

Új, potenciálisan biológiailag aktív kén- és szeléntartalmú szénhidrát származékok szintézise

HÖGYE Fanni^{a*}, ILLYÉS Tünde Zita^a, BAJZA István^b és SZILÁGYI László^a

^aDebreceni Egyetem, Egyetem tér 1. 4032 Debrecen, Magyarország

^bGlycOptim Biotechnológiai Kft., Egyetem tér 1. 4032 Debrecen, Magyarország

1. Bevezetés

A szénhidrátok, az élő szervezetben ellátó kedvező funkciók mellett szerepet játszanak a betegségekkel kapcsolatos felismerési eseményekben is.¹ A szénhidrátokon keresztül közvetített kölcsönhatások többféle módon történnek. A legtöbbet tanulmányozott rendszerek fehérje-szénhidrát kölcsönhatásokat foglalnak magukban. Ezek a kölcsönhatások elengedhetetlenek a sejtdhézióhoz,² jelátviteli eseményekhez,³ gazda-patogén kölcsönhatásokhoz,⁴ rák kialakulásához.⁵

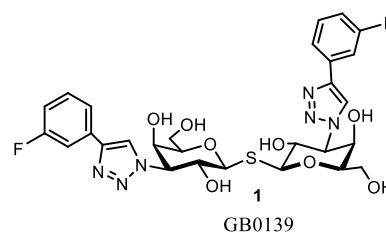
A szénhidrátok olyan kórokozókban is jelen vannak, mint a vírusok, baktériumok, paraziták vagy gombák. Az ilyen entitások felszínén lévő glikánok gyakran az első interfész a gazdasejt felé. Mivel sok vírus sűrű glikánréteggel rendelkezik, a kórokozók elleni küzdelem lehetősége a glikánkötő fehérjék használata.⁶ A glikánokkal kölcsönhatásba lépő entitások közül a lektinek olyan szénhidrátkötő fehérjék, amelyek nagymértékben specifikusak más molekulák részét képező szénhidrát-csoportokra, így bizonyos sejtek agglutinációját vagy glikokonjugátumok és poliszacharidok kicsapódását okozzák. A lektinek gyenge kölcsönhatást alakítanak ki a ligandumokkal, azonban a glikoproteinek és glikolipidek affinitása megnőhet, ha glikoklaszterekben rendeződnek.^{7,8} A patogén szervezetekből származó lektinek hozzájárulhatnak a baktériumok vagy vírusok toxinjainak termeléséhez, a gazdasejtbe való bejutáshoz vagy az immunválasz elkerüléséhez.

A lektinek családjába tartozik a galektin-3 (*hGal-3*), kiméra típusú galaktóz specifikus lektin, számos biológiai folyamatban vesz részt: sejtdhézió, sejtaktiváció, sejtnövekedés és differenciálódás, sejtciklus és apoptózis. Számos esetben igazolták a Gal-3 érintettségét különböző betegségekben (rák, gyulladásos megbetegedések, fibrózis, szívbetegség).^{9,10} Továbbá ismert, hogy a Gal-3 erősen túlszabályozott például az afrikai álomkórt okozó *Trypanosoma brucei* (*T. brucei*) parazita fertőzés során is.¹¹ A *Pseudomonas Aeruginosa* (*P. Aeruginosa*) opportunista humán kórokozó, a cisztás fibrózis kialakulásáért felelős. A bakteriális eredetű LecA lektin, virulencia faktor és biofilm elleni gyógyszerek potenciális célpontja. Napjainkban nagy figyelmet

fordítanak a Gal-3 és LecA szénhidrát alapú inhibitorok kifejlesztésére, beleértve a különböző glikokonjugátumokat és glikomimetikumokat.

2. Eredmények

A Debreceni Egyetem, Természettudományi és Technológiai Karának Szerves Kémiai Tanszékén működő HUN-REN-DE Molekuláris Felismerés és Kölcsönhatás Kutatócsoport számára számos kén és szelén tartalmú szénhidrát-származék szintézisét valósítottuk meg fehérje-ligandum kölcsönhatás vizsgálatok céljából. A szelén atom jelenléte a szénhidrát származékokban kiváló lehetőséget biztosít biomolekulák szerkezeti elemzésére, valamint a lektin-szénhidrát kölcsönhatások tanulmányozására ⁷⁷Se-NMR módszerekkel.¹² A TDG (tiodigalaktózid) nem metabolizálható diszacharid, gyulladás- és rákellenes hatással rendelkezik. A Galecto Biotech cég számos kis molekulájú szintetikus gyógyszert állított elő, például a GB0139-t (**1. Ábra**), mely vegyület fontos szerepet játszik az idiopátiás tüdőfibrózis (IPF) patológiás folyamataiban.



1. Ábra. GB0139 (**1**), IPF kezelésére alkalmas TDG származék¹³

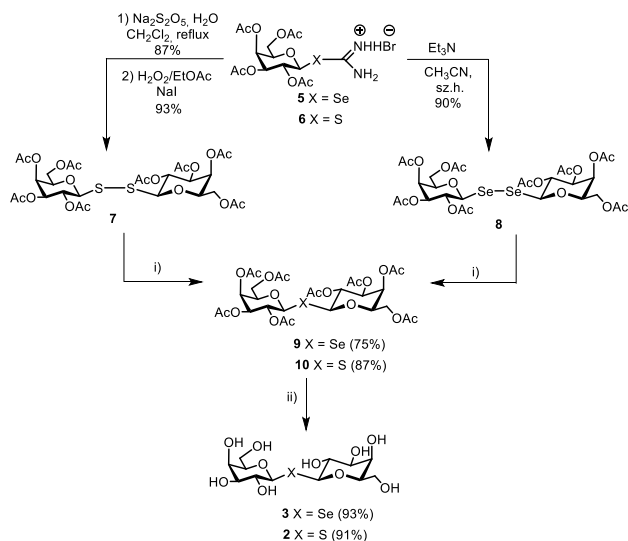
Doktori munkám során célul tűztük ki új, szimmetrikus tio- (TDG) és szelenodigalaktózid (SeDG) származékok szintézisét, melyek a 3,3'-helyzetben *N*-heterociklusos és/vagy homoaromás szubsztituenseket tartalmaznak, mint potenciális *hGal-3* inhibitorok. Potenciális LecA lektin inhibitorokként bivalens szelenogalaktopiranozidok szintetizálását terveztük CuAAC-reakcióval, mely származékokban a központi magok homo- és heteroaromás gyűrűrendszerek. A bivalens szénhidrát-származékok mellett változatos szerkezetű és biológiai aktivitású monovalens aralkil β-d-szenoglikopiranozid-származékok szintézisét is terveztük megvalósítani.

