

PhD értekezés tézisei

**$\beta$ -Peptidek önrendeződésének sztereokémiai és  
oldallánc-topológiai szabályzása**

**Mándity István**

**Témavezetők**

**Prof. Dr. Fülöp Ferenc**

**Dr. Martinek Tamás**

Szegedi Tudományegyetem

Gyógyszerkémiai Intézet

2010

## A. Előzmények és célkitűzés

Foldamerek, a mesterségesen létrehozott önredeződő biomimetikus rendszerek sok hasonló tulajdonságot mutatnak a proteinekkal, pl.: specifikus, periodikus, kompakt szerkezetekbe rendeződnek. Foldamerekkel a proteinekhez hasonló szerkezeti változatosság érhető el, ennek megfelelően számos fontos biológiai alkalmazást is nyertek, melyekben a szabályozott 3D struktúrának nagy szerepe volt. A foldamerek szerkezeti tulajdonságaiknak és biológiai alkalmazásaiknak köszönhetően protein mimetikumoknak tekinthetők. A jövő gyógyászatában fontos szerepük lehet, mint új gyógyszer alapvázak. Ebben fontos tulajdonságuk a szabályozott molekula felszín és alkat. Ennek megfelelően új, változatos szerkezetű foldamerekre van szükség, melyekkel sok potenciális gyógyszermolekula felszíne vehető céléba. A legjobban vizsgált képviselői ennek a területnek a  $\beta$ -aminosavakból felépülő  $\beta$ -peptidek. Számos szabályozható másodlagos szerkezetet alakítanak ki (pl.: hélixek, redőt létrehozó szálak, kanyar szerkezetek). Mindezek mellett harmadlagos szerkezeti motívumokba asszociálódnak. Új másodlagos szerkezetek alapvetően két különböző úton nyerhetők: (i) új, mesterséges aminosavak vagy származékaik peptidbe építésével, (ii) vagy a gerinc sztereokémia szerkezetformáló hatásának megértésével és annak alkalmazásával.

A legfontosabb célunk ez utóbbi volt, mellyel új, tervezett specifikus gerinc konfigurációs mintázattal rendelkező szerkezetek hozhatók létre. A  $\beta$ -peptidek alapvető másodlagos szerkezeteit túlnyomó többségében azonos módon szubsztituált  $\beta$ -aminosavakból felépülő foldamerekre írták le. Így a gerinc mintázat is mindig azonos képet mutatott. Célunk volt, hogy a gerincben az alternáló szubsztitúciós mintázat konfiguráció formájában megjelenjen, így heterokirális homooligomereket alakítsunk ki.

Foldamer hélixek kontrollált asszociációja harmadlagos szerkezeti motívumokhoz, pl.: hélix kötegekhez, vertikálisan amfifil hélixek esetén vezikulát formáló membránokhoz vagy folyadékkristályokhoz vezethet. Ezen tényeknek fontos szerepük lehet a jövőbeni alkalmazásokban. Célunk volt, hogy vizsgáljuk a kialakuló másodlagos szerkezetet és harmadlagos szerkezeti motívumot alternáló heterokirális gerinckonfiguráció és különböző hattagú oldallánc esetén.

Egy foldamer 3D szerkezetét sok tényező befolyásolja, pl.: aminosav típusa, oldallánc topológia és kémia, stb. Az alternáló gerinc konfigurációs mintázat kiterjesztése több aminosav egységen át és ennek esetleges kombinációja különböző aminosavakkal ( $\alpha/\beta$ ) új másodlagos szerkezetek kialakulásához vezethet. Célunk volt, hogy a már leírt másodlagos szerkezeteket vizsgálva a gerinc konfigurációjának függvényében egy egyszerű sztereokémiai

