

**PhD értekezés tézisei**

**SZERKEZETFELDERÍTÉS REZGÉSI  
SPEKTROSKÓPIAI ÉS NMR MÓDSZERREL  
BIOLÓGIAI ÉRDEKLŐDÉSRE SZÁMOT TARTÓ  
SZERVES VEGYÜLETEK KÖRÉBEN**

**Készítette: Lejtoviczné Egyed Orsolya**

**Témavezető: Dr. Keresztury Gábor**

**Konzulens: Gácsné Dr. Baitz Eszter**

**MTA Kémiai Kutatóközpont Kémiai Intézet**

**Budapest 2004**

## BEVEZETÉS

Értekezésemet hosszú évek spektroszkópai tapasztalataira építve több terület bemutatásának szenteltem. Az utóbbi tíz évben végzett munkáim közül válogattam, azt a szempontot szem előtt tartva, hogy egységes kép alakuljon ki a címben is jelzett, biológiai szempontból fontos kis és közepes molekulák körében végzett szerkezetfelderítésről. Minthogy rezgési spektroszkópiával és NMR vizsgálatokkal hosszú ideig párhuzamosan foglalkoztam, disszertációmban lehetőség nyílt mindkét módszerrel nyert kutatási eredményeim megjelenítésére.

Az évek során módomban állt számos hazai és külföldi kutatócsoport munkájában részt venni. Az értekezésben bemutatásra kerülő munkák egy része: a 4.2, 5.2 és 6.1 fejezet az MTA Kémiai Kutatóközpont Kémiai Intézetében dolgozó szerves kémikus partnerekkel együttműködve készült. A 4.1 fejezet a norwichi University of East Anglia (UEA) egyetemen töltött egyéves ösztöndíjas munkám eredményeiből, míg az 5.1 fejezet a perugiai egyetemen szerves szintézissel foglalkozó partnerekkel kooperálva született. Ezúton is köszönöm minden együttműködő kollégának, hogy bizalmával megtisztelt és feladatai megoldásába bevont. Az eredményekből közös publikációk születtek, melyek ismertetésekor természetesen törekszem arra, hogy saját hozzájárulásom jól elkülöníthető, önállóan megítélhető legyen.

## CÉLKITŰZÉS

Az infravörös és Raman spektroszkópiát hagyományosan szintéziskövető módszerként alkalmazzák, de biológiai rendszerek változásainak észlelésére is lehetőség van alkalmasan megválasztott rezgési spektroszkópiai jellemzők nyomon követésével. A 4.2 fejezetben ergolinvázas vegyületek szintézisekor képződő intermedierek szokatlan spektrális viselkedésének értelmezése céljából kvantumkémiai számításokat és normálkoordináta analízist végeztem. A 4.1 fejezet a napjainkban egyre hangsúlyosabb biológiai területre vezet. Céлом volt, hogy fehérjék felszínét fémkarbonil tartalmú vegyülettel jelezzem, és vizsgáljam, hogy a beépített jelzés alkalmas-e a felszínen lezajló változások detektálására.

A bemutatásra kerülő NMR tárgyú munkák közül az 5.1 fejezetben Diels-Alder reakciók váratlan melléktermékeinek teljes szerkezeti hozzárendelése volt a célom tisztán az NMR spektroszkópia eszköztárának felhasználásával.

Az 5.2 és 6.1 fejezetek rokon indíttatásúak, nitrogéntartalmú heterociklusos vegyületek addíciós reakcióinak tanulmányozására születtek. Esetenként nem csupán a képződött termékek szerkezetazonosítását hajtottam végre, hanem célul tűztem ki az alkalmazott sók szerkezeti paramétereinek és alkalmasan választott NMR adatoknak párhuzamba állításával a nukleofil támadás helyének valószínűsítését is.

## ALKALMAZOTT MÓDSZEREK

Az infravörös és Raman spektroszkópiai vizsgálatok nagy része az MTA KKKI Optikai Spektroszkópiai Laboratóriumában készült, ahol egy NICOLET Magna 750 Fourier transzformációs spektrométer, illetve egy NIR gerjesztéssel működő NICOLET 950 FT-Raman spektrométer állt rendelkezésemre. Az angliai tanulmányutam során készült IR színeképfelvételekhez a norwichi UEA Perkin Elmer 1720X Fourier transzformációs berendezését használtam. A kvantumkémiai számításokat a Gaussian programcsomaggal hajtottam végre, míg a normálkoordináta analízist Sundius MOLVIB programjával végeztem.