* telefon, email

3. A 3,3'-di-O-aralkil TDG és SeDG származékok

3.1. A 3,3'-di-O-TDG származékok

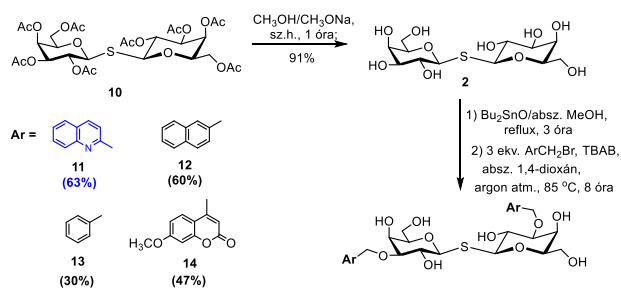
A kiindulási tiodigalaktoszid (TDG, **61**) és szelenodigalaktoszid (SeDG, **15**) vegyületek előállítására több módszert is teszteltünk, melyek az irodalomból ismertek, azonban vagy alacsony hozammal szintetizáltuk az alapanyagokat, vagy nem volt méretnövelhető a módszer. Végül egy új eljárást dolgoztunk ki, amely során több grammos tételekben (**2. ábra**) állítottuk elő a kiindulási tio- és szeleno-digalaktoszid származékokat.¹⁴



2. ábra. TDG **2** és SeDG **3** előállítása: i) NaBH_4 , MeCN , argon atm., sz.h., 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-galaktopiranozil bromid (**4**) **10** (87%), **9** (75%) ii) MeONa , absz. MeOH **61** (91%), **15** (93%)

Molekuláris dokkolási számításokat végeztek aromás szubsztituenseket tartalmazó TDG származékokkal *h*Gal-3-al történő kölcsönhatás vizsgálat céljából. Az eredmények alapján, új, kinolin tartalmú TDG származékot szintetizáltunk **11**,¹⁵ mely TDG származék kölcsönhatásának vizsgálatát *h*Gal-3 galektinnel kooperációs partnereink ¹H-STD NMR spektroszkópiai módszerrel vizsgálták.¹⁶

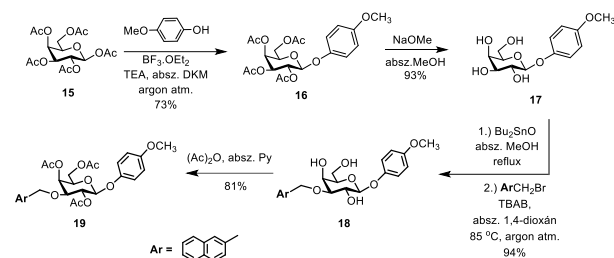
A 3,3'-di-*O*-(kinolin-2-il)metil TDG-származék (**11**, **3. ábra**) szintézisét TDG-ből kiindulva valósítottuk meg az általunk optimalizált reakciókörülmények között. **2**-ből sztannilidén-acetált képeztünk Bu_2SnO -dal, majd az acetált regioszelektíven nyitottuk 3 ekvivalens 2-(brómmetil)-kinolinnal, absz. 1,4-dioxánban, 85 °C-on. A **11** származék *h*Gal-3-hoz való kötődési sajátságának összehasonlítása érdekében három, az irodalomban ismert (naftalin-2-il)-metil **12**, benzil **13** és (7-metoxi-2H-benzopirán-2-on-4-il)-metil **14** származékokat szintén előállítottuk a módosított, optimalizált reakciókörülmények között.¹⁷



3. ábra. A szimmetrikus 3,3'-di-*O*-aralkil TDG származékok előállítása

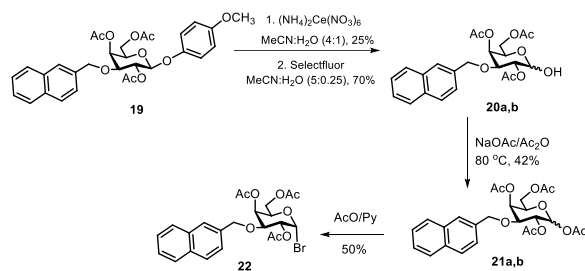
3.2. A 3,3'-di-O-SeDG származékok

Irodalmi módszerekre alapozva a SeDG származékok szintézisét monoszacharid származékból kiindulva (**17**, **4. ábra**) valósítottuk meg.¹⁸



4. ábra. A PMP 3,3'-di-*O*-naftil-2-il-metil- β -D-galaktopiranozil előállítása

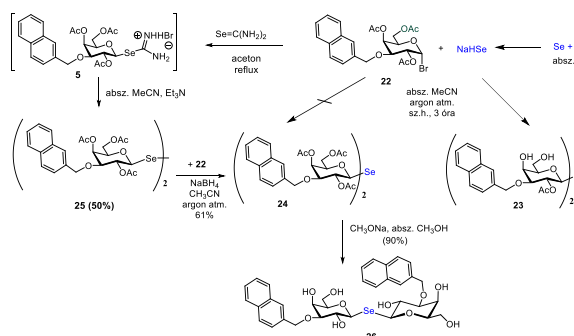
A PMP csoport eltávolítására két módszert teszteltünk. A CAN-tal történő hasítás alacsony hozammal (25%, **4. ábra**) szolgáltatotta a **20a,b** anomer keveréket.^{19,20} Az irodalom tanulmányozását követően a PMP csoportot a ²NAP mellől új módszer szerint távolítottuk el, Selectfluor® reagens felhasználásával (70%, **5. ábra**).²¹