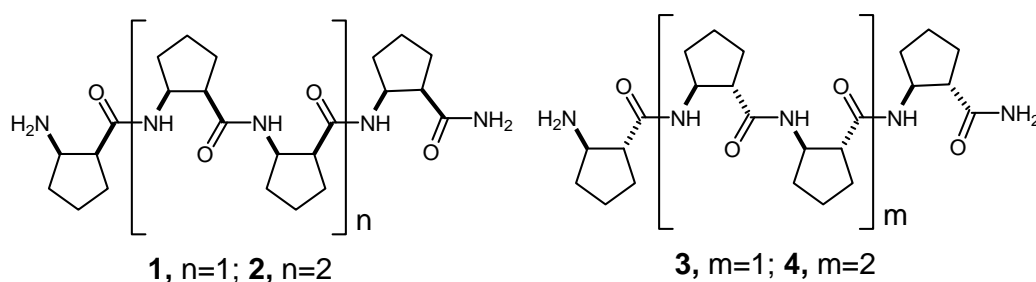
alapon működő foldamer tervezési szabályrendszert építsünk fel, mellyel a létrejövő 3D szerkezet nem homogén gerincmintázatokra is prediktálható.

## B. Vizsgálati módszerek

A peptidek szintézisét Boc vagy Fmoc védőcsoportok alkalmazásával végeztük szilárd hordozón, melyet preparatív fordított fázisú HPLC tisztítás követett. A karakterizálást tömegspektrometriásan és analitikai HPLC alkalmazásával végeztük. A szerkezet-meghatározáshoz a következő módszereket alkalmaztuk: számos NMR, ECD és VCD vizsgálat. A részecskeméret meghatározásnál DLS és TEM méréseket végeztünk.

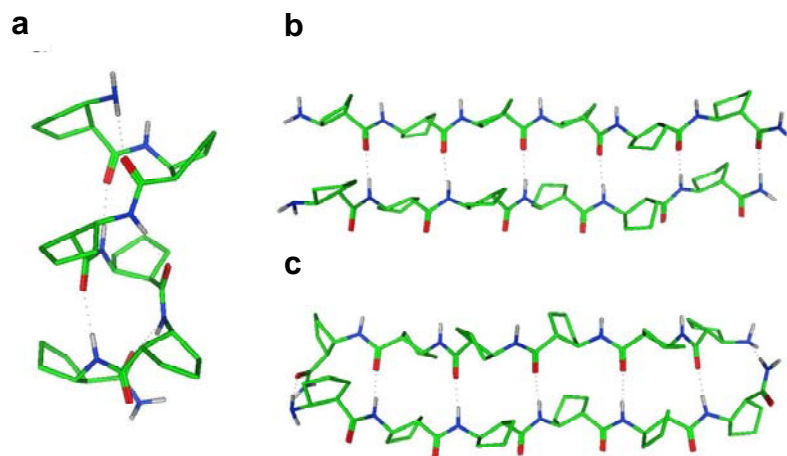
## C. Eredmények

1. Korábbi eredményeket alapul véve elvégeztük különféle oldalláncokkal rendelkező heterokirális peptidek molekulamodellizését. A kapott konformációs sokasságot elemezve a rendezett szerkezeteket megszintetizáltuk. A peptidek (**1-10**, **12**, **13**, **15** és **16**) szilárd hordozón készültek Boc vagy Fmoc védőcsoportok alkalmazásával.
2. Alternáló heterokirális rendszerek létrehozásával új 3D struktúrát kaptunk. Ezzel foldamerek másodlagos és harmadlagos szerkezeteinek gyűjteménye kibővült.
3. Az alternáló heterokirális *cisz*-ACPC oligomerek (1. ábra) rendeződnek. A hexamer (**2**) H10/12 hélix szerkezetű (2a. ábra). Ezek a foldamerek nem mutatnak önasszociációt.



