

**TERMÉSZETES VEGYÜLETEK ÉS ANALÓGJAIK
SZERKEZETFELDERÍTÉSE,
SPECIÁLIS GAZDA-VENDÉG KÖLCSÖNHATÁSOK VIZSGÁLATA**

Ph.D. értekezés tézisei

Készítette:

Gáti Tamás

Témavezető:

Prof. Dr. Tóth Gábor

Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem
Általános és Analitikai Kémia Tanszék,
Budapest, 2002.

Bevezetés

Doktori értekezésemet a BMGE, Általános és Analitikai Kémia Tanszék NMR Kutatócsoportjában készítettem Dr. Tóth Gábor c. egyetemi tanár témavezetésével. Munkám során egyrészt új, ismeretlen szerkezetű természetes vegyületeket, illetve biológiailag aktív természetes vegyületekkel analóg szerkezetű szintetikus származékokat vizsgáltam, másrészt speciális gazda-vendég ($\text{Rh}_2[(R)\text{-MTPA}]_4$ – alkil-aril-szelenoéterek) kölcsönhatásokat tanulmányoztam.

A természetes vegyületek szerkezetfelderítése három nemzetközi együttműködés keretében folyt. A sztereokémiai és NMR szerkezetvizsgálat a BMGE, Általános és Analitikai Kémia Tanszék NMR Kutatócsoportjában történt. A szteroid glikozid molekulákat az Ázsiában és Afrikában honos *Calotropis procera* növényből izolálták M. Hani A. Elgamal és munkatársai. Az Észak-Afrikában és Euráziában honos *Achillea holosericea* és *Achillea ligustica* növényeket Maria Couladis gyűjtötte be, majd Ahmed A. Ahmed irányításával, számos új szeszkviterpén és *szeko*-szeszkviterpén vegyületeket izoláltak. A zöld kávébabból (*Coffea arabica*) kivont észter-diszaharidokat a Würzburgi Egyetemmel közösen vizsgáltuk. A tömegspektroszkópiás vizsgálatokat illetően Dr. Horváth Gyulával (Gyógyszerkutató Intézet), illetve Tom J. Mabry (The University of Texas at Austin) működtünk együtt. A Hannoveri Egyetem Szerves Kémia Intézettel közösen speciális módszert fejlesztettünk ki királis szelénorganikus vegyületek enantiomer arányának meghatározására. $\text{Rh}_2[(R)\text{-MTPA}]_4$ -t (MTPA = **M**ethoxy-**T**rifluoromethyl-**P**henyl-**A**cetic-acid) királis segédanyagként alkalmazva („*dirhodium-method*”) a lágy nukleofilek (nitril, olefinek, szelenoéterek) vizsgálhatók. Az ennek kapcsán fellépő gazda-vendég kölcsönhatásokat tanulmányoztam széles hőmérséklettartományban ^1H , ^{13}C és ^{77}Se NMR spektroszkópia segítségével, választ keresve az egyensúly termodinamikájára, kinetikájára valamint sztöchiometriájára.

Doktori ösztöndíjamat a Richter Gedeon Gyógyszergyár biztosította. Kötelezettségeimet a Szerkezetkutató Laboratóriumban teljesítettem, ahol módomban volt VARIAN típusú NMR készülékeken a mérés elsajátítására. A napi rutin tevékenység (mérés, interpretálás) mellett a Richter egyik originális kutatási projektjébe (antitrombotikus kutatási projekt) is bekapcsolódtam.

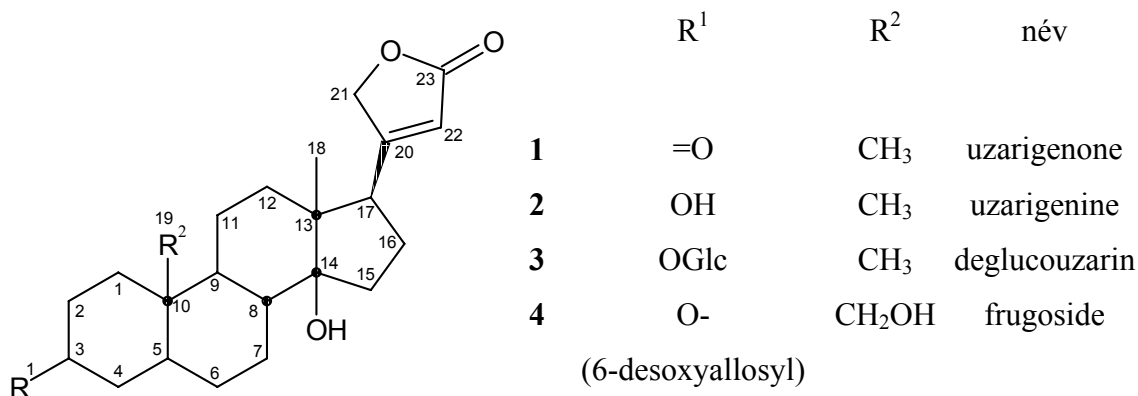
Dolgozatomban ismertetett új eredmények összefoglalása

