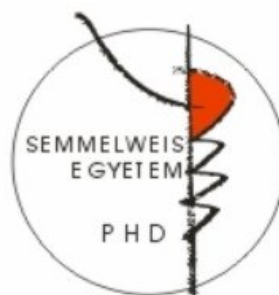


Mesterséges, önrendeződő szkvalén-konjugátumok és β -peptidek szerkezetvizsgálata

Doktori tézisek

Dr. Bogdán Dóra

Semmelweis Egyetem
Gyógyszertudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Mándity István, egyetemi docens
Konzulens: Dr. Gáti Tamás, címzetes egyetemi docens

Hivatalos bírálók: Dr. Batta Gyula DSc., egyetemi tanár
Mazákné Dr. Kraszni Márta, egyetemi docens

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Klebovich Imre DSc., egyetemi tanár
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Tóth Gábor DSc., egyetemi tanár
Dr. Hosztafi Sándor, tudományos főmunkatárs

Budapest
2019

1. Bevezetés

Korábbi definíció szerint ekdiszteroidoknak az ekdizonhoz szerkezetileg hasonló vegyületeket nevezzük. Később bevezettek egy megkülönböztetést a valódi ekdiszteroid és az ekdiszteroid-hasonló vegyületek között. A valódi ekdiszteroidok csoportjába azokat a vegyületeket sorolhatjuk, amelyek esetén a szteránváz (ciklopentano-perhidrofenantrén váz) szerkezeti elem A és B gyűrűjének kapcsolódása *cisz*, és 14 α -hidroxi-7-én-6-on kromofórt tartalmaznak; a besorolás nem veszi figyelembe a hatástani jellemzőket. Az ekdiszteroid-hasonló vegyületek nem teljesítik az összes előbb megnevezett feltételt, de a korábbi, ekdizonhoz való szerkezeti rokonság miatt ide soroljuk ezeket.

Dolgozatomban tárgyalt ekdiszteroid vegyületek a posztszteron alapvegyület szintetikusán módosított származékai. A posztszteron egy C21 ekdiszteroid, a C17 szénatomhoz β -helyzetű acetilcsoport kapcsolódik, β -androsztán vázhoz hasonló alapvázal rendelkező vegyület. Az A és B gyűrűk anellációja *cisz*.

A vizsgált ekdiszteroid vegyületek egy része oximszármazék volt. Az oximok és oximéterek $R_2C=NOH$ / $R_2C=OR$ szerkezetű vegyületek, melyek aldehidek vagy ketonok hidroxilaminnal vagy származékaival való kondenzációjából származtathatók. Az aldehidekből képződő oximokat aldoximoknak, a ketonokból előállítottakat ketoximoknak nevezzük. A C=N kettős kötés körül két lehetséges izomer különböztethető meg: az *E* és *Z* izomer, amelyeket aldoximok esetében *syn* és *anti* izomerekként is megadhatunk.

Nano méretű asszociátumok előállításával az adott gyógyszervegyületek több tulajdonsága javítható: kontrollált felszabadulás és eloszlás, abszorpciónövelés vagy védelem a vegyület degradációjával szemben.

A szkvalén-linker oldallánc jelenlétével az adott gyógyszermolekula prodrugként viselkedik. Az általunk vizsgált vegyületekben az aktív vegyület és a szkvalén lánc között szebacinsav vagy diszulfidhidat tartalmazó analógja található. A szkvalén molekularész az önrendeződésért és a biológiailag aktív vegyület védelméért felelős a szervezet káros hatásaival szemben, míg a linker egység (= összekötő molekularész) az intracelluláris felszabadulásban játszik szerepet. Amennyiben a kapcsolat a linker és a gyógyszermolekula között pH érzékeny, ez a tulajdonság felhasználható az aktív vegyület célzott felszabadulásához a tumorsejtek savas belső környezetében. A diszulfidhidat tartalmazó vegyületek különösen előnyösek a szabad gyógyszermolekula célzott hatóanyagfelszabadulása szempontjából. A rákos sejtekben jelen levő megnövekedett glutationkoncentráció hatására hasad a linker régió, majd tiolakon kilépése közben szabaddá válik a gyógyszermolekula.

A szkvalén-konjugátumok vizes közegben változatos szupramolekuláris rendszereket alkothatnak. Micellás/liposzómás, kettősrétegű lamellás, köbös, hexagonális vagy amorf struktúra alakulhat ki.

A foldamerek olyan biomimetikus polimerek, amelyek képesek önrendeződéssel szabályos másodlagos szerkezetet kialakítani másodlagos kötőerők segítségével. A peptidomimetikus foldamerek egyik legfontosabb képviselői a β -peptidek. A β -peptidek β -aminosavakból épülnek fel, amelyekben az aminocsoport a β -szénatomhoz kapcsolódik. Az α - és β -szénatom változatosan szubsztituálható, amellyel nagyfokú szerkezeti diverzitás érhető el, és ez a konformációs viselkedést is döntően befolyásolja. A β -peptidek nagyfokú konformációs stabilitással rendelkeznek, így rövidebb szekvenciák képesek az α -peptidekkel azonos rendezettségi fokot felvenni.

Másodlagos szerkezetként hélixek, redőket létrehozó szálak és kanyarszerkezetek jöhetnek létre. Különböző helikális rendszerek képződhetnek: H14, H12, H10/12 és H14/16 hélixek, a H-hidas kölcsönhatások által képződött pszeudogyűrűk tagszáma szerint.

