



Arabinogalaktán-típusú oligoszacharid-sorozat szintézise

Doktori (PhD) értekezés

Csávás Magdolna

Debreceni Egyetem
Természettudományi Kar
Debrecen, 2003

Ezen értekezést a Debreceni Egyetem TTK *Kémia* doktori iskola *Szénhidráttartalmú természetes anyagok kémiája (K/5)* programja keretében készítettem 2000-2003 között a Debreceni Egyetem doktori (PhD) fokozatának elnyerése céljából.

Debrecen, 2003. január 15.

.....

Csávás Magdolna

Tanúsítom, hogy Csávás Magdolna doktorjelölt 2000-2003 között a fent nevezett Doktori Iskola *Szénhidráttartalmú természetes anyagok kémiája (K/5)* doktori programja keretében irányításommal végezte munkáját. Az értekezésben foglalt eredményekhez a jelölt önálló alkotó tevékenységével meghatározóan hozzájárult. Az értekezés elfogadását javaslom.

Debrecen, 2003. január 15.

.....

Prof. Dr. Lipták András

Ezúton szeretnék köszönetet mondani mindazoknak, akik segítségemre voltak a laboratóriumi munkámban és e dolgozat elkészítésében.

Köszönöm Dr. Lipták András professzor Úrnak, hogy munkámat a MTA Szénhidrátkémiai Kutatócsoportjában lehetővé tette, támogatta, mindvégig figyelemmel kísérte és hasznos tanácsaival segítette.

Hálával tartozom Dr. Borbás Anikónak, a kísérleti munkámban nyújtott segítségéért, a dolgozat elkészítéséhez adott értékes tanácsaiért, türelméért és segítőkészségéért.

Köszönettel tartozom a legközvetlenebb munkatársaimnak: Jánossy Lórántnak, Fekete Anikónak, Dr. Bajza Istvánnak tanácsaikért és a kiváló munkahelyi légkör megteremtéséért.

Megköszönöm Dr. Gyémánt Gyöngyinek a MALDI-TOF MS méréseket, Gálné Remenyik Juditnak a nagynyomású folyadékkromatográfiás vizsgálatokat és Madarasiné Molnár Katalinnak vegyületeim $[\alpha]_D$ értékeinek meghatározását.

Az NMR spektumok elkészítésében és értékelésében nyújtott segítségért köszönet illeti Dr. Szilágyi László professzor Urat és Dr. Batta Gyula tudományos tanácsadó Urat.

Köszönöm családomnak és kedvesemnek a kitartó támogatást, szeretetet és türelmet.

TARTALOMJEGYZÉK

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

1. BEVEZETÉS	1
2. IRODALMI BEVEZETÉS	2
2.1. Arabinogalaktánok fito- és humánbiológiai szerepe	2
2.1.1. A növényi sejtfa felépítése és funkciója. Oligoszacharinok	2
2.1.2. Arabinogalaktán-proteinek	3
2.1.3. A növényi immunrendszer vizsgálata	4
2.1.4. Az <i>Echinacea purpurea</i> -ból izolált oligoszacharidok humánbiológiai hatása	5
2.2. Oligoszacharidok szintézise	7
2.2.1. Oligoszacharidok előállításának általános kérdései	7
2.2.2. A glikozidos kötés kialakításának módszerei	7
2.2.3. Oligoszacharid szintézisek stratégiája	11
2.2.4. Védőcsoport-stratégiák	12
2.3. Az arabinogalaktánok szintézisével kapcsolatos kísérleti eredmények	15
2.3.1. A szintetikus munka közvetlen háttere	18
3. SAJÁT VIZSGÁLATAIM	22
3.1. Célkitűzés	22
3.2. Az arabinogalaktán tetra- és pentaszacharid szintézise	23
3.3. Az arabinogalaktán hexaszacharid előállítása	26
3.4. Okta- és két izomer nonaszacharid arabinogalaktán előállítása	28
4. KÍSÉRLETI RÉSZ	33
5. IRODALOMJEGYZÉK	53
6. ÖSSZEFOGLALÁS	57
7. SUMMARY	58
8. PUBLIKÁCIÓS JEGYZÉK	60

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

absz.	abszolút
Ac	acetyl
AG	arabinogalaktán
AgOTf	ezüst-trifluor-metánszulfonát
AGP	arabinogalaktán-protein
Bn	benzil
Bz	benzoil
CAN	cérium(IV)-ammónium-nitrát
CCT	carbon-clearance test
COSY	<i>correlated spectroscopy</i>
d	dublett
dd	dupla dublett
DBU	1,8-diazabiciklo[5.4.0]undec-7-én
DDQ	2,3-diklór-5,6-dicián-1,4-benzokinon
δ	kémai eltolódás
DKM	diklórmétán
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamid
DMTST	dimetil-metiltio-szulfónium-trifluormetán-szulfonát
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
ekv.	ekvivalens
Et	etil
GAG	glikoaminoglükán
gem	geminális
GT	granulocita-teszt
HETCOR	<i>heterocorrelated spectroscopy</i>
HMBC	<i>heteronuclear multiple bond correlation</i>
IDCP	jodónium-di-(<i>szim</i>)kollidin-perklorát
ip	izopropilidén
<i>J</i>	csatolási állandó
m	multipllett
Me	metil
MeOTf	metil-trifluor-metánszulfonát
MIP	(metoxidimetil)metil
MS	molekulaszita
NAP	(2-naftil)metil
NBS	N-bróm-szukcinimid
NIS	N-jód-szukcinimid
NMR	magmágneses rezonancia
Ph	fenil
PMB	4-metoxi-benzil
PMP	4-metoxi-fenil
<i>p</i> TSA	<i>p</i> -toluol-szulfonsav
kvat.	kvaterner
RG	ramnogalakturonán
R_f	retenciós faktor
s	szingulett
<i>t</i>	<i>tercier</i>

TBDMSOTf	<i>tert</i> -butil-dimetilszilil-trifluor-metánszulfonát
TBDPS	<i>tert</i> -butil-difenil-szilil
TfOH	trifluor-metánszulfonsav
TMSOTf	trimetilszilil-trifluor-metánszulfonát
VRK	vékonyréteg-kromatográfia

1. BEVEZETÉS

A biokémia és a molekuláris biológia intenzív fejlődése során jelentősen átértékelődött a szénhidrátok biológiai szerepe. Az 1970-es évekig a szénhidrátoknak mindössze szerkezeti szerepet tulajdonítottak (vázanyagok), illetve anyagcsere-folyamatok szubsztrátjainak tekintették. A szerkezetvizsgálati módszerek lendületes fejlődése is elősegítette a szemléletváltást. Ismertté vált, hogy a sejtek felületén elhelyezkedő glikokonjugátumok biztosítják a sejt-sejt, sejt-külvilág, sejt-vírus felismerési folyamatot¹⁻³.