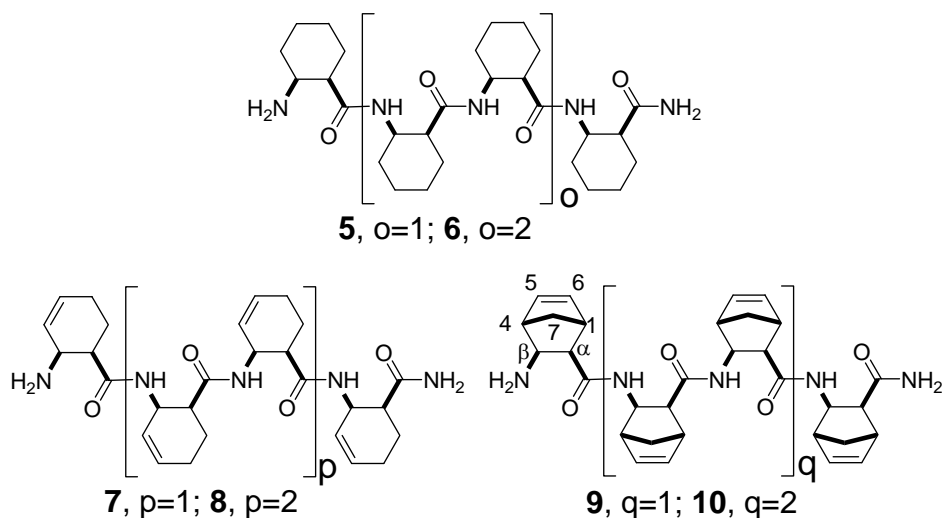
**1. ábra.** Alternáló heterokirális ACPC oligomerek

4. Az alternáló heterokirális *transz*-ACPC oligomerek molekulamodellizés és ECD eredmények alapján poláris szálak hoznak létre (2b,c. ábra). Ezt alátámasztja a vizes közegben **4** vegyület esetén megfigyelt nanostrukturált fibrillumok létezése. Az önasszociáció lánchossz-függő volt: a tetramer (**3**) nem mutatott hasonló viselkedést.



**2. ábra.** B3LYP/6-311G\*\* szinten optimalizált szerkezet **2** vegyületre és **4** által létrehozott parallel (b) és antiparallel (c) dimer poláris szál geometriával molekula mechanikával számolva (MMFF94x implicit víz modellel)

5. Az alternáló heterokirális  $\beta$ -peptid homooligomerek különböző hat tagú oldalláncok esetén (3. ábra) is H10/12 hélixet hoznak létre.



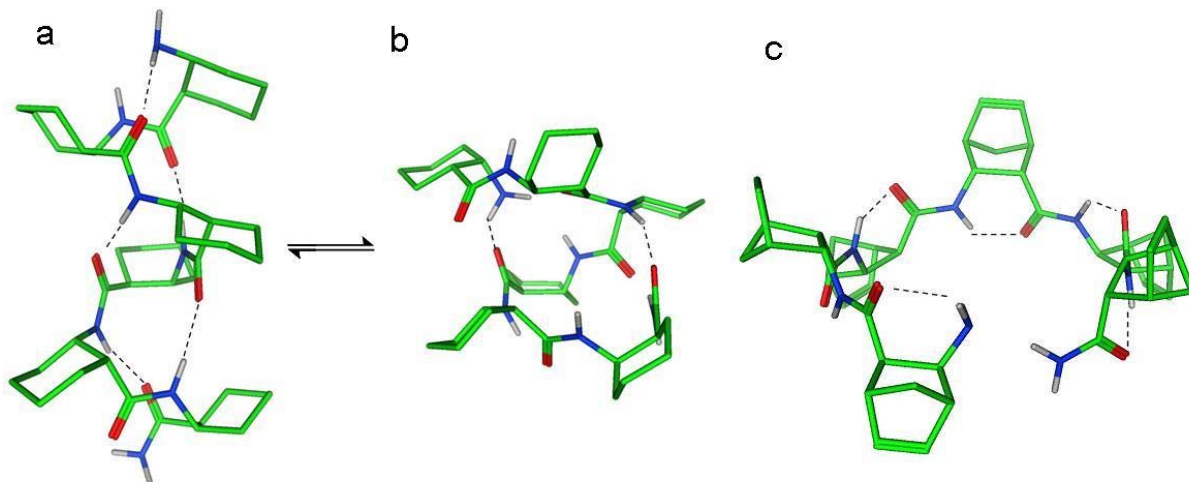
**3. Ábra.** Alternáló heterokirális  $\beta$ -peptid homooligomerek különböző hat tagú oldalláncokkal