A *transz*-ACHC (*transz*-2-aminociklohexánkarbonsav) az egyik leggyakrabban használt építőegység H14 hélixek előállításához. Már 4 aminosavat tartalmazó szekvencia esetén létrejön a rendezett helikális szerkezet. Kis hányadú ACHC-t α -peptid szekvenciába építve máris H14 hélix figyelhető meg. A *cisz*-ACHC alternáló heterokirális sztereokémiai mintázat esetén H10/12 hélix típust azonosítottak, amely poláros oldószerekben önasszociációt mutat.

A *diexo*-ABHEC (*diexo*-3-aminobiciklo[2.2.1]hept-5-én-2-karbonsav) egység esetén a 2*S*,3*R* vagy 2*R*,3*S* izomerekből felépülő szekvenciákban szálszerű másodlagos szerkezetet azonosítottak az $\text{NH}^i - \text{C}_\beta\text{H}^{i+1}$ és az $\text{NH}^i - \text{C}_\beta\text{H}^{i-1}$ NOE térközelségek alapján. Abban az esetben, ha felváltva szerepeltek a fenti aminosavegységek a peptidláncban, az $\text{NH}^i - \text{C}=\text{O}^i$ H-hidak kialakulásával egy kanyarult-szálszerű szerkezet alakult ki. Szintén alternáló tetramerek és hexamerek esetén körszerű hajlat alakult ki konformációként, kizárva a kis átmérőjű hélixek képződését.

Az oxanorbornén származékok - *diexo*-3-amino-7-oxabiciklo[2.2.1]hept-5-én-2-karbonsav (*diexo*-AOBHEC) - már dimerként is rendezett struktúrát vesznek fel, 8-tagú H-hidas pszeudogyűrű létrejöttével a H8 hélix azonosítható.

2. Célkitűzések

PhD munkám során mesterséges önrendeződő rendszerek szerkezeti vizsgálata és a rendezett konformáció kialakulásának tanulmányozása volt a cél, elsősorban NMR spektroszkópai módszerekkel.

Első lépésként a megfelelő szerkezetek NMR jelhozzárendeléseit végeztük el. Megtörtént a szerkezetek igazolása és felderítésre kerültek az egyes atomcsoportok a molekulában, amely információt felhasználva ezek relatív helyzetének meghatározása is lehetővé vált a későbbiekben.

A szkvalén-oldalláncot viselő ekdiszteroidok és ezek szabad ekdiszteroidjainak teljes ^1H és ^{13}C jelhozzárendelését végeztük el, beleértve a diasztereotóp hidrogének megkülönböztetését.

A szkvalén-oldallánc teljes jelhozzárendelésének elkészítése kihívást képező feladat volt. Az ismétlődő szerkezeti egységek egy-egy atomcsoportja nagyon hasonló kémiai környezetben helyezkedik el, így kémiai eltolódásuk is nagyon közel lesz egymáshoz, nehezen megkülönböztethetők; emellett még a szteroid jelekkel is átfedésben találhatók a spektrumban. Ezért célunk volt ennek megoldására a stratégia kidolgozása, felbontást növelő módszerek alkalmazása.

Az ekdiszteroid vegyületek esetén további feladatokkal egészült ki a szerkezetvizsgálat. Az egyik vegyületsorozatban a szteroid molekularész oxim típusú volt, így az *E/Z* izoméria megállapítása is a feladatunk volt. A szteránváz esetén továbbá az *A/B* gyűrűkapcsolódás meghatározását is célul tűztük ki.

A következő feladatunk a megfejtett szerkezetek leírása után, az önrendeződés vizsgálata volt. A szkvalén-konjugátumok esetén korábbi eredmények alapján egy vizes rendszerben képződő nanoasszociátumot vártunk. Kísérleteinkben szintén NMR spektroszkópai módszereket alkalmaztunk.

A β -peptidek esetén a gerincprotonok jelhozzárendelését írtuk le. Itt is célunk volt az önrendeződés vizsgálata, három különböző oldószerben, $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$ 90:10 elegyében, CD_3OH -ban és $\text{DMSO-}d_6$ -ban vizsgáltuk a β -aminosavakból felépülő pentamer rendszereket. E munka keretein belül megkülönböztettük a rendezett helikális és a rendezetlen/kis stabilitású rendezett szerkezeteket NMR spektroszkópai és cirkuláris dikroizmus módszerekkel.

3. Módszerek

3.1 NMR spektroszkópiai vizsgálatok

Az ekdiszteroid vegyületek és konjugátumaik esetén 1-5 mg-ot oldottunk a vizsgált vegyületből 0,6 ml deuterált kloroformban. A β -peptidek esetén 4 mM koncentrációban állítottuk elő a vizsgálati oldatokat 0,5 ml térfogatban. A felhasznált NMR oldószerek a következők voltak: CD_3OH , $\text{DMSO-}d_6$ és víz ($\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$ 90:10 arányú elegye). Az NH-ND cserélődés vizsgálatához CD_3OD oldószert használtunk. A szkvalén-ekdiszteroid nanoasszociátum vizsgálatához deuterált acetonban készült törzsoldatból történt meg a vizsgált anyag bejuttatása D_2O -ba, majd az aceton lepárlásával készült a minta, amelyet Shigemi-csőben mértünk. A szkvalén-konjugátum monomer diffúziójának vizsgálatát CD_3OD oldószerben végeztük. A kísérleti oldatokat a szkvalén-konjugátum nanoasszociátumának kivételével mind 5 mm-es NMR-csőben vizsgáltuk.

NMR felvételeket kriofejjrel felszerelt Bruker 950/239 MHz, 800/200 MHz és 500/125 MHz, illetve hagyományos mérőfejjel rendelkező 400/100 MHz készülékeken végeztük. Minden kísérlet esetén a pulzusprogramokat a Bruker és a Varian szoftverkönyvtárából használtuk.