Az elválasztástechnikai módszerek finomítása és a szerkezetfelderítési módszerek fejlettsége ellenére nagy kihívást jelent a különböző biológiai rendszerekből izolált igen komplex szerkezetű glikokonjugátumok és szénhidrátok analízise.

A szintetikus szénhidrátkémia egyik feladata feltételezett szerkezetű, magas biológiai aktivitással bíró szénhidrátalapú mimetikumok szintézise, illetve ismert szerkezetű hatóanyagok analóg származékainak előállítása. A kívánt struktúrájú szintetikus szénhidrátok birtokában eldönthető a feltételezett szerkezet helyessége és vizsgálható, hogy a szénhidrátmolekula mely szerkezeti egységei, funkciós csoportjai esszenciálisak a biológiai hatás kialakulásában. További feladatunk az immunológiai hatásokért felelős minimális molekularészlet (epitóp) előállítása.

Doktori munkám során olyan arabinogalaktán-típusú vegyületek szintézisét valósítottam meg, melyek mind növény-, mind humánbiológiai szempontból fontos szerepet játszanak. A szintetikus feladat az *Echinacea purpurea*-ból (lángvörös kasvirág) izolált magas farmakológiai aktivitással bíró oligoszacharidok előállítása volt, ahol az aktív epitóp szerkezete pontosan nem ismert.

Dolgozatomban beszámolok ezen oligoszacharid sorozat szintéziséről, ennek során be kívánom mutatni az alkalmazott új védőcsoportok kompatibilitását más védőcsoportokkal, alkalmazásuk korlátait, illetve egy olyan ortogonális védőcsoport-stratégiát, mely a célvegyületek előállításának útját jelentősen lerövidítette. Remélhetően a bemutatott szintetikus módszerek alkalmazásra találnak egyéb komplex oligoszacharidok szintézisében is.

2. IRODALMI BEVEZETÉS

2.1. Arabinogalaktánok fito- és humánbiológiai szerepe

2.1.1. A növényi sejtfal felépítése, funkciója. Oligoszacharinok

A növénybiológiai kutatásokban előtérbe került a növényi sejtfal szerkezetének és funkciójának vizsgálata. Albersheim és mtsa egy összefoglaló közleményben számolt be a legújabb eredményekről⁴. A növényekben a kémiai információátadásért felelős növényi hormonok öt fő típusát azonosították: auxin, abszciszinsav, citokinin, etilén és gibberelin. A szerzők a szabályozó molekulák egy új csoportját fedezték fel, melyeket oligoszacharinoknak (fitoalexin-elicitor) neveztek el. Funkciójuk mechanikai sérülés, vírus- vagy baktériumtámadás elleni védekezés, és a fejlődés különböző szakaszaiban a differenciálás.

Az oligoszacharinok a sejtfal fragmensei, melyek szintézise külső sérülés hatására aktiválódott enzimek által történik a sejtfalat alkotó poliszacharidok feldarabolódása révén.

Albersheim és mtsa a növények elsőrendű sejtfalát vizsgálták, mely a fiatal növényekben található meg, az ilyen sejtfal vékony és gyorsan növekedő. Az elsőrendű sejtfal 90%-a poliszacharid, feltételezik, hogy nyolc oligoszacharid alkotja, ezek közül hatot definiáltak: homogalakturonán, ramnogalakturonán-I, ramnogalakturonán-II, xiloglükán, arabinogalaktán és glükuronoarabinoxilán. A szerzők felfedezték, hogy sejtfalnak további két alkotórésze az acerinsav (3-karboxil-5-dezoxi-L-xilóz) és a KDO (3-dezoxi-D-mannooktuloszonsav).

A növényekben vírus- vagy baktériumtámadás, mechanikai sérülés esetén egy kaszkádszerű folyamat (kvázi immunvédekezés) indul meg a sérülés helyén, fitoalexinek termelésével. A fitoalexinek nem proteinek, tehát nem elsődleges géntermékek, de szintézisük olyan nyugvó, represszált gének működésbe lépésével történik, melyek révén enzimek egész sora szintetizálódik.

A növények a vírus sejtfalán levő szénhidrátkomponenseket ismerik fel. Ha a növényi sejthez olyan oligoszacharidkeveréket adnak, melyet a vírus sejtfalából nyertek savas kezeléssel, akkor a növényi sejt olyan enzimeket szintetizál, mely megindítja a fitoalexin termelést.

A kutatás során felmerült következő kérdés, hogy hogyan termelődik fitoalexin a sérülés helyén. A sérülés során a növény néhány sejtje mintegy feláldozza magát, és 7-9

monoszacharidból álló oligoszacharidokat szabadít fel, melyek rendkívül alacsony koncentráció mellett aktiválják a fitoalexinek szintézisében részt vevő enzimek génjeit.

2.1.2. Arabinogalaktán-proteinek

Az oligoszacharinok nagyon fontos vegyületeknek tűnnek növényvédelmi szempontból is, hiszen a növényi immunfolyamat fontos egységei, így számos kutatócsoport foglalkozik ezek szintézisével és vizsgálatával. Fincher és mtsai⁵ áttekintést adnak közleményükben az arabinogalaktán-proteinek (AGP) szerkezetéről, bioszintéziséről és funkciójáról. A növények AGP tartalma 2 és 10% között mozog, de egyes növényekben (pl. *Acacia hebeclada*) 59% is lehet⁶. A fő alkotóelemek D-galaktopiranoz és L-arabinofuranóz, melyek aránya 10:90 és 85:15 (Gal:Ara) között változik, a legtöbb esetben azonban a D-galaktóz van nagyobb arányban. Az AGP-ek kis mennyiségben tartalmaznak egyéb komponenseket: L-ramnopiranozt (11%), D-mannopiranozt (16%), D-xilopiranozt (7%), D-glükopiranozt (4%), D-glükuronsavat és 4-O-metil származékát (28%), D-galakturonsavat és 4-O-metil származékát (26%).

Az AGP-ek feltételezett szerkezete: (1→3) és (1→6)-kötésű β-D-galaktopiranozil váz, mely arabinofuranozil vagy arabinopiranozil elágazást hordoz 2-es vagy 3-as pozícióban. Az arabinogalaktánok (AG) hidroxiprolinban, szerinben, alaninban és glicinben gazdag proteinekhez kötődnek glikozidos kötéssel. A fehérjéhez való kötődés Ara-O-Hyp⁷ és Gal-O-Ser módon valósul meg⁸.