A *cisz*-ACHC hexamer (**6**) és a *cisz*-ACHEC hexamer (**8**) H10/12 hélix szerkezetű (4a. ábra). ECD eredményeket alapul véve, a hat tagú gyűrűs oldallánc, összehasonlítva a *cisz*-ACPC által kialakított hélix szerkezettel, kissé destabilizálja a H10/12 struktúrát.

6. A *cisz*-ACHC-t tartalmazó hexamer (**6**) alternáló gerinc konfigurációs mintázattal konformációs polimorfizmust mutatott. Két rendezett konformációs állapotot mutattunk ki melyek egymással gyors kémiai kicserélődésben állnak (4b,c. ábra). Ezt a jelenséget a kettős kötést tartalmazó *cisz*-ACHEC hexamer (**8**) esetén nem figyeltük meg. Így nagyon

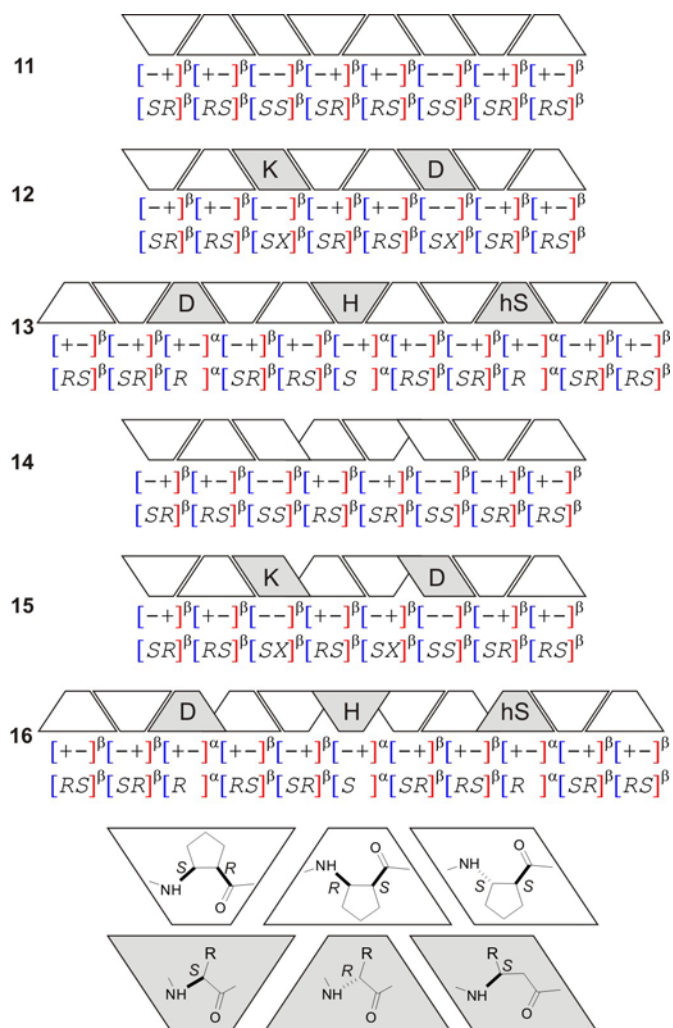
kis változtatást végrehajtva az oldalláncban (egy szénatom hibridizációs állapotának megváltoztatása)  $\beta$ -peptid oligomerek önrendeződése finoman hangolható.

7. A biciklusos *diexo*-ABHEC egy kis átmérőjű hélix létrejöttét meggátolta. Kísérleti eredmények **10** esetén egy cirkuláris önrendeződés jelenlétét mutatják. (4c. ábra).