Az ekdiszteroid vegyületek és származékaik esetén az 1D spektrumokat 64K adatpontból nyertük. ^1H felvételekhez a 950 MHz térerősségű mérések esetén 7600 Hz, más térerejű mérések esetén 6500 Hz spektrumablak értéket, 64K adatpontot és 32 ismétlést állítottuk be. A ^{13}C felvételek esetén spektrumainkat 128K adatpontból, 64 ismétlés után, 48000 Hz spektrumablakkal nyertük; DEPTQ spektrumokat 64K adatpontból, 64 ismétlésből, 48000 Hz spektrumablak beállításokkal kaptuk. A kétdimenziós mérések esetén a HSQC paraméterek a következők voltak: spektrumablak az F2 dimenzióban: 7000 Hz vagy 7600 Hz (950/239 MHz); 2K x 128 vagy 2K x 4K (950/239 Hz) adatpont ($t_2 \times t_1$). A HMBC méréseket 4000 Hz vagy 7600 Hz (950/239 Hz) F2 spektrumablakkal és 2K x 256 vagy 16K x 8K (950/239 MHz) adatponttal ($t_2 \times t_1$) vettük fel. A sávselektív HSQC és HMBC méréseket 2K x 128 ($t_2 \times t_1$) adatpontból, a spektrumablakot a kérdéses spektrumrészlethez állítva vettük fel. A szelektív 1D ROESY mérések esetén a keverési idő 300 ms volt, 64 ismétlésből és 32K adatpontból nyertük a spektrumokat. A szelektív 1D TOCSY felvételekhez 128K adatpontot, 7600 Hz spektrumablakot és 8 ismétlést alkalmaztunk. A DOSY kísérletekben 7500 Hz F2 spektrumablakot állítottunk be, 128 ismétlésből vettük fel a spektrumot a nanoasszociátum esetén, a monomer és a kalibráció esetén 16 ismétlést alkalmaztunk. 32k x 16 ($t_2 \times t_1$) adatpontból készült a pszeudo 2D NMR mérés, a gradienshossz (δ) 1,5 – 2 ms, a diffúziós idő (Δ) 100 – 200 ms volt. A kalibrációhoz metanol-víz elegyet használtunk.

A β -peptidekkel végzett kísérletek során az ^1H felvételeket 64 ismétlésből és 12000 Hz spektrumablakkal vettük fel 64K adatpontból. A 2D TOCSY kísérletekhez 80 vagy 120 ms keverési időt, 32 ismétlést, 7200 Hz spektrumablakot és $2\text{K} \times 256$ ($t_2 \times t_1$) adatpont felvételét állítottuk be. A 2D ROESY mérésekhez 300 vagy 400 ms keverési időt, 32 ismétlést, 7200 Hz spektrumablakot és $2\text{K} \times 256$ ($t_2 \times t_1$) adatpontot alkalmaztunk. A 2D COSY méréseket 16 ismétlésből, 7200 Hz spektrumablakkal és $2\text{K} \times 256$ ($t_2 \times t_1$) adatpontból vettük fel. Az oldószerjel elnyomásához gradiens vízelnnyomási szekvenciát használtunk: p3919gp (water suppression using 3-9-19 pulse sequence with gradients (127, 135)) és zgesp (water suppression using excitation sculpting with gradients (128)).

A spektrumokat a TopSpin 3.5 szoftverrel dolgoztuk fel. A kémiai eltolódás értékeket δ skálán adtuk meg, referenciaként a maradék oldószerjelet használva: CDCl_3 : ^1H : $\delta = 7,27$ ppm; ^{13}C : $\delta = 77,00$ ppm; $\text{DMSO-}d_6$: ^1H : $\delta = 2,50$ ppm; $\text{CD}_3\text{OD}/\text{CD}_3\text{OH}$: ^1H : $\delta = 3,31$ ppm; D_2O : ^1H : $\delta = 4,79$ ppm. Az 1D spektrumok elemzéséhez a kémiai eltolódások általános tudásanyagát és a ^1H spektrumok esetén a proton-proton csatolási mintázatokat használtuk fel. Az egy- és kétdimenziós spektrumok elemzésével készítettük el a teljes jelhozzárendeléseket széles körben elismert stratégiák alapján (136, 137).

3.2 ECD spektroszkópiai vizsgálatok

A vizsgálati oldatok 1 mM koncentrációban tartalmazták a felhasznált vegyületeket metanolban és vízben. A méréseket 0,1 cm vastagságú cilindrikus kvarcküvetében végeztük. A háttér felvételéhez a tiszta oldószert alkalmaztuk.

