méretnövelt, optimalizált totálszintézisének kidolgozásába kezdtünk, potenciális foldamer monomereket előállítva ezáltal [39,40].

Kutatómunkám során két furanóz gyűrűs C-3 epimer cukoramínosav az 1,2-*O*-izopropilidén-3-amino-3-dezoxi- α -D-ribofuran-uronsav (H-RibAFU(ip)-OH) (**3**) valamint az 1,2-*O*-izopropilidén-3-amino-3-dezoxi- α -D-xilofuran-uronsav (H-XylAFU(ip)-OH) (**4**) szintézisével és oligomerekbe építésével foglalkoztam. A továbbiakban ezen molekulák irodalmi előzményeit mutatom be.

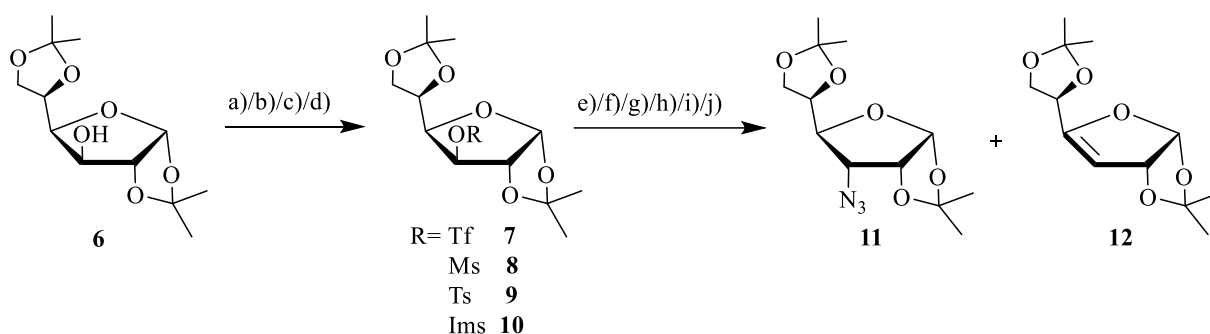
2.4. Az aminofuran-uronsav származékok előállítása

2.4.1. Az 1,2-*O*-izopropilidén-*N*-(9-fluorenil-metoxi-karbonil)-3-amino-3-dezoxi- α -D-ribofuran-uronsav (Fmoc-RibAFU(ip)-OH) (**1**) szintézise

A furanóz gyűrűs monomer (**1**) szintézisét Gruner és kutatócsoportja dolgozta ki [37] az olcsó, kereskedelmi forgalomból könnyen beszerezhető α -D-glükózból (**5**) kiindulva. Az általuk leírt szintézisút azonban drága reagenseket, többszöri oszlopkromatográfiás tisztítást tartalmaz, így méretnövelhetőség szempontjából célszerű volt azt optimalizálni.

2.4.1.1. Az *N*-terminális prekursor kialakítása

A szintézissor kiindulási anyaga tehát az α -D-glükóz (**5**), amelyet acetál védőcsoporttal láttak el. Az acetál védelem kialakítására az 1,2-OH- és 5,6-OH-csoportokon több módszer is ismert az irodalomban: *i*) acetonnal kénsav katalizátor jelenlétében [41], *ii*) acetonnal jó d jelenlétében [42], *iii*) acetonnal cink-klorid és foszforsav mellett [43]. Az *N*-terminális kialakítása ezt követően két lépésben történik. A védett glükofuranóz (**6**) szabad, 3-OH-csoportját jó távozó csoporttá kell alakítani, amely a következő nukleofil szubsztitúciós reakcióban átalakítható a megfelelő 3-azido-3-dezoxi-vegyületté (**11**) (**6. ábra**). A furanóz és piranóz származékokon végzett nukleofil szubsztitúciók jelentőségét, nehézségeit valamint a reakciókörülmények pontos tervezésének szükségességét két nem rég megjelent összefoglaló tanulmány is kiemeli [44,45].



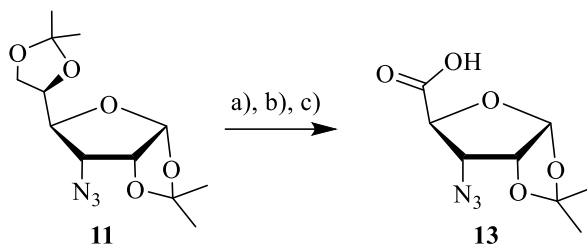
6. ábra A 3-azido-3-dezoxi-allofuranóz származék (**11**) kémiai szintézisének sematikus vázlatja. Alkalmazott reagensek és reakciókörülmények: a) F_2O , Py, DCM, -10°C , 1-1,5 h; b) MsCl, Py, 0°C , 15 h; c) TsCl, Py, 0°C , 24 h; d) NaH, Im_2SO_2 , DMF, -40°C , 1,5 h; e) **7**, NaN_3 , DMF, 50°C , 3,5-5 h; f) **7**, NaN_3 , DMF, szobahőmérséklet, 2 nap; g) **8**, NaN_3 , DMF, reflux, 2 nap; h) **9**, NaN_3 , HMPTA, 120°C , 18 h; i) **9**, NaN_3 , DMF, reflux, 15 nap; j) **10**, NaN_3 , toluol, 80°C , 5 h.

A kívánt 3-azido-származék (**11**) előállítására számtalan megoldás látható az irodalomban, különböző szulfonát-származékokból kiindulva, különböző reakciókörülményeket (reagens, oldószer, hőmérséklet, fázistranszfer katalizátor) alkalmazva. Wu és munkatársai az imént említett paraméterek mellett az oldószer víztartalmának hatását vizsgálták és azt találták, hogy mivel a víz elősegíti a reagens oldhatóságát, ezáltal megnöveli a reakció sebességét [46]. A nukleofil szubsztitúciós reakcióban előszeretettel alkalmazták a 3-*O*-triflil- (**7**), 3-*O*-mezil- (**8**) és 3-*O*-tozil-származékokat (**9**) [47-53]. Az utóbbi kettő előnye, hogy költséghatékonyan előállíthatók és stabilak, viszont velük a szulfonát \rightarrow azid szubsztitúciós reakció lassabb, erőteljesebb reakciókörülményeket igényel (reflux hőmérsékleten több napos reakcióidő) és alacsony, 30-50%-os termeléssel kapták meg a kívánt 3-azido-vegyületet (**11**). Gruner az Fmoc-RibAFU(ip)-OH (**1**) szintézise során irodalmi előzmények alapján [47,54] a 3-*O*-triflil-vegyületet (**7**) alkalmazta az azidocsoport kialakítására [37]. A triflát \rightarrow azid csere 50 °C-on, 5 óra alatt 70%-os termeléssel ment végbe fázistranszfer katalizátor alkalmazása mellett. A triflil-vegyület (**7**) alkalmazásának hátránya azonban, hogy előállítása főleg nagyméretben drága és a vegyület bomlékony. A Vatele és munkatársai által nukleofil szubsztitúciókban sikeresen alkalmazott imidazol-1-szulfonil (imidazilát) (**10**) a trifláthoz (**7**) hasonló nukleofugacitással rendelkezik. Így vele a szubsztitúciós reakció gyors és enyhe körülmények között végbemegy, 80 °C-on 5 óra alatt 62%-os termelést sikerült elérni [55]. Ráadásul a 3-*O*-imidazilát (**10**) szintéziséhez szükséges *N,N'*-szulfuril-diimidazol könnyen és olcsón előállítható, valamint a képződő szulfonát-származék (**10**) stabil, kristályos anyag. A bemutatott szulfonát \rightarrow azid nukleofil szubsztitúciók során minden esetben számolni kell a *transz* elimináció során keletkező melléktermékkel, az 1,2:5,6-di-*O*-izopropilidén-D-eritro-hex-3-enofuranózzal (**12**) is.

2.4.1.2. A C-terminális kialakítása

A karboxilcsoport kialakítása leggyakrabban primer alkohol vagy aldehid oxidációjával (KMnO₄, CrO₃, Ag⁺), nitril-vegyület hidrolízisével, illetve organometallikus vegyületek karboxilezésével történik. Az Fmoc-RibAFU(ip)-OH (**1**) előállítása során a C-terminális kiépítése három reakciólépéssel valósítható meg a 3-azido-3-dezoxi-származékból (**11**) (**7. ábra**). Elsőként az 5,6-OH-csoportok savlabilis izopropilidén védőcsoportját távolították el ecetsavval történő melegítést alkalmazva. Az így kapott diolt (**14**) láncrövidítő kétlépéses oxidációnak vetették alá. Az oxidáció első lépése NaIO₄-val aldehidet (**15**) eredményezett, amelyet KMnO₄-tal 50%-os ecetsavas közegben [37] vagy RuCl₃·H₂O-val széntetraklorid-

acetonitril–víz elegyben oxidálták tovább karbonsavvá (**13**) [56], kiépítve ezáltal a C-terminálist.

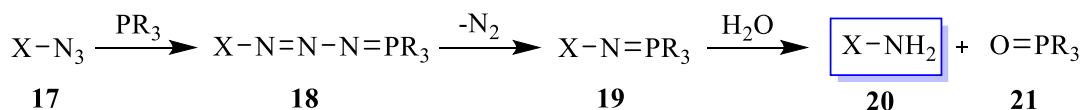


7. ábra A 3-azido-ribofuran-uronsav (N_3 -RibAFU(ip)-OH) (**13**) C-terminálisának kiépítése a 3-azido-3-dezoxi-vegyületből (**11**) az izopropilidén védelem eltávolítását követő kétlépéses oxidációval. Alkalmazott reagensek és reakciókörülmények: a) AcOH–H₂O 3:1, reflux, 3 h; b) NaIO₄, MeOH–H₂O 3:2, 10 °C, 5 h; c) KMnO₄, AcOH–H₂O 1:1, szobahőmérséklet, 12 h/ RuCl₃·H₂O, CCl₄–CH₃CN–H₂O, szobahőmérséklet, 4 h.

2.4.1.3. Az aminocsoport kialakítása és védelme

Szénhidrát származékok esetén az aminocsoport kiépítése leggyakrabban nitro-, ciano- vagy azidocsoport redukciójával történik. Ezeken kívül megemlítendő a Freudenberg által bemutatott eljárás, amikor a 3-O-Ts-származékot (**9**) ammóniával közvetlen módon alakították át a 3-amino-vegyületté (**16**), amely a C-3 atom inverzióját eredményezte [57].

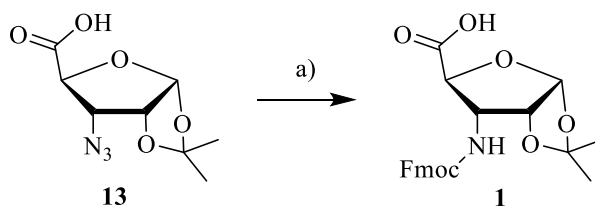
Azidocsoport redukciójára leginkább bevett eljárás a Staudinger reakció majd az azt követő hidrolízis illetve a katalitikus hidrogénezés. A 3-azido-3-dezoxi- α -D-furanóz vegyületek esetén még nem, viszont különböző azido-nukleozid-származékok esetén előszeretettel alkalmazták a Staudinger reakciót azidocsoport redukálására [58-60]. A Staudinger reakció során az azidocsoportot tartalmazó vegyületet (**17**) valamilyen tercier foszfínnal (leggyakrabban PPh₃ vagy PBU₃) reagáltatják. Ennek eredményeképpen egy foszfazid (**18**) köztiterméken keresztül foszfinimin-származék (**19**) képződik, amely vízzel vagy ammóniával elhidrolizálva amint (**20**) eredményez. A reakció melléktermékeként mindig keletkezik a használt tercier foszfin oxidja (**21**) is (**8. ábra**). Ezen redukciós módszer előnye, hogy gyors, könnyen kivitelezhető, valamint alkalmazható oldatban és szilárd fázison is. Azidocsoport redukciójára szilárd fázison előszeretettel alkalmaznak különböző kén tartalmú vegyületeket is, mint az Sn(SPh)₂ vagy a HS(CH₂)₂SH [61,62].



R= alkil, aril

8. ábra A Staudinger reakció általános sémája, amely során az azidocsoportot tartalmazó vegyületből (**17**) egy foszfazid köztterméken (**18**) keresztül foszfinimin-származék (**19**) képződik. Ezen származék hidrolízisével amino-vegyület (**20**) állítható elő.

Baer a 3-azido-3-dezoxi-származék (**11**) redukciójánál LiAlH₄-et alkalmazott [48], míg Grunerék az azido-karbonsav (**13**) esetén a hagyományos katalitikus hidrogénezést választották 10% Pd/C katalizátort alkalmazva magas nyomáson. A kapott amint (**3**) pedig izolálás nélkül *in situ* alakították tovább Fmoc-védett-származékká (**1**) (**9. ábra**) [37].



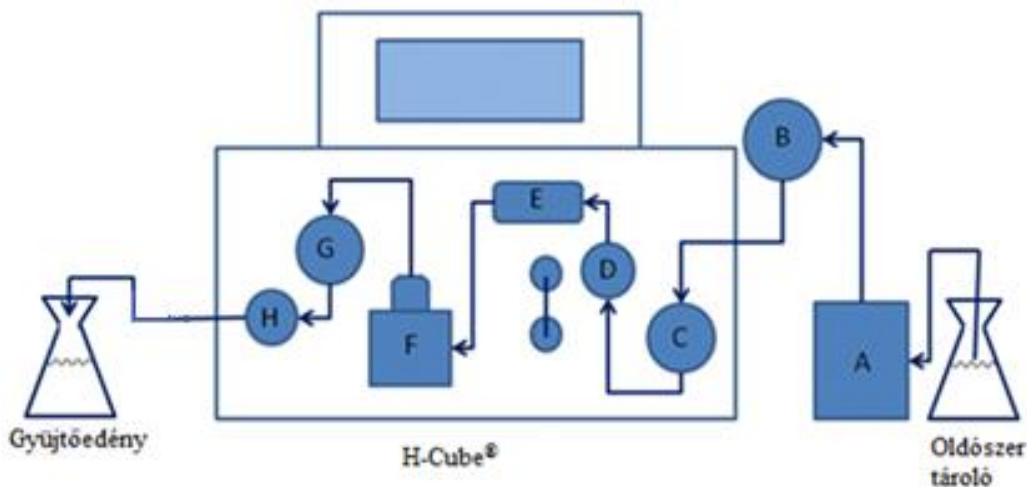
9. ábra Az Fmoc-ribofurán-uronsav (**1**) előállítása az azido-karbonsavból (**13**) redukcióval és *in situ* Fmoc-védelem kiépítésével. Alkalmazott reagensek és reakciókörülmények: a) H₂, 10% Pd/C, NaHCO₃, Fmoc-Cl/THF, MeOH–H₂O 2:1, szobahőmérséklet, 18-24 h.

Az utóbbi évtizedekben egyre inkább nő az érdeklődés a reakciók környezetkímélő kivitelezése, azaz a zöldkémia iránt. Ezen alapszik a ThalesNano Nanotechnology Inc. által kifejlesztett folyamatos áramlású H-Cube[®] készülék, amellyel magas nyomású katalitikus hidrogénezést hajthatunk végre (**10. ábra**). A készülék nagy előnye, hogy a reakcióhoz szükséges hidrogént *in situ*, a külső desztillált vizes tartályból elektrolízissel állítja elő, így nincs szükség a robbanásveszélyt magában hordozó hidrogén palackra. További előnyei közé tartozik, hogy az előre elkészített *cartridge*-ba zárt katalizátor többször felhasználható, regenerálható, valamint a termék könnyen elválasztható tőle [63,64].

Irfan és munkatársai piridin származékok redukcióját vizsgálták *flow* hidrogénezéssel. 30-80 bar nyomást és 60-80 °C-ot alkalmazva minden esetben teljes konverziót sikerült elérniük. A rendszer előnyei között említik a nagy nyomáson is biztonságos hidrogénezést és a méretnövelhetőséget [65].

Szénhidrát származékok redukciója az áramlásos rendszerű H-Cube[®] készülékkel az irodalomban nem ismert. Ez ösztönzött arra, hogy az általam vizsgált cukoraminosav

származékok esetén optimális körülményeket dolgozzak ki az áramlásos rendszerben történő redukciójukra.



10. ábra Az H-Cube[®] hidrogénező készülék felépítésének sematikus rajza, amellyel magas nyomású *flow* katalitikus hidrogénezés hajtható végre biztonságos és környezetkímélő módon [64]. A: pumpa, B: injektor, C: nyomásmérő, D: gáz-folyadék keverő, E: buborékok eltávolítása, F: katalizátor és melegítő, G: nyomásmérő (kimenet), H: nyomásszabályzó.

Ahhoz, hogy az előállított cukoraminosavakból foldamereket és kiméra peptideket építhessünk fel az aminocsoport szelektív védelme szükséges. A peptidkémiaiában legáltalánosabban használt amino védőcsoportok: *i*) karboxibenzoil-csoport (Z), amely hidrogénezéssel távolítható el; *ii*) *terc*-butil-oxi-karbonil-csoport (Boc), ami erős savval távolítható el; *iii*) 9-fluorenil-metoxi-karbonil-csoport (Fmoc), ami bázis hatására hasítható [66].

A H-RibAFU(ip)-OH (**3**) esetében az Fmoc-védelemre esett a választás a molekula 1,2-OH-csoportjainak savlabilis izopropilidén védőcsoportja miatt. Ahogy azt már korábban említettem, az Fmoc-védett-származékot (**1**) az azido-karbonsav (**13**) redukciójával és *in situ* Fmoc-védelemmel való ellátásával állították elő [37]. Az Fmoc-védett cukoraminosavból (**1**) pedig változatos oligomereket építettek fel és vizsgálták azok térszerkezetét, amelynek részleteit egy következő fejezetben mutatom be részletesen.

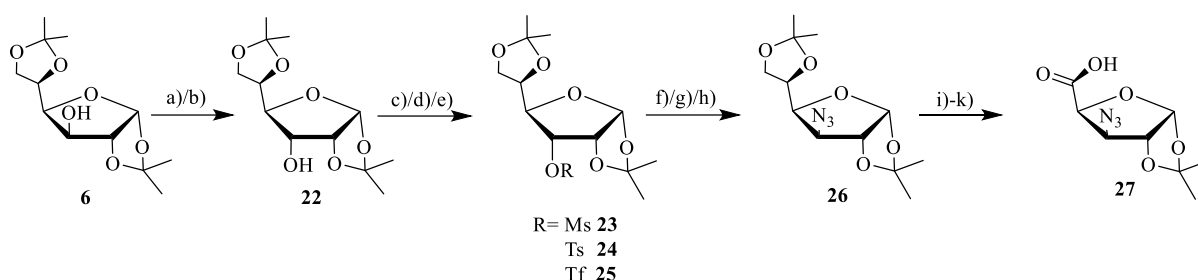
2.4.2. Az 1,2-*O*-izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-xilofurán-uronsav (N₃-XylAFU(ip)-OH) (27) szintézise

Az előző fejezetben bemutatott azido-ribofurán-uronsav (13) molekula C-3 epimerjének a szintézisét Chandrasekhar és munkatársai írták le 2004-ben (11. ábra) [33]. Gruner és kutatócsoportja által a *ribo* konfigurációjú monomerre kidolgozott szintézisutat [37] vették alapul a *xilo* monomer előállítására, viszont az egyes reakciólépések részleteit nem közölték.

A szintézis kiindulási anyaga ebben az esetben is az α -D-glükózból (5) előállítható védett-glükofuranóz (6). Ebből a C-3 OH-csoport inverziójával megkapható a védett-allofuranóz (22). Chandrasekhar és munkatársai – Austin munkája alapján [67] – a reakciót két lépésben valósították meg: első lépésként az OH-csoportot PCC reagenssel ketonná oxidálták, majd ezt sztereoszelektíven redukálták NaBH₄-el. E módszer mellett számos egyéb oxidációs módszer létezik, amelyeket sikeresen alkalmaztak szénhidrát származékok esetén. A teljesség igénye nélkül, ide tartoznak például az aktivált DMSO-t tartalmazó eljárások: DMSO/oxalil-klorid (Swern oxidáció), DMSO/DCC (Moffat-Pfitzner oxidáció), DMSO/Ac₂O, DMSO/AcCl és a DMSO/P₂O₅ [68,69]. A reakciók vízmentes körülményeket igényelnek és a reakciókörülmények megfelelő betartása nagyon fontos annak érdekében, hogy elkerüljük a mellékreakciók lejátszódását. A felsoroltak közül a leghatékonyabb Swern oxidációnak is gátat szabhat a metiltio-metil-származékot eredményező mellékreakció. Egy másik alkalmas eljárás a RuO₂ katalizátor jelenlétében végzett NaIO₄-os oxidáció, amelyet szintén sikeresen alkalmaztak a védett-allofuranóz (22) előállítására [70]. A reakció hátránya azonban a drága katalizátor alkalmazása. Szelektív oxidáció valósítható meg továbbá a BAIB/TEMPO reagenspárral, amikor a TEMPO-t katalitikus mennyiségben alkalmazzák. A reakció előnye, hogy nem igényel inert körülményeket és szobahőmérsékleten végbemegy.

Az oxidációs-redukációs lépéssel előállított diizopropilidén-allofuranózból (22) a kívánt azido-karbonsav (27) *N*-terminálisát – a C-3 epimer molekulához (13) hasonlóan – szulfonát \rightarrow azid cserével alakították ki. Az azidocsoport bevitelére a 3-*O*-mezil- (23), a 3-*O*-tozil- (24) és a 3-*O*-triflil-származékokat (25) tesztelték. A szubsztitúciós reakcióból a várt 3-azido-glükofuranózt (26) 34-92 % közötti termelésekkel kapták meg [51,67,71-73]. A vizsgált szulfonil-származékok közül ez esetben is a triflil-származék (25) bizonyult a legeredményesebbnek mind a reakcióidőt, mind a termelést tekintve. A diizopropilidén-allózszármazékokon végzett azid cserereakció esetében általánosan elmondható, hogy a reakció rövidebb idő alatt végbement, mint a *glüko* epimereken a kedvezőbb sztereokémiai feltételek miatt. Ráadásul, a C-3 atomon lévő szulfonátcsoport és a C-4 atomon lévő H-atom *cisz* állása

miatt, ez esetben elimináció nem jöhet létre, ezáltal telítetlen melléktermékkel sem kell számolnunk.



11. ábra A 3-azido-xilofurán-uronsav (**27**) kémiai szintézisének sematikus vázlata. Alkalmazott reagensek és reakciókörülmények: a) (i) PCC, DCM, szobahőmérséklet, 3 h; (ii) NaBH₄, EtOH–H₂O 9:1, 0 °C, 1 h; b) (i) DMSO, oxalil-klorid, DCM, –80 °C, 3 h; (ii) NaBH₄, H₂O–EtOH 4:1, –70 °C, 1 h; c) MsCl, DMAP, TEA, DCM, szobahőmérséklet, 8 h; d) TsCl, Py, szobahőmérséklet, 24 h; e) Tf₂O, Py, DCM, –15 °C, 1 h; f) **23**, NaN₃, DMF, reflux, 2 nap; g) **24**, NaN₃, DMF, 120 °C, 2 nap; h) **25**, NaN₃, DMF, 50 °C, 8 h; i) AcOH–H₂O 3:1, reflux; j) NaIO₄, MeOH–H₂O 3:2, 10 °C; k) NaClO₂, NaH₂PO₄, H₂O₂, CH₃CN, 0 °C.

A C-terminális kialakítását a *ribo* monomernél (**13**) alkalmazott reakciólépésekkel analóg végezték. Az 5,6-OH-csoportok izopropilidén védőcsoportjának eltávolítását követően a láncrövidítő kétlépéses oxidációval megkapták a 3-azido-xilofurán-uronsavat (**27**) [33]. A monomerből oldatfázisú peptidszintézissel változatos homo- és heterooligomereket építettek fel [33,74,75]. Tehát magát a cukoraminosav molekulát illetve annak Fmoc-védett-származékát nem állították elő. Ebből is következik, hogy a monomert szilárd fázisú peptidszintézisre nem tesztelték.

2.5. Hagyományos szilárd fázisú peptidszintézis

A klasszikus peptidkémia két fő módszere létezik, az oldatfázisú illetve a szilárd fázisú peptidszintézis (*Solid Phase Peptide Synthesis* - SPPS). Az oldatfázisú szintézis előnye, hogy nagyobb méretben is kivitelezhető, olcsóbb és a kapcsoláshoz elegendő csupán 1,1-1,2 ekvivalens aminosav felesleg alkalmazása. Hátránya, hogy alacsonyabb, 90% alatti konverzió érhető el vele, valamint a hosszabb szekvenciák felépítése esetén a kapcsolások számával megnő az oldatban maradt szennyező anyagok mennyisége (kapcsolószer maradék, lehasított védőcsoport, stb.), így minden egyes kapcsolás után tisztítási lépést kell közbe iktatni [76]. A szilárd fázisú szintézis esetén a kapcsolás oldatfázisban a gyantaszemcsék felületén történik,

így a kapcsolás melléktermékei a gyanta többszöri mosásával eltávolíthatók. A nagy mennyiségű oldószerfogyasztás, valamint a gyanták költségessége miatt kevésbé gazdaságos módszer. Továbbá a kapcsolás sikeressége érdekében, valamint hogy ne maradjanak aktív helyek a gyantán, amelyek töredék szekvenciákat eredményeznek, a kapcsolandó aminosavat nagy (3-10 ekv.) feleslegben alkalmazzák, amely tovább növeli a módszer költségességét. Előnye, hogy gyors, automatizálható (peptidszintetizátor) és 99% feletti konverzió érhető el vele α -aminosavakra [77].

A szilárd fázisú szintézis alapja a megfelelő gyanta kiválasztása. A gyantával kapcsolatban elvárás a kémiai és mechanikai stabilitás, a funkcionizálhatóság, a jó duzzadóképeség valamint, hogy a peptid jól hasítható legyen róla. A legáltalánosabban használt gyanták polisztirol-divinilbenzol kopolimer alapúak.

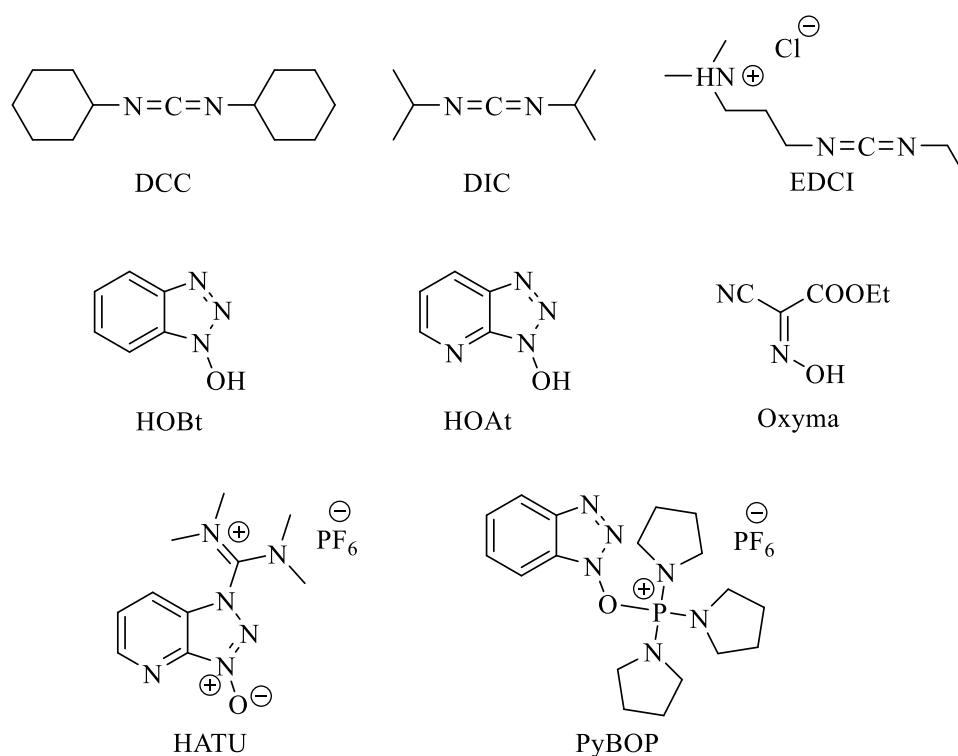
A szintézis a C-terminális irányából az N-terminális irányába történik. Ehhez az aminosav aminocsoportját védőcsoporttal kell ellátni, karboxilcsoportját aktiválni kell, továbbá az aminosav oldalláncokat ortogonális védelemmel kell ellátni, amely a szintézis során stabil marad. A legáltalánosabban használt amino védőcsoportok az uretán típusú védőcsoportok: a *tert*-butil-oxi-karbonil-csoport (Boc), ami erős savval távolítható el, a 9-fluorenil-metoxi-karbonil-csoport (Fmoc), ami bázis hatására hasítható, valamint a karboxibenzoil-csoport (Z), amely hidrogénezéssel távolítható el. Ezek közül a Boc és az Fmoc védelem az elterjedtebb, erre épül a peptidszintézis két nagy csoportja a Boc/Bn és az Fmoc/^tBu stratégia [78,79]. A karboxilcsoport aktiválása során leggyakrabban észtert (-OMe [33], -OEt [22]) képeznek a karbonsavból majd azt viszik a kapcsolási reakcióba. Az észterképzés azonban történhet *in situ* is a kapcsolás során. Ilyenkor a kapcsolandó aminosav szabad karboxilcsoportját az aktív észtert képző kapcsoló reagenssel (pl. HOBt, HATU, PyBOP) reagáltatják valamilyen bázis (pl. DIC, EDCI, DIEA) jelenlétében [79-81]. Az aktiválás történhet továbbá savkloridok, savanhidridek vagy sav-azidok képzésével is, azonban ezek kevésbé elterjedtek.

2.5.1. Aktív észtert képző kapcsoló reagensek

Az aminosavak karboxilcsoportjának aktív észteres aktiválására használt reagensek nagy számban állnak a rendelkezésünkre [80,82]. Ezek közül mutatok be néhány főbb típust a teljesség igénye nélkül, amelyek előkerültek doktori munkám során (**12. ábra**).

A kapcsolószerek egyik csoportját a karbodiimid típusú reagensek képezik [83]. Ezek közül előszeretettel alkalmazták az *N,N'*-diciklohexil-karbodiimidet (DCC), azonban allergén hatása miatt háttérbe szorult a használata. Helyette előnyösebb tulajdonságai miatt az *N,N'*-

diizopropil-karbodiimidet (DIC) használják. Kifejlesztették továbbá az *N*-etil-*N'*-(3-dimetilaminopropil)-karbodiimidet (EDCI), amely vízoldható a belőle keletkező karbamiddal együtt. Ezen előnyös tulajdonságát elsősorban oldatfázisú szintéziseknél használják ki [83]. A kapcsolási reakció során a karbodiimidek mellé általában triazol származékokat alkalmaznak. Ezek közül a leggyakrabban alkalmazott 1-hidroxi-benzotriazol (HOBt) és az 1-hidroxi-7-azabenzotriazol (HOAt) robbanásveszélyesek, ezért kifejlesztették a 2-ciano-2-(hidroxiimino)-acetátot (Oxyma), amellyel hasonló kapcsolási hatékonyságot tudtak elérni, mint a HOBt-vel és a HOAt-tal [84-86].



12. ábra A leggyakrabban használt aktív észter képző kapcsoló reagensek.

A kapcsoló reagensek másik csoportjába tartoznak az urónium sók. Ilyen például az 1-[bis-(dimetilamino)-metilén]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinium 3-oxid hexafluorofoszfát (HATU), amelyet bázis felesleg (leggyakrabban DIEA) mellett alkalmaznak. Hátránya, hogy lassú aktív észter képződés vagy nagy reagens felesleg mellett mellékreakció léphet fel ami guanidint eredményezve lezárja a peptidláncot [87,88].

Az eddig bemutatott kapcsolószerek mindegyikénél fennálló racemizáció elkerülése miatt kerültek előtérbe a foszfónium sók. Leggyakoribb képviselőjük a benzotriazol-1-il-oxi-trisz-(dimetilamino)-foszfónium hexafluorofoszfát (BOP), viszont a belőle leszakadó dimetilamin-származékok mérgező hexametilfoszforamidot képeznek melléktermékként. A

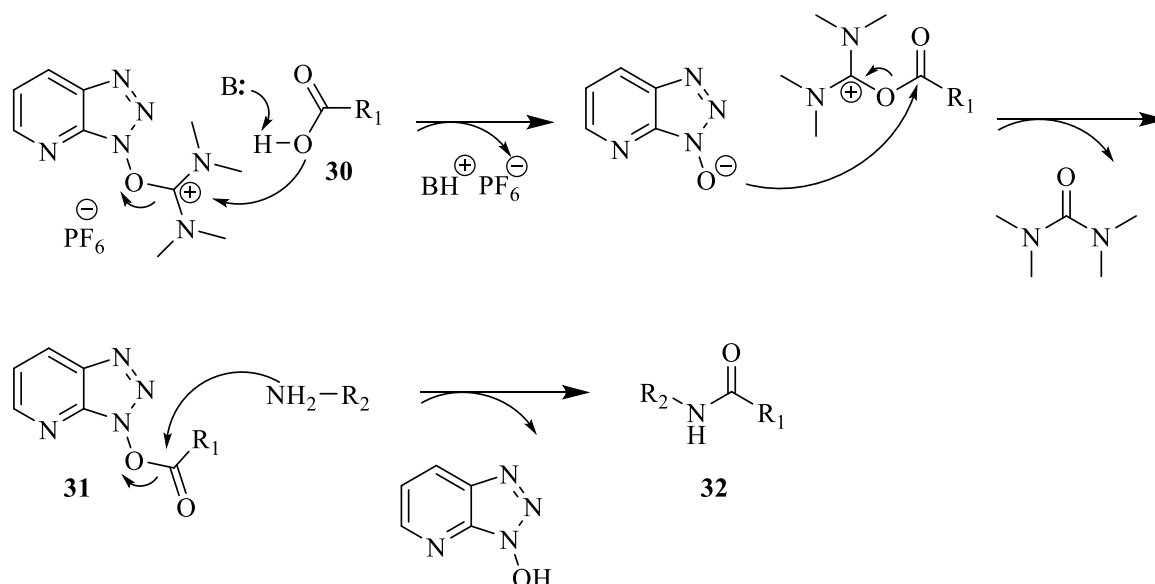
dimetilamin részletet pirrolidinre cserélve létrehozták a benzotriazol-1-il-oxi-tri-(pirrolidino)-foszfónium hexafluorofoszfátot (PyBOP), amelyből nem képződik mérgező melléktermék, így jóval biztonságosabb a használata [81,89]. Az urónium sókhoz hasonlóan e kapcsoló reagenseket is bázis felesleg mellett alkalmazzák.

Az urónium és foszfónium sók nagy előnye, hogy nehezen kapcsolható aminosavak (például β -aminosavak, cukoraminosavak) esetén is nagy kapcsolási hatékonyság érhető el velük.

2.5.2. Kapcsolási mechanizmusok

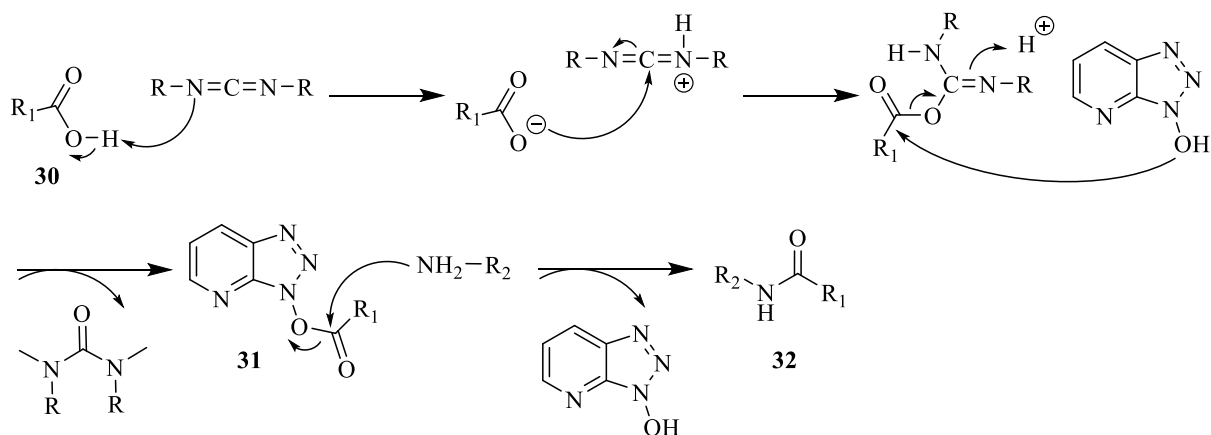
Az előző fejezetben bemutatott kapcsoló reagensek két csoportba sorolhatók az alapján, hogy a kapcsolás milyen mechanizmus alapján játszódik le.

Az egyik csoportba tartoznak az urónium és foszfónium sók, amelyek ugyanazon mechanizmus alapján reagálnak (**13. ábra**). Esetükben elsőként a bázis által deprotonált aminosav (**30**) nukleofilként támad a HATU amidinium részének elektrofil C-atomjára, illetve a PyBOP foszfónium részletének P^+ -atomjára. Ezt követően a keletkező HOAt anion az aktivált karbonsav-származékra támadva képezi a kapcsoláshoz szükséges aktív észtert (**31**), amelyre támadva az amin, amidkötést létesít. Ezt a mechanizmust mutatja be a **13. ábra** a HATU példáján [87].



13. ábra A peptidkapcsolás mechanizmusa urónium típusú reagenssel, a HATU példáján, amely során a karbonsavból (**30**) *in situ* képződő aktív észterre (**31**) támadva az amin peptidkötést létesít.

A másik csoportba tartoznak a karbodiimid/triazol reagenspárok (**14. ábra**). Esetükben a mechanizmusnak két fő lépése van. Elsőként az aminosav (**30**) a karbodiimiddel képez egy karbodiimid-származékot, amely aztán a triazol hatására tovább alakul képezve a megfelelő aktív észteret (**31**), amellyel az amin kialakítja a peptidkötést [87].



14. ábra A peptidkapcsolás mechanizmusa a karbodiimid/triazol reagenspárral, a HOAt példáján, amely során a karbonsavból (**30**) *in situ* képződő aktív észterre (**31**) támadva az amin peptidkötést létesít.

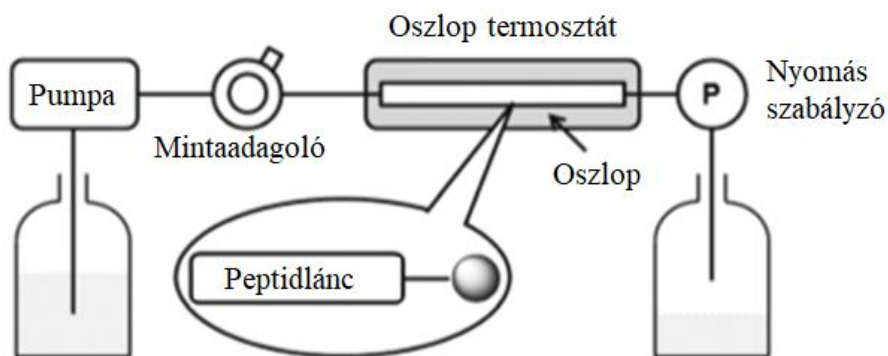
Ahogy a **13.** és **14. ábrákon** látható, a kapcsolás az egyes kapcsoló reagensekkel más mechanizmus alapján játszódik le, ami befolyásolhatja a kapcsoláshoz szükséges reakcióidőt és a kapcsolás hatékonyságát is.

2.6. Áramlásos rendszerű peptidszintézis („Flow Chemistry”)

A hagyományos peptidszintézis egy új alternatívájának, az áramlásos rendszerű peptidszintézisnek a kifejlesztése Dr. Mándity István nevéhez fűződik [90]. A készülék felépítését tekintve egy HPLC-hez hasonlítható, amelyben a gyantaszemcsék egy fűthető oszlopban helyezkednek el, a kapcsolandó aktivált aminosavak pedig a mintaadagolón keresztül jutnak az oszlopra és haladnak át rajta. A módszer nagy előnye tehát, hogy mind a hőmérséklet, mind a nyomás hangolható (**15. ábra**). Ebből következik, hogy a készülékben csak a nyomásnak és a magas hőmérsékletnek ellenálló gyanták használhatók. Erre a célra fejlesztették ki a hagyományos polisztirol alapú gyanták Tentagel alapú változatait.

A rendszer nagy előnye továbbá a jelenleg használt módszerekkel (SPPS, automata- és mikrohullámú peptidszintetizátor) szemben, hogy költséghatékony, ugyanis a 3-10 ekvivalens aminosav felesleg helyett akár 1,5 ekvivalens aminosav alkalmazása is elegendő a kiváló

kapcsolási hatékonyság eléréséhez. Továbbá fontos megemlíteni még, hogy mikrogrammtól grammos méretekig használható.

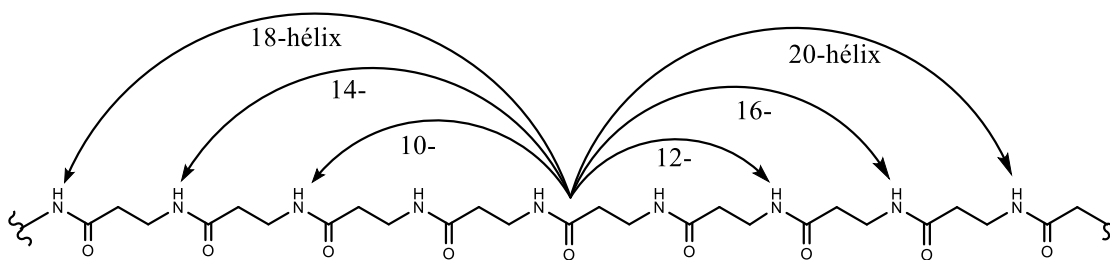


15. ábra Az áramlásos rendszerű peptidszintetizátor sematikus felépítése [90].

Azért, hogy a módszer megbízhatóan alkalmazható legyen a reakcióparamétereket optimalizálták mind a 20 természetes aminosavra. Kísérleteket végeztek a megfelelő áramlási sebesség, aminosav oldat koncentráció, hőmérséklet, nyomás valamint a kapcsolási- és mosási idők megtalálására. Az optimalizált paraméterekkel pedig sikeresen építettek fel úgynevezett nehéz szekvenciákat (például: H-VQAAIDYING-NH₂, H-GLITVSVAV-NH₂) illetve β-peptideket (ACPC-t, ACHC-t tartalmazó homo- és heterooligomerek). Ezzel a módszerrel a peptidek előállítása lényegesen olcsóbb, gyorsabb volt, mint a hagyományos módszerekkel, ráadásul hasonlóan jó kapcsolási hatékonyságot és tisztaságot sikerült elérni [90,91].

2.7. Foldamerek szintézise és szerkezetvizsgálata

Az α-peptidek esetén ahhoz, hogy stabil α-hélix szerkezet alakulhasson ki legalább 15 aminosav szükséges. β-Peptidek esetén a peptidgerinc flexibilisebb, ráadásul, ha ciklikus β-aminosavat építünk be a szekvenciába az fokozza a konformációs stabilitást, ennek következtében kevesebb monomerből felépülő peptid esetében is megjelenik a stabil másodlagos szerkezet. Seebach és Gellman különböző β-hexapeptidek tanulmányozása során azt tapasztalták, hogy ezek a „rövidebb” peptidek helikális térszerkezetet vesznek fel. Továbbá megfigyelték azt is, hogy a C=O...HN közötti H-hídnek szerkezet stabilizáló hatása van [92-94]. Megfigyeléseik alapján a **16. ábrán** látható hélix típusokat határozták meg [2]. Ez alapján elmondható, hogy a 12-, 16-, 20-hélixek esetén a H-kötés a peptid C-terminálisán kedvezményezett, míg a 10-, 14-, 18-hélixek esetén az N-terminálison.



16. ábra A β -peptidek gerincatomjai között jellegzetesen kialakuló H-kötés típusok, amelyek a megfelelő periódikus másodlagos szerkezet kialakulásához vezetnek.

A korábbi fejezetekben bemutatott nyílt láncú és gyűrűs β -aminosavakból, valamint cukoraminosavakból a kutatócsoportok változatos homo- és heterooligomereket építettek fel mind oldat, mind szilárd fázisban [2,3,22,23,95-101]. A foldamer monomerekből képzett oligomerek konformációs preferenciáját röntgenkristallográfia, valamint 2D NMR mérések (COSY, TOCSY, NOESY és ROESY) segítségével határozták meg. Az NMR méréseket többnyire piridin- d_5 , MeOH- d_3 és CDCl₃ oldószerekben végezték. A másodlagos szerkezetre utaló NOE/ROE keresztcsúcsokból kiindulva molekuladinamikai számítások segítségével szerkezetet számoltak, amit összehasonlítottak a röntgen mérések eredményével. A szerkezetet továbbá a távoli UV-tartományban felvett ECD (elektronikus cirkuláris dikroizmus spektroszkópia) mérésekkel támasztották alá. Az ECD méréseket jellemzően metanolban és trifluor-etanolban végezték és az amid kromofórok jellegzetes átmeneteiből jósolták meg a szerkezetet.

2.7.1. Cikloalkán gyűrűs β -aminosavat tartalmazó oligomerek szintézise és szerkezetvizsgálata

A cikloalkán gyűrűs foldamer monomerek közül legszélesebb körben a *cisz/transz*-ACPC-t és *cisz/transz*-ACHC-t vizsgálták. A monomerekből egyrészt homokirális homooligomereket építettek fel és NMR, valamint ECD mérésekkel megállapították a foldamerek konformációs preferenciáját. Ezeket az eredményeket mutatja be az **1. táblázat**.

A *cisz*-(1*R*,2*S*)/*transz*-(1*R*,2*R*)-ACPC-ből az oligomereket szilárd fázison Boc/Bn technikával DCC vagy EDCI kapcsolószert használva szintetizálták. A *transz*-(1*R*,2*R*)-ACPC esetén az NMR méréseket MeOH- d_3 -ban és piridin- d_5 -ben is elvégezték a hexamer molekulára. A szerkezet meghatározását metanolban a C β régióban átfedő jelek nehezítették. Piridinben azonban a C β H $_i$ – NH $_{i+2}$ és a C β H $_i$ – C $_{\alpha}$ H $_{i+2}$ protonok közötti NOE keresztcsúcsok egyértelműen meghatározták, hogy a hexamer 12-hélix szerkezetbe rendeződik. Ezt alátámasztotta a

hexamerből és az oktamerből növesztett egykristályok röntgen szerkezete, valamint az oligomerek metanolban felvett ECD spektrumaik is. Az ECD görbék maximuma 204 nm-nél, minimuma 221 nm-nél volt, amely a balmenetes 12-hélixre utal. A *cisz*-(1*R*,2*S*)-ACPC-ből felépülő pentamer és heptamer esetén az NMR mérések során azt tapasztalták, hogy az $\text{NH}_i - \text{C}_\beta\text{H}_{i+1}$ és $\text{NH}_i - \text{C}_\beta\text{H}_{i-1}$ protonok közötti NOE keresztcsúcsok periodikus mintázatot mutatnak, ami kizárja a hélix, valamint a random coil jelenlétét és szálas szerkezetre utal. Ezt a feltevést megerősítették a $\text{NH}_i - \text{C}_\beta\text{H}_i$ és $\text{NH}_i - \text{C}_\alpha\text{H}_{i-1}$ protonok közötti NOE keresztcsúcsok is, továbbá a metanolban mért ECD spektrumok 203 nm-nél jelentkező negatív sávja is. Tehát az egyik ACPC monomer az α -hélix, míg másik a β -redő kiváltója lehet. [2,22,23,95,97,102].

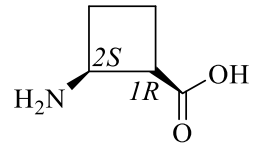
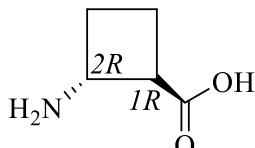
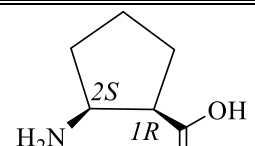
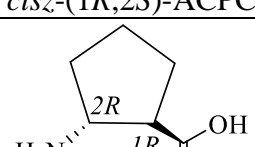
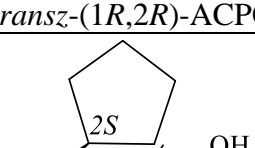
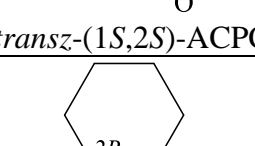
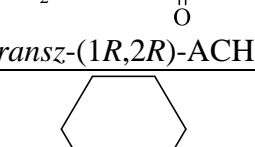
A *transz*-(1*S*,2*S*)-ACPC esetén az oligomereket oldat fázisban szintetizálták HOBt/EDCI kapcsolószert alkalmazva. Ezek az oligomerek 12-hélixbe rendeződtek röntgen és 2D NMR mérések alapján. A szerkezetre a $\text{C}_\beta\text{H}_i - \text{NH}_{i+2}$ és a $\text{C}_\beta\text{H}_i - \text{C}_\alpha\text{H}_{i+2}$ protonok közötti NOE keresztcsúcsok utaltak. Továbbá a TFE-ben felvett ECD spektrumok maximuma 221 nm-nél, minimuma pedig 204 nm-nél volt, amely értékek szintén a jobbmentes 12-hélixre utaltak. A szerkezet felvételéhez szilárd fázisban minimum három monomer egység, míg oldat fázisban négy egység volt szükséges [98].

Szintén több kutatócsoport vizsgálta a 6-tagú gyűrűs monomerekből felépülő homooligomereket [2,3,92,96,99,100]. Az ACHC-t továbbá beépítették biológiailag aktív peptidekbe is, valamint királis szabályozó egységhez kapcsolták, amelynek következtében lehetővé vált a hosszútávon ható királis indukció vizsgálata [103,104].

A homooligomerek szintézise szilárd fázison történt Boc/Bn technikát alkalmazva. A *transz*-(1*R*,2*R*)-ACHC-ből felépülő tetramer és hexamer kristályszerkezete stabil 14-hélix szerkezetet mutatott. A hexamer egyszerű 2D NMR méréseivel ezt nem sikerült alátámasztani, ugyanis az értékelést nehezítette, hogy a $\text{C}_\beta - \text{C}_\alpha$ protonok nagymértékben átfedtek egymással. Ezért áttértek az amid tartomány $\text{NH} \rightarrow \text{ND}$ cserekísérleteire, amiből egyértelműen megállapították a metanolban jelen levő stabil 14-hélixet. A hexamerről MeOH-ban felvett ECD görbe 217 nm-nél lévő maximuma szintén a jobbmentes 14-hélix szerkezetre utalt [2,3,92,95].

A *transz*-(1*S*,2*S*)-ACHC esetén az NMR méréseket MeOH-*d*₄-ben és DMSO-*d*₆-ban végezték. Az $\text{NH} \rightarrow \text{ND}$ cserekísérletek eredményeiből, valamint a $\text{C}_\alpha\text{H}_i - \text{C}_\beta\text{H}_{i+3}$ protonok közötti erős NOE keresztcsúcsokból következtettek a balmenetes 14-hélix szerkezetre a pentamer és a hexamer esetében. Ezt alátámasztották az oligomerek ECD spektrumai is, amelyekben a 197 nm-nél lévő maximum és a 217 nm-nél lévő minimum értékek 14-hélix szerkezetre utaltak.

1. táblázat Cikloalkán gyűrűs β -aminosavat tartalmazó homokirális homooligomerek szintézisére alkalmazott módszer és az általuk felvett másodlagos térszerkezet.

Cikloalkán gyűrűs monomer	Szintézismódszer	Oligomer ^a	Másodlagos szerkezet
 <i>cisz</i> -(1 <i>R</i> ,2 <i>S</i>)-ACBC	oldatfázisú IBCF/TEA	tetramer	szálas szerkezet [21]
 <i>transz</i> -(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-ACBC	oldatfázisú IBCF/TEA	hexamer	12-hélix [18]
 <i>cisz</i> -(1 <i>R</i> ,2 <i>S</i>)-ACPC	szilárd fázisú Boc/Bn technika	pentamer	szálas szerkezet [22]
 <i>transz</i> -(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-ACPC	szilárd fázisú Boc/Bn technika	hexamer	12-hélix [95,97]
 <i>transz</i> -(1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-ACPC	oldatfázisú HOBt/EDCI	trimer (röntgen) tetramer (NMR)	12-hélix [98]
 <i>transz</i> -(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-ACHC	szilárd fázisú Boc/Bn technika	tetramer (röntgen) hexamer (NMR)	14-hélix [92]
 <i>transz</i> -(1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-ACHC	szilárd fázisú Boc/Bn technika	pentamer	14-hélix ^b [99]

^aa legkevesebb monomerből felépülő oligomer, amely képes másodlagos szerkezet felvételére

^btetramer esetén 10-hélix a domináns szerkezet

A tetramer esetében a 217 nm-nél lévő sáv intenzitása nagyobb volt, mint a másik két oligomernél, amely arra utal, hogy a 10-hélix a domináns szerkezet [99].

Hasonló vizsgálatokat végeztek többek között a *cisz*-(1*R*,2*S*)/*transz*-(1*R*,2*R*)-ACBC molekulákra is, amelyekből oldatfázisban Boc technikával, izobutil-kloroformát (IBCF)/TEA reagenspárral szintetizáltak oligomereket. Míg a *transz* monomerből felépülő homooligomerek (hexamer, oktamer) 12-hélix [18], addig a *cisz* párját tartalmazó tetramer és hexamer szálas elrendeződést mutatott [19,20,21].

Látható tehát, hogy a gyűrű mérete, azaz a monomer térigénye, a monomer konfigurációja, az oldallánc, valamint a hidrofób részek jelentősen befolyásolják a belőlük felépülő oligomerek konformációját, azaz a foldamerek szerkezete jól tervezhető [11,105]. Ezt támasztja alá az a tanulmány is, amelyben heterokirális homooligomereket építettek fel a *cisz*- és *transz*-ACPC-ből alternáló gerinc konformációval. A peptideket szilárd fázison Boc/Bn technikát alkalmazva DCC/HOBt reagenssel szintetizálták. A szerkezet felderítéséhez az NMR spektrumokat MeOH-*d*₄-ban, DMSO-*d*₆-ban és H₂O–D₂O 9:1-ben vették fel. A *cisz* oligomerek (tetramer, hexamer) esetén NH→ND cserekísérleteket végeztek, illetve a karakterisztikus C_βH_{*i*} – NH_{*i*+2} és NH_{*i*} – C_βH_{*i*+2} protonok közötti NOE keresztcsúcsok alapján 10/12-hélix szerkezetet állapítottak meg. Szintén erre a szerkezetre utaltak a metanolban mért ECD spektrumok 190 nm-nél lévő minimum és 210 nm-nél lévő maximum értékei. A *transz* oligomereknél (tetramer, hexamer) az NMR mérésekből nem kaptak egyértelmű információt, viszont az ECD spektrumokban megjelenő intenzív negatív Cotton effektus 205 nm-nél és a maximum 190 nm-nél periódikus szerkezetre utalt. A szálas elrendeződést mutató peptidek önszerveződő nanoszálakat képeztek. Megfigyelhető tehát, hogy mindkét esetben a homokirális oligomerhez képest eltérő szerkezetet kaptak [100].

A *cisz*-(1*R*,2*S*)-ACHC-ből valamint a *cisz*-(1*S*,2*R*)-ACHC-ből szintén állítottak elő alternáló gerinc konformációjú peptideket. Ezeket szilárd fázison Fmoc-technikával szintetizálták, majd NMR vizsgálatukat több oldószerben is elvégezték: MeOH-*d*₃, DMSO-*d*₆, H₂O–D₂O 9:1, CDCl₃. Ezek közül CDCl₃-ban 245 K-en kaptak jól értelmezhető spektrumokat. Az NH_{*i*} – C_βH_{*i*+2} és a C_βH_{*i*} – NH_{*i*+2} protonok közötti NOE keresztcsúcsok alapján megállapították, hogy a hexamer 10/12-hélix szerkezetet vesz fel [101].

A nyílt láncú és gyűrűs β-aminosavakból nemcsak homooligomereket szintetizáltak, hanem változatos szerkezetű heterooligomereket is. A *transz*-ACPC-t tartalmazó α/β/γ-mintázatú peptid például szintén α-hélixet utánzó szerkezetet vett fel, ráadásul sokkal stabilabb volt egy α-peptidhez képest [106]. A gp41, HIV fehérje CHR-régiójának β³- illetve ciklikus β-aminosavakkal való módosításával szintén jelentős eredményeket sikerült elérni, ugyanis az így

kapott α/β -peptid kiválóan utánozta mind a szerkezetet, mind a biológiai funkciót, ráadásul proteolitikus stabilitása megnőtt [6].

2.7.2. Cukoraminosavat tartalmazó oligomerek szintézise és szerkezetvizsgálata

A jósolható, jól delfiniált másodlagos szerkezeti elemekkel rendelkező molekulák tervezésében és szintézisében kulcsfontosságú, úgynevezett „vezérmolekulák” a β -peptidek, amelyek cikloalkán alapú képviselőit az előző fejezetben bemutatam. Ebben a fejezetben a β -cukoraminosavat tartalmazó peptidekre térek ki, különös figyelemmel az általam vizsgált két cukoraminosavra. A cikloalkán alapú β -aminosavak analógiára a β -cukoraminosavakból is – elsősorban az öt- és hattagú gyűrűs cukoraminosavakból – változatos homo- és heterooligomerek felépítésébe kezdtek és vizsgálták azok szerkezeti preferenciáját illetve esetenként biológiai hatását [33,35-38,107,108]. Ezeket az eredményeket az **2. táblázatban** foglaltam össze.

Chandrasekhar és kutatócsoportja a 3-amino-xilofurán-uronsavból (**4**) épített különböző hosszúságú oligomereket (dimer, tetramer, hexamer és oktamer). A peptidek szintézisét oldatfázisban végezték HOBt/EDCI reagenspárt alkalmazva. A felépített oligomerek szerkezetét ECD és NMR spektroszkópiával vizsgálták. A MeOH-ban mért ECD spektrumok 198 nm-es minimum és 218 nm-es maximum értékei a jobbmenetes 14-hélix szerkezetre utaltak. Továbbá azt tapasztalták, hogy a monomerek számának növekedésével nőtt a spektrumok molekuláris ellipticitás értéke, azaz a hélix stabilitása. Az NMR méréseket CDCl_3 -ben végezték, az $\text{NH}_i - \text{C}_\beta\text{H}_{i+2}$ és az $\text{NH}_i - \text{C}_\beta\text{H}_{i+3}$ protonok NOE keresztcsúcsai a hexamer és az oktamer esetén alátámasztották a helikális szerkezetet. A tetramer esetén viszont még nem látták az összes szükséges keresztcsúcsot [33]. Ugyanez a kutatócsoport a cukoraminosavat β -homoglicinnel alternálva kombinálta. Oldatfázisú szintézis során nyert heterooligomerjeik közül a hexamerek szintén 14-hélix szerkezetet mutattak [74].

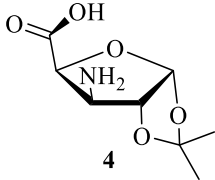
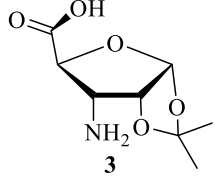
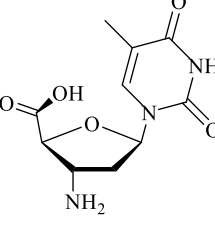
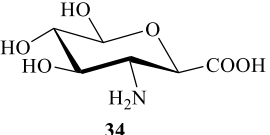
A peptidgerinc funkciós csoportjainak minősége, valamint relatív helyzete, orientációja hatással van a szerkezetre illetve a peptid komplex funkciójával is összefüggésbe hozható. Ezt mutatja az a kísérlet, amikor a 3-amino-xilofurán-uronsavból (**4**) β -homoglicinnel létrehozott ciklikus heterooligomerek (tetramer, hexamer) már nem a hélix szerkezetet preferálták, hanem szálás szerkezetet vettek fel. Az így létrejövő önszerveződő nanocsövek, amelyeket nem kovalens kölcsönhatások tartanak össze egy új és érdekes területét nyitották meg a szupramolekuláris kémiának [75].

Míg a *xilo* monomerből (4) épített peptideket mind oldatfázisban szintetizálták, addig a 3-amino-ribofurán-uronsavból (3) szilárd fázison építettek oligomereket a nehéz szekvenciáknál használt HATU reagenssel. Többek között β -alaninnal (β -homoglicin) szintetizáltak lineáris és ciklikus hexamereket valamint vizsgálták azok szerkezetét [37]. A lineáris peptid acetonitrilben mért ECD spektruma minimumot adott 188 nm-nél és maximuma volt 203 nm-nél, mely értékek nem voltak megfeleltethetők egyik eddig ismert másodlagos szerkezeti elem értékeinek sem. A ciklikus peptid a lineárishoz képest pedig jellegtelen ECD görbét adott. Ennek oka, hogy a ciklizáció során megváltozik a gerinc amidcsoportok orientációja, ami szerkezetbeli változást is eredményez. A szintén acetonitril-*d*₃-ban mért NMR spektrumokból nyert NOE keresztcsúcsok alapján elméleti számításokba kezdtek. A lineáris peptid esetén azt találták, hogy a legvalószínűbb szerkezet egy jobbmenetes 12/10/12-hélix, amely eddig nem volt ismert β -peptidek esetén. Abból, hogy a peptid stabil szerkezetet vett fel az következik, hogy a cukoraminosavnak erős hatása van másodlagos szerkezet indukálására, továbbá ehhez hozzájárult a β -homoglicin szerkezet stabilizáló hatása is. A ciklikus peptidnél pedig egy C₃ szimmetriájú konformációt azonosítottak NMR alapján. Ez alátámasztja azt, hogy a ciklizálás során a peptid szerkezetében is változások következtek be [37].

Az említett cukoraminosav molekulát ezen kívül felhasználták különböző Somatostatin analógok szintézisére is [36]. Esetükben azért a cukoraminosavra esett a választás, mert úgy gondolták, hogy a cukoraminosavnak másodlagos szerkezetet indukáló hatása lesz. Ezenkívül könnyen hozzáférhetőek, szabad hidroxilcsoportjaik révén széles skálán funkcionálhatók valamint előnyösebb farmakokinetikai tulajdonságokat idézhetnek elő. A felépített cukoraminosavat tartalmazó peptidek nagyon ígéretesnek bizonyultak, mint kemoterápiás hatóanyagok a hepatoma karcinóma ellen.

Továbbá Chandrasekhar kutatócsoportja a 3-amino-ribofurán-uronsavból (3) nukleozid-származékot (NDA) (33) állított elő és ezt használta fel foldamer monomerként, ugyanis ezek az építőelemek szerkezetileg közelebb állnak a természetben megtalálható építőelemekhez. Egyrészt rövidebb homooligomereket (trimer, tetramer), másrészt α -aminosavakkal (α -Ala, α -Phe és α -Val) kombinált hibrid peptideket szintetizáltak oldatfázisban. A hibrid peptidek olyan új generációs foldamerek, amelyek 1:1, 1:2 vagy 2:1 arányban tartalmazzák a ciklikus β -aminosavat és a természetes α -aminosavat [107,108]. Megvizsgálva a peptidek szerkezetét azt találták, hogy a homooligomer tetramer jobbmenetes 12-hélixbe rendeződtek, a *transz*-(1*S*,2*S*)-ACPC homokirális oligomerjeihez hasonlóan. A hibrid peptidek pedig jobbmenetes 11/8-hélixet vettek fel.

2. táblázat β -Cukoraminosavat tartalmazó homo- és heterooligomerek szintézisére alkalmazott módszer, a szekvencia és az oligomer típusa, valamint a foldamerek által felvett másodlagos térszerkezet.

Cukoraminosav	Cukoraminosavhoz kapcsolódó aminosav	Szekvencia típusa ^a	Szintézis-módszer	Oligomer típusa	Másodlagos szerkezet
 4	4	[A] ₆	oldatfázisú HOBt/EDCI	lineáris	14-hélix [33]
	β -homoglicin	[AB] ₃ [BA] ₃	oldatfázisú HOBt/EDCI	lineáris	14-hélix [74]
	β -homoglicin	[AB] ₂	oldatfázisú HOBt/EDCI	ciklikus	szálas szerkezet [75]
 3	β -homoglicin	[AB] ₃	szilárd fázisú HATU/ 2,4,6-kollidin	lineáris	12/10/12-hélix [37]
		[AB] ₃	szilárd fázisú HATU/ 2,4,6-kollidin	ciklikus	C ₃ szimmetriájú konformáció [37]
 33	33	[A] ₄	oldatfázisú HOBt/EDCI	lineáris	12-hélix [107]
	α -Ala	ABA	oldatfázisú HOBt/EDCI	lineáris	11/8-hélix [108]
 34	34	[A] ₄	oldatfázisú BOP/DIEA	lineáris	14-hélix [35]

^aa legkevesebb monomerből felépülő oligomer, amely képes másodlagos szerkezet felvételére, ahol A a cukoraminosav és B a cukoraminosavhoz kapcsolódó aminosav (kivéve, ha önmagával kapcsolódik)

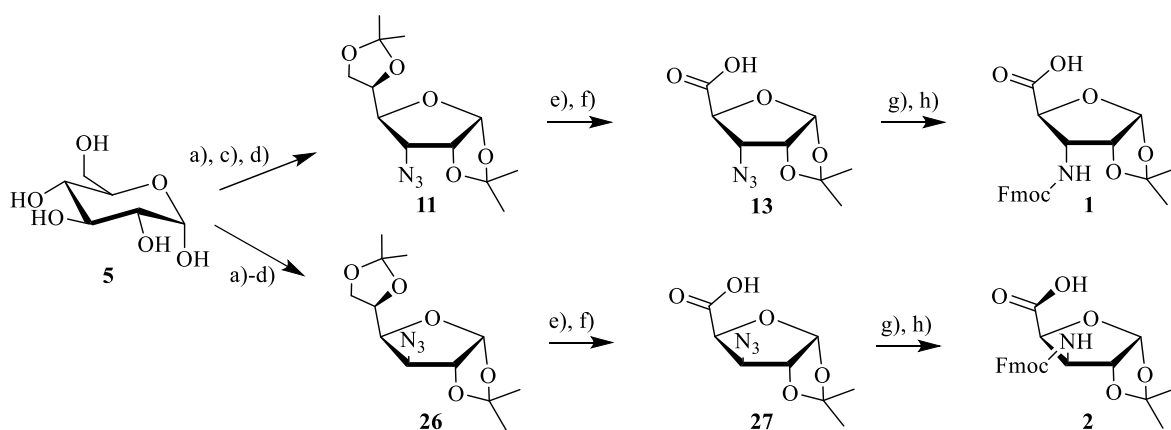
Az öttagú gyűrűs cukoraminosavak mellett hattagú gyűrűs származékokból felépülő oligomerekre is találhatunk példákat. Ezek szintézisét főleg oldatfázisban végezték BOP reagenssel, amelyet szintén a nehéz szekvenciák felépítésénél használnak [109,110]. A 2-amino-glükopiranozil karbonsavból (**34**) homooligomereket (dimer \rightarrow dekamer) építettek fel és vizsgálták azok szerkezetét. Az ECD mérések alapján a hexamer szerkezetét balmenetes 14-hélixnek jósolták, ugyanis a görbe maximuma 200 nm-nél, minimuma 220 nm-nél volt. Az NMR méréseket piridin-*d*₅-ben és H₂O/D₂O rendszerben végezték. Mindkét oldószerben hasonló intenzitású ROE keresztcsúcsokat észleltek, amelyek megerősítették a 14-hélix

szerkezetet, amely már a tetramernél megjelent. Az oligomerekből továbbá *O*-szulfát-származékokat is képeztek, amelyek jelentős biológiai aktivitást mutattak, többek között hatékonyan gátolták a HIV-vírust és a szialil-Lewis-x által közvetített sejtadhéziót [35,110].

3. Célkitűzések

Kutatócsoportunk egyik kiemelt célja különböző öt- és hattagú gyűrűs β -cukoraminosavak szintézisének és foldamerré alakításának vizsgálata. A furanóz gyűrűs monomerek közül kiemelt szerepet kapott két C-3 epimer cukoraminosav, az Fmoc-RibAFU(ip)-OH (**1**) és az Fmoc-XylAFU(ip)-OH (**2**). Kutatómunkám során ezen monomerek részletes vizsgálatával foglalkoztam.

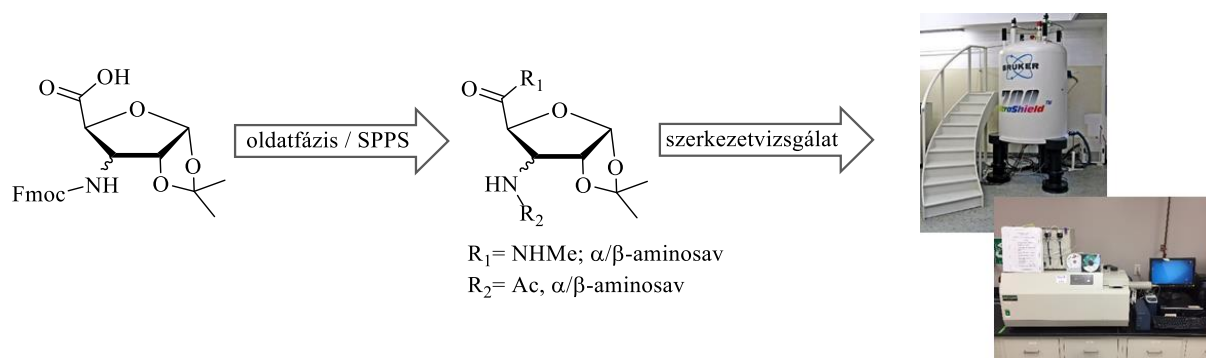
Az (**1**) monomer, illetve a (**2**) monomer prekursorának (**27**) irodalmi szintézise nagyméretben rendkívül költséges a drága reagensek és a többszöri oszlopkromatográfias tisztítás miatt. Kutatómunkám egyik fő célja tehát az Fmoc-RibAFU(ip)-OH (**1**) molekula totálszintézisének kidolgozása volt, minden egyes reakciólépés optimalizálásával, a kritikus lépések részletes körüljárásával, hogy a monomer előállítása nagyméretben is gazdaságos és hatékony legyen. A *ribo* monomerre (**1**) kidolgozott szintézisutat alkalmazva és szükség esetén tovább optimalizálva célul tűztem ki egy új foldamer monomer, az Fmoc-XylAFU(ip)-OH (**2**) előállítását is (**17. ábra**).



17. ábra A foldamer monomer Fmoc-védett β -cukoraminosavak (**1** és **2**) totálszintézisének sematikus vázlata. Alkalmazott reakciók: a) 1,2-OH- és 5,6-OH-csoportok izopropilidén védelmének kialakítása, b) oxidáció-redukció, c) szulfonilezés, d) szulfonát \rightarrow azid csere, e) 5,6-OH-csoportok izopropilidén védelmének eltávolítása, f) kétlépéses oxidáció, g) redukció, h) Fmoc-védelem kialakítása.

Munkám másik fő célja az előállított β -cukoraminosavak kapcsolási tulajdonságainak tesztelése és a szilárd fázisú peptidszintézis optimális körülményeinek megtalálása volt. Ennek első állomásaként diamid modellvegyületek előállítását terveztem, hogy megvizsgáljam a molekulák C- és N-terminálisának alkalmasságát amidkötés létesítésére. Ezt követően a peptidkapcsolást szerettem volna részletesen körüljárni a cukoraminosavakat tartalmazó α/β -

heteropeptidek felépítésével. Az optimalizálási folyamat része többek között, az alkalmas gyanta kiválasztása, a megfelelő kapcsolási idő meghatározása, a különböző kapcsoló reagensekkel kialakuló aktív észterek kialakulásának és stabilitásának vizsgálata, valamint az optimális védőcsoport hasítás körülményeinek kidolgozása. A vizsgálatokkal egyben a cukrok α -aminosavakkal és önmagukkal való kapcsolási tulajdonságainak feltérképezése is célom volt. Ezen széleskörű vizsgálatot követően, az optimális kapcsolási körülmények felhasználásával homooligomerek felépítését terveztem az Fmoc-RibAFU(ip)-OH (**1**) molekulából egyrészt hagyományos szilárd fázisú szintézissel, másrészt az áramlásos rendszerű peptidszintetizátorral (**18. ábra**).