5. ábra. A PMP csoport hasítása, a **22** bromid származék előállítása

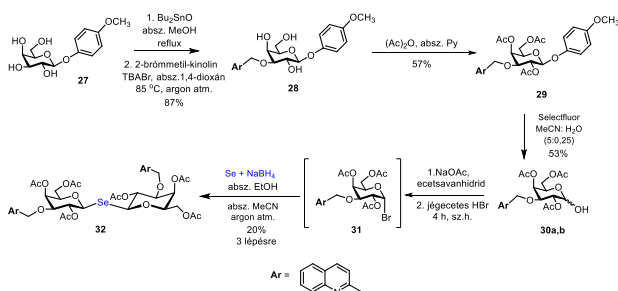
A **20a,b** anomer keverék hidroxil csoportját $\text{NaOAc}/\text{Ac}_2\text{O}$ -elegyével acetileztük, majd a **21a,b** acetátot jégecetes HBr-al reagáltattuk, a **22** bromid származékot közepes hozammal izoláltuk. Elemi szelén és **22** bromid reakciójában redukzív körülmények között, LC-MS mérés alapján a **23** SeDG-származékot állítottuk elő (**6. ábra**).¹⁸ Új módszert dolgoztunk ki a SeDG származék szintézisére. A **22** bromidból jó hozammal állítottuk elő a **5** izoszelenurónium-sót, amelyet Et_3N -al reagáltatva közepes hozammal izoláltuk a szimmetrikus **25** diszelenidet. A TDG-peracetát előállításánál alkalmazott redukzív körülmények között a **22**

bromid és a **25** diszelenid reakciója jó hozammal (61%, **6. ábra**) eredményezte **24** SeDG származékot, melyet Zemlén-körülmények között dezacetilezve nyertük a **26** végterméket.¹⁴



6. ábra. A **26** szimmetrikus SeDG származék szintézise

További SeDG származék szintéziséhez PMP 3,3'-di-*O*-aralkil-2,4,6-tri-*O*-acetyl-β-*D*-galaktopiranozid származékot állítottunk elő. (**28**, **7. ábra**).



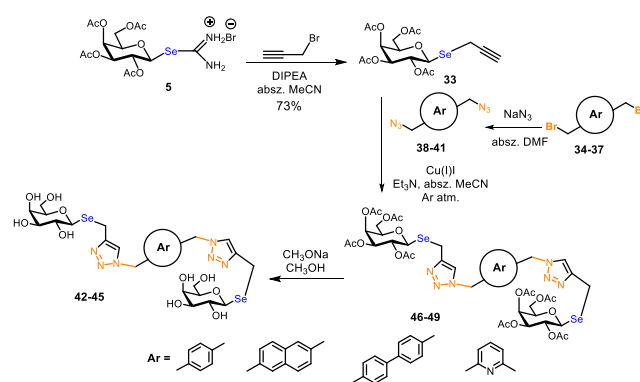
7. ábra. **32** SeDG acetát szintézise

A **32** védett kinolin-származékot 20%-os összhozammal állítottunk elő **30a,b** anomer keverékből kiindulva szelén por felhasználásával (**7. ábra**).¹⁸

Egy fontos szintetikus szénhidrát kémiai eredmény, mely szerint a PMP csoport szelektíven eltávolítható Selectfluor® reagenssel a kinolin-2-ilmetil és a ²NAP csoportok mellől.

3.3. A Bivalens aralkil-1,2,3-triazol-4-il-metil-szeleno-β-*D*-galaktopiranozidok szintézise

CuAAC reakcióval, új típusú szelenogalaktozidokat állítottunk elő, mely származékokban a központi "távartó" egység egy homo- és heteroaromás gyűrű. A homo- és heteroaromás dimetil-diazidokat a megfelelő bromidokból szintetizáltuk absz. DMF-ben szobahőmérsékleten jó hozammal. A fluoreszcens dibromobimán NaN₃-mal és TMSA-val diaziddá történő átalakítása sikertelen volt. A **5** izoszenourónium sót propargil-bromiddal száraz CH₃CN-ben reagáltatva jó hozammal kaptuk a prop-2-in-1-il-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-β-*D*-szelenogalaktopiranozidot (**33**, **8. ábra**).²²



8. ábra. Aromás diazidometil származékok CuAAC reakciója prop-2-in-1-il-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-β-*D*-szelenogalaktopiranoziddal

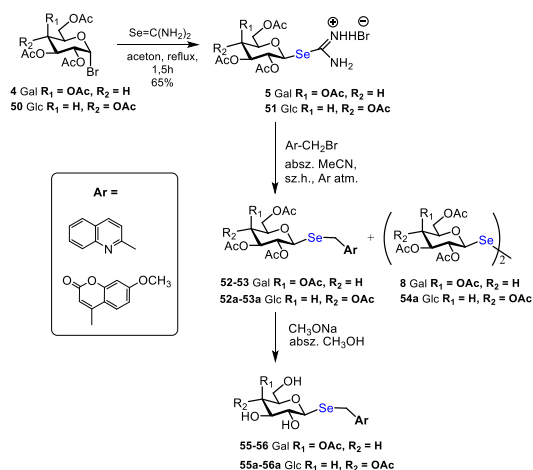
A **38-41** aromás diazidometil-származékokat a **33** propargil-származékkal reagáltattuk Cu(I)-katalizátor jelenlétében, absz. CH₃CN-ben, inert atmoszférában; az új védett bivalens vegyületeket jó hozamokkal nyertük, Zemlén körülmények között dezacetileztük a védőcsoportokat (**1. táblázat**).