Természetes vegyületek szerkezetvizsgálata

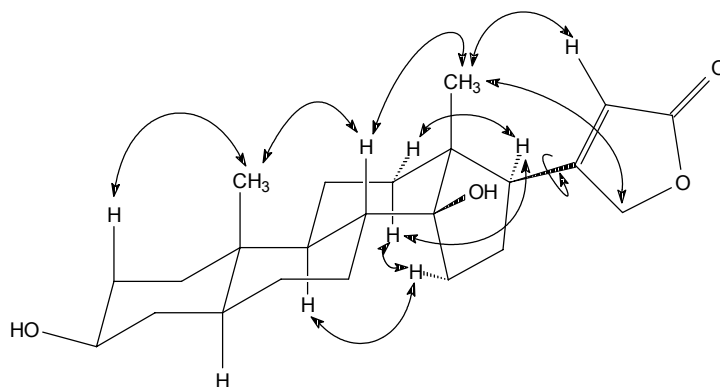
Doktori munkám gerincét a természetes vegyületek szerkezetvizsgálata képezte. Három nemzetközi együttműködés keretén belül négy különböző növényből számos szerkezetet (szteroidok, szeszkviterpének, lignánok, monoterpének, cukor-származékok) határoztam meg, melyek közül sok molekulát az irodalomban még nem írtak le. A növények feldolgozását, az elválasztási műveleteket minden esetben külföldi kollégák végezték el. Feladatom az ismeretlen minták szerkezetének meghatározása volt, melyhez az ^1H , ^{13}C , DEPT NMR spektrumok mellett a 2D NMR mérések (^1H , ^1H COSY, HSQC, HMBC, NOESY) nyújtottak segítséget.

1. *Calotropis procera* növényből izolált 5α -cardenolidek teljes ^1H és ^{13}C jelhozzárendelése

Meghatároztam az Egyiptomban honos *Calotropis procera* növényből izolált négy szteroid-glikozid szerkezetét és megadtam a vegyületek teljes ^1H és ^{13}C jelhozzárendelését.



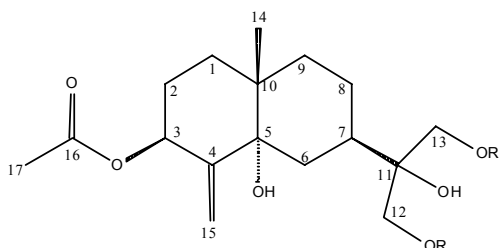
A vicinális csatolási állandók és a ROESY spektrumból következő térközelségek alapján megállapítottam, hogy A/B, B/C gyűrűkapcsolat *transz*, C/D gyűrűk viszonya *cisz*. **1-4** vegyületekben C-17-hez kapcsolódó γ -lakton gyűrű, **2-4** vegyületekben R¹ csoport β térállású. **3, 4**-es vegyületekben C-3-on keresztül egy-egy cukoregység kapcsolódik az aglikonhoz. A mérések során kapott térközelségeket a kettős nyilak jelzik.



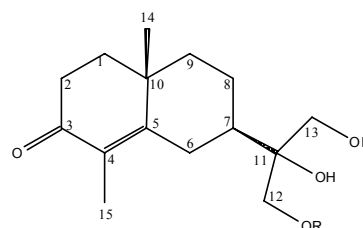
2-es vegyület térszerkezete

2. *Achillea holosericea* növényből izolált lignánok és szeszkiterpének szerkezetvizsgálata

Achillea holosericea növényből két, az irodalomban eddig nem leírt szeszkviterpént (**5** és **7**) és azoknak acetilezett származékát (**6** és **8**) határoztam meg. A molekulák ún. eudezmán vázszerkezettel rendelkeznek, a két hatos gyűrű kapcsolata *transz*, a 7-es szénatomon kapcsolódó csoport β térállású.

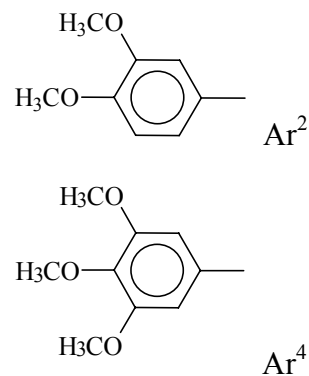
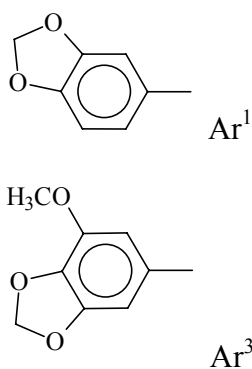
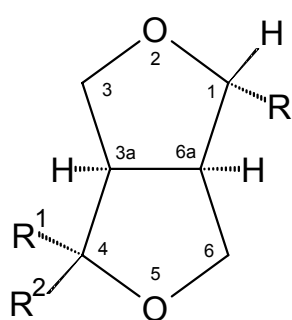


5: R=H
6: R=Ac

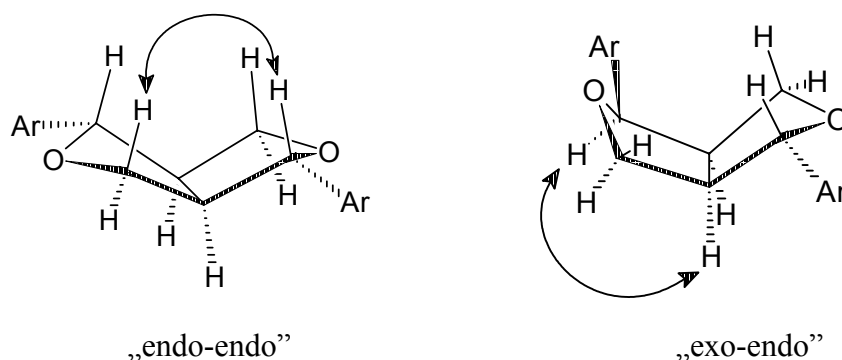


7: R=H
8: R=Ac

Ugyanebből a növényből tíz 1,4-diaril-tetrahidrofuroforánt ún. lignánt azonosítottam.