Az NMR vizsgálatokat Varian Unity INOVA spektrométeren ( $^1\text{H}$  400 MHz), szélessávú és inverz  $^1\text{H}\{^{13}\text{C}\}$  PFG mérőfejen végeztem. A következő rutinszerűen alkalmazott technikákat használtam: 1D NMR: szelektív CW lecsatolás, NOE-differencia, DPGSE-NOE, 2D NMR: PFG-HSQC, PFG-HMBC. Az említett 2D méréseket az egy- és többkötéses  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  skaláris csatolópartnerek feltérképezésére, a NOE méréseket pedig a dipoláris kölcsönhatásban lévő magok nukleáris Overhauser effektus alapján történő egymáshoz rendelésére, vagyis a térbeli közelség megállapítására használtam.

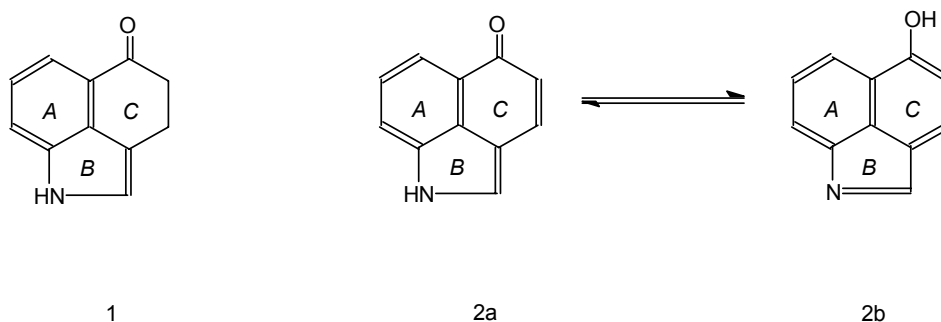
## ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Ismert szerkezetű enzimek:  $\alpha$ -kimotripszin, ribonukleáz, triacilglicerol lipáz és alkalikus foszfatáz felszínére fémkarbonil jelzőcsoportot építettem. Szisztematikus IR spektroszkópiai vizsgálatokat végeztem aminosavakkal, a terminális amino- és karboxilátcsoportot modellező etilammónium-kloriddal illetve Na-propionáttal, láncvégi nitrogéneken védett- és poli-aminosavakkal abból a célból, hogy a fehérjéken való kötődéssel analógiákat találjak, s ezek segítségével az enzimek felszín kötőhelyeit azonosítsam. Megállapítottam, hogy mind a négy vizsgált enzim főként a felszínközeli lizin egységeken jelezhető, de a kapcsolódás mechanizmusa nem teljesen azonos. A fémkarbonil vegyület enzimes kezelésekor tapasztalt frekvencia-eltolódás iránya alapján tisztáztam a jelzőcsoport és a fehérje közötti kölcsönhatás természetét.

Bizonyítottam, hogy a fehérjefelszínre épített fémkarbonil vegyületek valóban jelzőcsoportként működnek, alkalmasak a felszín közelében uralkodó lokális pH jelzésére, frekvenciájuk ugyanis a pH változását reverzibilisen követi. Valódi biológiai környezetben elsőként alkalmaztam a fémkarbonil jelzőcsoportot, amikor sejtextaktumok fehérjetartalmú frakcióihoz kapcsolódó vatrikarbonil csoporttal jelzett flavonoidok infravörös színeképeit készítettem el.

2. Szintéziskövető vizsgálatokat folytattam az Uhle-kezonból előállított ergolinvázas vegyületek körében. A vizsgált

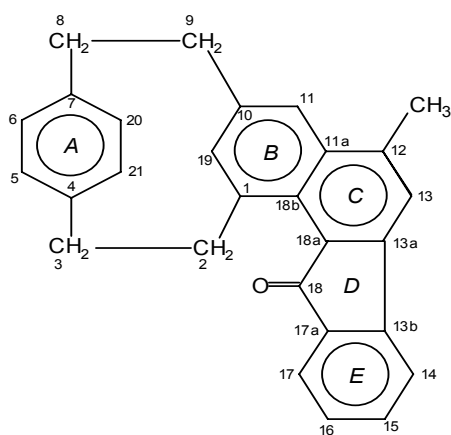
molekuláknak két típusát különböztettem meg: az Uhleketonhoz (1) hasonló vázzal rendelkezőket és az abból oxidációval (dehidrogénezéssel) kialakuló kinoidális (2a) vagy aromás (2b) C gyűrűt tartalmazó származékokat.