Aralkil 1,2,3-triazolil-4-il-metil-szeleno-β- <i>D</i> -galaktopiranozidok	Ar	Izolált hozam (%)	R
 R = Ac, 46-49 R = H, 42-45		56 82	46 (Ac) 42 (H)
		71 78	47 (Ac) 43 (H)
		60 80	48 (Ac) 44 (H)
		50 82	49 (Ac) 45 (H)

1. táblázat. Aralkil 1,2,3-triazolil-4-il-metil-szeleno-β-*D*-galaktopiranozidok izolált hozamai

3.4. Új monovalens szelenoglikozidok szintézise

Irodalomban ismert a bivalens szelenogalaktozid (**15**, SeDG), alkalmazása a szénhidrát-fehérje kölcsönhatások vizsgálatára a ⁷⁷Se NMR aktív magnak köszönhetően. Olyan új szelenoglikozidokat szintetizáltunk, amelyekben az aglikonok a *h*Gal-3 galektinhez bizonyítottan kötődő 3,3'-di-*O*-aralkil-TDG származékok szubsztituensei. Az új származékokat **5**, **51** szelenourónium-sóból állítottuk elő 2-(brommetil)-kinolinnal és 4-brommetil-7-metoxi-kumarinnal történő reakciókban, szobahőmérsékleten, absz. CH₃CN-ben, Et₃N bázis jelenlétében, argon atmoszférában.^{23,24}

9. ábra. Aralkil-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-β-d-glikopiranozidok

Aralkil β-d-szeleno- glikopiranozid	Ar	Izolált hozam (%)	R ₁	R ₂	R ₃
		52 (78%)	OAc	H	Ac
		56 (83%)	OH	H	H
		53 (76%)	OAc	H	Ac
		57 (82%)	OH	H	H
		52a (75%)	H	OAc	Ac
		56a (70%)	H	OH	H
		53a (71%)	H	OAc	Ac
		56a (80%)	H	OH	H

2.táblázat. Szelenoglikozidok izolált hozamai

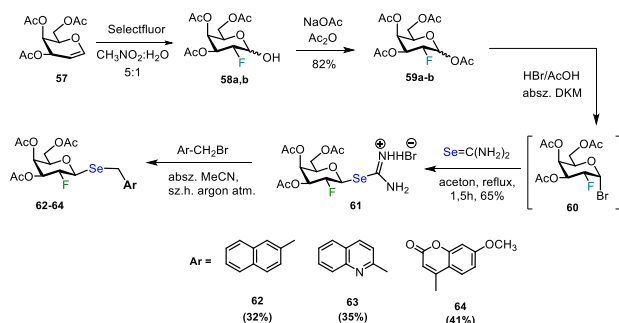
Az új származékok szerkezetigazolását NMR mérések kiértékelésével végeztük. A 2. táblázat összefoglalja a szelenoglikozidok SeCH₂ protonjainak NMR ¹H, ¹³C eltolódásait, valamint a ²J_{H,H} (Hz) geminális csatolási állandók értékeit.

A β-d-galaktopiranozid származékok potenciális monovalens inhibitorai a Gal-3 és LecA lektineknek a ⁷⁷Se NMR módszerekkel végzett vizsgálatokban. A glükóz analógok kompetitív, nem kötődő ligandumokként tesztelhetők ezekben a vizsgálatokban negatív kontrollként. Ezzel egyidejűleg az új 52-53 és 52a-53a szelenoglikozidokat más szeléntartalmú szénhidrát származékkal együtt parazitológiai vizsgálatokra küldtük. Dr. Marcelo Comini, az uruguayi Pasteur Intézet professzora és csoportja igazolta, hogy a 52a (EC₅₀ 1,2 ± 0,1 μM) és a 56 (EC₅₀ 4,1 ± 1,0 μM) hatásosak a *T. brucei* parazitával szemben.

3.5. Aralkil 2-dezoxi-2-fluor-3,4,6-tri-*O*-acetyl-β-d-szelenogalaktopiranozidok

A parazitológiai vizsgálatok eredményei alapján felmerült a kérdés, hogy az általunk szintetizált szelenoglikozidok bioaktivitása növelhető-e, ha a szénhidrát származékokban egy acetyl csoportot fluoratómmal helyettesítünk.

A kérdés megválaszolására új típusú aralkil 2-dezoxi-2-fluor-3,4,6-tri-*O*-acetyl-β-d-szelenogalaktopiranozidokat állítottunk elő. A 57 3,4,6-tri-*O*-acetyl-galaktált CH₃CN-ben végzett eliminációs reakcióval nyertük acetobromogalaktozából, jó hozammal. A fluorozási reakció során, amelyet Selectfluorral® végeztünk CH₃NO₂:H₂O = 5:1 arányú keverékben; a várt 58a,b anomer keverék alacsony hozammal (30%), míg a 61 só 60%-os hozammal képződött (10. ábra).²⁵

10. ábra. Az aralkil 2-dezoxi-2-fluor-3,4,6-tri-*O*-acetyl-β-d-szelenogalaktopiranozidok szintézise

A 58a,b vegyületet NaOAc/Ac₂O-del acetilezve, majd azt követő bromozási reakcióban 60 2-dezoxi-2-fluor-3,4,6-tri-*O*-acetyl-α-d-galaktopiranozil-bromidot jó hozammal izoláltuk. A szelenurónium-só (61, 13. ábra) képzését hasonló körülmények között (12. ábra) hajtottuk végre, mint a 5 vagy 51 sók esetében. A 60 bromidot szelenokarbamidval reagáltatva acetoneban, reflux hőmérsékleten a 61 fluorozott izoszelenourónium sót képeztük.

A következő lépésben a 61 sót különböző aril-metil-bromidokkal reagáltattuk absz. CH₃CN-ben, szobahőmérsékleten, argon atmoszférában, Et₃N jelenlétében képeztük a 62-64 fluor tartalmú szelenogalaktopiranozidokat. A fluoratom jelenlétét a molekulákban az adott vegyületek ¹H és ¹³C spektrumaiban, a ¹⁹F-¹H és ¹⁹F-¹³C csatolások eredményeként megjelenő multiplettek igazolják.