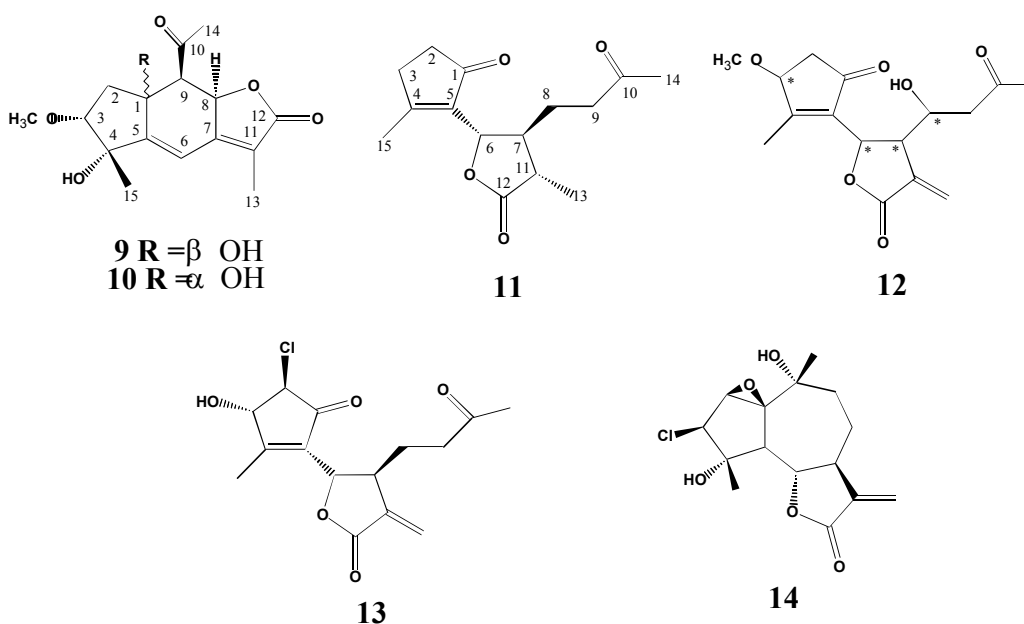


Az aromás szubsztituensek térállása szerint *cisz* és *transz* lignánok különböztethetők meg. A vicinális csatolási állandók és a NOE térközelségek alapján megállapítottam, hogy a nagy térkitöltésű aromás csoportok ekvatoriális pozíciót igyekeznek felvenni, és mindkét vegyületsorozatban ún. pszeudo ekvatoriális helyzetben vannak. Ennek eredményeként a *cisz* vegyületeknél a tetrahidro-furofurán váz ún. „endo-endo” térszerkezettel rendelkezik, azaz az oxigén atomok a váz szénatomjai által meghatározott sík alatt helyezkednek el. A *transz* molekulák esetében ugyanakkor „exo-endo” a domináns konformer.

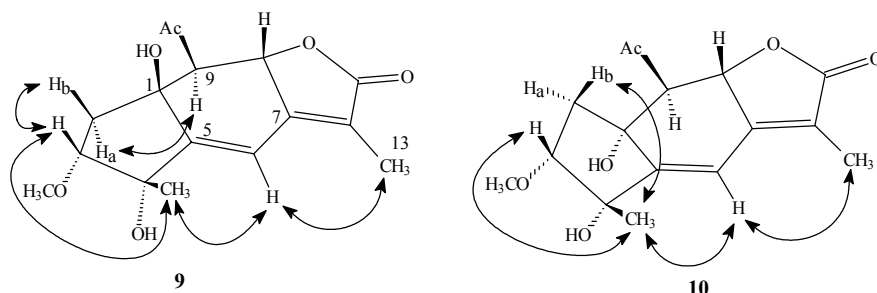


3. *Achillea ligustica* növényből izolált monoterpének, szeszkviterpének és szekoszeszkviterpének szerkezetvizsgálata

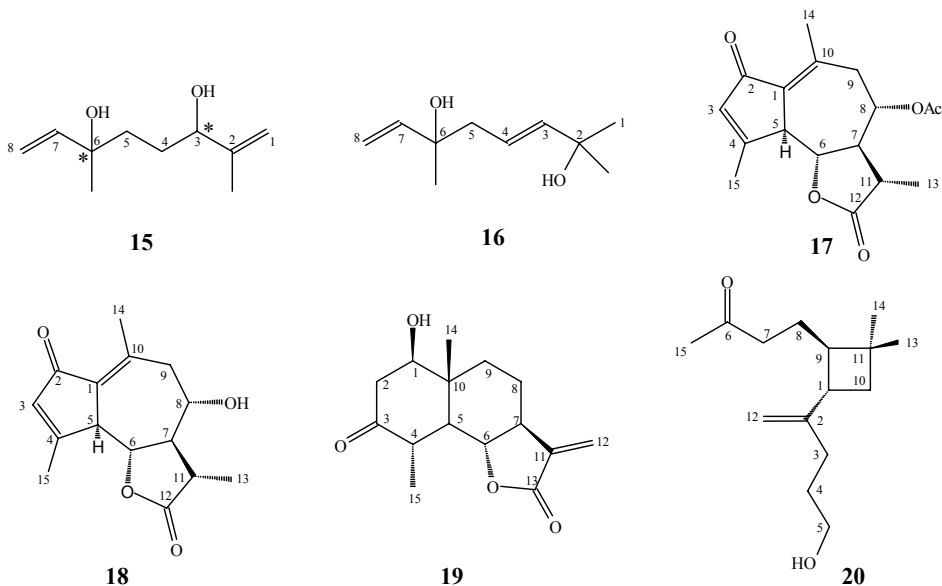
Achillea ligustica növényből hat új (9-14), valamint hat az irodalomban már leírt vegyületet azonosítottam (15-20).



Ligustolide A (**9**) és B (**10**) a szeszkviterpének vegyületcsoportjában ritka 5/6/5 gyűrűtagszámú vázzal rendelkező molekulák. **9** és **10** molekulák C-1 konfigurációjában különböznek, amit a karakterisztikus térközelségek, valamint a kémiai eltolódás különbségek igazolnak.