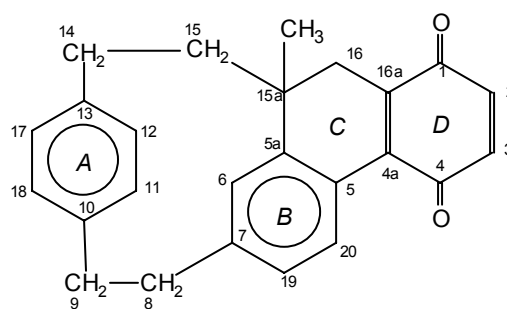
Az utóbbi vegyülettípus (2a és 2b) szokatlan rezgési sajátságainak, különösen a ketocsoport alacsony frekvenciánál jelentkező gyenge elnyelésének tisztázására kvantumkémiai erőtérszámításokat végeztem. A szemempirikus AM1, ab initio HF és B3LYP/6-31G\* DFT (sűrűség funkcionál elméleti) számítással nyert kvadratikus erőteret belső koordinátákba transzformáltam, így hajtottam végre a normálkoordináta analízist. Kiszámítottam a rezgésalakokat, a rezgési frekvenciákat és intenzitásokat, valamint az egyes normálrezgésekhez kapcsolódó TED (total energy distribution) adatokat. A DFT számítás megbízhatónak bizonyult a rezgések helyének megállapításában, a mért frekvenciák a számított alaprezgéseknek egyértelműen megfeleltethetők voltak. Megállapítottam, hogy az oxidált származék szinképében a

$\nu_{C=O}$  rezgés két csatolt normálrezgés között oszlik el, ez indokolja a szokatlan frekvenciát és intenzitást.

3. Vizsgálatokat folytattam Diels-Alder típusú cikloaddíciós reakciók során keletkező ciklofán származékok körében. Saját mérési eredményeket felhasználva elemeztem két váratlan szerkezetű, a reakcióban melléktermékként képződő vegyület NMR paramétereit.



1



2

Egyértelműen megállapítottam a metaparaciklofán váz kialakulását. A vázra jellemző térbeli elrendeződést, valamint a 2 vegyületben az aszimmetriacentrum konfigurációját NOE kísérleteim bizonyították.

Szemiempirikus AM1 számításokkal meghatároztam az egyensúlyi helyzet geometriáját, ezzel alátámasztottam az

aromás gyűrűk térbeli elrendeződéséből származó, protoneltolódásokra gyakorolt anizotróp hatását.

4. Vizsgáltam a hídfőnitrogént tartalmazó policiklusos heteroaromás sók nukleofil addíciós reakcióinak útját és lehetséges mechanizmusát. NMR adatokkal alátámasztható összefüggést kerestem a nukleofil támadás helye és a reakcióban résztvevő sók szerkezete között. A nukleofil ágens támadásának helyét elsősorban a töltéeloszlás határozza meg, az esetleges gyűrűfelnyílást pedig a kötésrend befolyásolja, ezért a  $^{13}\text{C}$  kémiai eltolódást tekintetem diagnosztikus NMR adatnak, mivel az a szénmagok környezetében észlelhető töltéssűrűség és a szén tartalmazó kötés rendjének függvénye.