4. Biológiai vizsgálatok és eredmények

A 11 kinolin származék a hGal-3 lektinhez történő kötődését Dr. Timári István és Farkas László Bence PhD hallgató igazolta ¹H STD NMR mérésekkel. A SeDG származékok hGal-3-hoz történő kötődés vizsgálata együttműködés kereteiben történik.

A 2-F-galaktozid származékokat a SARS-CoV-2 vírusellenes vizsgálatokban Dél-Koreában tesztelték, az eredmények alapján a **52** kinolin és **53** kumarin származékok vírusellenes hatással bírnak.

5. Az eredmények alkalmazási lehetőségei

A TDG és SeDG szintézisére alkalmazott optimalizált körülmények, számos nem szimmetrikus tio- és szelenoglikozid származékok szintézisére alkalmas.

A szelenoglikozidok parazita- és vírusellenes hatásai alapján a természetes heterociklusokat tartalmazó szelenoglikozidok szintézise érdekes szintetikus lehetőségeket nyithat meg parazitológiai kutatásokban és antivirális szerek készítésében.

6. Összefoglalás

A lektinek, mint szénhidrátkötő fehérjék, képesek a sejtek agglutinációjára, megtalálhatók növényekben, emberekben, patogén szervezetekben és természetes védelmi hatással bírnak különböző betegségekkel, kórokozókkal szemben.

A lektinek szénhidrát felismerési képességeit célozzák új gyógyszerek kutatásában és fejlesztésében. A galektinek széles specificitással rendelkeznek, intracellulárisan, és extracellulárisan szabályozzák a sejthalált; számos betegségben játszanak szerepet: rák, autoimmun betegségek, krónikus gyulladások. A galektin-3 (Gal-3) expressziója összefüggésbe hozható különböző patológiás folyamatokkal. Számos kutatás folyik hatékony mono- és divalens Gal-3 inhibitorok előállítására.

A legelterjedtebb tüdőkörokozó, a *P. aeruginosa* Gram-negatív baktérium egy LecA nevű lektint termel, mely lektin gátlására számos hatékony szénhidrát származékot állítottak elő, a monovalens származékoktól, a tetraovalens származékokig.

Kutatásaink során elsőként új, kén és szelén tartalmú, potenciális Gal-3- és LecA lektin inhibitorokat állítottunk elő. A szelén tartalmú származékok kötődésének vizsgálata ⁷⁷Se NMR technikákkal válik lehetővé.

Kutatócsoportunkban kidolgozott módszer alapján megvalósítottuk a **2** TDG és **3** SeDG vegyületek grammos tételben történő előállítását; fontos szempontnak tartva a környezetbarát eljárási módok alkalmazását is. **9**, **10** TDG- és SeDG-oktaacetátot optimalizált módszer szerint kiváló hozammal állítottuk elő grammos mennyiségben.

Ismert az irodalomban a bivalens 3,3'-di-*O*-aralkil-TDG származékok Gal-3-hoz történő kötődése. Új, *N*-heteroaromás szubsztituensű TDG származékot állítottunk elő.

A lektin kötődési vizsgálatokhoz az irodalomból ismert további négy származékot is előállítottunk jó hozamokkal az általunk optimalizált reakciókörülmények között. Kutatócsoportunkban elvégezték a származékok Gal-3-hoz történő kötődés vizsgálatot (¹H STD NMR), mely során megállapítottuk, hogyan befolyásolják a kötődési affinitás mértékét különböző aromás régiók.

A 3,3'-di-*O*-aralkil-TDG származékok biológiai hatásának ismeretében **32** kinolin-2-ilmetil és **26** naftalin-2-ilmetil SeDG származékokat állítottunk elő, monoszacharid származékokból kiindulva. A kiindulási vegyületekben a PMP csoportok eltávolítására új eljárást dolgoztunk ki, Selectfluor[®] reagenssel.

Potenciális LecA inhibitorokként új típusú, mono- és divalens szelenogalaktozidokat állítottunk elő. A **38-41** di(a-zidometil)-származékok reakciója **33** vegyülettel, védett bifunkciós aralkil 1,2,3-triazolo-szeleno-β-d-galaktopirranzidokat eredményezett. A Zemplén módszerrel történő acetyl védőcsoportok eltávolítása jó hozammal szolgáltatta a **42-45** végtermékeket.

A monovalens inhibitor származékok tárházát bővítendő új **55**, **56**, **55a**, **56a** aralkil szeleno-β-d-glikopiranozidokat szintetizáltunk, **5**, **51** kiindulási vegyületeként reagáltattunk 2-(brómmetil)kinolinnal és 4-brómmetil-7-metoxikumarinnal, szobahőmérsékleten, acetonitrilben, Et₃N bázis jelenlétében, argon atmoszférában. A **52**, **53**, **52a**, **553a** védett származékokat jó hozamokkal izoláltuk. Zemplén körülmények között eltávolítva a védőcsoportokat, a **55**, **56**, **55a**, **56a** származékok jó hozamokkal képződtek. A glükoszármazékok kompetitor ligandumként vehetnek részt kötődési vizsgálatokban.

Ismert, hogy a Gal-3 erősen túlszabályozott az afrikai álomkórt okozó *T. brucei* parazita fertőzés során; a lektin kötődés vizsgálatok mellett, az új **52-53** és **52a-53a** szelenoglikozidokat a montevidói Pasteur Intézet professzora Dr. Marcelo Comini, *T. brucei* (Afrikai álomkór) parazitológiai vizsgálatokban is tesztelte. A biológiai vizsgálatok során megállapították, hogy az acetyl csoport jelenléte előnyös a vegyületek bioaktivitása szempontjából ezért további új fluor tartalmú szelenogalaktopiranozidok **62-64** szintézisét valósítottuk meg. Három új **62-64** szelenoglikozid származékot szintetizáltunk.

Köszönetnyilvánítás

Mérhetetlen hálával tartozom *Tóthné Dr. Illyés Tünde Zita* egyetemi adjunktusnak a kutatásban, nyújtott támogatásáért.