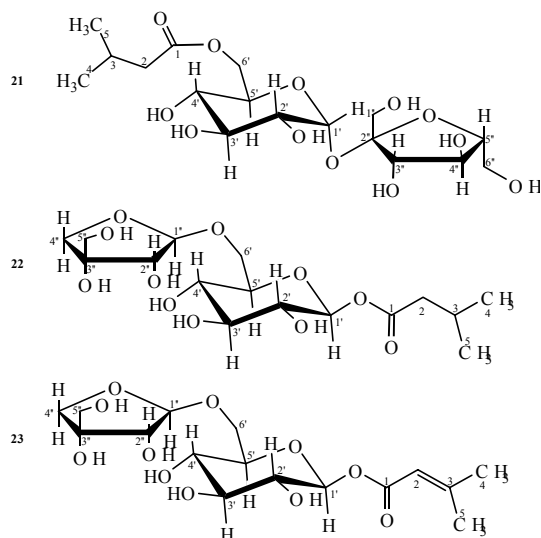
11-13 vegyületek az 1,10-*szeko*-gajanolid molekulacsaládjába tartoznak. Bioszintézisük a megfelelő gajanolid szeszkviterpén C-1, C-10 kötés oxidatív felhasításával írható le. A molekulákban a relatív konfigurációkat a vicinális csatolási állandók alapján állapítottam meg. **14**-es vegyület egy gajanolid vázzal rendelkező szeszkviterpén. A 3-as helyzetben lévő klór szubsztitúciót nagyfelbontású tömegspektrum igazolta. Karakterisztikus az $^1J_{C-2,H-2}=195$ Hz-es csatolási állandó, mely az epoxidokra jellemző.



15, **16** molekulák monoterpének. **17**-es molekula - az irodalomban matricarin névvel szerepel - egy gajanolid vázzal rendelkező szeszkviterpén. A relatív konfigurációk az 1D szelektív TOCSY spektrumból kapott vicinális csatolási állandók alapján határozhatók meg. **18**-as vegyület **17**-es dezacetil származéka. **19** eudezmán szerkezetű szeszkviterpén, **20**-as molekula egy tetraszubsztitúált ciklobután származék.

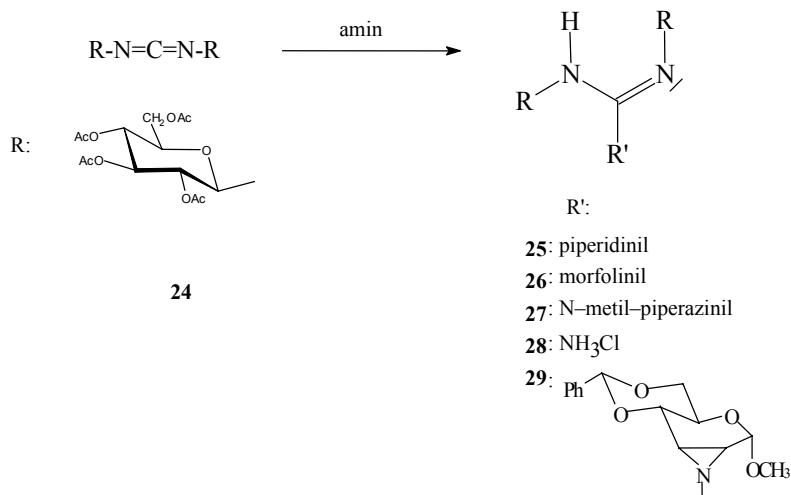
4. Zöld kávébabból (*Coffea arabica*) izolált 3-metilbutanoil és 3-metilbut-2-enoil diszacharidok szerkezetvizsgálata

Coffea arabica növényből 3 észter diszacharidot azonosítottam. A teljes ^1H jelhozzárendelést és a vicinális csatolási állandókat 1D szelektív TOCSY kísérlet segítségével határoztam meg. A cukoregységeket a csatolási állandók valamint kémiai eltolódás összehasonlítás alapján azonosítottam.



5. Bisz- és trisz-szacharido guanidinek vizsgálata

Szimmetrikusan szubsztituált karbodiimid $[\text{N},\text{N}'\text{-bisz}(\text{tetra-O-acetil-}\beta\text{-D-glükopiranozil)-karbodiimid}]$ (**24**) reakciója szekunder-aminokkal (piperidin, morfolin, N-metil piperazin), a megfelelő triszubsztituált guanidin származékokat adja (**25-29**).