Az AGP-ek funkciója két típusú kölcsönhatás révén fejeződik ki: az AGP makromolekulák más makromolekulákhoz (pektin, lektin) vagy kis ligandumokhoz (flavonol-glikozid, β-glükozil antigén) kötődnek. A galaktán lánc általában hélix vagy triplahélix szerkezetet vesz fel, így nagy felületen jöhet létre a kölcsönhatás.

Az arabinogalaktán-proteinek funkciókban nagy hasonlóságot mutatnak az állati proteoglikánokkal, a glikoaminoglikánokkal (GAG) (pl. heparin-szulfát). Mind az AGP, mind a GAG nagy koncentrációban található az extracelluláris részekben, feladatuk a sejt-sejt kölcsönhatás biztosítása. Egy másik feltételezett funkció a morfogenezis szabályozása. Emlősök esetén a morfogenezist a GAG-ok végzik, míg növényekben feltételezhetően az AGP-ek kontrollálják a folyamatot.

2.1.3. A növényi immunrendszer vizsgálata

A molekuláris biológiai, immunológiai kutatások 10%-át a növényi sejtfal szerkezetének és funkciójának vizsgálata teszi ki. Hoson immunológiai vizsgálatok eredményeit összegezte közleményében⁹, és az antitestek alkalmazásának jelentőségét mutatja be. Eszerint a sejtfal szerkezetének és funkciójának megismerésére monoklonális antitesteket alkalmaznak, oly módon, hogy antitesteket generálnak, melyek különböző típusú sejtfal komponensre specifikusak. Az antitestek alkalmazása a legprecízebb eljárás a sejtfal szerepének vizsgálatára.

Általánosságban elmondható, hogy a szénhidrátok nagyon effektív antigének. Amennyiben a sejtfal glikoproteinjeit antigénként használják, akkor ezen szénhidrátokra specifikus antitest termelése válik lehetővé¹⁰. Számos kutatócsoportban állítottak elő ramnogalakturonánra¹¹, poligalakturonsavra¹², xiloglükánra¹¹, (1→3) és (1→4)-β-D-glükánra¹³ és α-L-arabinózra¹⁴ specifikus antitestet. Antitesteket szoktak termeltetni olyan azonosítatlan antigén ellen is, melyet növényi szövetekből, extraktumokból nyernek. Az antitestek generálása antigéneket tartalmazó frakciók komponenseinek karakterizálására alkalmazható. Az alkalmazhatóság szempontjából nagy előny, hogy a monoklonális antitestek csak specifikus epitópokat ismernek fel, sőt felismerik a sejtfalat alkotó molekula konformációját is.

Immunológiai szempontból fontosak azon sejtfalat alkotó oligoszacharidok, melyek fiziológiai aktivitással bírnak. Ilyenek a fitoalexin szintézist kiváltó oligoszacharinok is, melyek már nanomoláris koncentrációban aktívak. Antitestek alkalmazása segíthet megérteni az oligoszacharinok jelentőségét különböző folyamatokban.

Steffan és mtsai olyan monoklonális antitestet karakterizáltak¹⁵, mely felismer arabinozilezett (1→6)-β-D-galaktán epitópokat komplex növényi szénhidrátokban. A hegyi jávorból (*Acer pseudoplatanus*) izolált ramnogalakturonánokat antigénként használták arra, hogy monoklonális antitesteket generáljanak különböző sejtfal-poliszacharidok ellen¹⁶. Kilenc antitestet izoláltak, melyek felismernek a növényi komplex szénhidrátok között széles körben elterjedt epitópokat, beleértve a ramnogalakturonánt, számos arabinogalaktánt és a membrán glikoproteineket. Ezek a generált antitestek az irodalomból ismert CCRC-M7 antitesthez nagyon hasonló kötődési specificitást mutatnak.

A kísérletek során vizsgáltak az *Echinacea purpurea* (lángvörös kasvirág) extraktumból trifluorecetsavas hidrolízissel nyert arabinogalaktánokat is. Az immunológiai vizsgálatok leggyakoribb módszere az ELISA¹⁷ teszt (enzyme-linked immunosorbent assay),

melynek lényege, hogy az enzimet indikátorként használják. Egy antigén-antitest reakció létrejöttét, illetve mennyiségi viszonyait az első antitest ellen előállított, és azzal elreagáló második antitesthez kovalensen kötött enzim által produkált színes termék alapján tudják meghatározni. Steffan és mtsi alkalmaztak indirekt ELISA-t, mely az antitest kötött poliszacharidhoz való kötődését méri és a kompetitív ELISA-t, mely a szénhidrátok azon képességét méri, hogy mennyire gátolja kompetitív "ellenfélként" az antitest kötődését az immobilizált ramnogalakturonán-I-hez.

A vizsgálatokat elsőként olyan ramnogalakturonán-I-en végezték el, melyről a galaktóz és arabinóz egységeket hidrolizálták, és a CCRC-M7 antitestet alkalmazták, mely az arabinogalaktán epitópot ismeri fel. Bizonyították, hogy a Gal egység esszenciális a kötődésben, és az Ara egység is része az antitest által felismert epitópnak.

Az *Echinacea purpurea*ból izolált arabinogalaktánok esetén a kompetitív ELISA módszert használták, és igazolták, hogy az arabinogalaktánok legalább olyan effektívek, mint a RG-I. A frakciók közül a potenciális partnernek a 99% galaktóz és 1% arabinóz-tartalmú frakció tűnt, 1400 IC₅₀ (μM) értéket mértek. Hasonlóan jó gátló hatással bírt a 100% Gal tartalmú fragmens is. A legkevésbé aktívnak a legmagasabb arabinóztartalmú komponenszt találták (2% Ara).

A harmadik vizsgálat során ismert szerkezetű szénhidrátok esetén a legmagasabb kötődési gátlást β-(1→6)-kötésű penta-, hexa- és trigalaktán esetében mérték.

A három kísérlet alapján tehát megállapítható, hogy a minimális epitóp egy β-(1→6)-kötésű trigalaktán lánc, mely egy vagy több arabinozil-egységet hordoz. Az antitest azonban nem ismer fel olyan epitópot, melyben β-(1→3)-kötésű galaktán lánc van (gumi arabikum kivonata). Az Ara egység szintén része az epitópnak, hiszen az (1→5)-kötésű α-L-arabinofuranobióz és tetraóz szintén kompetitív partner az ELISA szerint, bár 1000-szer kevésbé, mint az oligogalaktosidok.