Köszönettel tartozom *Prof. Dr. Kurtán Tibor* egyetemi tanárnak a Szerves Kémiai Tanszék vezetőjének, akinek engedélyével bekapcsolódhattam a kutatásba.

Köszönetemet fejezem ki, *Prof. Dr. Szilágyi László* professor emeritusnak, aki értékes elméleti és szakmai tanácsokkal segítette munkámat.

Köszönöm *Prof. Dr. E. Kövér Katalinnak*[†], *Dr. Timári Istvánnak* és *Farkas László Bencének* az 700-as NMR mérésekben, valamint az első szerzős cikk írásában nyújtott segítségüket és támogatásukat.

Szeretném megköszönni *Nagy Károlyné Margó* vegyész-technikusnak a laboratóriumban nyújtott segítségét és biztatását.

Köszönet illeti *Dr. Bajza Istvánt*, aki tudományos szakértőként követte a kutatómunkámat, segítséget nyújtott a pályázati feltételek teljesítésében, tudásával, szakértelmével és emberi támogatásával hozzásegített a dolgozat elkészítéséhez. Köszönettel tartozom a *GlycOptim Kft.* valamennyi munkatársának.

Köszönetet szeretnék mondani *Dr. Kiss Attila* egyetemi docensnek az LC-MS mérésekért. Köszönettel tartozom *Dr. Kónya-Ábrahám Anita* adjunktusnak az IR és optikai forgatóképesség mérésekért.

Köszönettel tartozom *Dr. Fehér Krisztina* tudományos főmunkatársnak és *Balogh Álex* PhD hallgatónak a dokkolásban nyújtott segítségükért.

Köszönöm, *Dr. Mándi Attila* egyetemi adjunktusnak és *Barta Roland* PhD hallgatónak a konformáció analízisben nyújtott segítségüket.

Köszönet illeti *Prof. Dr. Gáspár Attila* egyetemi tanárt a HRMS mérések, *Dr. Nagy Lajos* egyetemi docenst az ESI-MS mérések során nyújtott szakmai segítségükért.

Szeretném megköszönni *Dr. Király Sándor* és *Kajtár Mihály* segítségét, amit az oktatásban és a mikrohullámú reaktor használata során nyújtottak.

Hálás vagyok valamennyi, a Szerves Kémiai Tanszéken dolgozó *munkatársnak* a szakmai kérdéseimre adott válaszaikért, melyek hozzá segítettek a kutatómunkám elvégzéséhez.

Szeretném megköszönni a Gyógyszerészi Kémia Tanszéken dolgozó *kollégák* támogatását, melyek hozzásegítettek a kutatásom elvégzéséhez.

A kutatásom az innovációs és technológiai minisztérium **KDP-2021** kódszámú kooperatív doktori program doktori hallgatói ösztöndíj programjának a nemzeti kutatási, fejlesztési és innovációs alaphól finanszírozott szakmai támogatásával készült.

A kutatás a GINOP-2.3.2-15-2016-00008 és GINOP-2.3.3-15-2016-00004 számú projektek keretében,

az Európai Unió támogatásával, az Európai Regionális Fejlesztési Alap társfinanszírozásával valamint az NKFIH NN128368 pályázat támogatásával valósult meg.

Hivatkozások

1. Silva-Díaz, A.; Ramírez-Cárdenas, J.; Muñoz-García, J. C.; de la Fuente, M. C.; Thépaut, M.; Fieschi, F.; Ramos-Soriano, J.; Angulo, J.; Rojo, J. Fluorinated Man9 as a High Mannose Mimetic to Unravel Its Recognition by DC-SIGN Using NMR. *Journal of the American Chemical Society* **2023**, *145*, 26009-26015.
<https://doi.org/10.1021/jacs.3c06204>
2. Quintana, J. I.; Atxabal, U.; Unione, L.; Ardá, A.; Jiménez-Barbero, J. Exploring multivalent carbohydrate-protein interactions by NMR. *Chemical Society Reviews* **2023**, *52*, 1591-1613.
<https://doi.org/10.1039/D2CS00983H>
3. Furukawa, K.; Ohkawa, Y.; Yamauchi, Y.; Hamamura, K.; Ohmi, Y.; Furukawa, K. Fine tuning of cell signals by glycosylation. *The Journal of Biochemistry* **2012**, *151*, 573-578.
<https://doi.org/10.1093/jb/mvs043>
4. Karlsson, K.-A. Pathogen-Host Protein-Carbohydrate Interactions as the Basis of Important Infections. In *The Molecular Immunology of Complex Carbohydrates* —2, Wu, A. M., Ed. Springer US: Boston, MA, 2001; pp 431-443.
https://doi.org/10.1007/978-1-4615-1267-7_28
5. Nardy, A. F.; Freire-de-Lima, L.; Freire-de-Lima, C. G.; Morrot, A. The Sweet Side of Immune Evasion: Role of Glycans in the Mechanisms of Cancer Progression. *Frontiers in Oncology* **2016**, *6*, 54.
<https://doi.org/10.3389/fonc.2016.00054>
6. Mazalovska, M.; Kouokam, J. C. Lectins as Promising Therapeutics for the Prevention and Treatment of HIV and Other Potential Coinfections. *BioMed Research International* **2018**, *2018*, 3750646.
<https://doi.org/10.1155/2018/3750646>
7. Pieters, R. J. Maximising multivalency effects in protein-carbohydrate interactions. *Organic & Biomolecular Chemistry* **2009**, *7*, 2013-2025.
<https://doi.org/10.1039/b901828j>
8. Pieters, R. J.; Arnusch, C. J.; Breukink, E. Membrane permeabilization by multivalent anti-microbial peptides. *Protein and peptide letters* **2009**, *16*, 736-42.
<https://doi.org/10.2174/092986609788681841>
9. Funasaka, T.; Raz, A.; Nangia-Makker, P. Galectin-3 in angiogenesis and metastasis. *Glycobiology* **2014**, *24*, 886-91.
<https://doi.org/10.1093/glycob/cwu086>
10. Sharma, U. C.; Pokharel, S.; van Brakel, T. J.; van Berlo, J. H.; Cleutjens, J. P.; Schroen, B.; André, S.; Crijns, H. J.; Gabius, H. J.; Maessen, J.; Pinto, Y. M. Galectin-3 marks activated macrophages in failure-prone hypertrophied hearts and contributes to cardiac dysfunction. *Circulation* **2004**, *110*, 3121-8.
<https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000147181.65298.4D>
11. Kennedy, P. G. Clinical features, diagnosis, and treatment of human African trypanosomiasis (sleeping sickness). *The Lancet. Neurology* **2013**, *12*, 186-94.
[https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(12\)70296-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(12)70296-X)
12. Raics, M.; Timári, I.; Diercks, T.; Szilágyi, L.; Gabius, H. J.; Kövér, K. E. Selenoglycosides as Lectin Ligands: (77) Se-Edited CPMG-HSQC NMR Spectroscopy To Monitor Biomedically Relevant Interactions. *ChemBiochem: a European Journal of Chemical Biology* **2019**, *20*, 1688-1692.
<https://doi.org/10.1002/cbic.201900088>