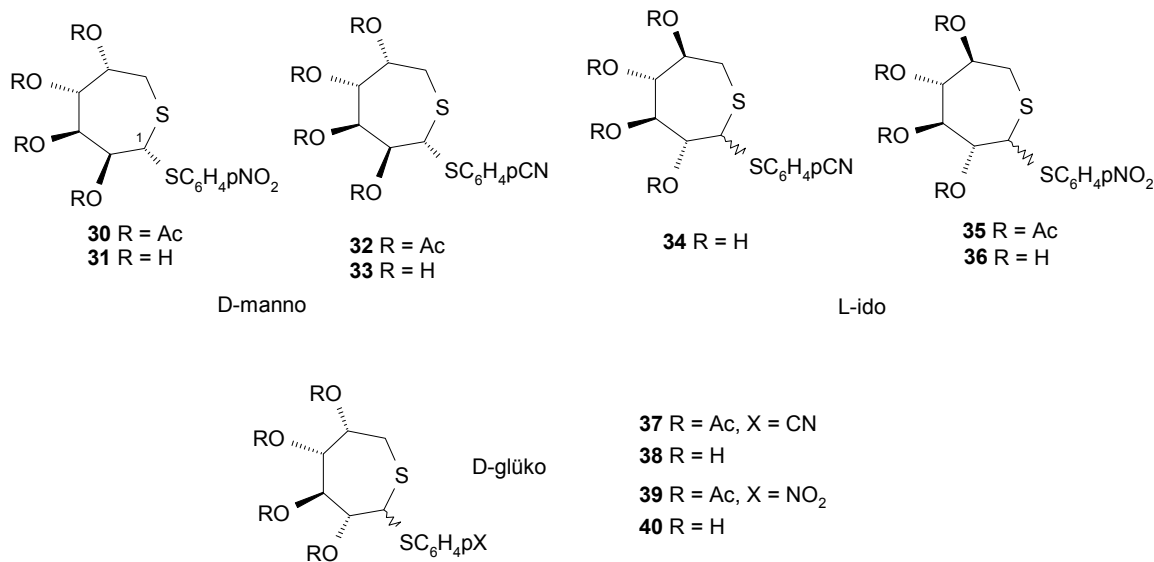


Feladatomban volt a guanidin származékok tautomerizációjának, izomerizációjának, konformációjának valamint időfelbontott szerkezetének meghatározása.

Megadtam **25-29** vegyületek teljes ^1H és ^{13}C jelhozrendelését figyelembe véve, hogy a guanidin tautomerizálódhat ill., hogy az imin kötés mentén E/Z izoméria lehetséges. A ROESY spektrumból következő térközelségek alapján megállapítottam, hogy az imin E konfigurációjú, továbbá, hogy ez egyes vegyületeknél 3 konformer konformációs egyensúlya feltételezhető. Igazoltam, hogy a vegyületek tautomerizálódnak. ROESY mérés segítségével meghatároztam a cserélődés kvantitatív sebességét.

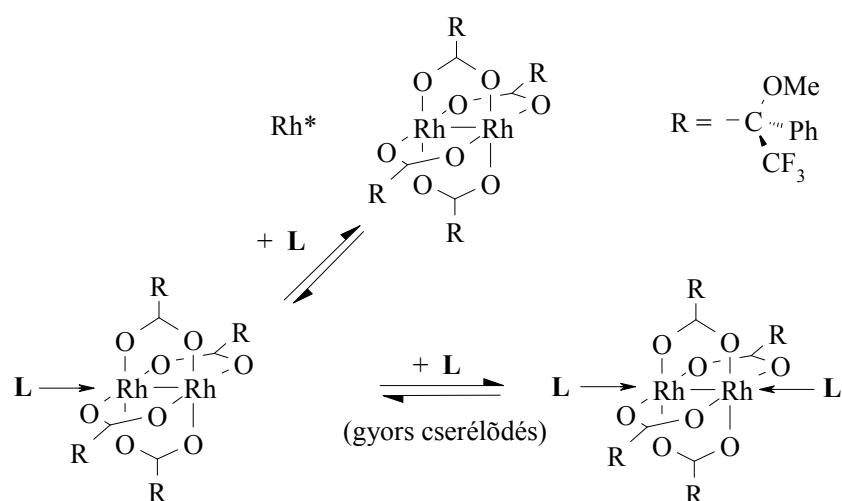
6. Antitrombotikus hatású 1,6-ditio-D-manno, L-ido és D-glüko-szeptanozidok NMR vizsgálata

A Richter Gedeon Gyógyszergyár Szerkezetkutatási Laboratóriumában a gyár egyik originális kutatási projektjébe (antitrombotikus kutatási projekt) kapcsolódtam be. Szerkezet-hatás összefüggés vizsgálata céljából a gyógyszergyárban 1,6-ditio-D-manno- (**30-33**), L-ido- (**34-36**) és D-glükoszeptanozid (**37-40**) származékokat állítottak elő. Meghatároztam a szintézis során előállított vegyületek és melléktermékek szerkezetét, konfigurációját.



7. Gazda-vendég kölcsönhatások tanulmányozása. Királis $\text{Rh}_2[(R)\text{-MTPA}]_4$ felhasználása új speciális shift reagensként

Az elmúlt két évtizedben a szelénorganikus vegyületek egyre nagyobb szerepet játszanak a modern régió- és sztereoszelektív kémiában. Ezzel párhuzamosan a ^{77}Se NMR spektroszkópia is egyre nagyobb teret hódít, mivel ez a mag viszonylag könnyen mérhető. Elsődleges célkitűzésünk független módszer kifejlesztése volt királis szelén-organikus vegyületek enantiomer arányának meghatározására. A kísérleteket az utóbbi években bevezetésre került királis $\text{Rh}_2[(R)\text{-MTPA}]_4$ (**Rh***) jelenlétében hajtottuk végre. Ezzel az ún. „diródium módszer”-rel lágy nukleofilek, mint pl. olefinek, nitrilek, epoxidok, jodidok valamint szelén vegyületek is vizsgálhatók. A királis segédanyag (**Rh***) a meghatározandó ligandummal (**L**) adduktot képez, amely folyamat az alábbi egyensúlyal jellemezhető.



Szelen vegyületek komplexálódásának vizsgálata NMR spektroszkópiával: termodinamika és sztöchiometria