18. ábra A vizsgált β -cukoraminosavakból felépülő modell monomerek, illetve az α/β -hetero- és β/β -homooligomerek térszerkezetének vizsgálata NMR, ECD és VCD spektroszkópiával.

További terveim között szerepelt az előállított diamid modellvegyületek, az α/β -hetero- és a β/β -homooligomerek másodlagos térszerkezet felvételére irányuló hajlamának, illetve a cukorgyűrű által indukált konformáció változásnak a vizsgálata kiroptikai spektroszkópiával, valamint a homooligomerek vizsgálata 2D NMR spektroszkópiával. Az oligomerek által felvett másodlagos szerkezet fontos olyan szempontból is, hogy mint foldamerek alkalmasak lesznek-e az Exendine-4 minifehérje variálható szakaszának jövőbeli módosítására.

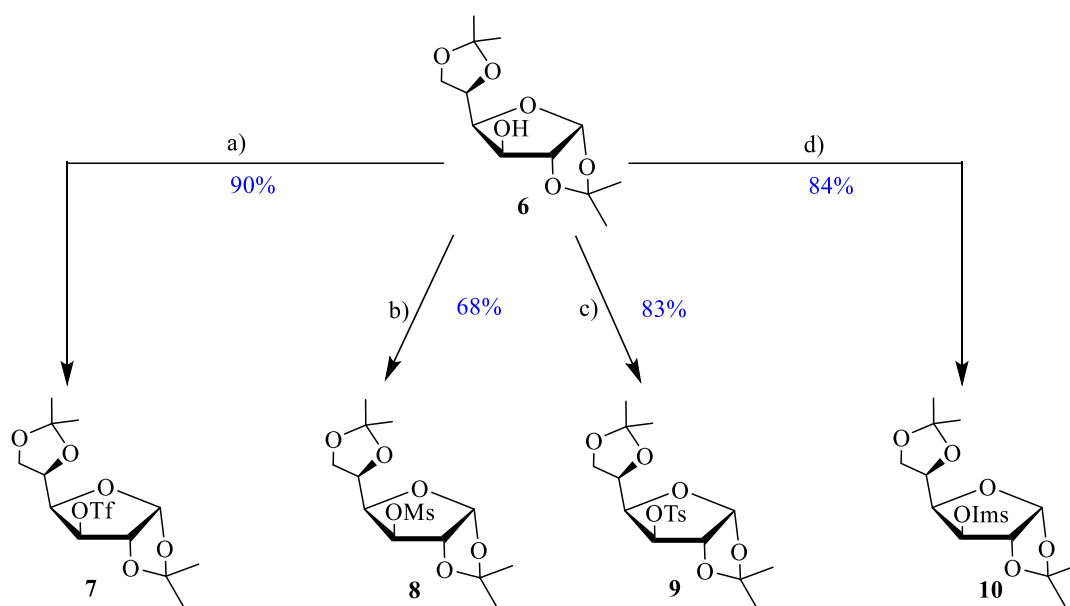
4. Eredmények bemutatása és értékelése

4.1. Az 1,2-*O*-Izopropilidén-*N*-(9-fluorenil-metoxi-karbonil)-3-amino-3-dezoxi- α -D-ribofuran-uronsav (Fmoc-RibAFU(ip)-OH) (**1**) méretnövelt szintézise

A peptidszintézisre alkalmas monomer (**1**) előállítását Gruner és munkatársai dolgozták ki [36-38]. A szintézissor azonban nagyméretű szintézis esetén rendkívül költséges, a drága reagensek és a többszöri oszlopkromatográfiás tisztítás miatt. Így kutatómunkám egyik célja egy nagyméretben is gazdaságos, hatékony szintézissor kidolgozása volt. Korábbi munkáim során sikeresen előállítottam a nem-védett amino-karbonsav molekulát (**3**) [111,112]. Doktori munkám során sikerült a szintézis egyes reakciólépéseit tovább optimalizálnom, melyet az alábbiakban mutatok be [113].

4.1.1. A 3-*O*-szulfonil-származékok előállítása

A szintézissor kiindulási anyaga az olcsó, kereskedelemben könnyen hozzáférhető α -D-glükóz (**5**), amelyből irodalmi eljárás alapján, acetonnal kénsav jelenlétében [41] előállítottam annak védett származékát, az 1,2:5,6-di-*O*-izopropilidén- α -D-glükofuranózt (**6**).



19. ábra A 3-*O*-szulfonil-származékok (**7-10**) előállítása a védett glükofuranózból (**6**). Alkalmazott reagensek és reakciókörülmények: a) Tf_2O , Py, DCM, $-10\text{ }^\circ\text{C}$, 2 h; b) MsCl , Py, $0\text{ }^\circ\text{C}$, 48 h; c) TsCl , Py, $0\text{ }^\circ\text{C}$, 24 h; d) NaH, DMF, Im_2SO_2 , $-40\text{ }^\circ\text{C}$, 1,5 h.

Mivel a célvegyület (**1**) *N*-terminálisának kiépítése egy szulfonát \rightarrow azid szubsztitúciós reakción keresztül történik, így a védett glükóz (**6**) szabad, C-3 helyzetű hidroxilcsoportját

szulfonátészterré alakítottam, amely jó távozó csoport. A szulfonát \rightarrow azid cserereakció időigényét és hatékonyságát nagymértékben befolyásolja a távozó csoport nukleofugacitása. A reakcióban így leggyakrabban a trifluormetánszulfonát (triflát)-, imidazol-1-szulfonát (imidazilát)-, *p*-toluolszulfonát (tozilát)- és metálszulfonát (mezilát)-csoportokat használják [49,50,53,55,67].

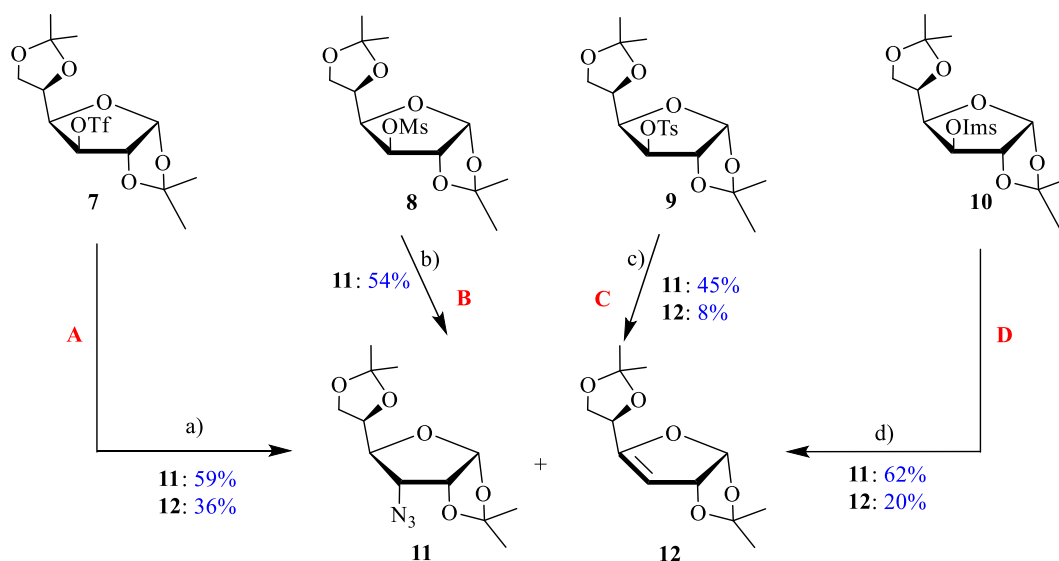
Korábbi munkáim során az 1,2:5,6-di-*O*-izopropilidén- α -D-glükofuranózból (**6**) sikeresen előállítottam és teszteltem a megfelelő 3-*O*-triflil- (**7**), 3-*O*-mezil- (**8**) és 3-*O*-tozil- (**9**) származékokat [111,112]. Doktori munkám során pedig szintetizáltam a 3-*O*-(imidazol-1-szulfonil)-származékot (**10**), amelyhez az olcsó reagensekből előállítható *N,N'*-szulfuril-diimidazol reagenst használtam. Az *N*-terminális kiépítését tehát ezen négy szulfonát-származékon keresztül kíséreltem meg (**19. ábra**).

4.1.2. A szulfonát \rightarrow azid csere

A szintézissor kulcslépése az *N*-terminális kialakítása, amelyet munkám során részletesen körüljártam. Gruner és munkatársai a drága és bomlékony 3-*O*-triflil-származékon (**7**) keresztül NaN_3 -dal, Bu_4NCl fázistranszfer katalizátort alkalmazva alakították ki a molekula azidocsoportját [37]. Ez az út méretnövelésre kevésbé alkalmas, ezért az előállított szulfonát-származékok szisztematikus vizsgálatába kezdtem. A teszt reakciókat különböző oldószerekkel, katalizátorokkal és különböző hőmérsékleten végeztem el [111,112] (**20. ábra**). Az irodalmi eljárást reprodukálva a reakciót kipróbáltam a 3-*O*-triflil-származékkal (**7**) [37]. A reakció szobahőmérsékleten gyorsan, 16 óra alatt 59%-os termeléssel végbement, ugyanis a trifluorometánszulfonát kiváló távozó csoport. A reakció hátránya, azonban ahogy már említettem, hogy a triflil-származék (**7**) előállításához használt Tf_2O reagens drága és az intermedier triflát (**7**) bomlékony, nehezen tárolható. A 3-*O*-mezil-származék (**8**) reakcióját az irodalomban ajánlott DMF [71] helyett DMSO oldószerben végeztem el. A reakció a magas hőmérséklet (140-145 °C) ellenére csak nagyon lassan, 181 óra alatt játszódott le 54%-os termeléssel. A 3-*O*-tozil-származék (**9**) esetében szintén a DMSO-ban végzett reakció volt eredményesebb, 140-145 °C-on 54 óra alatt 45%-os termeléssel ment végbe, nagy méretben is. Ezen származék (**9**) esetében különböző fázistranszfer katalizátorok (Bu_4NCl , Bu_4NHSO_4) valamint az oldószer ($\text{DMSO-H}_2\text{O}$) hatását is vizsgáltam a reakcióra, azonban egyik esetben sem tapasztaltam jelentős sebességnövekedést [111,112].

A kipróbált négy szulfonát-származék közül a 3-*O*-(imidazol-1-szulfonil)-származékkal (**10**) végrehajtott reakció bizonyult a legjobbnak. A reakció kiindulási anyaga (**10**) mind közül

a legolcsóbban előállítható és a reakció toluolban, 80 °C-on, Bu₄NBr katalizátorral már 10 óra alatt 62%-os termeléssel lejártszódott.



20. ábra A 3-*O*-szulfonát-származékok (7-10) tesztelése a szulfonát → azid cserereakcióban, ahol **A-D** az egyes reakcióutakat jelöli. Alkalmazott reagensek és reakciókörülmények: a) NaN₃, DMF, szobahőmérséklet, 16 h; b) NaN₃, DMSO, 140-145 °C, 181 h; c) NaN₃, DMSO, 140-145 °C, 54 h; d) NaN₃, toluol, Bu₄NBr, 80 °C, 10 h.

Így a továbbiakban, ezen származék reakcióját méretnöveltem (~30 g kiindulási anyag), amelynek során ugyanilyen reakcióidőt és hatékonyságot sikerült elérnem. A különböző szulfonát-származékok reakciójának idő- és költségigényét, valamint hatékonyságát az alábbi táblázatban foglaltam össze (**3. táblázat**).

3. táblázat A 3-azido-3-dezoxi-allofuranóz származék (11) előállításának hozama, költsége és reakcióideje a négy 3-*O*-szulfonát-származékból (7-10) kiindulva.

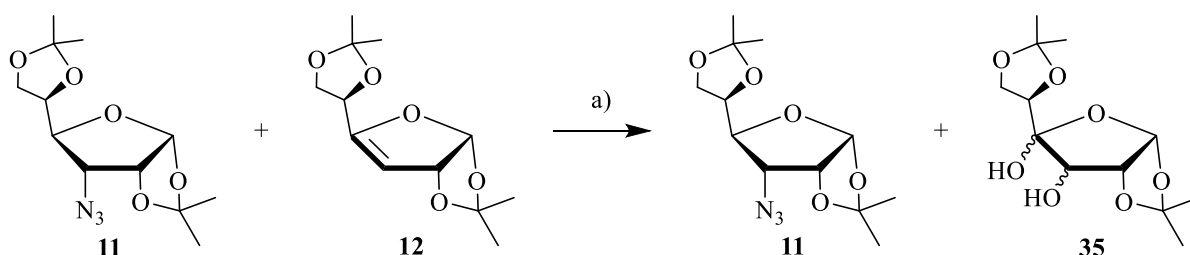
Reakcióút ^a	Termelés (%)		Ár (USD) ^b	Reakció idő (h)	
	3- <i>O</i> -SO ₂ R	3-N ₃		3- <i>O</i> -SO ₂ R	3-N ₃
A ^c	90	59	1600,0	2	16
B	68	54	14,5	48	181
C	83	45	21,0	24	54
D	84	62	4,0	1,5	10

^alásd **20. ábra**

^ba szintézis költségigénye 0,5 mol kiindulási anyagból (6)

^caz irodalmi szintézissor reprodukciója [37]

Az imént bemutatott szulfonát-származékok nukleofil szubsztitúciója során elkerülhetetlen az eliminációs reakció, így melléktermékként mindig keletkezik a 3-azido-3-dezoxi-származék (**11**) mellett az 1,2:5,6-di-*O*-izopropilidén- α -D-eritro-hex-3-enofuranóz (**12**) is 8-36%-ban. Ezt az irodalomban oszlopkromatográfiás tisztítással választották el a terméktől (**11**) [37]. Ez a megoldás nagyméretű reakcióknál nagyon költséges lenne, így kidolgoztunk egy hatékony eljárást a melléktermék eltávolítására. A reakció lejátszódását követően KMnO_4 hozzáadásával a telítetlen mellékterméket (**12**) egy vízdoldható, feltehetően vicinális diol-származékká (**35**) (ennek szerkezetét nem vizsgáltuk) alakítottuk, amely így extrakcióval könnyen elválasztható volt a célvegyülettől (**11**) (**21. ábra**).



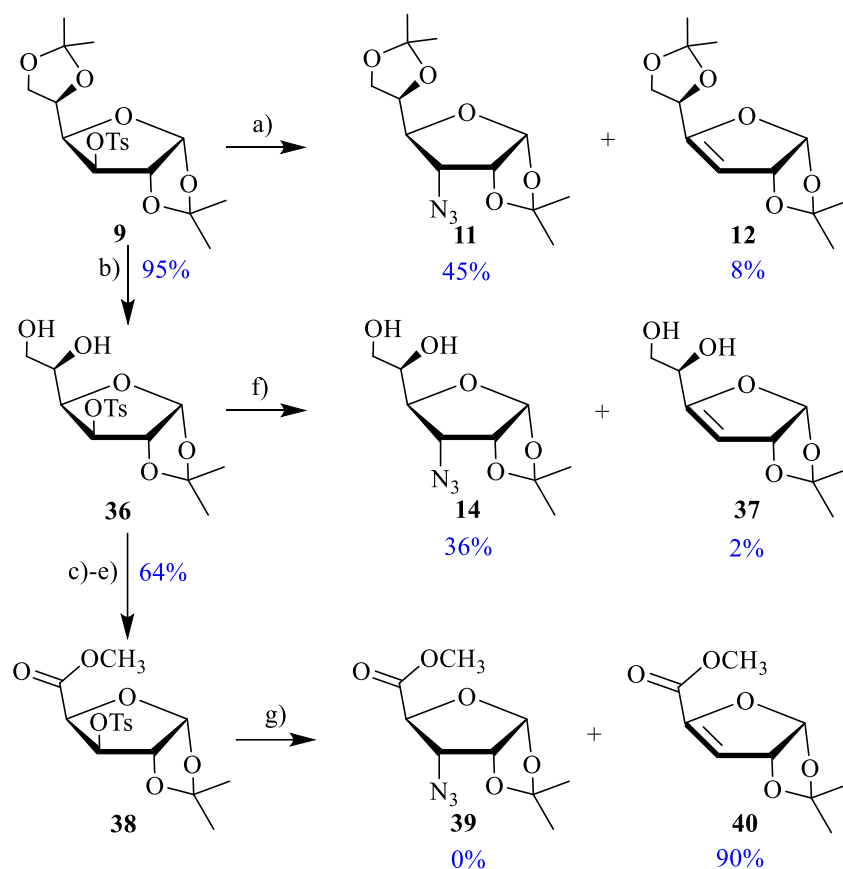
21. ábra A szulfonát \rightarrow azid cserereakcióban keletkező telítetlen melléktermék (**12**) átalakítása vízdoldható származékká (**35**). Alkalmazott reagensek és reakciókörülmények: a) KMnO_4 , H_2O , szobahőmérséklet, 5 h.

4.1.3. Szomszédcsoport hatása a szulfonát \rightarrow azid cserére

Szulfonát \rightarrow azid cserereakció esetén az elimináció a *transz* antiperiplanáris helyzetben lévő C-3 szulfonátcsoport és a C-4 atomon lévő H-atom kilépésével jön létre. Ebből következik, hogy a C-4 atomon lévő szubsztituens elektroneltolódási és sztérikus effektusa befolyásolhatja a képződő azido-származék és a telítetlen vegyület arányát. Ezért három, a C-4 atomján különböző szubsztituenset tartalmazó 3-OTs-származékkal végeztem el az azid cserereakciót és vizsgáltam a termékek arányát (**22. ábra**).

A védett 3-OTs-származék (**9**) mellett megvizsgáltam a belőle előállítható diol-származékokat (**36**) is a szulfonát \rightarrow azid cserereakcióban. A (**9**) vegyület 5,6-OH-csoportjainak izopropilidén védőcsoportját 75%-os ecetsavval távolítottam el. Ez esetben a C-4 szubsztituens sztérikus hatásáról beszélhetünk, ugyanis a védőcsoport eltávolítása az esetleges sztérikus árnyékolást csökkenti, így megnövekedhet az $\text{S}_{\text{N}}2$ reakció sebessége. A reakció ugyan gyorsabb lett (29 óra), de kisebb termeléssel, 36%-kal nyertem ki a megfelelő azido-származékokat (**14**), szemben a védett származékkal (**9**), ahol ez 45% volt. Ugyanakkor a melléktermék termelése jelentősen lecsökkent.

Glüko → Allo



22. ábra A szomszédcsoport hatás vizsgálata a szulfonát → azid cserereakcióra a C-4 atomon különböző szubsztituenst tartalmazó 3-OTs-származékok (**9**, **36** és **38**) esetén. A cserereakció minden esetben *glüko* → *allo* átalakuláshoz (inverzió a C-3 atomon) vezet. Alkalmazott reagensek és reakciókörülmények: a) NaN_3 , DMSO, 140-145 °C, 54 h; b) AcOH–H₂O 3:1, szobahőmérséklet, 1 nap; c) NaIO_4 , MeOH–H₂O 3:2, 0 °C, 1 nap; d) KMnO_4 , AcOH–H₂O 1:1, 0 °C, 1 nap; e) $\text{CH}_2\text{N}_2/\text{Et}_2\text{O}$, DCM, 0 °C, 20 perc; f) NaN_3 , DMSO, 135 °C, 29 h; g) NaN_3 , DMSO, 80 °C, 5 h.

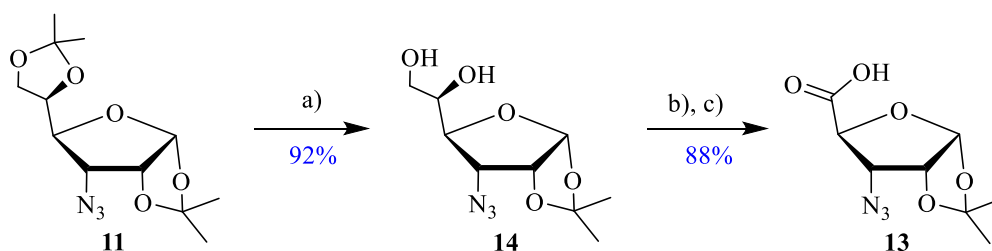
Ezt követően a diol-vegyületet (**36**) kétlépéses oxidációval tovább alakítottam karbonsav-származékká (**41**). Az oxidáció első lépése a NaIO_4 -os láncrövidítő oxidáció volt. Az így kapott aldehidet (**42**) izolálás nélkül KMnO_4 -tal oxidáltam tovább a megfelelő karbonsavvá (**41**). A karbonsav-származékon (**41**) az azid cserét a HN_3 képződésének veszélye miatt nem végeztem el. Ezért a karbonsavból (**41**) a következő reakciólépésben diazometánnal metil-észter-származékot (**38**) képeztem. Ezzel a vegyülettel elvégezve a reakciót, kizárólag az eliminációs terméket (**40**) kaptam, amely valószínűleg a COOCH_3 -csoport erős elektronszívó

hatásának köszönhető, ugyanis ezáltal az elimináció lesz a kedvezményezett folyamat (**22. ábra**).

Ezen eredmények alapján elmondható, hogy az azid cserét érdemesebb elvégezni a védett szulfonát-származékon. Az előző fejezetben bemutatott eredmények alapján erre a 3-*O*-(imidazol-1-szulfonil)-származék (**10**) a legalkalmasabb.

4.1.4. A C-terminális kialakítása

A szulfonát \rightarrow azid csere termékeként kapott 3-azido-származék (**11**) 5,6-OH-csoportjainak izopropilidén védelmét 75%-os ecetsavval távolítottam el (**23. ábra**). A reakció után egy többkomponensű elegyet kaptam, amelyben a diol-vegyület (**14**) dominált. A szennyezők eltávolítását egyrészt kristályosítással próbáltam meg különböző oldószer elegyeket alkalmazva (DCM, hexán–DCM, petroléter–DCM, EtOAc–hexán), amely nem vezetett eredményre. Végül flash kromatográfiával (3,5 g keverék/oszlop) sikerült a melléktermékektől elválasztanom a terméket (**14**).



23. ábra A 3-azido-ribofuran-uronsav (**13**) előállítás a 3-azido-3-dezoxi-allofuranózból (**11**) az izopropilidén védőcsoport eltávolítását követő kétlépéses oxidációval. Alkalmazott reagensek és reakciókörülmények: a) AcOH–H₂O 3:1, szobahőmérséklet, 2 nap; b) NaIO₄, MeOH–H₂O 3:2, 0 °C, 1 nap; c) KMnO₄, AcOH–H₂O 1:1, 0 °C, 2 nap.

A diol-vegyületen (**14**) kétlépéses oxidációval alakítottam ki a karboxil funkciót. Az oxidáció első lépése a NaIO₄-dal végzett láncrövidítő oxidáció, amely során a megfelelő aldehid (**15**) keletkezik. Ezt izolálás nélkül tovább oxidálva KMnO₄-tal megkaptam a karbonsavat (**13**). A nagyméretű reakciónál célszerű volt a hőmérsékletet végig 0 °C-on tartani, hogy elkerüljük a dekarboxileződést. A reakcióból kapott terméket (**13**) hexánból sikerült kristályosítanom (**23. ábra**).

Azért, hogy a reakcióút során kiküszöböljem a kromatográfiás tisztítást, elvégeztem egy olyan kísérletet is, melynek során a diol-származékot (**14**) tisztítás nélkül alakítottam tovább karbonsavvá. A karbonsav-származékot (**13**) sóképzéssel kísértem megtisztítani. Ekkor a több

komponensű nyersteget metanolban oldottam, majd 15%-os NaOMe-oldatot adagoltam hozzá, amíg a pH 11 nem lett. Az így kapott Na-sót Dowex 50 kationcserélő gyanta segítségével próbáltam elválasztani a melléktermékektől, feltételezve, hogy azok nem képeztek Na-sót, azonban ez nem volt sikeres.

4.1.5. Az *N*-terminális redukciója és Fmoc-védelmének kialakítása

A *C*-terminális kiépítését követően az azido-karbonsav (**13**) azidocsoportjának redukcióját egyrészt a Staudinger reakcióval végeztem el [112]. E reakció során PPh₃-nal létrehoztam a megfelelő foszfinimin-származékot (**43**), amelyet NH₃-oldattal hidrolizáltam el amino-vegyületté (**3**). A Staudinger reakció tesztelésével célom volt feltérképezni a reakció esetleges alkalmazhatóságát szilárd fázisú szintéziseknél az azido funkció redukálására.

A másik módszer, amit alkalmaztam a redukcióra a katalitikus hidrogénezés az áramlásos rendszerű H-Cube Mini[®] reaktorról, 10% Pd/C katalizátort alkalmazva (lásd 2.4.1.3. fejezet). Az H-Cube Mini[®] reaktor előnyei a hagyományos katalitikus hidrogénezéssel szemben a magasabb termelés, környezetkímélő és a termék egyszerűen elválasztható a katalizátortól. Az ideális paraméterek (*T*, *p*, *c*, áramlási sebesség) kidolgozásához a reaktorról teszt reakciókat végeztem (**4. táblázat**).

4. táblázat Az H-Cube Mini[®] reaktorról történő azid redukció paramétereinek: nyomás (*p*), hőmérséklet (*T*), minta koncentráció (*c*) és áramlási sebesség optimalizálása.

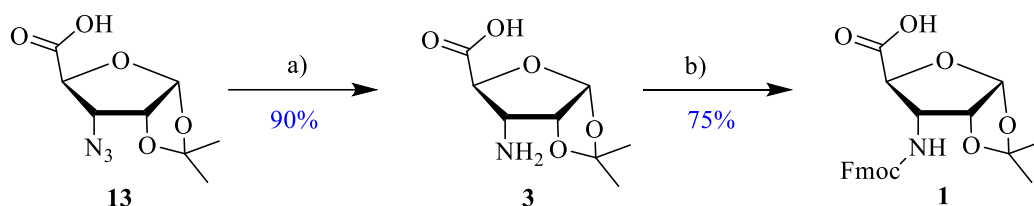
<i>p</i> (bar)	<i>T</i> (°C)	<i>c</i> (mmol·dm ⁻³)	Áramlási sebesség (ml·perc ⁻¹)	Termelés (%)
10	60	35	0,3	84
10	60	35	0,2	90
10	60	25	0,2	80
10	60	45	0,2	75
10	70	35	0,2	60 ^a

^amelléktermékek jelentek meg

Elsőként a ThalesNano azid → amin átalakításra ajánlott körülményeit próbáltam ki (10 bar, 60 °C, 35 mmol/dm³, 0,3 ml/perc). Azáltal, hogy az áramlási sebességet 0,3-ról 0,2 ml/perc-re csökkentettem, növekedést tapasztaltam a termelésben. Az eredményesebb áramlási sebességnél változtattam az oldat koncentrációját, de sem a hígítás, sem a töményítés nem

vezetett jobb eredményre. A hőmérséklet növelésével, 60 °C-ról 70 °C-ra, pedig melléktermékek megjelenését tapasztaltam. Ez alapján tehát a reakció optimális körülményei a 10 bar, 60 °C, 35 mmol/dm³, 0,2 ml/perc. Ezeket alkalmazva az azido-karbonsav (**13**) redukcióját sikeresen megvalósítottam, izolálva így az amino-karbonsav molekulát (**3**) (**24. ábra**).

Ezen reakciólépésnél is elvégeztem egy olyan kísérletet, amellyel a reakcióút során jelentkező kromatográfia kiküszöbölése volt a célom. A diol-származékot (**14**) tisztítás nélkül alakítottam tovább karbonsavvá (**13**), majd ezt redukáltam amino-vegyületté (**3**). Az amino-karbonsav származékot (**3**) sóképzéssel kíséreltem megtisztítani a melléktermékektől. 3,8 m/m%-os HCl-oldattal HCl-sót képeztem, azonban a szennyezők eltávolítása nem volt sikeres. Tehát következtetésként levonható, hogy tiszta Fmoc-karbonsav (**1**) előállításához az szükséges, hogy a parciális védőcsoport eltávolítással kapott diol (**14**) mellett jelen levő szennyezőket kromatográfiásan el kell távolítani. Az azt követő lépéseknél ugyanis a kromatográfia nem lehetséges, mert a karbonsav funkcióval rendelkező vegyületeket tapasztalatom szerint nem lehetett tisztán kinyerni.



24. ábra Az Fmoc-védett 3-amino-ribofuran-uronsav (**1**) szintézise a 3-azido-ribofuran-uronsav (**13**) redukciójával majd az amino-származék (**3**) Fmoc-védőcsoportjának kiépítésével. Alkalmazott reagensek és reakciókörülmények: a) H-Cube Mini[®] (10 bar, 60 °C, 35 mmol/dm³, 0,2 ml/perc), H₂, CH₃OH, 10% Pd/C; b) NaHCO₃, MeOH–H₂O 2:1, Fmoc-OSu/THF, szobahőmérséklet, 2 nap.

A tiszta, izolált amino-karbonsav (**3**) aminocsoportját végezve Fmoc-védelemmel láttam el, ezáltal peptidszintézisre alkalmas származékot kaptam. A reakciót Fmoc-OSu reagenssel végeztem három különböző oldószer elegyet kipróbálva: *i*) MeOH–H₂O 2:1, *ii*) H₂O–acetón 2:1, *iii*) dioxán–H₂O 1:1. Az oldószer elegyek közül a MeOH–H₂O 2:1 bizonyult a legeredményesebbnek. A reakció során kapott terméket (**1**) hexánból kristályosítottam (**24. ábra**).

A fent bemutatott szintézissorral tehát az α-D-glükózból (**5**) kiindulva 7 reakciólépéssel előállítottam a peptidszintézisre alkalmas Fmoc-karbonsav molekulát (Fmoc-RibAFU(ip)-OH)

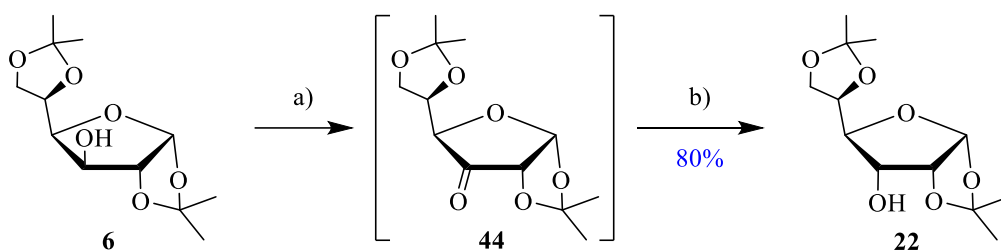
(1) 15%-os össztermeléssel. A szintézissor minden egyes lépése nagyméretben is optimalizált a reakcióidő, a termelés és a költségigény szempontjából. A nagy mennyiségben előállított monomer pedig lehetőséget adott a peptidkapcsolási reakciók tesztelésére, valamint változatos peptidszekvenciák felépítésére.

4.2. Az 1,2-*O*-izopropilidén-*N*-(9-fluorenil-metoxi-karbonil)-3-amino-3-dezoxi- α -*D*-xilofurán-uronsav (Fmoc-XylAFU(ip)-OH) (2) méretnövelt szintézise

A peptidszintézisre szintén alkalmas Fmoc-XylAFU(ip)-OH (2) monomer az előzőekben bemutatott Fmoc-RibAFU(ip)-OH (1) C-3 epimerje. A molekula prekursorának, az amino-karbonsav molekulának (4) a szintézise egy másik doktori disszertáció témáját képezte [114], azonban a leírt szintézissort munkám során sikerült tovább optimalizálnom, méretnövelnem, valamint sikeresen előállítottam a kapcsolásra alkalmas Fmoc-védett-származékot (2). Ezeket az eredményeket a következőkben mutatom be [113].

4.2.1. A Swern oxidáció

A monomer (2) előállításának kiindulási anyaga szintén az α -*D*-glükóz (5), amelyből könnyen előállítható a védett glükofuranóz, az 1,2:5,6-di-*O*-izopropilidén- α -*D*-glükóz (6). Ennek 3-OH-csoportját ezt követően invertálni kell, hogy megkapjuk az *allo*-származékot (22), amely a reakciósor végén a *xilo* konfigurációjú epimert (2) eredményezi.



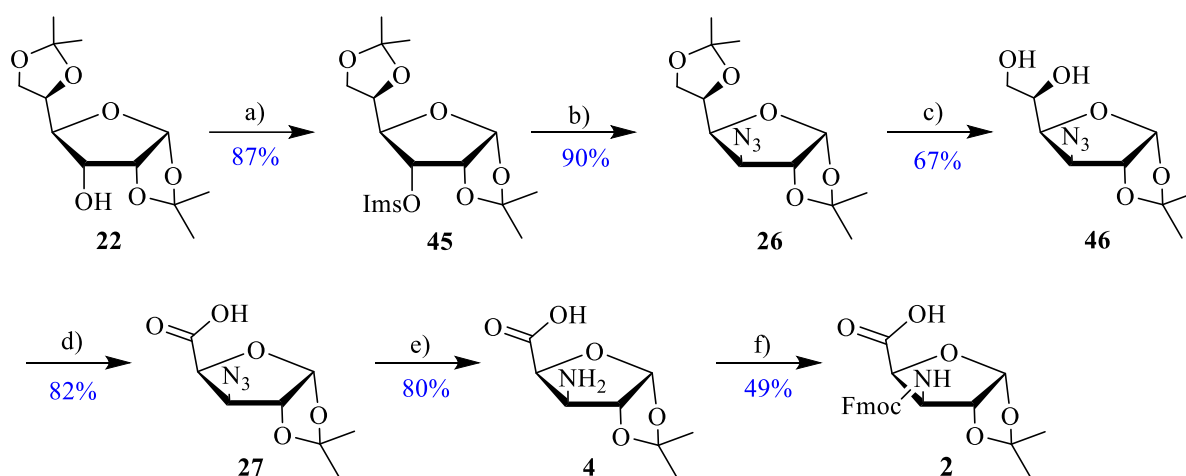
25. ábra A védett glükofuranóz (6) átalakítása az *allo* epimerré (22) Swern oxidációval. Alkalmazott reagensek és reakciókörülmények: a) DMSO, oxalil-klorid, DCM, -80 °C, 3 h; b) NaBH_4 , H_2O -EtOH 4:1, -70 °C, 1 h.

A *glüko* \rightarrow *allo* inverziót a korábbi dolgozatban [114] PCC-vel valamint TEMPO/BAIB-val történő oxidációval valósították meg, amelyek hátránya a hosszú reakcióidő (~ 1 hét) és az alacsonyabb konverzió, tehát szükséges volt ezen lépés optimalizálása. A reakciót megkíséreltem DMSO/oxalil-klorid rendszerrel, azaz a Swern oxidációval, amelyet NaBH_4 -es redukció követett. A reakcióelegyet a reakció során végig alacsony hőmérsékleten, -80 - -70

°C-on kell tartani, amely következtében a reagensek csepegtetése csak nagyon lassan végezhető. Ez korlátot szab a reakció méretének, egy nap alatt maximum 15 g kiindulási anyagból (**6**) induló reakció kivitelezhető. Az eljárás nagy előnye azonban, hogy a reakcióból nagy méretben is 80%-os konverzióval kaptam meg az *allo*-származékot (**22**) (**25. ábra**).

4.2.2. Az Fmoc-védett xilofurán-uronsav (**2**) előállítás

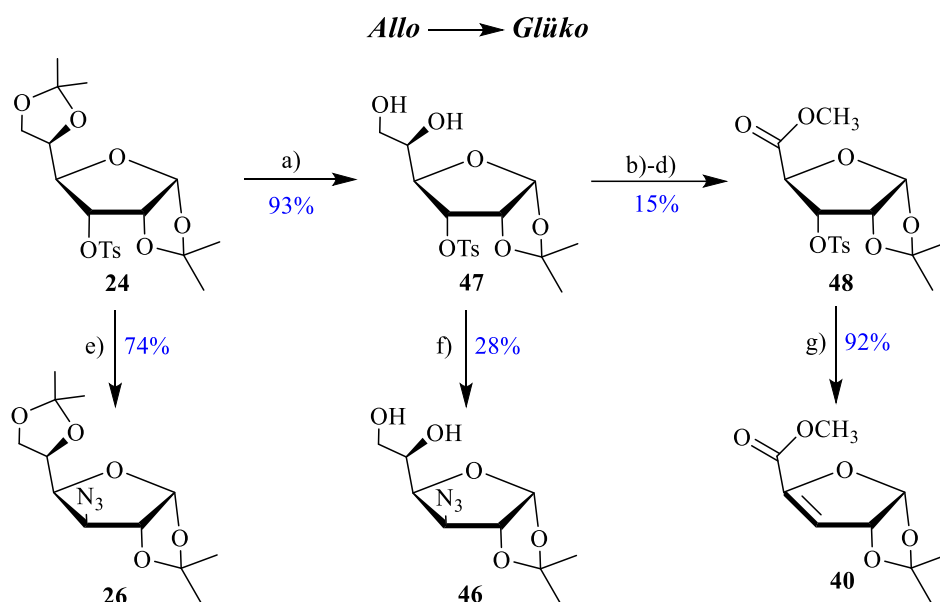
Az Fmoc-védett karbonsav (**2**) előállításánál az 1,2:5,6-di-*O*-izopropilidén- α -D-allofuranózból (**22**) kiindulva, a *glükó*-származéknál legjobbnak bizonyult imidazol-1-szulfonáton keresztül véghezvitt szintézissort méretnöveltem (**26. ábra**).



26. ábra Az Fmoc-XylAFU(ip)-OH (**2**) foldamer monomer totálszintézise a védett allofuranózból (**22**) kiindulva. Alkalmazott reagensek és reakciókörülmények: a) NaH, DMF, Im_2SO_2 , $-40\text{ }^\circ\text{C}$, 1,5 h; b) NaN_3 , toluol, Bu_4NBr , $80\text{ }^\circ\text{C}$, 8 h; c) AcOH– H_2O 3:1, szobahőmérséklet, 1 nap; d) (i) NaIO_4 , MeOH– H_2O 3:2, $0\text{ }^\circ\text{C}$, 1 nap; (ii) KMnO_4 , AcOH– H_2O 1:1, $0\text{ }^\circ\text{C}$, 2 nap; e) H-Cube Mini[®] (10 bar, $60\text{ }^\circ\text{C}$, 35 mmol/dm^3 , 0,2 ml/perc), H_2 , CH_3OH , 10% Pd/C; f) NaHCO_3 , MeOH– H_2O 2:1, Fmoc-OSu/THF, szobahőmérséklet, 2 nap.

Elsőként tehát az általam előállított, olcsó *N,N'*-szulfuril-diimidazol reagenssel imidazol-1-szulfonil-származékot (**45**) állítottam elő. Amíg a *glükó*-származék (**10**) a reakcióelegy feldolgozásakor jeges vízre öntéskor fehér szilárd anyagként kivált, addig az *allo*-származékot (**45**) extrakcióval sikerült kinyerni a vízből. Feltehetően az akadályozta a kiválást, hogy a terméket kis mennyiségben szennyezte a *glükó* epimer (**10**). A két epimert kristályosítással (dietyl-éter–petroléter) próbáltam elválasztani, azonban ez sikertelen volt. Az oszlopkromatográfiás tisztítás nagy méretben rendkívül költséges lett volna, ezért úgy döntöttem, hogy a tisztítást egy későbbi lépésnél fogom elvégezni. A szintézissor következő

lépése az azid cserereakció, amely nagy méretben is nagyon jó (~90%) termeléssel adta az azido-származékot (**26**). Várakozásaimnak megfelelően kizárólag az azido-vegyület (**26**) keletkezett, ugyanis ez esetben eliminációval nem kell számolnunk, mivel a C-4 H-atom és a C-3 szulfonátcsoport *cis* helyzetben van.



27. ábra A szomszédcsoport hatás vizsgálata a szulfonát \rightarrow azid cserereakcióra a C-4 atomon különböző szubsztituenst tartalmazó 3-OTs-származékok (**24**, **47** és **48**) esetén. A cserereakció minden esetben *allo* \rightarrow *glüko* átalakuláshoz (inverzió a C-3 atomon) vezet. Alkalmazott reagensek és reakciókörülmények: a) AcOH–H₂O 3:1, szobahőmérséklet, 1 nap; b) NaIO₄, MeOH–H₂O 3:2, 0 °C, 1 nap; c) KMnO₄, AcOH–H₂O 1:1, 0 °C, 1 nap; d) CH₂N₂/Et₂O, DCM, 0 °C, 20 perc; e) NaN₃, DMSO, Bu₄NHSO₄, 135 °C, 52 h; f) NaN₃, DMSO, 135 °C, 28 h; g) NaN₃, DMSO, 80 °C, 5 h.

Egy nem várt elimináció lépett fel azonban, amikor a *glüko*-származékhoz hasonlóan megvizsgáltam a szomszédcsoport hatását az azid cserereakcióra a 3-OTs-származékokon (**24**, **47** és **48**) (**27. ábra**). Az izopropilidénnel védett 3-OTs-származékból (**24**) a *glüko*-származék (**9**) reakcióival analóg módon, több lépésben előállítottam a diolt (**47**) és a metil-észter-származékot (**48**). Ezeken elvégezve az azid cserereakciót szintén azt találtam, hogy a diizopropilidén védett származék (**24**) reakciójából lehet legnagyobb hozammal kinyerni a megfelelő azido-származékot (**26**). A metil-észter-származék (**48**) reakciója esetén pedig ugyanazt a telítetlen vegyületet (**40**) kaptam, mint a C-3 epimer (**38**) reakciójából. Ez azzal magyarázható, hogy a C-4 atomon lévő COOCH₃-csoport olyan erős elektronszívó hatást fejt ki, hogy képes *cis* eliminációt indukálni. A nem várt eliminációra találhatunk példát az

irodalomban is. A **48** vegyülettel analóg mezil-származék esetében KOH-dal végrehajtott reakció során is *cisz* eliminációt tapasztaltak [115].

A céltermék szintézissorához visszatérve a következő reakciólépés a 3-azido-3-dezoxi-glükofuranóz (**26**) izopropilidén védelmének parciális eltávolítása volt 75%-os ecetsavval. Ahogy a C-3 epimer molekulánál (**14**), ez esetben is szükséges volt az oszlopkromatográfiás tisztítás a melléktermékek eltávolítására, illetve ezzel sikerült elválasztanom egymástól a két epimert is. Ezt követően a molekula C- és N-terminálisának kiépítését az *allo*-származék (**14**) reakcióival analóg módon végeztem (kétlépéses oxidáció, azidocsoport redukciója H-Cube Mini[®]-val) és megkaptam a várt aminosavakat (**4**). Ebből a korábbiakban bevált módszerrel, Fmoc-OSu reagenssel, MeOH–H₂O 2:1 rendszerben sikeresen végrehajtottam az Fmoc-védelem kialakítását. Ezzel sikerült az α -D-glükózból (**5**) kiindulva 8 reakciólépéssel egy új, peptidszintézisre alkalmas monomer, az Fmoc-XylAFU(ip)-OH (**2**) szintézisét 7%-os össztermeléssel megvalósítanom.

A két C-3 epimer Fmoc-védett β -cukoraminosav nagyméretben is optimalizált szintézisének megvalósításával a monomerek nagy mennyiségben álltak rendelkezésre, hogy azok peptidkapcsolási tulajdonságait vizsgáljam, valamint változatos homo- és heterooligomereket építsek fel belőlük.

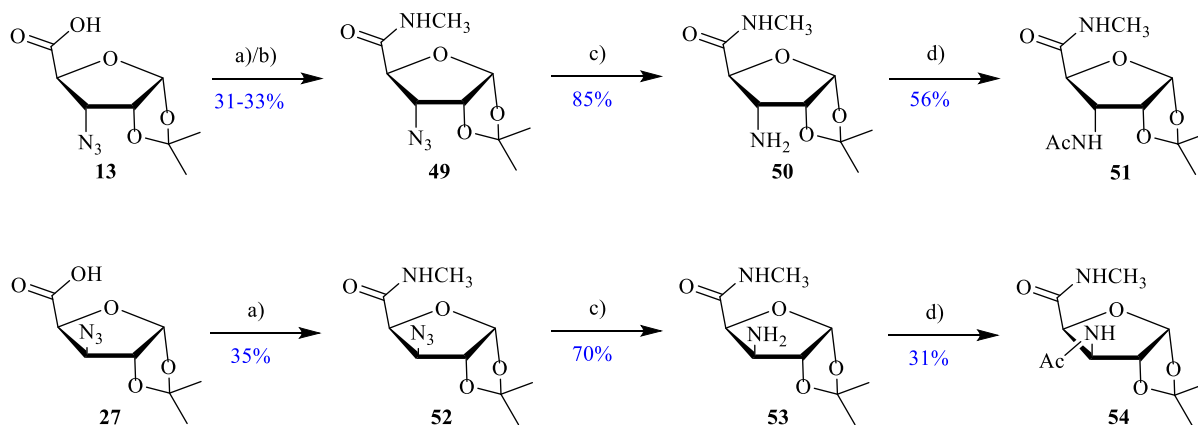
4.3. Modellvegyületek előállítása

Mindkét vizsgált β -cukoraminosav esetében, annak tesztelése céljából, hogy a C- és N-terminálisuk alkalmas-e amidkötés kialakítására diamid modellvegyületeket állítottam elő oldatfázisú szintézissel. Ezek a vegyületek a legkisebb és legegyszerűbb modelljei a homo- és heterooligomereknek. C-terminálisukon amid, N-terminálisukon pedig N-acetil funkciót tartalmaznak, így a peptidkötésben lévő monomereket modellezhetik. Továbbá a modellvegyületek spektroszkópiai jellemzése segíthet megjósolni az α -vagy β -peptidekbe épített monomerek által indukált térszerkezetet [116].

4.3.1. A C-terminálison monometil-amidcsoportot tartalmazó modellvegyületek

A *ribo* konfigurációjú modellvegyület, az N-metil-1,2-*O*-izopropilidén-3-acetamido-3-dezoxi- α -D-ribofuranuronamid (Ac-RibAFU(ip)-NMe) (**51**) szintézisét MSc kutatómunkám során megvalósítottam, azonban spektroszkópiai vizsgálatok céljából a vegyületet ismét előállítottam kisebb módosításokat végezve a szintézissoron [112]. A *xylo* konfigurációjú modellvegyület, az N-metil-1,2-*O*-izopropilidén-3-acetamido-3-dezoxi- α -D-xilofuran-

uronamid (Ac-XylAFU(ip)-NMe) (**54**) szintézise pedig egy korábbi doktori dolgozatban [114] megtalálható, azonban akkor nem sikerült spektroszkópai vizsgálatokra megfelelően tiszta vegyületet szintetizálni, így ennek szintézisét és tisztítását optimalizálnom kellett (**28. ábra**).



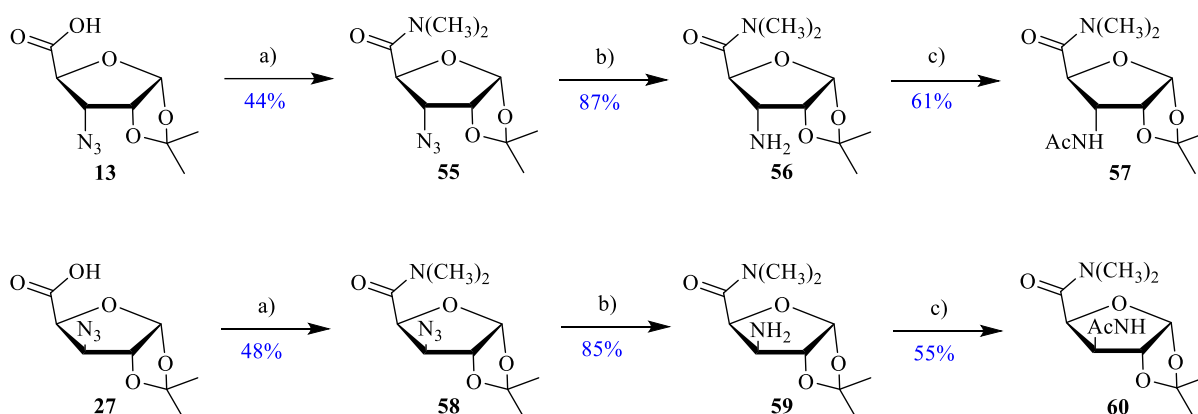
28. ábra C-terminálisukon monometil-amidcsoporttal rendelkező modellvegyületek (**51** és **54**) szintézise a megfelelő azido-karbonsavakból (**13** és **27**) kiindulva. Alkalmazott reagensek és reakciókörülmények: a) (i) ClCOOⁱBu, TEA, DMF, -15 °C, 20 perc; (ii) 2M MeNH₂/THF, -15 °C → 0 °C, 1+1 h; b) CH₃NH₂·HCl, HOBt, EDCI, DCM, szobahőmérséklet, 3 h; c) H-Cube Mini[®] (10 bar, 60 °C, 35 mmol/dm³, 0,2 ml/perc), H₂, CH₃OH, 10% Pd/C; d) Ac₂O–Py, 0 °C, 2 nap.

A modellvegyületek szintézisének kiindulási anyagai a 3-azido-3-dezoxi-ribofuranuronsav (**13**) valamint a 3-azido-3-dezoxi-xilofuranuronsav (**27**) voltak. A *ribo*-származék esetén a C-terminális amidcsoporttá alakítására két reakciót is elvégeztem. Egyrészt a peptidkémiai általánosan használt kapcsoló reagenst, a HOBt-t alkalmazva, a metil-amint hidroklorid-sójából EDCI-vel *in situ* felszabadítva ment a reakció. A másik módszer során a kiindulási anyag (**13**) karboxilcsoportját klórhangyasav-izobutilészterrel reagáltatva a megfelelő vegyesanhidrid-származékot kaptam, amelyet metil-aminnal *in situ* tovább alakítottam, kialakítva így a metilamid-csoportot. A két reakcióból szinte azonos mennyiségben kaptam meg a célvegyületet (**49**), így a *xilo*-származék (**52**) előállításánál már csak a vegyesanhidriden keresztül történő reakciót végeztem el. Mindkét epimer esetében ahhoz, hogy a szintézissor végén tiszta modellvegyületekhez jussunk, e reakcióból kapott nyersanyagot oszlopkromatográfiásan tisztítanom kellett. A *ribo* konfigurációjú azido-származék (**49**) azidocsoportját korábbi munkám során a Staudinger reakcióval majd az azt követő hidrolízissel redukáltam [112]. Ez a módszer a *xilo*-származéknál (**52**) sikertelen volt, ugyanis nem várt

stabilitású foszfinimin-származék képződött, amelyet nem lehetett elhidrolizálni aminosav-vegyületté (**53**) [117]. A reakciót megkíséreltem az H-Cube Mini[®] reaktortal, áramlásos rendszerű katalitikus hidrogénezéssel is, amelyhez a következő reakció paramétereiket használtam: $p = 10$ bar, $T = 60$ °C, $c = 35$ mmol/dm³, áramlási sebesség: 0,2 ml/perc. Ezzel a módszerrel mindkét epimer esetében sikerült kiváló termeléssel és könnyen izolálhatóan megkapnom a célvegyületet. Az izolált aminosav-vegyületek (**50** és **53**) *N*-terminálisát Ac₂O–Py rendszerrel acetileztem és a nyerstermékeket EtOAc–petroléter elegyből kristályosítva sikeresen előállítottam a kívánt modellvegyületeket (**51** és **54**), amelyeket spektroszkópai vizsgálatoknak vetettünk alá.

4.3.2. A *C*-terminálison dimetil-amidcsoportot tartalmazó modellvegyületek

A modellvegyületekkel kapcsolatban érdekesnek bizonyult továbbá azt is megvizsgálni, hogy a karboxamidcsoport NH-protonjának jelenléte befolyásolja-e a monomer térszerkezet indukáló hatását.



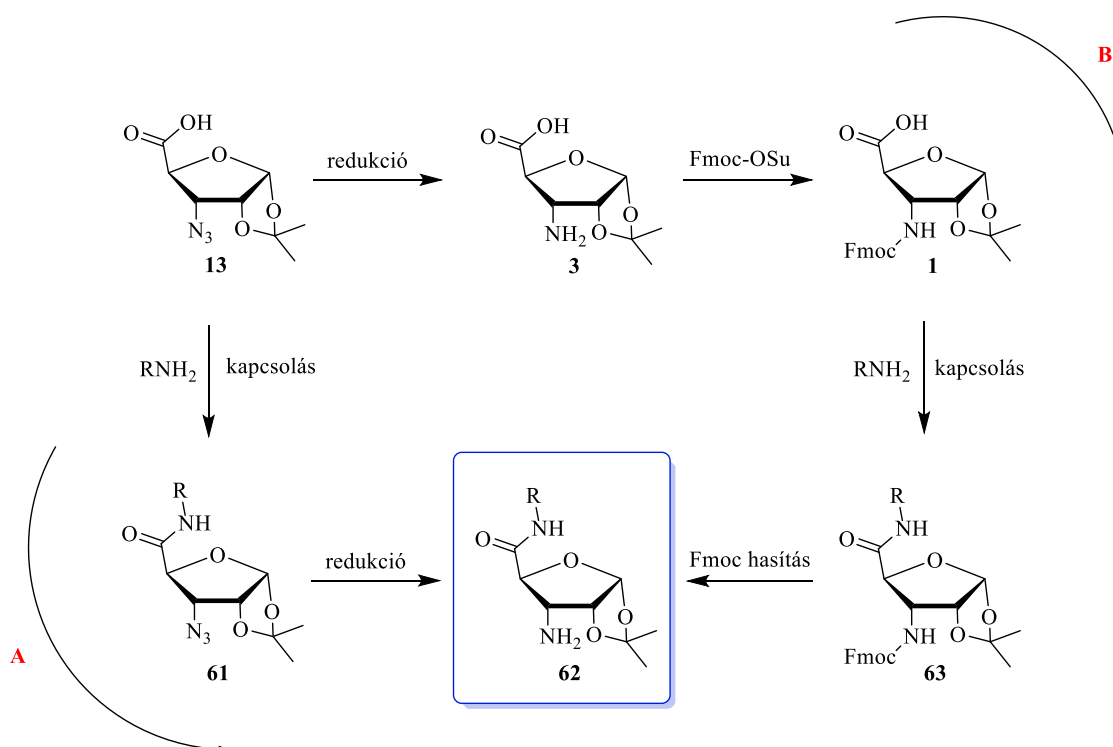
29. ábra *C*-terminálisukon dimetil-amidcsoporttal rendelkező modellvegyületek (**57** és **60**) szintézise a megfelelő azido-karbonsavakból (**13** és **27**) kiindulva. Alkalmazott reagensek és reakciókörülmények: a) (i) ClCOO^tBu, TEA, DMF, –15 °C, 20 perc; (ii) 2M MeNH₂/THF, –15 °C → 0 °C, 1+1 h; b) H-Cube Mini[®] (10 bar, 60 °C, 35 mmol/dm³, 0,2 ml/perc), H₂, CH₃OH, 10% Pd/C; d) Ac₂O–Py, 0 °C, 2 nap.

Ezért mindkét epimer esetében előállítottam a *C*-terminálison dimetil-amidcsoportot tartalmazó modellvegyületeket (Ac-RibAFU(ip)-NMe₂ (**57**) és Ac-XylAFU(ip)-NMe₂ (**60**)) is spektroszkópai vizsgálatok céljából. A *xilo*-származék (**60**) szintézise ebben az esetben is megtalálható egy korábbi doktori dolgozatban [114], azonban a modellvegyület tisztasága nem volt megfelelő a további vizsgálatokhoz, így optimalizálnom kellett a szintézist (**29. ábra**).

A reakciókat a monometil-amidcsoportot tartalmazó modellvegyületek előállításával analóg módon végeztem, viszont itt a karboxamid-csoport kialakításánál a vegyesanhidrid képzés után dimetil-amint használtam előállítva így a dimetil-amid-származékokat (**55** és **58**). Ezek esetében szintén nagyon fontos volt a nyerstekek oszlopkromatográfiás tisztítása, hogy a szintézissor végén tiszta modellvegyületekhez jussunk. Ezt követően az azidocsoportot H-Cube Mini[®]-val redukáltam az előzőekben alkalmazott körülményekkel ($p = 10$ bar, $T = 60$ °C, $c = 35$ mmol/dm³, áramlási sebesség: 0,2 ml/perc), majd pedig Ac₂O–Py eleggyel acetileztem, megkapva így a diamid-vegyületeket (**57** és **60**), amelyeket szintén spektroszkópai vizsgálatoknak vetettünk alá.

4.4. Homo- és heterooligomerek előállítása

Az előzőekben bemutatott, optimalizált totálszintézisekkel előállított Fmoc-védett β -cukoramidosavak (**1** és **2**) peptidszintézisre alkalmas monomerek. Azonban mindkét szintézissorban találunk egy-egy további alkalmas monomert is. Ezek az Fmoc-származékok prekursorai, az azido-karbonsavak (**13** és **27**), amelyekben az azido funkciót maszkírozott amino funkciónak tekinthetjük.



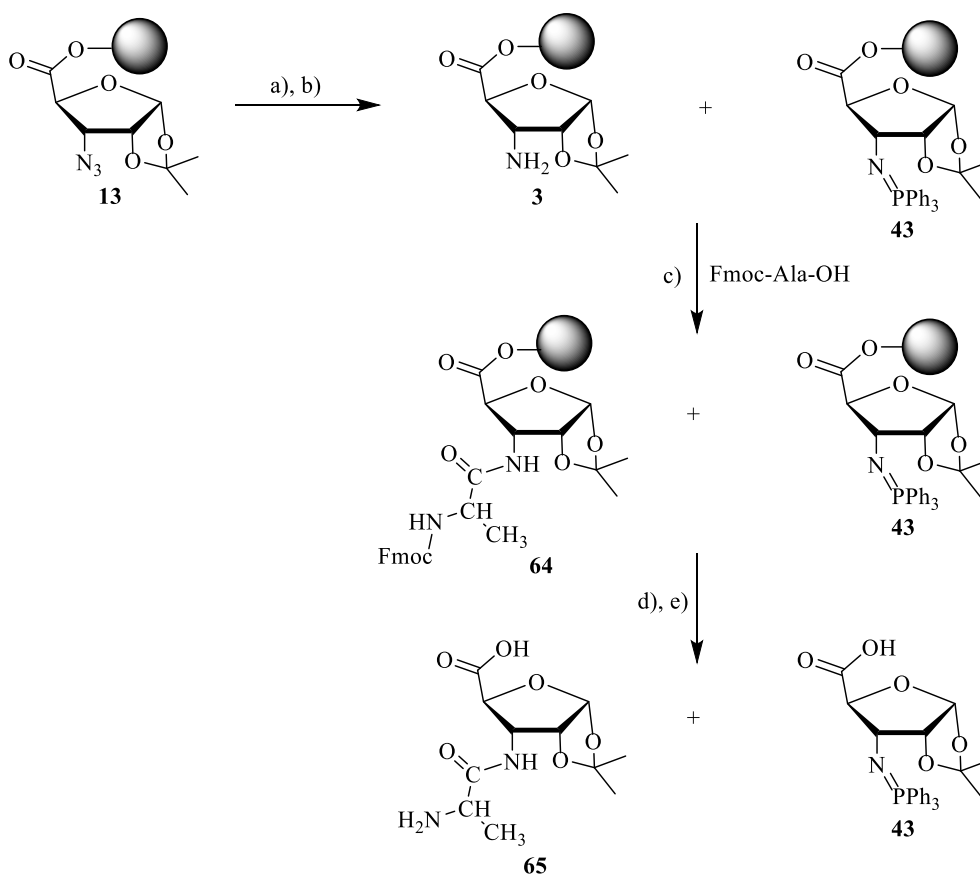
30. ábra A peptidszintézisre alkalmas két monomer, az azido-karbonsav és az Fmoc-karbonsav molekulák kapcsolási sémája, a *ribo* konfigurációjú cukoramidosav példáján bemutatva. **A** és **B** a két különböző reakcióutat jelöli.

Ráadásul az azido-karbonsavak (**13** és **27**) előállítása két reakciólépéssel rövidebb, így előállításuk költség- és időhatékonyabb, ezért mindenképpen érdemes volt kipróbálni e molekulák alkalmazhatóságát is a szilárd fázisú peptidszintézisekben. Viszont ez esetben az azidocsoport redukcióját a gyantán kell elvégeznünk, ami nehézséget okozhat (**30. ábra**).

4.4.1. A H-AtX-OH (**65**), valamint a H-GGtXGG-OH (**68**) szekvenciájú α/β -modell peptidok előállítása szilárd fázisú peptidszintézissel

A szilárd fázisú peptidszintézisre alkalmas monomerek közül először tehát az azido-karbonsav molekulát volt érdemes kipróbálni. Jelen dolgozat a *ribo*-származékot (**13**) tartalmazó peptidok szintézisét mutatja be, a *xilo* konfigurációjú azido-karbonsav molekulával (**27**) felépített peptidok egy korábbi doktori dolgozatban megtalálhatók [114].

A (**13**) molekulát elsőként egy egyszerű H-AtX-OH (**65**) szekvencia felépítésével teszteltem – ahol az X a cukoraminosav molekulát jelöli –, amellyel egyben a gyantához való direkt kapcsolását is vizsgáltam (**31. ábra**). A szintézis Fmoc/^tBu stratégiájú lépésenkénti SPPS-el történt. Szilárd fázisként 2-Cl-Trt-Cl gyantát választottam, ugyanis erről a gyantáról a peptid gyenge savval, AcOH–MeOH–DCM 1:1:8 eleggyel is hasítható. A gyenge savval történő hasítás azért fontos, mert a cukoraminosavak izopropilidén védőcsoportja erős savra érzékeny. Az azido-karbonsav molekulát (**13**) a 2-Cl-Trt-Cl gyantára alkalmazott protokoll [118] szerint kapcsoltam DIEA jelenlétében 3 órán át. A kapcsolás hatékonyságát eleminalízissel határoztam meg, N (%) = 2,82 volt, ami 16%-os kapcsolási hatékonyságnak felel meg. A következő lépés az azidocsoport redukciója volt, amelyet az oldatfázisú kísérleteknél jól bevált [112] Staudinger reakcióval és az azt követő hidrolízissel kíséreltem meg. A gyantát PPh₃ piridines oldatával elegyítettem, majd az így keletkező foszfinimin-származékot (**43**) NH₃-oldattal hidrolizáltam el. A reakció során az a nehézség lépett fel, hogy a redukció első lépésében keletkező foszfinimin-származék (**43**) is kék Kaiser tesztet adott, így a hidrolízist aminná (**3**) már nem tudtam ezzel a módszerrel követni. Az irodalomban egyébként több példát is találhatunk arra, hogy az azidocsoport jelenlétét úgy bizonyították, hogy foszfinimint képeztek belőle, ami pozitív Kaiser tesztet adott [119]. A cukoraminosavhoz a következő aminosavat, az Fmoc-Ala-OH-t HOBt/DIC reagenssel kapcsoltam 3 órán át. Ezt követően lehasítottam az Fmoc-védőcsoportot 2% piperidin/2% DBU/DMF eleggyel 3+17 perc alatt, melynek sikerességét Kaiser tesztel ellenőriztem. Végül lehasítottam a dipeptidet (**65**) a gyantáról gyenge savval, AcOH–MeOH–DCM 1:1:8 elegyet alkalmazva. A hasítás 18 óra alatt ment végbe.



31. ábra A H-AtX-OH modell peptid (**65**) felépítése a 3-azido-ribofurán-uronsav (**13**) molekulával, Fmoc/^tBu stratégiájú szilárd fázisú peptidszintézist alkalmazva. Alkalmazott reagensek és reakciókörülmények: a) PPh₃, Py, 3 h; b) NH₄OH, 3 h; c) HOBt (3 ekv.), DIC (3 ekv.), DMF–THF 1:1, 3 h; d) 2% piperidin/2% DBU/DMF, 3+17 perc; e) AcOH–MeOH–DCM 1:1:8, 18 h.

A nyers peptidet (**65**) MS és NMR vizsgálatoknak vettem alá. Tömegspektrumában a dipeptid (**65**) 275 m/z-nél jelentkező molekulaionja [M₁+H]⁺ mellett látható volt a foszfinimin-származék (**43**) 463 m/z-nél jelentkező csúcsa is [M₂+H]⁺. A foszfinimin-származék (**43**) jelenlétét bizonyította továbbá a ³¹P-NMR-ben 39,2 ppm-nél megjelenő csúcs is. Ez alapján elmondható, hogy a gyantán a foszfinimin-származék (**43**) hidrolízise nem ment végbe teljesen, ennek következtében az α-aminosav kapcsolása sem mehetett jó hatékonysággal (**31. ábra**).

A *ribo* konfigurációjú azido-karbonsav molekula (**13**) kapcsolási tulajdonságainak további tesztelésére egy -GGXGG- modell szekvenciát választottam (**32. ábra**) [117]. Ez az egyszerű és rövid szekvencia alkalmas mind az α-aminosavhoz, mind az α-aminosavval való kapcsolat vizsgálatára, ráadásul a glicin, mint nem királis aminosav nem visz plusz kiralitást a molekulába, éppen ezért gyakran használt modell szekvencia [120].

A H-GGtXGG-OH pentapeptid (**68**) felépítésénél a gyantára elsőként az Fmoc-Gly-Gly-OH dipeptidet kapcsoltam a 2-Cl-Trt-Cl gyantára vonatkozó protokollnak [118] megfelelően, DCM-ben oldottam az aminosavat és bázisként DIEA-t alkalmaztam a kapcsoláshoz. A felkapcsolódó aminosav mennyiségét gyantakapacitás méréssel határoztam meg, amelynek részletei a kísérleti részben megtalálhatóak. Ezt követően lehasítottam az Fmoc-védőcsoportot az általánosan alkalmazott 2% piperidin/2% DBU/DMF eleggyel 3+17 perc alatt, amelynek sikerességét Kaiser teszttel ellenőriztem. Az így kapott gyantát két részre osztottam, hogy a 3-azido-ribofurán-uronsav (**13**) kapcsolását két kapcsoló reagenssel is elvégezhessem. Egyrészt kipróbáltam az α -aminosavaknál általánosan alkalmazott HOBt/DIC rendszert, másrészt a kifejezetten „nehéz szekvenciákra” – amelyek nehezen kapcsolható aminosavat, például gyűrűs aminosavat tartalmaznak – alkalmazott HATU/DIEA rendszert [80]. A 3 órás kapcsolást követően, a sárga Kaiser teszt után a kapcsolás hatékonyságát gyantakapacitás méréssel valamint elemanalízissel, *N*-tartalom (%) mérésével határoztam meg. A két különböző módszerrel kapott eredmények hibahatáron belül megegyeztek. Ezek alapján HOBt/DIC reagenssel 76%-os, míg HATU/DIEA reagenssel 86%-os hatékonysággal sikerült az azido-karbonsav (**13**) kapcsolása. Tehát a vártnak megfelelően a nehéz szekvenciáknál alkalmazott HATU/DIEA rendszer bizonyult a jobbnak. A kapcsolás eredményeként kapott tripeptid (**69**) további ellenőrzésére a gyanták kis részletén próbahasítást végeztem, majd a lehasított peptidet vizsgáltam. A vegyület szerkezetét mindkét esetben igazolta FTIR-ATR spektrumában az azidocsoportra jellemző 2110 cm^{-1} -nél jelentkező sáv, valamint tömegspektrumában 344 m/z -nél jelentkező $[M+H]^+$ csúcs. Következő lépés az azidocsoport redukciója volt, amelyet szintén a Staudinger reakcióval és az azt követő hidrolízissel kíséreltem meg, viszont ez esetben a nagyobb reaktivitású PBU_3 -nal hajtottam végre a reakciót inert körülmények között. A gyantákat PBU_3 piridines oldatával elegyítettem, majd az így keletkező foszfinimin-származékot (**70**) DIEA/TEA eleggyel hidrolizáltam el. A reakció során több akadályba is ütköztem. Egyrészt a redukció első lépésében keletkező foszfinimin-származék (**70**) ez esetben is kék Kaiser tesztet adott, így a hidrolízisét aminná (**67**) már nem tudtam követni ezzel a módszerrel. Másrészt a hidrolízist követően a gyanta mosásakor az el nem reagált foszfinimin-származék (**70**) önhasadását tapasztaltam, amelyet a tömegspektrumában 464 m/z -nél jelentkező $[M+H]^+$ csúcs, valamint ^{31}P -NMR spektrumában $39,0\text{ ppm}$ -nél megjelenő, a foszfinimin csoportra jellemző csúcs bizonyítanak. Ezen felmerülő problémák miatt, a vártnak megfelelően a szekvenciát záró Fmoc-Gly-Gly-OH dipeptid felkapcsolásának hatékonysága nagyon alacsony volt, 15% a HOBt/DIC rendszerrel való kapcsolás esetén, míg 18% a HATU/DIEA rendszerrel történő kapcsolásnál. Végül az Fmoc-

Az egyes kapcsolások hatékonyságát az **5. táblázatban** foglaltam össze. Ez alapján elmondható, hogy az azido-karbonsav molekula (**13**) α -aminosavhoz való kapcsolása mindkét kapcsoló reagenssel jó hatékonysággal sikerült, viszont az azidocsoport redukciója a gyantán nehézséget okozott. A Staudinger reakcióval keletkező foszfinimin-származékot (**70**) ugyanis csak részben lehetett elhidrolizálni, továbbá egy része önhasadást szenvedett a gyantáról. Így bár a kívánt pentapeptidet (**68**) sikerült előállítani, mindkét alkalmazott kapcsoló reagens esetében nagyon alacsony – 11% és 15% – összhatékonyságot sikerült elérni [117].

Mivel az azido-karbonsav (**13**) redukciója gyantán nehézséget okozott, mindenképpen célszerű volt a kapcsolási reakciót elvégezni az Fmoc-karbonsav molekulával (**1**) is. A *ribo* konfigurációjú Fmoc-származék (**1**) teszteléséhez ugyanúgy a -GGXGG- szekvenciát használtam. A pentapeptid (**68**) felépítésénél a 2-Cl-Trt-Cl gyantára az Fmoc-Gly-Gly-OH dipeptidet az előzőekben leírtakkal analóg kapcsoltam fel, gyantakapacitás mérésével meghatároztam a felkapcsolódott aminosav mennyiségét, majd lehasítottam az Fmoc-védőcsoportot 2% piperidin/2% DBU/DMF eleggyel 3+17 perc alatt, amelyet Kaiser teszttel ellenőriztem.

5. táblázat Kapcsolási hatékonyság adatok az N₃-RibAFU(ip)-OH-val (**13**) felépített H-GGtXGG-OH pentapeptidre (**68**).