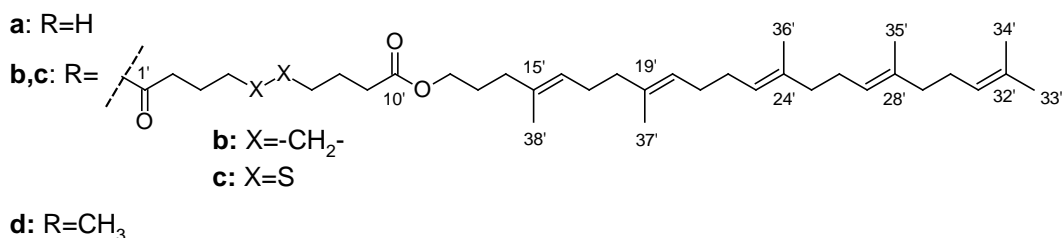
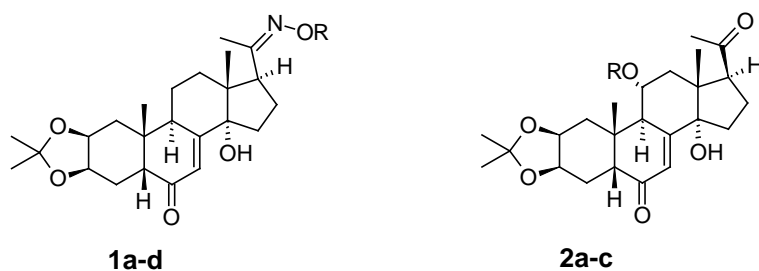
A CD felvételekhez Jasco J-1500 spektropolarimétert használtunk, méréseinket 298K hőmérsékleten végeztük. Minden spektrumfelvételt háromszor ismételtünk meg.

Minden CD görbét az adott oldószer referenciamintájával korrigáltunk. A feldolgozást a Jasco Spectra Manager szoftverével végeztük el.

4. Eredmények

4.1 Ekdiszteroid vegyületek és szkvalén konjugátumaik szerkezetvizsgálata

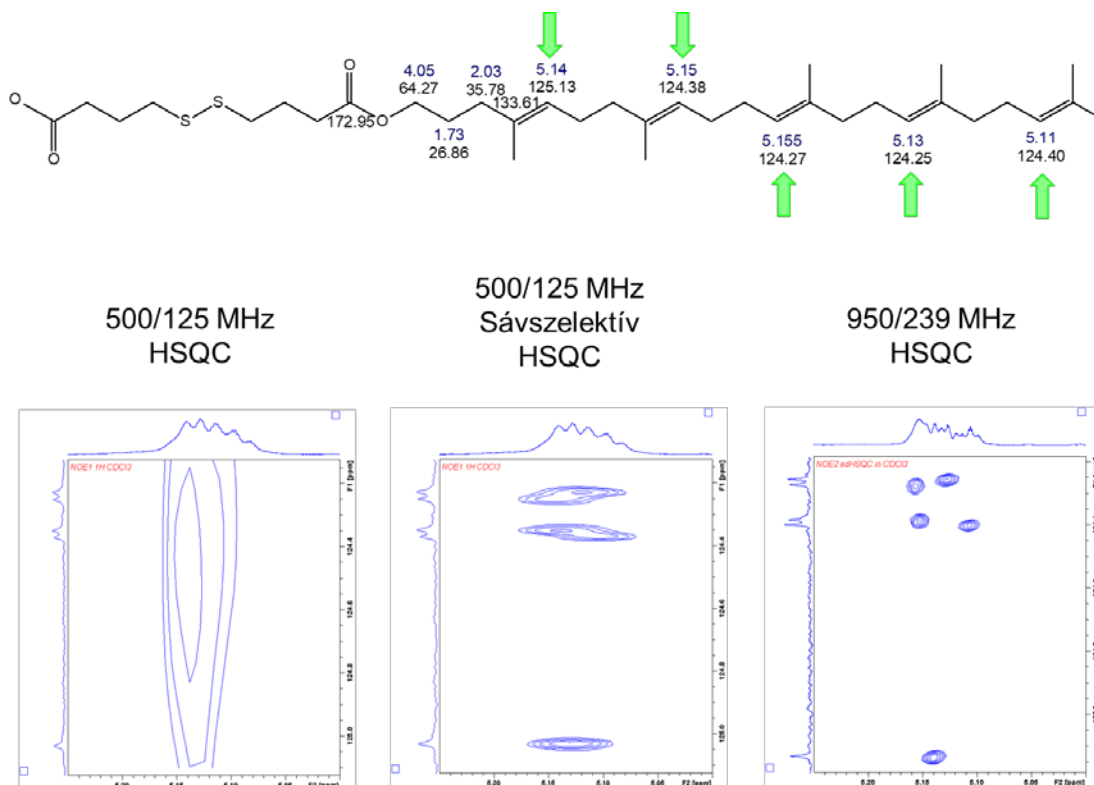
- Értekezésemben két ekdiszteroid vegyület és ezek két-két különböző oldallánccal módosított származékainak vizsgálatát tárgyalom.



1. Ábra: A vizsgált vegyületek szerkezetei

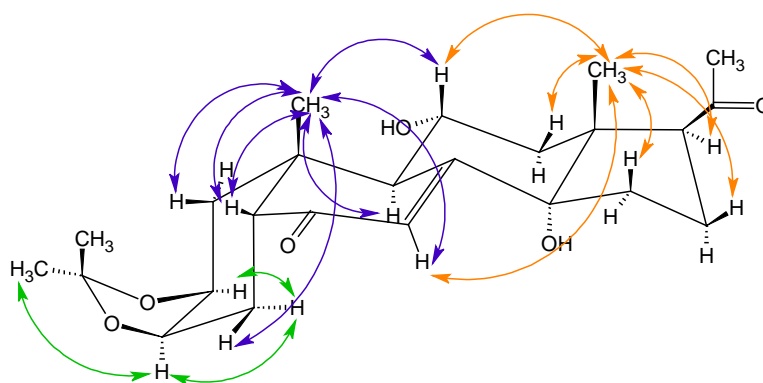
- A vegyületek teljes ¹H és ¹³C jelhozrendelését elkészítettük, a diasztereotóp hidrogének és csoportok helyzetét leírtuk.
- Az ugyanazon szteroidból származó szkvalén-konjugátumok esetén a szteránváz azonos jelei minimális eltérést mutattak. Ugyanígy a szkvalén-molekuláriszék kémiai eltolódásait összehasonlítva egyes származékokban szintén jó egyezést találtunk.
- Az **1a** vegyületet leírták az irodalomban, röntgenkristallográfiai módszerrel igazolták az *E* izomert, CDCl₃-ban készült oldatában leírták a jelek hozzárendelését. Ezt összevetettük az általunk készített hozzárendeléssel és eltérést tapasztaltunk. C-11 és C-16 esetén felcserélték a közleményben a kémiai eltolódás-értékeket. Közelebbi kémiai eltolódásokkal jellemezhető ¹³C atomok, de az általunk felvett HMBC kísérletben egyértelműen megkülönböztethetők. Az irodalomban szereplő leírást a javítás mellett kiegészítettük a diasztereotóp hidrogének megkülönböztetett leírásával is.
- Első kísérleteinkben, 500/125 MHz frekvencián végeztük kísérleteinket. Elsősorban a szkvalén-oldallánccban, az ismétlődő molekuláriszék hozzárendelésénél ütköztünk