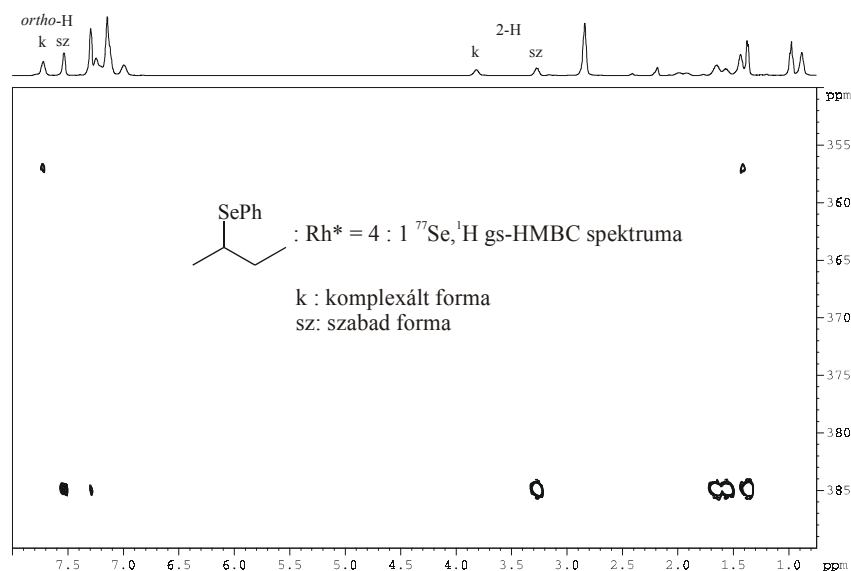
Szelenidek adduktképzési tanulmányozását egy modellvegyületen végeztem el ($\text{Ph-CH=CH-CH}_2\text{-Se-Ph}$). Különböző reaktáns-arányú elegyek (1:1, 2:1, 5:1) széles hőmérséklet tartományban felvett ($213\text{ K} - 330\text{ K}$) ^1H , ^{13}C és ^{77}Se NMR spektrumaik alapján megállapítottam:

Ha az oldatban feleslegben van **Rh***, akkor az egyensúlyban gyakorlatilag nincs szabad szelenid molekula (**L**). Az egyensúly az adduktképződés irányába van eltolva.

Ha egy **Rh*** molekulára kevesebb, mint két szelenid molekula (**L**) jut, akkor egy dinamikus egyensúly áll be a szabad **Rh***, 1:1 és 2:1 adduktok között.

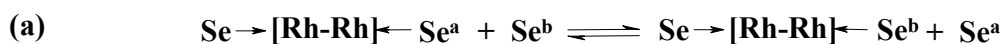
Ha egy **Rh*** molekulára több mint két szelenid molekula (**L**) jut, akkor túlnyomórészt 2:1 addukt képződik, amely dinamikus egyensúlyban van a szabad szelenid molekulákkal.

A ^{77}Se NMR jel direkt detektálása a mag érzéketlensége miatt viszonylag hosszú időt vesz igénybe (2-3 óra). Indirekt detektálással azonban a probléma orvosolható. Tanszéki műszerünkre indirekt detektálású $^{77}\text{Se}, ^1\text{H}$ -gs-HMBC mérést alkalmaztam, amivel a mérési időt drasztikusan lecsökkentettem (5 perc).

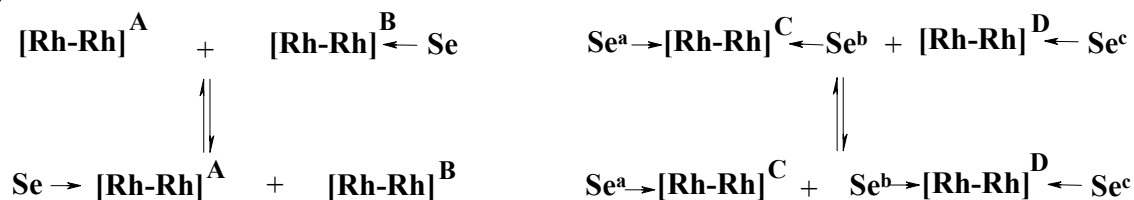


8. Alkil-aril-szenoéterek vizsgálata

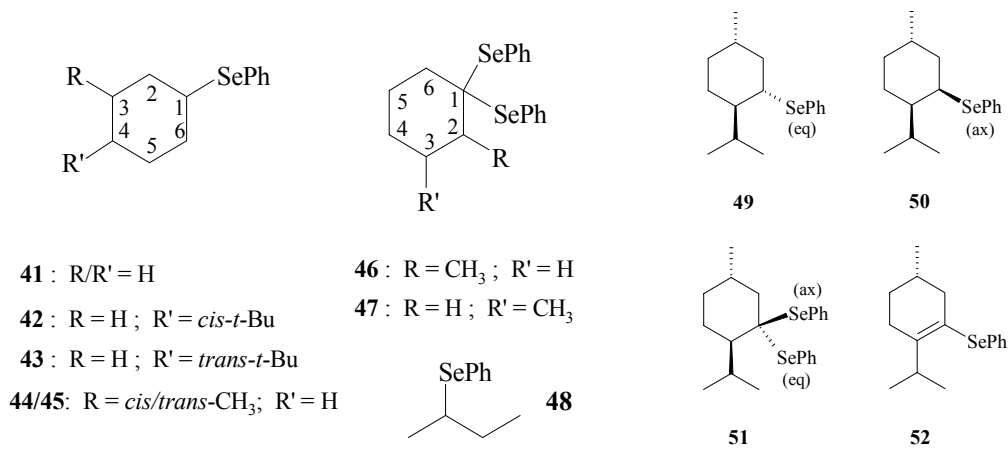
Meghatároztam **41-52** vegyületek szerkezetét, megadtam ^1H , ^{13}C és ^{77}Se jelhozzárendeléseket, illetve vizsgáltam a molekulák konformációs viszonyait. A reaktánsarány szisztematikus változtatásával és a hőmérsékletfüggő NMR mérésekből kapott eredmények alapján modellt állítottam az adduktképződés kinetikájára.