13. Hirani, N.; MacKinnon, A. C.; Nicol, L.; Ford, P.; Schambye, H.; Pedersen, A.; Nilsson, U. J.; Leffler, H.; Sethi, T.; Tantawi, S.; Gravelle, L.; Slack, R. J.; Mills, R.; Karmakar, U.; Humphries, D.; Zetterberg, F.; Keeling, L.; Paul, L.; Molyneaux, P. L.; Li, F.; Funston, W.; Forrest, I. A.; Simpson, A. J.; Gibbons, M. A.; Maher, T. M. Target inhibition of galectin-3 by inhaled TD139 in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *The European Respiratory Journal* **2021**, *57*.
<https://doi.org/10.1183/13993003.02559-2020>
14. Di Gaetano, S.; Bedini, E.; Landolfi, A.; Pedone, E.; Pirone, L.; Saviano, M.; Traboni, S.; Capasso, D.; Iadonisi, A. Synthesis of diglycosylated (di)sulfides and comparative evaluation of their antiproliferative effect against tumor cell lines: A focus on the nature of sugar-recognizing mediators involved. *Carbohydrate Research* **2019**, *482*, 107740.
<https://doi.org/10.1016/j.carres.2019.107740>
15. Vašiček, T.; Spiwok, V.; Červený, J.; Petrásková, L.; Bumba, L.; Vrbata, D.; Pelantová, H.; Křen, V.; Bojarová, P. Regioselective 3-*O*-Substitution of Unprotected Thiodigalactosides: Direct Route to Galectin Inhibitors. *Chemistry (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)* **2020**, *26*, 9620-9631.
<https://doi.org/10.1002/chem.202002084>
16. Hőgye, F.; Farkas, L. B.; Balogh Á, K.; Szilágyi, L.; Alnukari, S.; Bajza, I.; Borbás, A.; Fehér, K.; Illyés, T. Z.; Timári, I. Saturation Transfer Difference NMR and Molecular Docking Interaction Study of Aralkyl-Thiodigalactosides as Potential Inhibitors of the Human Galectin-3 Protein. *International Journal of Molecular Sciences* **2024**, *25*.
<https://doi.org/10.3390/ijms25031742>
17. Rajput, V. K.; MacKinnon, A.; Mandal, S.; Collins, P.; Blanchard, H.; Leffler, H.; Sethi, T.; Schambye, H.; Mukhopadhyay, B.; Nilsson, U. J. A Selective Galactose-Coumarin-Derived Galectin-3 Inhibitor Demonstrates Involvement of Galectin-3-glycan Interactions in a Pulmonary Fibrosis Model. *Journal of Medicinal Chemistry* **2016**, *59*, 8141-7.
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b00957>
18. Timári, I.; Balla, S.; Fehér, K.; Kövér, K. E.; Szilágyi, L. ⁷⁷Se-Enriched Selenoglycoside Enables Significant Enhancement in NMR Spectroscopic Monitoring of Glycan-Protein Interactions. *Pharmaceutics* **2022**, *14*.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14010201>
19. Cattaneo, V.; Oldrini, D.; Corrado, A.; Berti, F.; Adamo, R. Orthogonal cleavage of 2-naphthylmethyl group in the presence of *p*-methoxy phenyl-protected anomeric position and its use in carbohydrate synthesis. *Organic Chemistry Frontiers* **2016**, *3*.
<https://doi.org/10.1039/C6QO00144K>
20. Di Gaetano, S.; Pirone, L.; Galdadas, I.; Traboni, S.; Iadonisi, A.; Pedone, E.; Saviano, M.; Gervasio, F. L.; Capasso, D. Design, Synthesis, and Anticancer Activity of a Selenium-Containing Galectin-3 and Galectin-9N Inhibitor. *International Journal Molecular Sciences* **2022**, *23*.
<https://doi.org/10.3390/ijms23052581>
21. Liu, J.; Wong, C.-H. An efficient method for the cleavage of *p*-methoxybenzylidene (PMP), tetrahydropyranyl (THP) and 1,3-dithiane protecting groups by Selectfluor™. *Tetrahedron Letters* **2002**, *43*, 4037-4039.
[https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(02\)00740-2](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(02)00740-2)
22. Illyés, T. Z.; Malinovská, L.; Róth, E.; Tóth, B.; Farkas, B.; Korsák, M.; Wimmerová, M.; Kövér, K. E.; Csávas, M. Synthesis of Tetraivalent Thio- and Selenogalactoside-Presenting Galactoclusters and Their Interactions with Bacterial Lectin PA-IL from *Pseudomonas aeruginosa*. *Molecules (Basel, Switzerland)* **2021**, *26*, 542.
<https://doi.org/10.3390/molecules26030542>
23. Viktória, T. Kumarin és kinolin tartalmú szelenoglikozidok szintézise és szerkezetvizsgálata. **2020**, Szakdolgozat.
24. Wagner, G.; Nuhn, P. [Synthesis of selenoglycosides with acetylglycosylisosenouronium bromides. 4. on "selenoglycosides"]. *Archiv der Pharmazie und Berichte der Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft* **1964**, *297*, 461-73.
25. Denavit, V.; Lainé, D.; Bouzriba, C.; Shanina, E.; Gillon, É.; Fortin, S.; Rademacher, C.; Imbert, A.; Giguère, D. Stereoselective Synthesis of Fluorinated Galactopyranosides as Potential Molecular Probes for Galactophilic Proteins: Assessment of Monofluorogalactoside-LecA Interactions. *Chemistry (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)* **2019**, *25*, 4478-4490.
<https://doi.org/10.1002/chem.201806197>