bizonytalanságba a nem elegendő felbontás miatt. A sávselektív kísérletek és az ultranagy térerő alkalmazása által akár 19x felbontásnövekedést értünk el az indirekt dimenzióban.



2. Ábra: A szkvalén-oldallánc sp^2 CH csoportjainak megkülönböztetése HSQC spektrumban

- A metilén hidrogének esetén diaszterotópia áll fenn, ezek kémiai eltolódása eltérő frekvencián jelentkezett. A megfelelő α vagy β pozíció megállapításához a ROESY kísérleteket alkalmaztuk.

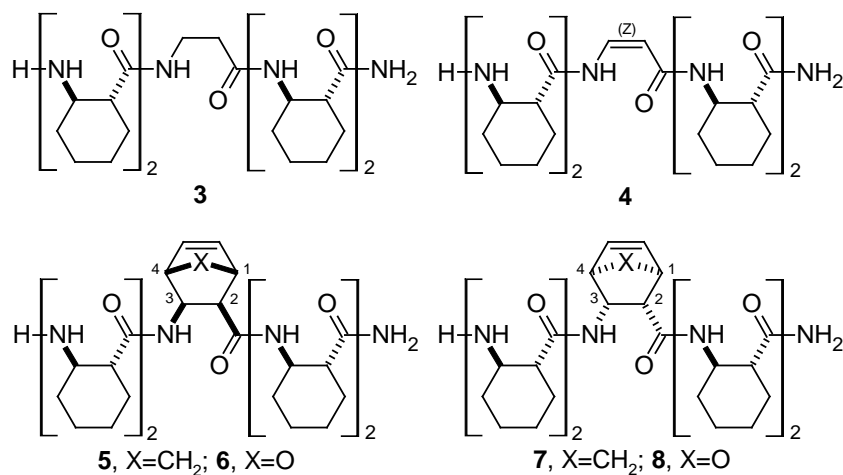


3. Ábra: **2a** fontosabb ROESY térközelségei H_3 -18 (narancssárga) H_3 -19 (kék) és H -2 + H -3 (zöld) besugárzásával.

- Az oximvegyületben nem volt lehetőségünk az $\text{NOH} \leftrightarrow \text{H}_3\text{-21}$ NOE-térközelség kimérésére a kiszélesedett OH jel miatt és az egyetlen jelen levő jelsorozat nem adott lehetőséget a $\Delta\delta_{\text{syn-anti}}$ paraméter vizsgálatára C-21 kémiai eltolódására vonatkozóan. Az oxim metiléter vizsgálata megoldást nyújtott a konfiguráció meghatározására. Így már kimérhetővé vált az $\text{NOCH}_3 \leftrightarrow \text{CH}_3\text{-21}$ NOE interakció, és két jelsorozat jelent meg a spektrumban 95% - 5% arányban. Mind a ROESY, mind a $\Delta\delta_{\text{syn-anti}}$ paraméter vizsgálata az *E* izomer domináns jelenlétét állapította meg. Az *E* izomerben a C-21 kémiai eltolódás 16,02 ppm, míg a *Z* izomerben 20,26 ppm volt, a $\Delta\delta_{\text{syn-anti}}$ paraméter így 4,24 ppm, amely jó összhangban van az irodalommal. Az **1a-c** vegyületek oldatában egy jelsorozatot detektáltunk a következő kémiai eltolódásértékekkel a C-21 atomra vonatkozóan: 15,53 ppm, 17,48 ppm és 17,44 ppm. Ezek az értékek az *E* izomer kémiai eltolódásával korrelálnak, ezáltal az *E* izomert állapítottuk meg a vizsgált oxim típusú vegyületek konfigurációjaként.
- A szkvalén-konjugátumok a D_2O -ban készült minta megjelenése és NMR spektrumai alapján nagyobb asszociátumokként azonosíthatók. Két módszerrel állapítottuk meg a szupramolekuláris szerkezetben résztvevő monomerek számát. A két eredmény eltérést mutatott (1000 vs. 2600 tagszám, 9,28 nm hidrodinamikai átmérő), amely monomer és a részecske ideális gömbként való kezeléséből adódhatott. Az irodalomban leírt ekdiszteroid-szkvalén konjugátum ennél jóval nagyobb átmérővel (200 – 300 nm) került leírásra DLS és TEM módszerek alapján. Ebből az feltételezhető, hogy a nagyobb méretű részecskék kisebb szubpartikuláris részekből állnak, amelyeket a DOSY NMR kísérletekben azonosítottunk.