H-GGtXGG-OH (68)		HOBt/DIC	HATU/DIEA
2-Cl-Trt-Cl gyanta	Kapcsolódó aminosav	Fmoc-Gly-Gly-OH	
	Gyantakapacitás (mmol/g) ^a	0,59	0,59
	Kapcsolási idő (h)	3	3
H-GG-Trt gyanta	Kapcsolódó aminosav	N₃-RibAFU(ip)-OH (13)	
	N-tartalom (%) ^b	3,15	3,59
	Gyantakapacitás (mmol/g)	0,45	0,51
	Kapcsolási hatékonyság (%)	76	86
	Kapcsolási idő (h)	3	3
H-tXGG-Trt gyanta	Kapcsolódó aminosav	Fmoc-Gly-Gly-OH	
	Gyantakapacitás (mmol/g)	0,067	0,091
	Kapcsolási hatékonyság (%)	15	18
	Kapcsolási idő (h)	3	3
Fmoc-GGtXGG-Trt gyanta	Összhatékonyság (%)	11	15

^aFmoc-kapacitás

^bN-tartalom elemzés alapján

Ezt követően kapcsoltam az Fmoc-ribofurán-uronsavat (**1**) a korábbiakban eredményesebbnek bizonyult HATU/DIEA rendszerrel, 3 órán át. A kapcsolás hatékonyságát gyantakapacitás méréssel valamint elemanalízissel, *N*-tartalom (%) meghatározásával állapítottam meg. Ez alapján ez esetben is jó, 86%-os hatékonysággal sikerült a cukoraminosav felkapcsolása. A kapcsolás eredményeként kapott tripeptid (**66**) további ellenőrzésére a gyanta kis részletén próbahasítást végeztem, majd a lehasított peptidet vizsgáltam. A vegyület szerkezetét igazolta tömegspektrumában 540 *m/z*-nél jelentkező $[M+H]^+$ csúcs. A következő lépés az Fmoc-védelem hasítása volt 2% piperidin/2% DBU/DMF eleggyel 3+17 perc alatt, amely Kaiser teszt alapján sikeres volt. A szekvenciát záró Fmoc-Gly-Gly-OH-t szintén HATU/DIEA rendszerrel kapcsoltam 3 órán át, majd az Fmoc-védelmet lehasítottam. Végül a peptidet (**68**) AcOH–MeOH–DCM 1:1:8 eleggyel lehasítottam a gyantáról. A hasítás 18 óra alatt ment végbe. A nyers peptidet (**68**) RP-HPLC-vel tisztítottam. A termék (**68**) szerkezetét igazolta tömegspektrumában 432 *m/z*-nél jelentkező $[M+H]^+$ csúcs (**32. ábra**).

6. táblázat Kapcsolási hatékonyság adatok az Fmoc-RibAFU(ip)-OH-val (**1**) felépített H-GGtXGG-OH pentapeptidre (**68**).

H-GGtXGG-OH (68)		HATU/DIEA
2-Cl-Trt-Cl gyanta	Kapcsolódó aminosav	Fmoc-Gly-Gly-OH
	Gyantakapacitás (mmol/g) ^a	0,59
	Kapcsolási idő (h)	3
H-GG-Trt gyanta	Kapcsolódó aminosav	Fmoc-RibAFU(ip)-OH (1)
	<i>N</i> -tartalom (%) ^b	2,13
	Gyantakapacitás (mmol/g)	0,51
	Kapcsolási hatékonyság (%)	86
	Kapcsolási idő (h)	3
H-tXGG-Trt gyanta	Kapcsolódó aminosav	Fmoc-Gly-Gly-OH
	Gyantakapacitás (mmol/g)	0,25
	Kapcsolási hatékonyság (%)	49
	Kapcsolási idő (h)	3
Fmoc-GGtXGG-Trt gyanta	Összhatékonyság (%)	42

^aFmoc-kapacitás

^b*N*-tartalom elemanalízis alapján

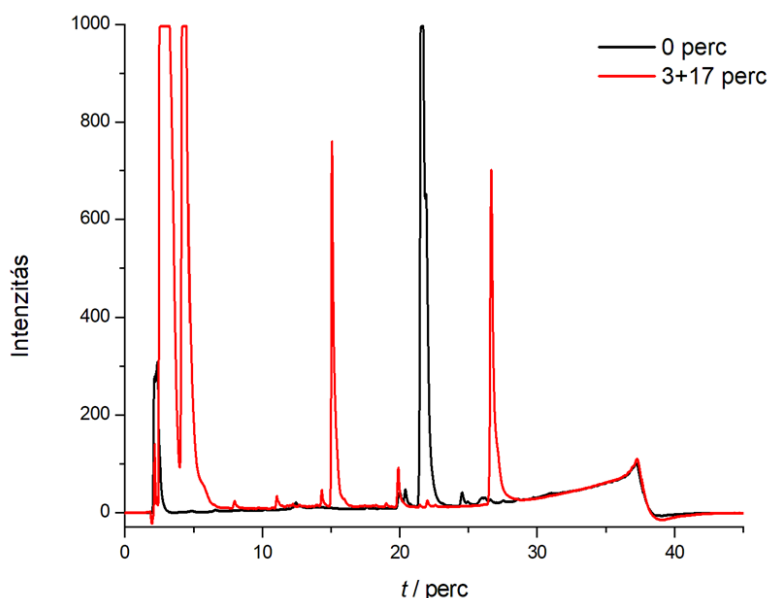
Az egyes kapcsolások hatékonyságát az **6. táblázatban** foglaltam össze. Ez alapján elmondható, az Fmoc-karbonsav molekulával (**1**) lényegesen jobb, 42%-os összhatékonysággal sikerült felépítenem a modell peptidet, tehát a továbbiakban mind a *ribo*, mind a *xilo*

konfigurációjú cukoraminosav esetében érdemesebb az Fmoc-védett-származékot alkalmazni a kapcsolási reakciókban [117].

4.4.2. Aktív észter képződésének és stabilitásának vizsgálata

Az Fmoc-RibAFU(ip)-OH-val (**1**) a -GGXGG- szekvenciát bár lényegesen jobb hatékonysággal sikerült szintetizálni, mint az N₃-RibAFU(ip)-OH-val (**13**), a kapcsolások összhatékonyságának értékéből (42%) látszik, hogy célszerű volt tovább optimalizálni a kapcsolat körülményeit. Ezért ezek szisztematikus vizsgálatába kezdtem az Fmoc-RibAFU(ip)-OH molekulával (**1**) [121].

Elsőként az Fmoc-hasítás körülményeit vizsgáltam meg, hogy az alkalmazott 2% piperidin/2% DBU/DMF eleggyel, 3+17 percig végzett hasítás elegendő-e az Fmoc-védelem eltávolítására. A folyamatot HPLC-vel vizsgáltam és azt találtam, hogy a hasítást követően a kiindulási Fmoc-származék (**1**) már egyáltalán nincs jelen, azaz a 3+17 perces hasítási idő biztosan elegendő (**33. ábra**).



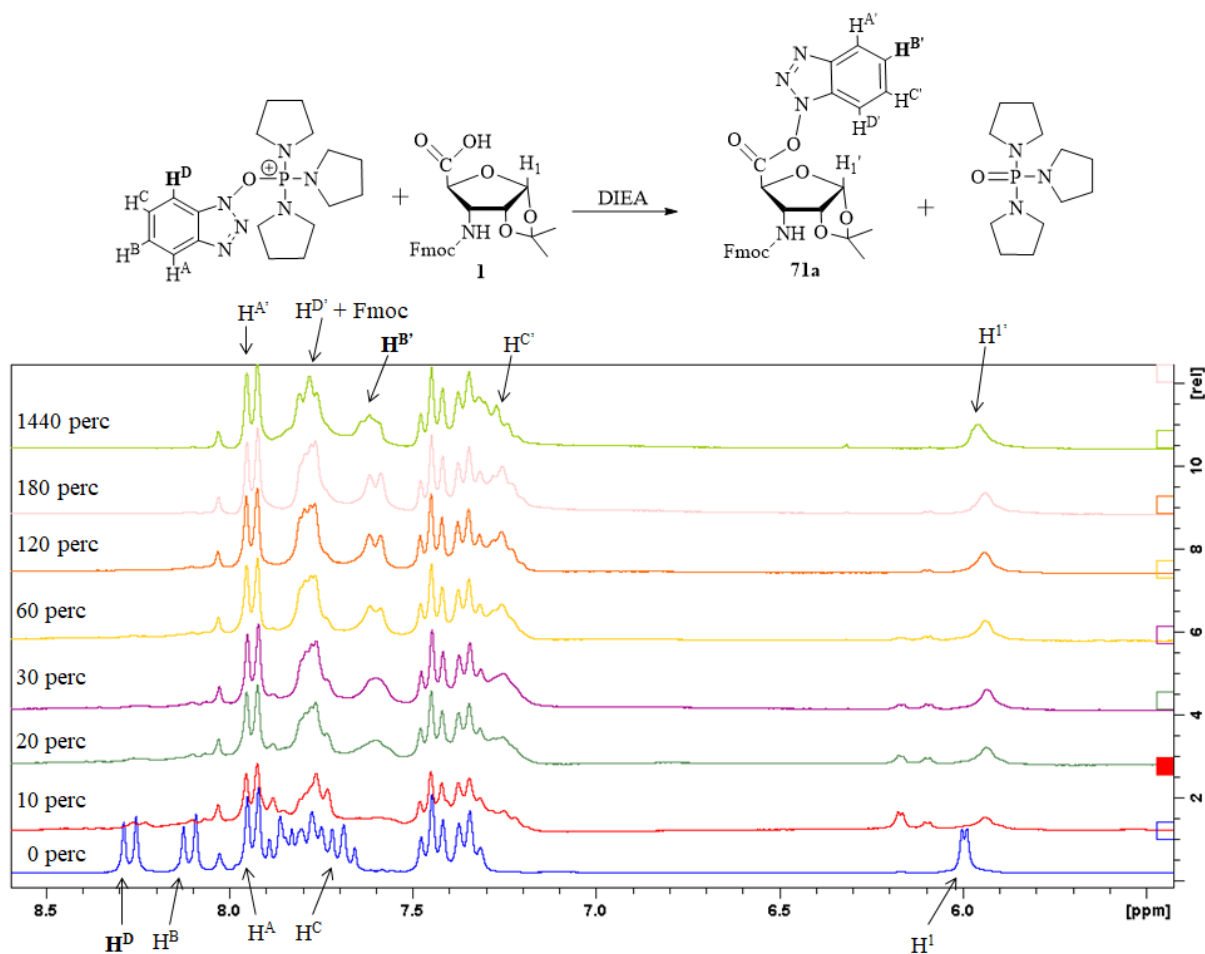
33. ábra Az Fmoc-hasítás követése az Fmoc-RibAFU(ip)-OH (**1**) molekulán HPLC segítségével. Fekete görbe: hasítás előtt; piros görbe: 3+17 perces hasítás után.

A következőekben a megfelelő kapcsoló reagens megtalálása volt a cél. Ehhez négy, a peptidkémiai általánosan használt kapcsoló reagenspárt választottam ki: *i*) a HOBt/DIC rendszert, amely elterjedten alkalmazott α -aminosavak szilárd fázisú kapcsolásánál [80,85], *ii*) a HOBt/EDCI rendszert, amelyet a H-XylAFU(ip)-OH (**4**) oldatfázisú kapcsolásánál eredményesen használtak [33], *iii*) a kifejezetten nehéz szekvenciákra javasolt HATU/DIEA

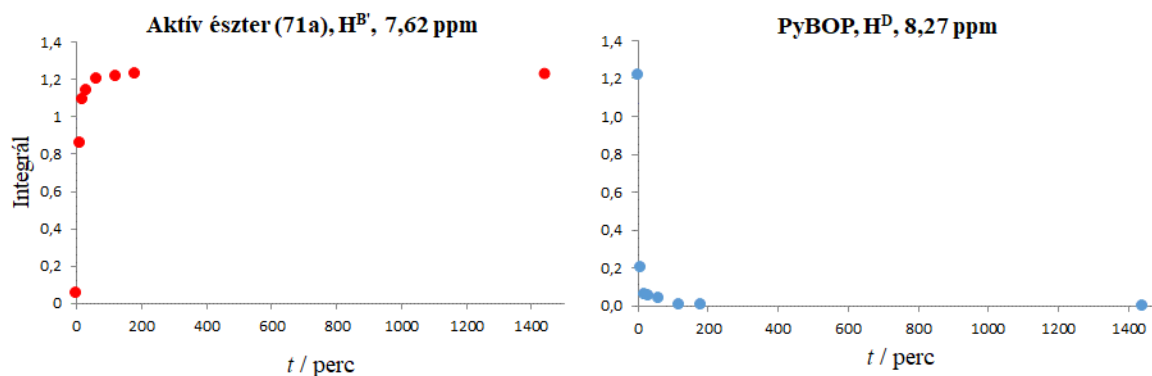
rendszer, amelyenél azonban számolni kell a racemizáció veszélyével, ezért ennek elkerülése végett maximum 3 órás kapcsolási idő alkalmazható [80,87], *iv*) szintén a nehéz szekvenciákra ajánlott PyBOP/DIEA rendszert, ahol nincs racemizációs veszély [89].

A kapcsolási reakció kulcslépése az aktív észter kialakulása. Ez α -aminosavak esetében többnyire gyors és >99%-os konverzióval végbemegy [89]. A cukoraminosavak sokkal komplexebbek, így nem egyértelmű, hogy esetükben is gyors és hatékony az aktív észter képződés. Mivel az eredményes kapcsoláshoz szükséges kapcsolási időt az aktív észter képződésének ideje és annak stabilitása befolyásolja, így ezt célszerű volt mind a négy vizsgált kapcsoló reagenspár esetében megvizsgálni. A trifluoroecetsav különböző alkoholokkal képzett észtereinek kialakulását többek között ^1H NMR spektroszkópiával követték [122]. Ennek analógiájára hívtam segítségül az NMR-t az általam vizsgált aktív észterek követésére. Az NMR mérés kiinduló pontjaként az Fmoc-karbonsavat (**1**) és a kapcsoló reagenst (PyBOP/HATU/HOBT) DMF- d_7 -ben feloldottam, ez lett a $t = 0$ perces kiindulópont. Majd a bázis (DIEA/DIC/EDCI) hozzáadásával elkezdődött az aktív észter képződés folyamata. Adott időközönként: 10, 20, 30, 60 perc majd óránként vettem fel ^1H spektrumokat. A karakterisztikus jelek integrálásával, az idő–integrál diagramok segítségével megállapítottam a képződési (t_f) és hidrolízis (t_h) időket (**7. táblázat**). Két példát láthatunk erre a **34-37. ábrákon**, amelyeken az aktív észter képződését PyBOP/DIEA valamint HOBT/DIC rendszerrel vizsgáltam. A másik két kapcsolószer ezen ábrái megtalálhatók a Függelékben. A vizsgált reagensek közül a HATU kivételével mindegyik esetben a megfelelő benzotriazol-észter képződik (**71a**), míg a HATU-nál aza-benzotriazol-származékot (**71b**) kapunk.

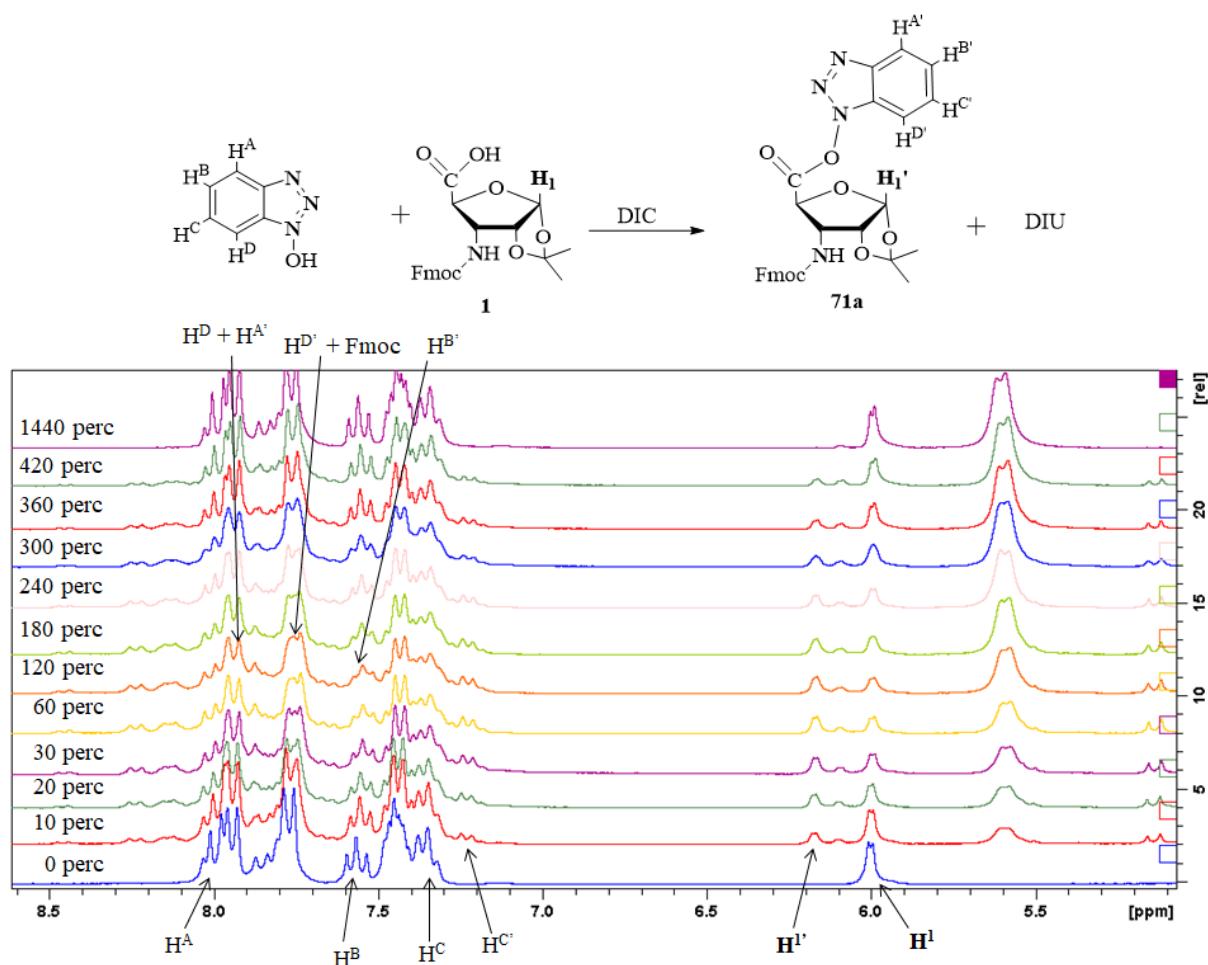
A kapott adatokból látszik, hogy az aktív észter (**71a**) kialakulása HOBT/EDCI/DIEA rendszerrel nagyon lassú (960 perc), így ez esetben 18 órás kapcsolási időt kell alkalmazni. HOBT/DIC esetében szintén lassú a kialakulás (60 perc), ráadásul az aktív észter (**71a**) csak 50%-ban alakul ki, aztán visszaalakul a kiindulási karbonsavvá (**1**). Ezt feltehetően a HOBT kristályvíztartalma okozza. Ezért elvégeztem egy olyan kísérletet is, amely során a HOBT DMF-es oldatát molekulaszitán szárítva vízmentesítettem. Ez esetben azonban jóval kisebb mértékben, csupán 30%-ban alakult ki az aktív észter (**71a**), ugyanis a HOBT feltehetően elbomlik a kristályvíztartalma nélkül. Leggyorsabb reakciót a HATU/DIEA és PyBOP/DIEA rendszerekkel kaptam (20 perc) és mindkét esetben a képződött aktív észter (**71a** és **71b**) 24 óra elteltével is stabil maradt. Ezek alapján e reagensekkel várhatnánk a legjobb kapcsolási eredményeket a szilárd fázisú kísérleteknél.



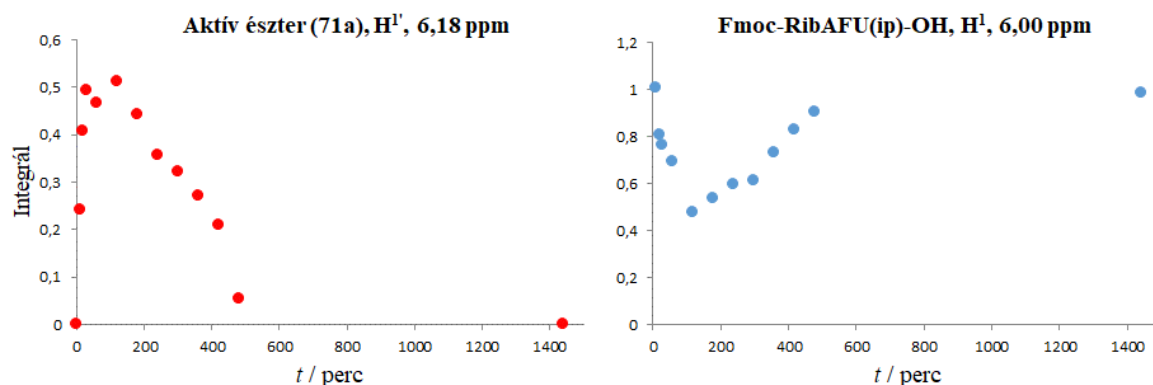
34. ábra Az Fmoc-ribofurán-uronsavból (**1**) PyBOP/DIEA kapcsoló reagenssel képződő aktív észter (**71a**) kialakulásának és stabilitásának követése ^1H NMR spektroszkópiával. A vastagon szedett protonok integrál értékeit használtam fel a képződési (t_f) és hidrolízis (t_h) idők megállapításához.



35. ábra Az Fmoc-ribofurán-uronsavból (**1**) PyBOP/DIEA kapcsoló reagenssel képződő aktív észter (**71a**) keletkezésének (bal) és a PyBOP fogyasztásának (jobb) idő–integrál diagramjai.



36. ábra Az Fmoc-ribofurán-uronsavból (**1**) HOBT/DIC kapcsoló reagenssel képződő aktív észter (**71a**) kialakulásának és stabilitásának követése ^1H NMR spektroszkópiával. A vastagon szedett protonok integrál értékeit használtam fel a képződési (t_f) és hidrolízis (t_h) idők megállapításához.

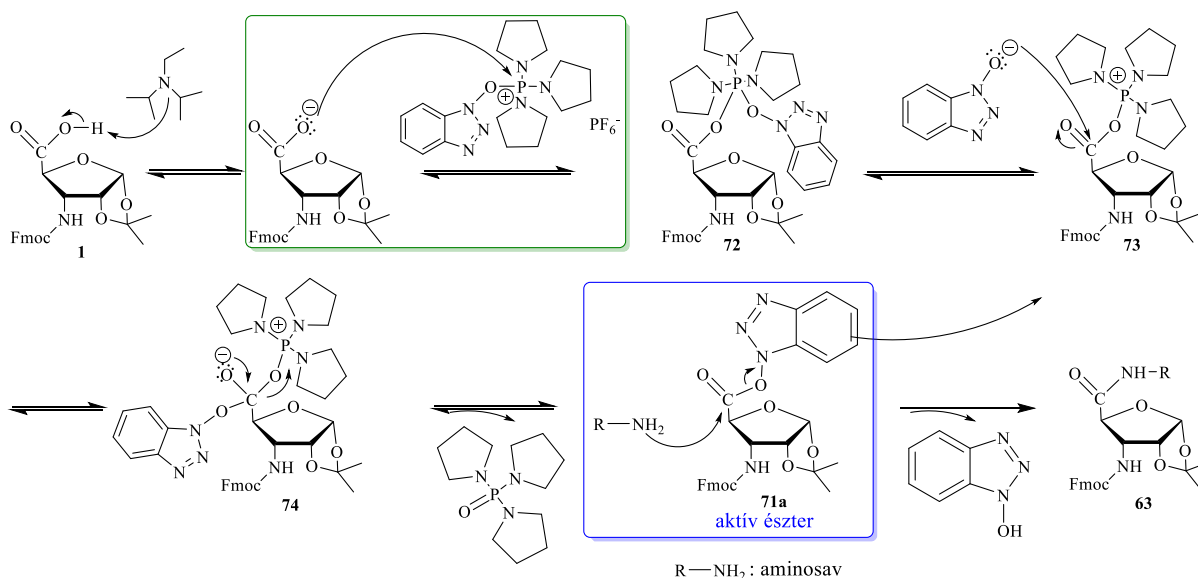


37. ábra Az Fmoc-ribofurán-uronsavból (**1**) HOBT/DIC kapcsoló reagenssel képződő aktív észter (**71a**) keletkezésének (bal) és a cukoraminosav fogyásának (jobb) idő–integrál diagramjai.

7. táblázat Az Fmoc-ribofurán-uronsavból (**1**) négy különböző kapcsoló reagenssel képződő aktív észter (**71a** és **71b**) képződésének és hidrolízisének ideje ¹H NMR mérések alapján.

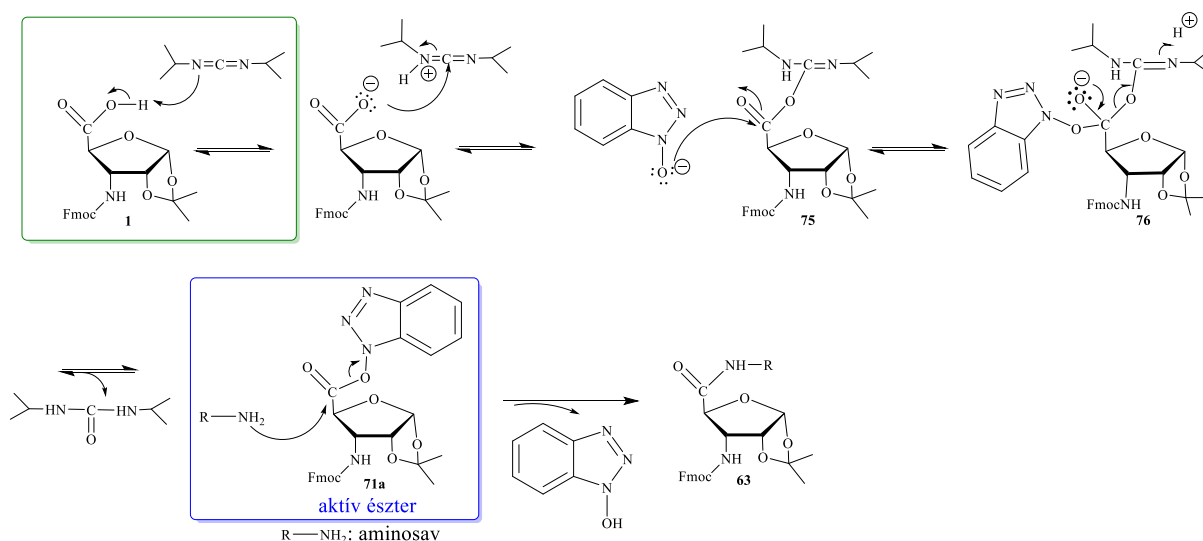
Kapcsoló reagens	Észter képződés		Észter hidrolízis	
	t_f (perc)	konverzió (%)	t_h (perc)	konverzió (%)
HATU/DIEA	20	>99	∞	0
HOBt/EDCI/DIEA	960	>99	∞	0
PyBOP/DIEA	20	>99	∞	0
HOBt/DIC	60	50	1440	100

A **7. táblázat** adataiból látszik, hogy az aktív észter (**71a** és **71b**) képződésének ideje nagyon különböző az egyes kapcsolószerek esetén. Ennek megértésére a reakciómechanizmusok vizsgálatába kezdtem. A kapcsoló reagensek két csoportba sorolhatók azáltal, hogy az aktív észter képződés milyen reakciómechanizmus alapján játszódik le: *i*) PyBOP/DIEA és HATU/DIEA; *ii*) HOBt/DIC és HOBt/EDCI/DIEA. Az egyes csoportokban más-más a sebességhatározó reakciólépés, amely magyarázhatja a képződési időkből jelentkező különbségeket.



38. ábra Aktív észter (**71a**) képződésének feltételezett mechanizmusa az Fmoc-karbonsav molekulával (**1**), PyBOP/DIEA kapcsoló reagens jelenlétében, zölddel jelölve a sebességhatározó lépést.

A **38. ábrán** az egyik csoportra jellemző mechanizmus típusát mutatom be a PyBOP/DIEA reagenspár mintáján. A mechanizmus első lépéseként a kiindulási karbonsav (**1**) deprotonálódik a DIEA hatására. Ez nagyon gyors lépés, amely az NMR-ben nem látható. Ezt követően a karboxilát anion, mint nukleofil támad az elektrofil P⁺-atomon (PyBOP esetén) illetve C-atomra (HATU esetén). Feltehetően ez a reakció sebességmeghatározó lépése, ugyanis ha az ezt követően keletkező intermedier (**72**) tovább alakulna, akkor nem lenne különbség a kapcsoló reagensek között az aktív észter képződési időkből, mivel a másik típusú mechanizmus esetén is szerepel az ilyen típusú intermediernek a tovább alakulása. Ezt követően a sebességmeghatározó lépésben keletkező intermedier (**72**) szétesik és az *in situ* képződő 1H-benzo[d][1,2,3]-triazol-1-olát (HATU esetén 3H-[1,2,3]-triazolo[4,5-b]piridin-3-olát) a cukor (**73**) karbonil C-atomjára támad, ezáltal a (**74**) vegyületet képezve, amelyből a megfelelő foszfin-oxid kilépésével képződik az aktív észter (**71a**).



39. ábra Aktív észter (**71a**) képződésének feltételezett mechanizmusa az Fmoc-karbonsav molekulával (**1**), HOBt/DIC kapcsoló reagens jelenlétében, zölddel jelölve a sebességmeghatározó lépést.

A **39. ábrán** pedig a másik csoportra jellemző mechanizmus típusát mutatom be a HOBt/DIC reagenspár mintáján. Ez esetben a reakciónak két fő lépése van. Elsőként a megfelelő karbodiimid (**75**) képződik DIC/EDCI-vel, amelyet az aktív észter (**71a**) képződése követ HOBt-vel. Feltehetően ez az oka, hogy ezekben az esetekben lassabb volt az aktív észter kialakulása. A reakció első lépéseként egy gyenge bázis (DIC vagy EDCI) deprotonálja a kiindulási karbonsavat (**1**). Az ezzel járó ionpár képződés lassú, így ez lehet a

sebességmeghatározó lépés. Ezt követően a keletkező karbodiimid (**75**) karbonil C-atomján támad a HOBt, majd a megfelelő karbamid kilépésével képződik az aktív észter (**71a**).

Az NMR kísérletből meghatározott aktív észter képződési és stabilitási idők segíthetnek tehát a megfelelő kapcsolási idők megválasztásában, ezáltal az optimális kapcsolási körülmények kialakításában [121].

4.4.3. A -GXXG- szekvenciájú α/β -modell tetrapeptidek előállítása

Az aktív észterek kialakulásának NMR-rel történő követéséből nyert információk felhasználásával egy -GXXG- modell szekvencia felépítésébe kezdtem az Fmoc-RibAFU(ip)-OH molekulával (**1**) (**40. ábra**) [121]. A szekvencia alkalmas az α -aminosavhoz és az α -aminosavval való kapcsolás mellett a β - β -kapcsolás tesztelésére is. A szintézis Fmoc/^tBu stratégiájú lépésenkénti SPPS-el történt. Szilárd fázisként ez esetben is a 2-Cl-Trt-Cl gyantát választottam, a peptid izopropilidén védelmének savérzékenysége miatt. Az úgynevezett nehéz szekvenciák esetében célszerű alacsony gyantakapacitású (< 0,5 mmol/g) gyantával dolgozni. Mivel a 2-Cl-Trt-Cl gyanta, amelyet használtam magas, 1,6 mmol/g kapacitású volt, így az első aminosav, az Fmoc-Gly-OH felkapcsolásával kellett elérnem az alacsony gyantakapacitást (0,25-0,36 mmol/g). Ehhez a 2-Cl-Trt-Cl gyantára vonatkozó protokollt [118] módosítottam, a gyanta eredeti kapacitását 0,25 mmol/g-nak vettem és ehhez képest 1,5 ekv. Fmoc-aminosavat használtam a reakcióhoz. A felkapcsolódó aminosav mennyiségét gyantakapacitás méréssel határoztam meg. Ezt követően lehasítottam az Fmoc-védőcsoportot 2% piperidin/2% DBU/DMF eleggyel 3+17 perc alatt, amelyet Kaiser teszttel ellenőriztem. A szekvenciában következő cukoraminosavakat az NMR-ből nyert információk alapján kapcsoltam. HOBt/EDCI/DIEA esetén 18 órán át, a másik három kapcsoló reagens esetén 3 órán át, vizsgálva mind az α - β , mind a β - β -kapcsolást. A szekvenciát záró Fmoc-Gly-OH kapcsolásával pedig a β - α kapcsolást teszteltem. Az egyes kapcsolások hatékonyságát gyantakapacitás méréssel határoztam meg, amelyeket a **8. táblázatban** foglaltam össze. Végül az Fmoc-hasítást követően lehasítottam a peptidet (**79**) a gyantákról AcOH–MeOH–DCM 1:1:8 eleggyel, 3 órás hasítási időt alkalmazva. A termék szerkezetét mindegyik esetben igazolta tömegspektrumában 503 m/z-nél jelentkező $[M+H]^+$ csúcs.

A **8. táblázatban** összefoglalt kapcsolási hatékonyságok alapján elmondható, hogy HOBt/EDCI/DIEA rendszerrel – amely oldatfázisú reakciónál eredményesnek bizonyult – annak ellenére, hogy 18 óra alatt ment végbe a cukoraminosav (**1**) kapcsolása, alacsony hatékonysággal (32%) lehetett előállítani a kívánt peptidet (**79**), így szilárd fázison nem

bizonyult eredményesnek ez a módszer. Hasonlóan alacsony összhatékonyságot (34%) kaptam a HATU/DIEA rendszerrel is. HOBt/DIC esetén annak ellenére, hogy az NMR mérések azt mutatták, hogy az aktív észter (**71a**) csak 50%-os konverzióval alakul ki, a β - β - és a β - α -kapcsolásra is 90% vagy afölötti hatékonyságot kaptam.

8. táblázat Kapcsolási hatékonyság adatok az Fmoc-RibAFU(ip)-OH-val (**1**) felépített H-GtXtXG-OH tetrapeptide (**79**).

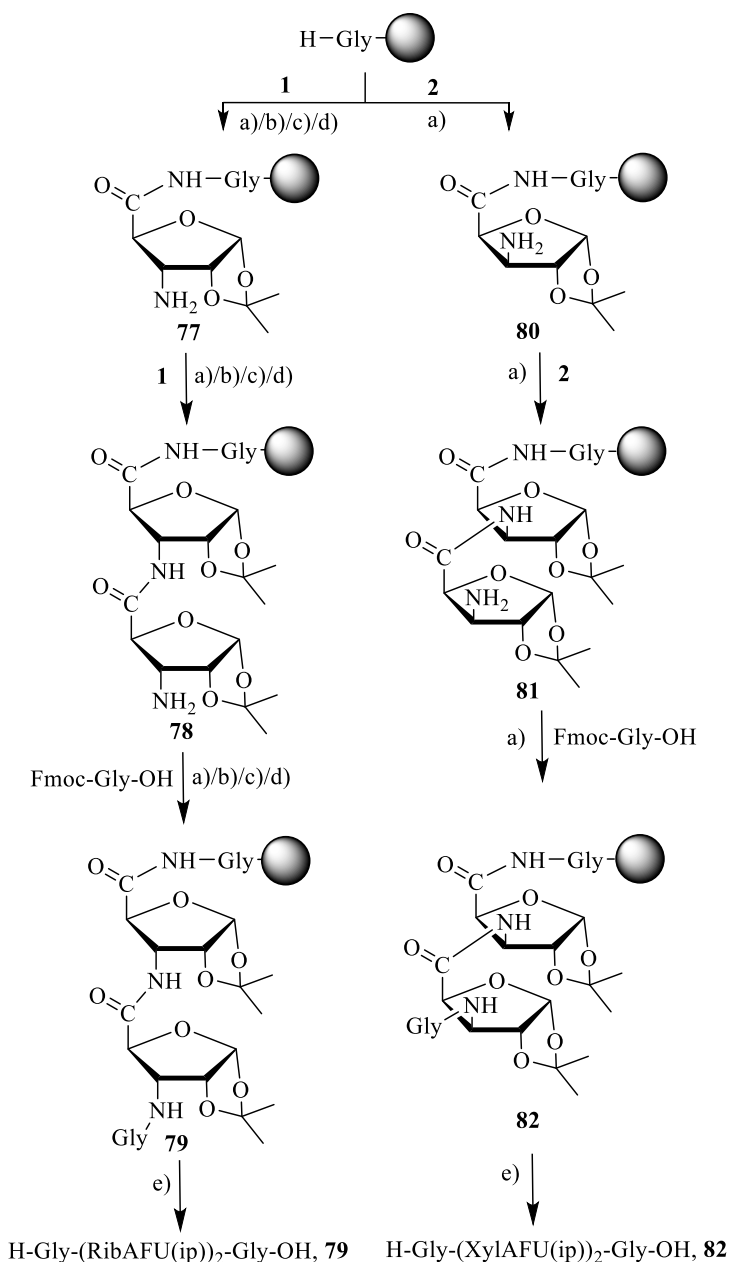
H-GtXtXG-OH (79)		HOBt/ EDCI/ DIEA	HATU/ DIEA	PyBOP /DIEA	HOBt/ DIC
2-Cl-Trt-Cl gyanta	Kapcsolódó aminosav	Fmoc-Gly-OH			
	Gyantakapacitás (mmol/g) ^a	0,25	0,35	0,35	0,36
	Kapcsolási idő (h)	1	1	1	1
H-G-Trt gyanta	Kapcsolódó aminosav	Fmoc-RibAFU(ip)-OH (1)			
	Gyantakapacitás (mmol/g)	0,088	0,20	0,28	0,24
	Kapcsolási hatékonyság (%)	35	57 ^b	80	67
	Kapcsolási idő (h)	18	2·3	3	3
H-tXG-Trt gyanta	Kapcsolódó aminosav	Fmoc-RibAFU(ip)-OH (1)			
	Gyantakapacitás (mmol/g)	0,079	0,12	0,27	0,22
	Kapcsolási hatékonyság (%)	90	60	98	90
	Kapcsolási idő (h)	18	3	3	3
H-tXtXG- Trt gyanta	Kapcsolódó aminosav	Fmoc-Gly-OH			
	Gyantakapacitás (mmol/g)	0,079	0,12	0,27	0,22
	Kapcsolási hatékonyság (%)	>99	>99	>99	>99
	Kapcsolási idő (h)	3	3	3	3
Fmoc- GtXtXG- Trt gyanta	Összhatékonyság (%)	32	34	78	60

^aFmoc-kapacitás

^bkétszeres kapcsolás után mért gyantakapacitás

Ha azonban megvizsgáljuk minden egyes kapcsolási lépés hatékonyságát egyértelműen a PyBOP/DIEA rendszer bizonyult a legjobbnak. Ez esetben kaptam magas hatékonyságot mind a három kapcsolási típus esetén, így a legmagasabb összhatékonyságot (78%) ezzel a módszerrel lehetett elérni. Az itt bemutatott kísérletekkel analóg elvégzett optimalizálás során – amely egy másik doktori disszertáció témáját képezi [123] – egy *transz* konfigurációjú piranózgyűrűs β -cukoraminosav, a metil 2,3-di-*O*-benzil-*N*-(9-fluorenil-metoxi-karbonil)-4-

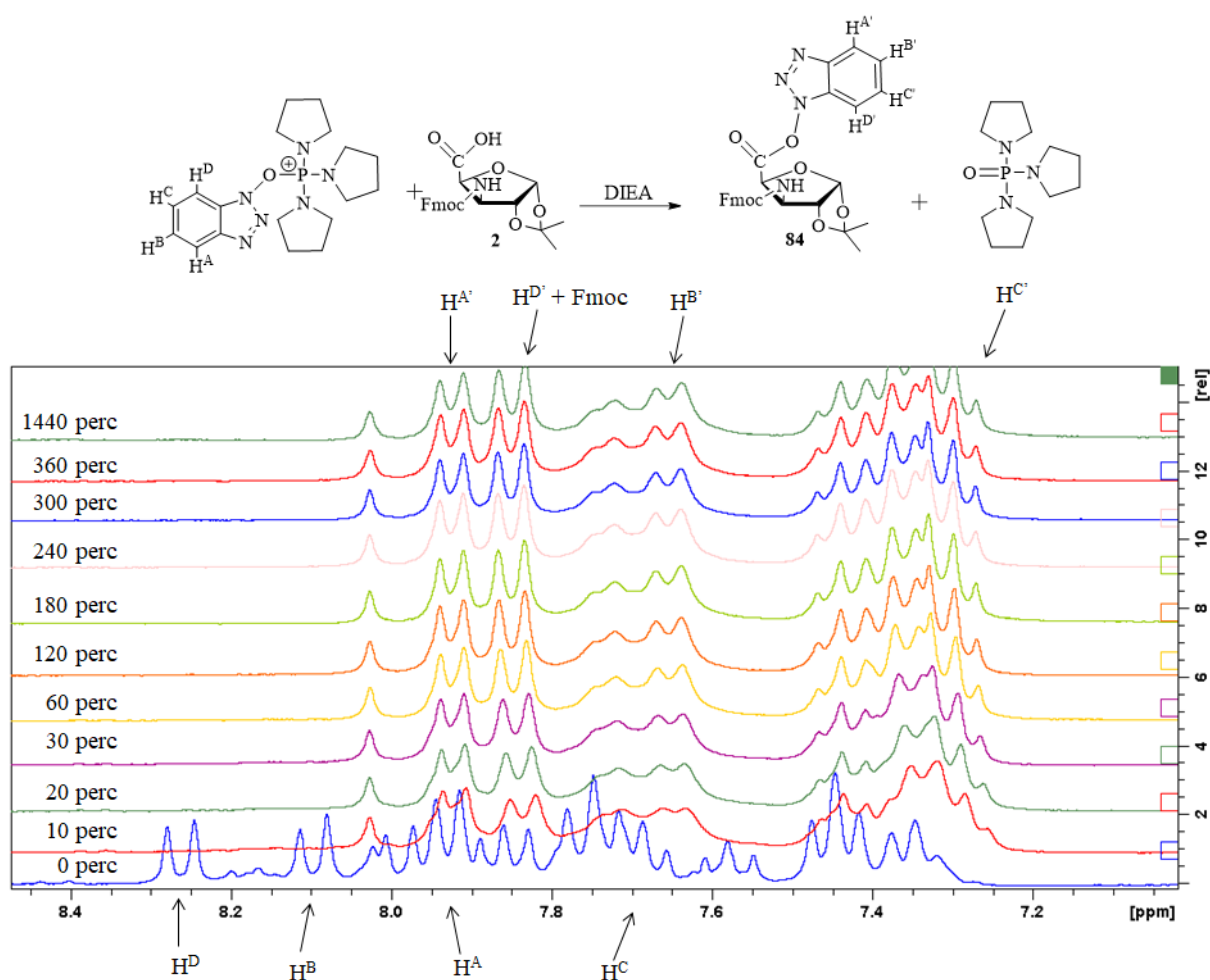
amino-4-dezoxi- α -D-glükopiranozid (Fmoc-GlcAPU(Me)-OH) (**83**) esetében is egyértelműen a PyBOP/DIEA rendszer bizonyult a legeredményesebbnek.



40. ábra A H-GtXtXG-OH (**79**) és H-GcXcXG-OH (**82**) tetrapeptidok felépítése az Fmoc-ribofuran-uronsav (**1**) és az Fmoc-xilofuran-uronsav (**2**) felhasználásával Fmoc/^tBu stratégiájú szilárd fázisú peptidszintézist alkalmazva. Reakciókörülmények: a) (i) PyBOP (2,9 ekv.), DIEA (6 ekv.), DMF, 3 h; (ii) 2% piperidin/2% DBU/DMF, 3+17 perc; b) (i) HOBt (3 ekv.), DIC (3 ekv.), DMF, 3 h; (ii) 2% piperidin/2% DBU/DMF, 3+17 perc; c) (i) HATU (2,9 ekv.), DIEA (6 ekv.), DMF, 3 h; (ii) 2% piperidin/2% DBU/DMF, 3+17 perc; d) (i) HOBt (3 ekv.), EDCI (3 ekv.), DIEA (3 ekv.), DMF, 18 h; (ii) 2% piperidin/2% DBU/DMF, 3+17 perc; e) AcOH–MeOH–DCM 1:1:8, 3 h.

Mivel két, egymástól eltérő szerkezetű és tulajdonságú cukoraminosav esetén is ugyanazt az eredményt kaptuk, így azt mondhatjuk, hogy ezen kapcsoló reagenst érdemes használni cukoraminosavat tartalmazó peptid szintézisének [121].

Az Fmoc-RibAFU(ip)-OH-nál (**1**) legeredményesebbnek bizonyult körülményeket (PyBOP/DIEA rendszer) volt érdemes kipróbálni a C-3 epimer molekula, az Fmoc-XylAFU(ip)-OH (**2**) kapcsolási reakciójánál is. A peptidszintézist megelőzően ezen molekulán is megvizsgáltam a PyBOP/DIEA reagenspárral képződő aktív észter (**84**) kialakulását és stabilitását ^1H NMR spektroszkópiával. A *ribo* molekulával (**1**) analóg, adott időközönként ^1H NMR spektrumokat vettem fel, majd a karakterisztikus jelek integrálásával, az idő–integrál diagramok segítségével megállapítottam a képződési és hidrolízis időket.



41. ábra Az Fmoc-xilofurán-uronsavból (**2**) PyBOP/DIEA kapcsoló reagenssel képződő aktív észter (**84**) kialakulásának és stabilitásának követése ^1H NMR spektroszkópiával.

A **41. ábrán** látható, hogy az aktív észter (**84**) gyorsan, 10 perc alatt kialakult és nagy stabilitást mutatott, ugyanis 24 óra elteltével sem látható változás a proton spektrumban. Ez alapján azt

mondhatjuk, hogy mivel az aktív észter (**84**) hosszú ideig stabilis, szükség esetén 18 órás kapcsolási idő is alkalmazható a molekulára (**2**).

A monomer (**2**) szilárd fázisú tesztelésére szintén a -GXXG- modell szekvenciát választottam, amellyel ez esetben is vizsgálni tudtam a három kapcsolási típust, az α - β , a β - β és a β - α kombinációkat (**40. ábra**). Az egyes kapcsolások hatékonyságát gyantakapacitás méréssel határoztam meg és a **9. táblázatban** foglaltam össze. A szintézis a *ribo* cukoraminosavat (**1**) tartalmazó peptid szintézisével analóg módon történt alkalmazva az optimálisnak bizonyult körülményeket. A peptid felépítése Fmoc/^tBu stratégiájú lépésenkénti SPPS-vel történt, alacsony kapacitású (0,35 mmol/g) 2-Cl-Trt-Cl gyantával, amelyet az első Fmoc-Gly-OH protokolltól eltérő kapcsolásával lehetett elérni. Az Fmoc-védőcsoport hasítására a 2% piperidin/2% DBU/DMF elegyet alkalmaztam, 3+17 perces hasítási idővel.

9. táblázat Kapcsolási hatékonyság adatok az Fmoc-XylAFU(ip)-OH-val (**2**) felépített H-GcXcXG-OH tetrapeptidre (**82**).

H-GcXcXG-OH (82)		PyBOP/DIEA
2-Cl-Trt-Cl gyanta	Kapcsolódó aminosav	Fmoc-Gly-OH
	Gyantakapacitás (mmol/g) ^a	0,35
	Kapcsolási idő (h)	1
H-G-Trt gyanta	Kapcsolódó aminosav	Fmoc-XylAFU(ip)-OH (2)
	Gyantakapacitás (mmol/g)	0,14
	Kapcsolási hatékonyság (%)	40
	Kapcsolási idő (h)	3
H-cXG-Trt gyanta	Kapcsolódó aminosav	Fmoc-XylAFU(ip)-OH (2)
	Gyantakapacitás (mmol/g)	0,08
	Kapcsolási hatékonyság (%)	57 ^b
	Kapcsolási idő (h)	3+18
H-cXcXG-Trt gyanta	Kapcsolódó aminosav	Fmoc-Gly-OH
	Gyantakapacitás (mmol/g)	0,05
	Kapcsolási hatékonyság (%)	63
	Kapcsolási idő (h)	3
Fmoc-GcXcXG-Trt gyanta	Összhatékonyság (%)	14

^aFmoc-kapacitás

^bkétszeres kapcsolás után mért gyantakapacitás

A következő cukoraminosavak felkapcsolásához a PyBOP/DIEA rendszert alkalmaztam, viszont ez esetben a 3 órás kapcsolási idő nem bizonyult elegendőnek, így 18 órán át ment a kapcsolás. Mivel az NMR mérésekből tudjuk, hogy az aktív észter (**84**) gyorsan kialakul, ennek oka feltételezhetően a molekula *cisz* konfigurációjából eredő sztérikusan gátolt szerkezet. A szekvenciát záró Fmoc-Gly-OH kapcsolását követően lehasítottam az Fmoc-védőcsoportot majd a peptidet (**82**) a gyantáról AcOH–MeOH–DCM 1:1:8 eleggyel, 3 órás hasítási időt alkalmazva. A termék (**82**) szerkezetét igazolta tömegspektrumában 503 m/z-nél jelentkező $[M+H]^+$ csúcs.

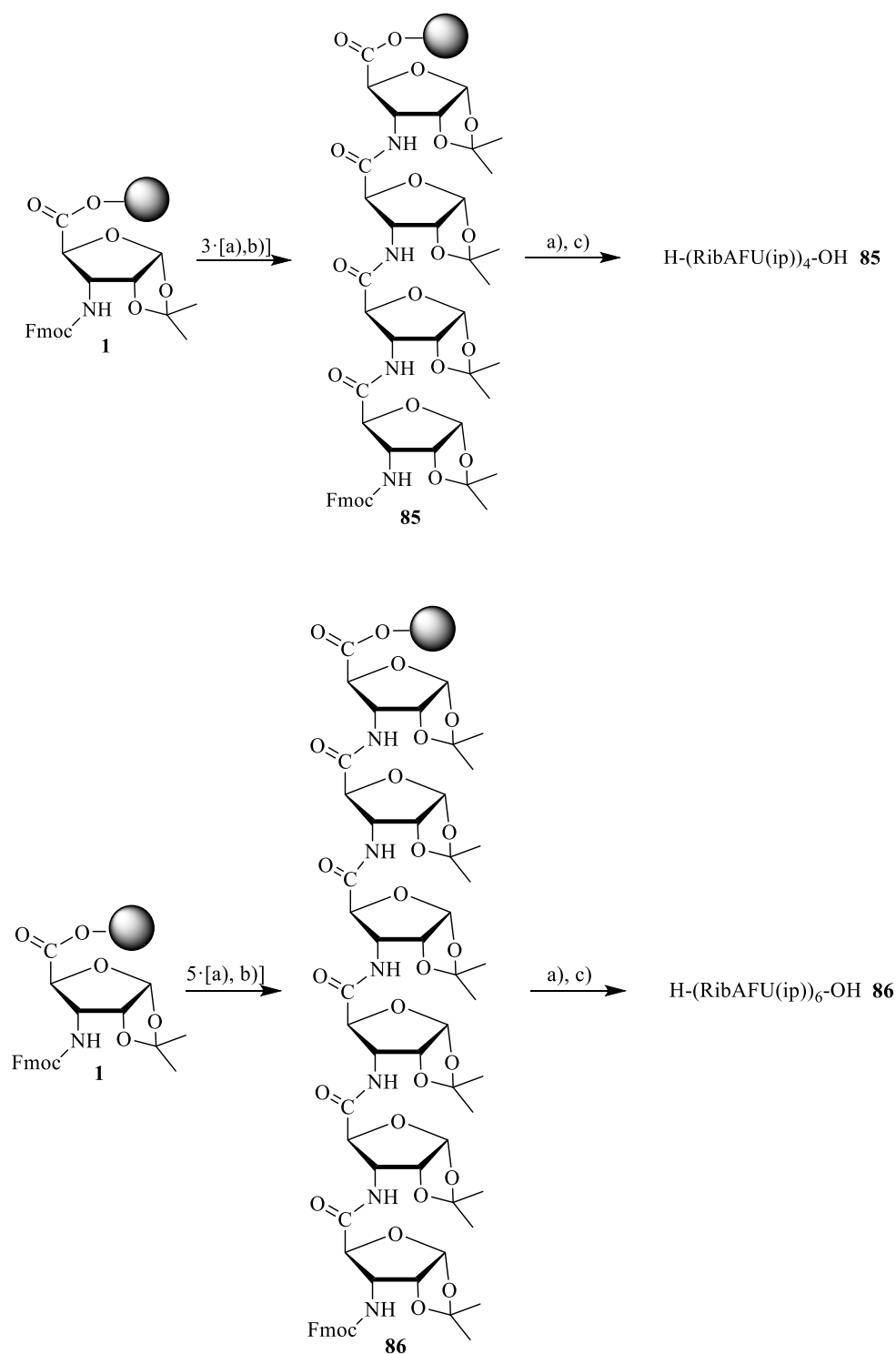
Az általam vizsgált mindkét cukoraminosav molekulával tehát sikerült előállítanom szilárd fázisú peptidszintézissel a -GXXG- modell szekvenciát. Ha összehasonlítjuk a kapcsolás hatékonyságát a két peptid esetén, látható, hogy míg a *transz* cukoraminosav (**1**) esetén nagyon jó összhatékonyságot sikerült elérni, addig a *cisz* molekulával (**2**) ez az érték alacsony lett. Ennek oka a *cisz* konfiguráció miatt sztérikusan gátolt szerkezet.

4.4.4. Homooligomerek előállítása

Az előző fejezetekben bemutatott -GGXGG- és -GXXG- modell szekvenciák segítségével részletesen körüljártam a peptidszintézis körülményeit (gyanta, Fmoc-hasítás, kapcsoló reagens, kapcsolási idő) és megtaláltam az optimális módszert a vizsgált Fmoc-védett cukoraminosavak (**1** és **2**) kapcsolására. Ezt alkalmazva a továbbiakban homooligomerek felépítésébe kezdtem, amelynek célja azok spektroszkópai vizsgálata volt ECD, valamint 2D NMR módszerekkel. Ezek segítségével ugyanis megjósolhatjuk azok spontán kialakuló másodlagos térszerkezetét.

A homooligomerek felépítését az Fmoc-RibAFU(ip)-OH-val (**1**) valósítottam meg. Az Fmoc-XylAFU(ip)-OH-ból (**2**) felépíthető homooligomerek nem képezik ezen dolgozat tárgyát. A szintetizálni kívánt oligomerek a tetramer (H-(tX)₄-OH) (**85**) és a hexamer (H-(tX)₆-OH) (**86**) voltak (**42. ábra**). A peptidek felépítése lépésenkénti SPPS-el történt, alacsony gyantakapacitású (0,22 mmol/g a tetramer esetén és 0,20 mmol/g a hexamer esetén) 2-Cl-Trt-Cl gyantával. Ezt az első Fmoc-RibAFU(ip)-OH (**1**) protokolltól eltérő kapcsolásával lehetett elérni, amelynek részleteit az előző fejezetben bemutattam. A felkapcsolódó cukoraminosav mennyiségét gyantakapacitás méréssel határoztam meg. Az Fmoc-védelmet, a korábban már bevált eleggyel hasítottam le. Ezt követően az egyes cukoraminosavak egymáshoz való kapcsolásához PyBOP/DIEA rendszert alkalmaztam. Minden második majd az utolsó

cukoraminosav kapcsolása után ellenőriztem a kapcsolás hatékonyságát gyantakapacitás méréssel.



42. ábra A H-(tX)₄-OH (**85**) és a H-(tX)₆-OH (**86**) homooligomerek felépítése az Fmoc-ribofurán-uronsav (**1**) molekulából, Fmoc/*t*Bu stratégiájú szilárd fázisú peptidszintézissel. Alkalmazott reagensek és reakciókörülmények: a) 2% piperidin/2% DBU/DMF, 3+17 perc; b) PyBOP (2,9 ekv.), DIEA (6 ekv.), DMF, 18 h; c) AcOH–MeOH–DCM 1:1:8, 3 h.

Mivel nehéz szekvenciáról lévén szó, az eredményes kapcsolás eléréséhez 18 órás kapcsolási időket alkalmaztam. A kívánt szekvencia felépítése után az oligomereket lehasítottam a gyantáról AcOH–MeOH–DCM 1:1:8 eleggyel, 3 órás hasítási időt alkalmazva. A nyers peptidekről készült ESI-MS mérés segítségével megállapítottam, hogy mindkét nyerstermék minimális szekvencia hibát tartalmaz. A tetramer (**85**) esetén a termékre jellemző 759 m/z-nél jelentkező $[M_1+H]^+$ csúcs mellett nagyon kicsi intenzitással jelentkezett 574 m/z-nél a trimerre (**87**) jellemző $[M_2+H]^+$ csúcs is. Míg a hexamer (**86**) esetén az 1129 m/z-s fő $[M_1+H]^+$ csúcs mellett megjelent a pentamer (**88**) $[M_2+H]^+$ csúcса is 944 m/z-nél. A nyers peptideket RP-HPLC-s tisztításnak vettem alá, amelynek eredményeként sikerült tisztán kinyernem a kívánt homooligomereket, amelyet alkalmasak voltak a további spektroszkópai vizsgálatokra.

4.4.5. Homo- és heterooligomerek előállítására áramlásos rendszerű peptidszintetizátorral

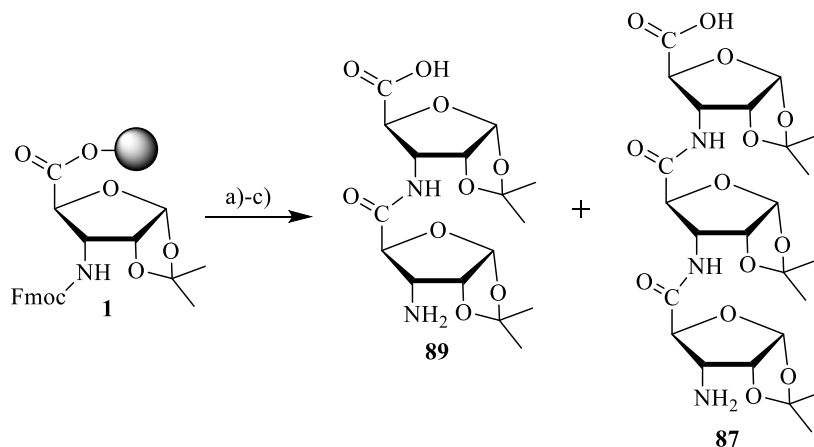
A MedInProt mentor-diák ösztöndíjának köszönhetően, a Szegedi Tudományegyetemmel kooperálva lehetőségem nyílt, hogy megismerkedjek a Dr. Mándity István által kifejlesztett áramlásos rendszerű peptidszintetizátorral („*flow chemistry*”) [90]. Az áramlásos rendszerű szintézis főbb előnyei a hagyományos vagy automata szintézishez képest, hogy a nyomás és a hőmérséklet hangolható, a 3-10 ekvivalens aminosav felesleg helyett akár 1,5 ekvivalens aminosav alkalmazása is elegendő a kiváló hatékonyság eléréséhez illetve mikrogrammtól grammos méretekig használható.

A készülék tesztelésére egy α -tetrapeptid, a H-ELFA-NH₂ szekvencia felépítésébe kezdtem. A szintézist alacsony gyantakapacitású Tentagel-Sieber gyantán (0,19 mmol/g gyantakapacitás) végeztem, ami amid végű peptidet eredményez. Kapcsolószerként HATU/DIEA reagenspárt használtam, az aminosavakat 30 percig kapcsoltam 70 °C-on, 60 bar nyomáson és 0,15 ml/perc áramlási sebességgel. A peptidet 1% TFA/DCM oldattal hasítottam a gyantáról. A szintézis sikerességét alátámasztotta a peptid ESI-MS mérésekor megjelenő 478 $[M+H]^+$ csúcs.

A tesztpeptid felépítését követően az általam vizsgált cukoraminosavak közül elsőként a *ribo* konfigurációjú (**1**) tesztelésébe kezdtem. A tervek között hetero- és homooligomerek felépítése egyaránt szerepelt. A szintézisekhez Tentagel alapú 2-Cl-Trt-Cl gyantát használtam. Elsőként egy hexamer (**86**) felépítésével próbálkoztam. A szintézishez Oxyma/DIC kapcsoló reagenst használtam és aminosavanként 2 óra recirkulációt alkalmaztam, mivel nehéz szekvenciáról van szó. A szintézis 50 °C-on, 60 bar nyomáson és 0,15 ml/perc áramlási sebességgel történt. Az alacsonyabb hőmérséklet alkalmazásának oka, hogy a cukor monomer

(1) olvadáspontja 72 °C. A szintézist követően a peptidet lehasítottam a gyantáról AcOH–MeOH–DCM 1:1:8 eleggyel, 3 órás hasítási időt alkalmazva. A nyers peptidról készült ESI-MS mérés segítségével megállapítottam, hogy a kapcsolás eredményeként egy keveréket kaptam, amelyben az 574 [M+H]⁺ és a 384 [M+H]⁺ csúcs, azaz a trimer (87) és a dimer (89) dominált. A keveréket RP-HPLC-s tisztításnak vettem alá, azonban ez sikertelen volt (43. ábra).

Mivel az imént bemutatott kísérlettel nem sikerült a célul kitűzött hexamer (86) molekulát előállítani, így célszerű volt a reakciókörülményeket optimalizálni. Ezen próbálkozásokkal egyidőben kezdtünk a cukoraminosavakból különböző kapcsolószerekkel képződő aktív észterek részletes vizsgálatába, így az azokból kapott eredmények segítségemre voltak az optimalizálásban. Az NMR mérésekből nyert információk segítségével továbbá magyarázatot kaptam a fent bemutatott kísérlet. A reakcióban használt Oxyma reaktivitását tekintve a HOBt-hez hasonlítható és egyre elterjedtebb a használata, kiváltva ezzel a robbanásveszélyes HOBt-t. Az NMR mérések során a HOBt/DIC esetén azt találtam, hogy az aktív észter (71a) lassan, 1 óra alatt alakul ki, és akkor is csak 50%-os konverzióval, majd elbomlik. Ez magyarázhatja, hogy a „flow” kísérlet során miért csak dimert (89) és trimert (87) sikerült felépíteni a kívánt szekvencia helyett.



43. ábra Homooligomerek felépítése az Fmoc-ribofurán-uronsav (1) molekulából az áramlásos rendszerű peptidszintetizátorral (lásd 2.6. fejezet és 15. ábra). Alkalmazott reagensek és reakciókörülmények: a) 2% piperidin/2% DBU/DMF, 3+17 perc; b) Oxyma (3 ekv.), DIC (3 ekv.), DMF; 50 °C, 60 bar, 0,15 ml/perc áramlási sebesség, 2 óra recirkuláció; c) AcOH–MeOH–DCM 1:1:8, 3 h.

A különböző kapcsolószerekkel képződő aktív észterek ¹H NMR mérésekkel történő részletes vizsgálata, valamint a -GXXG- szekvencia szilárd fázison való felépítése egyértelműen

rávilágított arra, hogy a PyBOP/DIEA rendszer a legalkalmasabb cukoraminosavak kapcsolására. Tehát az áramlásos rendszerű peptidszintézis optimalizálásának első lépéseként a hagyományos szilárd fázison jól működő -GXXG- szekvencia felépítésébe kezdtem PyBOP/DIEA reagenspárt alkalmazva. A szintézis 50 °C-on, 60 bar nyomáson és 0,15 ml/perc áramlási sebességgel történt. A kapcsolat glicin esetén 1 órás, a cukoraminosav (1) esetén 3 órás recirkulációval történt. A szintézist követően a peptidet lehasítottam a gyantáról AcOH–MeOH–DCM 1:1:8 eleggyel, 3 órás hasítási időt alkalmazva. A szintézis sikerességét alátámasztotta a nyers peptidről készült ESI-MS mérés során megjelenő 502 [M+H]⁺ csúcs.

Ezen sikeres kísérlet reakciókörülményeit alkalmazva tehát érdemes lenne megkísérelni a homooligomerek felépítését. A „*flow* rendszer” optimalizálásának egy következő fázisa pedig az alkalmazott aminosav felesleg csökkentésére irányuló kísérletek lennének, amellyel a szintézis még gazdaságosabbá tehető. Ezen kísérletek azonban már nem képezik doktori dolgozatom tárgyát.

4.5. Az α - és β -aminosavakból képzett aktív észterek stabilitásának vizsgálata

A peptidkémiaiban az egyik általánosan használt módszer az aktív észteren keresztül történő aktiválás [80,82]. Az aktív észterek *in situ* képződnek a kapcsolat körülményei között. A kapcsolási procedúra első lépése tehát egy 10 perces előaktiválás, amely során az adott kapcsoló reagenssel aktív észtert képeznek, majd ez a szabad aminocsoporttal rendelkező kapcsoló molekulával reakcióba lép. A kapcsolat ideje 1, 3 vagy nehezebb szekvenciák esetén 18 óra is lehet. Az aktív észterek vizsgálatára az irodalomban kevés példát találunk. Alberico és munkatársai HPLC-s követéssel vizsgálták egyes aktív észterek stabilitását [85], viszont szisztematikus vizsgálatokra nem találunk példát. A szilárd fázisú peptidszintézis további optimalizálása céljából a cukoraminosavaknál legeredményesebbnek bizonyult PyBOP/DIEA reagenspárt használva különböző α - és β -aminosavakból képződő aktív észterek stabilitásának vizsgálatában kezdtünk, felderítve ezáltal az egyes aminosavakra az optimális kapcsolási körülményeket [124]. A vizsgálatokat Goldschmidtné Gőz Viktóriával közösen végeztük el, így a téma egy másik doktori dolgozatban is megtalálható [121].

Az aktív észterek képződésének és stabilitásának vizsgálatát szerkezetileg különböző csoportba sorolható aminosavakon végeztük el: (i) rövid oldalláncú (Gly, Ala) vagy hosszú oldalláncú és nagy védőcsoporttal rendelkező (Asn, Arg); (ii) β - vagy γ -pozícióban elágazó oldalláncú (Thr, Leu, Ile, Val); (iii) nyílt láncú és gyűrűs β -aminosavak (β^3 -Val, β^3 -Thr, β^3 -Ala, ACPC, ACHC). Ezzel célunk volt, hogy kapcsolatot keressünk a szerkezet és a kémiai

viselkedésük között. Az aktív észterek viselkedését ^1H NMR spektroszkópiával követtük. Az NMR mérések a cukoraminosavnál alkalmazott módszerrel analóg történtek. Az Fmoc-karbonsavat és a kapcsoló reagenst DMF- d_7 -ben feloldottuk, ez lett a $t = 0$ perces kiindulópont. Majd a bázis hozzáadásával elkezdődött az aktív észter képződés folyamata. Adott időközönként: 10, 20, 30, 60 perc majd óránként vettünk fel ^1H spektrumokat, amelyre három példát szeretnék bemutatni a **44. – 46. ábrákon**. A karakterisztikus jelek integrálásával és az idő–integrál diagramok segítségével megállapítottuk a képződési (t_f) és hidrolízis (t_h) időket, amelyet a **10. táblázatban** foglaltam össze.

10. táblázat A vizsgált α - és β -aminosavakból képződő aktív észterek képződésének és hidrolízisének ideje, valamint a konverzió mértéke.

Aminosav		Észter képződés (f)		Észter hidrolízis (h)		Konverzió (%)		
		t_f (perc)	konverzió (%)	t_h (perc)	konverzió (%)	10 perc ^c	60 perc ^d	180 perc ^d
1. Csoport	Fmoc-Ala-OH	10	86	360	>99	86 (f)	14 (h)	62 (h)
	Fmoc-Gly-OH	10	87	420	>99	87 (f)	29 (h)	55 (h)
	Fmoc-Asn(Trt)-OH ^a	10	89	360	>99	89 (f)	28 (h)	65 (h)
	Fmoc-Arg(Pbf)-OH	10	56	180	>99	56 (f)	55 (h)	97 (h)
	Fmoc-Leu-OH ^b	10	68 ^b	1440	>99	86 (f)	17 (h)	44 (h)
2. Csoport	Fmoc-Thr(^t Bu)-OH	20	64	1440	90	68 (f)	69 (f)	>99 (f)
	Fmoc-Ile-OH	20	71	1440	90	64 (f)	65 (f)	78 (f)
	Fmoc-Val-OH	10	88	1440	88	71 (f)	4 (h)	5 (h)
	Fmoc- β^3 -Ala-OH	10	>99	1440	>99	88 (f)	6 (h)	18 (h)
3. Csoport	Fmoc-ACPC-OH	540	>99	∞	0	53 (f)	76 (f)	81 (f)
	Fmoc-ACHC-OH	840	>99	∞	0	60 (f)	61 (f)	64 (f)
	Fmoc- β^3 -Val-OH	10	71	∞	0	71 (f)	71 (f)	71 (f)
	Fmoc- β^3 -Thr(^t Bu)-OH	360	91	∞	0	64 (f)	69 (f)	76 (f)

^aaz aktív észter elbomlott

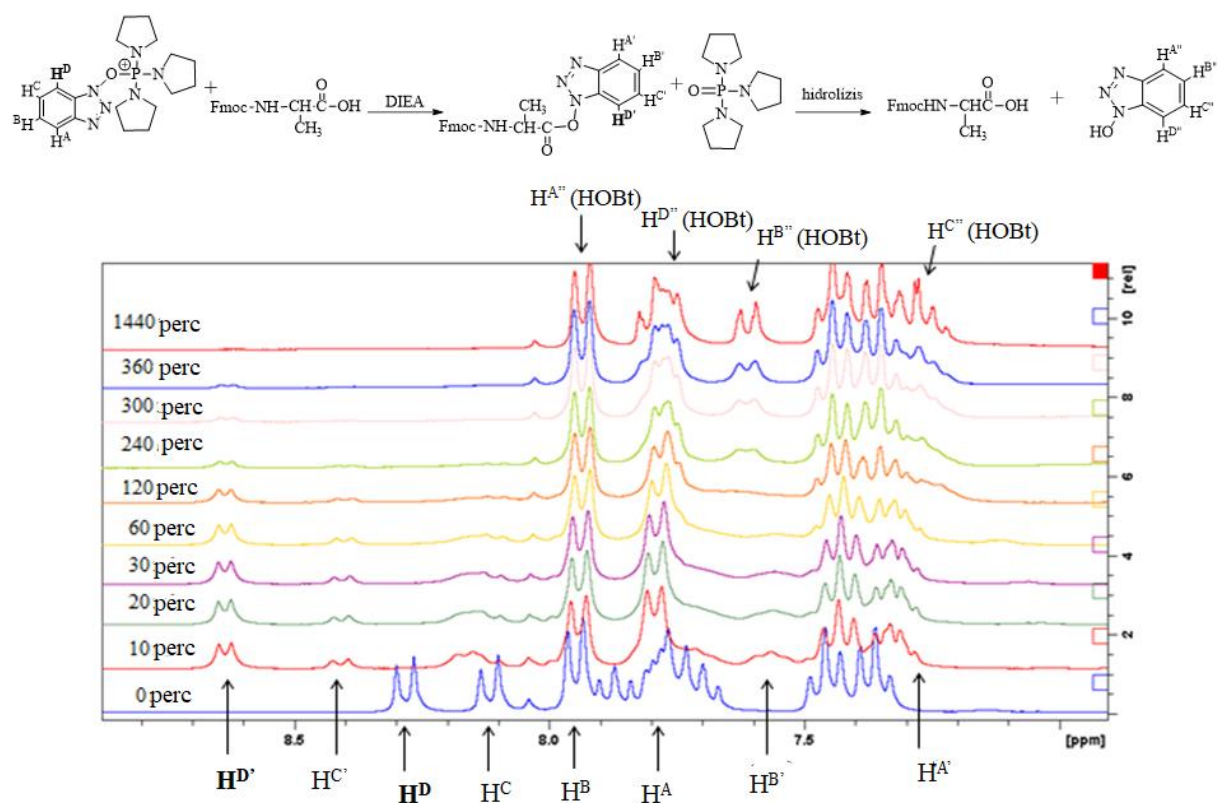
^baz aktív észter 150 perc alatt >99% konverzióval képződött

^c α -aminosavaknál alkalmazott jellemző előaktiválási idő

^d α -aminosavaknál alkalmazott jellemző kapcsolási idő

A kapott képződési és hidrolízis idők alapján látható, hogy α -aminosavak esetén a képződés többnyire gyors, 10-20 perc alatt magas konverzióval végbemegy, míg β -aminosavak esetén ez

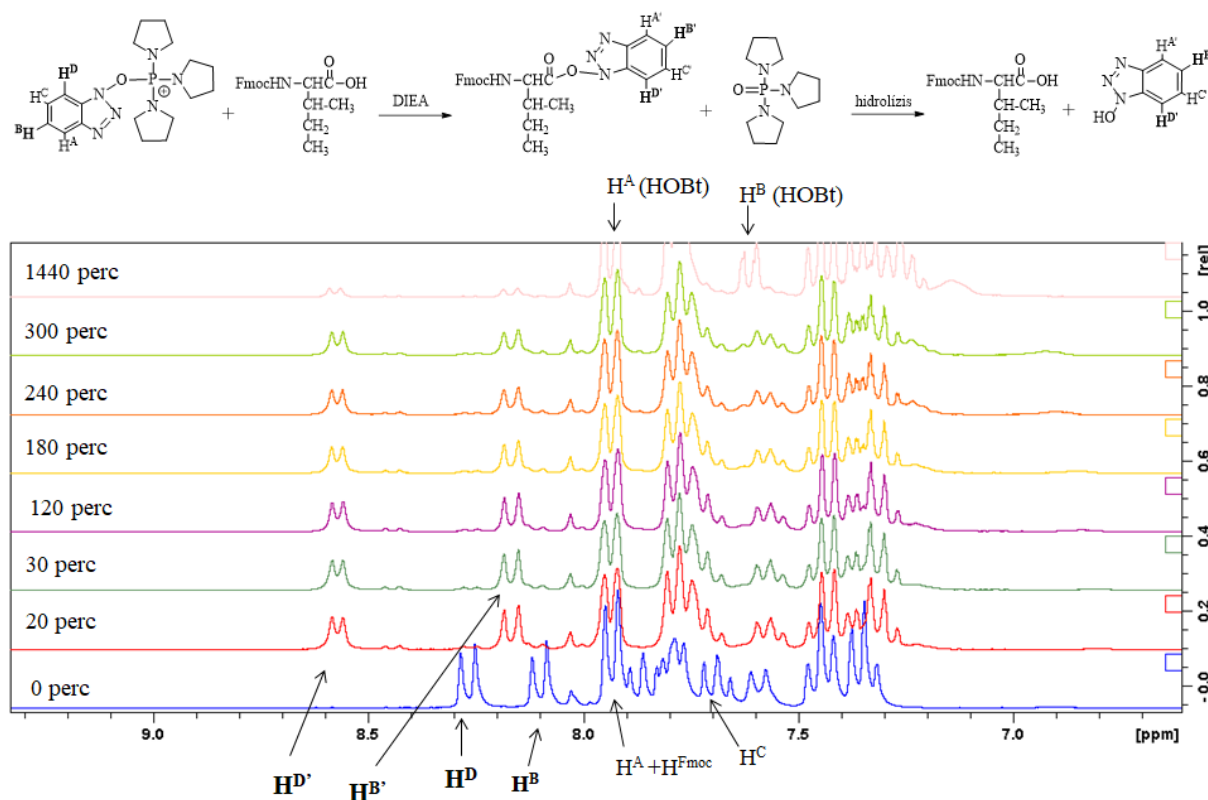
a folyamat akár több óráig is eltarthat. Azokban az esetekben is, ahol a képződés lassabb, az aktív észter 10 perc alatt >50%-ban kialakul, amely elegendő lehet a sikeres kapcsoláshoz. Továbbá fontos kiemelni még az Arg-t, amely esetében az aktív észter 10 perc alatt 56%-ban képződik meg és 3 óra alatt teljesen el is hidrolizál. Tehát az Arg-nal maximum 1 órás kapcsolási időt érdemes alkalmazni. Az aminosavak többsége esetén az aktív észter hidrolízise figyelhető meg, amely a kapcsolási idő és hatékonyság szempontjából lényeges. Ez a DMF víztartalmának (DMF- $d_7 \leq 0,05\%$, Euroisotope) köszönhetően következik be, amely hasonló a peptidszintézishez használt DMF víztartalmával ($\leq 0,03\%$, Carlo Erba vagy Sigma Aldrich). Ráadásul a kinetikai modellezés során használt számítások alapján ez az érték a legtöbb esetben jóval magasabb, $[H_2O]_{számított} = 0,02-0,25$ mM, míg $[H_2O]_{eredeti} = 0,016-0,027$ mM. A bekövetkező hidrolízist alátámasztják a spektrumokban megjelenő HOBt protonok valamint a kiindulási aminosavak jelei is (44. és 45. ábra).