2.1.4. Az *Echinacea purpurea*ból izolált oligoszacharidok humánbiológiai hatása

A lángvörös kasvirág kivonata a népi gyógyászatban is ismert, alkalmas megfázások, vírusos és bakteriális fertőzések kezelésére a humán immunrendszert stimuláló hatása révén. Már az indiánok is alkalmazták a növény szárított gyökerét kígyómarások esetén. A növény alkoholos extraktuma gyógyszertárban kapható gyógynövénykészítmény.

2.2. Oligoszacharidok szintézise

Oligoszacharidok szintézise során alapvetően két szempont alapján kell a reakcióutat megtervezni: elsőként a glikozidos kötés kialakításának módja, másodsor pedig a védőcsoport stratégia szerint. E két terület háttérét kívánom áttekinteni a következő fejezetekben.

2.2.1. Oligoszacharidok előállításának általános kérdései

Az oligoszacharidok szintézisének összetettségét a szénhidrát molekulák polifunkciós jellege adja. A szintézis általános problémái²³⁻²⁵:

- glikozil akceptorként olyan származék előállítása, mely a regioszelektivitás biztosítása érdekében lehetőleg csak a kívánt pozícióban tartalmaz szabad hidroxil csoportot és a többi funkciós csoport a reakciókörülmények között alkalmazható stabil védőcsoportokkal blokkolt,
- glikozil donorként olyan vegyület szintézise, mely az anomer centrumon aktiválható távozó csoporttal rendelkezik,
- a glikozilezési reakció körülményeinek megválasztása oly módon, hogy a kialakuló glikozidos kötés regio- és sztereoszelektíven jöjjön létre,
- védőcsoportok alkalmas megválasztása, mind a résztvevőcsoport, mind a kapott oligoszacharid szempontjából (védőcsoportok eltávolítása az interglikozidos kötések felszakadása nélkül).

2.2.2. A glikozidos kötés kialakításának módszerei

Az oligoszacharidok kémiai²⁶⁻³⁷ és enzimátikus³⁸ szintéziséről számos összefoglaló közlemény jelent meg, a legintenzívebben kutatott terület az anomercentrum aktiválásának módszere.

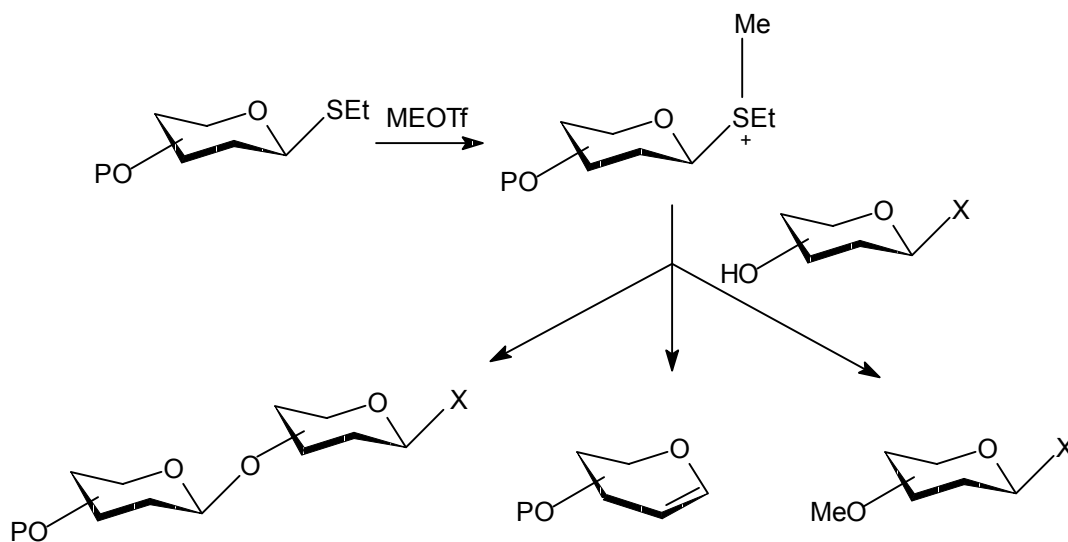
Napjainkban számos típusú glikozil donort alkalmaznak glikozilező ágensként, ezeket alkalmazásuk gyakoriságának sorrendjében tekintem át.

A) Tioglikozidok

Az S-glikozidok széles körű alkalmazását könnyű előállíthatóságuk, egyszerű átalakíthatóságuk és stabilitásuk magyarázza. A tioglikozidok széles körben az 1980-as években terjedtek el, első alkalmazása Ferrier nevéhez fűződik³⁹.

A legelterjedtebb donormolekulák az 1-metiltio, 1-etiltio és 1-feniltio-származékok, aktiválásuk tiofil promotorral történhet.

A MeOTf-tal való aktiválás Lönn nevéhez fűződik⁴⁰, mechanizmusa a 2. ábrán látható. A módszer hátrányai miatt (a MeOTf mérgező, az aglikon metileződik, glikálképződés) fejlesztette ki Fügedi és mtsa a dimetil-(metiltio)-szulfónium-triflát alkalmazását.⁴¹⁻⁴² Napjainkban a legelterjedtebb tioglikozid-aktiválás a NIS-TfOH reagens kombináció alkalmazása.⁴³



2. ábra

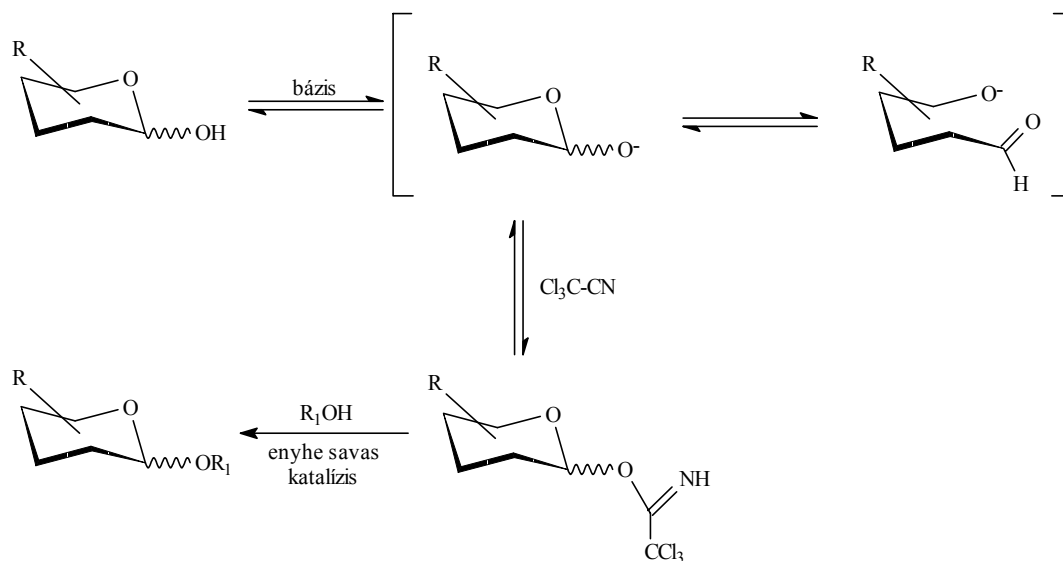
A tioglikozidok könnyen átalakíthatóak halogenidekké, 1-*O*-acetáttá, triklóracetimidóil-származékká.