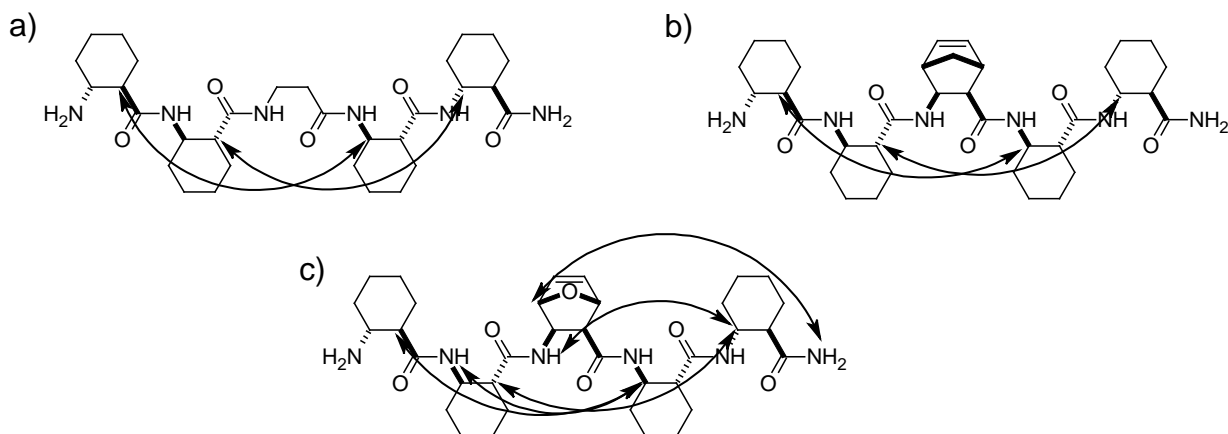
4.2. β -Peptidek szerkezetvizsgálata

- Hat különböző β -peptidet vizsgáltunk, amelyek *transz*-ACHC aminosavegységekből épültek fel, harmadik aminosavként más-más építőelemet tartalmazva.



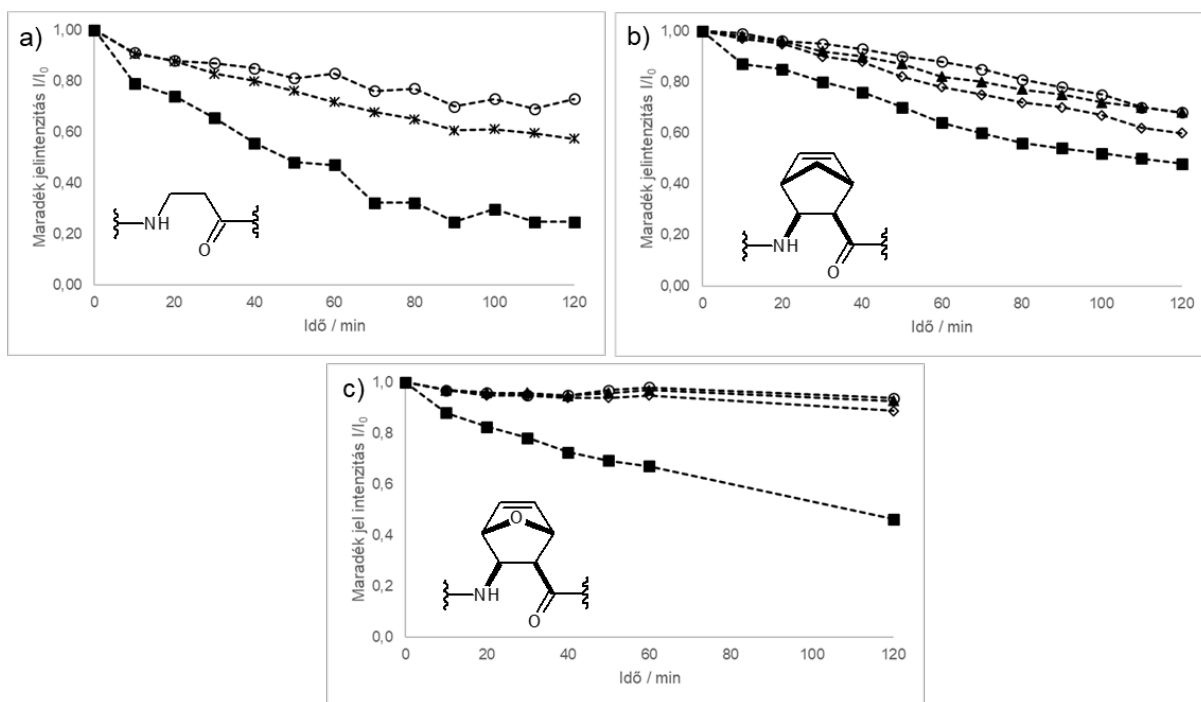
4. Ábra: A vizsgált β -peptidek

- A β -peptidek gerincjeleinek hozzárendelése során megfelelő diszperzióval jelentkeztek az NH jelek az ^1H spektrumban, amely a rendezett másodlagos szerkezet egyik jellemzője. Az NH, C_αH és C_βH hidrogéneket a várt tartományokban azonosítottuk, a részletes konformációvizsgálatban felhasználtuk a térközelségben levő csoportok azonosításához.
- Az önrendeződés vizsgálatát részletesen elvégeztük a hat vizsgált β -peptid pentamer esetén. A ROESY kísérletekben **3**, **5** és **6** vegyületekben találtunk a rendezett konformációra jellemző NOE-térközelségeket. Az irodalomban megadott karakterisztikus térközelségek közül az $\text{NH}^i - \text{C}_\alpha\text{H}^{i+2}$ és $\text{C}_\alpha\text{H}^i - \text{C}_\beta\text{H}^{i+2}$ korrelációt azonosítottuk ezekben.