44. ábra Az Fmoc-Ala-OH-ból PyBOP/DIEA kapcsoló reagenssel képződő aktív észter kialakulásának és stabilitásának követése 1H NMR spektroszkópiával. A vastagon szedett protonok integrál értékeit használtam fel a kinetikai modellhez.

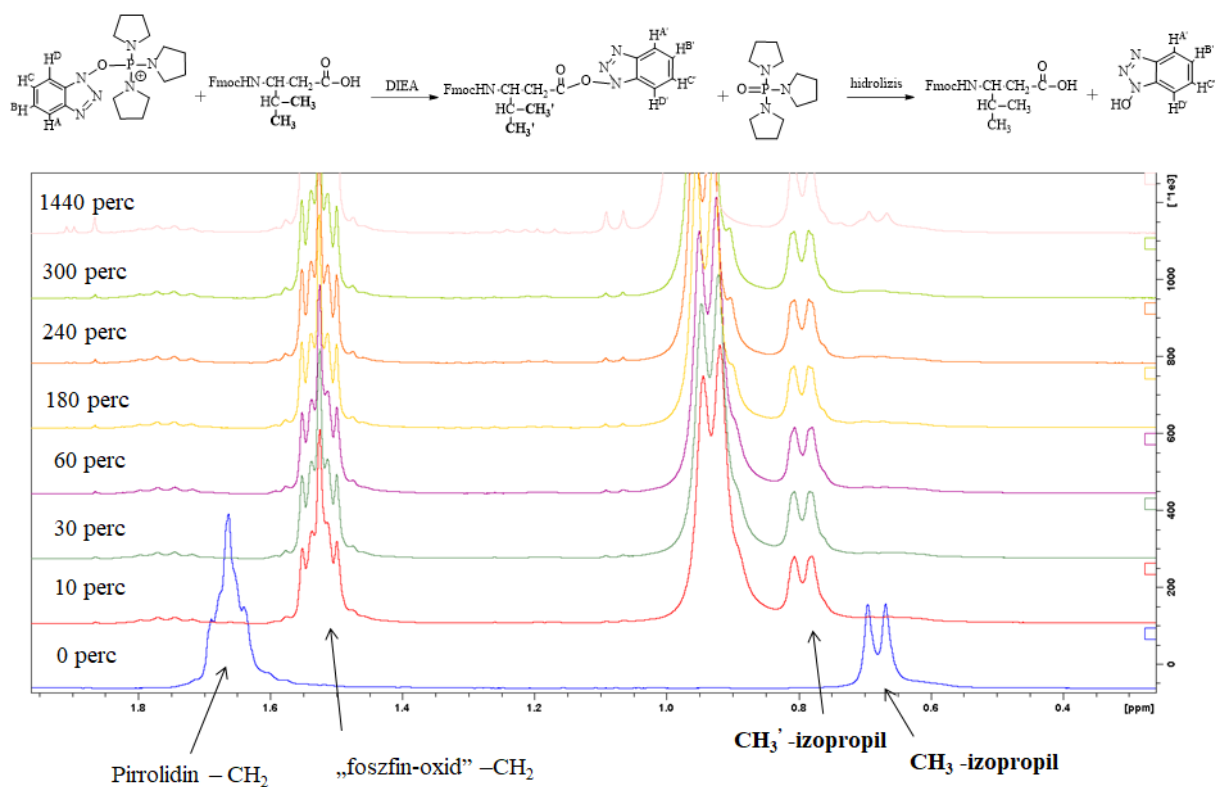
A képződött aktív észterek hidrolízisének sebessége alapján három csoportba sorolhatók a vizsgált aminosavak. Ez a csoportosítás megegyezik a fent bemutatott, szerkezeti

tulajdonságaik alapján kialakított csoportokkal. Ebből a három csoportból mutatnak be egy-egy példát a fenti ^1H NMR spektrumok, illetve a **47. ábrán** látható integrál–idő diagram. Ez alapján az egyik csoportba tartoznak azok az aminosavak, amelynél az aktív észter gyors hidrolízise figyelhető meg. Ezeknél 6 órán belül az aktív észter >90%-ban elbomlik és visszkapjuk a kiindulási aminosavat. Ebbe a csoportba tartoznak az Ala, Gly, Arg, Asn, tehát azok az aminosavak, amelyekben nincs β - vagy γ -elágazás, az esetleges hosszú oldalláncukon lévő védőcsoport pedig messze van a reakció centrumától, így nem gátolja a hidrolízist. Az ebbe a csoportba sorolható aminosavak reaktívak, velük a kapcsolás gyorsan és hatékonyan végbemegy. Kivételt képez ezek közül a Leu, amely annak ellenére, hogy γ -elágazást tartalmaz, mégis az első csoportba sorolható. A Leu lassan képezi meg az aktív észtert, 10 perc alatt 68%-os a képződés konverziója és ez nem változik egészen 3 óráig, amikor viszont >99%-os az átalakulás. Ezt követően viszont gyors hidrolízis figyelhető meg, ezért tartozik az első csoportba.



45. ábra Az Fmoc-Ile-OH-ból PyBOP/DIEA kapcsoló reagenssel képződő aktív észter kialakulásának és stabilitásának követése ^1H NMR spektroszkópiával. A vastagon szedett protonok integrál értékeit használtam fel a kinetikai modellhez.

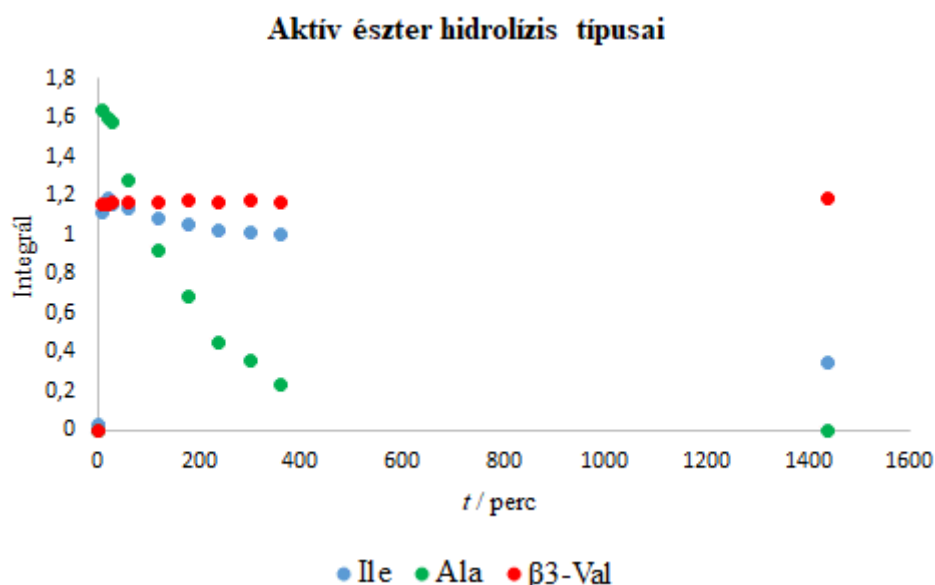
A második csoportba tartozó aminosavak aktív észterei lassan hidrolizálnak, 6-24 óra között bomlanak el. Ide tartoznak a Thr, Ile, Val és a β^3 -Ala, amelyekben β - vagy γ -elágazás van, sztérikus gátat szabva a hidrolízisnek. Ennek következtében ezek kevésbé reaktívak, tehát a kapcsolási idő is hosszabb lesz esetükben. A Thr esetén például azt találtuk, hogy az aktív észter 3 órán át stabil marad és csak ezt követően kezd el hidrolizálni. A harmadik csoport képviselői pedig stabil aktív észtert képeznek, amelyek 24 óra elteltével is csupán <5%-ban hidrolizálnak. Ide tartozik az ACPC, ACHC, β^3 -Thr és a β^3 -Val, amelyekben a merev szerkezet illetve a nagy oldalláncok csökkentik az aktivitást. A nagyfokú stabilitáshoz hozzájárul továbbá a β -aminosavakban kialakuló hattagú intramolekuláris H-híd is, amely stabilabb az α -aminosavak öttagú H-hídjához képest. A hosszú ideig stabil aktív észter miatt a β -aminosavak 18 órán át is kapcsolhatók.



46. ábra Az Fmoc- β^3 -Val-OH-ból PyBOP/DIEA kapcsoló reagenssel képződő aktív észter kialakulásának és stabilitásának követése ^1H NMR spektroszkópiával. A vastagon szedett protonok integrál értékeit használtam fel a kinetikai modellhez.

A vizsgált csoportok mindegyikéből egy aminosavat kiválasztva elvégeztük az aktív észterek kialakulásának és stabilitásának követését HOBt/DIC kapcsoló reagenspárral is, ami az α -aminosavak esetén legáltalánosabban használt kapcsolószer. Mindegyik esetben azonban

azt tapasztaltuk, hogy az aktív észter lassabban és alacsonyabb konverzióval alakul ki, tehát α -aminosavak esetén is érdemesebb PyBOP-ot használni a hatékonyabb kapcsolás érdekében.



47. ábra A vizsgált α - és β -aminosavakból képződő aktív észterek hidrolízisének egyes csoportjait szemléltető integrál-idejő grafikon az Fmoc- β^3 -Val-OH, az Fmoc-Ile-OH és az Fmoc-Ala-OH példáján: gyors hidrolízis (zöld), lassú hidrolízis (kék), nincs hidrolízis (piros).

Összességében tehát elmondható, hogy az aminosavak aktív észtereinek hidrolízis sebessége összefüggésbe hozható a reaktivitásukkal. Mivel a β -aminosavak stabilabb, kevésbé reaktív aktív észtert képeznek, így nehezebben kapcsolhatók, mint az α -aminosavak. Ezt alátámasztja számos kísérlet, amelyben β -aminosavat tartalmazó homo- vagy heterooligomert építettek fel.

Azoknál az aminosavaknál, amelyeknél az aktív észter hidrolízisét tapasztaltuk kinetikai számítások segítségével meghatároztuk a hidrolízis felezési idejét és az aktív észter kezdeti koncentrációját a hidrolíziskor. Ezeket az eredményeket foglalja össze a **11. táblázat**. Minden esetben a hidrolízis másodrendű kinetika szerint játszódott le. Az alkalmazott modellel számolt $[AC]_{0,számolt}$ és mért $[AC]_{0,mért}$ értékek jó egyezést mutatottak. Az Arg és a Leu esetén az $[AC]_{0,számolt} > [AC]_{0,mért}$, ami arra utal, hogy a hidrolízis nagyon gyors, már az első mérési pont (10 perc) előtt elkezdődött. Azoknál az aminosavaknál, ahol a hidrolízis lassabb volt, tehát több mérési pont felvételére került sor, a víz kezdeti koncentrációját is meg lehetett határozni a kinetikai számítások segítségével. A többi esetben ez az érték a DMF becsült víz koncentrációjának megfelelően 0,25 mM-ra lett rögzítve. Mivel a hidrolízis másodrendű

kinetika szerint játszódik le, a hidrolízis felezési ideje függ a víz koncentrációjától, amelyet a következő egyenlet mutat be:

$$t_{1/2} = \frac{1}{k_{\text{hidrolízis}} ([\text{H}_2\text{O}]_0 - [\text{AC}]_0)} \ln \left(2 - \frac{[\text{AC}]_0}{[\text{H}_2\text{O}]_0} \right) \quad (1)$$

ahol $k_{\text{hidrolízis}}$ a hidrolízis sebességi állandója, $c_{\text{víz},0}$ a víz kezdeti koncentrációja, míg a $c_{\text{észter},0}$ az aktív észter kezdeti koncentrációja. Éppen ezért az egyes aminosavak hidrolízisének összehasonlítása során érdekesebb a $k_{\text{hidrolízis}}$ értékeket összehasonlítani és nem a $t_{1/2}$ értékeket. Továbbá fontos megjegyezni, hogy az aktív észterek csoportosítása a víz koncentrációjától független volt, tehát a hidrolízisben jelentkező különbségek szerkezeti okokra vezethetők vissza.

11. táblázat A vizsgált α - és β -aminosavakból képződő aktív észterek hidrolízisének kinetikai paraméterei: hidrolízis állandó ($k_{\text{hidrolízis}}$), az aktív észter mért és számolt kezdeti koncentrációja ($[\text{AC}]_{0,\text{mért}}$ és $[\text{AC}]_{0,\text{számolt}}$), kezdeti víz koncentráció ($[\text{H}_2\text{O}]_0$), az aminosav kezdeti koncentrációja ($[\text{C}]_{0,\text{mért}}$) és az aktív észter valamint a víz kezdeti koncentrációjából számolt felezési idő ($t_{1/2,\text{számolt}} [\text{AC}]_{0,\text{számolt}}$ -ból és $t_{1/2,\text{számolt}} [\text{H}_2\text{O}]_{0,\text{számolt}}$ -ból).

Aminosav	$k_{\text{hidrolízis}}$	$[\text{AC}]_{0,\text{mért}}$ (mM)	$[\text{AC}]_{0,\text{számolt}}$ (mM)	$[\text{H}_2\text{O}]_0$ (mM)	$[\text{C}]_{0,\text{mért}}$ (mM)	$t_{1/2,\text{számolt}}$ $[\text{AC}]_{0,\text{számolt}}$ -ből (perc)	$t_{1/2,\text{számolt}}$ $[\text{H}_2\text{O}]_{0,\text{számolt}}$ -ből (perc)
Fmoc-Ala-OH	0,0246 ± 0,0040	0,099	0,110 ± 0,0066 ^a	0,25 ^b	0,116	127	127
Fmoc-Gly-OH	0,0449 ± 0,0266	0,106	0,102 ± 0,0036	0,142 ± 0,055	0,122	140	70
Fmoc-Asn(Trt)-OH	0,0447 ± 0,0001	0,054	0,0714 ± 0,0119 ^a	0,229 ± 0,444 ^c	0,061	73	70
Fmoc-Arg(Pbf)-OH	0,1098 ± 0,6443 ^c	0,0174	0,0213 ± 0,0022 ^a	0,184 ± 1,011 ^c	0,031	35	29
Fmoc-Leu-OH	0,0504 ± 0,0237	0,0688	0,0685 ± 0,0028	0,0934 ± 0,0291	0,102	189	62
Fmoc-Thr(^t Bu)-OH	0,0248 ± 0,0117	0,059	0,059 ± 0,0016	0,095 ± 0,032	0,091	360	126
Fmoc-Ile-OH	0,0031 ± 0,2987 ^c	0,0724	0,068 ± 0,0050	0,226 ± 21,475 ^c	0,102	1089	1011
Fmoc-Val-OH	0,0460 ± 0,0145	0,0950	0,0950 ± 0,0008	0,0285 ± 0,0044	0,107	n. a. ^d	68
Fmoc- β^3 -Ala-OH	0,0073 ± 0,0041	0,132	0,1346 ± 0,0162	0,25 ^b	0,134	450	430

^aa hidrolízis az első mérési pont előtt elkezdődött

^b $[\text{H}_2\text{O}]_0$ koncentráció 0,25 mM-on rögzítve lett a számítások során

^ca konfidencia intervallum túl nagy

^da becsült víz koncentráció alacsonyabb volt az aktív észter koncentráció felénél

Összeségében tehát ezen vizsgálat eredményei alapján látható, hogy az α - és β -aminosavak reaktivitásuk alapján különböző csoportokba sorolhatók aszerint, hogy milyen gyorsan alakul ki belőlük a kapcsoláshoz szükséges aktív észter illetve ez az aktív észter mennyire stabilis [124]. A képződési és stabilitási adatok fontossága pedig abban rejlik, hogy ezek alapján az egyes aminosavak kapcsolását optimális körülmények között tudjuk elvégezni, magas kapcsolási hatékonyságot eredményezve ezzel. A manapság használt automatizált technikák esetén könnyen megvalósítható az aminosav specifikus körülmények beállítása, alkalmazása.

4.6. Modellvegyületek, hetero- és homooligomerek vizsgálata kiroptikai spektroszkópiával

Az előző fejezetekben bemutatott, *ribo* (3) és *xilo* (4) konfigurációjú cukoraminosavakból előállított diamid modellvegyületek, valamint a cukoraminosavakat tartalmazó hetero- és homooligomerek szerkezetvizsgálatát egyrészt kiroptikai spektroszkópiával végeztem el. A β -cukoraminosavakat tartalmazó oligomerek esetén a módszer segítségével megjósolhatjuk azok hajlamát másodlagos térszerkezet felvételére, illetve megvizsgálhatjuk a cukorgyűrű által indukált konformáció változást is.

A cirkuláris dikroizmus (CD) mérések alapját az az optikai jelenség képezi, hogy a jobbra, illetve balra cirkulárisan polarizált fényel szemben az anyag abszorpciós tulajdonságai különbözőek lehetnek. A jobbra és balra cirkulárisan polarizált fény terjedési sebességének, illetve abszorpciójának eltérése az optikailag aktív közegben azt eredményezi, hogy a lineárisan polarizált fény elliptikusan polarizálttá válik, amit moláris ellipticitásként mérhetünk. A cirkuláris dikroizmus ($\Delta\epsilon$) ismeretében a moláris ellipticitás ($[\Theta]$) a következő összefüggéssel számolható ki: $[\Theta] = 3300 \cdot \Delta\epsilon$. A spektrumban azonosítható sávok megfeleltethetők a molekulában található kromofór csoportok által előidézett elektronátmeneteknek. A kromofór csoportok (leggyakrabban aril-, amid- vagy észtercsoportok) általában akirálisak, tehát a CD spektrum létrejöttének a kromofór közelében jelentkező királis perturbáló hatás a feltétele. A CD spektroszkópia egyik fő típusa az ECD (elektronikus cirkuláris dikroizmus) spektroszkópia, amely az UV-VIS spektroszkópia királis molekulákra kiterjesztett változata. Az ECD spektroszkópiát gyakran alkalmazzák molekulák térszerkezetének predikciójára [125].

Az ECD méréseket egy egyfénnyutas dikrográffal végeztem, tehát a mérés előtt az oldószer spektrumának felvételével alapvonal-korrekciónak kellett elvégezniem. A méréseket a távoli UV (185-260 nm) tartományban végeztem, ennek megfelelően 0,2 mm rétegvastagságú

kvarc küvettát használtam. Oldószerként a királis UV-spektroszkópiai célra forgalmazott Uvasol MeOH-t és 2x desztillált vizet használtam. A vizsgálandó mintákból 1 mg/ml koncentrációjú oldatokat készítettem és szükség esetén hígítottam őket. Az ECD spektrum felvétele mellett ugyanis abszorbanciát (A) is mértem, amelynek koncentrációfüggését a Lambert-Beer törvény,

$$A = \log(I_0/I) = \varepsilon \cdot c \cdot l \quad (2)$$

adja meg, ahol I_0 a beeső fény intenzitása, I a mintán áthaladt fény intenzitása, ε a moláris abszorpciós tényező, c a moláris koncentráció és l a küvetta vastagsága. Ennek értelmében az abszorbancia arányos a koncentrációval, tehát magas ($>1,2$) A érték esetén a minta hígítása szükséges volt.

A CD spektroszkópia másik fő típusa a VCD (vibrációs cirkuláris dikroizmus) spektroszkópia. Ez esetben a spektrum az ellentétes irányokba cirkulárisan polarizált fény elnyelésének a különbsége. A VCD mérési technika alkalmas abszolút konfiguráció, illetve peptidok esetén másodlagos szerkezet meghatározására. Az IR-hez hasonlóan az amid I tartomány hordozza a legtöbb információt számunkra, de mivel VCD esetén a sávoknak előjele is van, így az információ tartalom megkétszereződik az IR-hez képest. A VCD spektrum *ab initio* számítása legtöbb peptidre rutin feladatnak számít, mivel - az ECD-vel ellentétben - csak az alap elektron állapotot kell figyelembe venni [126-128]. A mérések során oldószerként szintén a királis UV-spektroszkópiai célra forgalmazott Uvasol acetonitrilt használtam, a vizsgálandó mintákból pedig 10 mg/ml koncentrációjú oldatokat készítettem.

4.6.1. Modellvegyületek vizsgálata VCD/ECD spektroszkópiát és DFT számításokat ötvöző módszerrel

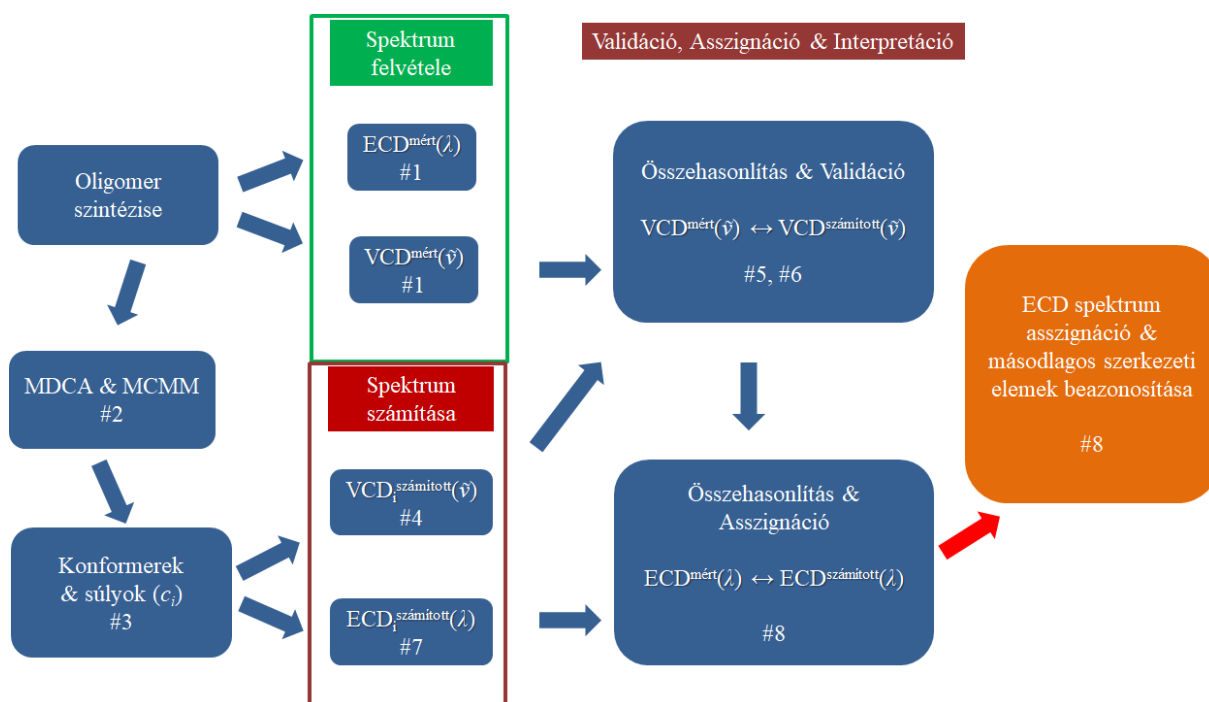
β -Peptidek esetén a másodlagos szerkezet meghatározása az ECD spektrumok alapján nem egyértelmű, szemben az α -peptidekkel. Ezért sok esetben a 2D NMR-ből és a röntgenkristallográfiából nyert szerkezethez próbálták hozzárendelni az ECD spektrumokat [129,130]. Flexibilis molekulák esetén azonban az ECD/NMR és ECD/NMR/röntgen kombinált módszerek alkalmazásának számos korlátja van. A röntgenkristallográfia ugyan pontos szerkezetet szolgáltat, de csak egyetlen, esetleg néhány konformerre korlátozódik. Az NMR szintén alkalmas pontos szerkezet meghatározásra kis flexibilitású molekulák esetén, azonban rövid és flexibilis oligomerek (pl. β -peptidek) J -csatolási állandóiból és NOE keresztcsúcsaiból kinyerhető szerkezeti információ kevés a konformációs sokaság

rekonstruálására. Továbbá az ECD nagyon érzékeny spektroszkópai módszer, amellyel akár az amid síkok kis szerkezeti változásai is észlelhetők, ezért alkalmazható NMR-t kiegészítő technikaként. Ebből következően elsődleges célunk volt egy olyan VCD/ECD spektroszkópiát és *ab initio* számításokat ötvöző módszer kidolgozása, amely általánosan használható szerkezet meghatározásra β -peptidek esetén [131]. Ennek egyes lépéseit mutatja be a **48. ábra**.

A módszerünk első lépése az előállított oligomer $VCD^{mért}(\tilde{\nu})$ és $ECD^{mért}(\lambda)$ spektrumainak felvétele. Ezt követően a flexibilis oligomer konformációinak alapos feltérképezésére kombinált *Multidimensional Conformation Analysis* (MDCA) és *Monte Carlo Multiple Minimum* (MCMM) szimulációt alkalmazunk. Az alacsony energiájú konformerek geometriáját DFT módszerrel optimalizáljuk, a B3LYP/6-311+G(d,p) elméleti szinten a metanol IEF-PCM implicit oldószer modellt használva. A konformerek energiájából megkapjuk azok relatív súlyát (c_i) szobahőmérsékleten, Boltzmann-eloszlást feltételezve. Minden konformerre kiszámoljuk a $VCD_i^{számított}(\tilde{\nu})$ spektrumot ugyanazon az elméleti szinten, mint amin a geometriát is kaptuk, majd ezeket összegezzük a c_i súlyokat felhasználva ($VCD^{számított}(\tilde{\nu}) = \sum_i c_i \cdot VCD_i^{számított}(\tilde{\nu})$). A kapott $VCD^{számított}(\tilde{\nu})$ spektrum szemikvantitatív egyezése az első lépésben mért színekkel ($VCD^{mért}(\tilde{\nu})$) validálja mind a konformációs súlyokat, mind pedig a számolt szerkezeteket. Végül a validált konformereket használjuk fel az $ECD^{calc}(\lambda)$ spektrum predikciójára. Ehhez TD-DFT módszert használunk, B3LYP/6-311+G(d,p) elméleti szinten az IEF-PCM oldószer modellt alkalmazva a metanol paramétereivel. A fenti összegzési technikával számolt, valamint a mért ECD spektrumok szemikvantitatív egyezése jelenti a mért, $ECD^{mért}(\lambda)$ spektrumhoz tartozó szerkezet asszignációját. Fontos megjegyezni, hogy a VCD spektrumok számítására alkalmazott *ab initio* módszerek sokkal pontosabbak, mint az ECD esetén, ezért alkalmazunk a konformációs eloszlás validálására VCD-t [132].

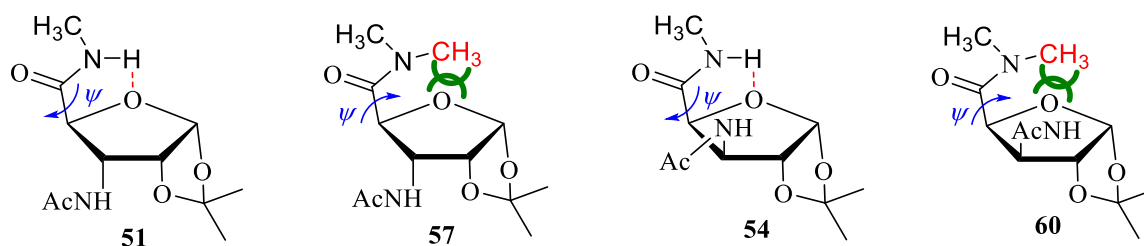
Módszerünk tesztelésére az (**51** és **54**) és az (**57** és **60**) diamid modellvegyületeket használtuk, amelyek szintézisét a 4.3.1 és 4.3.2 fejezetekben bemutattam. A molekulák a széles körben vizsgált ACPC vízoldható analógjai. Az O-atom gyűrűbe építésével (THF-származékok) egy belső H-híd (O...NH) kiépülésére van lehetőség, amely stabilizálja a szerkezetet. Ennek hatására megváltozhat a monomerekből felépülő oligomerek szerkezete. Ezt tapasztalták a *cisz*-ACPC THF analógjaiból felépülő homokirális homooligomerek szerkezetének vizsgálatánál, ugyanis azok 14-hélix szerkezetet vettek fel, szemben a *cisz*-ACPC-vel, ami szálas elrendeződést mutatott [22,26,30,133].

Esetünkben a választás azért esett ezekre a molekulákra, mert a monometil-amidcsoportot tartalmazó molekulák (**51** és **54**) egyszerű kémiai módosítással, *N*-metilezéssel könnyen átalakíthatók dimetil-származékokká (**57** és **60**).



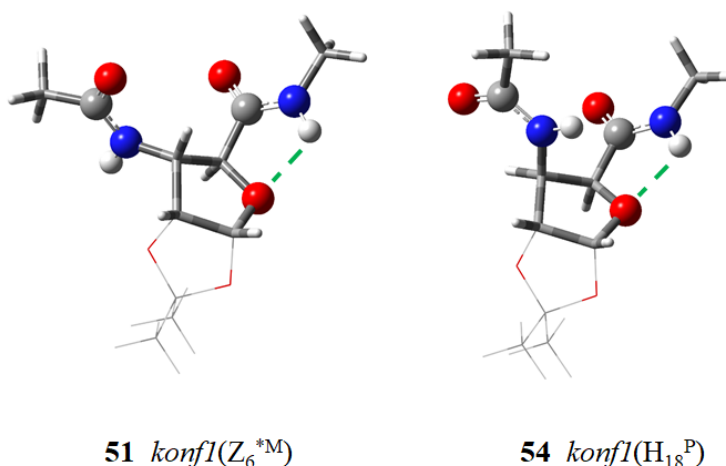
48. ábra Az ECD és VCD spektrumok asszignációjának és a másodlagos térszerkezet felderítésének folyamatábrája flexibilis oligomerek (β -peptidek) esetén.

Ahogy a **49. ábrán** is látható, az átalakítás hatására a molekulából eltűnik a belső H-híd, és ez a szerkezeti változás a másodlagos szerkezeti hajlamot is befolyásolja, ami nagyon jól követhető ECD és VCD spektroszkópiával.



49. ábra A módszerünk teszteléséhez használt négy modell monomer. Az **51**, csak úgy mint a **54** esetén a ψ torzió körüli forgás gátolt a kedvező intramolekuláris H-kötés által. A H-kötés eltűnése, valamint a $-CH_3$ csoport bevitele az **57** és **60** szerkezetekben pedig térbeli gátlást okoz (zöld görbék).

A fentebb ismertetett metodológia tükrében feltérképeztük a modellvegyületek potenciális energia felületét, hogy megkapjuk azok termokémiaailag legstabilabb konformereit. Az **51** és **54**, valamint az **57** és **60** modellekre a konformerek energetikai és releváns szerkezeti paramétereit a **12. táblázat** foglalják össze. Egyértelműen látszik, hogy mindkét monometil-modell (**51** és **54**) legstabilabb konformerét H-kötés stabilizálja. A donor-akceptor távolságok ($d_{N...O}$ és $d_{H...O}$) és az α_{NHO} szög igen közel állnak az ideális 2,4 Å, illetve 120° értékekhez (**49.** és **50. ábra**), továbbá mindkét konfiguráció esetén a H-híd kötés ~9kJ/mol-al stabilizálja a *konfl*-t.



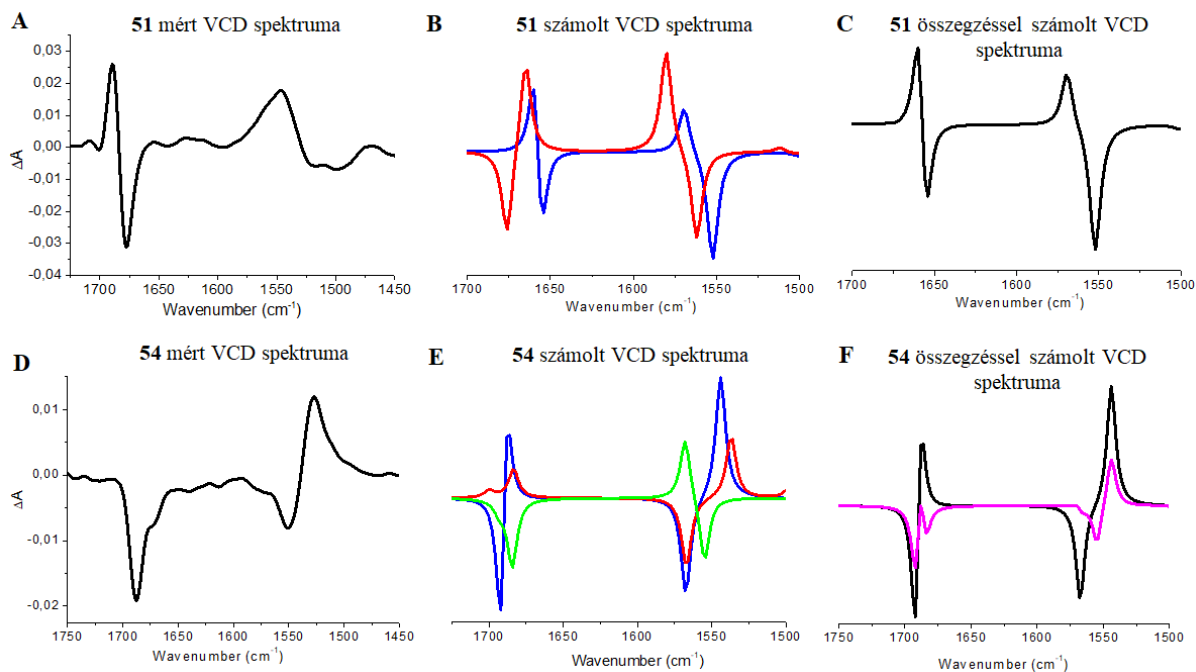
50. ábra A monometil-modellvegyületek (**51** és **54**) termodinamikailag legkedvezőbb konformációi, amelyeket intramolekuláris H-híd kötés stabilizál (zöld szaggatott vonal).

12. táblázat A monometil-modellvegyületek (**51** és **54**) termokémiaailag legvalószínűbb konformereinek relatív szabad energiája (ΔG) és súlya (c), valamint kulcsfontosságú szerkezeti paramétereit a B3LYP/6-311+G(d,p) elméleti szinten számolva.

β -aminosav	ΔG^a (kJ/mol)	c (%) ^a	$\varphi; \theta; \psi$ (°)	$d_{N...O}$ (Å)	$d_{H...O}$ (Å)	α_{NHO} (°)	Besorolás
Ac-RibAFU(ip)-NHMe (S,S) (51)							
<i>konfl</i>	0,0	98,2	-131,7; 83,1; 102,2	2,6	2,2	106,6	Z ₆ ^{*M}
<i>konf2</i>	9,92	1,8	-129,6; 83,0; -121,7	3,4	3,6	72,7	H ₁₈ ^M
Ac-XylAFU(ip)-NHMe (S,R) (54)							
<i>konfl</i>	0,0	95,8	134,6; -40,7; 114,7	2,7	2,2	108,0	H ₁₈ ^P
<i>konf2</i>	9,39	2,2	144,2; -41,0; -95,0	3,6	3,8	69,5	Z ₆ ^{*P}
<i>konf3</i>	9,57	2,0	-75,0; -24,4; 115,4	2,6	2,2	107,5	Z ₈ ^P

^aT = 298 K hőmérsékleten, Boltzmann-eloszlást feltételezve

Ezek alapján kijelenthetjük, hogy konformáció szelekció történik mind a „*ribo*” és mind pedig a „*xilo*” konfigurációk esetén. A három diéderes szög (φ , θ és ψ) értéke alapján megállapítható egy konformációs osztály [134,135], amely alapján az **51** zig-zag (Z_6^{*M}), míg az **54** hélix (H_{18}^P) szerkezetet vesz fel (**12. táblázat**).

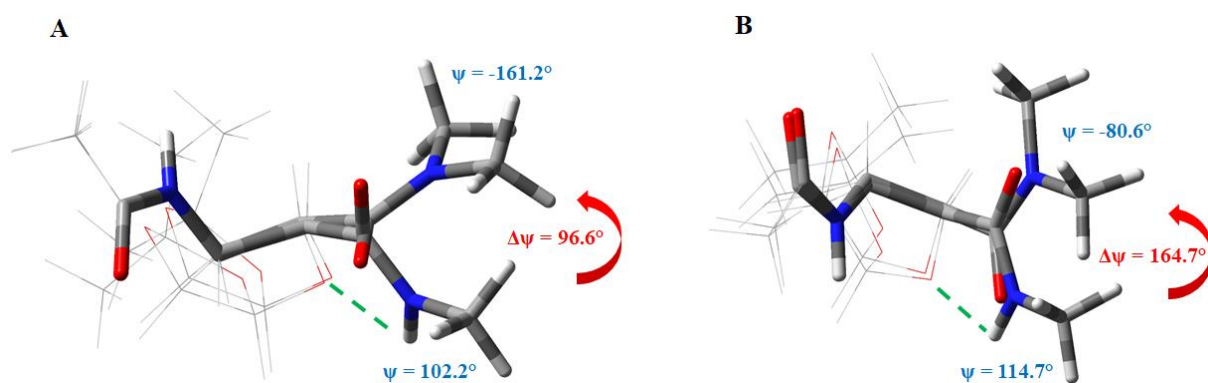


51. ábra A számolt és mért VCD spektrumok összehasonlítása az **51** és **54** vegyületekre. **A** és **D** a mért, $VCD^{mért}(\tilde{\nu})$ spektrumok; **B** és **E** az alacsony energiájú konformerek B3LYP/6-311+G(d,p) elméleti szinten számolt, $VCD_i^{számított}(\tilde{\nu})$ spektrumai (kék: *konf1*, piros: *konf2*, zöld: *konf3*); **C** és **F** az összegzéssel kapott $VCD^{számított}(\tilde{\nu})$ spektrumok, amelyekhez a súlyokat a **12. táblázat** tartalmazza (a magenta spektrum esetén a **54_konf1** és **54_konf3** súlya rendre 0,4 illetve 0,6 volt).

Az **51** és **54** $VCD^{mért}(\tilde{\nu})$ kísérleti spektrumait CH_3CN-d_3 -ban vettük fel és az amidkötés C=O nyújtását vizsgáltuk részletesen (**51. ábra**). A hozzá tartozó $VCD^{számított}(\tilde{\nu})$ spektrumot B3LYP/6-311+G(d,p) szinten számoltuk ugyancsak acetonitrilben. Az **51** molekula esetben kiváló az egyezés a mért és a számolt spektrumok között, ezért kijelenthetjük, hogy az Ac-RibAFU(ip)-NHMe (**51**) elsődlegesen zig-zag (Z_6^{*M}) szerkezetet vesz fel. Rosszabb az egyezés az **54** molekula esetén, amely két negatív amid I abszorpciót mutat 1688 és 1671 cm^{-1} -nél. Különösen 1685 cm^{-1} közelében van eltérés a mért és az *ab initio* spektrumok között, pontosan ott, ahol a **54_konf3** negatív sávval rendelkezik. Ez arra enged következtetni, hogy a valóságban

a *konf3* súlya nagyobb a termodinamikailag jósolt értéknél ($c_i = 2,0\%$). Az **54**_{*konf3*} súlyát 60%-ra növelve, illetve az **54**_{*konf1*}-ét 40%-ra csökkentve az egyezés jelentősen javul, így feltételezhetően az Ac-XylAFU(ip)-NHMe (**54**) acetonitrilben kevert szerkezetet vesz fel, a hélix (H_{18}^P) és a zig-zag (Z_8^P) keveréke.

A dimetil-modellekben (**57** és **60**) a H-kötés megszüntetése és a $-H \rightarrow -CH_3$ csere erősen torzítja a ψ diéderes szöget, ezért mind a konformáció típusának, mind pedig a VCD/ECD spektrumok jellegének megváltozását várjuk a megfelelő **51** és **54** modellekhez képest. Ahogy az **52. ábra** is mutatja a sztérikus gátlás megváltoztatja a C-terminális orientációját, vagyis a ψ torzió értéke **51** \rightarrow **57** esetén $96,6^\circ$ -ot, míg **54** \rightarrow **60** esetén $164,7^\circ$ -ot változik. Rögtön szembetűnik az is, hogy a *konf1* $d_{N...O}$ távolsága az **57** ($3,1 \text{ \AA}$), valamint a **60** ($3,7 \text{ \AA}$) esetben is jóval nagyobb, mint az ideális $2,4 \text{ \AA}$ érték (**13. táblázat**).



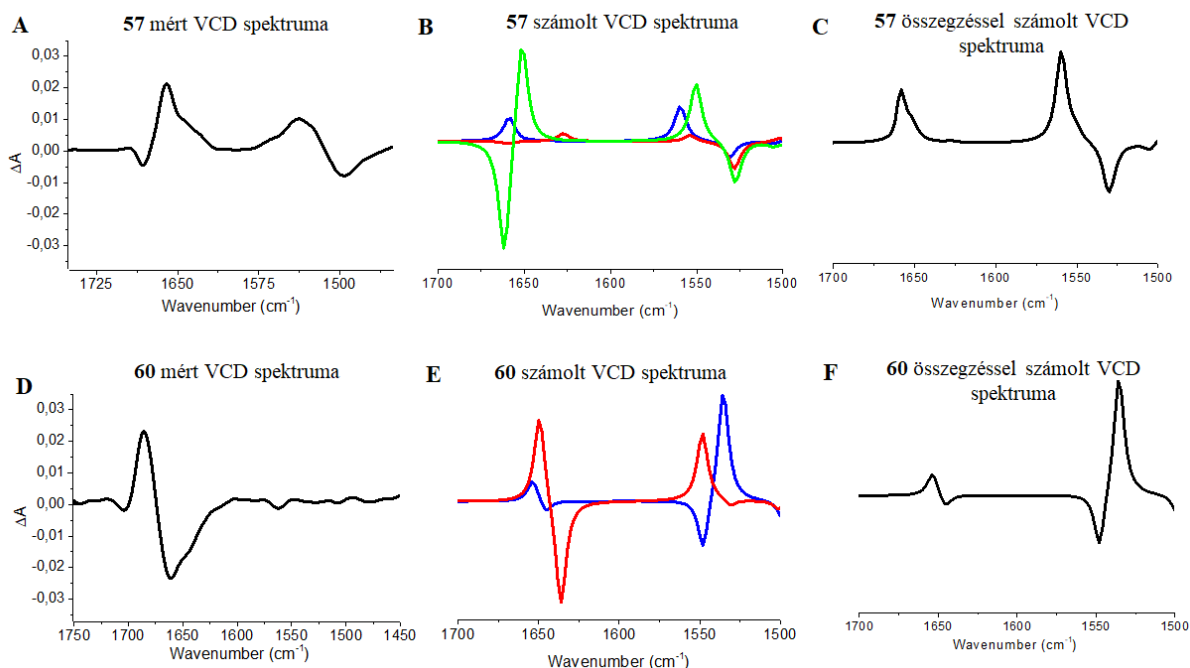
52. ábra A legstabilabb konformerek átfedése, **A: 51** és **57**, **B: 54** és **60** vegyületek esetén. Az **51** és **54** szerkezetek intramolekuláris H-kötéseit zöld szaggatott vonal jelöli, míg a piros nyíl mutatja a konformációs változást a H-kötés megszűnésének és a sztérikus gátlás létrejöttének hatására az **57** és **60** szerkezetekben.

Az **57** és **60** modellekre a konformerek energetikai és releváns szerkezeti paramétereit a **13. táblázat** foglalja össze. Az *ab initio* jósolt diéderes szögek alapján az Ac-RibAFU(ip)-NMe₂ (**57**) H_{14}^M típusú hélix, míg az Ac-XylAFU(ip)-NMe₂ (**60**) Z_6^{*P} zig-zag szerkezetet vesz fel. Az *ab initio* jósolt szerkezetet támasztja alá a *konf1* VCD₁^{számított}($\tilde{\nu}$) spektrumok kiváló egyezése a mért spektrumokkal az amid I régióban, amit az **53. ábra** szemléltet. A VCD₁^{számított}($\tilde{\nu}$) spektrumokat finomhangolva a minor komponensekkel, tovább javul az átfedés és szépen kirajzolódik a markáns pozitív sáv 1660 cm^{-1} -nél egy különálló vállal ($\sim 1640 \text{ cm}^{-1}$) az **57** molekula esetén, illetve **60** esetén egy jellegzetes negatív sávból ($\sim 1660 \text{ cm}^{-1}$) pozitívba ($\sim 1685 \text{ cm}^{-1}$) való átmenet.

13. táblázat A diamid-modellvegyületek (**57** és **60**) termokémiaailag legvalószínűbb konformereinek relatív szabad energiája (ΔG) és súlya (c) valamint kulcsfontosságú szerkezeti paraméterei a B3LYP/6-311+G(d,p) elméleti szinten számolva.

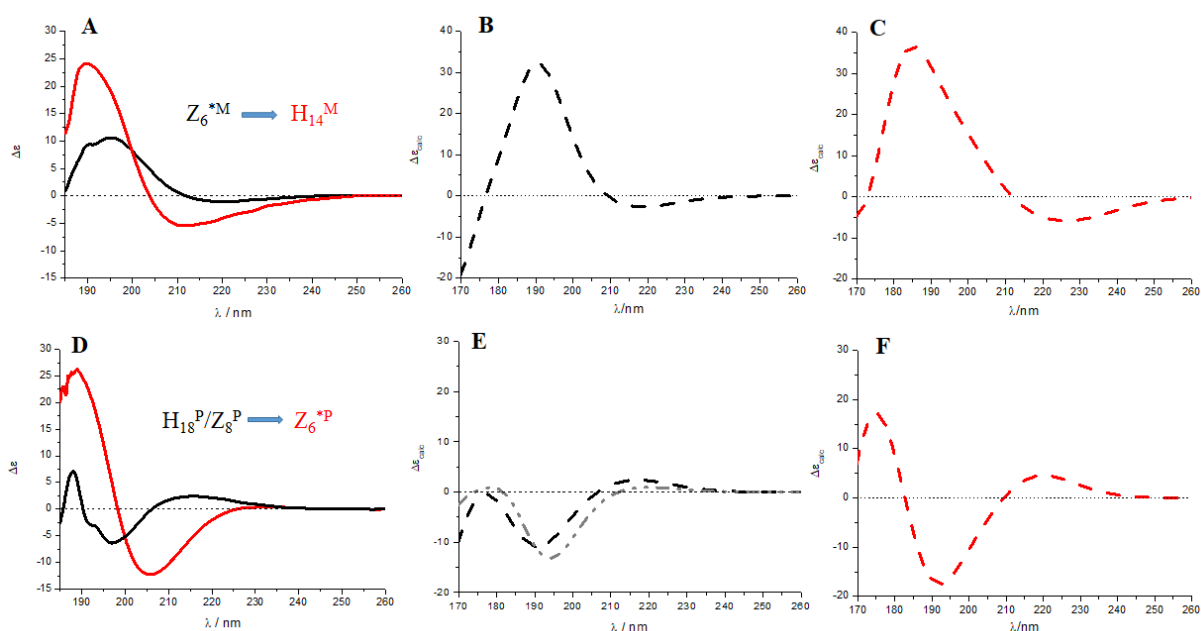
β -aminosav	ΔG (kJ/mol)	c (%)	$\varphi; \theta; \psi$ ($^\circ$)	$d_{N...O}$ (Å)	$d_{H...O}$ (Å)	α_{NHO} ($^\circ$)	Besorolás
Ac-RibAFU(ip)-NMe₂ (S,S) (57)							
<i>konf1</i>	0,0	88,8	-142,5; 82,7; -161,2	3,1	3,3	70,3	H ₁₄ ^M
<i>konf2</i>	6,64	6,1	-134,5; 73,9; 79,0	3,0	3,0	75,4	Z ₆ ^{*M}
<i>konf3</i>	7,09	5,1	-110,0; 83,1; -109,9	3,5	4,1	58,1	H ₁₂ ^P
Ac-XylAFU(ip)-NMe₂ (S,R) (60)							
<i>konf1</i>	0,0	99,9	141,8; -39,4; -80,6	3,7	4,3	54,0	Z ₆ ^{*P}
<i>konf2</i>	16,7	0,1	104,9; 41,7; -160,9	3,2	3,4	69,2	Z ₆ ^M

^aT = 298 K hőmérsékleten, Boltzmann-eloszlást feltételezve



53. ábra A számolt és mért VCD spektrumok összehasonlítása az **57** és **60** vegyületekre. **A** és **D** a mért $VCD^{mért}(\tilde{\nu})$ spektrumok; **B** és **E** az alacsony energiájú konformerek B3LYP/6-311+G(d,p) elméleti szinten számolt $VCD_i^{számított}(\tilde{\nu})$ spektrumai (kék: *konf1*, piros: *konf2*, zöld: *konf3*); **C** és **F** az összegzéssel kapott $VCD^{számított}(\tilde{\nu})$ spektrumok, amelyekhez a súlyokat a **13. táblázat** tartalmazza.

A modellvegyületek másodlagos szerkezetének végső validálásához, illetve $ECD^{mért}(\lambda)$ spektrumainak asszignációjához az $ECD^{számított}(\lambda)$ színeképeket kell kiszámolnunk, ami gyakran jelent kihívást. Az átmeneti energia meghatározásához az alap és gerjesztett elektron állapotok ismeretében leggyakrabban a TD-DFT módszert alkalmazzuk. Az foldamerépítő elemekben bekövetkező kis változás, mint például a -H cseréje -CH₃ csoportra komoly hatással van a kísérleti $ECD^{mért}(\lambda)$ spektrumra: a „*ribo*” modellek (**51** → **57**) esetén batokróm eltolódást tapasztaltunk, míg a „*xilo*” modelleknél (**54** → **60**) a spektrum alakjában és intenzitásában is változás következett be, ami az **54. ábrán** követhető. Az $ECD^{számított}(\lambda)$ spektrumok kielégítő szemikvantitatív egyezést mutatnak a megfelelő $ECD^{mért}(\lambda)$ mért spektrumokkal. Mindezek alapján a peptidgerinc amid csoportok reorientációja, **51** (Z_6^{*M}) → **57** (H_{14}^M) és **54** (H_{18}^P/Z_8^P) → **60** (Z_6^{*P}) megfeleltethető a kísérleti ECD spektrumban bekövetkező változásoknak.



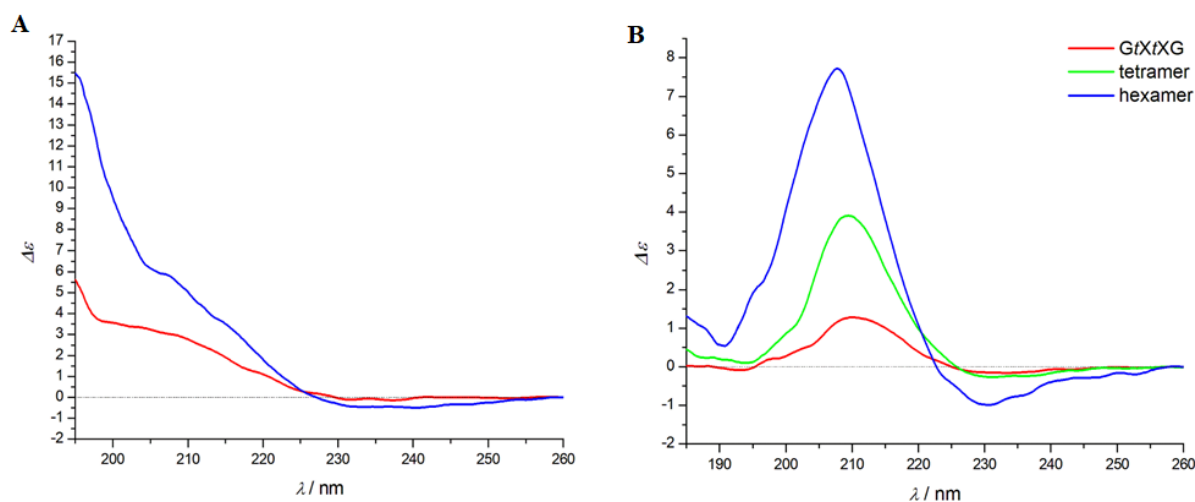
54. ábra A mért és számolt ECD spektrumok összehasonlítása a négy modellvegyületre. **A** és **D** a mért $ECD^{mért}(\lambda)$ spektrumok (**51**, **54**: fekete, illetve **57**, **60**: piros); **B**, **C**, **E** és **F** az összegzéssel kapott $ECD^{számított}(\lambda)$ spektrumok rendre a **51**, **57**, **54** és **60** vegyületekre, amelyekhez a súlyokat a **12.** és **13. táblázatok** tartalmazzák, kivéve az **E** panel szürke spektrumát, ahol az **54_konf1** 0,4-es, illetve az **54_konf3** 0,6-os súlytal lettek összegezve.

A saját modellvegyületek példáján bemutatott módszer alkalmas kísérleti VCD és ECD spektrumok asszignációjára, valamint szerkezet meghatározásra és mivel nem igényel komoly számítási kapacitást és/vagy bonyolult spektroszkópai műszerezettséget gyorsan a peptidkémia alapeszközévé válhat, mint az NMR vagy a röntgenkristallográfiás technikák [131].

4.6.2. Hetero- és homooligomerek vizsgálata ECD spektroszkópiával

Mind α -, mind β -peptidek esetén a tetramer a legkisebb oligomer, amelynek feltekeredési hajlamát vizsgálták. Dimerek vizsgálatára az irodalmi előzmények nem térnek ki, így az Fmoc-védett ribofurán-uronsavból (**1**) felépített homooligomerek (tetramer (**85**) és hexamer (**86**)) mellett a H-GtXtXG-OH (**79**) tetrapeptidit is érdemes volt megvizsgálni. A glicinnek ugyanis akirális molekula lévén nincs ECD hozzájárulása, így a kapott eredményekből a cukormolekulák szerkezet indukáló hatására lehet következtetni.

Az említett oligomerek esetén az ECD méréseket poláris oldószerekben, metanolban és vízben végeztem. Az irodalomban megtalálható β -peptidek ECD vizsgálata többnyire metanolban történt [22,33,96,99,100], ezért esetünkben is erre esett a választás. A vízben történő mérést pedig az oligomerek rendkívül jó vízoldhatósága tette lehetővé. Továbbá mindkét oldószer esetén hőmérsékletfüggő mérésekkel megvizsgáltam, hogy a hőmérséklet változása milyen hatással van a szerkezetre (lásd Függelék). Az oligomerek metanolban és vízben felvett spektrumait mutatja be az **55. ábra**.



55. ábra Az Fmoc-RibAFU(ip)-OH-t (**1**) tartalmazó oligomerek (H-GtXtXG-OH (**79**), tetramer (**85**) és hexamer (**86**)) ECD spektrumai, **A**: metanolban, **B**: vízben.

Ezen látható, hogy a vízben mért spektrumok karakterisztikusabbak, alakjuk a β -peptideknél látott spektrumokhoz hasonló. A hélix szerkezetre jellemző 190-210 nm között megjelenő π - π^* átmenet exciton felhasadása, valamint a 220 nm-nél jelentkező n- π^* átmenet gyenge negatív sávja vörös eltolódást szenvedtek. A spektrumok karakterisztikus értékeit a **14. táblázat** foglalja össze. Továbbá megfigyelhető, hogy minél több cukoramino sav egységet tartalmaz az oligomer, annál intenzívebb spektrumot kapunk. A hőmérsékletfüggő méréseket vízben 5-85

°C közötti tartományban, metanolban 5-65 °C között mértem 20 °C-onként. A kapott eredményekből az látszott, hogy 5 °C-on a szerkezet nagyfokú stabilitást mutat, majd a hőmérséklet emelkedésével a stabilitás egyre csökken (lásd Függelék).

14. táblázat A vizsgált oligomerek karakterisztikus ECD értékei metanolban és vízben.

Oldószer		λ (nm)		
		Minimum	Nullpont	Maximum
GtXtXG (79)	H ₂ O	192 ($\Delta\varepsilon = -0,1$) 233 ($\Delta\varepsilon = -0,2$)	195 225	210 ($\Delta\varepsilon = 1,3$)
	MeOH	237 ($\Delta\varepsilon = -0,1$)	230	-
tetramer (85)	H ₂ O	231 ($\Delta\varepsilon = -0,3$)	225	209 ($\Delta\varepsilon = 3,9$)
hexamer (86)	H ₂ O	230 ($\Delta\varepsilon = -1,0$)	223	208 ($\Delta\varepsilon = 7,7$)
	MeOH	237 ($\Delta\varepsilon = -0,5$)	227	-

Az ECD mérések során kapott eredmények alapján az mondhatjuk, hogy a cukoraminosavat tartalmazó oligomerek hasonló szerkezeti preferenciával rendelkeznek, mint a β -peptidek. Továbbá az eredmények iránymutatást adnak az NMR méréseket illetően. Mivel vízben karakterisztikusabb ECD spektrumokat kaptunk és az oligomerek kiváló vízoldhatósággal rendelkeznek, így célszerű az NMR méréseket ebben az oldószerben végrehajtani. A hőmérsékletfüggő mérések alapján pedig 5 °C-on legstabilabb a szerkezet, így ezt is érdemes lehet figyelembe venni az NMR mérések során.

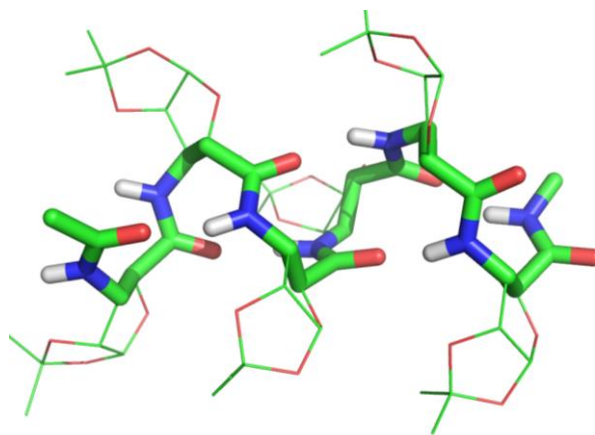
4.7. Homooligomerek vizsgálata 2D NMR spektroszkópiával

Peptidek, fehérjék térszerkezetének meghatározására az ECD spektroszkópia mellett a 2D NMR spektroszkópiát is alkalmazzák. Míg kis molekulák esetén egy egyszerű 1D proton spektrum csatolási állandói alapján megállapítható, hogy mely magok vannak kölcsönhatásba egymással, addig a nagyobb molekulák spektrumai bonyolultabbak a sok átfedő jel miatt. Ilyen esetekben a szelektív besugárzás sem megoldás a sok átfedés miatt, ez vezetett a 2D NMR mérések kifejlesztéséhez, amelyek segítségével, az egymással csatoló jelek könnyen és gyorsan meghatározhatók. A 2D méréseknek két nagy típusa van, a homo- és heteronukleáris mérések, aszerint, hogy azonos vagy különböző atomok közötti csatolást vizsgálunk [136].

Az irodalomban megtalálható β -peptidek esetén a térszerkezeti hajlamot többnyire homonukleáris, ^1H - ^1H csatolt COSY, TOCSY, ROESY és NOESY mérések segítségével határozták meg MeOH- d_3 -ban vagy CDCl_3 -ben. Ennek analógiára, az általam vizsgált oligomer esetén is ezen homonukleáris mérések segítségével kívántam meghatározni a szerkezetet. Így a továbbiakban ezen mérési módszerek alapjait szeretném bemutatni. A homonukleáris 2D mérések legegyszerűbb és legtöbbször használt típusa a COSY (*Correlation Spectroscopy*). A COSY spektrumban az egymástól 2-3 kötésre lévő, azaz geminális és vicinális protonok adnak keresztcsúcsot, tehát ezzel a módszerrel a szomszédos protonok határozhatók meg. A mérést általában célszerű kiegészíteni TOCSY (*Total Correlation Spectroscopy*) méréssel, ugyanis a COSY méréseknél szintén jelentkező probléma lehet a jelátfedés [136,137]. A TOCSY esetén az egy spinrendszerbe tartozó protonok keresztcsúcsai találhatók meg a spektrumban. Tehát ez a mérés egy nagyobb molekularész – esetemben az egyes furanóz gyűrűkhöz tartozó protonok – azonosítását teszi lehetővé [138,139]. A NOESY (*Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy*) és a ROESY (*Rotating Frame Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy*) méréseket pedig térszerkezetvizsgálatra használják. Segítségükkel a szekvenciáról és a térszerkezetről kaphatunk információkat. A nagyobb méretű biomolekulák esetén a NOESY-t, míg kismolekulák mérésére a ROESY-t alkalmazzák. A spektrumokban a térben közel eső, 5Å-nál kisebb távolságra lévő protonok keresztcsúcsai találhatók meg [138,139].

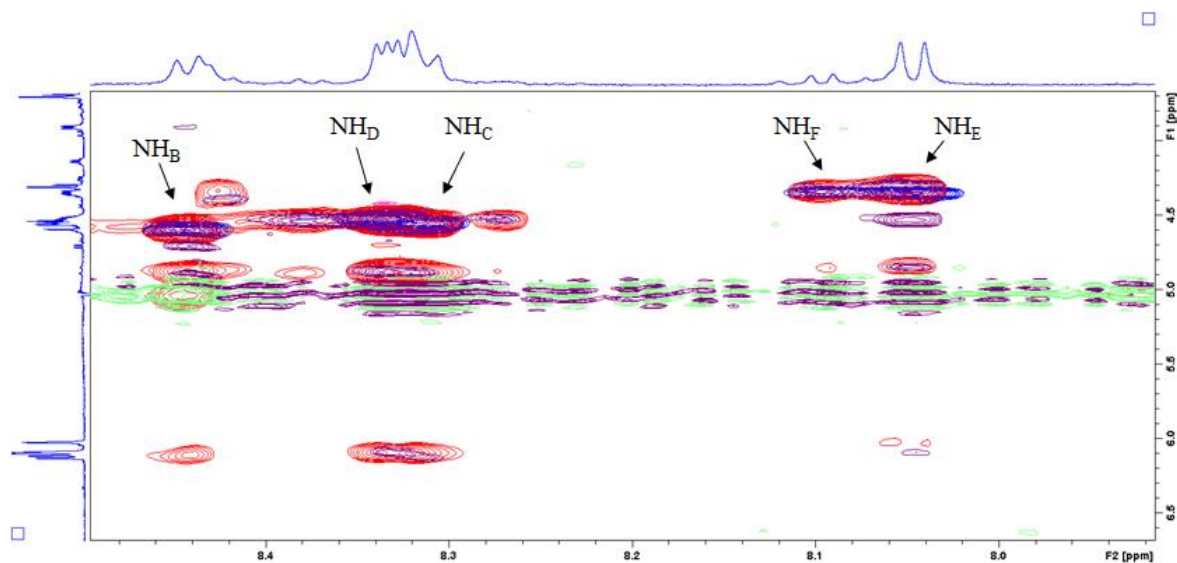
4.7.1. A hexamer (**86**) szerkezetvizsgálata

Az általam előállított homooligomerek közül elsőként a hexamer (**86**) vizsgálatába kezdtem. Előzetes *ab initio* DFT számítások azt jósolták, hogy a molekula jobbmenetes 12-hélix felvételére mutat hajlandóságot, ezt a szerkezeti elrendeződést mutatja az **56. ábra** [135].



56. ábra A $\text{H}-(t\text{X})_6\text{-OH}$ (**86**) homooligomer által preferált jobbmenetes 12-hélix szerkezet *ab initio* DFT számítások alapján a B3LYP/6-311++G(d,p) elméleti szinten [131].

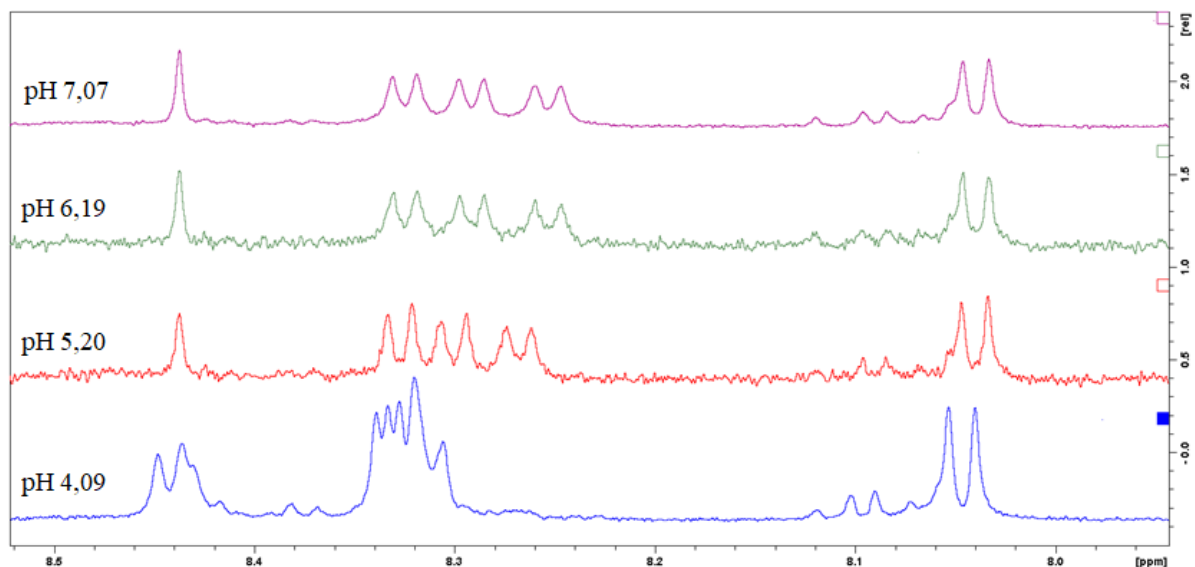
Az oligomer kiváló vízoldhatósága révén lehetőségem nyílt MeOH- d_3 mellett H₂O/D₂O rendszerben is elvégezni a ¹H-¹H csatolt 2D NMR méréseket, amelyeket 700 MHz-en, $c = 0,4$ mmol/dm³ koncentrációjú oldatban végeztem. A metanolban történő mérés esetén a kapott 2D spektrumok nem voltak informatívak. A koncentrációt $c = 1,8$ mmol/dm³-re növelve, hasonló eredményt kaptam, mint a hígabb koncentráció esetén. Az ECD mérések során a vízben felvett spektrum karakterisztikusabb volt, hasonló a β -peptidek spektrumához, így az NMR méréseket érdemes volt elvégezni vízben is. Ehhez 10% D₂O-t tartalmazó vizet használtam és az oldat pH-ját megmérve az pH = 4,09 volt. Elsőként ¹H spektrumokat vettünk fel az optimális mérési körülmények megtalálásához. A méréshez két hőmérsékletet, a 277 K-t és a 288 K-t teszteltük és az alacsonyabb hőmérséklet bizonyult jobbnak, ahogy azt a hőmérsékletfüggő ECD mérések is megmutatták. A 2D homonukleáris spektrumokat (COSY, TOCSY, ROESY és NOESY) tehát 277 K-en vettünk fel. A COSY, a TOCSY és a ROESY mérések amid tartománya látható az **57. ábrán**. A COSY és TOCSY mérések alapján sikerült azonosítani az egyes cukorkomponensekhez tartozó protonokat, a cukormolekulák sorrendjét pedig a ROESY spektrumból lehetett megállapítani (jelölésük A \rightarrow E az N-terminális irányából haladva), ugyanis a NOESY-hoz képest informatívabb volt.