B) Imidátok

A vegyületcsoport első alkalmazását Sinay és mtsai írták le⁴⁴, β -N-metil-acetimidóiloxi távozó csoportot használtak nemrésztvevő csoport jelenlétében. Áttörést Schmidt és mtsai eredményei hoztak a triklóracetimidát-csoport alkalmazásával⁴⁵⁻⁴⁶. A távozó csoport előnyei: egyszerűen előállítható, a glikozilezés jó hozamú, az anomer konfiguráció szabályozható. Hátránya, hogy néhány, főleg furanozidok triklóracetimidát származéka instabil. A glikozilezés mechanizmusa a 3. ábrán látható.

A donormolekulák előállítása anomer hidroxil csoportból történik triklór-acetonitrillel, bázis (DBU, kálium-karbonát, NaH, cézium-karbonát) jelenlétében. A csoport aktiválása

történhet *p*-toluol-szulfonsavval, bór-trifluorid-dietil-éteráttal, TMSOTf-tal, TBDMSOTf-tal is^{29,47-48}.



3. ábra

C) Glikozil-halogenidek

Az egyik legrégebbi glikozilezési módszer acil-halogén cukrok nehézfém-sókkal vagy oxidokkal (Ag₂O, Hg(CN)₂, HgBr₂, Ag₂CO₃) történő aktiválása, az első reakciót 1901-ben írta le Koenigs⁴⁹ (Koenigs-Knorr reakció). Helferich módosította a glikozilezést: aprotikus poláris oldószert használt Hg(CN)₂ katalizátorral, savmegkötő jelenlétében⁵⁰⁻⁵¹. A reakció nem kielégítő sztereoselektivitását oldották meg AgOTf alkalmazásával⁵²⁻⁵³.

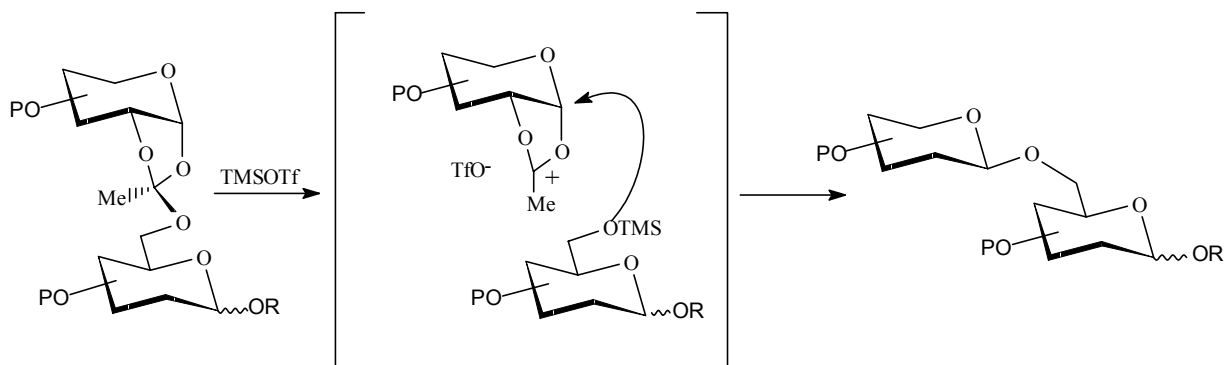
Korábban csak a glikozil-kloridok és bromidok szerepeltek donorvegyületként, mert a fluorid rosszabb távozócsoport, mára azonban megoldott a fluoridokkal történő kapcsolási reakció fluorofil promotorokkal⁵⁴⁻⁵⁵.

D) Egyéb módszerek

Minden glikozilezési feladat egyéni probléma, nincs általános módszer a reakció kivitelezésére. A számos glikozilezési módszer kidolgozását általában egyedi problémák indukálták, így a ma ismert donortípusok és aktiválási módszerek száma igen nagy. A teljesség igénye nélkül ismertetek módszereket:

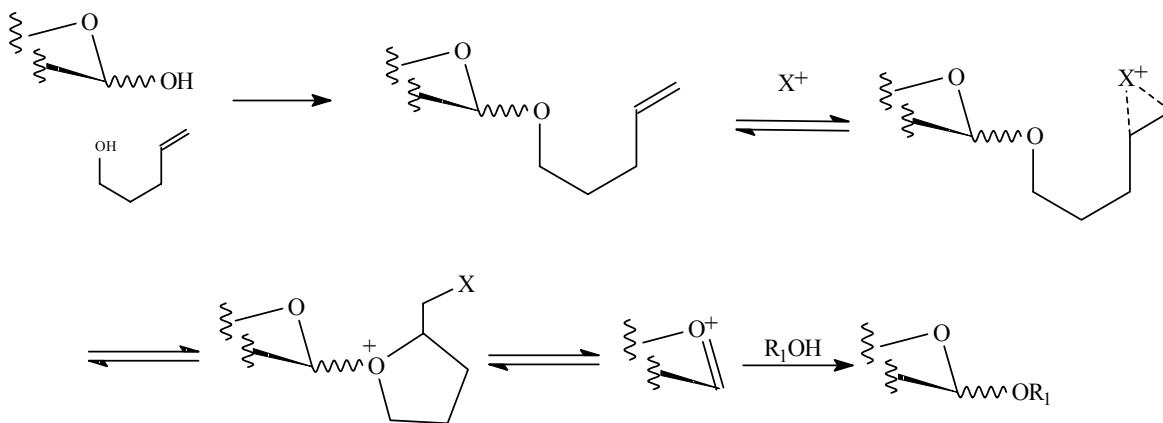
- Észterek: alkalmaztak 1-*O*-szulfonil távozó csoportot glikozilezésekben⁵⁶, azonban instabilitásuk miatt nem terjedtek el. Az 1-*O*-acetyl származékok is használatosak glikozil donorként⁵⁷, azonban aktiválásuk kizárólag igen erélyes körülmények közt valósítható meg.