5. Ábra: NOE-térközelségek **3** (a), **5** (b) és **6** (c) vegyületekben; 4mmol; 298K

- A **4**, **7** és **8** vegyületek csak kis intenzitású keresztcsúcsokat adtak metanolban, így ezek esetében a kevésbé stabil másodlagos szerkezetet állapíthatjuk meg a ROESY NMR vizsgálatok alapján. Vízben és DMSO-*d*₆-ban nem jelentek meg a korrelációk a rendezett formára vonatkozóan, ezekben a közegekben nem kedvező a rendezett szerkezet kialakulása az utóbbi három vegyületben.
- Az előzőekkel összhangban vannak az amid NH-ND csere vizsgálatok eredményei. A **7** vegyület CH₃OH-ban készült oldatában azonnal bekövetkezett a csere, amelyből a rendezetlen konformáció jelenlétére következtethetünk. A **4** és **8** vegyületek esetén egy órán belül bekövetkezett az amid NH hidrogének cserélődése deutériumra, így ezekben gyenge H-hidas szerkezetek azonosíthatók. Jelentősen hosszabb idő (10 óra, 1 nap) volt szükséges a **3**, **5** és **6** vegyületek amid NH-ND cseréjéhez, így itt stabil, H-hidak által kialakított másodlagos szerkezeteként vannak jelen a peptidláncok, az amidcsoportok az oldószerrel védetten helyezkednek el. Ezen megfigyelések alátámasztják a ROESY mérésekből kapott eredményeket.

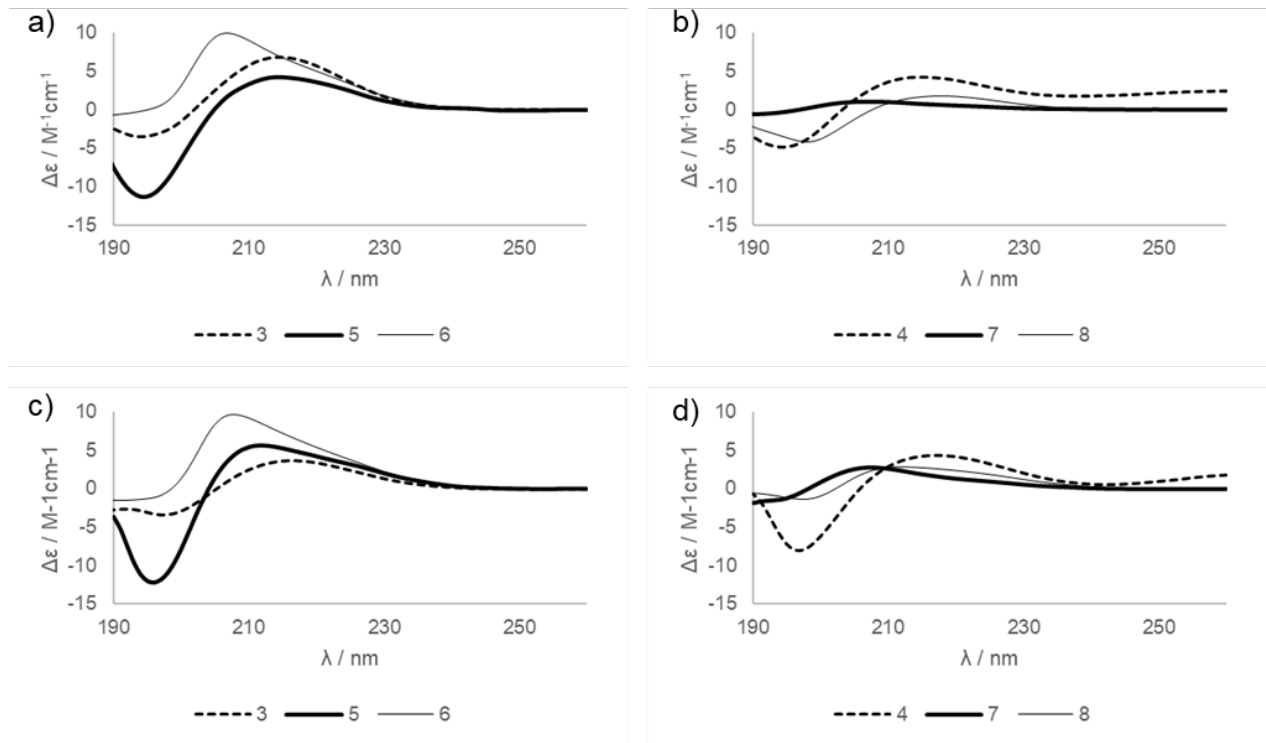


6. Ábra: A 3-as (a), 5-ös (b) és 6-os (c) vegyület NH-ND csere diagramja; 4 mM;

298K

■: NH₂; ○: NH₃; ▲: NH₄; ◇: NH₅; *: NH₄+NH₅

- A metanolban és vízben felvett intenzív CD spektrumok szintén a **3**, **5** és **6** vegyületek esetén H14 hélix kialakulását igazolták. A CD sávok csökkent intenzitása **4**, **7** és **8** vegyületekben a hélixes másodlagos szerkezet kis stabilitását mutatják. Minimális eltérést tapasztaltunk vízben és metanolban végezve a vizsgálatot, az oldószer nem befolyásolta döntően a konformációt.