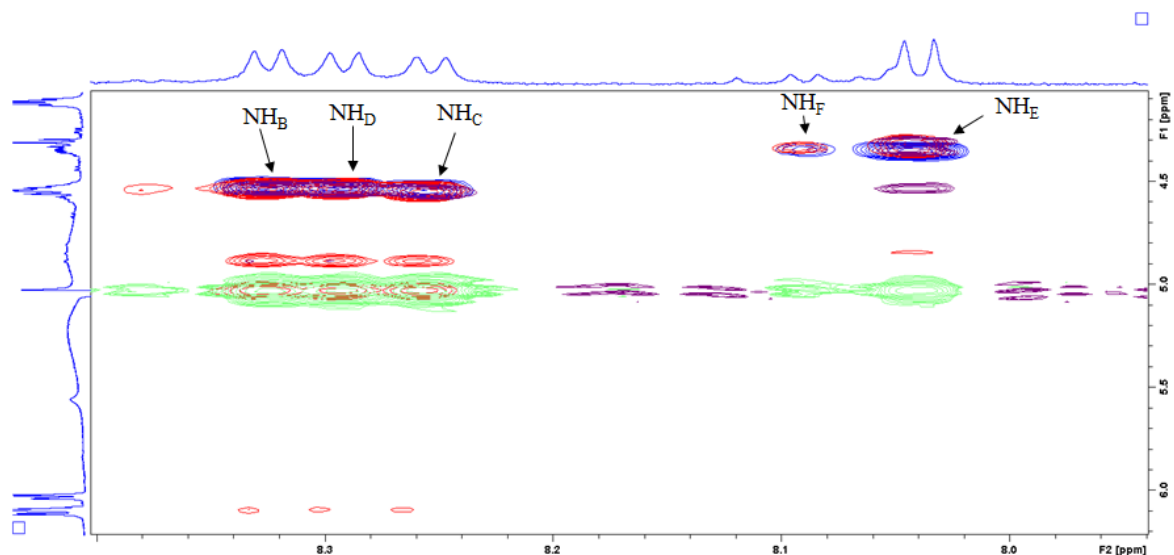
57. ábra A hexamer (**86**) COSY (kék), TOCSY (piros) és ROESY (lila) spektrumainak amid tartománya pH = 4,09 értéken és 277 K hőmérsékleten az egyes cukorgyűrűkhöz tartozó amid protonok jelölésével.

Az amid tartományban lévő protonok könnyebb asszignációja elérhető például a mérendő oldat pH-jának megváltoztatásával. Az optimális pH értéken ugyanis az amid protonok távolabb kerülhetnek egymástól és keskenyebb jelalakot vehetnek fel. Ehhez a

pH = 4,09-es oldat titrálásába kezdtem NaOH-oldattal és további három pH értéken – pH = 5,20, pH = 6,19 és pH = 7,07 – felvettük a proton spektrumokat. Ahogy az **58. ábra** is mutatja a pH növelésével sikerült elérnünk azt, hogy az amid protonok távolabb kerüljenek egymástól. Ilyen szempontból tehát a pH 7,07 bizonyult a legkedvezőbbnek a mérésekhez.



58. ábra A hexamer (**86**) ^1H NMR spektrumainak amid tartománya négy különböző pH értéken. A pH növelésének hatására az amid protonok távolabb kerülnek egymástól, ami megkönnyíti az asszignációt.



59. ábra A hexamer (**86**) COSY (kék), TOCSY (piros) és ROESY (lila) spektrumainak amid tartománya pH = 7,07 értéken és 277 K hőmérsékleten az egyes cukorgyűrűkhöz tartozó amid protonok jelölésével.

Ezek alapján megismételtük a 2D homonukleáris méréseket (COSY, TOCSY és ROESY) 277 K-en és pH = 7,07-en. A kapott spektrumok amid tartománya látható az **59. ábrán**, amely alapján ez esetben is sikerült azonosítani az egyes cukorkomponenseket.

A térszerkezet meghatározásában segítő ROESY spektrum azonban pH = 4,09 értéken mutatott térszerkezetre utaló keresztcsúcsokat, tehát ezen a pH-n a molekula nagyobb hajlandóságot mutat másodlagos szerkezet felvételére. Viszont ez esetben sem lehetett annyi ROE keresztcsúcsot kinyerni a spektrumból, hogy meghatározzuk a pontos térszerkezetet. A másodlagos térszerkezet bizonyítására a későbbiekben segítségünkre lehet a 4.6.1. fejezetben bemutatott VCD/ECD spektroszkópiákat illetve *ab initio* számítást kombináló módszerünk.

5. Kísérleti rész

5.1. Általános módszerek

A reakciókhoz felhasznált kiindulási anyagokat, reagenseket és oldószereket a Sigma-Aldrich, Merck, Reanal és VWR cégektől vásároltuk meg. Nedvességre érzékeny reakcióknál az oldószert előzőleg molekulaszitán szárítottam. A vékonyréteg-kromatográfiához Kieselgel 60F254 illetve Kieselgel 60 szilikagél lapokat használtam (Merck). Az előhívás UV detektálással, 5%-os kénsav oldattal roncsolva, illetve amino-származékok esetén klór-tolidines módszerrel, valamint ninhidrin-tesztel történt. A kromatográfiás tisztítást szívatásos flash-kromatográfiával illetve oszlopkromatográfiával végeztem Kieselgel szilikagél adszorbensen (0,040-0,063 mm; 0,063-0,200 mm; Merck). A szilárd anyagok olvadáspontját Boetius mikroszkóp típusú olvadáspont mérő készülékkel határoztam meg. Az MS mérések Bruker Esquire 3000+ típusú tandem kvadrupól detektorú tömegspektrométeren történtek, elektropray ionizációval, pozitív, illetve negatív módban. Az FTIR-felvételek BRUKER IFS 28 készülékkel készültek ATR technikával. Az ^1H -, ^{13}C -, ^{31}P -NMR mérések Bruker DRX-250 spektrométeren, a 2D NMR mérések (COSY, TOCSY, ROESY, NOESY) Bruker Avance-III 700 MHz-es készülékkel történtek CDCl_3 , D_2O , $\text{DMSO-}d_6$, $\text{DMF-}d_7$, $\text{MeOH-}d_3$ oldószerekben, 277, 288 vagy 293 K-en. A deuterált oldószereket a Sigma-Aldrich-től vásároltuk meg. A felvett spektrumok kiértékelése TopSpin 3.2. illetve CcpNmr programmal történt. A termékekről RP-HPLC kromatogramok Phenomenex Jupiter C18 (150 x 4,6 mm, 5 mikron, 110 Å) oszlopon készültek, mozgófázis TFA-t tartalmazó (0,1 V/V%) H_2O /acetonitril elegy volt. A peptidok tisztítására Phenomenex Jupiter C18 (250 x 10 mm, 5 mikron, 300 Å) oszlopot használtam. A peptidkapcsolások során a kapcsolat sikerességét Kaiser-tesztel ellenőriztem. Fmoc-technikánál a gyantakapacitást Jasco V-660 spektrofotométerrel határoztam meg 301 nm-en. Az ECD spektrumokat Jasco J-810 spektrofotométerrel vettem fel, szobahőmérsékleten 0,2 mm rétegvastagságú kvarc küvettában. A minták 1 mg/ml koncentrációjúak voltak, oldószerként 2x desztillált vizet és metanolt (Uvasol, Merck) használtam. A spektrumokat 185-260 nm hullámhossz tartományban vettem fel, a háttérkorrekciót és a simítást mozgóátlagok módszerével végeztem el. A VCD spektrumokat Bruker PMA 37 VCD/PM-IRRAS modullal vettem fel, ami egy Equinox 55 FTIR spektrométerhez volt csatlakoztatva, amelynek a felbontása 4 cm^{-1} . A minták 10 mg/ml koncentrációjúak voltak, oldószerként acetonitrilt (Uvasol, Merck) használtam.

5.2. Reagensek és kiindulási anyagok előállítása

5.2.1. *N,N'*-Szulfuril-diimidazol (**90**) [140]

Az imidazolt (160 g; 2,35 mol) szárított DCM-ben (1640 ml) oldottam, majd 0 °C-ra hűtöttem. Ar atmoszféra alatt a reakcióelegyhez csepegtettem szulfuril-klorid (40 ml) DCM-el (180 ml) készült oldatát úgy, hogy a hőmérséklet 0 °C körül maradjon. A szulfuril-klorid tartalmú csepegtetőtölcsért még DCM-el (100 ml) átmostam. A reakcióelegyet 16 órán át kevertettem. A kivált imidazol-hidroklorid söt leszűrtem, majd a szerves fázist bepároltam. A kapott nyersterméket izopropanolból (700 ml) kristályosítottam át. A termék (**90**) fehér, kristályos anyag. Termelés: 63,4 g (65%). $R_f = 0,8$ (EtOAc–hexán 1:1); o.p.: 138-140 °C; ir. [140]: o.p.: 141 °C.

5.2.2. 1,2:5,6-Di-*O*-izopropilidén- α -D-glükofuranóz (**6**)

α -D-Glükózból (**5**) (100 g; 0,55 mol) kiindulva Schmidt módszerével [41] állítottam elő a célvegyületet. A termék (**6**) fehér, kristályos anyag. Termelés: 79,8 g (55%). $R_f = 0,74$ (hexán–EtOAc 1:2); o.p.: 112-113 °C; ir. [41]: o.p.: 110 °C.

5.2.3. 1,2:5,6-Di-*O*-izopropilidén- α -D-allofuranóz (**22**)

I) Oxalil-klorid (15 ml; 0,17 mol) és száraz DCM (210 ml) elegyét –80 °C-ra hűtöttem, majd száraz DCM-ben (60 ml) oldott DMSO-t (24,5 ml; 0,35 mol) csepegtettem hozzá. A reakcióelegyet 15 percig kevertettem –80 °C-on. Ezt követően csepegtettem a reakcióelegyhez az 1,2:5,6-di-*O*-izopropilidén- α -D-glükofuranóz (**6**) (15,0 g; 57,60 mmol) DCM-el (450 ml) készített oldatát, majd kevertettem 1,5 órán át –80 °C-on. Majd trietil-amint (60,6 ml; 0,43 mol) csepegtettem az elegyhez úgy, hogy a hőmérséklet –70 °C-on maradjon. Végezetül NaBH₄ (4,4 g; 0,12 mol) EtOH–H₂O 4:1-ben (300 ml) készült oldatát adagoltam az elegyhez –40 - –60 °C között tartva a hőmérsékletet. A reakcióelegyet DCM-el (3 × 100 ml) extraháltam, a szerves fázist Na₂SO₄-on szárítottam, majd bepároltam. A nyersterméket ciklohexánból kristályosítva fehér, kristályos anyagot (**22**) kaptam. Termelés: 12,0 g (80%). $R_f = 0,65$ (EtOAc–petroléter 2:1); o.p.: 74-76 °C; ir. [Sigma Aldrich]: o.p.: 73-76 °C.

II) Az 1,2:5,6-di-*O*-izopropilidén- α -D-glükofuranózt (**6**) (5,0 g; 19,20 mmol) acetonitrilben (20 ml) oldottam. TEMPO-t (0,75 g; 4,80 mmol) és BAIB-ot (15,0 g; 46,60 mmol) adtam az oldathoz és szobahőmérsékleten kevertettem 4 napot. Ezt követően a reakcióelegyet hígítottam acetonitrillel (100 ml), majd extraháltam Na₂S₂O₃-oldattal (2 × 20 ml). A Na₂S₂O₃-os fázist extraháltam acetonitrillel (5 × 5 ml). A szerves fázist ezután extraháltam NaHCO₃-oldattal (2 ×

5 ml), NaCl-oldattal (2 × 5 ml), majd MgSO₄-on szárítottam és bepároltam. A nyers ketont (**44**) EtOH–H₂O 10:1-ben (76 ml) oldottam és 0 °C-on NaBH₄-et (1,7 g; 43,90 mmol) adagoltam hozzá. 1 óra reakcióidőt követően a vizes oldatot kloroformmal (4 × 20 ml) extraháltam, majd a kloroformot MgSO₄-on szárítottam és a szárítószer szűrését követően bepároltam. A nyersterméket ciklohexánból kristályosítva fehér, kristályos anyagot (**22**) kaptam. Termelés: 3,0 g (60%). A termék spektrális és kromatográfiás adatai megegyeztek az I) eljárásban kapott anyaggal.

5.3. Az 1,2-*O*-izopropilidén-*N*-(9-fluorenil-metoxi-karbonil)-3-amino-3-dezoxi- α -*D*-ribofurán-uronsav (1) és az 1,2-*O*-izopropilidén-*N*-(9-fluorenil-metoxi-karbonil)-3-amino-3-dezoxi- α -*D*-xilofurán-uronsav (2) szintézise

A célvegyületek szintézisét többször elvégeztem. A számos kísérlet közül minden esetben egy kis- és egy nagytételű reakciót mutatok be.

5.3.1. 1,2:5,6-Di-*O*-izopropilidén-3-*O*-(*N*-imidazol-1-szulfonil)- α -*D*-glükofuranóz (10)

I) Az 1,2:5,6-di-*O*-izopropilidén- α -*D*-glükofuranózt (**6**) (1,0 g; 4,00 mmol) DMF-ben (20 ml) oldottam, 0 °C-ra hűtöttem, majd N₂ atmoszféra alatt NaH-et (0,14 g; 6,00 mmol) adagoltam az elegyhez. A szuszpenziót 30 percig kevertettem, majd –35 - –40 °C-ra hűtöttem. *N,N'*-szulfuril-diimidazol-t (1,2 g; 6,00 mmol) DMF-ben (12 ml) oldottam és a reakcióelegyhez csepegtettem, majd 30 percig kevertettem –40 °C-on. MeOH-t (0,8 ml) adtam a reakcióelegyhez majd újabb 30 percig kevertettem –40 °C-on. A reakcióelegyet jeges vízre (200 ml) öntöttem, a kiváló anyagot szűrtem, hideg vízzel mostam. A termék (**10**) fehér, kristályos anyag. Termelés: 1,2 g (80%). *R*_f = 0,70 (EtOAc–hexán 1:1); o.p.: 97-98 °C; ir. [55]: o.p.: 98-99 °C.

II) Megismételve a reakciót (25,0 g; 96,00 mmol) kiindulási anyagból (**6**) a termelés 84% (31,5 g).

5.3.2. 1,2:5,6-Di-*O*-izopropilidén-3-*O*-(*N*-imidazol-1-szulfonil)- α -*D*-allofuranóz (45)

I) Az 1,2:5,6-di-*O*-izopropilidén- α -*D*-allofuranózból (**22**) (1,0 g; 4,00 mmol) kiindulva a reakciót a *glüko*-származék (**6**) reakciójával analóg módon végeztem. A feldolgozásnál, a jeges vízre öntésnél nem vált ki szilárd anyag, így a vizes fázist extraháltam dietil-éterrel (4 × 60 ml). Az egyesített szerves fázisokat desztillált vízzel (1 × 30 ml) extraháltam, MgSO₄-on

szárítottam, majd bepároltam. A termék (**45**) színtelen olaj. Termelés: 1,4 g (87%). $R_f = 0,40$ (EtOAc–hexán 1:1); ESI-MS: 391,2 $[M+H]^+$, számolt: 390,4 m/z.

II) Megismételve a reakciót (25,0 g; 96,00 mmol) kiindulási anyagból (**22**) a termelés 80% (30,0 g).

5.3.3. 1,2:5,6-Di-*O*-izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-allofuranóz (**11**)

I) Az 1,2:5,6-di-*O*-izopropilidén-3-*O*-(*N*-imidazol-1-szulfonil)- α -D-glükofuranózt (**10**) (1,1 g; 2,80 mmol) toluolban (33 ml) oldottam. Az oldathoz szobahőmérsékleten kevertetve NaN_3 -ot (0,55 g; 8,50 mmol; 3 ekv.) és tetra-*N*-butilammónium-bromidot (2,7 g; 8,40 mmol; 3 ekv.) adtam. A reakcióelegyet szobahőmérsékleten kevertettem 30 percet, majd 80 °C-on 10 órát. A reakció előre haladtát VRK-val (hexán–EtOAc 3,5:1) követtem. A reakció lejátszódását követően a keletkező eliminációs melléktermék (**12**) eltávolítására KMnO_4 -oldatot (0,45 g; 1 ekv.) adtam az elegyhez és 5 órán át kevertettem szobahőmérsékleten. Ezt követően a szerves fázist, amely már csak a kívánt terméket (**11**) tartalmazta desztillált vízzel mostam (2×10 ml). A szerves fázist Na_2SO_4 -on szárítottam, bepároltam. A termék (**11**) színtelen olaj. Termelés: 0,42 g (52%). $R_f = 0,53$ (hexán–EtOAc 3,5:1); FTIR-ATR: ν_{max} : 2106 (νN_3) cm^{-1} .

II) Megismételve a reakciót (31,5 g; 80,80 mmol) kiindulási anyagból (**10**) a termelés 62% (14,3 g).

III) 1,2:5,6-Di-*O*-izopropilidén-3-*O*-(*N*-imidazol-1-szulfonil)- α -D-glükofuranózból (**10**) (0,30 g; 0,77 mmol) kiindulva a reakció az I) pontban leírtakkal analóg módon történt úgy, hogy oldószerként toluol helyett DMSO-t alkalmaztam. A reakció 120 °C-on 10 óra alatt játszódott le. A nyerstermék a kívánt termék (**11**) és az eliminációs melléktermék (**12**) keveréke volt, amelyet oszlopkromatográfiával tisztítottam meg (állófázis: szilikagél, mozgófázis: hexán–aceton 14:1). A termék (**11**) színtelen olaj, termelés: 0,16 g (72%). A melléktermék (**12**) fehér szilárd anyag, termelés: 0,04 g (20%). $R_f = 0,75$ (hexán–EtOAc 3,5:1); o.p.: 49-50 °C; ir. [53]: o.p.: 51 °C.

5.3.4. 1,2:5,6-Di-*O*-izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-glükofuranóz (**26**)

I) 1,2:5,6-Di-*O*-izopropilidén-3-*O*-(*N*-imidazol-1-szulfonil)- α -D-allofuranózból (**45**) (1,4 g; 3,50 mmol) kiindulva a reakció a *glüko*-származék (**10**) reakciójával analóg történt, de ebben az esetben eliminációs melléktermék nem keletkezett. A reakció 80 °C-on 8 óra alatt játszódott le. A kivált NaBr -ot leszűrtem. A szerves fázist extraháltam desztillált vízzel (5×10 ml), telített NaCl -oldattal (1×20 ml), MgSO_4 -on szárítottam, majd bepároltam. A termék (**26**) színtelen

olaj. Termelés: 0,89 g (90%). $R_f = 0,83$ (EtOAc–hexán 1:1); FTIR-ATR: ν_{\max} : 2111 (ν N₃) cm⁻¹.

II) Megismételve a reakciót (30,0 g; 76,90 mmol) kiindulási anyagból (**45**) a termelés 88% (21,9 g).

5.3.5. 1,2-*O*-Izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-allofuranóz (**14**)

I) Az 1,2:5,6-di-*O*-izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-allofuranózt (**11**) (2,7 g; 9,60 mmol) ecetsavban (44 ml, 75%) oldottam. A reakcióelegyet szobahőmérsékleten állni hagytam 2 napot. Ezután bepároltam, majd többször etanolt és etil-acetátot pároltam le róla, míg már nem volt ecetsav szaga. A nyers termék VRK alapján keverék, amit oszlopkromatográfiával tisztítottam (állófázis: szilikagél, mozgófázis: EtOAc–hexán 2:1). A termék (**14**) fehér kristályos anyag. Termelés: 2,2 g (92%). $R_f = 0,54$ (EtOAc); o.p.: 76-78 °C; ir.[141] o.p.: 75-76 °C; FTIR-ATR: ν_{\max} : 3500 és 3358 (ν OH), 2100 (ν N₃) cm⁻¹.

II) Megismételve a reakciót (14,0 g; 49,10 mmol) kiindulási anyagból (**11**) a termelés 90% (10,8 g).

III) Az 1,2-*O*-izopropilidén-3-*O*-toluolszulfonil- α -D-glükofuranózt (**36**) (0,50 g; 1,30 mmol) DMSO-ban (1,8 ml) oldottam. Kevertetés közben NaN₃ (0,35 g; 5,20 mmol; 4 ekv.) DMSO-val (9,4 ml) készült oldatát csepegtettem hozzá, majd kevertetem 135 °C-on 29 órát. A reakcióelegyet jeges vízre öntöttem (15 ml) és extraháltam EtOAc-tal (7 × 3 ml). Az egyesített szerves fázisokat NaCl-oldattal (1 × 5 ml) extraháltam, Na₂SO₄-on szárítottam, majd bepároltam. A nyers termék a főtermék (**14**) mellett tartalmazta az eliminációs mellékterméket (**37**) is. A nyers terméket oszlopkromatográfiával tisztítottam (állófázis: szilikagél, mozgófázis: EtOAc–hexán 2:1). A termék (**14**) fehér kristályos anyag. Termelés: 0,11 g (36%). A termék spektrális és kromatográfiai adatai megegyeznek az I) eljárásban kapott anyaggal. A melléktermék (**37**) halványsárga olaj (0,006 g; 2%).

5.3.6. 1,2-*O*-Izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-glükofuranóz (**46**)

I) Az 1,2:5,6-di-*O*-izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-glükofuranózból (**26**) (10,0 g; 35,00 mmol) kiindulva reakció az *allo*-származék (**11**) reakciójával analóg történt. A reakció szobahőmérsékleten 1 nap alatt játszódott le. Az oszlopkromatográfiai tisztítást követően kapott termék (**46**) fehér kristályos anyag. Termelés: 5,4 g (67%). $R_f = 0,35$ (hexán–EtOAc 1:1); o.p.: 82-85 °C; ir. [142] o.p.: 83-84 °C; FTIR-ATR: ν_{\max} : 3404 (ν OH), 2102 (ν N₃) cm⁻¹.

II) Megismételve a reakciót (21,0 g; 73,70 mmol) kiindulási anyagból (**26**) a termelés 65% (11,7 g).

III) Az 1,2-*O*-izopropilidén-3-*O*-toluolszulfonil- α -D-allofuranózt (**47**) (0,50 g; 1,30 mmol) DMSO-ban (1,8 ml) oldottam. Kevertetés közben NaN_3 (0,52 g; 7,90 mmol; 6 ekv.) DMSO-val (9,4 ml) készült oldatát csepegtettem hozzá majd kevertetem 135 °C-on 28 órát. A reakcióelegyet jeges vízre öntöttem (15 ml) és extraháltam EtOAc-tal (6 \times 3 ml). Az egyesített szerves fázisokat NaCl-oldattal (1 \times 5 ml) extraháltam, Na_2SO_4 -on szárítottam, majd bepároltam. A termék (**46**) fehér, kristályos anyag. Termelés: 0,09 g (28%). A termék spektrális és kromatográfias adatai megegyeznek az I) eljárásban kapott anyaggal.

5.3.7. 1,2-*O*-Izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-ribofuran-uronsav (**13**)

I) Az 1,2-*O*-izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-allofuranózt (**14**) (0,89 g; 3,70 mmol) feloldottam metanol–desztillált víz 6:4 (10,5 ml) elegyében. Az oldatot jeges-vizes fürdővel 0 °C-ra hűtöttem és kevertetés közben lassan belecsepegtettem a NaIO_4 (0,88 g; 4,10 mmol) desztillált vízzel (6,3 ml) készített oldatát. A reakcióelegyet 0 °C-on fél órát kevertetem, majd állni hagytam 1 napot. Ezt követően metanolt (15 ml) adtam hozzá, így is állni hagytam 0 °C-on 2 órán át. A kivált szervesen sókat leszűrtem, metanollal többször mostam, majd a szűrletet bepároltam. A nyers termék halványsárga kristályos anyag.

A nyers terméket feloldottam ecetsavban (50%, 18 ml). Az oldatot jeges-vizes fürdővel 0 °C-ra hűtöttem, majd kevertetés közben lassan hozzácsepegtettem a KMnO_4 (0,83 g; 5,20 mmol) desztillált vízzel (16 ml) készült oldatát. A reakcióelegyet 0 °C-on kevertetem, majd 0 °C-on állni hagytam 2 napot. A kivált MnO_2 -ot leszűrtem, majd a szuszpenziós oldathoz Na_2SO_3 -oldatot csepegtettem, míg a MnO_2 barna színe eltűnt. Ezután a pH-t 2M-os sósav-oldattal pH 2-3 értékre állítottam. Az oldatot etil-acetáttal (6 \times 10 ml) extraháltam, majd a savas-vizes oldatot szilárd NaCl-dal telítettem és ismét extraháltam etil-acetáttal (1 \times 10 ml). Az egyesített szerves fázisokat telített NaCl-oldattal (2 \times 15 ml) extraháltam, majd MgSO_4 -on szárítottam és bepároltam. A kapott nyers terméket EtOAc–hexán elegyből kristályosítottam. A termék (**13**) fehér kristályos anyag. Termelés: 0,74 g (88% a 2 lépésre). $R_f = 0,44$ (CHCl_3 –MeOH 3:2); o.p.: 110-112 °C; ir. [143] o.p.: 107-108 °C; FTIR-ATR: ν_{max} : 3500-2400 (v COOH), 2107 (v N_3), 1736 (v C=O) cm^{-1} ; ESI-MS: 228,2 [M-H]⁻, számolt: 229,2 m/z; ¹H NMR (CDCl_3 , 250 MHz) $\delta = 7,92$ (br s, 1H), 5,87 (d, $J = 3,1$ Hz, 1H), 4,72 (br m, $J = 4,2$ Hz, 1H), 4,55 (d, $J = 9,5$ Hz, 1H), 3,68 (dd, $J = 4,2$ Hz, $J = 9,5$ Hz, 1H), 1,53 (s, 3H), 1,32 (s, 3H) ppm.

II) Megismételve a reakciót (10,0 g; 40,80 mmol) kiindulási anyagból (**14**) a termelés 80% (7,5 g).

5.3.8. 1,2-*O*-Izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-xilofurán-uronsav (27)

I) Az 1,2-*O*-izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-glükofuranózból (**46**) (5,0 g; 20,00 mmol) kiindulva a reakció az *allo*-származék (**14**) reakciójával analóg történt. A kétlépéses oxidáció első lépése 0 °C-on 1 nap, a második lépése 2 nap alatt játszódott le. A termék (**27**) színtelen olaj. Termelés: 3,8 g (82% a két lépésre). $R_f = 0,11$ (hexán–EtOAc 1:4); FTIR-ATR: ν_{\max} : 3462 (ν OH), 2108 (ν N₃), 1735 (ν C=O) cm⁻¹; ESI-MS: 228.2 [M-H]⁻, számolt: 229.2 m/z.

II) Megismételve a reakciót (10,0 g; 40,80 mmol) kiindulási anyagból (**46**) a termelés 78% (7,3 g).

5.3.9. 1,2-*O*-Izopropilidén-3-amino-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronsav (3)

Az 1,2-*O*-izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronsavat (**13**) (0,50 g; 2,20 mmol) metanolban (62 ml, $c = 35$ mmol/l) oldottam. Katalitikus hidrogénezéssel redukáltam H-Cube Mini[®] készülékkel 10% Pd/C katalizátort alkalmazva (paraméterek: 60 °C, 10 bar, 0,2 ml/perc áramlási sebesség). A reakció végeztével az elegyet bepároltam. A termék (**3**) drapp szilárd anyag. Termelés: 0,37 g (84%). $R_f = 0,51$ (CHCl₃–MeOH 3:2); o.p.: 202-203 °C; FTIR-ATR: ν_{\max} : 3170 (ν NH₃⁺), 2750-2460 és 2170-1900 diffúz (ν NH₃⁺), 1605 (ν COO⁻) cm⁻¹; ESI-MS: 204,1 [M+H]⁺, számolt: 203,2 m/z. ¹H NMR (D₂O, 250 MHz) $\delta = 6,04$ (d, $J = 3,7$ Hz, 1H), 4,97 (t, $J = 4,60$ Hz, 1H), 4,43 (d, $J = 10,10$ Hz, 1H), 3,68 (dd, $J = 4,60$ Hz, $J = 10,10$ Hz, 1H), 1,58 (s, 3H), 1,39 (s, 3H) ppm.

5.3.10. 1,2-*O*-Izopropilidén-3-amino-3-dezoxi- α -D-xilofurán-uronsav (4)

Az 1,2-*O*-izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-xilofurán-uronsavból (**27**) (0,50 g; 2,20 mmol) kiindulva a reakció a *ribo*-származék (**13**) reakciójával analóg történt. A reakció szobahőmérsékleten 2 nap alatt játszódott le. A termék (**4**) halványsárga olaj. Termelés: 0,35 g (80%). $R_f = 0,50$ (CHCl₃–MeOH 3:2); FTIR-ATR: ν_{\max} : 2977, 2465 (ν COOH), 1637 (ν COO⁻), 1560, 1377 (ν_{as} COO⁻, δ_{s} CH₃) cm⁻¹; ESI-MS: 204,2 [M+H]⁺, számolt: 203,2 m/z. ¹H NMR (D₂O, 250 MHz) $\delta = 5,97$ (d, $J = 3,83$ Hz, 1H), 4,79 (d, $J = 3,85$ Hz, 1H), 4,65 (1H), 3,86 (d, $J = 3,95$ Hz, 1H), 1,39 és 1,21 (s, 6H) ppm.

5.3.11. 1,2-*O*-Izopropilidén-*N*-(9-fluorenil-metoxi-karbonil)-3-amino-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronsav (1)

I) Az 1,2-*O*-izopropilidén-3-amino-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronsavat (**3**) (0,50 g; 2,46 mmol) metanol–víz 2:1 (16,5 ml) elegyben oldottam. Az oldat pH-ját telített NaHCO₃-oldattal pH 8-ra állítottam, majd Fmoc-OSu (0,93 g; 2,75 mmol; 1.1 eqv.) THF-es (17 ml) oldatát

csepegtettem hozzá. A reakcióelegyet 48 órán át szobahőmérsékleten kevertettem. Az oldószereket lepároltam róla, a maradékot vízben oldottam és extraháltam EtOAc-tal (3 × 20 ml). Az egyesített szerves fázisokat telített NaHCO₃-oldattal (1 × 20 ml) mostam, majd a vizes fázis pH-ját pH 1-re állítottam 2M HCl-oldattal és extraháltam EtOAc-tal (3 × 20 ml). A második szerves fázist extraháltam NaCl-oldattal (1 × 20 ml), szárítottam MgSO₄-on, majd bepároltam. A termék (**1**) hexánból kristályosodó fehér, kristályos anyag. Termelés: 0,53 g (75%). $R_f = 0,50$ (EtOAc–metanol 4:1); o.p.: 70–72 °C; FTIR-ATR: ν_{\max} : 3500–2400 (v COOH), 3349 (v NH), 1719 (v C=O), 1691 (v aromás), 1600 (amid I), 1523 (amid II) cm⁻¹; ESI-MS: 426,2 [M+H]⁺, számolt: 425,2 m/z. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 250 MHz) $\delta = 7,74$ (m, 4H), 7,36 (m, 4H), 5,85 (d, $J = 3,29$ Hz, 1H), 4,61 (m, 1H), 4,28 (m, 4H), 4,06 (m, 1H), 1,46 (s, 3H), 1,26 (s, 3H) ppm.

II) Desztillált vízhez (4 ml) keverés közben NaHCO₃-ot (0,17 g; 2,02 mmol; 2 ekv.) adtam. 5–10 °C-ra hűtöttem majd hozzáadtam az 1,2-*O*-izopropilidén-3-amino-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronsavat (**3**) (0,20 g; 1,00 mmol). Ezt követően acetonban (2 ml) szuszpendált Fmoc-OSu-t (0,34 g; 1,00 mmol; 1 ekv.) adtam hozzá 10–15 °C-on. A reakcióelegyet szobahőmérsékleten kevertettem 48 órát. A feldolgozás az előző reakcióval analóg történt. Termelés: 0,17 g (40%). A termék spektrális és kromatográfiás adatai megegyeznek az I) eljárásban kapott anyaggal.

III) Desztillált vízhez (2,6 ml) keverés közben NaHCO₃-ot (0,16 g; 1,90 mmol; 1,5 ekv.) adtam. Szobahőmérsékleten hozzáadtam az 1,2-*O*-izopropilidén-3-amino-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronsavat (**3**) (0,26 g; 1,30 mmol). Ezt követően dioxánban (2,6 ml) oldott Fmoc-OSu-t (0,47 g; 1,40 mmol; 1,1 ekv.) adtam hozzá, majd szilárd NaHCO₃ hozzáadásával a pH-t 8-ra állítottam. A reakcióelegyet szobahőmérsékleten kevertettem 48 órát. A feldolgozás az előző reakcióval analóg történt. Termelés: 0,20 g (38%). A termék spektrális és kromatográfiás adatai megegyeznek az I) eljárásban kapott anyaggal.

5.3.12. 1,2-*O*-Izopropilidén-*N*-(9-fluorenil-metoxi-karbonil)-3-amino-3-dezoxi- α -D-xilofurán-uronsav (**2**)

Az 1,2-*O*-izopropilidén-3-amino-3-dezoxi- α -D-xilofurán-uronsavból (**4**) (0,13 g; 0,64 mmol) kiindulva a reakció a *ribo*-származék (**3**) I) reakciójával analóg történt. A termék (**2**) hexánból kristályosodó fehér, kristályos anyag. Termelés: 0,13 g (49%). $R_f = 0,52$ (EtOAc–metanol 4:1); o.p.: 75–76 °C; FTIR-ATR: ν_{\max} : 3500–2400 (v COOH), 1719 (broad, v C=O, v aromás, amid I), 1519 (amid II) cm⁻¹; ESI-MS: 426,2 [M+H]⁺, számolt: 425,2 m/z. ¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz) $\delta = 7,55$ (m, 3H), 7,30 (átfedés van a CDCl₃ jelével), 6,08 (d, $J = 3,07$ Hz, 1H), 4,97 (d,

$J= 3,27$ Hz, 1H), 4,85 (d, $J= 3,26$ Hz, 1H), 4,46 (d, $J= 3,36$ Hz, 1H), 3,82 (m, 1H), 3,44 (m, 1H), 1,45 (s, 3H), 1,28 (s, 3H) ppm.

5.4. Szomszédcsoport hatásának vizsgálata

5.4.1. 1,2-*O*-Izopropilidén-3-*O*-toluolszulfonil- α -D-glükofuranóz (36)

Az 1,2:5,6-di-*O*-izopropilidén-3-*O*-toluolszulfonil- α -D-glükofuranózból (**9**) (6,0 g; 14,50 mmol) kiindulva az 5,6-OH-csoportok izopropilidén védelmének eltávolítása az 1,2-*O*-izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-allofuranóz (**14**) előállításával analóg történt. A reakció szobahőmérsékleten 1 nap alatt játszódott le. A nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítottam (állófázis: szilikagél, mozgófázis: EtOAc–hexán 2:1). A termék (**36**) színtelen olaj. Termelés: 5,2 g (95%). $R_f = 0,62$ (EtOAc–hexán 2:1); FTIR-ATR: ν_{\max} : 3520 (ν OH) cm^{-1} ; ESI-MS: 392,3 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$, számolt: 374,4 m/z. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 250 MHz) $\delta = 7,83$ (d, $J= 8,31$ Hz, 2H), 7,47 (d, $J= 8,10$ Hz, 2H), 5,93 (d, $J= 3,83$ Hz, 1H), 4,68 (dd, $J= 3,32$ Hz, $J=7,61$ Hz, 2H), 4,62 (d, $J= 6,18$ Hz, 1H), 4,54 (t, $J= 5,44$ Hz, 1H), 4,02 (dd, $J= 2,71$ Hz, $J= 9,01$ Hz, 1H), 3,48 (m, 1H), 2,42 (s, 3H), 1,37 (s, 3H), 1,23 (s, 3H) ppm.

5.4.2. 1,2-*O*-Izopropilidén-3-*O*-toluolszulfonil- α -D-allofuranóz (47)

Az 1,2:5,6-di-*O*-izopropilidén-3-*O*-toluolszulfonil- α -D-allofuranózból (**24**) (2,0 g; 4,80 mmol) kiindulva az 5,6-OH-csoportok izopropilidén védelmének eltávolítása az 1,2-*O*-izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-allofuranóz (**14**) előállításával analóg történt. A reakció szobahőmérsékleten 1 nap alatt lejátszódott. A nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítottam (állófázis: szilikagél, mozgófázis: EtOAc–hexán 2:1). A termék (**47**) halványsárga olaj. Termelés: 1,7 g (93%). $R_f = 0,57$ (EtOAc–hexán 2:1); FTIR-ATR: ν_{\max} : 3534 (ν OH) cm^{-1} ; ESI-MS: 392,3 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$, számolt: 374,4 m/z. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 250 MHz) $\delta = 7,83$ (d, $J= 8,22$ Hz, 2H), 7,47 (d, $J= 8,18$ Hz, 2H), 5,93 (d, $J= 3,68$ Hz, 1H), 4,67 (dd, $J= 3,17$ Hz, $J= 10,09$ Hz, 2H), 4,59 (d, $J= 6,01$ Hz, 1H), 4,52 (t, $J= 5,16$ Hz, 1H), 4,03 (dd, $J= 2,53$ Hz, $J= 8,98$ Hz, 1H), 3,48 (m, 1H), 2,42 (s, 3H), 1,37 (s, 3H), 1,23 (s, 3H) ppm.

5.4.3. 1,2-*O*-Izopropilidén-3-*O*-toluolszulfonil- α -D-ribofuran-uronsav (91)

Az 1,2-*O*-izopropilidén-3-*O*-toluolszulfonil- α -D-allofuranózból (**47**) (1,0 g; 2,70 mmol) kiindulva a reakció az 1,2-*O*-izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-allofuranóz (**14**) oxidációjával analóg módon történt. A kétlépéses oxidáció mindkét lépése 0 °C-on 1-1 nap alatt játszódott le. A termék (**91**) drapp szilárd anyag. Termelés: 0,16 g (16% 2 lépésre). $R_f = 0,73$

(toluol–EtOAc–EtOH–AcOH 4:2:2:1); o.p.: 128-130 °C; FTIR-ATR: ν_{\max} : 3500-2400 (ν COOH), 1747 (ν C=O) cm^{-1} ; ESI-MS: 376,3 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$, számolt: 358,4 m/z ; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 250 MHz) δ = 7,77 (d, J = 8,25 Hz, 2H), 7,48 (d, J = 8,16 Hz, 2H), 6,03 (d, J = 3,68 Hz, 1H), 4,87 (d, J = 3,27 Hz, 1H), 4,79 (d, J = 3,32 Hz, 1H), 4,69 (d, J = 3,72 Hz, 1H), 2,43 (s, 3H), 1,40 (s, 3H), 1,24 (s, 3H) ppm.

5.4.4. 1,2-*O*-Izopropilidén-3-*O*-toluolszulfonil- α -D-xilofurán-uronsav (41)

Az 1,2-*O*-izopropilidén-3-*O*-toluolszulfonil- α -D-glükofuranózból (36) (1,0 g; 2,70 mmol) kiindulva a reakció az 1,2-*O*-izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-allofuranóz (14) oxidációjával analóg módon történt. A kétlépéses oxidáció mindkét lépése 0 °C-on 1-1 nap alatt játszódott le. A termék (41) színtelen olaj. Termelés: 0,26 g; (27% 2 lépésre). R_f = 0,70 (toluol–EtOAc–EtOH–AcOH 4:2:2:1); FTIR-ATR: ν_{\max} : 3500-2400 (ν COOH), 1756 (ν C=O); ESI-MS: 376,3 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$, számolt: 358,4 m/z ; ^1H NMR (CDCl_3 , 250 MHz) δ = 7,75 (d, J = 8,36 Hz, 2H), 7,36 (d, J = 8,08 Hz, 2H), 6,12 (d, J = 3,42 Hz, 1H), 5,02 (d, J = 3,35 Hz, 1H), 4,93 (d, J = 3,43 Hz, 1H), 4,82 (d, J = 3,36 Hz, 1H), 2,45 (s, 3H), 1,49 (s, 3H), 1,34 (s, 3H) ppm.

5.4.5. 1,2-*O*-Izopropilidén-3-*O*-toluolszulfonil- α -D-ribofurán-uronsav metilészter (48)

Az 1,2-*O*-izopropilidén-3-*O*-toluolszulfonil- α -D-ribofurán-uronsavat (91) (0,12 g; 0,33 mmol) DCM-ben (10 ml) oldottam és 0 °C-ra hűtöttem. Behűtött diazometán éteres oldatát (15 ml) csepegtettem a reakcióelegyhez, amíg a sárga színét 20 percig meg nem tartotta. A diazometán maradékát levegő átfújással távolítottam el. A reakcióelegyet bepároltam. A termék (48) halványsárga olaj. Termelés: 0,12 g (96%). R_f = 0,69 (EtOAc–hexán 1:1); FTIR-ATR: ν_{\max} : 1766 (ν C=O) cm^{-1} ; ESI-MS: 390,3 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$, számolt: 372,4 m/z ; ^1H NMR (CDCl_3 , 250 MHz) δ = 7,70 (d, J = 8,35 Hz, 2H), 7,30 (d, J = 8,09 Hz, 2H), 6,00 (d, J = 3,53 Hz, 1H), 5,06 (d, J = 3,32 Hz, 1H), 4,77 (d, J = 3,33 Hz, 1H), 4,71 (d, J = 3,54 Hz, 1H), 3,51 (s, 3H), 2,40 (s, 3H), 1,41 (s, 3H), 1,25 (s, 3H) ppm.

5.4.6. 1,2-*O*-Izopropilidén-3-*O*-toluolszulfonil- α -D-xilofurán-uronsav metilészter (38)

Az 1,2-*O*-izopropilidén-3-*O*-toluolszulfonil- α -D-xilofurán-uronsavból (41) (0,20 g; 0,56 mmol) kiindulva a reakció a *ribo*-származék (91) reakciójával analóg történt. A reakció 0 °C-on 20 percig tartott. A termék (38) halványsárga olaj. Termelés: 0,20 g (96%). R_f = 0,66 (EtOAc–hexán 1:1); FTIR-ATR: ν_{\max} : 1767 (ν C=O) cm^{-1} ; ESI-MS: 390,3 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$, számolt: 372,4 m/z ; ^1H NMR (CDCl_3 , 250 MHz) δ = 7,77 (d, J = 8,32 Hz, 2H), 7,37 (d, J = 8,21 Hz, 2H), 6,07

(d, $J = 3,50$ Hz, 1H), 5,13 (d, $J = 3,26$ Hz, 1H), 4,84 (d, $J = 3,31$ Hz, 1H), 4,77 (d, $J = 3,50$ Hz, 1H), 3,58 (s, 3H), 2,46 (s, 3H), 1,48 (s, 3H), 1,32 (s, 3H) ppm.

5.4.7. Metil-3-dezoxi-1,2-*O*-izopropilidén-D-glicero-pent-3-enofuránuronát (40)

I) Az 1,2-*O*-izopropilidén-3-*O*-toluolszulfonil- α -D-xilofurán-uronsav metilésztert (**38**) (0,11 g; 0,28 mmol) DMSO-ban (0,4 ml) oldottam. NaN₃-ot (0,07 g; 1,10 mmol; 4 ekv.) DMSO-ban (2,1 ml) oldva adtam a reakcióelegyhez és kevertettem 80 °C-on 5 órát. A reakcióelegyet jeges vízre (10 ml) öntöttem és extraháltam etil-acetáttal (4 × 3 ml). Az egyesített szerves fázisokat telített NaCl-oldattal (1 × 5 ml) mostam, szárítottam Na₂SO₄-on és bepároltam. A termék (**40**) sárgás olaj. Termelés: 0,09 g (90%). $R_f = 0,70$ (EtOAc–hexán 1:2); FTIR-ATR: ν_{\max} : 1735 (ν C=O); 1627 (ν C=C) cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz) $\delta = 6,11$ (d, $J = 5,35$ Hz, 1H), 6,03 (d, $J = 1,93$ Hz, 1H), 5,31 (dd, $J = 2,34$ Hz, $J = 4,96$ Hz, 1H), 3,78 (s, 3H), 1,39 (s, 6H) ppm.

II) Az 1,2-*O*-izopropilidén-3-*O*-toluolszulfonil- α -D-ribofurán-uronsav metilészterből (**48**) (0,10 g; 0,26 mmol) a reakció a *xilo*-származék (**38**) reakciójával analóg történt. A reakció 80 °C-on 5 óra alatt játszódott le. A termék (**40**) sárgás olaj. Termelés: 0,05 g (92%). A termék spektrális és kromatográfiai adatai megegyeznek az I) eljárásban kapott anyaggal.

5.5. Észter származékok

5.5.1. 1,2-*O*-Izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronsav metilészter (92)

Az 1,2-*O*-izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronsavból (**13**) (0,40 g; 1,70 mmol) kiindulva a reakció az 1,2-*O*-izopropilidén-3-*O*-toluolszulfonil- α -D-ribofurán-uronsav (**91**) reakciójával analóg történt. A nyersteget oszlopkromatográfiával tisztítottam (állófázis: szilikagél, mozgófázis: hexán–EtOAc 1:2). A termék (**92**) színtelen olaj. Termelés: 0,34 g (80%). $R_f = 0,90$ (hexán–EtOAc 1:2,5); FTIR-ATR: ν_{\max} : 2115 (ν N₃), 1745 (ν C=O) cm⁻¹; ESI-MS: 261,2 [M+NH₄]⁺, számolt: 243,2 m/z; ¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz) $\delta = 5,86$ (d, $J = 3,43$ Hz, 1H), 4,69 (t, $J = 3,97$ Hz, 1H), 4,50 (d, $J = 9,58$ Hz, 1H), 3,79 (s, 3H), 3,64 (dd, $J = 4,50$ Hz, $J = 9,56$ Hz, 1H), 1,52 (s, 3H), 1,31 (s, 3H) ppm.

5.5.2. 1,2-*O*-Izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronsav izopropilészter (93)

Az 1,2-*O*-izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronsavat (**13**) (0,50 g; 2,20 mmol) CH₃CN-ben (4,2 ml) oldottam és 0 °C-ra hűtöttem. Az oldathoz oxalil-kloridot (0,34 ml) és száraz DMF-et (0,16 ml) csepegtettem és 5 órán át kevertettem szobahőmérsékleten. A reakcióelegyet bepároltam, a maradékot kloroformban (1,7 ml) oldottam és 0 °C-ra hűtöttem.

2-Propanolt (6,0 ml) adagoltam a reakcióelegyhez és kevertetem 45 percig. A reakcióelegyet jeges vízre öntöttem és extraháltam DCM-el (5 × 8 ml). A szerves fázist Na₂SO₄-on szárítottam és bepároltam. A nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítottam (állófázis: szilikagél, mozgófázis: hexán–EtOAc 1:2). A termék (**93**) színtelen olaj. Termelés: 0,32 g (54%). FTIR-ATR: ν_{\max} : 2106 (ν N₃), 1738 (ν C=O), 1369 (ν_{as} C-CO-O) cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ 5,84 (d, *J*= 3,49 Hz, 1H), 5,10 (sept, *J*= 6,31 Hz, *J*=6,33 Hz, *J*=6,33 Hz, 1H), 4,67 (m, 1H), 4,45 (d, *J*= 9,60 Hz, 1H), 3,63 (dd, *J*= 4,54 Hz, *J*= 9,56 Hz, 1H), 1,52 és 1,30 (s, 6H), 1,27 és 1,23 (d, 6H) ppm.

5.6. Uronamid származékok

5.6.1. *N*-Metil-1,2-*O*-izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronamid (**49**)

I) Az 1,2-*O*-izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronsavat (**13**) (0,40 g; 1,75 mmol) szárított DCM-ben (98 ml) oldottam. Szobahőmérsékleten CH₃NH₂·HCl-ot (0,24 g; 3,50 mmol; 2 ekv.), EDCI-t (0,61 ml; 3,50 mmol; 2 ekv.) és HOBt-t (0,47 g; 3,50 mmol; 2 ekv.) adtam a reakcióelegyhez majd kevertetem 3 órán át. A reakció végeztével az elegyet hígítottam DCM-el (50 ml), majd extraháltam hideg 2M HCl-oldattal (2 × 20 ml), desztillált vízzel (1 × 20 ml), telített NaHCO₃-oldattal (2 × 20 ml), végül desztillált vízzel (1 × 20 ml). A szerves fázist MgSO₄-on szárítottam, majd bepároltam. A nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítottam (állófázis: szilikagél, mozgófázis: EtOAc–hexán 2:1). A termék (**49**) fehér szilárd anyag. Termelés: 0,14 g (33%). *R_f* = 0,34 (EtOAc–hexán 2:1); o.p.: 170-173 °C; FTIR-ATR: ν_{\max} : 3368 (ν NH), 2110 (ν N₃), 1652 (amid I, ν C=O és ν C-N), 1538 (amid II) cm⁻¹; ESI-MS: 243,2 [M+H]⁺, számolt: 242,2 m/z; ¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz) δ = 6,49 (broad m, 1H), 5,82 (d, *J*= 3,4 Hz, 1H), 4,69 (t, *J*= 4,5 Hz, 1H), 4,45 (d, *J*= 9,5 Hz, 1H), 3,64 (dd, *J*= 4,5 Hz, *J*=9,5 Hz, 1H), 2,83 (d, *J*= 5,0 Hz, 3H), 1,54 (s, 3H), 1,34 (s, 3H) ppm.

II) Az 1,2-*O*-izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronsavat (**13**) (0,40 g; 1,75 mmol) száraz THF-ben (5,25 ml) oldottam és az oldatot –15 °C-ra hűtöttem. Kevertetés mellett lassan TEA-t (0,27 ml), majd klórhangyasav-izobutil-észtert (0,25 ml) csepegtettem hozzá. A külső hőmérsékletet végig –10 - –15 °C-on tartottam (I. oldat). 20 perc kevertetés után hozzáadtam a MeNH₂/THF-t (2M, 0,90 ml) és TEA-t (0,27 ml) tartalmazó, 0 °C-ra lehűtött oldatot (II. oldat). A reakcióelegyet 1 órát –10 - –15 °C-on, majd még 1 órát 0 °C-on kevertetem. A kivált TEA·HCl-t kiszűrtem, kevés hideg THF-el mostam, majd a szűrletet bepároltam. A maradékot etil-acetátban (20 ml) oldottam és extraháltam desztillált vízzel (2 × 10 ml), 2M HCl-oldattal (2 × 10 ml), telített NaHCO₃-oldattal (2 × 10 ml) és telített NaCl-oldattal (2 × 10 ml). Az etil-

acetátos fázist MgSO₄-on szárítottam. A szárítószer leszűrése után a szűrletet bepároltam. A nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítottam (állófázis: szilikagél, mozgófázis: EtOAc–hexán 2:1). A termék (**49**) fehér szilárd anyag. Termelés: 0,13 g (31%). A termék spektrális és kromatográfiás adatai megegyeznek az I) eljárásban kapott anyaggal.

5.6.2. *N*-Metil-1,2-*O*-izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-xilofurán-uronamid (**52**)

Az 1,2-*O*-izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-xilofurán-uronsavból (**27**) (0,40 g; 1,75 mmol) kiindulva a reakció a *ribo*-származék (**13**) II) reakciójával analóg történt. A termék (**52**) fehér szilárd anyag. Termelés: 0,15 g (35%). $R_f = 0,4$ (EtOAc–hexán 1:1); o.p.: 72-74 °C; FTIR-ATR: ν_{\max} : 3349 (ν NH), 2106 (ν N₃), 1645 (amid I, ν C=O), 1535 (amid II) cm⁻¹; ESI-MS: 243,2 [M+H]⁺, számolt: 242,2 m/z; ¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz) $\delta = 6,45$ (broad m, 1H), 5,90 (d, $J = 3,32$ Hz, 1H), 4,80 (d, $J = 3,45$ Hz, 1H), 4,55 (m, 1H), 4,34 (d, $J = 3,43$, 1H), 2,82 (d, $J = 4,95$ Hz, 3H), 1,43 (s, 3H), 1,27 (s, 3H) ppm.

5.6.3. *N*-Metil-1,2-*O*-izopropilidén-3-amino-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronamid (**50**)

Az *N*-metil-1,2-*O*-izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronamidot (**49**) (0,24 g; 0,99 mmol) metanolban oldottam (28,0 ml, $c = 35$ mmol/l) és katalitikusan hidrogéneztem az H-Cube Mini[®] készülékkel 10% Pd/C katalizátort alkalmazva (paraméterek: 60 °C, 10 bar, 0,2 ml/perc áramlási sebesség). A reakció végeztével a reakcióelegyet bepároltam. A termék (**50**) halványsárga olaj. Termelés: 0,18 g (85%). $R_f = 0,86$ (CHCl₃–MeOH 3:1); FTIR-ATR: ν_{\max} : 3375 és 3353 (ν NH₂ és NH), 1652 (amid I), 1545 (amid II) cm⁻¹; ESI-MS: 217,2 [M+H]⁺, számolt: 216,2 m/z; ¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz) $\delta = 6,44$ (broad m, 1H), 6,00 (d, $J = 3,4$ Hz, 1H), 4,80 (t, $J = 4,4$ Hz, 2H), 4,54 (d, $J = 9,5$ Hz, 1H), 2,81 (d, $J = 5,0$ Hz, 3H), 1,43 (s, 3H), 1,27 (s, 3H) ppm.

5.6.4. *N*-Metil-1,2-*O*-izopropilidén-3-amino-3-dezoxi- α -D-xilofurán-uronamid (**53**)

Az *N*-metil-1,2-*O*-izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-xilofurán-uronamidból (**52**) (0,12 g; 0,50 mmol) kiindulva a reakció a *ribo*-származék (**49**) reakciójával analóg történt, az H-Cube Mini[®] készülékkel. A termék szintelen olaj. Termelés: 0,07 g (70%). $R_f = 0,83$ (CHCl₃–MeOH 3:1); FTIR-ATR: ν_{\max} : 3340 (ν NH₂ és NH), 1655 (amid I), 1544 (amid II) cm⁻¹; ESI-MS: 217,2 [M+H]⁺, számolt: 216,2 m/z; ¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz) $\delta = 6,45$ (broad m, 1H), 6,00 (d, $J = 3,25$ Hz, 1H), 4,81 (dd, $J = 3,21$ Hz, 2H), 4,54 (d, $J = 3,17$ Hz, 1H), 2,81 (d, $J = 5,02$ Hz, 3H), 1,43 (s, 3H), 1,27 (s, 3H) ppm.

5.6.5. *N*-Metil-1,2-*O*-izopropilidén-3-acetamido-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronamid (51)

Az *N*-metil-1,2-*O*-izopropilidén-3-amino-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronamidot (**50**) (0,03 g; 0,14 mmol) piridin (0,17 ml) és ecetsavanhidrid (0,1 ml) hűtött elegyében oldottam, majd a reakcióelegyet 2 napig 0 °C-on állni hagytam. A reakcióelegyet jeges vízre (5 ml) öntöttem, majd bepároltam. A nyersterméket EtOAc–petroléter elegyből kristályosítottam. A termék (**51**) fehér kristályos anyag. Termelés: 0,02 g (56%). $R_f = 0,62$ (CHCl₃–MeOH 3:2); o.p.: 208-210 °C; FTIR-ATR: ν_{\max} : 3391 és 3324 (ν NH), 1655 (amid I), 1546 (amid II) cm⁻¹; ESI-MS: 259,2 [M+H]⁺, számolt: 258,2 m/z; ¹H NMR (CDCl₃, 700 MHz) $\delta = 6,42$ (broad m, 1H), 6,08 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H), 5,79 (d, $J = 3,4$ Hz, 1H), 4,70 (t, $J = 4,2$ Hz, 1H), 4,23 (ddd, $J = 4,2$ Hz, $J = 10,2$ Hz, $J = 7,2$ Hz, 1H), 4,17 (d, $J = 10,2$ Hz, 1H), 2,78 (d, $J = 5,0$ Hz, 3H), 2,00 (s, 3H), 1,48 (s, 3H), 1,28 (s, 3H) ppm.

5.6.6. *N*-Metil-1,2-*O*-izopropilidén-3-acetamido-3-dezoxi- α -D-xilofurán-uronamid (54)

Az *N*-metil-1,2-*O*-izopropilidén-3-amino-3-dezoxi- α -D-xilofurán-uronamidból (**53**) (0,04 g; 0,18 mmol) kiindulva a reakció a *ribo*-származék (**50**) reakciójával analóg történt. A reakció 0 °C-on 2 nap alatt játszódott le. A termék (**54**) halványsárga szilárd anyag. Termelés: 0,015 g (31%). $R_f = 0,70$ (CHCl₃–MeOH 3:2); FTIR-ATR: ν_{\max} : 3293 (ν NH), 1654 (amid I, ν C=O), 1544 (amid II) cm⁻¹; ESI-MS: 259,2 [M+H]⁺, számolt: 258,2 m/z; ¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz) $\delta = 6,83$ (m, 1H), 6,62 (m, 1H), 6,05 (m, 1H), 4,73 (m, 2H), 4,41 (m, 1H), 2,78 (d, 3H), 1,90 (s, 3H), 1,43 (s, 3H), 1,25 (s, 3H) ppm.

5.6.7. *N,N*-Dimetil-1,2-*O*-izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronamid (55)

Az 1,2-*O*-izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronsavból (**13**) (0,34 g; 1,47 mmol) kiindulva a reakció az *N*-metil-1,2-*O*-izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronamid (**49**) szintézisének II) reakciójával analóg történt Me₂NH/THF-t (2M) használva. A termék (**55**) halványsárga olaj. Termelés: 0,16 g (44%). $R_f = 0,57$ (EtOAc–hexán 2:1); FTIR-ATR: ν_{\max} : 2113 (ν N₃), 1657 (amid I), 1505 (amid II) cm⁻¹; ESI-MS: 257,3 [M+H]⁺, számolt: 256,3 m/z; ¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ 5,76 (d, $J_{1,2} = 3,5$ Hz, 1H), 4,66 (t, $J_{2,3} = 4,3$ Hz, 1H), 4,53 (d, $J_{3,4} = 9,0$ Hz, 1H), 4,17 (dd, $J_{2,3} = 4,6$ Hz, $J_{3,4} = 9,0$ Hz, 1H), 3,07 (s, 3H), 2,94 (s, 3H), 1,52 (s, 3H), 1,30 (s, 3H) ppm.

5.6.8. *N,N*-Dimetil-1,2-*O*-izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-xilofurán-uronamid (58)

Az 1,2-*O*-izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-xilofurán-uronsavból (**27**) (0,40 g; 1,75 mmol) kiindulva a reakció az *N*-metil-1,2-*O*-izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronamid

(**49**) szintézisének II) reakciójával analóg történt Me₂NH/THF-t (2M) használva. A termék (**58**) halványsárga olaj. Termelés: 0,14 (31%). $R_f = 0,37$ (EtOAc–hexán 1:1); FTIR-ATR: ν_{\max} : 2931 (ν CH és ν_{as} CH₃), 2112 (ν N₃), 1644 (amid I, ν C=O), 1510 (amid II) cm⁻¹; ESI-MS: 257,2 [M+H]⁺, számolt: 256,3 m/z; ¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ 5,27 (d, $J_{1,2} = 2,94$ Hz, 1H), 4,92 (d, $J_{3,4} = 3,44$ Hz, 1H), 4,59 (d, $J_{1,2} = 2,94$ Hz, 1H), 3,44 (s, 3H), 3,28 (s, 3H), 3,2 (d, $J_{3,4} = 3,44$ Hz, 1H), 1,8 (s, 3H), 1,63 (s, 3H) ppm.

5.6.9. *N,N*-Dimetil-1,2-*O*-izopropilidén-3-amino-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronamid (**56**)

Az *N,N*-dimetil-1,2-*O*-izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronamid (**55**) (0,20 g; 0,79 mmol) redukcióját az *N*-metil-1,2-*O*-izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronamid (**49**) ilyen típusú reakciójával analóg végeztem, az H-Cube Mini[®] készülékkel. A nyersteget bepárolva halványsárga olajat kaptam. Termelés: 0,16 g (87%). $R_f = 0,74$ (kloroform–metanol 3:1). A szabad aminocsoportot ninhidrin teszttel azonosítottam. A terméket további izolálás nélkül vittem tovább a következő reakcióba.

5.6.10. *N,N*-Dimetil-1,2-*O*-izopropilidén-3-amino-3-dezoxi- α -D-xilofurán-uronamid (**59**)

Az *N,N*-dimetil-1,2-*O*-izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-xilofurán-uronamid (**58**) (0,05; 0,19 mmol) redukcióját a *ribo*-vegyület (**55**) ilyen reakciójával analóg végeztem, az H-Cube Mini[®] készülékkel. A termék (**59**) halványsárga olaj. Termelés: 0,03 g (67%). $R_f = 0,21$ (EtOAc–hexán 2:1); FTIR-ATR: ν_{\max} : 3380 (ν_s NH₂, ν NH), 2985 (ν CH és ν_{as} CH₃), 1748 (ν C=O), 1645 (amid I ν C=O és ν C-N) cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ 5,92 (d, $J_{1,2} = 3,65$ Hz, 1H), 4,76 (d, $J_{3,4} = 3,38$ Hz, 1H), 4,37 (d, $J_{1,2} = 3,56$ Hz, 1H), 3,6 (m, $J_{3,4} = 3,34$ Hz, 1H), 2,99 (s, 3H), 2,85 (s, 3H), 2,58 (s, 2H), 1,38 (s, 3H), 1,2 (s, 3H) ppm.

5.6.11. *N,N*-Dimetil-1,2-*O*-izopropilidén-3-acetamido-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronamid (**57**)

Az *N,N*-dimetil-1,2-*O*-izopropilidén-3-amino-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronamid (**56**) (0,11 g; 0,73 mmol) acetilezését a *N*-metil-1,2-*O*-izopropilidén-3-amino-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronamid (**50**) ilyen reakciójával analóg végeztem. A reakció 0 °C-on 2 nap alatt játszódott le. A termék (**57**) fehér szilárd anyag. Termelés: 0,05 g (48%). $R_f = 0,45$ (EtOAc–metanol 4:1); o.p.: 68-70 °C; ESI-MS: 273,3 [M+H]⁺, számolt: 272,3 m/z; FTIR-ATR: ν_{\max} : 3286 (ν NH), 1640 (amid I), 1549 (amid II) cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 700 MHz): δ 5,94 (d, 1H), 4,72 (broad m, 2H), 4,58 (d, 1H), 3,10 (s, 3H), 2,97 (s, 3H), 2,03 (s, 3H), 1,58 (s, 3H), 1,37 (s, 3H) ppm.

5.6.12. *N,N*-Dimetil-1,2-*O*-izopropilidén-3-acetamido-3-dezoxi- α -D-xilofurán-uronamid (60)

Az *N,N*-dimetil-1,2-*O*-izopropilidén-3-amino-3-dezoxi- α -D-xilofurán-uronamid (59) (0,05; 0,22 mmol) acetilezését a *ribo*-vegyület (56) ilyen reakciójával analóg végeztem. A reakció 0 °C-on 2 nap alatt játszódott le. A termék (60) halványsárga szilárd anyag. Termelés: 0,04 g (68%). $R_f = 0,69$ (EtOAc–MeOH 4:1); ESI-MS: 273,2 [M+H]⁺, számolt: 272,3 m/z; FTIR-ATR: ν_{\max} : 3290 (v NH) 2931 (v CH és ν_{as} CH₃), 1748 (v C=O), 1652 (amid I v C=O és v C-N) cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ 5,92 (d, $J_{1,2} = 4,04$ Hz, 1H), 5,01 (d, $J_{3,4} = 3,80$ Hz, 1H), 4,71 (m, 2H), 3,02 (s, 3H), 2,90 (s, 3H), 1,87 (s, 3H), 1,46 (s, 3H), 1,25 (s, 3H) ppm.

5.7. Szilárd fázisú peptidszintézis

5.7.1. Fmoc-technika protokoll 2-Cl-Trt-Cl gyantára

A 2-Cl-Trt-Cl gyantát DCM-ben 30 percig duzzasztottam. Az első aminosavat (3 ekv.) DCM-ben oldottam és DIEA-t (7,5 ekv.) adtam az elegyhez majd elegyítettem a gyantával. A kapcsolás 1, 3 vagy 18 órán át ment. Ezt követően a gyantát mostam DMF-el (3×), majd DCM–MeOH–DIEA 80:15:5 eleggyel 15 percen át kezeltem. A gyantát mostam DMF-el (3×), DCM-el (3×) és dietil-éterrel (1×), majd vákumban szárítottam. A gyantakapacitást UV spektrométerrel határoztam meg a következő módszerrel: α -aminosav (Fmoc-Ala-OH, 1-2 mg) és a gyanta (4-6 mg) kis részletén Fmoc-hasítást végeztem 50 % piperidin/DMF-el 30 percig, majd a lehasadt Fmoc kromofort (dibenzofulvén) mértem UV spektrométerrel 301 nm-en. A gyantakapacitást a következő képlettel számoltam:

$$\frac{1000 \cdot m(\text{AA}) \cdot A(\text{gyanta})}{A(\text{AA}) \cdot M(\text{AA}) \cdot m(\text{gyanta})} \quad (3)$$

Az Fmoc-hasítást 2% piperidin/2 % DBU/DMF eleggyel vagy 20% piperidin/DMF eleggyel végeztem 3+17 percig, a sikerességét Kaiser teszttel ellenőriztem. Az aminosavak (3 ekv.) kapcsolásához több kapcsoló reagenst (3 ekv.) is kipróbáltam, amelyekkel kapott eredményeket a továbbiakban fogom ismertetni. Kapcsolási idő α -aminosavakra 3 óra, cukoraminosavakra 3 vagy 18 óra. A kapcsolások eredményességét Kaiser teszttel illetve gyantakapacitás méréssel ellenőriztem.

A próbahasításokat és a véghasításokat AcOH–MeOH–DCM 1:1:8 eleggyel végeztem 3 vagy 18 órán át. A gyantát mostam DCM-el (3×) és MeOH-al (3×) felváltva és dietil-éterrel (1×). Az elegyet bepároltam, majd a kapott peptidet hideg dietil-éterrel csaptam ki. A nyers peptidet preparatív RP-HPLC-vel tisztítottam, majd liofilizáltam.

5.7.2. Általános eljárás azidocsoport redukciójára gyantán

Az azidocsoport redukálásához a gyantához piridinben (2 ml) oldott PPh₃-t (1,1 ekv. az aminosavhoz képest) adtam. A reakció 3 órán át ment, majd a gyantát mostam DCM-el (3×), MeOH-al (3×) és dietil-éterrel (2×). Ezt követően NH₃-oldatot adtam a gyantához. A reakció 3 órán át ment, majd mostam a gyantát az előzőekkel analóg módon.

A másik módszer esetében a gyantához MeOH–THF 1:1-ben oldott PBU₃-t (1,1 ekv. az aminosavhoz képest) adtam Ar atmoszféra alatt. 3 órás reakciót követően a gyantát mostam az előzőekkel analóg módon, majd DIEA-val (4 ekv.) 1 órát, TEA-val (4 ekv.) 18 órán át reagáltattam. A gyantát mostam analóg eljárással.

5.7.3. H-A_tX-OH (65)

2-Cl-Trt-Cl gyantára (0,50 g; 0,75 mmol/g gyantakapacitás) az 1,2-*O*-izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronsavat (**13**) (0,26 g; 1,14 mmol; 3 ekv.) kapcsoltam az ismertett protokoll alapján DIEA (0,49 ml; 2,81 mmol; 7,5 ekv.) jelenlétében. A kapcsolás 3 órán át ment. Az azidocsoport redukálásához PPh₃-t (0,33 g; 1,26 mmol; 1,1 ekv. az aminosavhoz képest) piridinben oldva (2 ml), majd NH₃-oldatot (3,7 ml) alkalmaztam az általános eljárásnál leírtaknak megfelelően. Ezt követően kapcsoltam az Fmoc-Ala-OH-t (0,50 g; 1,60 mmol; 3 ekv.), HOBt (0,22 g; 1,60 mmol; 3 ekv.) és DIC (0,25 ml; 1,60 mmol; 3 ekv.) jelenlétében DMF–THF 1:1-ben oldva 3 órán át. 18 órás véghasítás eredményeként fehér szilárd anyagot kaptam. $m_{nyers} = 0,11$ g. ESI-MS: 275 [M₁+H]⁺, számolt: 274; 463 [M₂+H]⁺ m/z; ³¹P NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ 39,2 (N=PPh₃).

5.7.4. H-GG_tXGG-OH (68)

I) 2-Cl-Trt-Cl gyantára (0,50 g; 0,75 mmol/g gyantakapacitás) Fmoc-Gly-Gly-OH-t (0,40 g; 1,13 mmol; 3 ekv.) kapcsoltam DIEA (0,49 ml; 2,83 mmol; 7,5 ekv.) jelenlétében. A kapcsolás 3 órán át ment. A gyantakapacitás 0,59 mmol/g lett. Az Fmoc-hasítás 2% piperidin/2 % DBU/DMF eleggyel történt. Ezután az 1,2-*O*-izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronsavat (**13**) (0,20 g; 0,87 mmol; 3 ekv.) kapcsoltam DMF–THF 1:1-ben, kapcsoló reagens HOBt (0,12 g; 0,88 mmol; 3 ekv.) és DIC (0,14 ml; 0,90 mmol; 3 ekv.) volt. A kapcsolás 3 órán át ment. Elemanalízis: 3,15 N (%) (78%-os kapcsolási hatékonyság). A gyanta kis részletén (0,02 g) próbahasítást végeztem. FTIR-ATR: ν_{max} : 2110 (ν N₃) cm⁻¹; RP-HPLC: 10,0 perc; ESI-MS: 344 [M+H]⁺, számolt: 343 m/z. Az azidocsoport redukálásához PBU₃-t (0,08 ml; 0,48 mmol; 1,1 ekv. az aminosavhoz képest), majd DIEA-t (0,20 ml; 1,15 mmol; 4 ekv.) és TEA-t (0,16 ml; 1,15 mmol; 4 ekv.) alkalmaztam az általános eljárásnál leírtaknak megfelelően. A

gyanta kis részletén (0,02 g) próbahasítást végeztem. FTIR-ATR: nincs azid sáv. Ezt követően kapcsoltam az Fmoc-Gly-Gly-OH-t (0,31 g; 0,87 mmol; 3 ekv.), HOBt (0,12 g; 0,88 mmol; 3 ekv.) és DIC (0,14 ml; 0,90 mmol; 3 ekv.) jelenlétében DMF–THF 1:1-ben oldva. A kapcsolás 3 órán át ment. 18 órás végphasítással megkaptam a nyers peptidet, amelyet preparatív RP-HPLC-n (0-60% B eluens, 120 perc) tisztítottam. A kívánt peptidet tartalmazó frakciókat liofilizáltam. A termék (**68**) fehér szilárd anyag. Termelés: 1 mg. ESI-MS: 432 [M+H]⁺, számolt: 431 m/z; RP-HPLC: 8,0 perc.

II) 2-Cl-Trt-Cl gyantára (0,50 g; 0,75 mmol/g gyantakapacitás) az Fmoc-Gly-Gly-OH kapcsolása az I) módszerrel analóg történt. Ezután az 1,2-*O*-izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-ribofuran-uronsavat (**13**) (0,20 g; 0,84 mmol; 3 ekv.) kapcsoltam DMF–THF 1:1-ben, kapcsoló reagens HATU (0,32 g; 0,88 mmol; 2,9 ekv.) és DIEA (0,30 ml; 1,72 mmol; 6 ekv.) volt. A kapcsolás 3 órán át ment. Elemanalízis: 3,59 *N* (%) (86%-os kapcsolási hatékonyság). A gyanta kis részletén (0,02 g) próbahasítást végeztem. FTIR-ATR: ν_{\max} : 2112 (ν N₃) cm⁻¹; RP-HPLC: 10,0 perc; ESI-MS: 344 [M+H]⁺, számolt: 343 m/z. Az azidocsoport redukálásához PBu₃-t (0,08 ml; 0,48 mmol; 1,1 ekv. az aminosavhoz képest), DIEA-t (0,20 ml; 1,15 mmol; 4 ekv.) és TEA-t (0,16 ml; 1,15 mmol; 4 ekv.) alkalmaztam az általános eljárásnál leírtaknak megfelelően. A gyanta protokoll szerinti mosásakor a foszfinimin-származék (**70**) részleges lehasadását tapasztaltam. ESI-MS: 464 [M+H]⁺, számolt: 463 m/z. A gyanta kis részletén (0,02 g) próbahasítást végeztem. FTIR-ATR: nincs azid sáv. Ezt követően kapcsoltam az Fmoc-Gly-Gly-OH-t (0,13 g; 0,37 mmol; 3 ekv.), HOBt (0,05 g; 0,37 mmol; 3 ekv.) és DIC (0,06 ml; 0,37 mmol; 3 ekv.) jelenlétében DMF–THF 1:1-ben oldva. 18 órás végphasítást követően megkaptam a nyers peptidet, amelyet preparatív RP-HPLC-n (0-60% B eluens, 120 perc) tisztítottam. A kívánt peptidet tartalmazó frakciókat liofilizáltam. A termék (**68**) fehér szilárd anyag. Termelés: 5 mg. ESI-MS: 432 [M+H]⁺, számolt: 431 m/z; RP-HPLC: 8,2 perc.