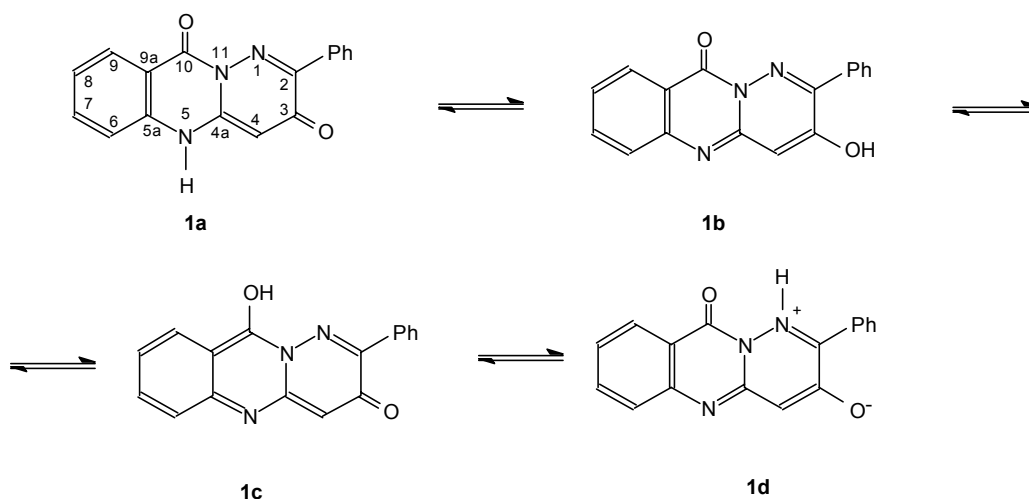
A triazínium sók reakciói körében elektronszívó szubsztituensek beépítése a kiindulási vegyületekbe nem okozott lényeges töltéssűrűség változást, ami a  $^{13}\text{C}$  kémiai eltolódások változatlanságában és a reakciók hasonló lefolyásában is tükröződött.

Határozott változást okoztak viszont a tiazolo-azínium sók anellációs szerkezeti eltérései a töltéssűrűség eloszlásában. A tiazolgyűrűnek az anellációs változások által érintett atomjain az atomi töltés az atomot tartalmazó kötés rendjével együtt változott. Mindkét paramétert kvantumkémiai számításokkal határoztam meg. Az észlelt különbségeket a  $^{13}\text{C}$  kémiai eltolódások is egyértelműen visszatükrözték. Az addíciós reakciók elméletileg lehetséges négyféle terméke közül eddig kettőt NMR méréseimmel azonosítottam.



5. A rezgési spektroszkópai és NMR módszereket együtt alkalmaztam az ábrán feltüntetett lineáris háromgyűrűs heterociklusos molekula regioszelektív alkilezési reakcióihoz kapcsolódó vizsgálataimban.

Különös figyelmet fordítottam a reakciók alapanyagául szolgáló vegyület szerkezetének részletes hozzárendelésére, külön taglalva a szilárd és folyadékfázisban előforduló tautomer formák sajátosságait. A rezgési spektrumokat kvantumkémiai számítások, normálkoordináta analízis alapján értelmeztem.



A vegyület elméletileg négyféleképpen, az 1 és 5 helyzetű nitrogéneken illetve a 3 és 10 helyzetű oxigéneken támadható, a képződő termékek szerkezetét a reakciókörülmények befolyásolják.

Vizsgálataimmal igazoltam, hogy a vízmentes körülmények között végrehajtott reakció az N5 és O3 pozícióban alkilezett

származékok elegyéhez vezetett. A termékek szerkezetét teljes jelhözrendeléssel igazoltam.

Vizes, lúgos körülmények között gyűrűfelnyílást, azt követően pedig két váratlan szerkezetű, N-en alkilezett termék elegyét találtam, melyek közül az egyik ikerionos szerkezetű volt. A képződött termékek azonosításához a rezgési spektroszkópiai és NMR technikákat kombináltam. A felmerülő kérdések megválaszolására mindig a kézenfekvő, az adott kérdésre egyszerűbben, egyértelműbben választ adó módszert részesítettem előnyben.

## **AZ EREDMÉNYEK FELHASZNÁLÁSÁNAK LEHETŐSÉGEI**

A disszertációban ismertetett új tudományos eredmények segítik az érintett területek további művelését, ösztönzik az ott folyó kutatások folytatását.

Az enzimek fémkarbonilos jelzésére irányuló munka egyértelművé tette, hogy az alkalmazott vastrikarbonil komplexek kiváló bioszenzorok, amelyek valódi biológiai közegben is megbízhatóan követik a felszínen lezajló változásokat. Továbbfejlesztésükre – akár új bioszenzor molekuláknak, akár új biológiai közegeknek a vizsgálatokba illesztésével – számtalan lehetőség adódik.

A preparatív kémia néhány napjainkban is intenzíven művelt területén – ergolinvázas vegyületek és ciklofán származékok körében – egyértelműen tisztáztam a szintézisek alapvegyületeinek szerkezetét. Ez komoly alapot szolgáltat az említett vegyületcsaládok további képviselőinek előállításakor felmerülő szerkezeti kérdések megválaszolásához.