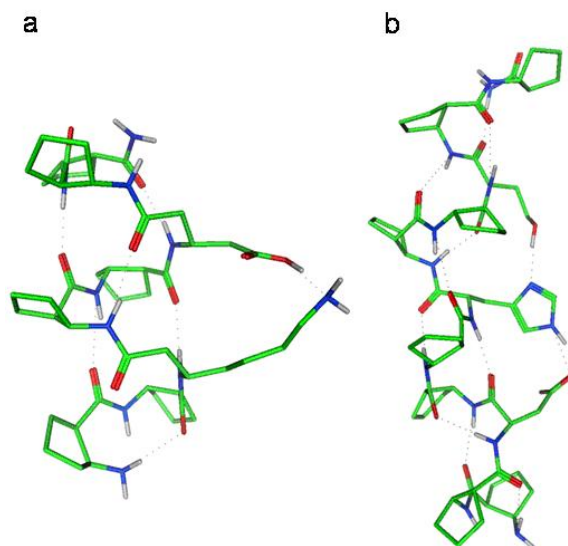
**4. ábra.** A **6** vegyület által létrehozott H10/12 hélix geometria (a), a H18/20 hélix szerkezet **6** vegyület esetén (b) és a cirkuláris szerkezet **10** esetén (c), B3LYP/6-311G\*\* szinten optimalizálva, melyet egy molekula mechanikai számolás előzött meg

8. A vizsgált alternáló heterokirális  $\beta$ -peptid H10/12 szerkezetek esetén kis változtatások az oldallánc topológiában, méretben vagy alakban komoly különbségeket okoztak az önrendeződésben. A ciklohexán oldalláncot tartalmazó H10/12 hélix poláris közegben önasszociációt mutat ha a lánchossz legalább hexamer (**6**). Az oldószer által hajtott hélix önasszociáció az oldallánc hidrofób tulajdonságának és a stabil másodlagos szerkezet kombinációjának eredménye.
9. Elvégeztük különböző másodlagos szerkezetű foldamerek és  $\alpha$ -peptidek gerinc konfiguráció szerinti vizsgálatát. Az eredmények azt mutatják, hogy a homokirális és heterokirális rendszereken kívül egyéb periodikus másodlagos szerkezetek is kialakíthatóak.
10. A gerinc abszolút konfigurációjának mintázata alkalmazható foldamer szerkezetek tervezésére. Meghatároztunk egy sztereokémiai mintázaton alapuló tervezési elvet.
11. Ezt az elvet kísérletesen is megvizsgáltuk új gerinc sztereokémiai mintázatot tartalmazó oligomerekkel (5. ábra).



**5. ábra.** A tervezési elv alapján létrehozott *de novo*  $\beta$ - és  $\alpha/\beta$ -peptid szekvenciák (**11-13**) és az elrontott kontroll peptidek (**14-16**). Az oldalláncok egybetűs kóddal vannak jelölve (hS: homo-szerin). A konfiguráció CIP konvenció alapján van jelölve ha R = metil

A **12** vegyület H14/16 hélix szerkezetű, míg a **13** vegyület esetén H9-12 hélix alakul ki (6. ábra). Ezek *de novo* tervezett oligomerek. A tervezési alapelv helyességét tovább bizonyítja a két kontroll szekvencia (**15** és **16**) mert nem rendeződnek helikálisan. A másodlagos szerkezetük loop-szerű.