- Ortoészterek: bevezetésük Kochetkov és mtsai nevéhez fűződik⁵⁸, majd Ogawa és mtsai fejlesztették tovább és eredményesen rendezték át ortoésztereket glikozidokká TMSOTf segítségével⁵⁷ (4. ábra).



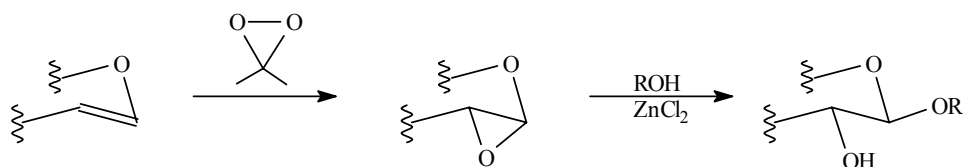
4. ábra

- 4-Pentenil-glikozidok: a kezdetben védőcsoportként használt 4-pentenil-csoport aktiválásához NIS-TfOH, IDCP használható. Nagy előnye, hogy 2-pozícióban *O*-acil csoporttal bíró származék nehezebben aktiválható, mint az *O*-alkil csoportot tartalmazó vegyületek (armed-disarmed elv)⁵⁹ (5. ábra).



5. ábra

- Glikálok: elsősorban 2-dezoxi származékok szintézisekor alkalmazott vegyületcsoport³⁶, savas közegben aktiválhatóak (NIS, NBS, TsOH).
- 1,2-Anhidro-származékok: ezen vegyületek újabban dimetil-dioxiránnal egyszerűen állíthatók elő és ZnCl₂ jelenlétében aktiválhatóak⁶⁰ (6. ábra). A képződő glikozid szabad OH-2 csoportot tartalmaz, ami további reakciókra adhat lehetőséget.



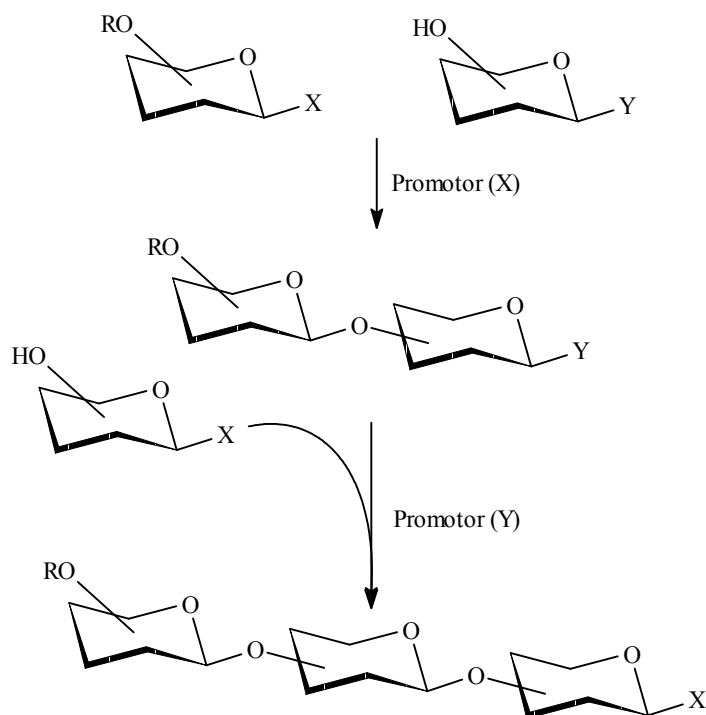
6. ábra

2.2.3. Oligoszacharid szintézisek stratégiája

Az oligoszacharidok szintézisére két stratégia alkalmazható: lépéenkénti szintézis, amikor a lánchosszúságot monoszacharidokként növeljük, illetve a blokk szintézis, mely során oligoszacharidokat kapcsolunk össze. Magas tagszámú oligoszacharidok előállítására ez utóbbi egyszerűbben alkalmazható, különösen, ha a tervezett célvegyület ismétlődő építőegységeket tartalmaz.

Blokk szintézis esetében fontos, hogy a nagyobb tagszámú származék könnyen glikozil donorrá vagy akceptorra legyen transzformálható. A glikozilezési módszerek fejlettsége lehetővé teszi a távozó csoportok és aktiválási módszerek kombinálását. A következőkben felsorolt stratégiák jelentősen redukálhatják a reakcióút lépéseinek számát:

- kemoszelektív glikozilezés⁵⁹: a stratégia lehetőséget teremt az akceptorral azonos távozó csoportot tartalmazó glikozil donorok aktiválására enyhe promotor jelenlétében
- ortogonális stratégia⁶¹: olyan donor és akceptor alkalmazásán alapszik a módszer, melyek

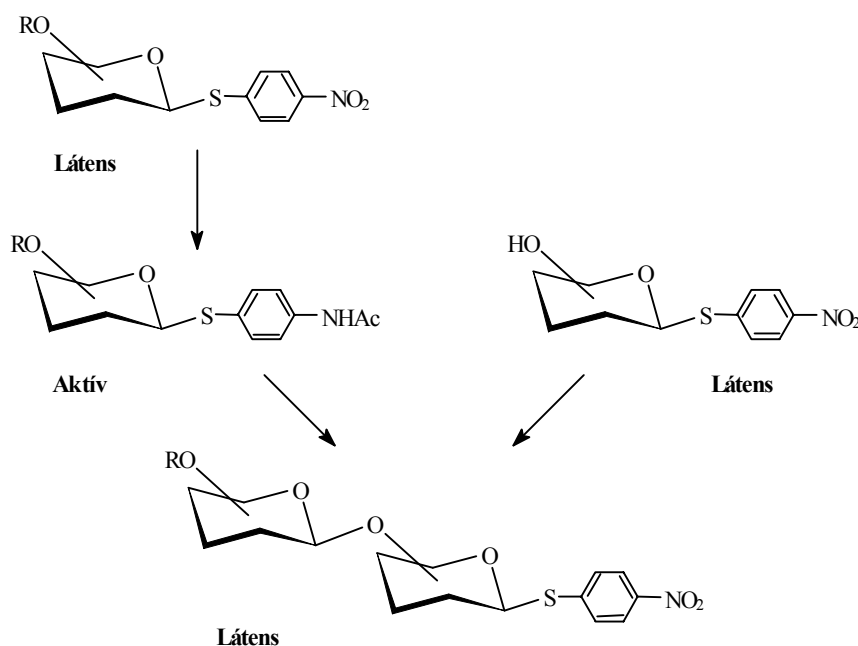


7. ábra

egymástól függetlenül aktiválhatóak. A tioglikozidok és a fluorid donorok esetén mutatjuk be a stratégia elvét (7. ábra)

- látens-aktív stratégia⁶²: stabil anomer védőcsoport glikozilezési szempontból könnyen aktiválható védőcsoporttá való alakításán alapuló módszer. 4-nitro-fenil tioglikozidok egyszerűen alakíthatóak át N-acetilamino

tioglikoziddá és tiofil promoterekkel (DMTST-vel) aktiválhatók (8. ábra).



