

A heparin és a heparán szulfát komplex szerkezetű szulfatált poliszacharidok, melyek számos biológiai hatást mutatnak. Ezek közül legismertebb a terápiás gyakorlatban régóta alkalmazott véralvadásgátló hatás, de intenzív gyógyszeripari kutatások folynak e vegyületek egyéb biológiai hatásainak további területeken (pl. rák, Alzheimer betegség) történő alkalmazásával kapcsolatban is. Az egyedi biológiai hatásokért a poliszacharid kisebb, specifikus szerkezetű oligoszacharid egységei felelősek. A hatás-szerkezet vizsgálatokhoz szükséges jól definiált szerkezetű oligoszacharidok jelenleg csak rendkívül hosszadalmas egyedi szintézisekkel érhetők el. A nemzetközi együttműködés keretében végzett projekt során olyan szintézis stratégiát és szintézis utakat dolgoztunk ki, amelyekkel a heparin és heparán szulfát oligoszacharidok szerkezeti variánsai a korábbinál sokkal hatékonyabban állíthatók elő.

Egyik megközelítésünkben olyan szintézis stratégiát fejlesztettünk ki, amellyel a heparin és/vagy heparán szulfát egy alapvázának különböző helyzetben szulfatált változatai (szulfoformák) egyetlen védett központi származékból előállíthatók. E szintézis stratégia kulcsa az ún. ortogonális védőcsoportok használata. Ezek olyan védőcsoportok, amelyek tetszés szerinti sorrendben egymástól függetlenül szelektíven eltávolíthatók, ezáltal lehetővé téve a különböző helyeken szulfatált származékok szintézisét.

Egy másik megközelítésben, amely az írországi partner (Centre for Synthesis and Chemical Biology, School of Chemistry and Chemical Biology, University College Dublin, Belfield, Dublin, Ireland) munkájának lényege, a heparin oligoszacharidokhoz szükséges építőegységek szintézise, nem monoszacharid egységekből indul ki, hanem egy könnyen hozzáférhető olcsó diszacharidból (cellobióz). A cellobióz kémiai módosításával a heparin oligoszacharidok szintézisére alkalmas építőegységhez vezető szintézis utat dolgoztak ki.

A két megközelítés ötvözésével olyan szintézis utat is kifejlesztettünk, amelyben az ír partner által szintetizált diszacharid építőegységet ortogonálisan védett - az első megközelítésben használt – építőegységgé alakítottuk.

A fenti koncepciók részletes kidolgozása során először olyan ortogonálisan védett heparin tetraszacharidot terveztünk, amelyből megvalósítható az alapváz különböző szulfatált származékainak szintézise. E célból azonosítottuk a szükséges védőcsoportokat [klóracetil, levulinoil, 9-fluorenilmtoxikarbonil, 1-(naftil)metil]. Az általunk kidolgozott ortogonális védőcsoport kombináció új, 4 ortogonális hidroxil-védőcsoport használatára az irodalomban alig akad példa. Kidolgoztuk az e védőcsoportokat tartalmazó 6 mono- és 4 diszacharid építőegység szintézisét. A diszacharid építőegységekből megvalósítottuk a heparin és heparán szulfát mind a négy lehetséges alapvázát: [ $\alpha$ -L-IdopA-(1->4)- $\alpha$ -D-GlcpN-(1->4)- $\alpha$ -L-IdopA-(1->4)- $\alpha$ -D-GlcpN,  $\alpha$ -L-IdopA-(1->4)- $\alpha$ -D-GlcpN-(1->4)- $\beta$ -D-GlcpA-(1->4)- $\alpha$ -D-GlcpN,  $\beta$ -D-GlcpA-(1->4)- $\alpha$ -D-GlcpN-(1->4)- $\alpha$ -L-IdopA-(1->4)- $\alpha$ -D-GlcpN,  $\beta$ -D-GlcpA-(1->4)- $\alpha$ -D-GlcpN-(1->4)- $\beta$ -D-GlcpA-(1->4)- $\alpha$ -D-GlcpN] tartalmazó ortogonálisan védett tetraszacharid szintézisét. A koncepció használhatóságát azzal igazoltuk, hogy egy ortogonálisan védett tetraszacharidból négy különbözőképpen szulfatált heparin tetraszacharidot állítottunk elő.