6. ábra. (a) A **12** vegyület H14/16 hélix szerkezete; (b) a H9-12 hélix konformáció **13** vegyület esetén

## D. Közlemények és előadások

### Az értekezés anyagául szolgáló közlemények

- I. Tamás A. Martinek, **István M. Mándity**, Livia Fülöp, Gábor K. Tóth, Elemér Vass, Miklós Hollósi, Enikő Forró, Ferenc Fülöp:  
Effects of the alternating backbone configuration on the secondary structure and self-assembly of  $\beta$ -peptides  
*J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 13539-13544. IF.: 8.091\*
- II. **István M. Mándity**, Edit Wéber, Tamás A. Martinek, Gábor Olajos, Gábor K. Tóth, Elemér Vass, Ferenc Fülöp:  
Design of peptidic foldamer helices: A stereochemical patterning approach  
*Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 2171-2175. IF.: 10.879
- III. **István M. Mándity**, Livia Fülöp, Elemér Vass, Gábor K. Tóth, Tamás A. Martinek, Ferenc Fülöp  
Building  $\beta$ -peptide H10/12 foldamer helices with six-membered cyclic side-chains: fine-tuning of folding and self-assembly  
*Org. Lett.*, **2010**, *12*, 5584-5587. IF.: 5.128

### Egyéb közlemények

1. **István M. Mándity**, Gábor Paragi, Ferenc Bogár, Imre G. Csizmadia:  
A conformational analysis of histamine, and its protonated or deprotonated forms: an

ab initio study

*J. Mol. Struct. (THEOCHEM)* **2003**, 666, 143. IF.: 1.167\*

2. Anasztázia Hetényi, **István M. Mándity**, Tamás A. Martinek, Gábor K. Tóth, Ferenc Fülöp:  
Chain-length-dependent helical motifs and self-association of  $\beta$ -peptides with constrained side chains  
*J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 547. IF.: 8.091
3. Tamás A. Martinek, Anasztázia Hetényi, Lívía Fülöp, **István M. Mándity**, Gábor K. Tóth, Imre Dékány, Ferenc Fülöp:  
Secondary structure dependent self-assembly of  $\beta$ -peptides into nanosized fibrils and membranes  
*Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 2396. IF.: 10.879
4. Péter Csomós, Lajos Fodor, **István M. Mándity**, Gábor Bernáth:  
An efficient route for the synthesis of 2-arylthiazino[5,6-*b*]indole derivatives  
*Tetrahedron* **2007**, 63, 4983. IF.: 2.897
5. Anasztázia Hetényi, Zsolt Szakonyi, **István M. Mándity**, Éva Szolnoki, Gábor K. Tóth, Tamás A. Martinek, Ferenc Fülöp:  
Sculpting the  $\beta$ -peptide foldamer H12 helix *via* a designed side-chain shape  
*Chem. Commun.* **2009**, 177. IF.: 5.340
6. **István M. Mándity**, Tamás A. Martinek, Ferenc Darvas, Ferenc Fülöp:  
A simple, efficient, and selective deuteration via a flow chemistry approach  
*Tetrahedron Lett.* **2009**, 50, 4372. IF.: 2.538
7. Brigitta Kazi, Loránd Kiss, Enikő Forró, **István M. Mándity**, Ferenc Fülöp:  
Synthesis of conformationally constrained, orthogonally protected 3-azabicyclo-[3.2.1]octane  $\beta$ -amino esters  
*Arkivoc* **2010**, 11, 31. IF.: 1.377
8. Elemér Vass, Ulf Strijowski, Katarina Wollschläger, **István M. Mándity**, Gábor Szilvágyni, Mark Jewgiński, Katarina Gaus, Silvia Royo, Zsuzsa Majer, Norbert Sewald, Miklós Hollósi:  
VCD studies on cyclic peptides assembled from L- $\beta$ -amino acids and a *trans*-2-aminocyclopentane- or *trans*-2-aminocyclohexane carboxylic acid  
*J. Pept. Sci.* **2010**, 16, 613. IF.: 1.654



9. Sándor B. Ötvös, **István M. Mándity**, Ferenc Fülöp:  
Highly selective deuteration of pharmaceutically relevant nitrogen-containing heterocycles: a flow chemistry approach  
*Mol. Div.* **2010**, DOI: 10.1007/s11030-010-9276-z IF.: 2.071

\* A 2009-es impakt faktorokat tüntettem fel

## Értekezéssel kapcsolatos előadások

1. **Mándity István:**

Ciklusos oldalláncú  $\beta$ -aminosav oligomerek helikális konformációinak és stabilitásának láncosszfűggése

*Szegedi Tudományegyetem Szent-Györgyi Albert Orvos- és Gyógyszerésztudományi Centrum és Egészségügyi Főiskolai Kar Tudományos Diákköri Konferenciája*  
Szeged, 2005. febr. 3-5. Abstr.: 093, 119.