III) 2-Cl-Trt-Cl gyantára (0,25 g; 0,75 mmol/g gyantakapacitás) az Fmoc-Gly-Gly-OH felkapcsolása az előzőekkel – I), II) módszer – analóg történt. Ezután az 1,2-*O*-izopropilidén-*N*-(9-fluorenil-metoxi-karbonil)-3-amino-3-dezoxi- α -D-ribofuran-uronsavat (**1**) (0,19 g; 0,45 mmol; 3 ekv.) kapcsoltam DMF–THF 1:1-ben, kapcsolószer HATU (0,17 g; 0,44 mmol; 2,9 ekv.) és DIEA (0,08 ml; 0,90 mmol; 6 ekv.) volt. A kapcsolás 3 órán át ment. Elemanalízis: 2,13 *N* (%) (86%-os kapcsolási hatékonyság). A gyanta kis részletén (0,1 g) próbahasítást végeztem. ESI-MS: 540 [M+H]⁺, számolt: 539 m/z. Ezt követően kapcsoltam az Fmoc-Gly-Gly-OH-t (0,09 g; 0,25 mmol; 3 ekv.), HATU (0,09 g; 0,24 mmol; 2,9 ekv.) és DIEA (0,08 ml; 0,48 mmol; 6 ekv.) jelenlétében DMF–THF 1:1-ben oldva. 18 órás végphasítást követően megkaptam a nyers peptidet, amelyet preparatív RP-HPLC-n (0-60% B eluens, 120 perc)

tisztítottam. A kívánt peptidet tartalmazó frakciókat liofilizáltam. A termék (**68**) fehér szilárd anyag. Termelés: 10 mg. ESI-MS: 432 [M+H]⁺, számolt: 431 m/z; RP-HPLC: 8,2 perc.

5.7.5. H-GtXtXG-OH (79)

I) 2-Cl-Trt-Cl gyantára (0,1 g; 1,6 mmol/g gyantakapacitás) Fmoc-Gly-OH-t (0,015 g; 0,05 mmol; 1,5 ekv.) kapcsoltam DIEA (0,02 ml; 0,11 mmol; 3,75 ekv.) jelenlétében. A kapcsolás 1 órán át ment. A gyantakapacitás 0,25 mmol/g lett. Ezután az 1,2-*O*-izopropilidén-*N*-(9-fluorenil-metoxi-karbonil)-3-amino-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronsavat (**1**) (0,03 g; 0,07 mmol; 3 ekv.) kapcsoltam DMF-ben oldva, kapcsolószer EDCI (0,01 ml; 0,06 mmol; 3 ekv.), HOBt (0,01 g; 0,07 mmol; 3 ekv.) és DIEA (0,03 ml; 0,17 mmol; 6 ekv.) volt. A kapcsolás 18 órán át ment. A következő cukoraminosavat és az Fmoc-Gly-OH-t analóg módszerrel kapcsoltam. 3 órás véghasítást követően megkaptam a nyers peptidet, amelyet preparatív RP-HPLC-n (0-60% B eluens, 120 perc) tisztítottam. A termék fehér szilárd anyag. Termelés: 4 mg. ESI-MS: 503 [M+H]⁺, számolt: 502 m/z; RP-HPLC: 4,5 perc.

II) 2-Cl-Trt-Cl gyantára az első aminosav felkapcsolása I)-vel analóg történt. A gyantakapacitás 0,35 mmol/g lett. Ezután az 1,2-*O*-izopropilidén-*N*-(9-fluorenil-metoxi-karbonil)-3-amino-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronsavat (**1**) (0,05 g; 0,12 mmol; 3 ekv.) kapcsoltam DMF-ben oldva, kapcsolószer HATU (0,04 g; 0,1 mmol; 2,9 ekv.) és DIEA (0,04 ml; 0,23 mmol; 6 ekv.) volt. A kapcsolás 3 órán át ment. A következő cukoraminosavat és az Fmoc-Gly-OH-t analóg módszerrel kapcsoltam. 3 órás véghasítást követően megkaptam a nyers peptidet, amelyet preparatív RP-HPLC-n (0-60% B eluens, 120 perc) tisztítottam. A termék fehér szilárd anyag. Termelés: 6 mg. ESI-MS: 503 [M+H]⁺, számolt: 502 m/z; RP-HPLC: 4,5 perc.

III) A kapcsolás a II) módszerrel analóg ment azzal a különbséggel, hogy az 1,2-*O*-izopropilidén-*N*-(9-fluorenil-metoxi-karbonil)-3-amino-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronsav (**1**) (0,05 g; 0,12 mmol; 3 ekv.) kapcsolásához kapcsolószerként PyBOP-ot (0,05 g; 0,10 mmol; 3 ekv.) és DIEA-t (0,04 ml; 0,23 mmol; 6 ekv.) használtam. A kapcsolás 3 órán át ment. A következő cukoraminosavat és az Fmoc-Gly-OH-t analóg módszerrel kapcsoltam. 3 órás véghasítást követően megkaptam a nyers peptidet, amelyet preparatív RP-HPLC-n (0-60% B eluens, 120 perc) tisztítottam. A termék fehér szilárd anyag. Termelés: 14 mg. ESI-MS: 503 [M+H]⁺, számolt: 502 m/z; RP-HPLC: 4,5 perc.

IV) A kapcsolás a II) módszerrel analóg ment azzal a különbséggel, hogy az 1,2-*O*-izopropilidén-*N*-(9-fluorenil-metoxi-karbonil)-3-amino-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronsav (**1**) (0,05 g; 0,12 mmol; 3 ekv.) kapcsolásához kapcsolószerként HOBt-t (0,01 g; 0,07 mmol; 3 ekv.) és DIC-et (0,02 ml; 0,13 mmol; 3 ekv.) használtam. A kapcsolás 3 órán át ment. A

következő cukoraminosavat és az Fmoc-Gly-OH-t analóg módszerrel kapcsoltam. 3 órás véghasítást követően megkaptam a nyers peptidet, amelyet preparatív RP-HPLC-n (0-60% B eluens, 120 perc) tisztítottam. A termék fehér szilárd anyag. Termelés: 10,8 mg. ESI-MS: 503 [M+H]⁺, számolt: 502 m/z; RP-HPLC: 4,5 perc.

V) A célvegyület szintézise az áramlásos peptidszintetizátorral történt. A szintézishez Tentagel 2-Cl-Trt-Cl gyantát (0,18 g; 0,19 mmol/g gyantakapacitás) használtam. Mind az Fmoc-Gly-OH-t (0,03 g; 0,10 mmol; 3 ekv.), mind az 1,2-*O*-izopropilidén-*N*-(9-fluorenil-metoxi-karbonil)-3-amino-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronsavat (**1**) (0,04 g; 0,09 mmol; 3 ekv.) DMF-ben oldva kapcsoltam, kapcsolószerként PyBOP-ot (0,05 g; 0,10 mmol; 3 ekv.) és DIEA-t (0,04 ml; 0,23 mmol; 6 ekv.) használtam. A kapcsolás az Fmoc-Gly-OH esetén 1 óra, a cukor esetén 3 óra recirkuláció volt. A szintézis körülményei: 50 °C, 60 bar, 0,15 ml/perc áramlási sebesség. A peptidet 1% TFA/DCM eleggyel 3 órán át hasítottam le a gyantáról. A termék (**79**) fehér szilárd anyag. Termelés: 7,6 mg. ESI-MS: 503 [M+H]⁺, számolt: 502 m/z; RP-HPLC: 4,5 perc.

5.7.6. H-GcXcXG-OH (82)

2-Cl-Trt-Cl gyantára az első aminosav felkapcsolása a H-GtXtXG-OH (**79**) felépítése során alkalmazott módszerrel analóg történt. A gyantakapacitás 0,35 mmol/g lett. Ezután az 1,2-*O*-izopropilidén-*N*-(9-fluorenil-metoxi-karbonil)-3-amino-3-dezoxi- α -D-xilofurán-uronsavat (**2**) (0,05 g; 0,12 mmol; 3 ekv.) kapcsoltam DMF-ben oldva, kapcsolószerként PyBOP-ot (0,05 g; 0,1 mmol; 3 ekv.) és DIEA-t (0,04 ml; 0,23 mmol; 6 ekv.) használtam. A kapcsolás 18 órán át ment. A következő cukoraminosavat és az Fmoc-Gly-OH-t analóg módszerrel kapcsoltam. 3 órás véghasítást követően megkaptam a nyers peptidet, amelyet preparatív RP-HPLC-n (0-60% B eluens, 120 perc) tisztítottam. A termék fehér szilárd anyag. Termelés: 2 mg. ESI-MS: 503 [M+H]⁺, számolt: 502 m/z; RP-HPLC: 4,5 perc.

5.7.7. H-(tX)₄-OH (85)

2-Cl-Trt-Cl gyantára (0,30 g; 1,6 mmol/g gyantakapacitás) 1,2-*O*-izopropilidén-*N*-(9-fluorenil-metoxi-karbonil)-3-amino-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronsavat (**1**) (0,06 g; 0,14 mmol; 1,5 ekv.) kapcsoltam DIEA (0,16 ml; 0,92 mmol; 10 ekv.) jelenlétében. A kapcsolás 18 órán át ment. A gyantakapacitás 0,22 mmol/g lett. Ezután a következő 1,2-*O*-izopropilidén-*N*-(9-fluorenil-metoxi-karbonil)-3-amino-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronsavat (**1**) (0,08 g; 0,19 mmol; 3 ekv.) kapcsoltam DMF-ben oldva, kapcsolószerként PyBOP (0,10 g; 0,19 mmol; 3 ekv.) és DIEA (0,07 ml; 0,40 mmol; 6 ekv.) volt. A kapcsolás 18 órán át ment. A következő kettő cukoraminosavat analóg módszerrel kapcsoltam. 3 órás véghasítást követően megkaptam a nyers peptidet,

amelyet preparatív RP-HPLC-n (0-60% B eluens, 120 perc) tisztítottam. A kívánt peptidet tartalmazó frakciókat liofilizáltam. A termék (**85**) fehér szilárd anyag. Termelés: 8 mg. ESI-MS: 759 [M+H]⁺, számolt: 758 m/z; RP-HPLC: 14 perc.

5.7.8. H-(tX)₆-OH (**86**)

2-Cl-Trt-Cl gyantára (0,30 g; 1,6 mmol/g gyantakapacitás) 1,2-*O*-izopropilidén-*N*-(9-fluorenil-metoxi-karbonil)-3-amino-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronsavat (**1**) (0,06 g; 0,14 mmol; 1,5 ekv.) kapcsoltam DIEA (0,16 ml; 0,92 mmol; 10 ekv.) jelenlétében. A kapcsolás 18 órán át ment. A gyantakapacitás 0,20 mmol/g lett. Ezután a következő 1,2-*O*-izopropilidén-*N*-(9-fluorenil-metoxi-karbonil)-3-amino-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronsavat (**1**) (0,08 g; 0,19 mmol; 3 ekv.) kapcsoltam DMF-ben oldva, kapcsolószer PyBOP (0,10 g; 0,19 mmol; 3 ekv.) és DIEA (0,07 ml; 0,40 mmol; 6 ekv.) volt. A kapcsolás 18 órán át ment. A következő négy cukoraminosavat analóg módszerrel kapcsoltam. 3 órás végphasítást követően megkaptam a nyers peptidet, amelyet preparatív RP-HPLC-n (0-60% B eluens, 120 perc) tisztítottam. A kívánt peptidet tartalmazó frakciókat liofilizáltam. A termék (**86**) fehér szilárd anyag. Termelés: 12 mg. ESI-MS: 1129 [M+H]⁺, számolt: 1128 m/z; RP-HPLC: 16 perc.

6. Eredmények összefoglalása

Az utóbbi évtizedekben a foldamerek, mint biomimetikus molekulák előtérbe kerültek a biokémiai és biológiai kutatásokban. Mivel a fehérjékkel analóg térszerkezet kialakítására képesek, így hasonló biológiai funkció ellátására lehetnek alkalmasak [2-4].

Doktori munkám célja két foldamer monomerként alkalmazható β -cukoraminosav méretnövelhető szintézisének kidolgozása és peptidkapcsolási tulajdonságainak tesztelése volt, változatos peptidszekvenciákat felépítve ezáltal.

Az Fmoc-RibAFU(ip)-OH (**1**) és C-3 epimerje, az Fmoc-XylAFU(ip)-OH (**2**) α -D-glükózból (**5**) kiinduló 7, illetve 8 lépéses szintézisének hatékonyságát nagymértékben befolyásolja az *N*-terminális kialakításának, illetve a *xilo*-származéknál (**2**) a *glüko* \rightarrow *allo* konverzióknak a sikeressége. Munkám során az egyes lépéseket optimalizáltam, különös tekintettel a kritikus lépésekre. A *glüko* \rightarrow *allo* átalakításra a Swern oxidáció jelentette a megoldást, amellyel 80%-os konverzióval sikerült előállítanom a xilofurán-uronsav (**2**) kiindulási anyagát (**22**). Az *N*-terminális kiépítésére pedig a 3-*O*-imidazolszulfonáton (**10** és **45**) keresztül történő szulfonát \rightarrow azid cserereakció bizonyult a legjobbnak a reakcióidőt, a termelést és a reakció költségét tekintve. Az optimalizálás eredményeként a monomerek nagy méretben is hatékonyan és gazdaságosan előállíthatók, szintézisük minden egyes lépése méretnövelésre alkalmas [113]. A nagy mennyiségben előállított Fmoc-RibAFU(ip)-OH (**1**) és az új, kapcsolásra alkalmas monomer, az Fmoc-XylAFU(ip)-OH (**2**) lehetőséget teremtettek, hogy feltérképezzem peptidkapcsolási tulajdonságaikat.

A monomerek kapcsolási tulajdonságainak tesztelésére elsőként diamid modellvegyületeket (**51**, **54** és **57**, **60**) állítottam elő oldatfázisban, amelyekkel bizonyítottam, hogy a molekulák C- és *N*-terminális amidkötés létesítésére alkalmas. Ezt követően a szilárd fázisú peptidszintézis körülményeinek részletes körüljárásába kezdtem a *ribo*-származékkal (**1**). Az Fmoc-védett-származék (**1**) mellett teszteltem annak prekursorát az azido-karbonsav molekulát (**13**) is, azonban ennek redukciója a Staudinger reakcióval és az azt követő hidrolízissel szilárd fázison sikertelen volt. Stabil foszfinimin-származék képződött, amely csak részben volt elhidrolizálható aminná. Tehát a továbbiakban az Fmoc-származékkal (**1**) végeztem a kapcsolási reakciókat [117]. Az optimalizálási folyamat során kiválasztottam a szintézisekhez alkalmas gyantát, megvizsgáltam az Fmoc-védőcsoport hasításának körülményeit, meghatároztam a megfelelő kapcsolási időket az egyes kapcsolószerekkel (PyBOP/DIEA, HATU/DIEA, HOBt/DIC, HOBt/EDCI) képződő aktív észterek kialakulásának és stabilitásának vizsgálatával, amelyhez az ^1H NMR spektroszkópiát hívtam

segítségül. A kísérleteket két teszt szekvencián, a -GGXGG- és a -GXXG- modell peptideken végeztem el, megvizsgálva ezáltal az α - β , β - β és β - α kapcsolást egyaránt. Az alkalmazott kapcsoló reagensek közül a PyBOP/DIEA rendszerrel magas kapcsolási hatékonyságot sikerült elérnem mindhárom kapcsolási típus esetén. Kiemelném a β - β kapcsolást, amelyet 98%-os hatékonysággal valósítottam meg. Mivel egy piranózgyűrűs β -cukoraminosav, az Fmoc-GlcAPU(Me)-OH (**83**), – amely eltérő szerkezetű és tulajdonságú – esetén is ugyanazt az eredményt kaptuk, így azt mondhatjuk, hogy ezen kapcsoló reagenst érdemes használni cukoraminosavat tartalmazó peptidek szintézisének [121]. A tesztelt körülményekkel felépítettem az Fmoc-XylAFU(ip)-OH-t (**2**) tartalmazó -GXXG- modell peptidet is, azonban a molekula térgátoltsága miatt ez esetben alacsonyabb hatékonyságot (57%-os hatékonyság a β - β kapcsolásra) sikerült elérnem. A továbbiakban az optimális kapcsolási körülményeket alkalmazva az Fmoc-RibAFU(ip)-OH-val (**1**) homooligomerek felépítésébe kezdtem és sikeresen előállítottam a tetramer (**85**) és a hexamer (**86**) molekulát térszerkezetük igazolása céljából.

A szilárd fázisú peptidszintézis optimalizálására adhat lehetőséget az aminosavakból kialakuló aktív észterek képződésének és stabilitásának ismerete. Ehhez ^1H NMR segítségével szisztematikusan megvizsgáltunk különböző α - és β -aminosavakat a cukoraminosavaknál legeredményesebbnek bizonyult PyBOP/DIEA reagenspárt használva. Az aktív észter hidrolízisének sebessége alapján három csoportba sorolhatók a vizsgált aminosavak, ráadásul az egy csoportba tartozó aminosavak nagyon hasonló szerkezeti tulajdonságokkal rendelkeznek: *i*) gyorsan hidrolizáló aktív észter, β - vagy γ -elágazás nélküli reaktív aminosavak (pl. Gly, Ala), *ii*) lassan hidrolizáló aktív észter, β - vagy γ -elágazással rendelkező kevésbé reaktív aminosavak (pl. Thr, Ile), *iii*) stabil aktív észter, kevésbé reaktív aminosavak merev szerkezettel, illetve nagy oldallánccal (pl. ACPC, β^3 -Val). A kinetikai modellek jó egyezést mutattak a mért eredményekkel, segítségükkel meghatároztuk a hidrolízis felezési idejét és az aktív észter koncentrációját a hidrolízis kezdetekor. A képződési és stabilitási adatok alapján az egyes aminosavak kapcsolását optimális körülmények között tudjuk elvégezni, magas kapcsolási hatékonyságot eredményezve ezáltal [124].

Az előállított hetero- és homooligomerek szerkezetvizsgálatára elsőként ECD illetve VCD spektroszkópiát alkalmaztam. A mért spektrumok a β -peptidek spektrumaihoz voltak hasonlóak, sávjaik hélix típusú szerkezetre utaltak. Továbbá megfigyelhető volt, hogy a monomerek számának növekedésével a spektrum intenzitás megnőtt, a szerkezet stabilabb lett. Ez a szerkezet stabilizáció jelent meg a hőmérsékletfüggő mérések esetén is az alacsonyabb hőmérsékletű mérésnél. Az Fmoc-RibAFU(ip)-OH-ból (**1**) felépülő hexamer (**86**)

szerkezetvizsgálatát ^1H - ^1H csatolt 2D NMR mérésekkel is elvégeztem. A spektrumok segítségével sikerült asszignálni az egyes cukor komponensekhez tartozó protonokat, viszont a ROESY spektrumból nem lehetett annyi ROE keresztcsúcsot kinyerni, hogy meghatározzuk a pontos térszerkezetet.

Kidolgoztunk továbbá egy olyan VCD/ECD spektroszkópiát és *ab initio* számításokat ötvöző módszert, amely általánosan használható lehet szerkezet meghatározásra β -peptidek esetén. Módszerünk validálására a diamid modellvegyületeket (**51**, **54** és **57**, **60**) használtuk fel és sikeresen meghatároztuk azok másodlagos térszerkezeti hajlamát. A vizsgált modellek érdekessége, hogy amíg a monometil-amidcsoportot tartalmazó molekulákat (**51** és **54**) belső H-híd stabilizálja, addig a dimetil-amidcsoportot tartalmazó származékoknál (**57** és **60**) a beépülő metilcsoport sztérikus gátlást okoz. Ezen szerkezeti változás nagyon jól követhető volt ECD és VCD spektroszkópiával [131].

Az elért eredmények bővítik a foldamerkémia és a szilárd fázisú peptidszintézis ismerettárát. A hidrofil tulajdonságú β -peptidek pedig lehetőséget adnak, hogy beépítsük őket az Exendine-4 variálható szakaszába. Ezáltal jobb oldhatósági és farmakológiai (elsősorban farmakodinamikai) tulajdonságok érhetők el, amelyek alkalmassá tehetik a molekulát a II. típusú cukorbetegség jövőbeli kezelésére.

7. Summary

In recent years, foldamers started to play an important role as biomimetic molecules in biochemical and biological research studies and industrial drug design. This is mainly due to their 3D structural resemblance to the proteins, which anticipates similarities in their biological function as well [2-4].

My goal was to work out the multigram scale synthesis of two β -amino acids, which subsequently can be used as foldameric building blocks. I also aimed to investigate their peptide coupling characteristics in details, as well as to design various peptide sequences.

First and foremost, the success of the synthesis of the Fmoc-RibAFU(ip)-OH (**1**) building block and its C-3 epimer, the Fmoc-XylAFU(ip)-OH (**2**) in 7 and 8 steps, respectively, from α -D-glucose (**5**) is mainly determined by the success of the *N*-terminal insertion and the *gluco* \rightarrow *allo* conversion in case of the *xilo* compound (**2**). During the first stage of my PhD work I have optimized all the synthesis steps, with special emphasis on the most critical ones. The synthesis of the starting material (**22**) for the *xilo* monomer (**2**) with the Swern oxidation is resulted in 80% conversion. For the insertion of the *N*-terminal, the sulfonate \rightarrow azide exchange reaction with 3-*O*-imidazole sulfonates (**10** and **45**) proved to be the best in terms of reaction time, yield and cost. As a result of the optimization, the monomers (**1** and **2**) can be produced efficiently and economically in multigram scale too, and each step of their synthesis is scalable [113]. With a high amount of Fmoc-RibAFU(ip)-OH (**1**) and the novel monomer, Fmoc-XylAFU(ip)-OH (**2**) at hand we had a unique opportunity to discover their peptide coupling properties.

In order to prove that the *C*- and *N*-terminal of the monomers are capable to form peptide bonds, I synthesized diamide type model compounds (**51**, **54** and **57**, **60**) in solution phase. Then, I attempted to elucidate the conditions for solid phase peptide synthesis on the example of the *ribo* monomer unit (**1**). The Fmoc-protected derivative (**1**) and its precursor, the azido-carboxylic acid (**13**) was benchmarked too. However, the later one failed to be reduced with Staudinger reaction and subsequently hydrolysis on solid phase, because a stable phosphinimine derivative was formed, which was only partially hydrolysable to the corresponding amine. Therefore, the Fmoc derivative (**1**) seemed to be suitable for coupling [117]. In the next step, I selected the resin with optimal characteristics for coupling, and tested the conditions of Fmoc deprotection. Moreover, I determined the coupling times with different coupling reagents (PyBOP/DIEA, HATU/DIEA, HOBt/DIC, HOBt/EDCI), by following the formation and stability of the active ester employing ^1H NMR spectroscopy. Two model

peptides, namely -GGXGG- and -GXXG- were subjected to the experiments, which involved all three amide bond types namely, α - β , β - β and β - α . For all three coupling types, the PyBOP/DIEA coupling system turned out to be the best. Interestingly, the difficult β - β coupling, reached a coupling efficiency as high as 98%. Since a pyranoid ring β -sugar amino acid, Fmoc-GlcAPU(Me)-OH (**83**), – with a different structure and properties –, gave the same result. I would strongly recommend PyBOP/DIEA for the coupling of sugar amino acids [121]. With the optimal coupling conditions at hand, I have obtained the -GXXG- model peptide containing Fmoc-XylAFU(ip)-OH (**2**). However, due to the steric hindrance of the molecule, the coupling reaction was less efficient (57% coupling efficiency for β - β coupling) this time. Finally, with the optimized coupling conditions tetrameric (**85**) and hexameric (**86**) homooligomers were synthesized using the Fmoc-RibAFU(ip)-OH (**1**) monomer unit, and also attempted to gain insight into their secondary structure using ECD and 2D NMR spectroscopies.

In order to further optimize solid phase peptide synthesis the detailed examination of the active ester stability and formation from amino acids is crucial. For this purpose, various α - and β -amino acids were systematically tested by ^1H NMR using the PyBOP/DIEA reagent pair, which proved to be the most effective in case of the sugar amino acids. Based on the rates of active ester hydrolysis, the investigated amino acids can be classified into three separate groups. Furthermore, the amino acids incorporated in each group feature strikingly similar structural properties. The three groups are characterized as follows: *i*) fast hydrolyzing active ester, reactive amino acids without β - or γ -branching (*e.g.* Gly, Ala), *ii*) slow hydrolyzing active ester, β - or γ -branched less reactive amino acids (*e.g.* Thr, Ile), *iii*) stable active ester, less reactive amino acids with a rigid structure or a large side chain (*e.g.* ACPC, β^3 -Val). Since the kinetic models were in good agreement with the measurements, the hydrolysis half-life and the concentration of the active ester at the start of hydrolysis could be securely extracted from the models. Based on the formation and stability data, one can fine-tune the coupling conditions of each amino acid to be optimal, resulting in high coupling efficiency [124].

First, ECD and VCD spectroscopies were used for structural analysis of the prepared hetero- and homooligomers. The measured spectra were in general similar to the ones recorded in case of β -peptides and the characteristic bands predicted helical backbone arrangements. Interestingly, when I increased the number of monomer units step-by-step, the band intensities increased and the secondary structure became more stable. I observed the same effect during the temperature dependent experiments; as expected, at lower temperature the structural flexibility was substantially diminished. The structural characterization of the hexamer (**86**) obtained from Fmoc-RibAFU(ip)-OH (**1**) was envisaged to be performed by ^1H - ^1H coupled 2D

NMR measurements. The assignation of each monomer unit was successfully accomplished; however, the lack of enough ROE cross-peaks prevented the secondary structure to be fully determined.

We have also developed a method combining VCD/ECD spectroscopy and *ab initio* calculations that can be generally used for structure determination of β -peptides. To validate our method, diamide model compounds (**51**, **54** and **57**, **60**) were used and their secondary structural tendency was successfully determined. An interesting feature of the investigated models is that while the monomethyl amide-containing molecules (**51** and **54**) are stabilized by an internal H-bond, the dimethyl-amide-containing derivatives (**57** and **60**) give rise to steric hindrance. This structural change was routinely followed by ECD and VCD spectroscopy [131].

Our results extend the knowledge of foldamer chemistry and solid phase peptide synthesis. All in all, the foldamers bear favourable secondary structures which make them congenial to the naturally occurring peptides. Consequently, the prepared β -peptides might be used to modify the variable region of the Exendine-4 miniprotein in near future. By the inclusion of hydrophilic peptides increase of the solubility and favourable pharmacological (especially pharmacodynamic) properties are expected, which will enlarge the applicability of Exendine-4 type chimeric peptides for antidiabetic medications.

8. Irodalomjegyzék

- [1] J. L. Lau, M. K. Dunn, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2018**, *26*, 2700-2707.
- [2] S. H. Gellman, *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31*, 173-180.
- [3] D. J. Hill, M. J. Mio, R. B. Prince, T. S. Hughes, J. S. Moore, *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3893-4011.
- [4] C. Cabrele, T. A. Martinek, O. Reiser, Ł. Berlicki, *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 9718-9739.
- [5] R. P. Cheng, S. H. Gellman, W. F. DeGrado, *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3219-3232.
- [6] W. S. Horne, L. M. Johnson, T. J. Ketas, P. J. Klasse, M. Lu, J. P. Moore, S. H. Gellman, *PNAS* **2009**, *106*, 14751-14756.
- [7] G. Guichard, I. Huc, *Chem. Commun.*, **2011**, *47*, 5933-5941.
- [8] L. K. A. Pilsl, O. Reiser, *Amino Acids* **2011**, *41*, 709-718.
- [9] T. A. Martinek, F. Fülöp, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 687-702.
- [10] L. Kiss, F. Fülöp, *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 1116-1169.
- [11] I. M. Mándity, E. Wéber, T. A. Martinek, G. Olajos, G. K. Tóth, E. Vass, F. Fülöp, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 2171-2175.
- [12] M. D. P. Risseuw, M. Overhand, G. W. J. Fleet, M. I. Simone, *Tetrahedron: Asymmetry* **2007**, *18*, 2001-2010.
- [13] M. Risseuw, M. Overhand, G. W. J. Fleet, M. I. Simone, *Amino Acids* **2013**, *45*, 613-689.
- [14] N. Taricska, M. Bokor, D. K. Menyhárd, K. Tompa, A. Perczel, *Scientific Reports* **2019**, *9*, 2947-2955.
- [15] S. R. Drab, *Pharmacotherapy* **2010**, *6*, 609-624.
- [16] J. W. Neidigh, R. M. Fesinmeyer, K. S. Prickett, N. H. Andersen, *Biochemistry* **2001**, *40*, 13188-13200.
- [17] C. Bubert, C. Cabrele, O. Reiser, *Synlett* **1997**, 827-829.
- [18] A. Altmayer-Henzien, V. Declerck, J. Farjon, D. Merlet, R. Guillot, D. J. Aitken, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 10807-10810.
- [19] V. Declerck, D. J. Aitken, *Amino Acids* **2011**, *41*, 587-595.
- [20] E. Gorrea, G. Pohl, P. Nolis, S. Celis, K. K. Burusco, V. Branchadell, A. Perczel, R. M. Ortuno, *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 9795-9806.
- [21] E. Torres, E. Gorrea, K. K. Burusco, E. Da Silva, P. Nolis, Federico Rúa, S. Boussert, I. Díez-Pèrez, S. Dannenberg, S. Izquierdo, E. Giralt, C. Jaime, V. Branchadella, R. M. Ortuno, *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 564-575.

- [22] T. A. Martinek, G. K. Tóth, E. Vass, M. Hollósi, F. Fülöp, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1718-1721.
- [23] F. Fülöp, *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 2181-2204.
- [24] A. Hetényi, Zs. Szakonyi, I. M. Mándity, É. Szolnoki, G. K. Tóth, T. A. Martinek, F. Fülöp, *Chem. Commun.* **2009**, *2*, 177-179.
- [25] A. Hetényi, G. K. Tóth, Cs. Somlai, E. Vass, T. A. Martinek, F. Fülöp, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 10736-10741.
- [26] A. G. Giri, G. F. Jogdand, P. R. Rajamohanan, S. K. Pandey, C. V. Ramana, *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, *13*, 2656-2663.
- [27] V. Rjabovs, M. Turks, *Tetrahedron* **2013**, *69*, 10693-10710.
- [28] G. V. M. Sharma, P. S. Reddy, D. Chatterjee, A. C. Kunwar, *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 1562-1571.
- [29] G. V. M. Sharma, K. S. Reddy, S. J. Basha, K. R. Reddy, A. V. S. Sarma, *Org. Biomol. Chem.*, **2011**, *9*, 8102-8111.
- [30] S. K. Pandey, G. F. Jogdand, J. C. A. Oliveira, R. A. Mata, P. R. Rajamohanan, C. V. Ramana, *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 12946-12954.
- [31] J. P. Saludes, A. Natarajan, S. J. DeNardo, J. Gervay-Hague, *Chem. Biol. Drug Des.* **2010**, *75*, 455-460.
- [32] R. M. van Well, L. Marinelli, C. Altona, K. Erkelens, G. Siegal, M. van Raaij, A. L. Llamas-Saiz, H. Kessler, E. Novellino, A. Lavecchia, J. H. van Boom, M. Overhand, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 10822-10829.
- [33] S. Chandrasekhar, M. S. Reddy, B. Jagadeesh, A. Prabhakar, M. H. V. Ramana Rao, B. Jagannadh, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 13586-13587.
- [34] M. P. Watterson, L. Pickering, M. D. Smith, S. J. Hudson, P. R. Marsh, J. E. Mordaunt, D. J. Watkin, C. J. Newman, G. W. J. Fleet, *Tetrahedron: Asymmetry* **1999**, *10*, 1855-1859.
- [35] Y. Suhara, Y. Yamaguchi, B. Collins, R. L. Schnaar, M. Yanagishita, J. E.K. Hildreth, I. Shimadac, Y. Ichikawa, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2002**, *10*, 1999-2013.
- [36] S. A. W. Gruner, Gy. Kéri, R. Schwab, A. Venetianer, H. Kessler, *Org. Lett.* **2001**, *3*, 3723-3725.
- [37] S. A. W. Gruner, V. Truffault, G. Voll, E. Locardi, M. Stöckle, H. Kessler, *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 4365-4376.
- [38] S. A. W. Gruner, E. Locardi, E. Lohof, H. Kessler, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 491-514.
- [39] A. Nagy, B. Csordás, V. Zsoldos-Mády, I. Pintér, V. Farkas, A. Perczel, *Amino Acids* **2017**, *49*, 223-240.

- [40] V. Goldschmidt Göz, I. Pintér, V. Harmat, A. Perczel, *Eur. J. Org. Chem.* **2018**, 3, 355-361.
- [41] O. T. Schmidt, *Meth. Carbohydr. Chem.* **1963**, Vol. 2, 318-325, Acad. Press, New York.
- [42] K. P. R. Kartha, *Tetrahedron Lett.* **1986**, 27, 3415-3416.
- [43] J. D. Stevens, *Meth. Carbohydr. Chem.* **1972**, Vol. 6, 123-128, Acad. Press, New York.
- [44] K. J. Hale, L. Hough, S. Manaviazar, A. Calabrese, *Org. Lett.* **2014**, 16, 4838-4841.
- [45] K. J. Hale, L. Hough, S. Manaviazar, A. Calabrese, *Org. Lett.* **2015**, 17, 1738-1741.
- [46] M.-C. Wu, L. Anderson, C. W. Slife, L. J. Jensen, *J. Org. Chem.* **1974**, 39, 3014-3019.
- [47] L. Daley, C. Monneret, *Tetrahedron Letters* **1992**, 33, 3749-3752.
- [48] R. N. Russell, T. M. Weigel, O. Han, H.-w. Liu, *Carbohydrate Research* **1990**, 201, 95-114.
- [49] H. H. Baer, Y. Gan, *Carbohydrate Research*, **1991**, 210, 233-245.
- [50] B. Helferich, H. Dressler, R. Griebel, *Journal für praktische Chemie* **1939**, 153, 285-299.
- [51] L. D. Hall, D. C. Miller, *Carbohydrate Research* **1976**, 47, 299-305.
- [52] L. S. Jeong, M. J. Kim, H. O. Kim, Z.-G. Gao, S.-K. Kim, K. A. Jacobson, M. W. Chun, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2004**, 14, 4851-4854.
- [53] R. L. Whistler, L. W. Doner, *Meth. Carbohydr. Chem.* **1972**, Vol.6, 215-217, Acad. Press, New York.
- [54] L. Daley, P. Roger, C. Monneret, *J. Carbohydr. Chem.* **1997**, 16, 25-48.
- [55] J.-M. Vatéle, S. Hanessian, *Tetrahedron* **1996**, 52, 10557-10568.
- [56] Z.-G. Gao, H. T. Duong, T. Sonina, S.-K. Kim, P. Van Rompaey, S. Van Calenbergh, L. Mamedova, H. O. Kim, M. J. Kim, A. Y. Kim, B. T. Liang, L. S. Jeong, K. A. Jacobson, *J. Med. Chem.* **2006**, 49, 2689-2702.
- [57] K. Freudenberg, O. Burkhart, E. Braun, *Chem. Ber.* **1926**, 59, 714-720.
- [58] P. Van Rompaey, K. A. Jacobson, A. S. Gross, Z.-G. Gao, S. Van Calenbergh, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2005**, 13, 973-983.
- [59] M. P. DeNinno, H. Masamune, L. K. Chenard, K. J. DiRico, C. Eller, J. B. Etienne, J. E. Tickner, S. P. Kennedy, D. R. Knight, J. Kong, J. J. Oleynek, W. R. Tracey, R. J. Hill, *J. Med. Chem.* **2003**, 46, 353-355.
- [60] L. Cosyn, Z.-G. Gao, P. Van Rompaey, C. Lu, K. A. Jacobson, S. Van Calenbergh, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2006**, 14, 1403-1412.
- [61] B. Drouillat, B. Kellam, Gy. Dekany, M. S. Starr, I. Toth, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **1997**, 7, 2247-2250.

- [62] M. Jost, J.-C. Greie, N. Stemmer, S. D. Wilking, K. Altendorf, N. Sewald, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 4267-4269.
- [63] T. Hattori, A. Tsubone, Y. Sawama, Y. Monguchi, H. Sajiki, *Tetrahedron* **2014**, *70*, 4790-4798.
- [64] M. C. Bryan, D. Wernick, C. D. Hein, J. V. Petersen, J. W. Eschelbach, E. M. Doherty, *Beilstein J. Org. Chem.* **2011**, *7*, 1141-1149.
- [65] M. Irfan, E. Petricci, T. N. Glasnov, M. Taddei, C. O. Kappe, *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, *9*, 1327-1334.
- [66] F. Albericio, *Solid-Phase Synthesis: A Practical Guide (1 ed.)* **2000**, 848, CRC Press, Boca Raton.
- [67] G. N. Austin, P. D. Baird, G. W. J. Fleet, J. M. Peach, P. W. Smitha, D. J. Watkin, *Tetrahedron* **1987**, *43*, 3095-3108.
- [68] S. M. Christensen, H. F. Hansen, T. Koch, *Organic Process Research & Development* **2004**, *8*, 777-780.
- [69] S. Cruz-Gregorio, L. Hernández, M. Vargas, L. Quintero, F. Sartillo-Piscil, *J. Mex. Chem. Soc.* **2005**, *49*, 20-23.
- [70] V. Zsoldos-Mády, E. Zbiral, *Monatshefte für Chemie* **1986**, *117*, 1325-1338.
- [71] S. B. Ferreira, A. C. R. Sodero, M. F. C. Cardoso, E. S. Lima, C. R. Kaiser, F. P. Silva, Jr., V. F. Ferreira, *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 2364-2375.
- [72] T. Muhizi, S. Grelier, V. Coma, *J. Agric. Food Chem.* **2009**, *57*, 8770-8775.
- [73] D. T. Williams, J. K. N. Jones, *Can J. Chem.* **1967**, *45*, 7-8.
- [74] S. Chandrasekhar, M. S. Reddy, B. N. Babu, B. Jagadeesh, A. Prabhakar, B. Jagannadh, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 9664-9665.
- [75] B. Jagannadh, M. S. Reddy, C. L. Rao, A. Prabhakar, B. Jagadeesh, S. Chandrasekhar, *Chem. Commun.* **2006**, *46*, 4847-4849.
- [76] S. Nozaki, I. Muramatsu, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1982**, *55*, 2165-2168.
- [77] R. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 2149-2154.
- [78] L. A. Carpino, G. Y. Han, *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 3404-3409.
- [79] G. Barany, N. Kneib-Cordonier, D. G. Mullen, *Int. J. Peptide Protein Res.* **1987**, *30*, 705-739.
- [80] E. Valeur, M. Bradley, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 606-631.
- [81] J. Coste, D. LeNguyen, B. Castro, *Tetrahedron Letters* **1990**, *31*, 205-208.
- [82] C. A. Chantell, M. A. Onaiyekan, M. Menakuru, *J. Pept. Sci.* **2012**, *18*, 88-91.
- [83] A. Paquet, F. M. F. Chen, N. L. Benoiton, *Can J. Chem.* **1984**, *62*, 1335-1338.

- [84] A. El-Faham, F. Albericio, *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, *10*, 1499-1501.
- [85] F. Albericio, J. M. Bofill, A. El-Faham, S. A. Kates, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 9678-9683.
- [86] M. W. Giuliano, S. J. Maynard, A. M. Almeida, A. G. Reidenbach, L. Guo, E. C. Ulrich, I. A. Guzei, S. H. Gellman, *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 12351-12361.
- [87] C. A. G. N. Montalbetti, V. Falque, *Tetrahedron* **2005**, *61*, 10827-10852.
- [88] L. A. Carpino, H. Imazumi, A. El-Faham, F. J. Ferrer, C. Zhang, Y. Lee, B. M. Foxman, P. Henklein, C. Hanay, C. Mügge, H. Wenschuh, J. Klose, M. Beyermann, M. Bienert, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 441-445.
- [89] F. Albericio, M. Cases, J. Alsina, S. A. Triolo, L. A. Carpino, S. A. Kates, *Tetrahedron Letters* **1997**, *38*, 4853-4856.
- [90] I. M. Mándity, B. Olasz, S. B. Ötvös, F. Fülöp, *ChemSusChem.* **2014**, *7*, 3172-3176.
- [91] A. J. Mijalis, D. A. Thomas III, M. D. Simon, A. Adamo, R. Beaumont, K. F. Jensen, B. L. Pentelute, *Nat Chem Biol.* **2017**, *13*, 464-466.
- [92] D. H. Appella, L. A. Christianson, I. L. Karle, D. R. Powell, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 13071-13072.
- [93] D. Seebach, P. E. Ciceri, M. Overhand, B. Jaw, D. Rigo, *Helvetica Chimica Acta* **1996**, *79*, 2043-2066.
- [94] D. Seebach, M. Overhand, F. N. M. Kühnle, B. Martinoni, *Helvetica Chimica Acta* **1996**, *79*, 913-941.
- [95] D. H. Appella, L. A. Christianson, D. A. Klein, D. R. Powell, X. Huang, J. J. Barchi Jr., S. H. Gellman, *Nature* **1997**, *387*, 381-384.
- [96] D. H. Appella, J. J. Barchi, Jr., S. R. Durell, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 2309-2310.
- [97] D. H. Appella, L. A. Christianson, D. A. Klein, M. R. Richards, D. R. Powell, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 7574-7581.
- [98] E. Abraham, C. W. Bailey, T. D. W. Claridge, S. G. Davies, K. B. Ling, B. Odell, T. L. Rees, P. M. Roberts, A. J. Russell, A. D. Smith, L. J. Smith, H. R. Storr, M. J. Sweet, A. L. Thompson, J. E. Thomson, G. E. Tranter, D. J. Watkin, *Tetrahedron: Asymmetry* **2010**, *21*, 1797-1815.
- [99] A. Hetényi, I. M. Mándity, T. A. Martinek, G. K. Tóth, F. Fülöp, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 547-553.
- [100] T. A. Martinek, I. M. Mándity, L. Fülöp, G. K. Tóth, E. Vass, M. Hollósi, E. Forró, F. Fülöp, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 13539-13544.

- [101] I. M. Mándity, L. Fülöp, E. Vass, G. K. Tóth, T. A. Martinek, F. Fülöp, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 5584-5587.
- [102] J. J. Barchi Jr., X. Huang, D. H. Appella, L. A. Christianson, S. R. Durell, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2711-2718.
- [103] L. Byrne, J. Solà, T. Boddaert, T. Marcelli, R. W. Adams, G. A. Morris, J. Clayden, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 151-155.
- [104] M. De Poli, L. Byrne, R. A. Brown, J. Solà, A. Castellanos, T. Boddaert, R. Wechsel, J. D. Beadle, J. Clayden, *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 4659-4675.
- [105] I. M. Mándity, F. Fülöp, *Expert Opin Drug Discov.* **2015**, *10*, 1163-1177.
- [106] T. Sawada, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 7336-7339.
- [107] S. Chandrasekhar, G. P. K. Reddy, M. U. Kiran, C. Nagesh, B. Jagadeesh, *Tetrahedron Letters* **2008**, *49*, 2969-2973.
- [108] S. Chandrasekhar, N. Kiranmai, M. U. Kiran, A. S. Devi, G. P. K. Reddy, M. Idrisc, B. Jagadeesh, *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 6962-6964.
- [109] T. K. Chakraborty, P. Srinivasu, E. Bikshapathy, R. Nagaraj, M. Vairamani, S. Kiran Kumar, A. C. Kunwar, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 6257-6263.
- [110] Y. Suhara, M. Kurihara, A. Kittakac, Y. Ichikawa, *Tetrahedron* **2006**, *62*, 8207-8217.
- [111] Nagy Adrienn, *Aminofuranozil-karbonsav prekurzorok szintézislehetőségeinek vizsgálata*, BSc szakdolgozat, ELTE-TTK, **2012**.
- [112] Nagy Adrienn, *3-Amino-3-dezoxi-D-ribofurán-uronsav származékok szintézise*, MSc szakdolgozat, ELTE-TTK, **2014**.
- [113] A. Nagy, B. Csordás, V. Zsoldos-Mády, I. Pintér, V. Farkas, A. Perczel, *Amino Acids* **2017**, *49*, 223-240.
- [114] Csordás Barbara, *Cukoraminosav foldamerek szintézise és szerkezetvizsgálata*, doktori értekezés, ELTE-TTK, **2016**.
- [115] J. Kiss, K. Noack, *Carbohyd Res.* **1971**, *16*, 245-247.
- [116] K. Knapp, M. Góreczki, J. Frelek, R. Luboradzki, M. Hollósi, Zs. Majer, E. Vass, *Chirality* **2014**, *26*, 228-242.
- [117] B. Csordás, A. Nagy, V. Harmat, V. Zsoldos-Mády, I. Leveles, I. Pintér, V. Farkas, A. Perczel, *Amino Acids* **2016**, *48*, 2619-2633.
- [118] M. Amblard, J.-A. Fehrentz, J. Martinez, G. Subra, *Molecular Biotechnology* **2006**, *33*, 239-254.
- [119] S. Punna, M. G. Finn, *Synlett* **2004**, *1*, 99-100.
- [120] D. A. C. Beck, D. O. V. Alonso, D. Inoyama, V. Daggett, *PNAS* **2008**, *105*, 12259-12264.

- [121] A. Nagy, V. Goldschmidt Gőz, I. Pintér, V. Farkas, A. Perczel, *Amino Acids* **2019**, *51*, 669-678.
- [122] T. N. Gallaher, D. A. Gaul, *J. Chem. Educ.* **1996**, *73*, 465-466.
- [123] Goldschmidtné Gőz Viktória, *Új β -cukoraminosavak előállítása és beépítése új foldamerekbe*, doktori értekezés, ELTE-TTK, **2019**.
- [124] V. Goldschmidt Gőz, A. Nagy, V. Farkas, E. Keszei, A. Perczel, *RSC Advances* **2019**, közlésre elfogadva
- [125] Perczel András, *Peptidek és fehérjék térszerkezetvizsgálata*, ELTE, Szerves Kémiai Tanszék, Előadásokhoz kapcsolódó segédanyagok.
- [126] T. A. Keiderling, *Current Opinion in Chemical Biology* **2002**, *6*, 682-688.
- [127] M. Hollósi, E. Vass, I. Laczkó, *Műszaki Szemle* **2003**, *24*, 3-6.
- [128] A. Perczel, M. Hollósi, *Circular Dichroism and the Conformational Analysis of Biomolecules (ed.: G. D. Fasman)* **1996**, 285-380, Plenum Press, New York.
- [129] A. A. Edwards, G. W. J. Fleet, G. E. Tranter, *Chirality* **2006**, *18*, 265-272.
- [130] R. Threlfall, A. Davies, N. M. Howarth, J. Fisher, R. Cosstick, *Chem. Commun.* **2008**, *5*, 585-587.
- [131] V. Farkas, A. Nagy, D. K. Menyhárd, A. Perczel, *Chem. Eur. J.* **2019**, DOI: 10.1002/chem.201903023
- [132] L. A. Nafie, *Vibrational Optical Activity: Principles and Applications* **2011**, John Wiley & Sons Ltd, UK.
- [133] E. Vass, U. Strijowski, K. Wollschlager, I. M. Mándity, G. Szilvágyné, M. Jewginski, K. Gaus, S. Royo, Z. Majer, N. Sewald, M. Hollósi, *J. Pept. Sci.* **2010**, *16*, 613-620.
- [134] T. Beke, Cs. Somlai, A. Perczel, *J. Comput. Chem.* **2006**, *27*, 20-38.
- [135] D. K. Menyhárd, I. Hudáky, I. Jákló, Gy. Juhász, A. Perczel, *J. Chem. Inf. Model.* **2017**, *57*, 757-768.
- [136] M. Sattler, J. Schleucher, C. Griesinger, *Prog. NMR Spectr.* **1999**, *34*, 93.
- [137] Szilvágyné L., *Magyar Kémiai Folyóirat* **2004**, *3*, 136-142.
- [138] Király Péter, *Intra- és intermolekuláris cserefolyamatok vizsgálata oldat- és szilárdfázisú multinukleáris NMR spektroszkópiával*, doktori értekezés, ELTE-TTK, **2010**.
- [139] Rovó Petra, *Trp-cage miniproteins structure, dynamics and folding*, doktori értekezés, ELTE-TTK, **2014**.
- [140] H. A. Staab, K. Wendel, *Ann. Chem.* **1966**, *694*, 86-90.
- [141] A. Gomtsyan, I. Savelyeva, S. Belyakov, I. Kalvinsh, *Carbohydrate Research* **1992**, *232*, 341-348.

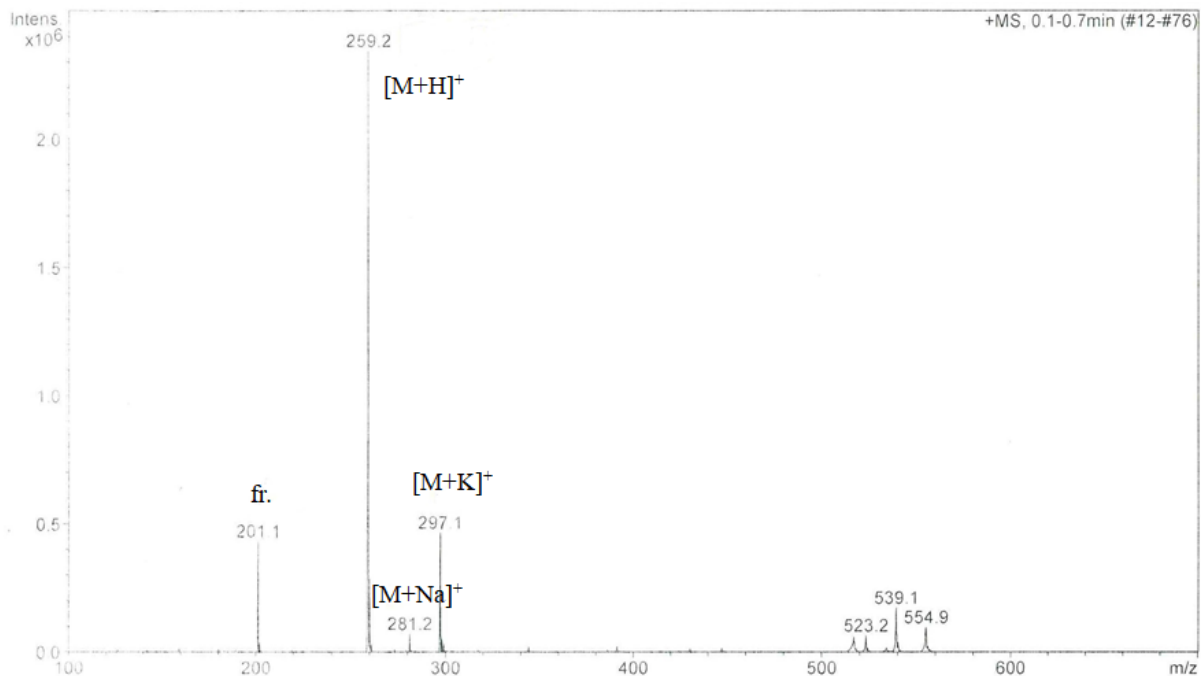
[142] J. Kovář and J. Jarý, *Chem. Commun.* **1969**, 34, 2619-2726.

[143] L. N. Kulinkovich, V. A. Timoshchuk, *J. Gen. Chem.* **1983**, 53, 1917-1922.

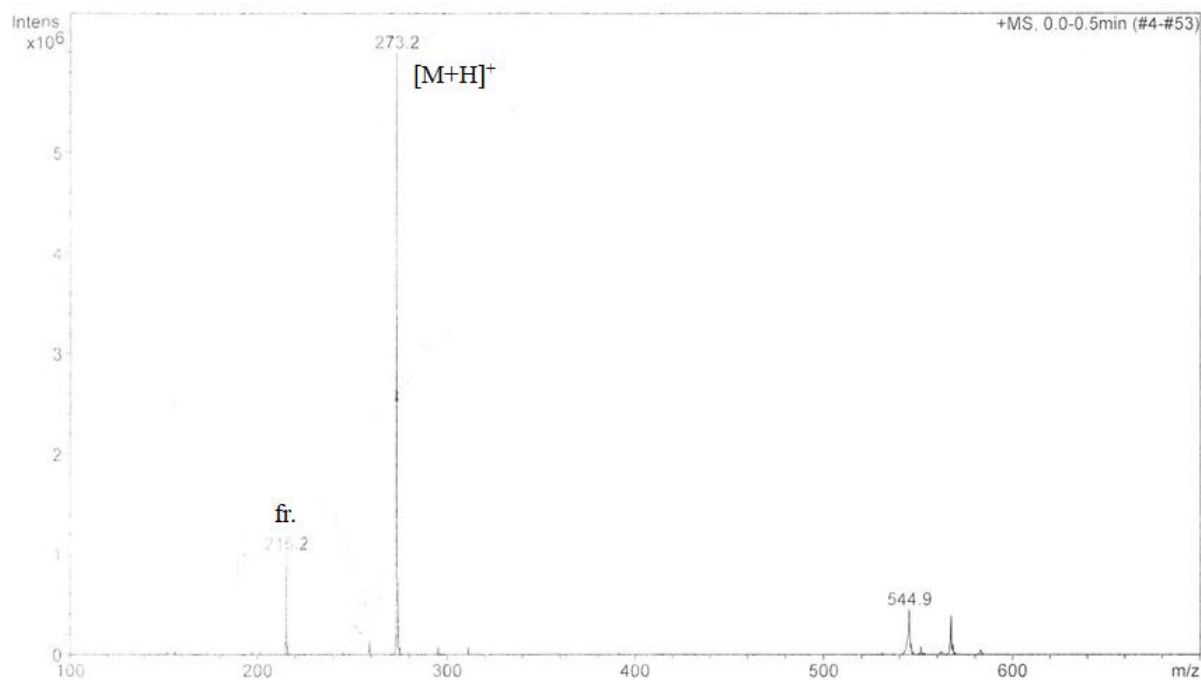
9. Függelék

9.1. ESI-MS spektrumok

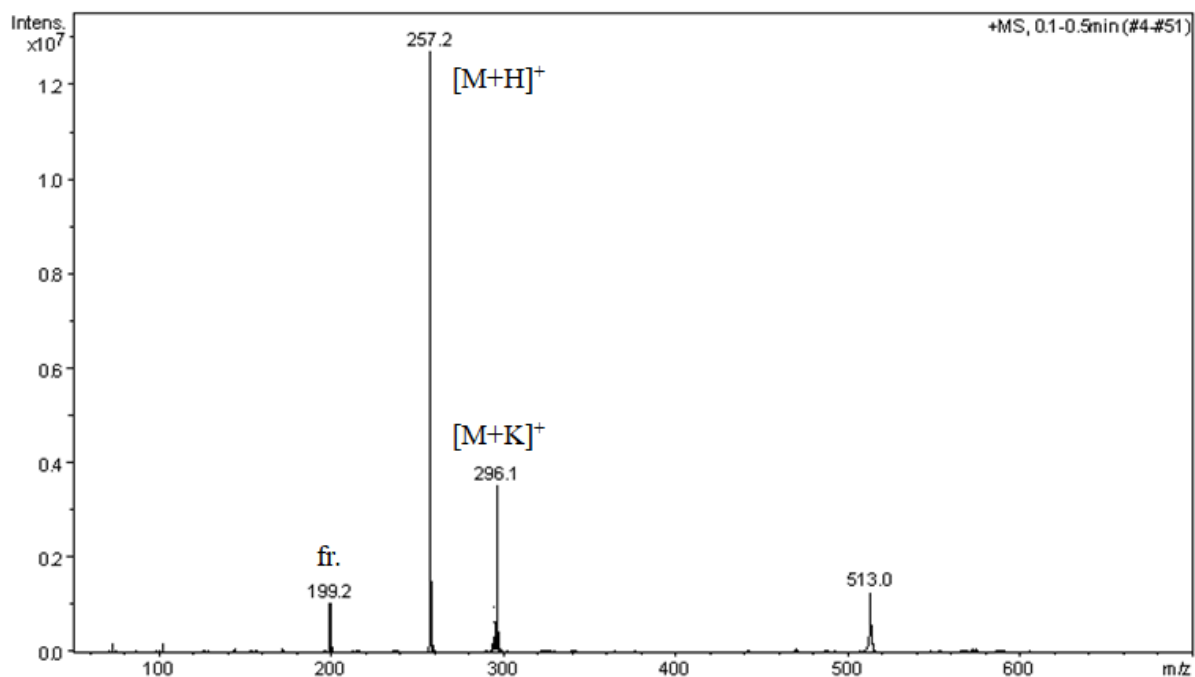
N-Metil-1,2-*O*-izopropilidén-3-acetamido-3-dezoxi- α -D-xilofurán-uronamid (**54**):



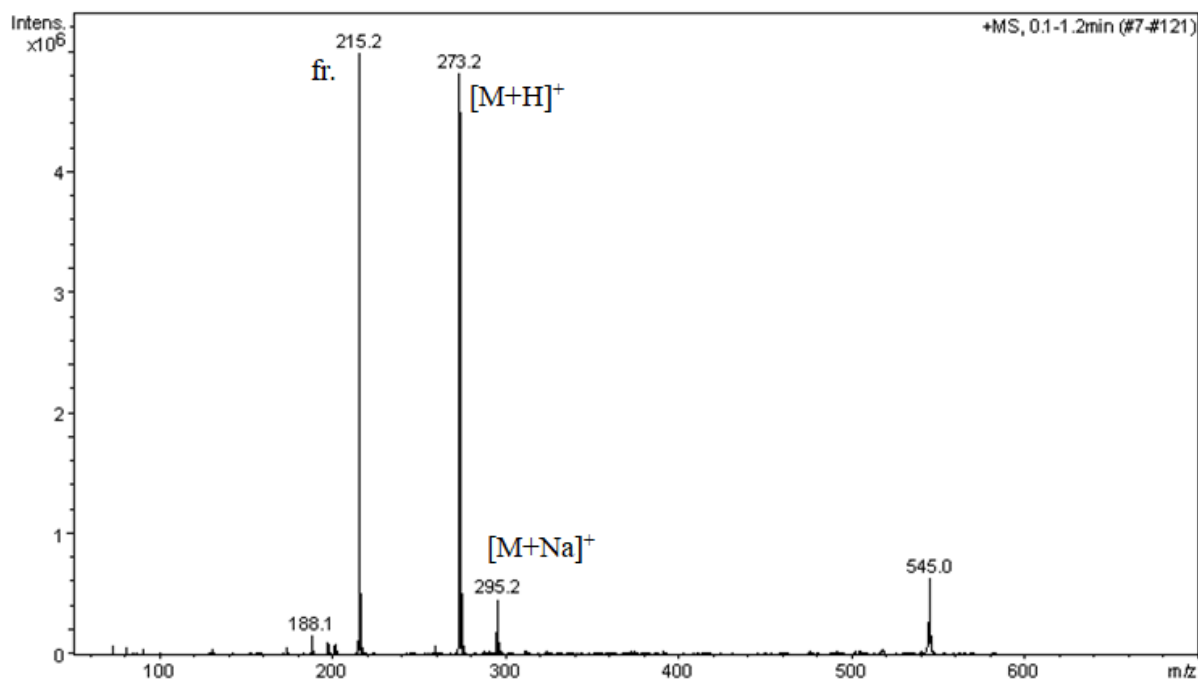
N,N-Dimetil-1,2-*O*-izopropilidén-3-acetamido-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronamid (**57**):



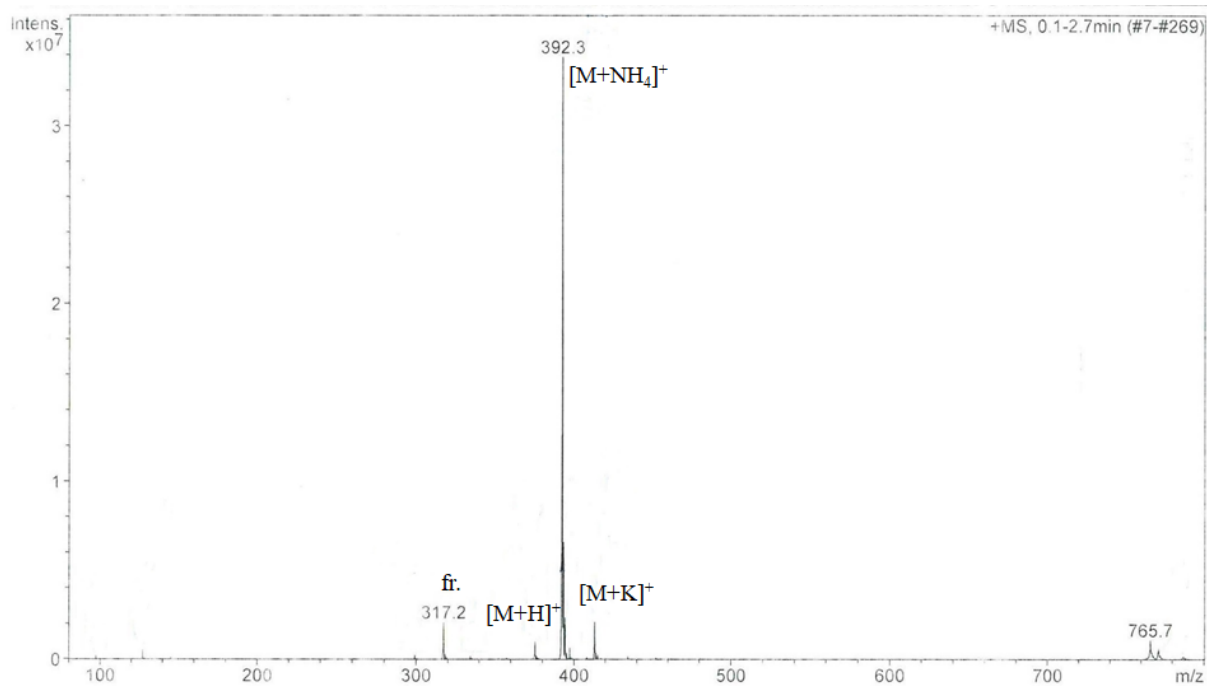
N,N-Dimetil-1,2-*O*-izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-xilofurán-uronamid (**58**):



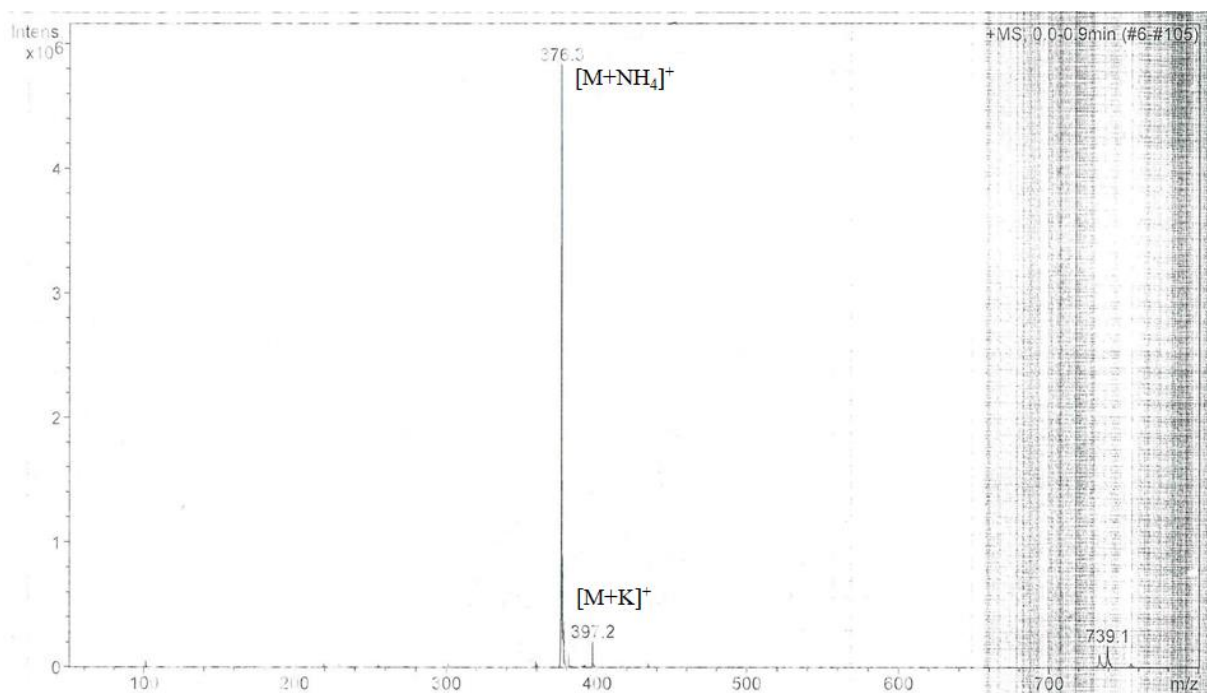
N,N-Dimetil-1,2-*O*-izopropilidén-3-acetamido-3-dezoxi- α -D-xilofurán-uronamid (**60**):



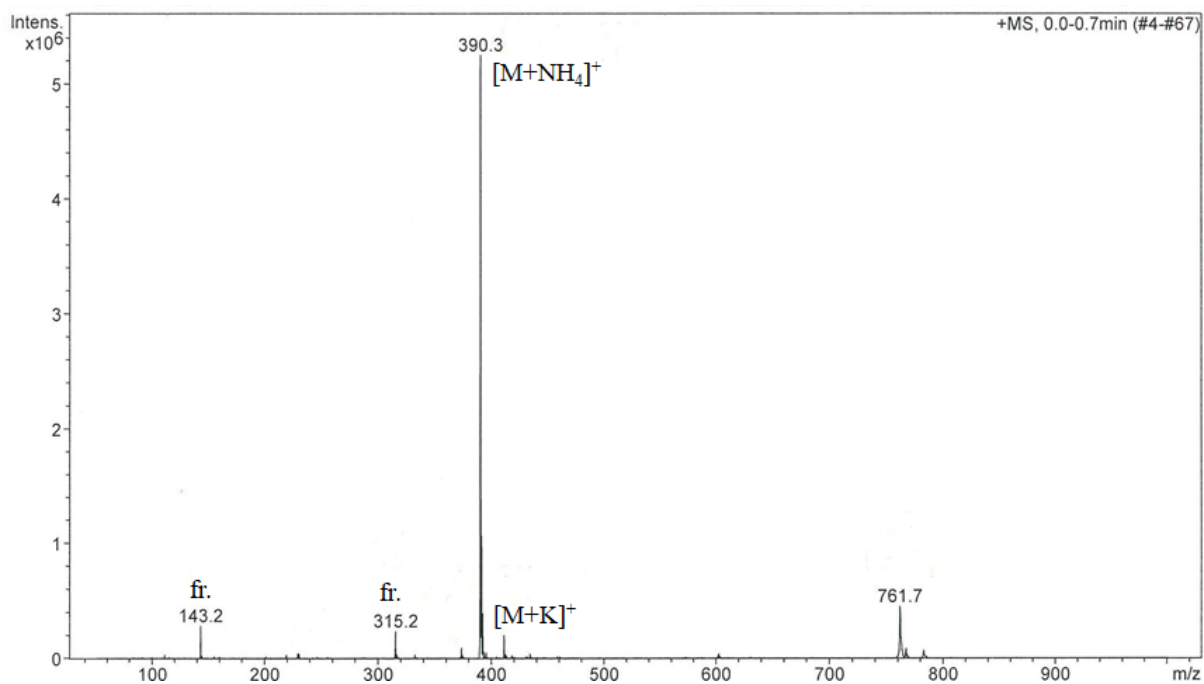
1,2-*O*-Izopropilidén-3-*O*-toluolszulfonil- α -D-glükofuranóz (36):



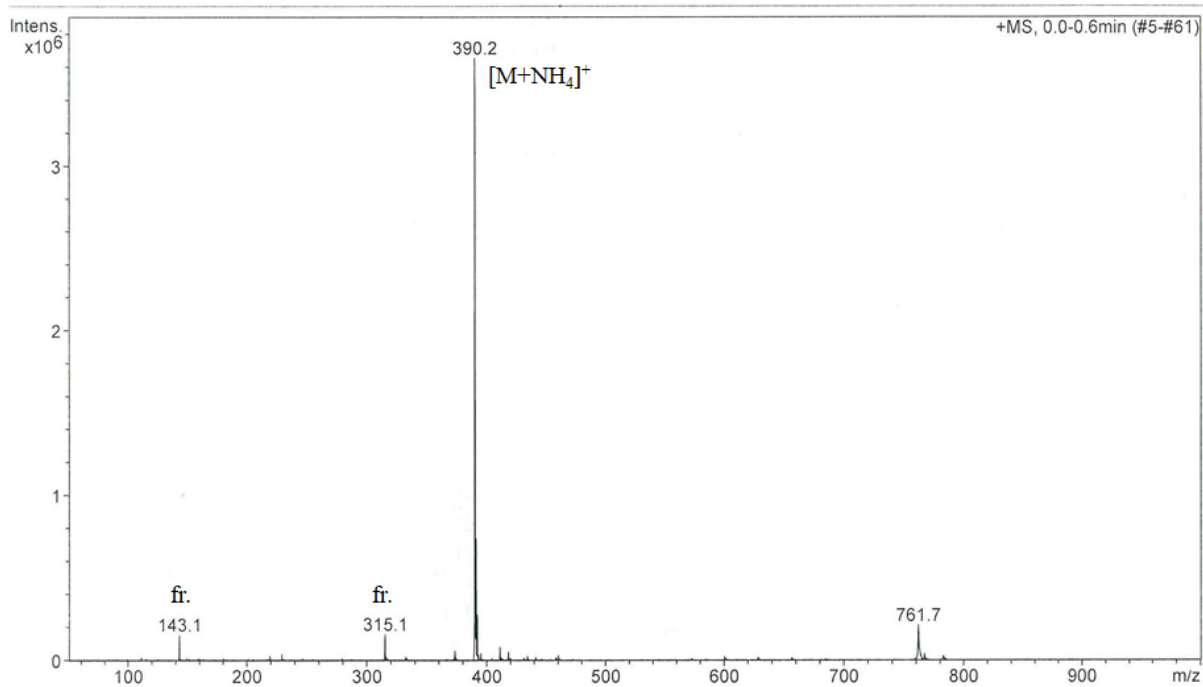
1,2-*O*-Izopropilidén-3-*O*-toluolszulfonil- α -D-xilofurán-uronsav (41):