Szerkezetfelderítési munkát végeztem nitrogéntartalmú heterociklusok regioszelektív alkilezési és nukleofil addíciós reakcióihoz kapcsolódóan. NMR adatokkal igazolható összefüggést kerestem a nukleofil támadás helye és a reakciókban résztvevő sók szerkezete között. Ezen ismeretek birtokában az adott célvegyületek előállítását célzó szintetikus munka előre tervezhetővé válik.

## AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁT KÉPEZŐ KÖZLEMÉNYEK

1. C. E. Anson, C. S. Creaser, O. Egyed, M. A. Fey, G. R. Stephenson, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, (1994) 39.
2. C. E. Anson, C. S. Creaser, O. Egyed, G. R. Stephenson, *Spectrochim. Acta*, **53A** (1997) 1867.
3. C. E. Anson, C. S. Creaser, J. A. Downie, O. Egyed, A. V. Malkov, L. Mojovic, G. R. Stephenson, A. T. Turner, K. E. Wilson, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **8** (1998) 3549.
4. C. E. Anson, T. J. Baldwin, N. J. Clayden, C. S. Creaser, O. Egyed, M. A. Fey, W. E. Hutchinson, A. Kavanagh, G. R. Stephenson, P. I. Walker, *J. Optoelect. And Adv. Mat.*, **5** (2003) 533.
5. I. Moldvai, E. Temesvári-Major, E. Gács-Baitz, O. Egyed, Á. Gömör, L. Nyulászi, Cs. Szántay, *Heterocycles*, **51**. (1999) 2321.
6. O. Egyed, G. Keresztury, *Vibr. Spectrosc.*, **22** (2000) 143.

7. O. Egyed, A. Taticchi, L. Minuti, E. Gács-Baitz, *Structural Chemistry*, **15** (2004) 247.
8. Zs. Riedl, Gy. Hajós, A. Messmer, O. Egyed, *Arkivoc* **XIV** (2003) 155.
9. O. Egyed, D. Csányi, E. Gács-Baitz, Gy. Hajós, A. Hamza, Zs. Riedl, *J. Mol. Structure* **651-653** (2002) 295.
10. D. Csányi, Gy. Hajós, Zs. Riedl, O. Egyed, C. Kos, T. Kappe, *Heterocycl. Commun.*, **6** (2000) 147.
11. D. Csányi, Gy. Hajós, G. Tímári, Zs. Riedl, A. Kotschy, T. Kappe, L. Párkányi, O. Egyed, M. Kajtár-Peredy, S. Holly, *Eur. J. Org. Chem.*, (2002) 133.
12. O. Egyed, G. Keresztury, T. Sundius, *Proc. Of XVIIIth Int. Conf. On Raman Spectroscopy*, (2002) 611.

#### **AZ ÉRTEKEZÉSEL KAPCSOLATOS ELŐADÁSOK**

1. C. E. Anson, C. S. Creaser, M. Fey, O. Egyed, G. R. Stephenson; The use of an inhibitor containing a  $\text{Fe}(\text{CO})_3$  group to study enzyme-inhibitor interactions, XXVIII. Colloquium Spectroscopicum Internationale, June 29-July 4, 1993, York, U.K.
2. C. E. Anson, C. S. Creaser, O. Egyed, G. R. Stephenson; FT-IR detection of enzyme-bound organometal carbonyls, 6<sup>th</sup> Austrian-Hungarian International Conference on Vibrational Spectroscopy, 6-8 April, 1994, Veszprém, Hungary
3. O. Egyed, D. Csányi; Spectroscopic studies on new tricyclic heteroaromatic ring systems, First Magna Graecia Medical Chemistry Workshop on New Perspectives in Drug Research, 10-13 June, 2001, Copanello, Italy
4. O. Egyed, E. Gács-Baitz, Zs. Riedl; Studies on the addition reaction of heteroaromatic condensed systems by NMR spectroscopy, EUCMOS XXVI, 1-6 September, 2002, Villeneuve d'Ascq, France
5. O. Egyed, G. Keresztury; Vibrational analysis of Uhle ketone and its oxidized tautomeric derivatives, 7<sup>th</sup> Austrian-

Hungarian International Conference on Vibrational Spectroscopy, 6-9 April, 1994, Veszprém, Hungary

6. O. Egyed, G. Keresztury; T. Sundius, Understanding the vibrational behavior of linearly fused heterocycles, 18<sup>th</sup> International Conference on Raman Spectroscopy, 25-30 August, 2002, Budapest, Hungary