2. **Mándity István:**

További lépések a  $\beta$ -peptidek harmadlagos szerkezete felé

*XXVII. Országos Tudományos Diákköri Konferencia, Orvostudományi Szekció*  
Szeged, 2005. márc. 21-23. Abstr.: GY07, 187.

3. **Mándity István**, Martinek Tamás, Fülöp Livia, Tóth Gábor, Vass Elemér, Hollósi Miklós, Forró Enikő, Fülöp Ferenc:

Alternáló kiralitású  $\beta$ -peptid oligomerek szintézise és szerkezete

*Magyar Tudomány Ünnepe*  
Szeged, 2006. november 8.

4. **Mándity István**, Martinek Tamás, Tóth K. Gábor, Fülöp Ferenc:

Alternáló kiralitású norbornévvázis  $\beta$ -peptidek önrendeződésének és asszociációjának vizsgálata

*Centenáriumi Vegyészkonferencia*  
Sopron, 2007. május 29-június 1. Abstr.: SZ-P-35, 353.

5. **István Mándity**, Edit Wéter, Tamás A. Martinek, Gábor K. Tóth, Elemér Vass, Ferenc Fülöp:

Building  $\beta$ -peptide foldamers via stereochemical LEGO approach

*30<sup>th</sup> European Peptide Symposium*

Helsinki, Finland, August 31-September 5, 2008, Abstr.: P20121-021, p. 86.

6. **Mándity István:**

Új típusú foldamerek létrehozása sztereokémiai mintázat változtatásával

*Szegedi Ifjú Szerves Kémikusok Támogatásáért Alapítvány 8. tudományos előadóülése*

Szeged, 2008. április 16.

7. **Mándity István**, Olajos Gábor, Fülöp Livia, Vass Elemér, Tóth K. Gábor, Martinek

Tamás, Fülöp Ferenc:

Béta-peptidek finoman hangolt önasszociációja, a sztereokémia és oldallánc topológia hatása

*MTA Peptidkémiai Munkabizottság Ülése*

Balatonszemes, 2009. május 26-28.

8. **István M. Mándity**, Tamás A. Martinek, Ferenc Darvas, Ferenc Fülöp:

Simple, efficient and selective deuteration with a flow chemistry approach

*16<sup>th</sup> European Symposium on Organic Chemistry*

Prague, Czech Republic, July 12-16, 2009, Abstr.: P2.015, p. 368.

9. **István M. Mándity**, Tamás A. Martinek, Pirjo Vainiotalo, Ferenc Fülöp, Janne Jänis:

Probing secondary structure of  $\beta$ -peptide foldamers using gas-phase H/D exchange reactions

*COST, Foldamers: from design to protein recognition*

Bordeaux, France, January 25-28, 2010, Abstr.: p. 4.

10. **Mándity István**, Karsai János, Martinek Tamás, Janis Janne, Fülöp Ferenc:

Különböző másodlagos szerkezetű béta-peptid foldamerek önrendeződésének vizsgálata gáz fázisú H/D csere reakcióval

*MTA Peptidkémiai Munkabizottság ülése*

Balatonszemes, 2010. május 26-28.

11. **Mándity István**, Karsai János, Martinek Tamás, Janne Jänis, Fülöp, Ferenc:

Különböző másodlagos szerkezetű  $\beta$ -peptid foldamerek önrendeződésének vizsgálata gáz fázisú H/D csere reakcióval

*MKE Vegyészkonferencia*

Hajdúszoboszló, 2010. június 30-július 2. Abstr.: O-35, 68.