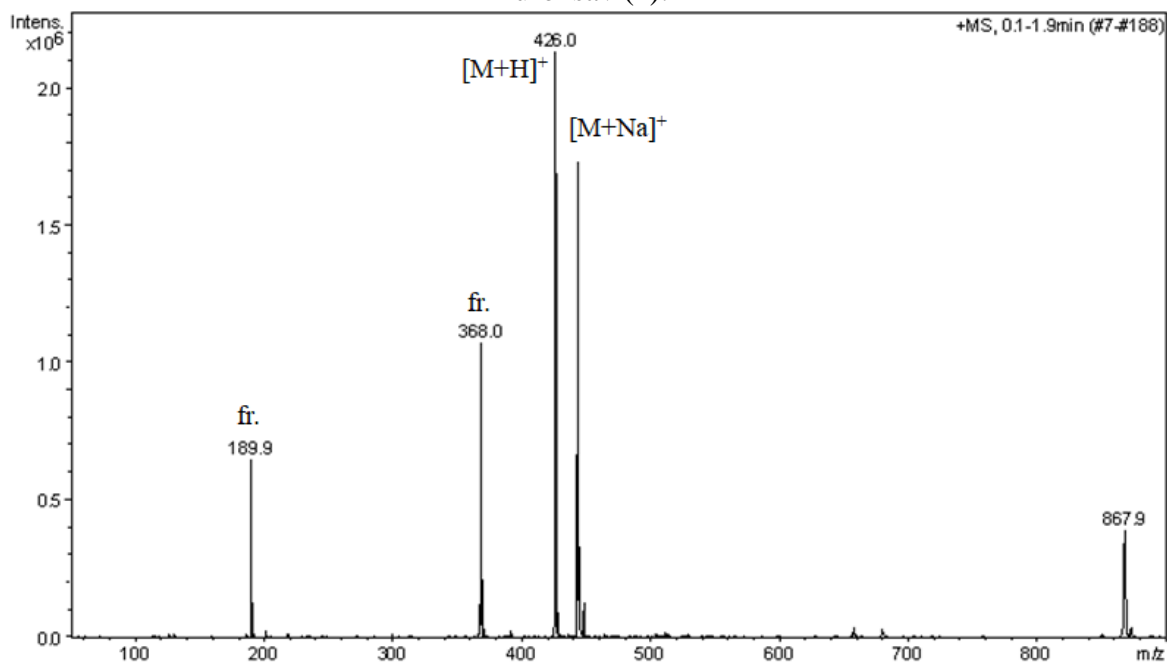
1,2-*O*-Izopropilidén-3-*O*-toluolszulfonil- α -D-xilofurán-uronsav metilészter (**38**):



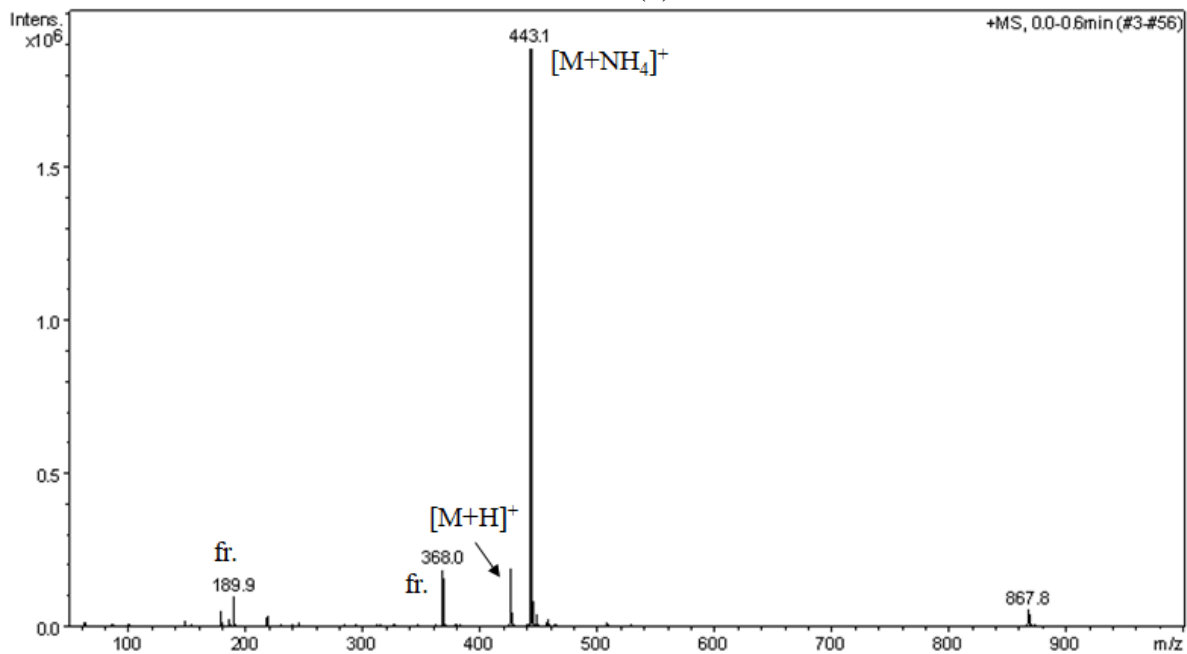
1,2-*O*-Izopropilidén-3-*O*-toluolszulfonil- α -D-ribofurán-uronsav metilészter (**48**):



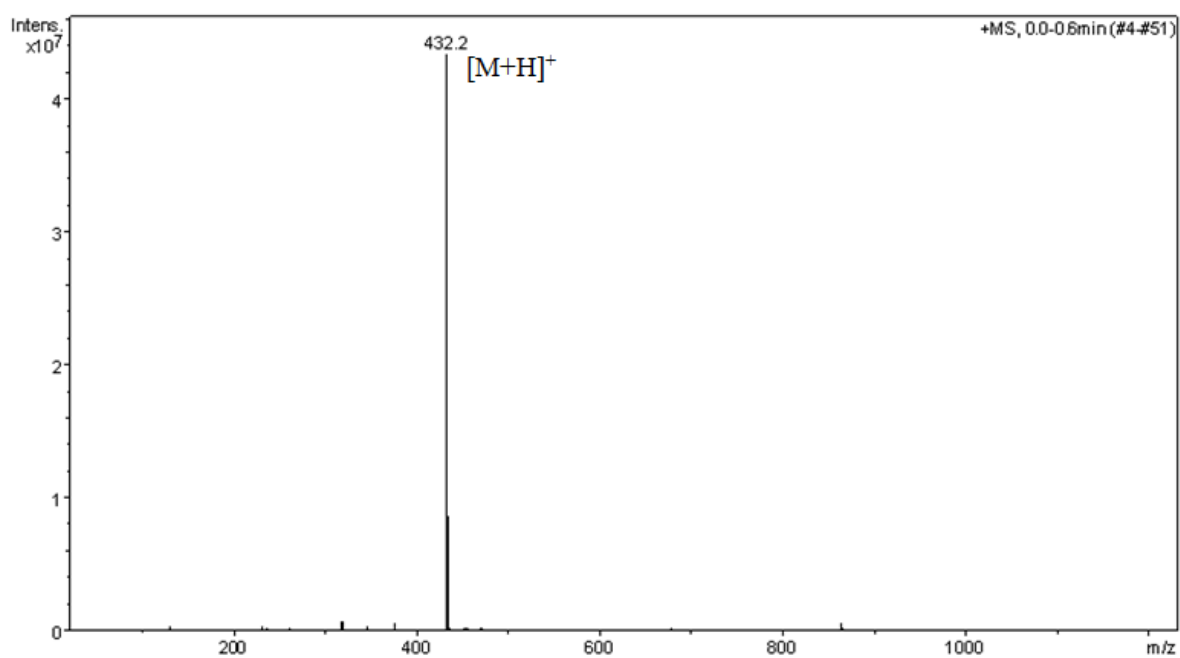
1,2-*O*-Izopropilidén-*N*-(9-fluorenil-metoxi-karbonil)-3-amino-3-dezoxi- α -D-ribofurán-
uronsav (**1**):



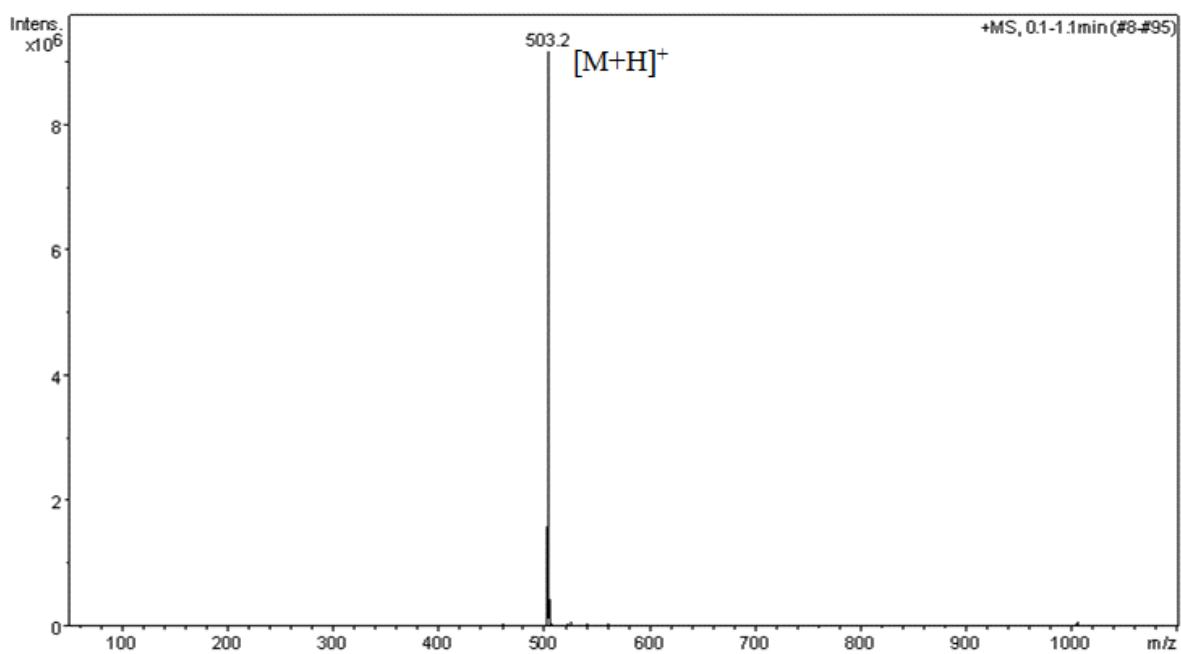
1,2-*O*-Izopropilidén-*N*-(9-fluorenil-metoxi-karbonil)-3-amino-3-dezoxi- α -D-xilofurán-
uronsav (**2**):



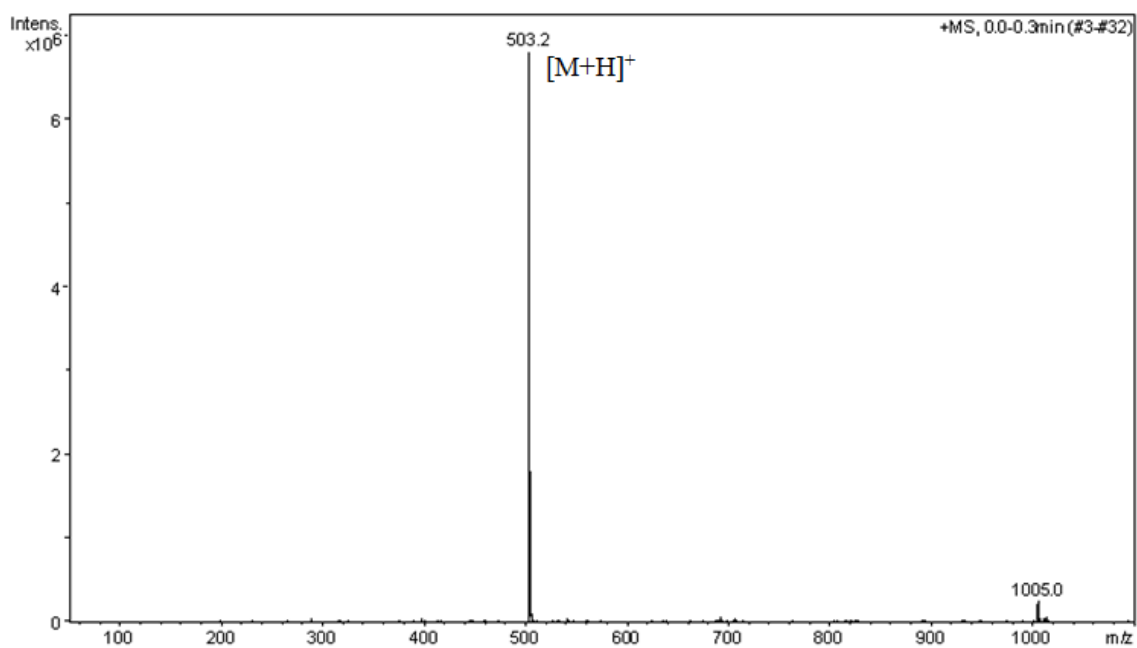
H-GGtXGG-OH (68):



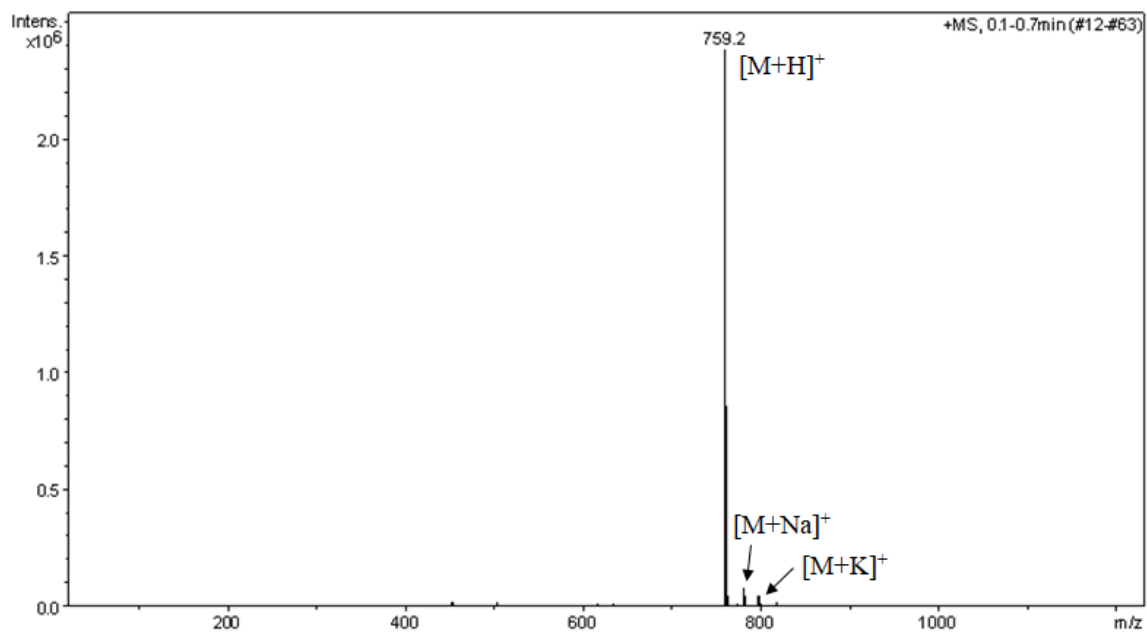
H-GtXtXG-OH (79):



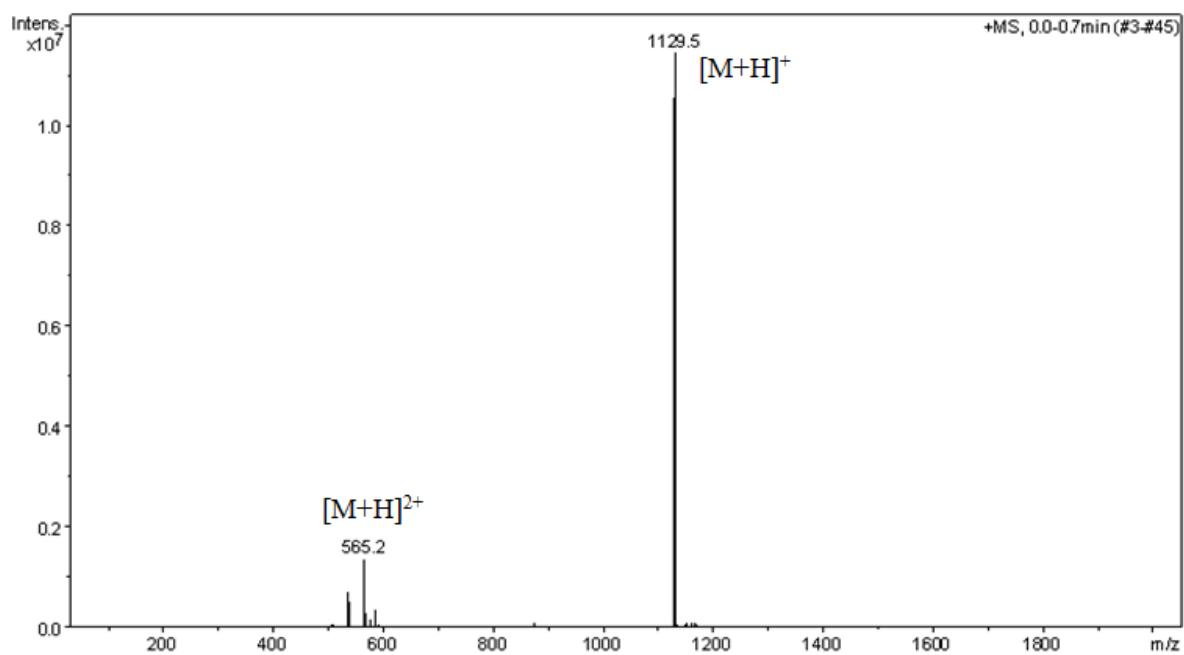
H-GcXcXG-OH (**82**):



H-(tX)₄-OH (**85**):

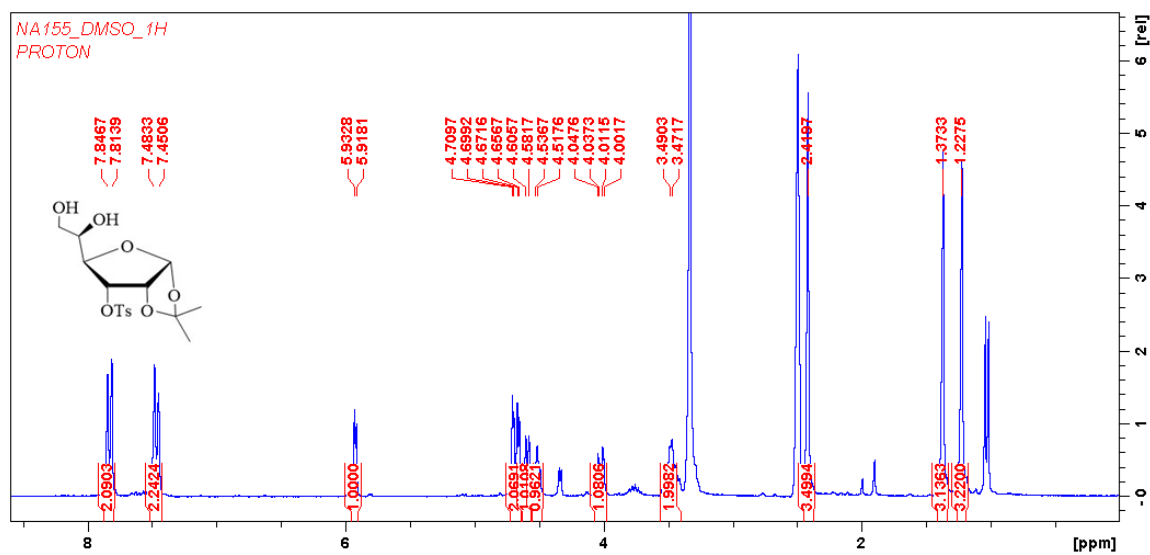


H-(tX)₆-OH (86):

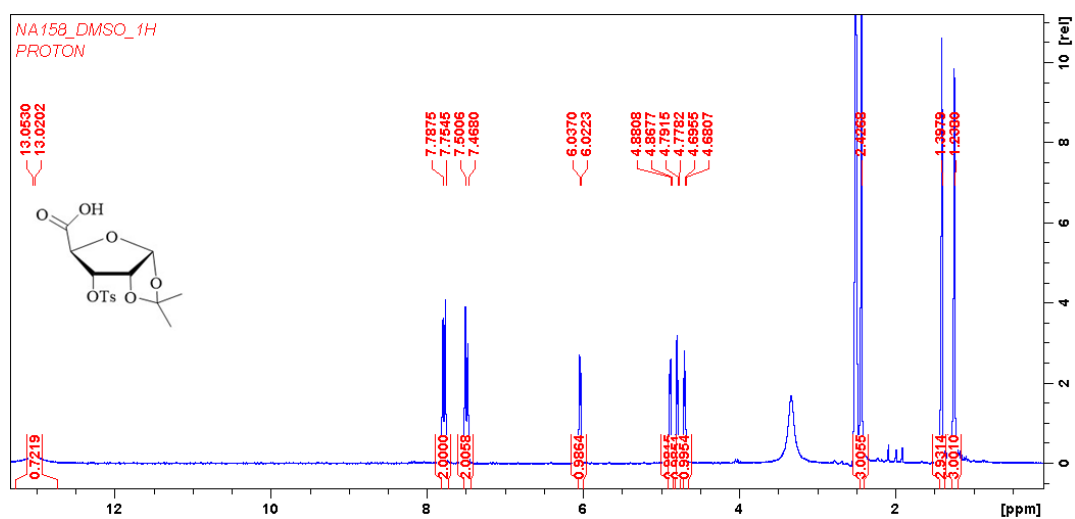


9.2. NMR spektrumok

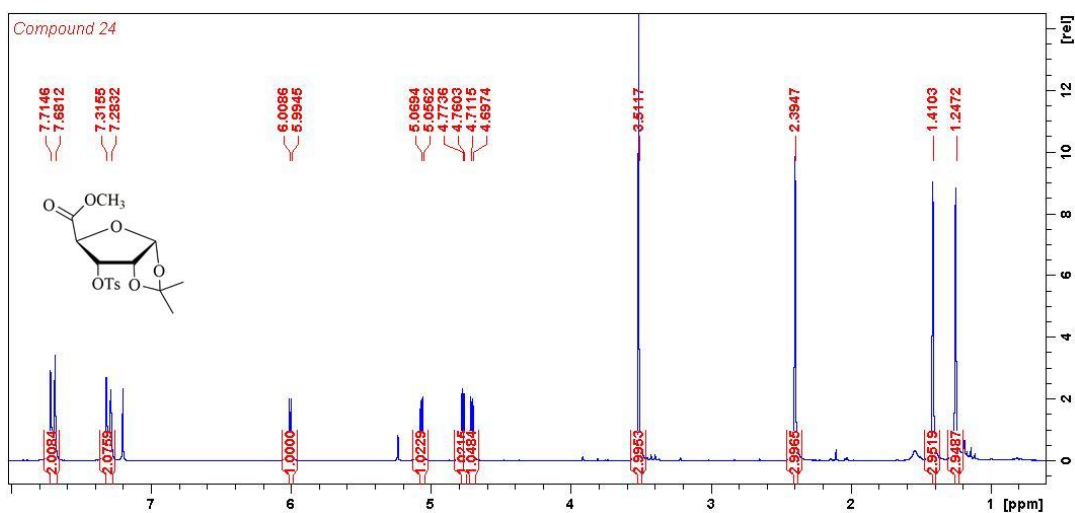
1,2-*O*-Izopropilidén-3-*O*-toluolszulfonil- α -D-allofuranóz (47), ¹H NMR spektrum:



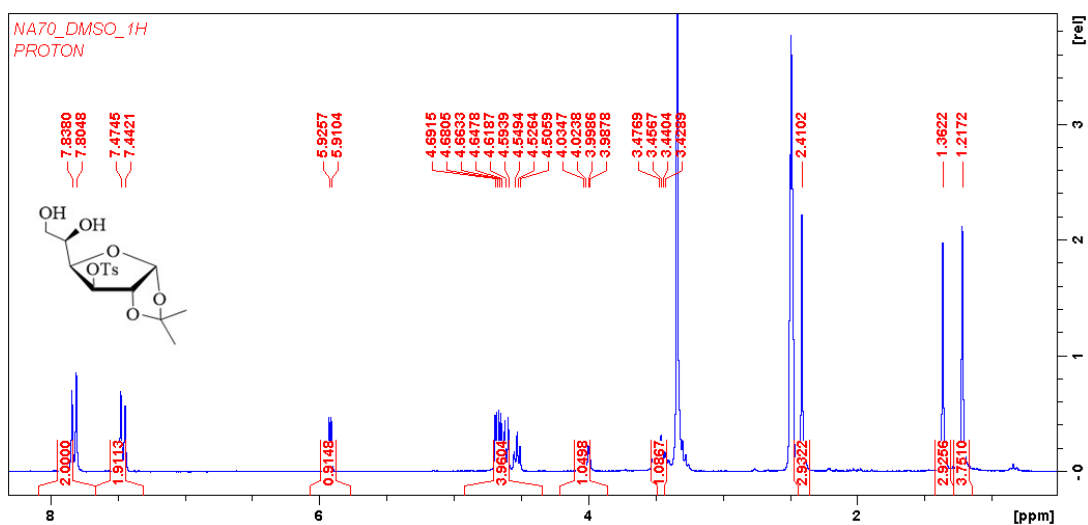
1,2-*O*-Izopropilidén-3-*O*-toluolszulfonil- α -D-ribofuran-uronsav (**91**), ^1H NMR spektrum:



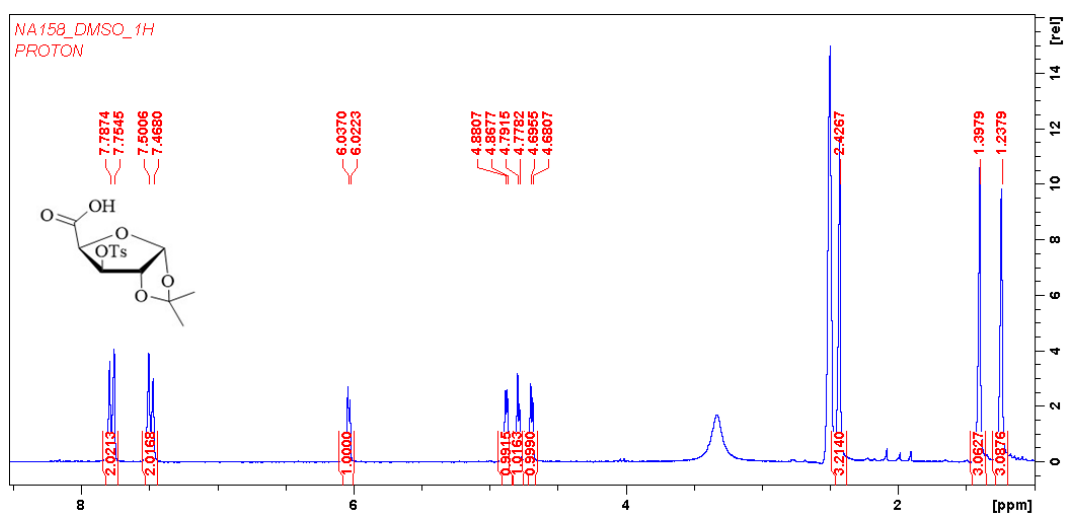
1,2-*O*-Izopropilidén-3-*O*-toluolszulfonil- α -D-ribofuran-uronsav metilészter (**48**), ^1H NMR spektrum:



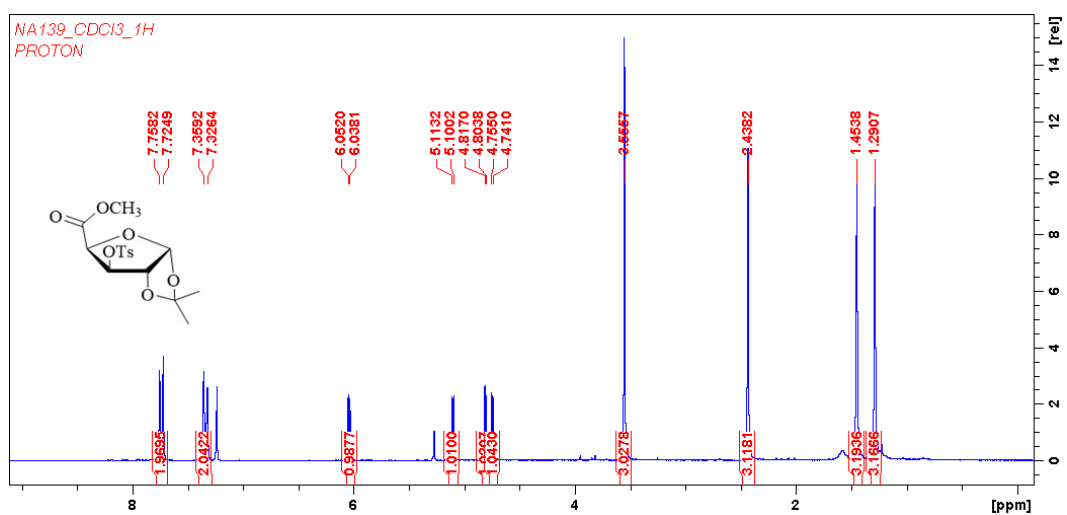
1,2-*O*-Izopropilidén-3-*O*-toluolszulfonil- α -D-glükofuranóz (**36**), ^1H NMR spektrum:



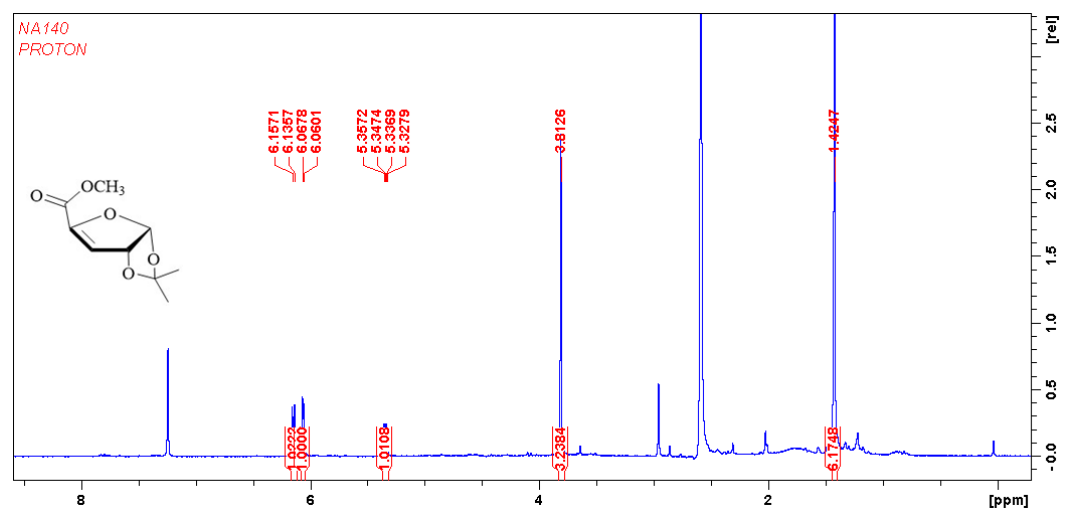
1,2-*O*-Izopropilidén-3-*O*-toluolszulfonil- α -D-xilofurán-uronsav (**41**), ^1H NMR spektrum:



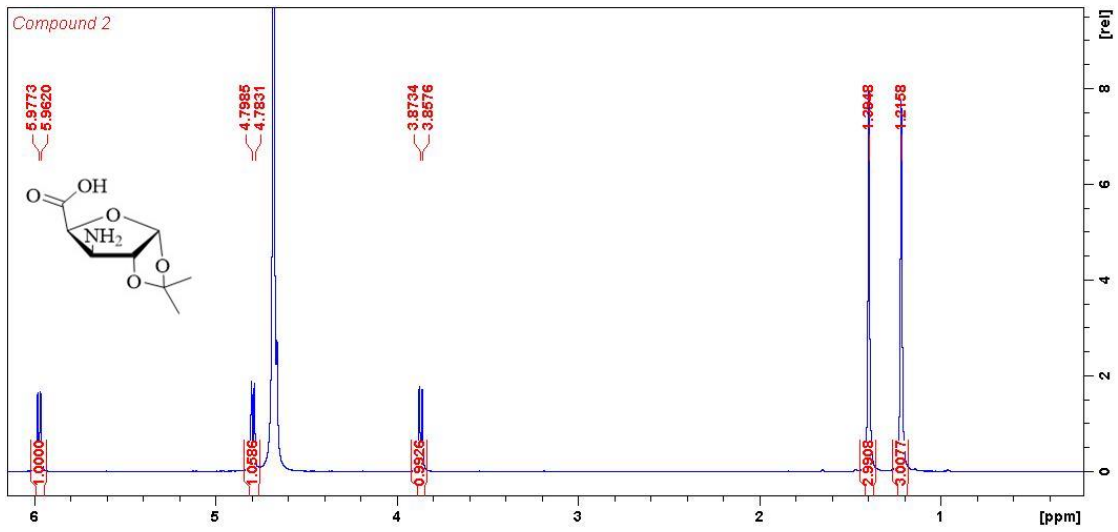
1,2-*O*-Izopropilidén-3-*O*-toluolszulfonil- α -D-xilofurán-uronsav metilészter (**38**), ^1H NMR spektrum:



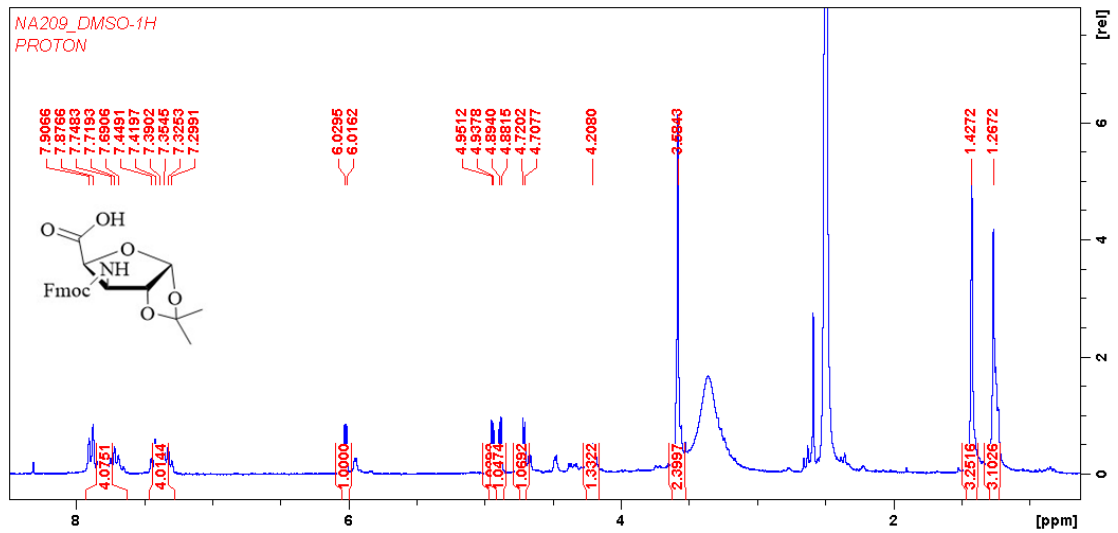
Metil-3-dezoxi-1,2-*O*-izopropilidén-D-glicero-pent-3-enofuránuronát (**40**), ^1H NMR spektrum:



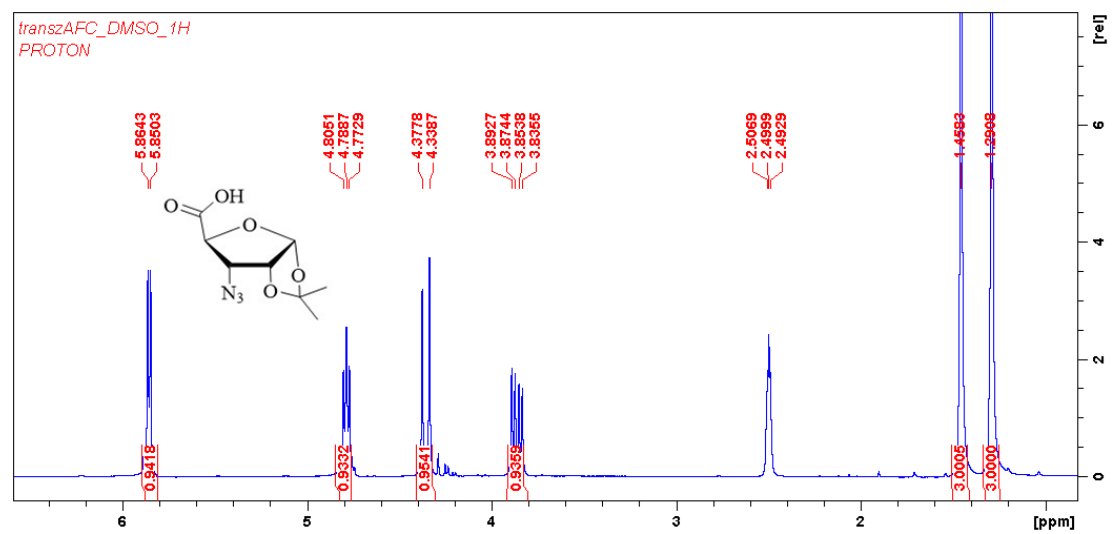
1,2-*O*-Izopropilidén-3-amino-3-dezoxi- α -D-xilofurán-uronsav (4), ^1H NMR spektrum:



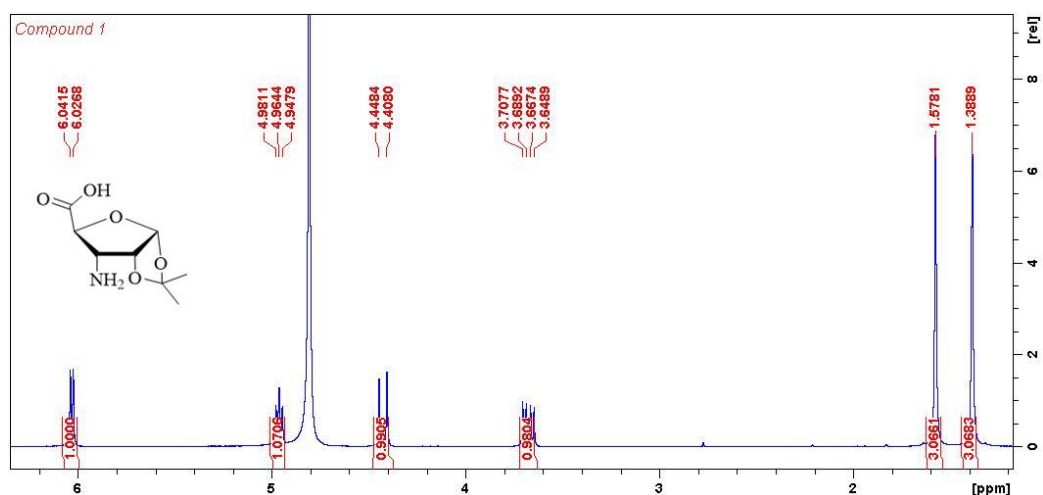
1,2-*O*-Izopropilidén-*N*-(9-fluorenil-metoxi-karbonil)-3-amino-3-dezoxi- α -D-xilofurán-uronsav (2), ^1H NMR spektrum:



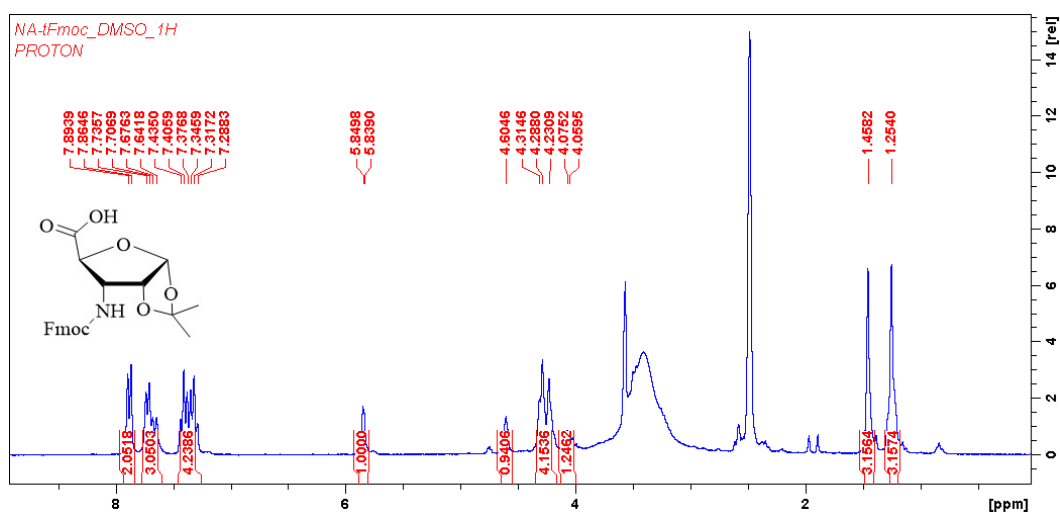
1,2-*O*-Izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronsav (13), ^1H NMR spektrum:



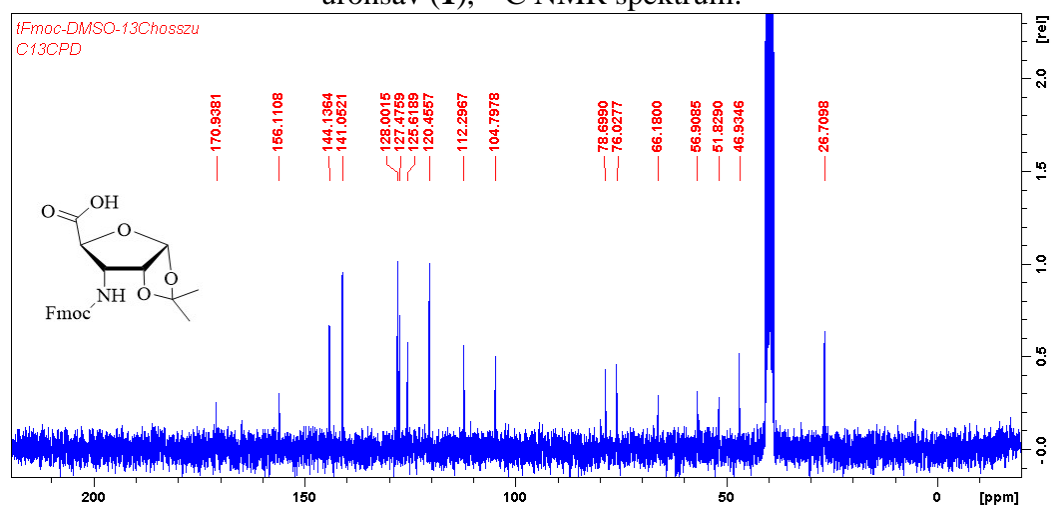
1,2-*O*-Izopropilidén-3-amino-3-dezoxi- α -D-ribofuran-uronsav (3), ^1H NMR spektrum:



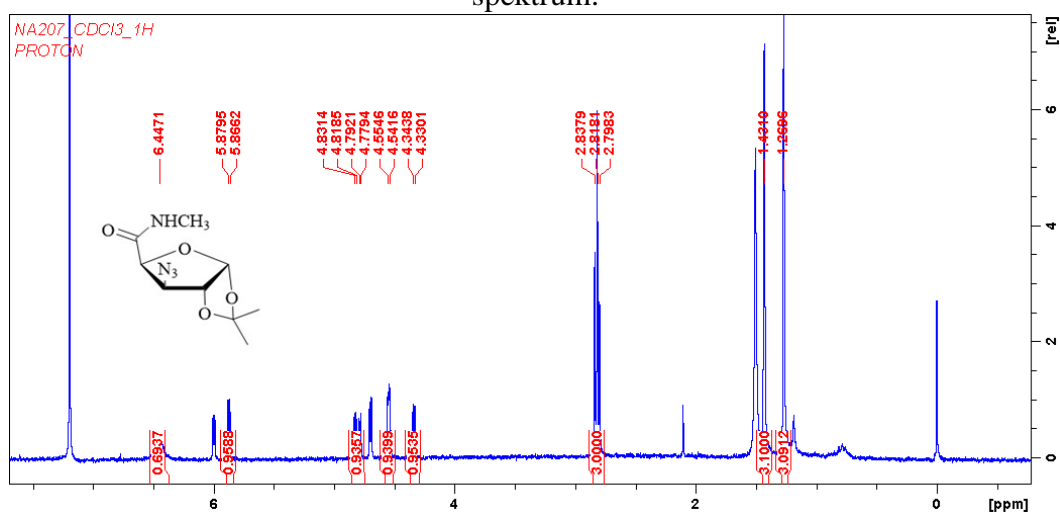
1,2-*O*-izopropilidén-*N*-(9-fluorenil-metoxi-karbonil)-3-amino-3-dezoxi- α -D-ribofuran-uronsav (1), ^1H NMR spektrum:



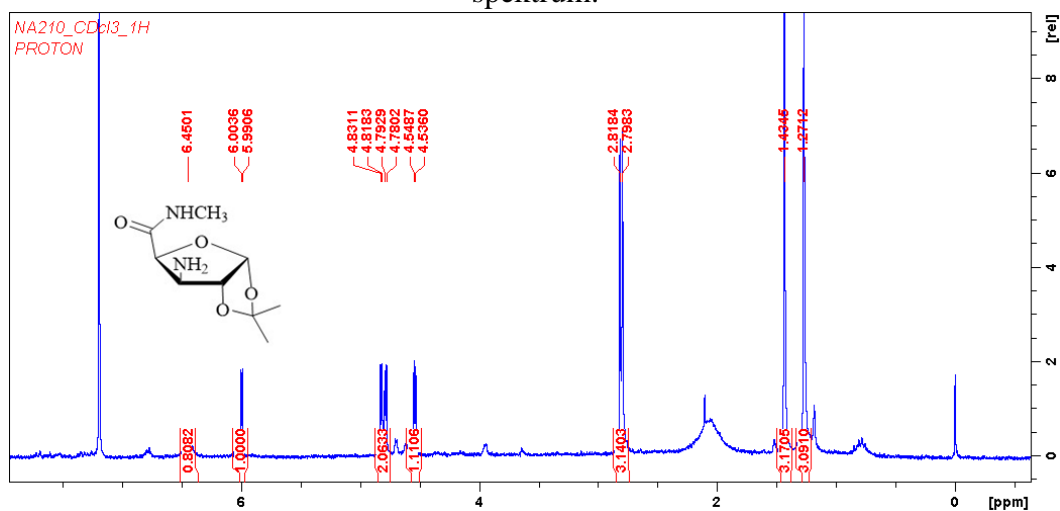
1,2-*O*-izopropilidén-*N*-(9-fluorenil-metoxi-karbonil)-3-amino-3-dezoxi- α -D-ribofuran-uronsav (1), ^{13}C NMR spektrum:



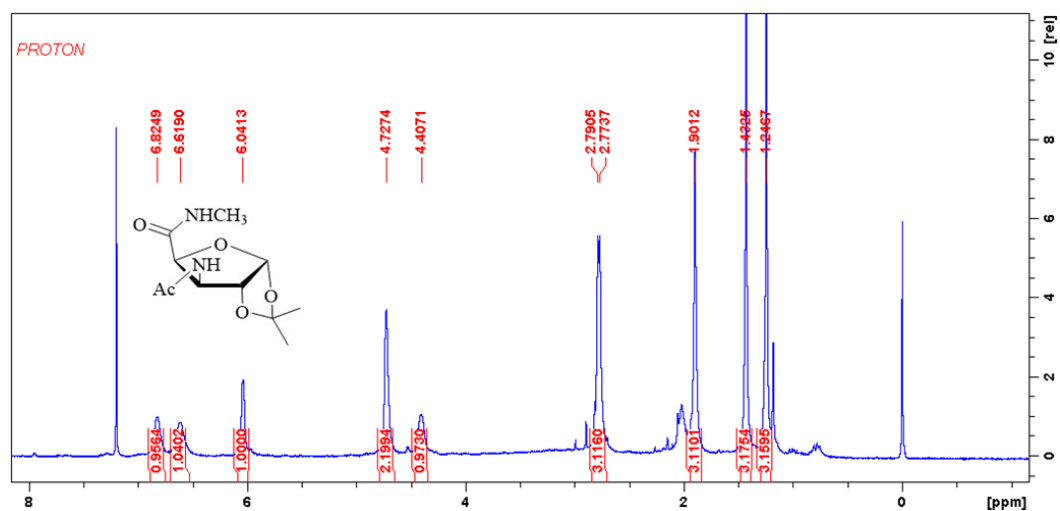
N-Metil-1,2-*O*-izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-xilofurán-uronamid (**52**), ^1H NMR spektrum:



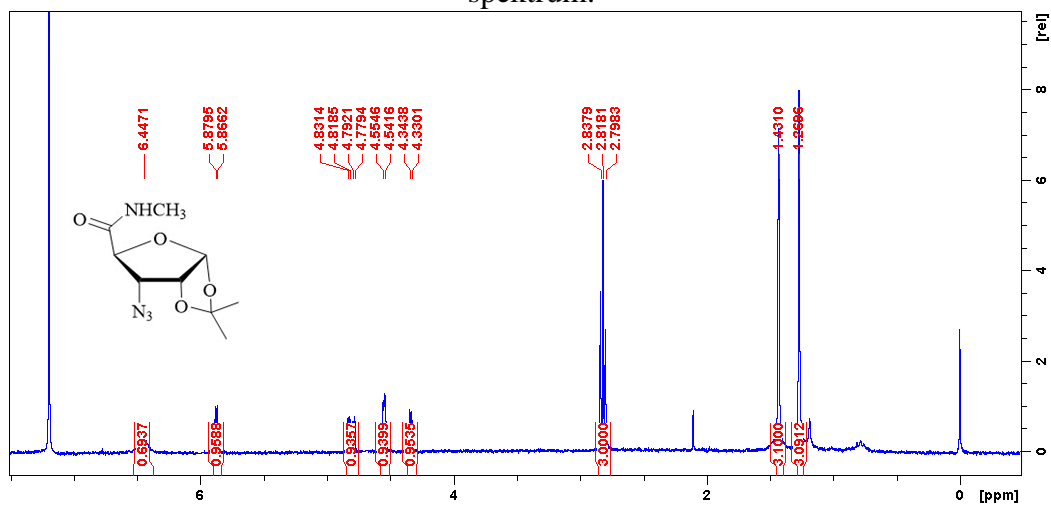
N-Metil-1,2-*O*-izopropilidén-3-amino-3-dezoxi- α -D-xilofurán-uronamid (**53**), ^1H NMR spektrum:



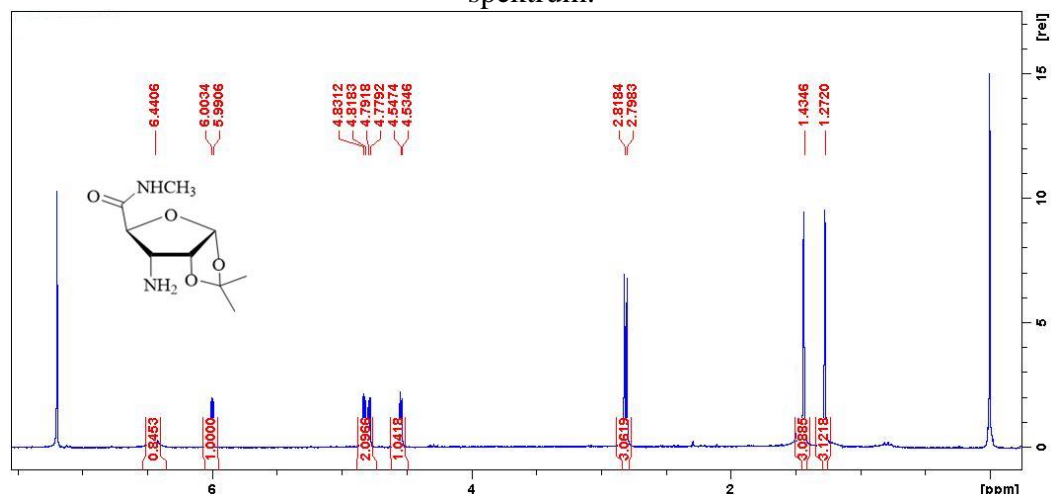
N-Metil-1,2-*O*-izopropilidén-3-acetamido-3-dezoxi- α -D-xilofurán-uronamid (**54**), ^1H NMR spektrum:



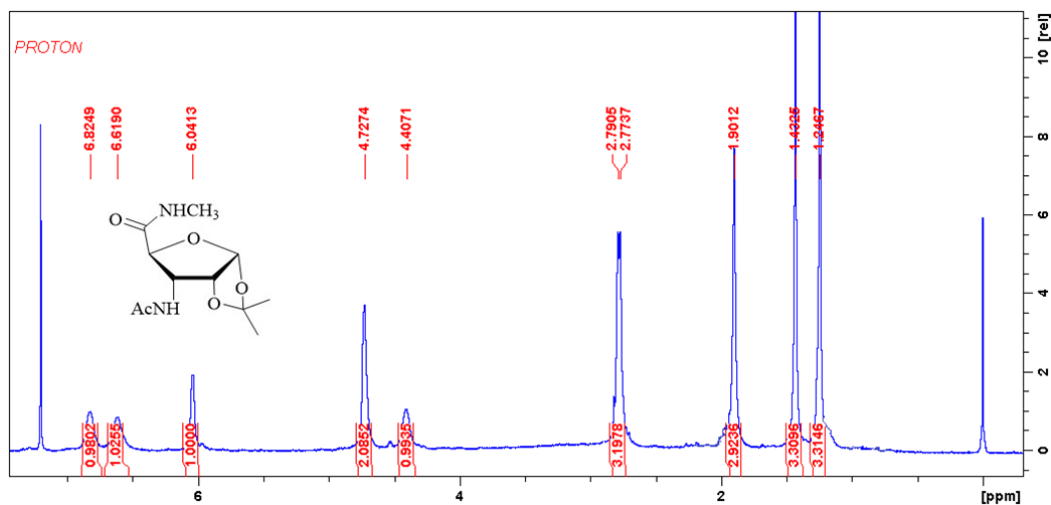
N-Metil-1,2-*O*-izopropilidén-3-azido-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronamid (**49**), ^1H NMR spektrum:



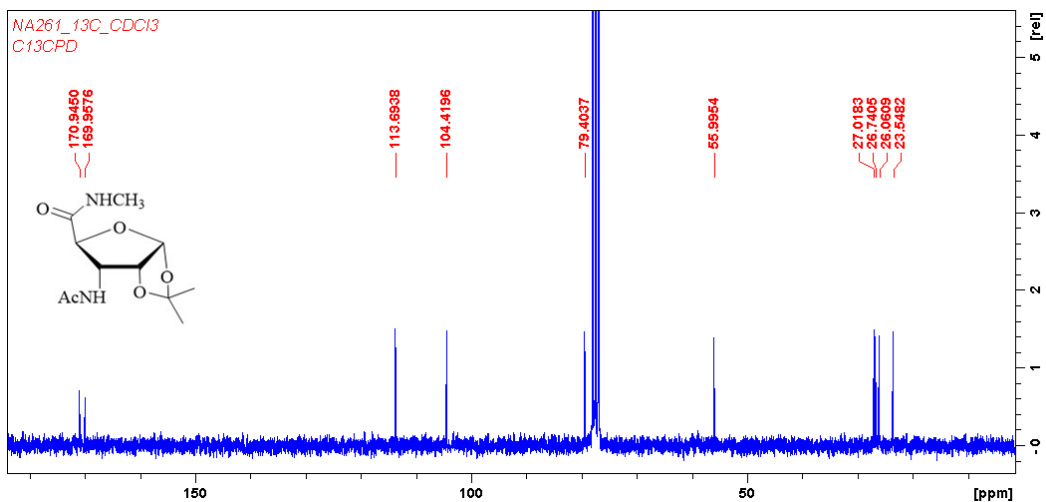
N-Metil-1,2-*O*-izopropilidén-3-amino-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronamid (**50**), ^1H NMR spektrum:



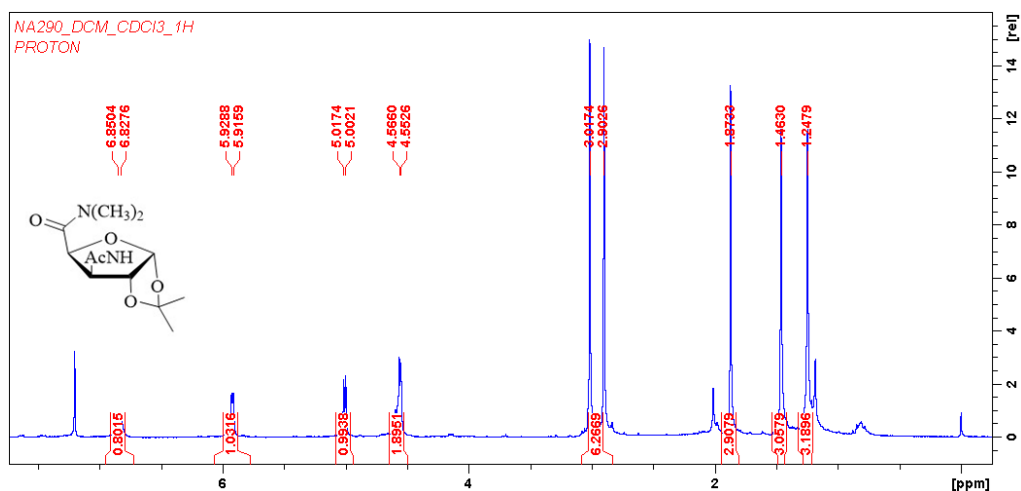
N-Metil-1,2-*O*-izopropilidén-3-acetamido-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronamid (**51**), ^1H NMR spektrum:



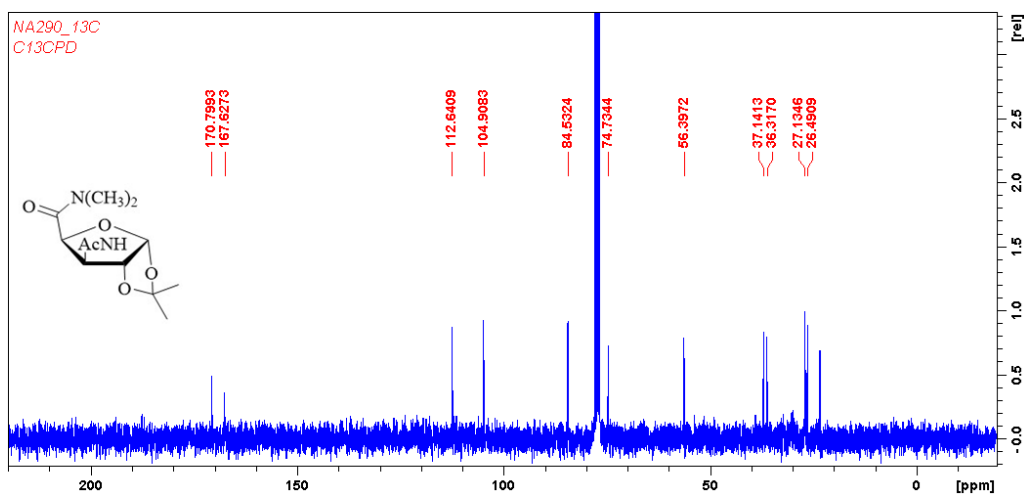
N-Metil-1,2-*O*-izopropilidén-3-acetamido-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronamid (**51**), ^{13}C NMR spektrum:



N,N-Dimetil-1,2-*O*-izopropilidén-3-acetamido-3-dezoxi- α -D-xilofurán-uronamid (**60**), ^1H NMR spektrum:

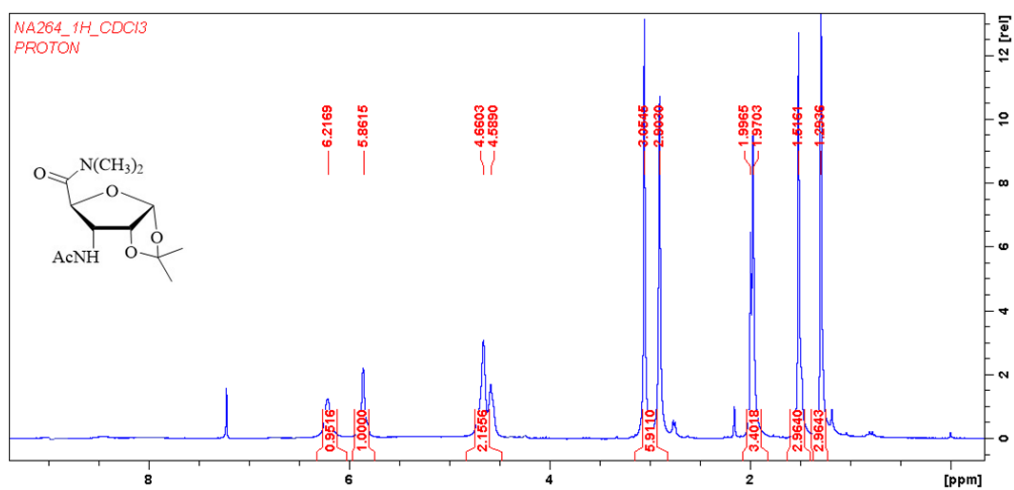


N,N-Dimetil-1,2-*O*-izopropilidén-3-acetamido-3-dezoxi- α -D-xilofurán-uronamid (**60**), ^{13}C NMR spektrum:



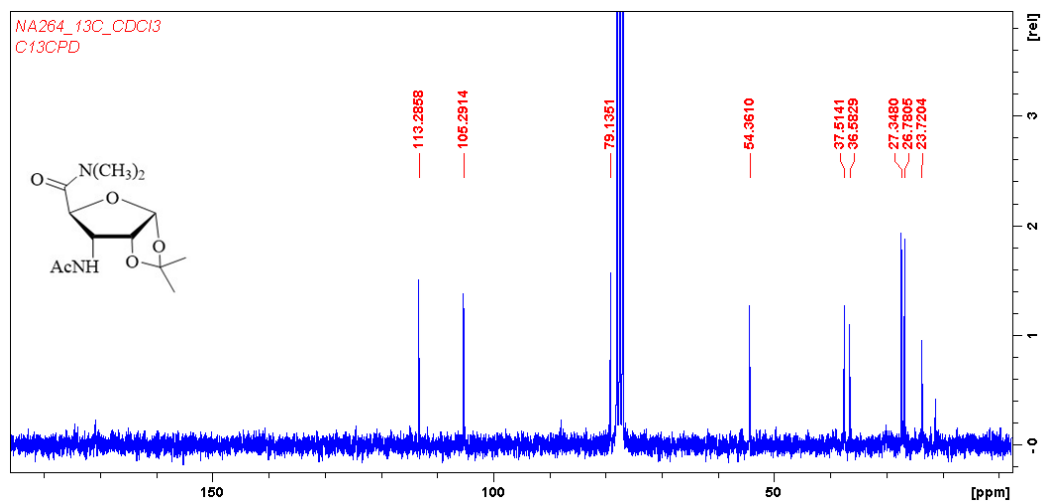
N,N-Dimetil-1,2-*O*-izopropilidén-3-acetamido-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronamid (**57**), ^1H

NMR spektrum:



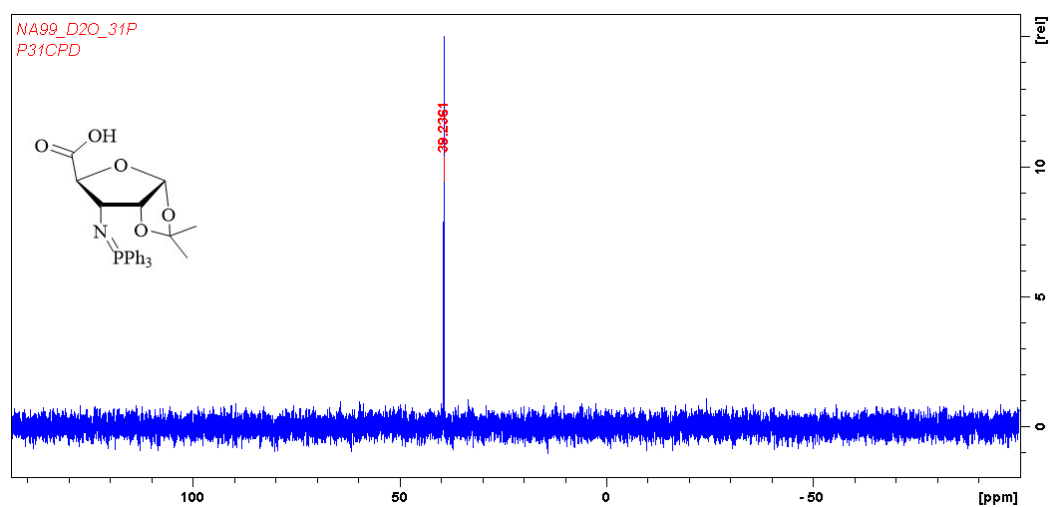
N,N-Dimetil-1,2-*O*-izopropilidén-3-acetamido-3-dezoxi- α -D-ribofurán-uronamid (**57**), ^{13}C

NMR spektrum:

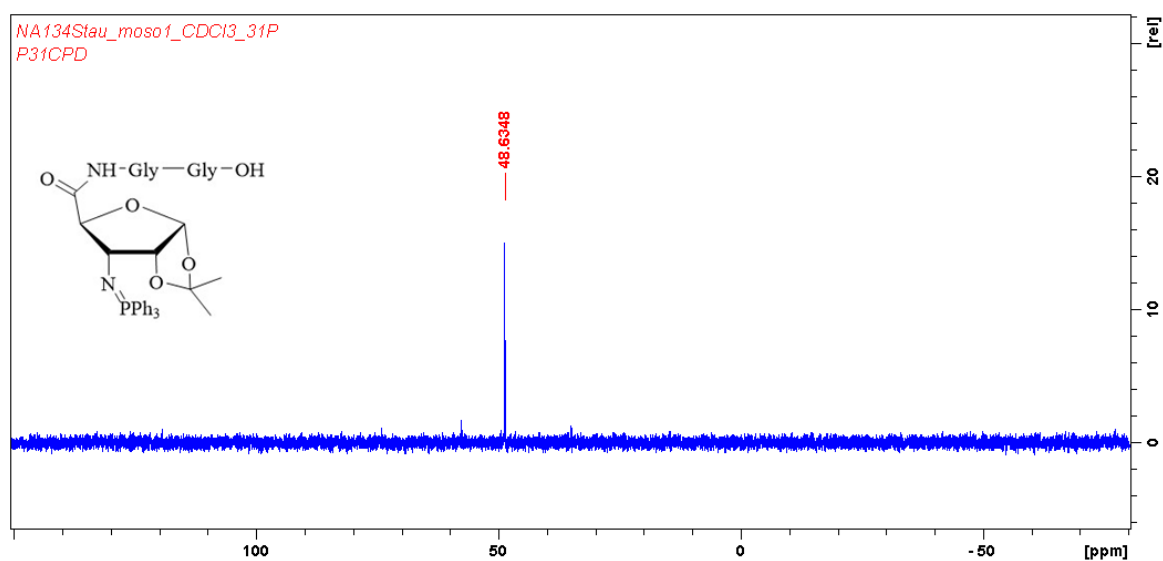


1,2-*O*-izopropilidén-3-dezoxi-3-trifenilfoszfinimino- α -D-ribofurán-uronsav (**43**), ^{31}P NMR

spektrum:

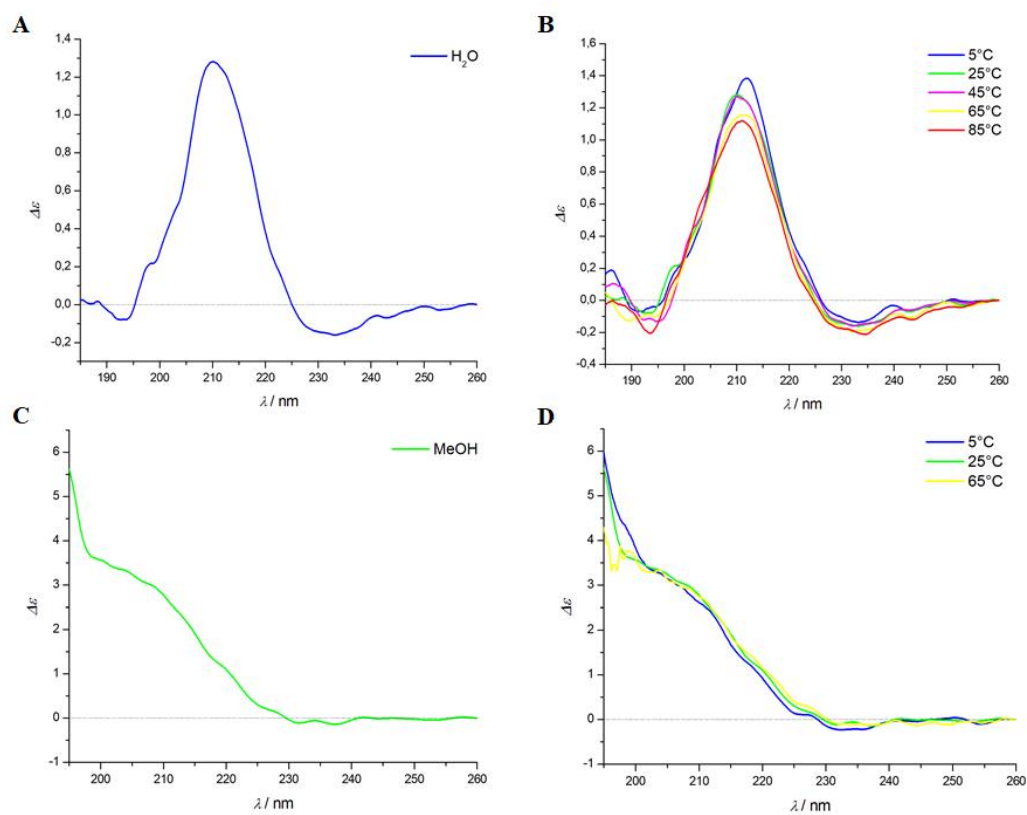


HO-GGtX=PPh₃ (70), ³¹P NMR spektrum:

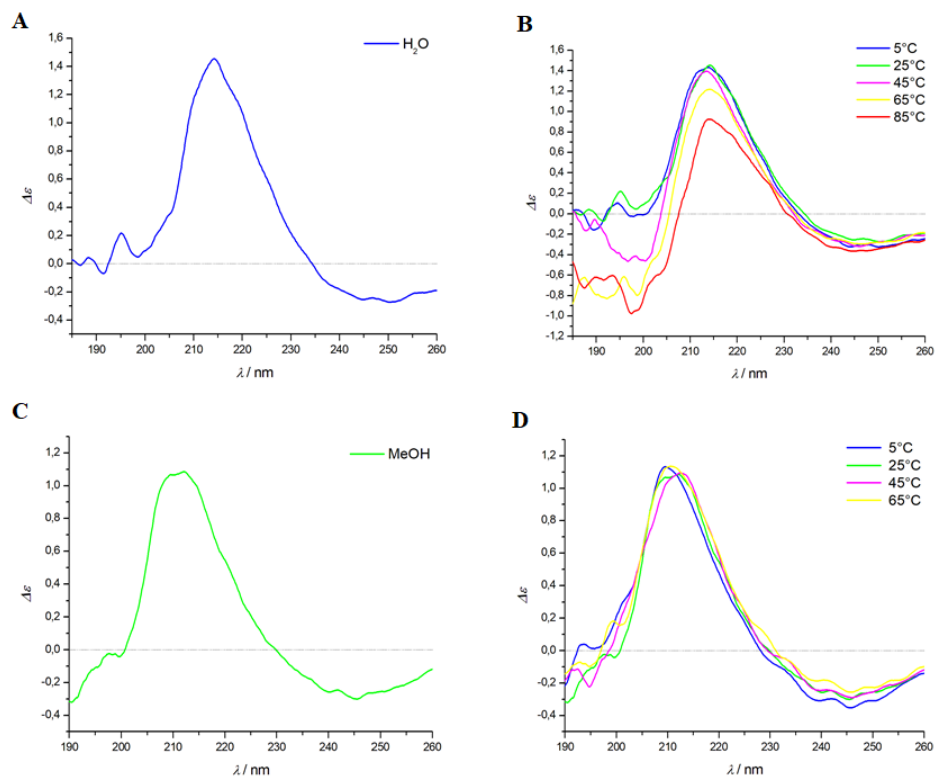


9.3. ECD spektrumok

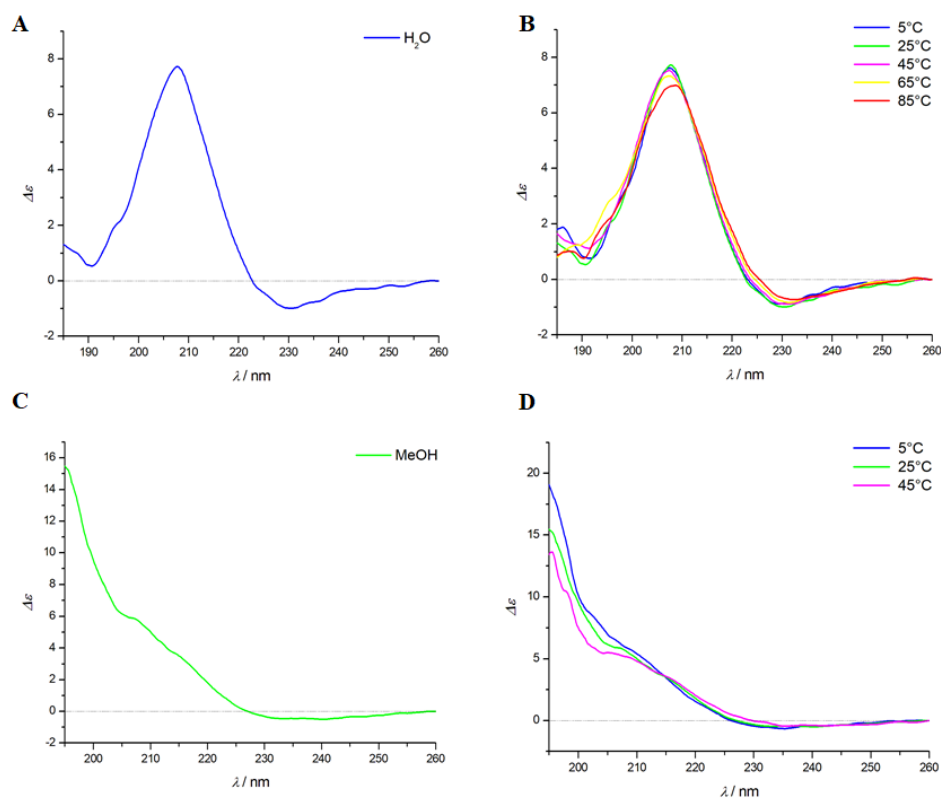
Az HO-GtXtXG-H (79) ECD spektrumai. **A**: vízben, **B**: hőmérsékletfüggő mérés vízben, **C**: metanolban, **D**: hőmérsékletfüggő mérés metanolban.