7. Ábra: A vizsgált β -peptidek ECD spektrumai; Immol; 298K
 a), b) vízben
 c), d) metanolban

5. Következtetések

Az ekdiszteroid és konjugátumaik esetén az azonos szteroidegységben vagy a szkvalén-linker-oldallánc egységben a kémiai eltolódások minimális különbséggel detektálhatók. Az jövőben újonnan előállítandó szkvalén-konjugátumok jelhozzárendelése ezáltal gyorsabban lesz lehetséges. Az irodalom korábbi eredményeinek sorába illeszkedve, újabb $\Delta\delta_{syn-anti}$ paramétert írtunk le egy oxim-típusú vegyület C_{α} atomjára vonatkozóan és megadtunk egy biztos kombinált szintetikus-NMR spektroszkópiai módszert a konfiguráció megállapításához.

A szkvalén-konjugátumok esetén igazolható a várt asszociátumképződés D_2O -ban. A másodlagos szerkezet részletes vizsgálatára nem volt lehetőségünk a nanoasszociátumképződés miatt. DOSY mérések által egy kb. 1000 tagszámú részecske került azonosításra. Mérete a nanorészecskék tartományában helyezkedik el. Irodalomban eddig nem történt meg ilyen típusú asszociátumok NMR spektroszkópiai azonosítása, eredményeinkkel rávilágítottunk egy módszerre, amely sikeresen használható oldatban jelen levő szkvalén-konjugátum részecskék vizsgálatára.

A β -peptidek másodlagos szerkezetének vizsgálata során azt találtuk, hogy a *transz*-ACHC-láncba egy eltérő β -aminosav beépülése döntően befolyásolja a rendezett konformer kialakulását. A flexibilis β -alanin építőelem nem befolyásolta a *transz*-ACHC-ből felépülő β -peptidek H14 hélixének kialakulását. Ezzel szemben a rigid, telítetlen *Z*-dehidro- β -alanin megakadályozta a rendezett szerkezet jelenlétét, mely lehetséges oka a C=C kettős kötés konjugációja a szomszédos amid kötésekkel. Ciklusos β -aminosavakon végzett vizsgálataink alapján a konfigurációnak meghatározó szerepe van a heterooligomerekben lehetséges helikális struktúrára. [1*R*,2*R*,3*S*,4*S*]-*diexo*-ABHEC és [1*R*,2*S*,3*R*,4*S*]-*diexo*-AOBHEC középső aminosavként való beépülése esetén kialakulhatott a H14 hélix. Azonban ugyanezen aminosavak enantiomerjeit, mint [1*S*,2*S*,3*R*,4*R*]-*diexo*-ABHEC és [1*S*,2*R*,3*S*,4*R*]-*diexo*-AOBHEC, tartalmazó β -peptid szekvenciák stabil önrendeződésre nem képesek. Eredményeink alapján elmondható, hogy a *transz*-ACHC stabil H14 hélix konformációját meg lehet szüntetni egyes aminosavak beépítésével, míg más aminosavegységek nem befolyásolják ezt. Az ABHEC és AOBHEC egységek beépülésének összehasonlításával az *O*-atomhoz kapcsolható hatást nem találtunk. Újabb peptidek tervezésénél ez az információ felhasználható a kiépíteni kívánt másodlagos szerkezet érdekében.

Saját publikációk jegyzéke

I. Az értekezés témájában megjelent eredeti közlemények

1. **D. Bogdán**, R. Haessner, M. Vágvölgyi, D. Passarella, A. Hunyadi, T. Gáti, G. Tóth. Stereochemistry and complete ^1H and ^{13}C NMR signal assignment of C-20-oxime derivatives of posterone 2,3-acetonide in solution state, *Magn. Reson. Chem.* **56** (2018) 859-866, DOI: 10.1002/mrc.4750
IF: 1,78
1. I. Nekkaa¹, **D. Bogdán**¹, T. Gáti, Sz. Béni, T. Juhász, M. Palkó, G. Paragi, G. K. Tóth, F. Fülöp, I. M. Mándity. Flow-chemistry enabled efficient synthesis of β -peptides: backbone topology vs. helix formation, *ChemComm.* **55** (2019) 3061-3064, DOI: 10.1039/C8CC10147G
IF: 6,29
¹: Megosztott elsőszerezőség

II. Egyéb – nem az értekezés témájában megjelent – eredeti közlemények

1. M. Atia, **D. Bogdán**, M. Brügger, N. Haider, P. Mátyus. Remarkable regioselectivities in the course of the synthesis of two new Luotonin A derivatives, *Tetrahedron* **73** (2017) 3231-3239
2. Á. Horváth, A. Menghis, B. Botz, É. Borbély, Á. Kemény, V. Tékus, J. Zs. Csepregi, A. Mócsai, T. Juhász, R. Zákány, **D. Bogdán**, P. Mátyus, J. Keeble, E. Pintér & Zs. Helyes. Analgesic and Anti-Inflammatory Effects of the Novel Semicarbazide-Sensitive Amine-Oxidase Inhibitor SzV-1287 in Chronic Arthritis Models of the Mouse, *Nature Scientific Reports* **7** (2017) 39863
3. R. Meleddu, S. Distinto, A. Corona, G. Bianco, V. Cannas, F. Esposito, A. Artese, S. Alcaro, P. Matyus, **D. Bogdan**, F. Cottiglia, E. Tramontano, E. Maccioni. (3Z)-3-(2-[4-(aryl)-1,3-thiazol-2-yl]hydrazin-1-ylidene)-2,3-dihydro-1H-indol-2-one derivatives as dual inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase, *Eur. J. Med. Chem.* **93** (2015) 452-460