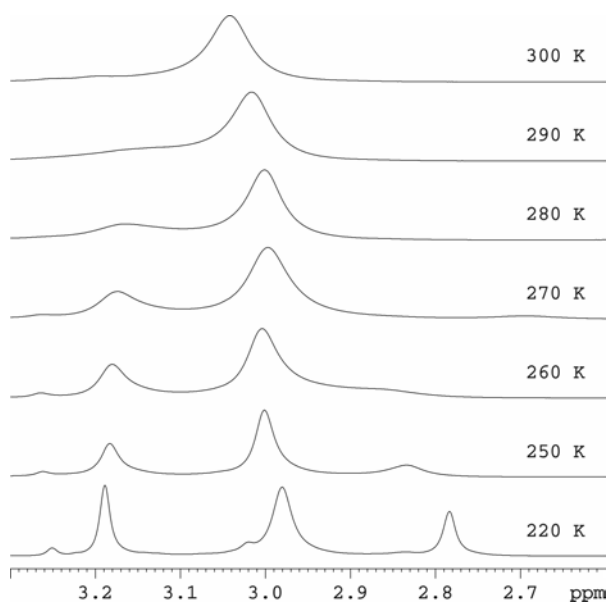
(b)



„Replacement” (a) és „Switch” (b) egyensúly



1:1 reaktáns-arány esetén, a hőmérséklet változtatásával két koaleszcencia jelenség lép fel („Switch”-egyensúly). Alacsony hőmérsékleten (220 K), megtalálható a szabad **Rh*** (3.19 ppm), 1:1 (2.97 ppm) és 2:1 (2.78 ppm) adduktok az oldatban.



Rh* metoxi proton jele **2**-es vegyület jelenlétében, különböző hőmérsékleten;

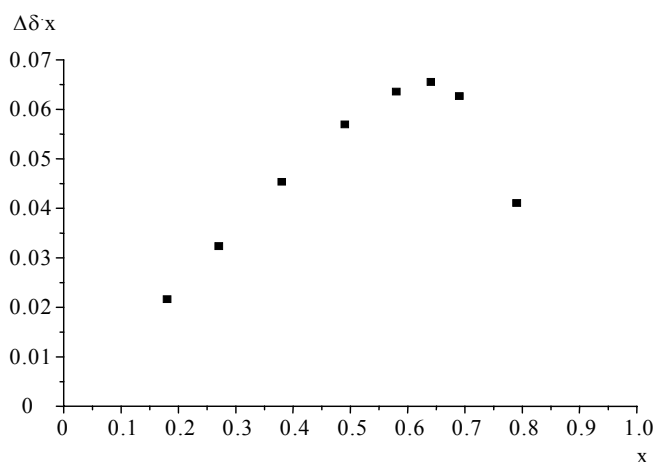


4:1 reaktáns-arány esetén intermolekuláris cserélődés jelenség játszódik le („*Replacement*”-egyensúly) ahol a szabad ligandumok cserélődnek a kötött ligandumokkal.

A koaleszcencia hőmérsékletek és a jeltávolságok alapján mindkét típusú egyensúly 53-55 kJmol⁻¹ aktiválási szabadentalpiával (ΔG^{**}) jellemezhető.

9. Kétmagvú ródium komplex monovalens ligandumokkal képzett folyadékfázisú adduktjának NMR vizsgálata

Adduktok (komplexek) sztöchiometriai aránya az ún. Job módszerrel vizsgálható. Különböző reaktáns-arányok (mólarány) esetén a komplexálódási kémiai eltolódás különbség ($\Delta\delta$) és a mólarány szorzatát a ligandum mólarányának függvényében ábrázolva, a görbe maximumánál leolvasható az addukt összetétele.



Rh* : szelenid addukt Job diagramja

Megállapítottam, hogy szelenidek esetén 2:1 addukt, nitrilek esetén $L \rightarrow Rh^* \leftarrow L \rightarrow Rh^* \leftarrow L$ konglomerátum (3:2 addukt), míg olefinek esetén a kettőskötés minőségétől függően (endociklikus ill. exociklikus) 1:1 ill. 3:2 addukt képződik.

Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Prof. Dr. Tóth Gábornak, aki a munkámat mindig figyelemmel kísérte, és sokoldalú támogatása nélkül a dolgozat nem készült volna el. Köszönet illeti még a Richter Gedeon Gyógyszergyár Rt-t és a Varga József Alapítványt a doktoránsi ösztöndíjam biztosításáért.

A dolgozat tárgyát képező publikációk

1. M. Hani A. Elgamal, Atef G. Hanna, Nagy A. M. Morsy, Helmut Duddeck, András Simon, **Tamás Gáti**, Gábor Tóth: Complete ^1H and ^{13}C signal assignments of 5α -cardenolides isolated from *Calotropis procera* R. BR.
J. Mol. Structure, **477**, 201-208 (1999)
2. G. Tóth, **T. Gáti**, I. Pintér, J. Kovács, R. Haeßner: NMR Studies of the Conformational Behaviour and Tautomerism of *bis*- and *tris*-saccharido Guanidines
Magn. Reson. Chem., **39**, 283-287 (2001)
3. A. A. Ahmed, A. A. Mahmoud, E. T. Ali, O. A. Tzakou, M. A. Couladis, T. J. Mabry, **T. Gáti**, G. Tóth: Two highly oxygenated eudesmanes and ten lignans from *Achillea holosericea*
Phytochemistry, **59**, 851-856 (2002)
4. H. Duddeck, S. Malik, **T. Gáti**, G. Tóth, M. I. Choudhary: Complexation of Selenium to (*R*)- $\text{Rh}_2(\text{MTPA})_4$ – Thermodynamics and Stoichiometry
Magn. Reson. Chem., **40**, 153-156 (2002)
5. **T. Gáti**, A. A. Ahmed, T. A. Hussein, E. T. Ali, O. A. Tzakou, M. A. Couladis, T. J. Mabry, G. Tóth: Ligustolide A and B, two novel sesquiterpen with rare skeltons and three 1,10-*seco*-guaianolide derivatives from *Achillea ligustica*
Phytochemistry, megjelenés alatt (2002)
6. B. Weckerle, **T. Gáti**, G. Tóth, P. Schreier: 3-Methylbutanoyl and 3-methylbut-2-enoyl disaccharides from green coffee beans (*Coffea arabica*)
Phytochemistry, **60**, 409-414 (2002)
7. É. Bozó, **T. Gáti**, Á. Demeter, J. Kuzsmann: Synthesis of 4-cyano and 4-nitrophenyl 1,6-dithio-D-manno-, L-ido- and D-glucoseptanosides possessing antithrombotic activity
Carbohydrate Research, **337**, 1351-1365 (2002)
8. S. Malik, S. Moeller, H. Duddeck, **T. Gáti**, G. Tóth, M. I. Choudhary: Secondary Phenylselenylalkanes – Characterisation of Their $\text{Rh}_2(\text{MTPA})_4$ -Adducts and Ligand Exchange Mechanisms as Studied by ^1H , ^{13}C and ^{77}Se NMR Spectroscopy
Magn. Reson. Chem., megjelenés alatt (2002)
9. Z. Rozwadowski, S. Malik, G. Tóth, **T. Gáti**, H. Duddeck: Dirhodium Tetraacylate Complexes and Monovalent Ligands. Adduct Formation in Solution as Monitored by NMR Spectroscopy
J. Chem. Soc., Dalton trans megjelenés alatt (2002)