8. ábra

- intramolekuláris glikozilezés⁶³: az akceptor molekula egy hídmolekulán át, kétfunkciós csoporton vagy a donor távozó csoportján keresztül kapcsolódik a donorhoz és alakul ki a glikozidos kötés.

2.2.4. Védőcsoport-stratégiák

Az oligoszacharidok szintézisének tervezésekor kulcsfontosságú a védőcsoport-stratégia kialakítása, melyhez ismernünk kell az alkalmazni kívánt csoportok stabilitását, egymással való kompatibilitását és eltávolíthatóságát. A védőcsoport-manipulációk fejlődését az egyedi szintetikus problémák eredményezték. Mai ismereteink szerint több, mint 150 hidroxil-védőcsoport ismert⁶⁴⁻⁶⁵. Dolgozatomban azon védőcsoport típusokat kívánom csak áttekinteni, melyeket saját vizsgálataim során magam is alkalmaztam.

Acetál-típusú védőcsoportok

Szénhidrátok ciklikus acetál származékának első bevezetése Emil Fischer nevéhez fűződik⁶⁶. A vegyületcsoport előnye, hogy a cukorgyűrűn egyszerre két hidroxil-csoport blokkolható, eltérő gyűrűtagszámú (dioxán és dioxolán), és eltérő kémiai tulajdonságú származékok állíthatók elő. Acetálok kialakításának általános módszere: szénhidrátok

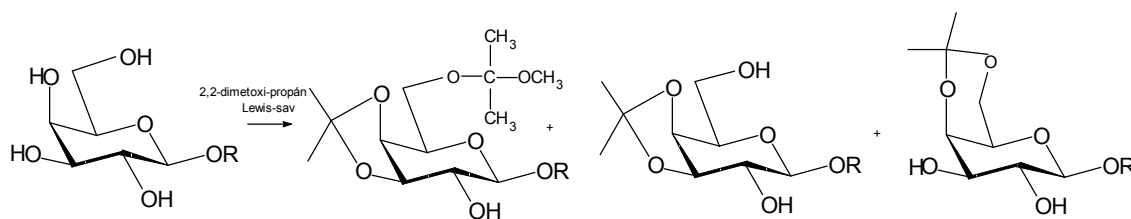
oxovegyületekkel történő savkatalizált kondenzációja⁶⁷, amely történhet aldehidekkel, ketonokkal, átcetálozással vagy enoléterekkel.

Szintetikus munkám miatt csak az izopropilidén acetálokra vonatkozó ismereteket kívánom összegezni. Izopropilidén acetálok kialakítására a következő módszerek ismertek:

- oldószer és reagens: aceton, katalizátor: kénsav, sósav, cink-klorid, vas-klorid, réz-szulfát⁶⁷
- aceton-jód rendszer⁶⁸ (savérzékeny vegyületekre)
- oldószer: DMF, reagens: 2,2-dimetoxi-propán⁶⁹ vagy 2-metoxi-propén⁷⁰, katalizátor: *p*TSA, kámforszulfonsav
- reagens és oldószer: 2,2-dimetoxi-propán, katalizátor: *p*TSA⁶⁹, kámforszulfonsav.

Az átcetálozás egyensúlyi folyamat, melyet a termékképződés irányába tolhat el a termodinamikailag stabilabb termék keletkezése és a nagy reagensfelesleg is.

A acetálképzés során egyes acetálok is izolálhatóak, kutatócsoportunk vezette be ezen félacetál-intermedierek preparatív felhasználását, az úgynevezett MIP-módszert⁶⁹: ha egy szabad β -D-galaktopiranozil egységet 2,2-dimetoxi-propánnal kezelünk Lewis-sav jelenlétében akkor a reakció során 3,4-*O*-izopropilidén-6-*O*-(metoxidimetil)metil- β -D-galaktopiranozil egységet kapunk, melyen az OH-2 csoport szabad. Vizsgálva az acetál típusú izopropilidén védőcsoport tulajdonságát, elmondhatjuk, hogy stabil védőcsoport, és savas hidrolízissel távolítható el. A (metoxidimetil)metil (MIP)-félacetál azonban csak bázikus közegben stabil, de már gyengén savas közegben igen könnyen elhidrolizál és a OH-6 csoport regenerálódik. A MIP-csoport szelektíven eltávolítható az izopropilidén acetálok jelenlétében, ecetsavas melegítéssel.



9. ábra

Fontos megemlíteni, hogy acetálképzés során meg kell különböztetni a kinetikai és termodinamikai termékeket. A 9. ábrán látható reakció során kinetikus termék a 4,6-*O*-izopropilidén acetál (dioxán-típus), míg kb. egy éjszakás reakcióidő után a termodinamikailag stabilabb 3,4-*O*-izopropilidén acetál (dioxolán-típus) keletkezik. A MIP-módszert sikeresen alkalmazták olasz szerzők különböző galaktopiranozid származékok szintézisében⁷¹⁻⁷³.

Éterek

Az éterek a leggyakrabban használt védőcsoportok⁶⁴⁻⁶⁵, a legelterjedtebbek a szénhidrátkémiában a metil-, etil-, benzil-, szilil-éterek és ezek szubsztituált származékai. Három éter típusú védőcsoportot alkalmaztam a szintetikus munkám során: a *p*-metoxi-fenil-, a benzil- és a (2-naftil)metil-étert, így ezek kialakítását, eltávolítását és kompatibilitását mutatom be.

A benzil-éter kialakítására számos módszer ismert:

- NaH vagy KH deprotonálószer, benzil-bromid vagy -klorid reagens
- deprotonálás után *in situ* generált benzil-jodiddal való reakció (BnBr és katalitikus mennyiségű KI vagy Bu₄NI)⁷⁴
- oxiránokból toluolban benzil-alkohollal, aktivált alumínium-oxiddal⁷⁵
- dibutil-ónoxiddal képzett sztannilidén acetálon át benzil-bromiddal⁷⁶⁻⁷⁷.