A fenti koncepció alapján megvalósítottuk a fenténél nagyobb tagszámú - tetraszacharid helyett hexaszacharidok – szintézisét is. Nagy mennyiségben szintetizáltuk az ehhez szükséges diszacharid építőegységeket, majd ezekből egy ortogonálisan védett hexaszacharidot állítottunk elő. Az ortogonálisan védett hexaszacharidból három különbözőképpen szulfatált heparin hexaszacharidot preparáltunk.

Az eredeti munkatervben szereplő legnagyobb méretet jelentő hexaszacharidokon túlmenően elvégeztük az azoknál nagyobb méretű védett oktaszacharidok szintézisét is. A hexaszacharidok szintézisének használt építőegységekből egy ortogonálisan védett oktaszacharidot állítottunk elő, ennek további átalakításával három heparin oktaszacharidot kaptunk.

Az írországi partner által rendelkezésünkre bocsátott, a cellobióz kémiai módosításával kapott,  $\beta$ -D-GlcpA-(1->4)- $\alpha$ -D-GlcpN alapvázat tartalmazó diszacharid származékot ortogonálisan védett építőegységgé alakítottuk. Ebből a származékból egy további,  $\beta$ -D-GlcpA-(1->4)- $\alpha$ -D-GlcpN-(1->4)- $\alpha$ -L-IdopA-(1->4)- $\alpha$ -D-GlcpN alapvázat tartalmazó ortogonálisan védett tetraszacharidot állítottunk elő.

Az írországi partnerrel történő együttműködés részeként több alkalommal került sor kutatók cseréjére. Dr. Florence Sallas a az MTA Kémiai Kutatóközpontjában dolgozott cellobiózból származó diszacharid építőegységekkel történő glikozilezések problémájának megoldásán. Dr. Daragics Katalin két hetet töltött az ír partnernél. Ez alatt egyrészt hozzájárult az ott folyó szintetikus munkák során felmerült problémák megoldásához, másrészt nagy felbontású tömegspektrometriás méréseket végzett az általunk szintetizált vegyületek szerkezetének igazolására. Az írországi témavezető, Prof. Stefan Oscarson 2011-ben egy hetet töltött Magyarországon, összekötve a Budapesten tartott 4th European Conference on Chemistry for Life Sciences konferencián történő részvételét az MTA Kémiai Kutatóközpontjában a projekt kémiai problémáinak megbeszélésével. Az együttműködés keretében projekt megbeszélést és miniszimpóziumot tartottunk 2012 őszén, melyen az ír partner részéről részt vett Prof. Stefan Oscarson, Dr. Nick Watermeyer, valamint Kevin Sheerin és Tamara Streibel Ph.D. hallgatók.

A projekt időben történő megvalósítását rendkívül nehezítette az MT TTK új telephelyre történő költözése. Míg a Szénhidrátkémiai Csoport preparatív laboratóriumait reális időn belül sikerült – legalábbis alapszinten – működképesé tenni, az intézetben történő szerkezetvizsgálati háttér hónapokon keresztül nem működött. Ez a tény nagymértékben akadályozta az általunk előállított bonyolult szerkezetű vegyületek esetén minden egyes szintetikus lépés után feltétlen szükséges szerkezetmeghatározást, és ez által a szintetikus munka folyamatosságát. További problémát jelentett, hogy az MTA TTK főigazgatója jóval a projekt zárási határideje előtt a Szénhidrátkémiai Csoportnak a projekt zárási határideje előtt történő megszüntetéséről. Ez az intézkedés a projektben résztvevők munkaviszonyának megszüntetését is tartalmazta. Ilyen körülmények között rendkívüli erőfeszítést igényelt a projektben résztvevők munkaviszonyának és tényleges kutatási tevékenységének fenntartása. A munkaviszonyuk beígért megszüntetése miatt az esetleg a projekt zárási határideje előtt távozni kívánó munkatársak pótlására/helyettesítésére ugyanis igazgatói/főigazgatói tiltás miatt nem volt lehetőség. A projekt *de facto* történő ellehetetlenítése, annak *de jure* felmondása nélkül etikailag és jogilag aggályos.

A fenti nehézségék ellenére a munkatervben vállalt valamennyi feladatot teljesítettük, ezen túlmenően az eredetileg tervezett molekulánál nagyobb méretű – hexaszacharid helyett oktaszacharid – vegyületeket is szintetizáltunk.