Előadások és posztterek

1. Cardenolid típusú szteroid szaponinok szerkezetvizsgálata
Simon András, **Gáti Tamás**, Kovács József, Tóth Gábor
MTA NMR Mb. és Terpenoidkémiái és Elemorganikus Mb. közös előadóülése, Budakalász, 1997.
december 5.
2. NMR Investigation of 5 α - and 5 β -cardenolides isolated from *Calotropis procera* and *Acokanthera spectabilis*
József Kovács, András Simon, **Tamás Gáti**, Helmut Duddeck, Gábor Tóth
Central European Discussion Groups, 14th NMR, Valtice, Csehország, 12.-14. 04. 1999.
3. NMR investigation of lignans and two new sesquiterpenes isolated from *Achillea holosericea*
Tamás Gáti, Gábor Tóth, Ahmed A. Ahmed, Ahmed A. Mahmoud, Eptehal T. Ali, Maria Couladis, Olga Tzakou
Central European NMR Symposium and Bruker NMR Users Meeting, 1999. szept. 2-3. Szeged
4. Complete ¹H and ¹³C signal assignment and structure elucidation of 5 α - and 5 β -cardenolides isolated from *Acokanthera spectabilis* and *Calotropis procera*
József Kovács, **Tamás Gáti**, András Simon, Helmut Duddeck, Gábor Tóth
Central European NMR Symposium and Bruker NMR Users Meeting, 1999. szept. 2-3. Szeged
5. NMR investigation of the conformation and tautomerism of bis- and tris-saccharido guanidines
Tamás Gáti, Gábor Tóth, István Pintér, József Kovács
15th NMR Valtice, Central European NMR Discussion Groups, Valtice, Czech Republik, 26-28. 04. 2000.
6. Bis- és trisz-szacharido guanidinek konformációs és tautomerizációs sajátosságainak NMR vizsgálata
Gáti Tamás, Tóth Gábor, Pintér István, Kovács József
MKE Vegyészkonferencia, Debrecen, 2000. július 5-7.
7. NMR Studies on the Conformation and Tautomerism of bis- and tris-saccharido Guanidines
G. Tóth, **T. Gáti**, I. Pintér, J. Kovács, R. Haeßner
22nd Discussion Meeting, Progress in the Magnetic Resonance of Bioactive Compounds and New Materials, Regensburg, Germany September 27 - 30, 2000
8. Achillea holosericea és ligustica szeszkviterpén, neolignan és egyéb komponenseinek szerkezetfelfedezése
Gáti Tamás, Tóth Gábor
MTA NMR Munkabizottság és MKE Szakcsoport előadóülése, Pécs, 2001, augusztus 30-31.
9. Természetes vegyületek szerkezetfelfedezése modern NMR módszerekkel. *Achillea Holosericea* és *Achillea Ligustica* növények vizsgálata
Gáti Tamás, Tóth Gábor
MKE, Szervesaallitikai Szakcsoport előadóülése, Budapest, 2001. november 14.
10. Complexation of selenium to Rh₂[(R)-MTPA]₄: thermodynamics and stoichiometry by ¹H, ¹³C and ⁷⁷Se NMR
Tamás Gáti, Gábor Tóth, Helmut Duddeck and Shahid Malik
17th NMR Valtice, Central European NMR Discussion Groups, Valtice, Czech Republik, 8-10. 04. 2002.
11. Complexation of Selenium to (R)-Rh₂(MTPA)₄; thermodynamics and stoichiometry
Shahid Malik, Helmut Duddeck, **Tamás Gáti**, Gábor Tóth
2nd German-Polish Workshop, Chemistry of Natural Products, Synthesis, Chirality, Diversity, Hannover, 13-15. 06. 2002.
12. ¹H, ¹³C and ⁷⁷Se NMR study on Complexation of selenium to Rh₂[(R)-MTPA]₄; thermodynamics and stoichiometry of the application of a new chiral auxiliary
Tamás Gáti, Gábor Tóth, Helmut Duddeck, Shahid Malik
4th Central European NMR Symposium, Budapest, 2-3. 09. 2002.
13. Structure elucidation of monoterpenes, sesquiterpenes and seco-sesquiterpenes isolated from *Achillea ligustica*
Tamás Gáti, Gábor Tóth, Ahmed A. Ahmed, Taha A. Hussein, Aptehal T. Ali, Olga A. Tzakou, Maria A. Couladis and Tom J. Mabry
4th Central European NMR Symposium, Budapest, 2-3. 09. 2002.