Az HO-GcXcXG-H (**82**) ECD spektrumai. **A:** vízben, **B:** hőmérsékletfüggő mérés vízben, **C:** metanolban, **D:** hőmérsékletfüggő mérés metanolban.

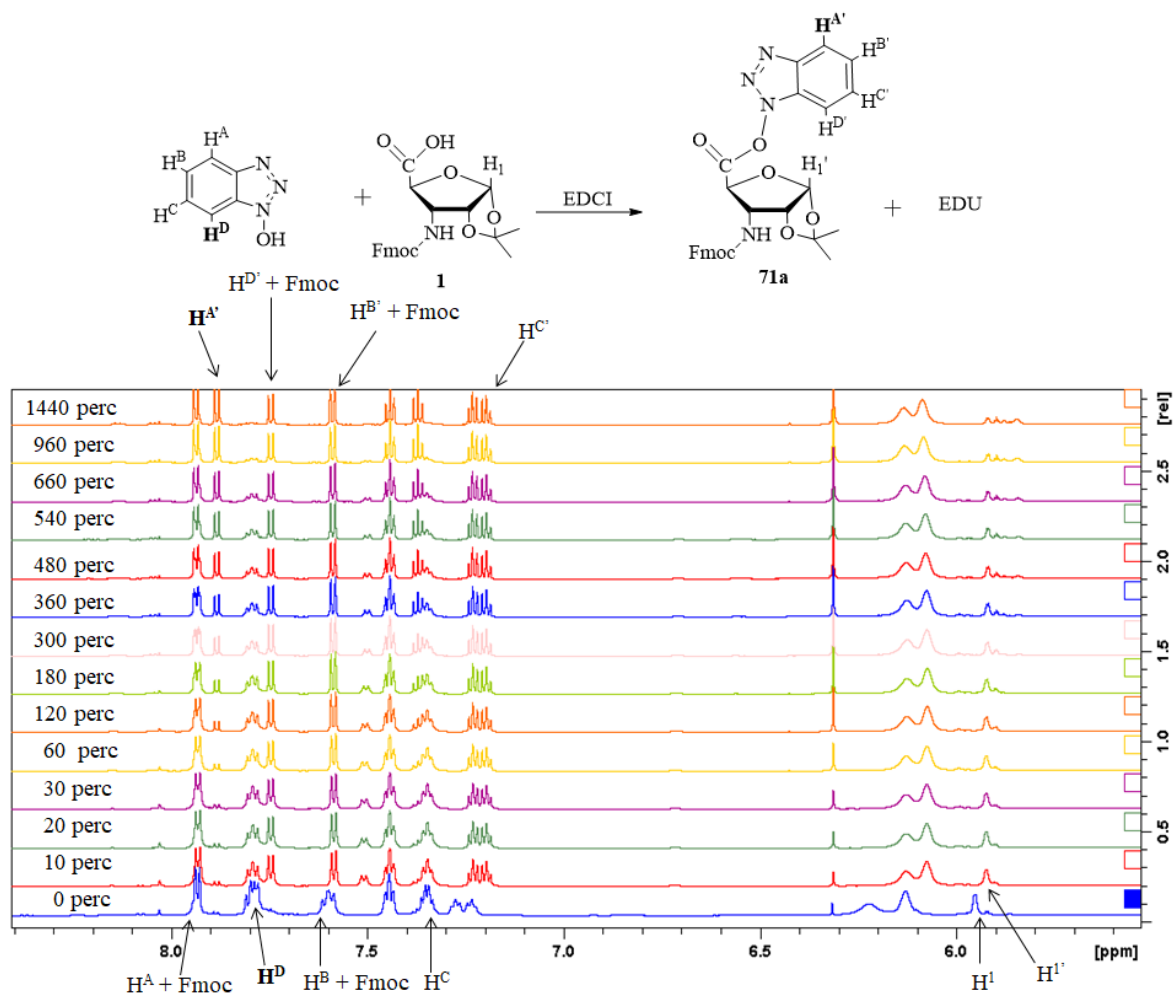


Az HO-(tX)₆-H (**86**) ECD spektrumai. **A:** vízben, **B:** hőmérsékletfüggő mérés vízben, **C:** metanolban, **D:** hőmérsékletfüggő mérés metanolban.

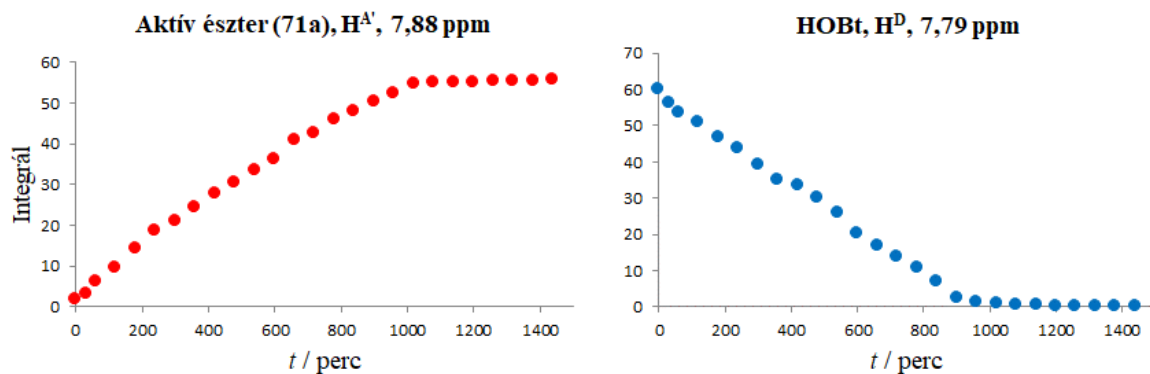


9.4. Aktív észter kialakulásának és hidrolízisének követése

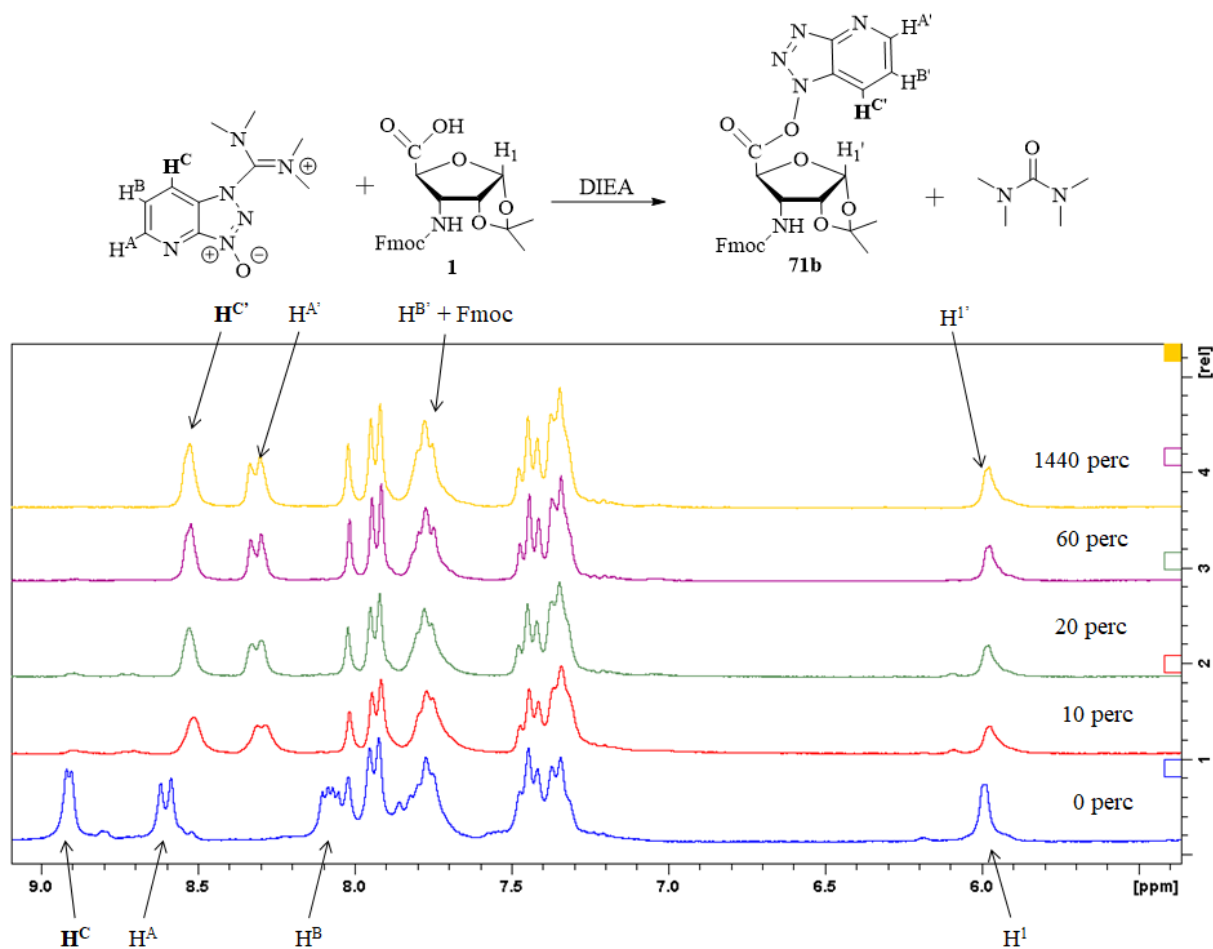
Az Fmoc-ribofurán-uronsavból (**1**) HOBT/EDCI kapcsoló reagenssel képződő aktív észter (**71a**) kialakulásának és stabilitásának követése ^1H NMR spektroszkópiával.



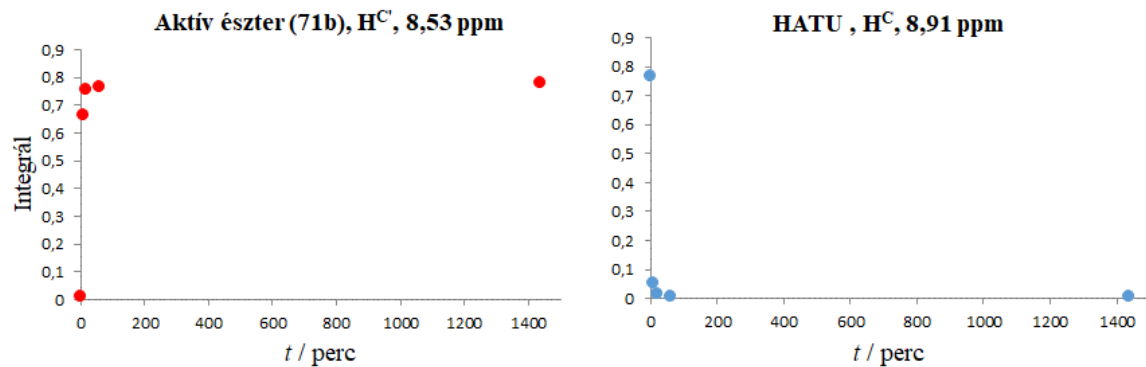
Az Fmoc-ribofurán-uronsavból (**1**) HOBT/EDCI kapcsoló reagenssel képződő aktív észter (**71a**) keletkezésének (bal) és a HOBT fogyasztásának (jobb) idő–integrál diagramjai.



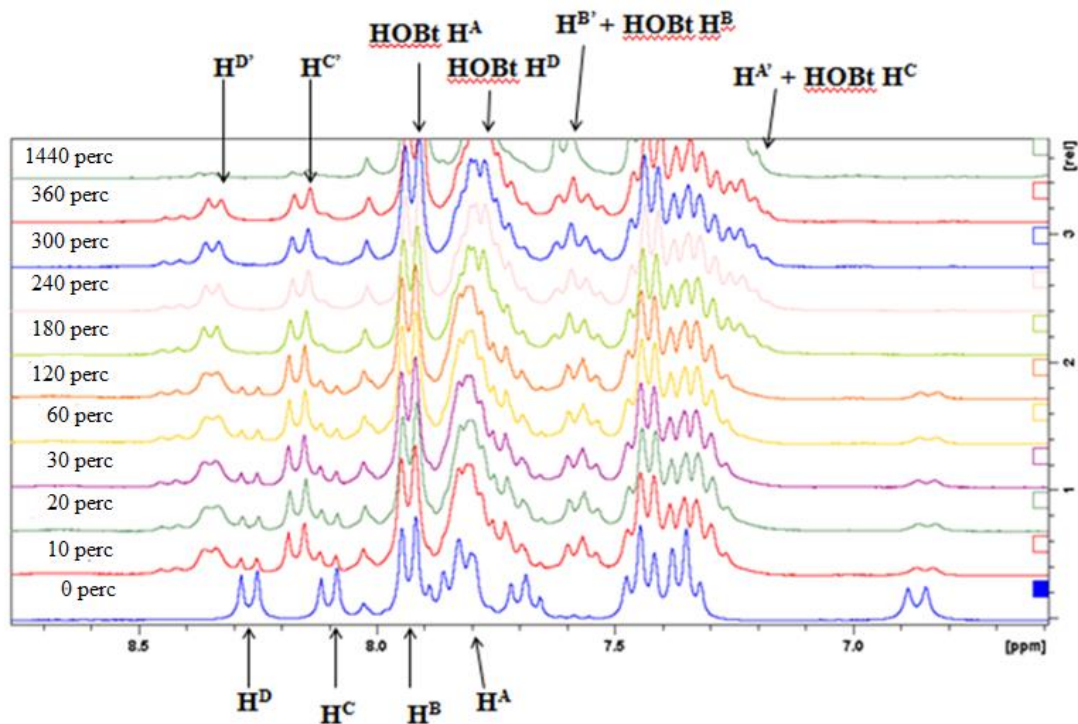
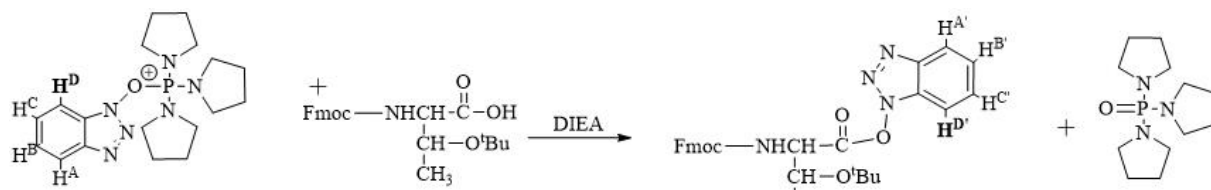
Az Fmoc-ribofurán-uronsavból (**1**) HATU/DIEA kapcsoló reagenssel képződő aktív észter (**71b**) kialakulásának és stabilitásának követése ^1H NMR spektroszkópiával.



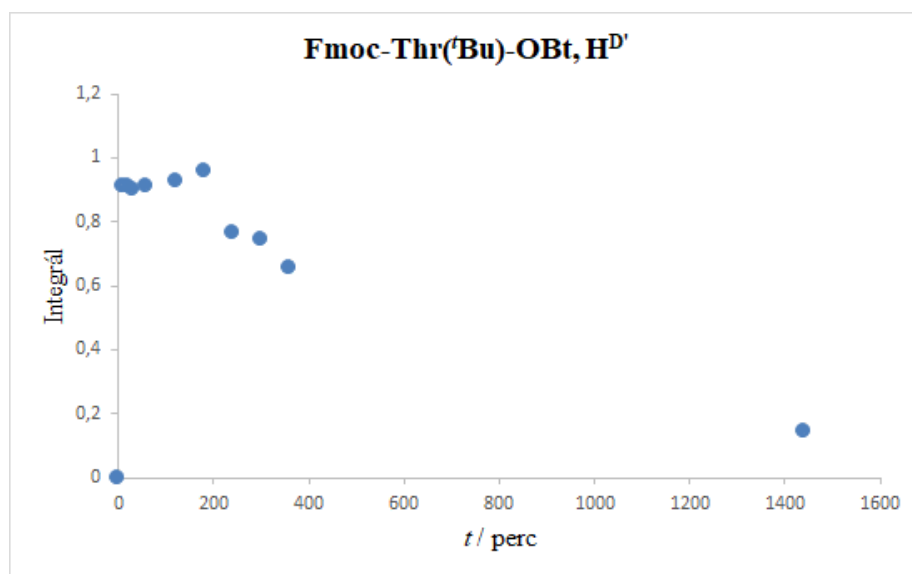
Az Fmoc-ribofurán-uronsavból (**1**) HATU/DIEA kapcsoló reagenssel képződő aktív észter (**71b**) keletkezésének (bal) és a HATU fogyasztásának (jobb) idő–integrál diagramjai.



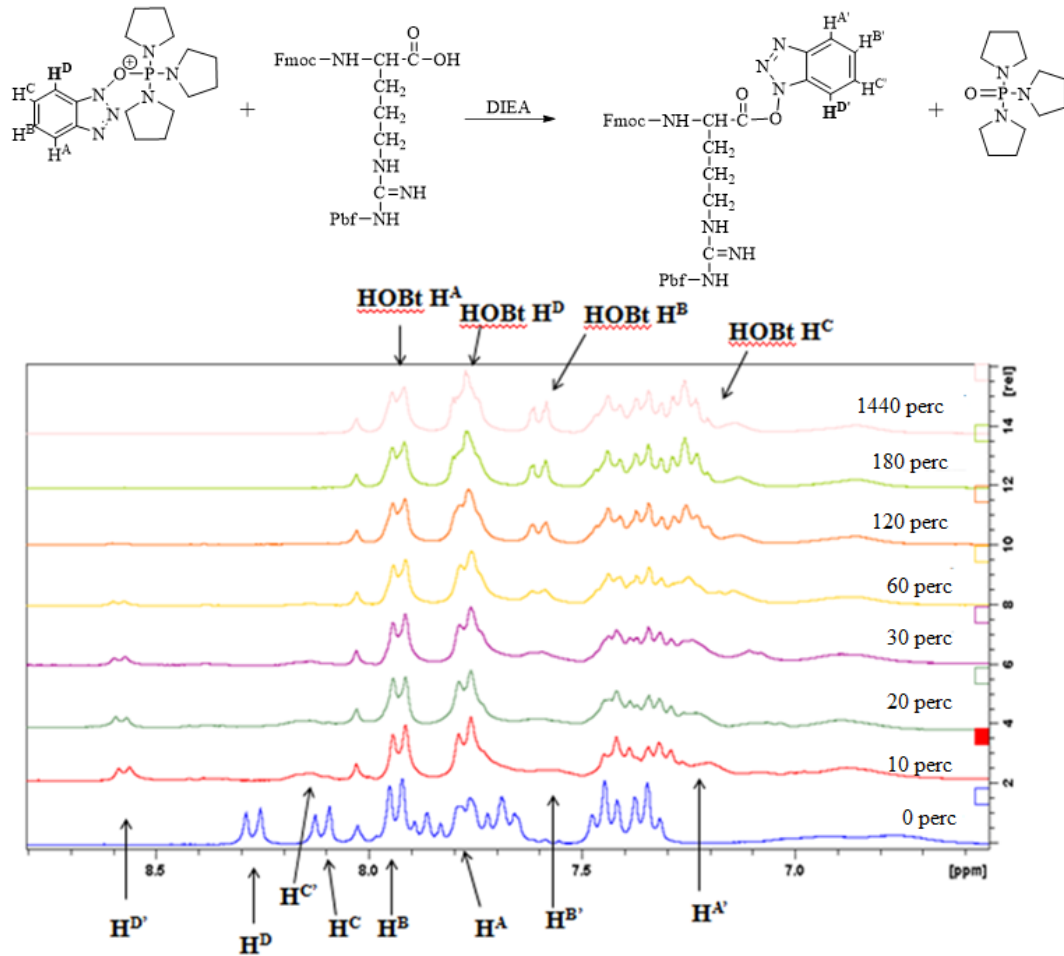
Az Fmoc-Thr('Bu)-OH-ból PyBOP/DIEA kapcsoló reagenssel képződő aktív észter kialakulásának és stabilitásának követése ¹H NMR spektroszkópiával.



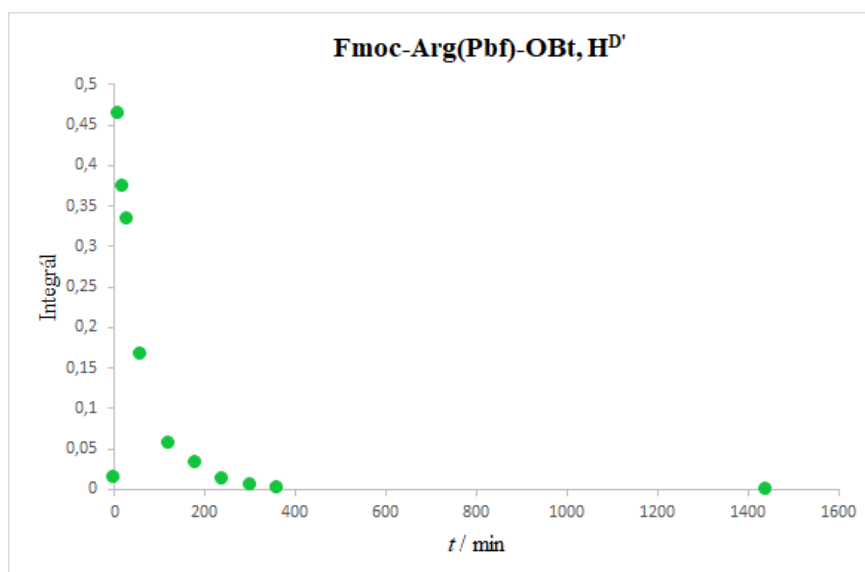
Az Fmoc-Thr('Bu)-OH-ból PyBOP/DIEA kapcsoló reagenssel képződő aktív észter kialakulásának és hidrolízisének idő-integrál diagramja.



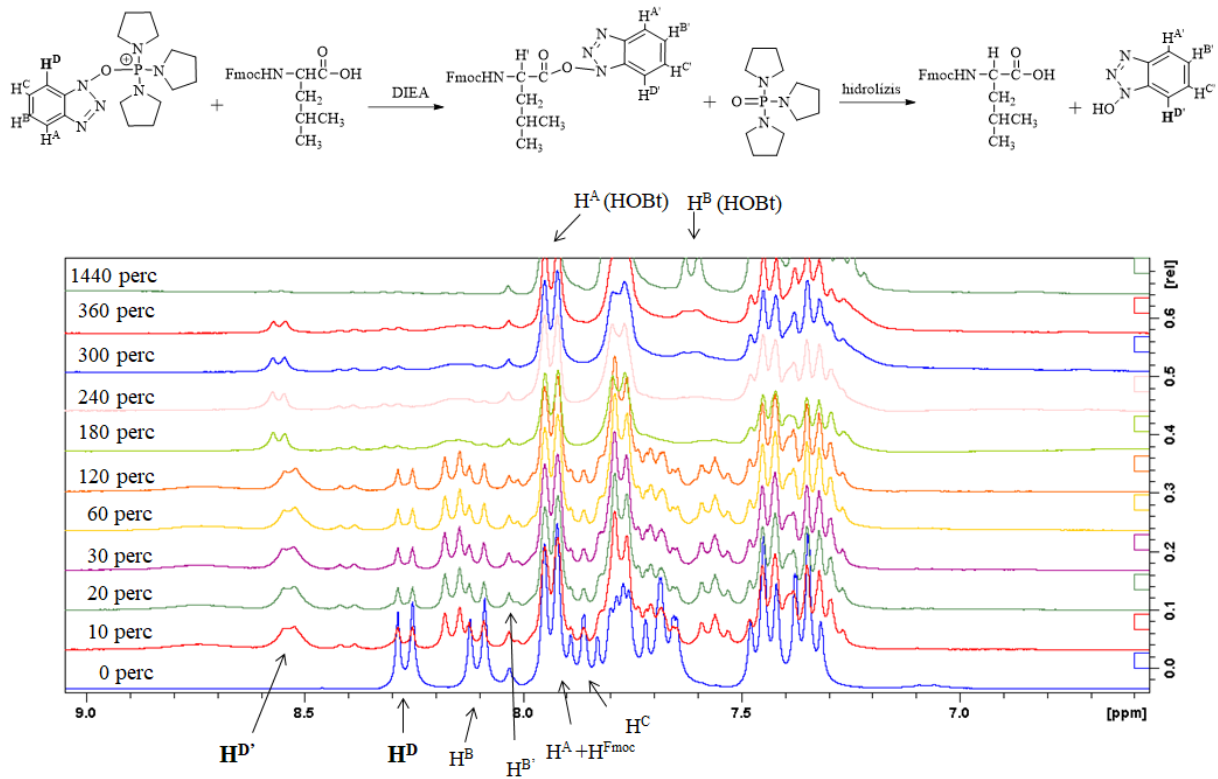
Az Fmoc-Arg(Pbf)-OH-ból PyBOP/DIEA kapcsoló reagenssel képződő aktív észter kialakulásának és stabilitásának követése ^1H NMR spektroszkópiával.



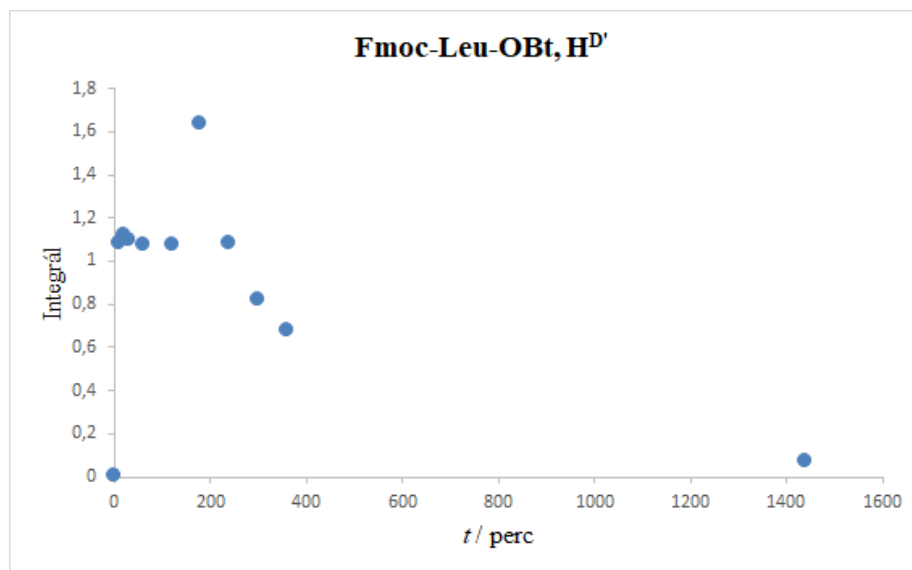
Az Fmoc-Arg(Pbf)-OH-ból PyBOP/DIEA kapcsoló reagenssel képződő aktív észter kialakulásának és hidrolízisének idő–integrál diagramja.



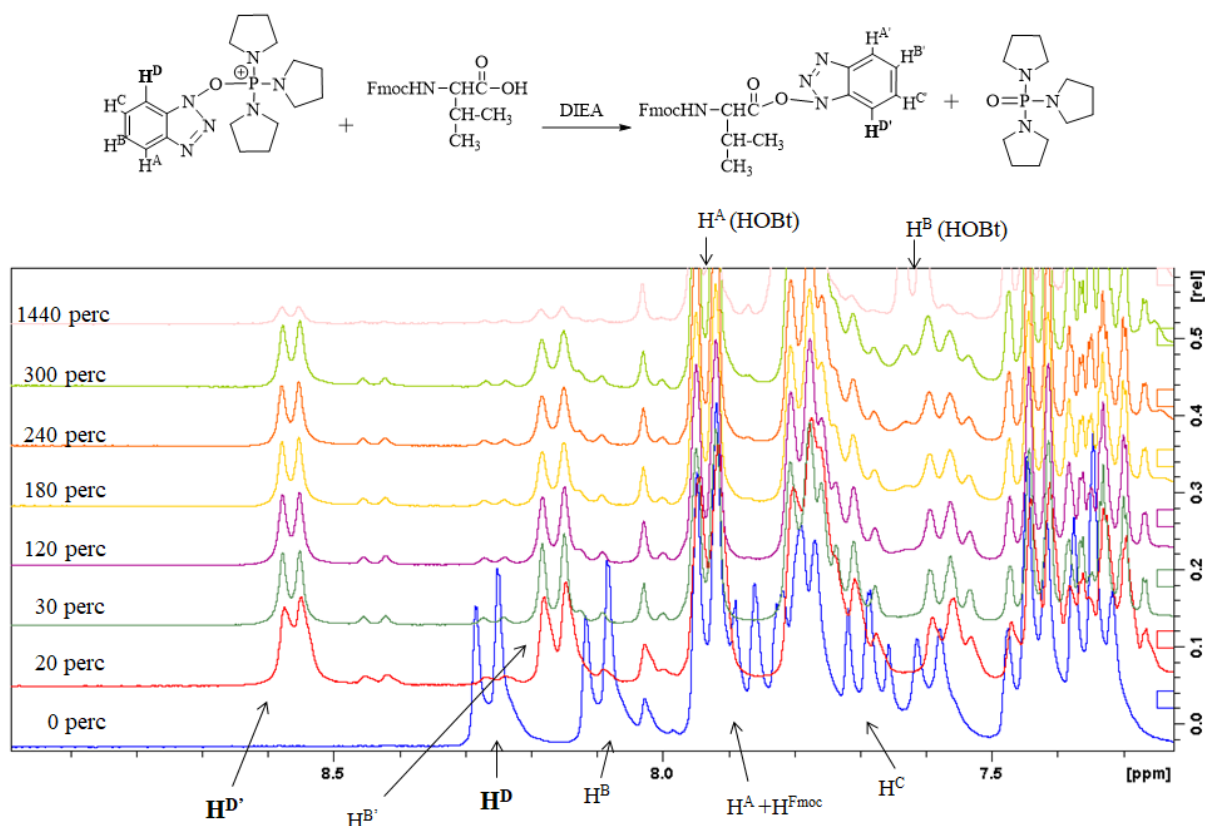
Az Fmoc-Leu-OH-ból PyBOP/DIEA kapcsoló reagenssel képződő aktív észter kialakulásának és stabilitásának követése ^1H NMR spektroszkópiával.



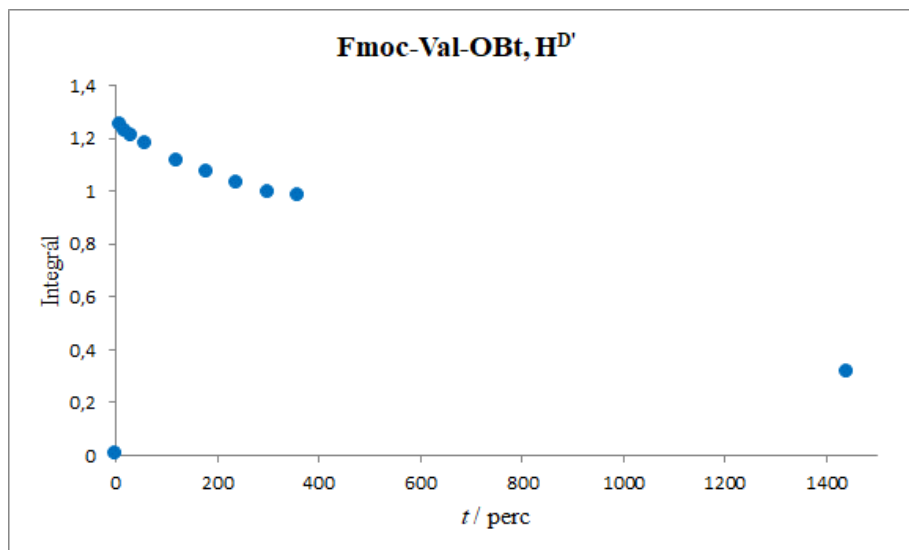
Az Fmoc-Leu-OH-ból PyBOP/DIEA kapcsoló reagenssel képződő aktív észter kialakulásának és hidrolízisének idő-integrál diagramja.



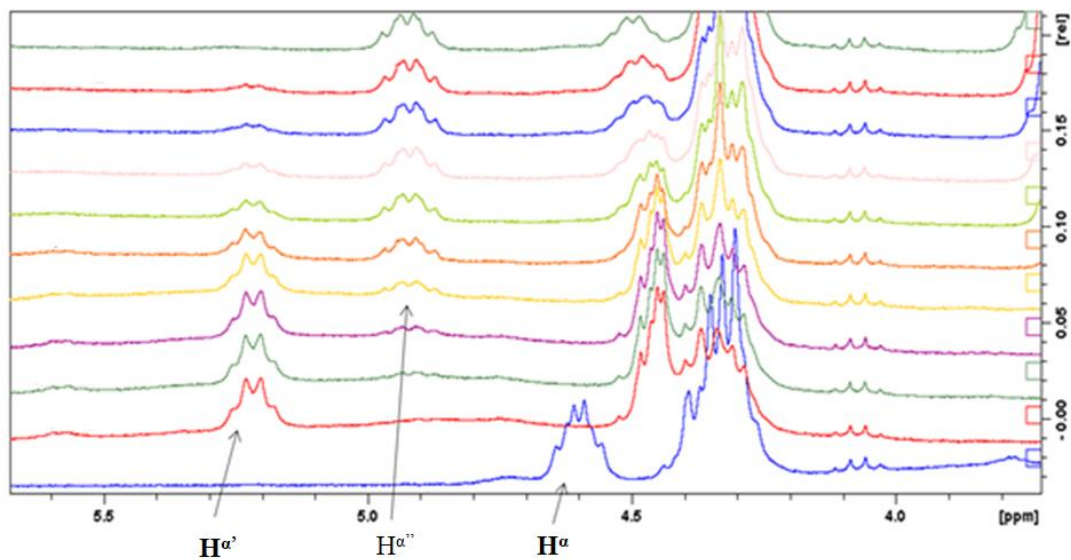
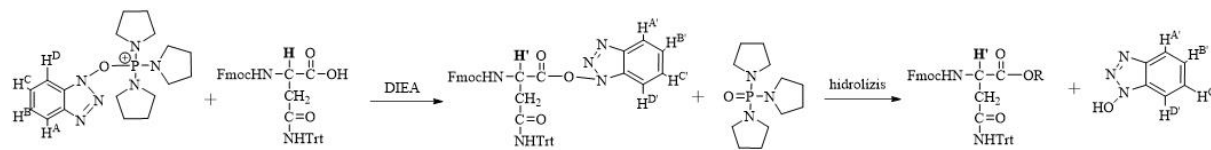
Az Fmoc-Val-OH-ból PyBOP/DIEA kapcsoló reagenssel képződő aktív észter kialakulásának és stabilitásának követése ^1H NMR spektroszkópiával.



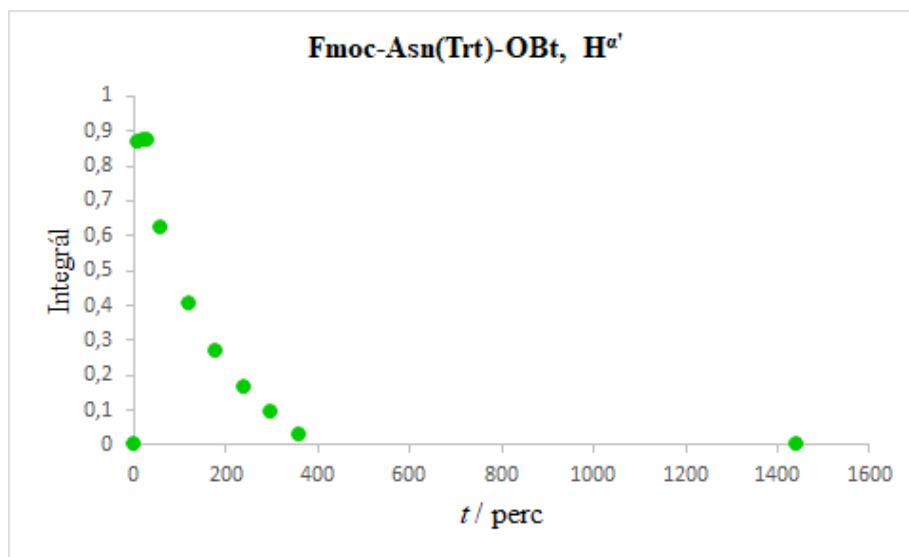
Az Fmoc-Val-OH-ból PyBOP/DIEA kapcsoló reagenssel képződő aktív észter kialakulásának és hidrolízisének idő-integrál diagramja.



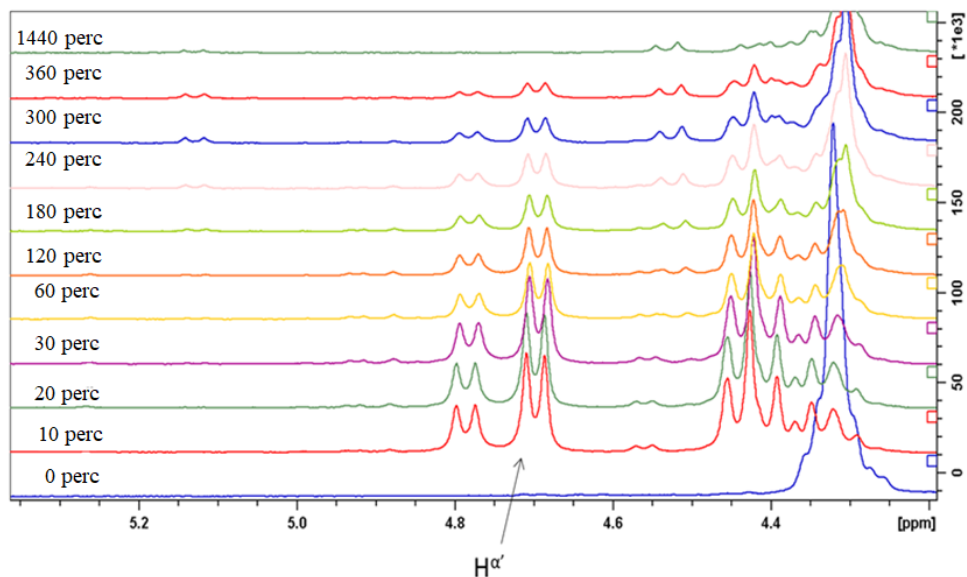
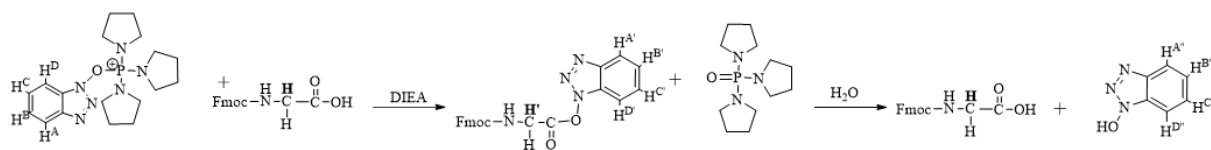
Az Fmoc-Asn(Trt)-OH-ból PyBOP/DIEA kapcsoló reagenssel képződő aktív észter kialakulásának és stabilitásának követése ^1H NMR spektroszkópiával.



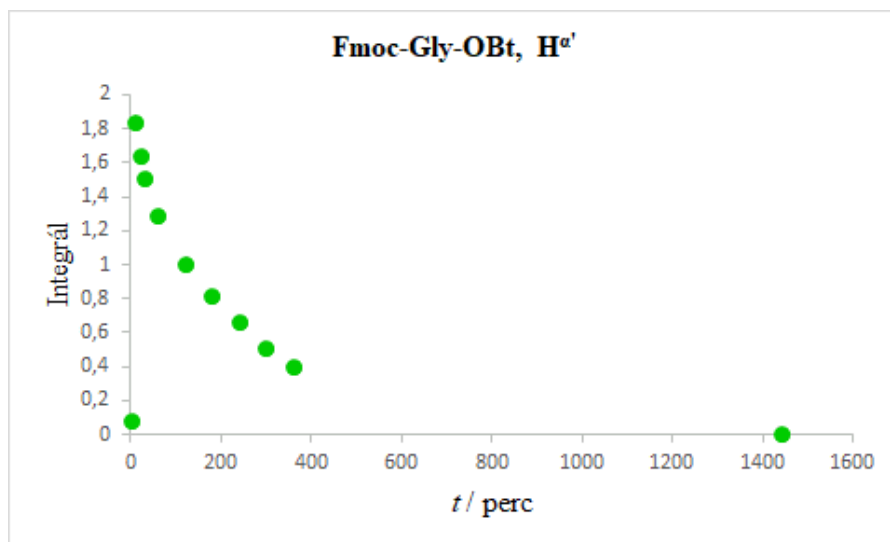
Az Fmoc-Asn(Trt)-OH-ból PyBOP/DIEA kapcsoló reagenssel képződő aktív észter kialakulásának és hidrolízisének idő–integrál diagramja.



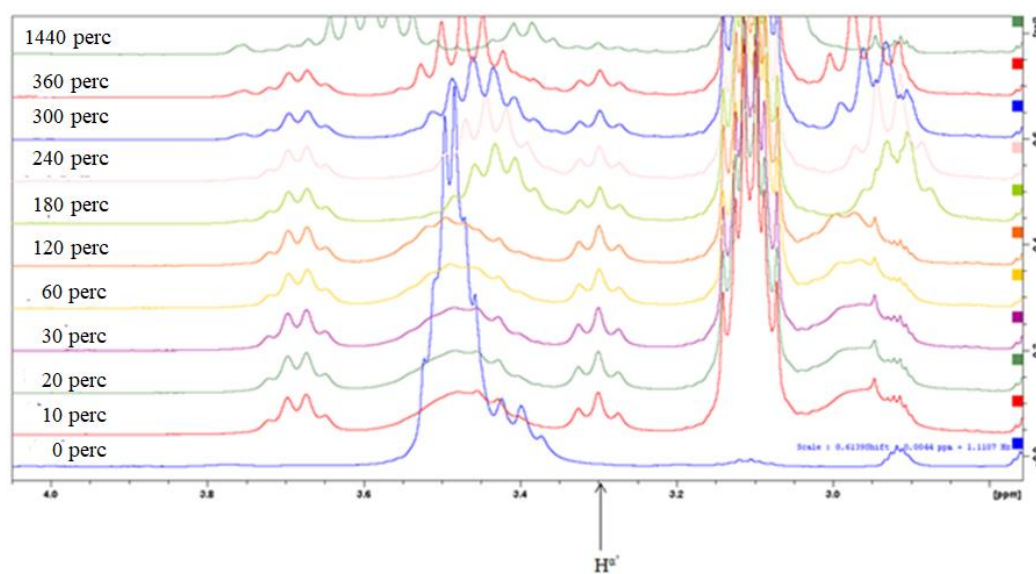
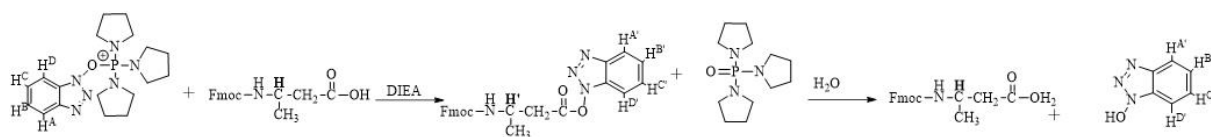
Az Fmoc-Gly-OH-ből PyBOP/DIEA kapcsoló reagenssel képződő aktív észter kialakulásának és stabilitásának követése ¹H NMR spektroszkópiával.



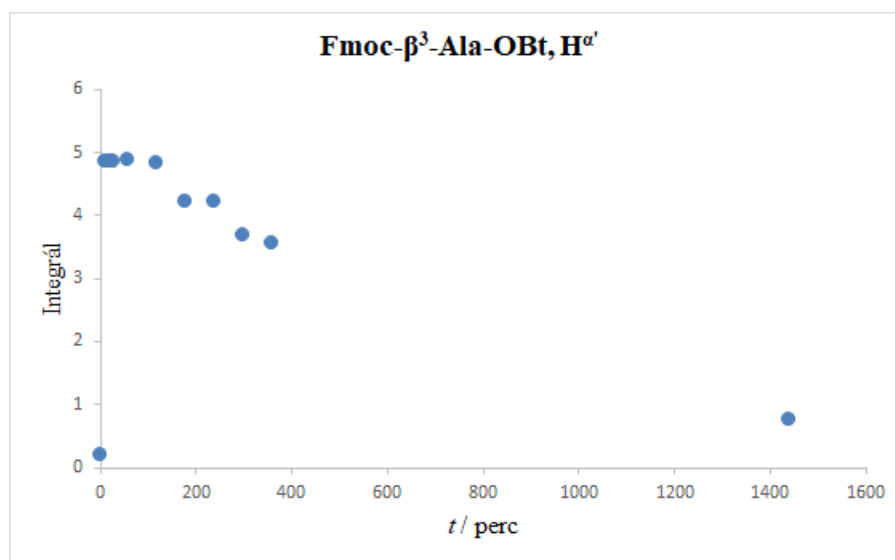
Az Fmoc-Gly-OH-ből PyBOP/DIEA kapcsoló reagenssel képződő aktív észter kialakulásának és hidrolízisének idő-integrál diagramja.



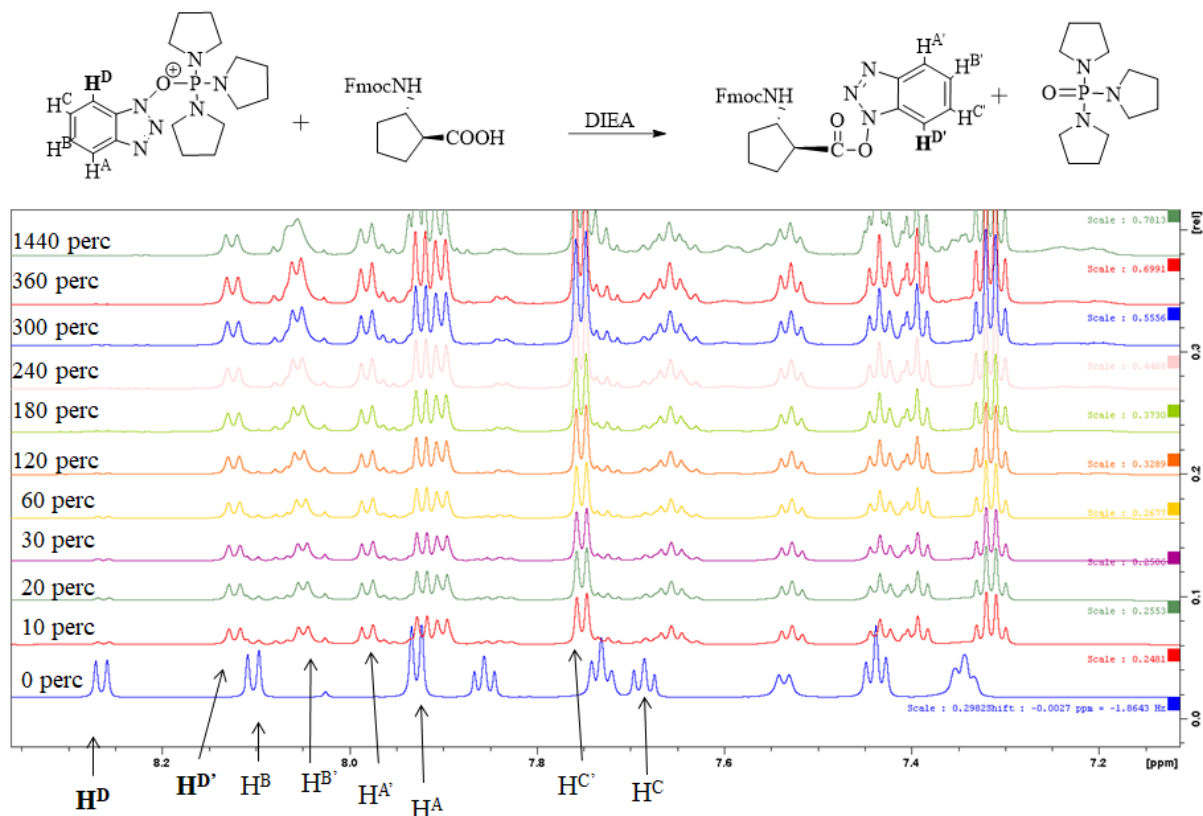
Az Fmoc- β^3 -Ala-OH-ból PyBOP/DIEA kapcsoló reagenssel képződő aktív észter kialakulásának és stabilitásának követése ^1H NMR spektroszkópiával.



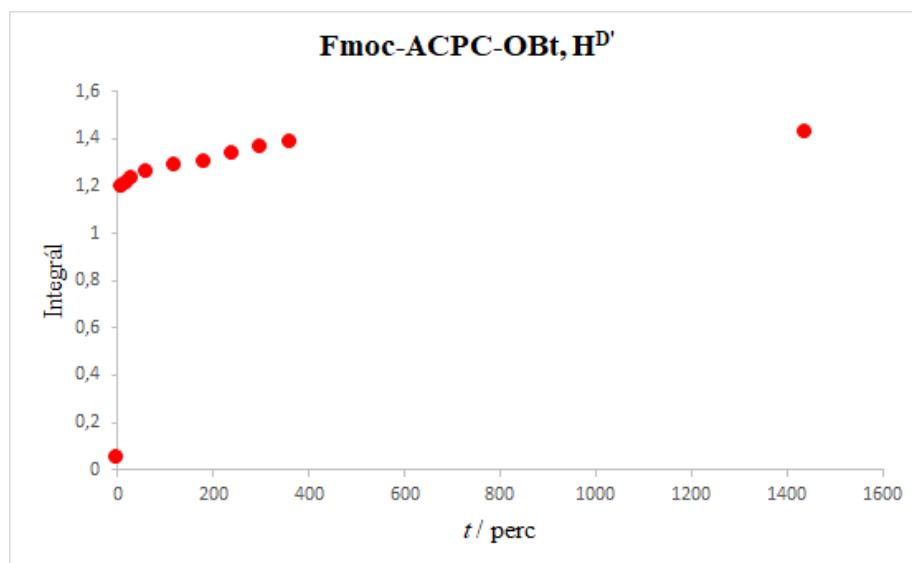
Az Fmoc- β^3 -Ala-OH-ból PyBOP/DIEA kapcsoló reagenssel képződő aktív észter kialakulásának és hidrolízisének idő–integrál diagramja.



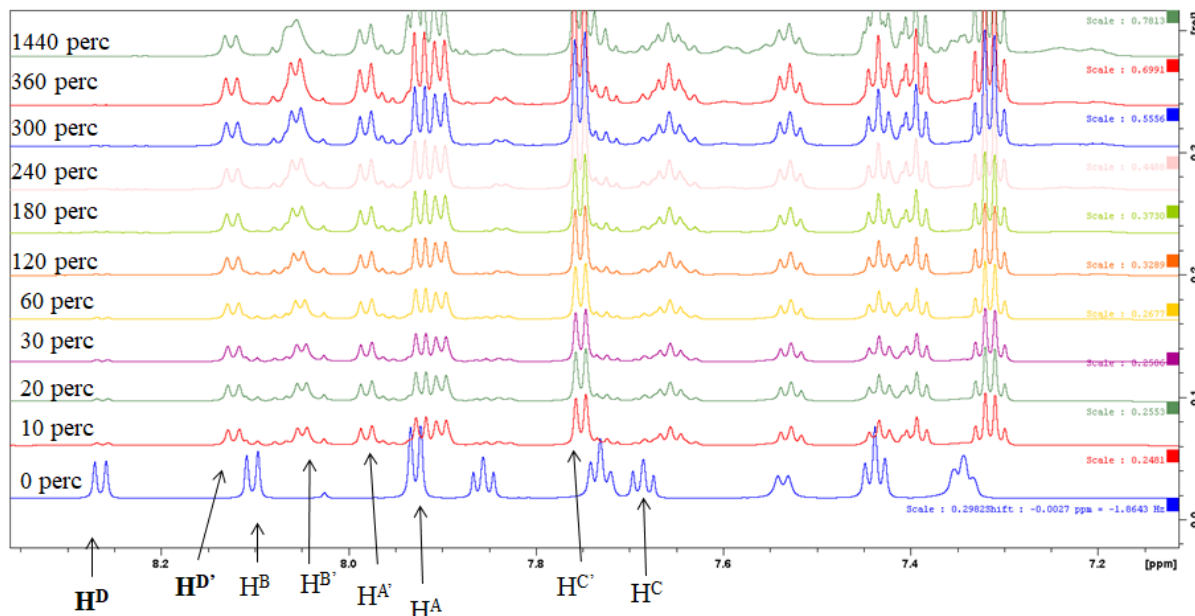
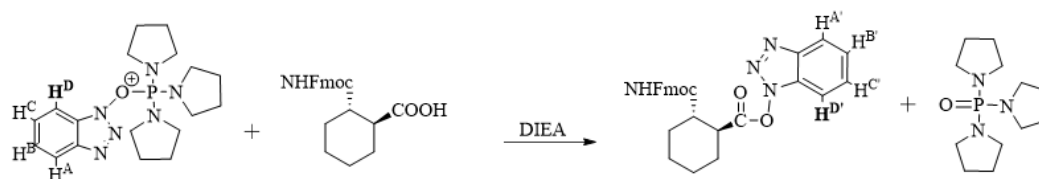
Az Fmoc-ACPC-OH-ből PyBOP/DIEA kapcsoló reagenssel képződő aktív észter kialakulásának és stabilitásának követése ^1H NMR spektroszkópiával.



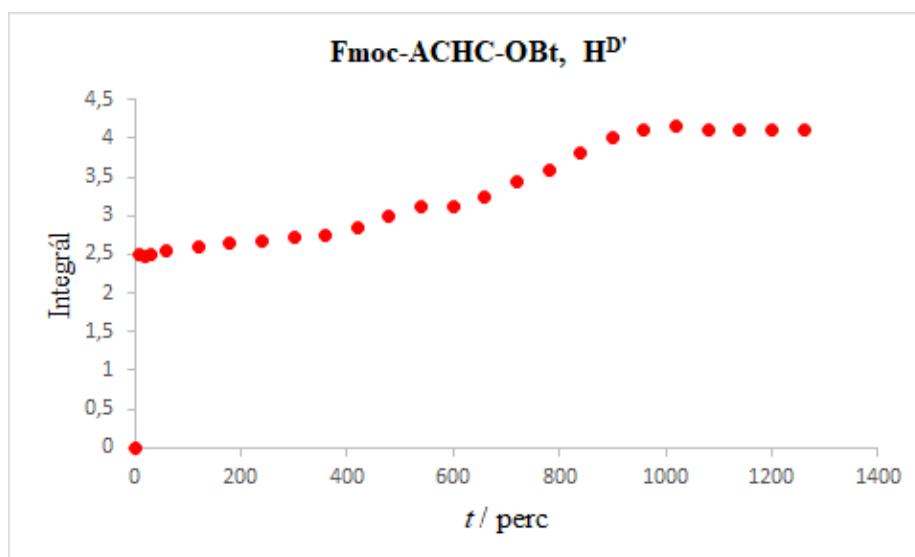
Az Fmoc-ACPC-OH-ből PyBOP/DIEA kapcsoló reagenssel képződő aktív észter kialakulásának és hidrolízisének idő-integrál diagramja.



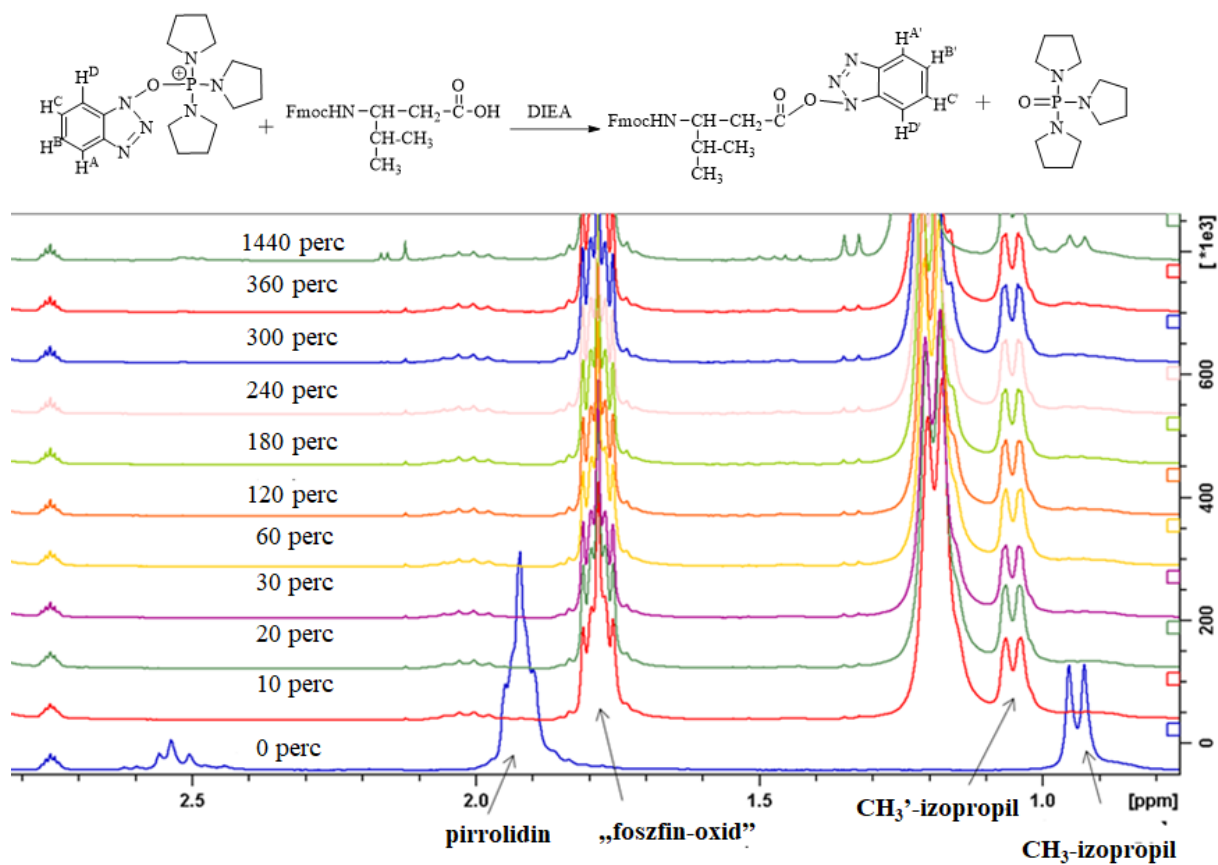
Az Fmoc-ACHC-OH-ból PyBOP/DIEA kapcsoló reagenssel képződő aktív észter kialakulásának és stabilitásának követése ^1H NMR spektroszkópiával.



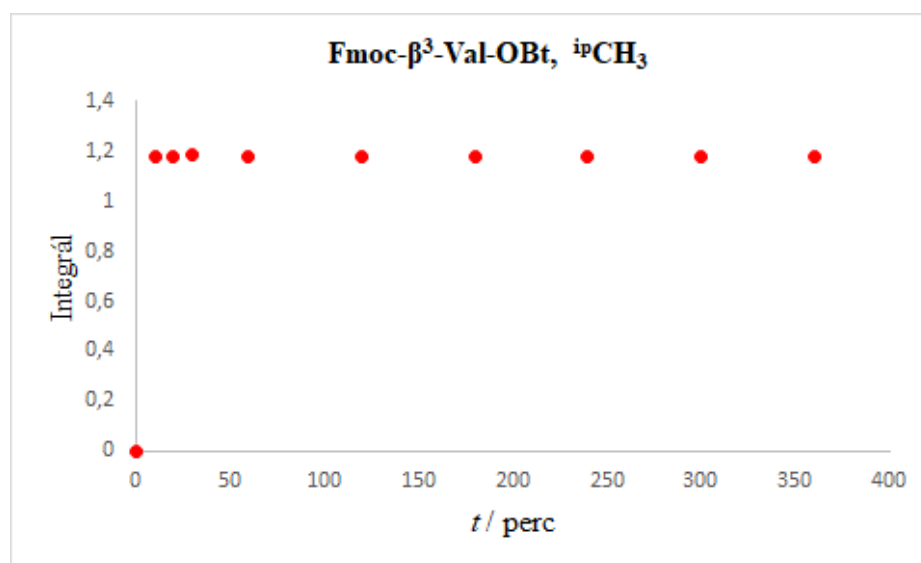
Az Fmoc-ACHC-OH-ból PyBOP/DIEA kapcsoló reagenssel képződő aktív észter kialakulásának és hidrolízisének idő–integrál diagramja.



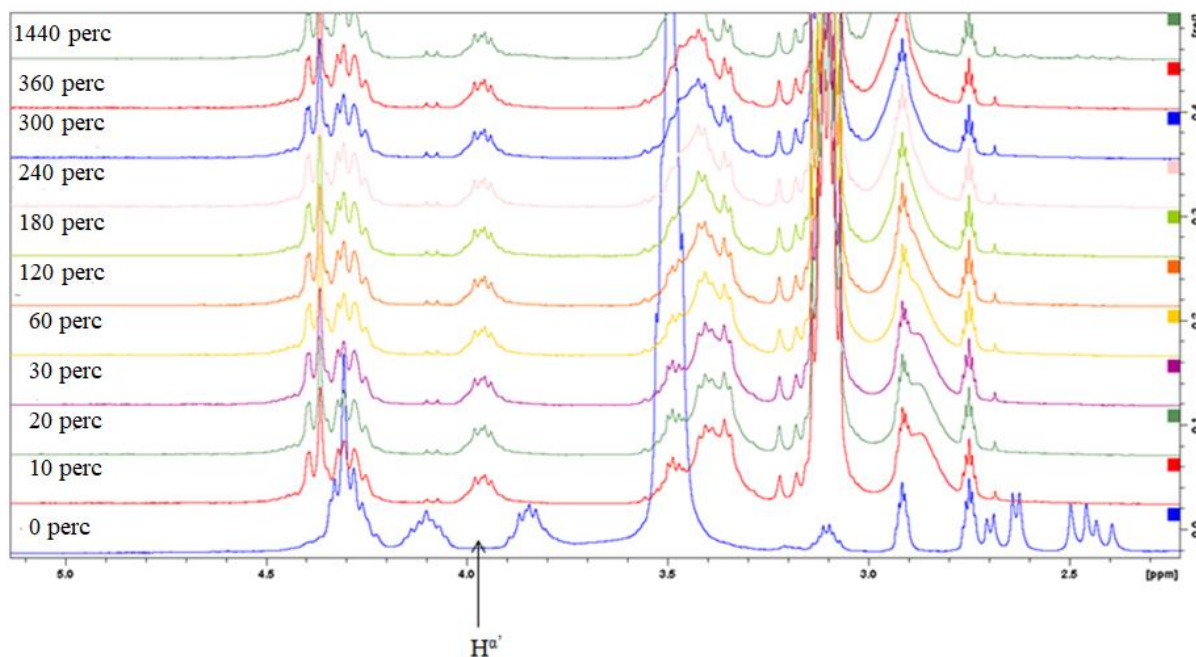
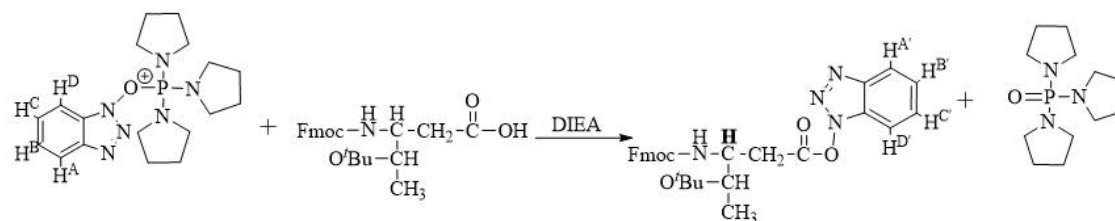
Az Fmoc- β^3 -Val-OH-ból PyBOP/DIEA kapcsoló reagenssel képződő aktív észter kialakulásának és stabilitásának követése ^1H NMR spektroszkópiával.



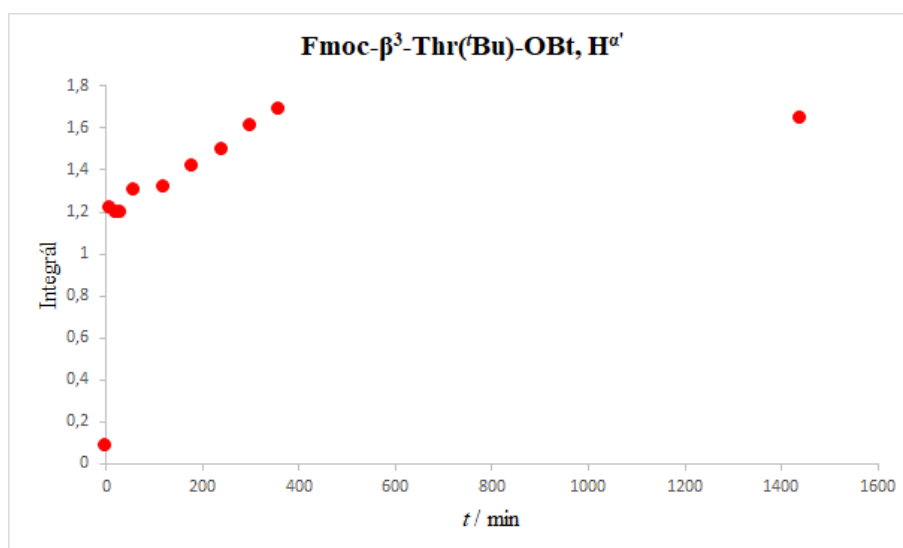
Az Fmoc- β^3 -Val-OH-ból PyBOP/DIEA kapcsoló reagenssel képződő aktív észter kialakulásának és hidrolízisének idő-integrál diagramja.



Az Fmoc- β^3 -Thr(^tBu)-OH-ból PyBOP/DIEA kapcsoló reagenssel képződő aktív észter kialakulásának és stabilitásának követése ¹H NMR spektroszkópiával.



Az Fmoc- β^3 -Thr(^tBu)-OH-ból PyBOP/DIEA kapcsoló reagenssel képződő aktív észter kialakulásának és hidrolízisének idő-integrál diagramja.



ADATLAP

a doktori értekezés nyilvánosságra hozatalához*

I. A doktori értekezés adatai

A szerző neve: Nagy Adrienn

MTMT-azonosító: 10061215

A doktori értekezés címe és alcíme:

C-3 epimer cukoramidosavak és új típusú foldamereik szintézise, szerkezetvizsgálata

DOI-azonosító⁴⁶: 10.15476/ELTE.2019.231

A doktori iskola neve: Hevesy György Kémia Doktori Iskola

A doktori iskolán belüli doktori program neve: Szintetikus kémia, szerves és biomolekuláris kémia

A témavezető neve és tudományos fokozata: Prof. Dr. Perczel András, D.Sc.

A témavezető munkahelye: Eötvös Loránd Tudományegyetem, Kémiai Intézet, Szerves Kémiai Tanszék

II. Nyilatkozatok

I. A doktori értekezés szerzőjeként

a) hozzájárulok, hogy a doktori fokozat megszerzését követően a doktori értekezésem és a tézisek nyilvánosságra kerüljenek az ELTE Digitális Intézményi Tudástárban. Felhatalmazom a Természettudományi kar Dékáni Hivatali Doktori, Habilitációs és Nemzetközi Ügyek Csoportjának ügyintézőjét, hogy az értekezést és a téziseket feltöltse az ELTE Digitális Intézményi Tudástárba, és ennek során kitöltse a feltöltéshez szükséges nyilatkozatokat.

b) kérem, hogy a mellékelt kérelemben részletezett szabadalmi, illetőleg oltalmi bejelentés közzétételéig a doktori értekezést ne bocsássák nyilvánosságra az Egyetemi Könyvtárban és az ELTE Digitális Intézményi Tudástárban;

c) kérem, hogy a nemzetbiztonsági okból minősített adatot tartalmazó doktori értekezést a minősítés (*dátum*)-ig tartó időtartama alatt ne bocsássák nyilvánosságra az Egyetemi Könyvtárban és az ELTE Digitális Intézményi Tudástárban;

d) kérem, hogy a mű kiadására vonatkozó mellékelt kiadó szerződésre tekintettel a doktori értekezést a könyv megjelenéséig ne bocsássák nyilvánosságra az Egyetemi Könyvtárban, és az ELTE Digitális Intézményi Tudástárban csak a könyv bibliográfiai adatait tegyék közzé. Ha a könyv a fokozatszerzést követően egy évig nem jelenik meg, hozzájárulok, hogy a doktori értekezésem és a tézisek nyilvánosságra kerüljenek az Egyetemi Könyvtárban és az ELTE Digitális Intézményi Tudástárban.

2. A doktori értekezés szerzőjeként kijelentem, hogy

a) az ELTE Digitális Intézményi Tudástárba feltöltendő doktori értekezés és a tézisek saját eredeti, önálló szellemi munkám és legjobb tudomásom szerint nem sértem vele senki szerzői jogait;

b) a doktori értekezés és a tézisek nyomtatott változatai és az elektronikus adathordozón benyújtott tartalmak (szöveg és ábrák) mindenben megegyeznek.

3. A doktori értekezés szerzőjeként hozzájárulok a doktori értekezés és a tézisek szövegének plágiumkereső adatbázisba helyezéséhez és plágiumellenőrző vizsgálatok lefuttatásához.

Kelt: Budapest, 2019. szeptember 6.


.....

a doktori értekezés szerzőjének aláírása