Synthesis of new potentially biologically active sulfur- and selenium-containing carbohydrate derivatives

Lectins, as carbohydrate-binding proteins, are capable of sticking cells (agglutination), are found in plants, humans, and pathogenic organisms and have a natural protective effect against various diseases and pathogens. The carbohydrate recognition abilities of lectins are targeted in the research and development of new drugs. Galectins have a broad specificity, regulating cell death intracellularly and extracellularly; they play a role in many diseases: cancer, autoimmune diseases, chronic inflammations.

Gal-3- which is a chimera type galectin- expression is associated with various fibrosis, cancer cell growth, apoptosis, immunosuppression and metastasis. Galectin-3 is being used as a diagnostic marker for different cancers. Gal-3 has an affinity for β -galactosides, many studies reports various structured of Gal-3 inhibitors.

The most widespread lung pathogen, the Gram-negative bacterium *P. aeruginosa*, produces LecA lectin. Several glycomimetics have been developed based on D-galactose for LecA, analyzed in vitro assays and showed excellent properties to block LecA-mediated host cell binding and decrease bacterial invasion into human cells.

During our research, we synthesized new, sulfur and selenium containing carbohydrate derivatives, as potential Gal-3 and LecA lectin inhibitors. Examination of the binding of selenium-containing derivatives is possible with ^{77}Se NMR techniques.

High-yielding synthetic route of TDG and SeDG we worked it out; a procedure for the synthesis of the novel 3,3'-di-*O*-(quinoline-2-yl)methyl-TDG and three other known, symmetric 3,3'-di-*O*-TDG derivatives ((naphthalene-2-yl)methyl, benzyl, (7-methoxy-2H-1-benzopyran-2-on-4-yl)methyl) was optimized.

Based on the biological effect of 3,3'-di-*O*-aralkyl-TDG derivatives, we prepared new quinoline-2-ylmethyl **32** and naphthalene-2-ylmethyl **26** SeDG derivatives started from monosaccharide derivatives. We have developed a new method for the removal of PMP groups in the starting compounds, using the Selectfluor® reagent, which method is suitable for the selective removal of the PMP group from ^2NAP and quinolin-2-ylmethyl groups.

Divalent selenogalactoside derivatives containing a 1,2,3-triazole ring were synthesized by a Cu(I)-catalyzed 1,3-dipolar cycloaddition (CuAAC) reaction, as potential divalent LecA inhibitors. The benzene **42**, naphthalene **43**, 1,1'-biphenyl **44** and pyridine

45 di(azidomethyl) derivatives were formed in good yield from the corresponding aromatic dibromides in DMF with sodium azide in reactions. Prop-2-yn-1-yl 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -d-selenogalactopyranoside **33** was prepared from isoselenouronium salt **5**. Reaction of di(azidomethyl) derivatives **38-41** with prop-2-yn-1-yl 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -d-selenogalactopyranoside afforded -seleno- β -d-galactopyransides **42-45**. Homo- and heteroaromatic dimethyl diazides **42-45** were synthesized from the corresponding bromides in dry DMF at room temperature in good yields. The removal of the acetyl protecting groups by the Zemplén method provided the bifunctional aralkyl 1,2,3-triazolo-seleno- β -d-galactopyranoside derivatives in good yields.

New aralkyl 1-seleno- β -d-galacto- and glucopyranosides **55**, **56**, **55a**, **56a** were synthesized to expand the repertoire of monovalent derivatives, started from 2,3,4,6-tri-*O*-acetyl- β -d-glycopyranosyl isoselenouronium salts **5**, **51** by reactions with 2-(bromomethyl) quinolin and 4-bromomethyl-7-methoxycoumarin under mild reaction conditions. Gluco-derivatives will be used as competitive ligands in binding studies.

Gal-3 is known to be highly upregulated during infection with the African sleeping sickness parasite *T. brucei*. In parallel with the lectin binding studies, within the framework of foreign co-operation, the new selenoglycosides **52-53** and **52a-53a** were tested in *T. brucei* (African sleeping sickness) parasitological studies by Professor Dr. Marcelo Comini of the Pasteur Institute in Montevideo. During the biological tests, it was established that the presence of the acetyl group is beneficial in terms of the bioactivity of the compounds. In order to further increase bioactivity, we also synthesised new fluorine-containing selenogalactoside derivatives. From 2-deoxy-2-fluoro-3,4,6-tri-*O*-acetyl- β -d-galactopyranosyl-isoselenouronium bromide we prepared naphthalene-2-ylmethyl, quinolin-2-ylmethyl and 7-methoxycoumarin-4-ylmethyl derivatives.

According to the results of parasitological tests with *T. brucei*, derivatives **52a** (EC_{50} $1.2 \pm 0.1 \mu\text{M}$) and **56** (EC_{50} $4.1 \pm 1.0 \mu\text{M}$) were found to be active.

Collaborative partners of Dr. Marcelo Comini in South Korea investigated SARS-CoV-2 antiviral activity, according to which derivatives **63** (EC_{50} $21.3 \mu\text{M}$) and **64** (EC_{50} $29.5 \mu\text{M}$) were active.