A benzil éter eltávolítására a legegyszerűbb mód a katalitikus hidrogenolízis, amely néhány esetben sav jelenlétét igényli. A védőcsoport eltávolítható Birch redukcióval (a legtöbb funkciós csoport inkompatibilis a reakcióval), Lewis-savakkal (SnCl₄, BCl₃, FeCl₃), DDQ-val⁷⁸ víz jelenlétében.

A (2-naftil)metil-éterek (NAP) szerkezeti analógiát mutatnak a benzil-éterekkel, kémiai viselkedésükben azonban nagy az eltérés. A NAP-csoport bevezetése viszonylag új, 1998-ban jelent meg Spencer és mtsai közleménye a NAP-éterekkel kapcsolatban⁷⁹, mely a benzil csoport melletti eltávolíthatóságát vizsgálja hidrogenolízissel.

A NAP-éter kialakítása egyszerű, a benzil-éterhez hasonlóan, NaH/(2-naftil)metil-bromid rendszerrel törénhet *N,N*-dimetil-formamidban vagy KOH/(2-naftil)metil-bromid reagensekkel 18-koronaéter-6 segítségével, tetrahidrofuránban.

A NAP-éter hatalmas előnye az szelektív eltávolításának sokféleségében és savakkal szembeni stabilitásában rejlik. Az alábbiakban a NAP-csoport hidrogenolitikus és oxidatív eltávolításával kapcsolatos eredményeket foglalom össze:

- Spencer és mtsai⁷⁹⁻⁸⁰ vizsgálták a NAP-éter hidrogenolízisét benzil-csoportok jelenlétében. A NAP-éter esetében benzil-csoportoz képest kevésbé szimmetrikus 10 elektronos aromás rendszer miatt a hidrogenolitikus reaktivitást lecsökken, így a NAP-csoport szelektíven eltávolítható etanolban Pd(C)-katalizátorral hidrogén atmoszférában benzil-éter mellől, rövid reakcióidő alatt, jó kitermeléssel.
- 2000-ben Matta és csoportja számolt be a benzil-típusú *p*-metoxi-benzil (PMB) és a NAP csoport oxidatív eltávolításáról⁸¹. Két módszert mutatnak be: cérium-ammónium-nitráttal

történő eltávolítás aceton: víz 9:1 rendszerben és DDQ segítségével történő eltávolítás diklórmetán:metanol 9:1 elegyben. A PMB-csoport mindkét úton szelektíven távolítható el NAP jelenlétében, bár DDQ-val szerény hozammal. Benzil-csoport jelenlétében mindkét oxidatív úton kiváló hozammal lehetett NAP-csoportot eltávolítani. A módszer jelentősége, hogy ismerve a három védőcsoport reaktivitását és sorozatos eltávolíthatóságát, az eredmények felhasználhatóak komplex oligoszacharidok szintézisére.

- Matta és mtsai kiváló hozammal távolították el a NAP védőcsoport DDQ-val pivaloil-csoport jelenlétében és vizsgálták izopropilidén-acetálok eltávolítását NAP-éter mellett.

A NAP-éter stabilnak bizonyult az acetálok ecetsavas eltávolításának körülményei között⁸². Preparatív jelentőségét ez a savakkal szembeni stabilitás adhatja, ugyanis a PMB és a NAP-csoport oxidatív eltávolíthatósága nagyon hasonló, de savérzékenysége miatt a PMB-éter számos esetben nem használható.

Kutatócsoportunk kiterjedt vizsgálatokat folytatott a dioxán és dioxolán-típusú (2-naftil)metil-acetálok kialakítása és hidrogenolízise iránt is⁸³⁻⁸⁴.

A *p*-metoxi-fenil glikozidok első bevezetése Ogawa és mtsai nevéhez fűződik⁸⁵. A glikozidok kialakítása történhet triklóracetimidoil-származékból bór-trifluorid-dietil-éterát-katalízissel vagy peracetilezett szénhidrátszármazékból TfOH katalizátorral, mindkét esetben *p*-metoxi-fenol reagenssel. Magnusson és mtsai a PMP-glikozidok⁸⁶ azon előnyös tulajdonságáról számolnak be, hogy egyszerűen, jó hozammal átalakíthatóak glikozil-halogenidekké és tioglikozidokká. A PMP-csoport így alkalmas az anomer centrum védésére és glikozil donorrá való alakítására is.

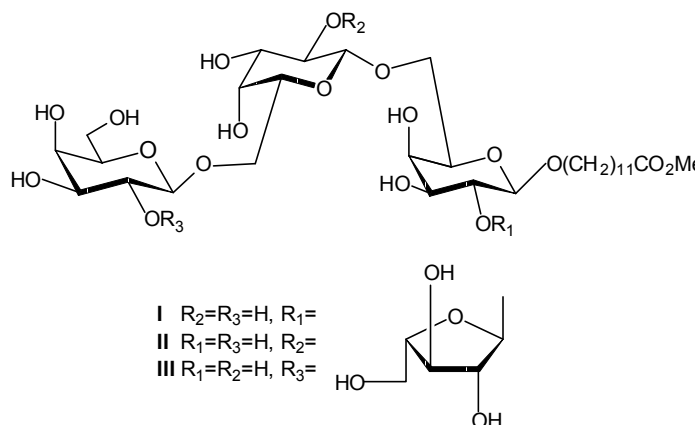
A PMP-csoport eltávolítása történhet CAN-tal acetonitril:víz 4:1 elegyben vagy sósavas refluxáltatás során. A védőcsoport stabil a leggyakrabban használt reakciókörülmények között, így széles körben alkalmazott aglikon.

2.3. Az arabinogalaktánok szintézisével kapcsolatos kísérleti eredmények

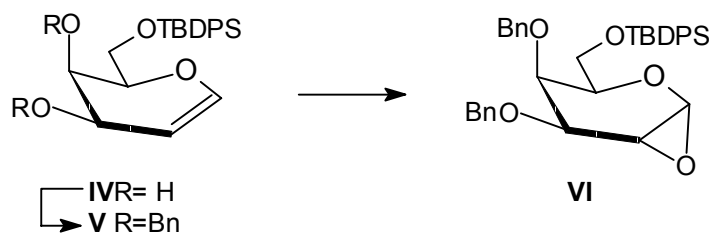
Az arabinogalaktánok humán- és növénybiológiai szerepe ellenére viszonylag kevés kutatócsoport foglalkozik ilyen típusú epitópok szintézisével. Arabinogalaktán-típusú tetramerek szintéziséről számolt be van Boom és csoportja⁸⁷.

A korábban bemutatott Albersheim és mtsai által publikált eredmények alapján olyan vegyületeket állítottak elő (I, II, III), melyek (1→6)-kötésű β-D-trigalaktán vázzal rendelkeznek és vagy az első, vagy a második vagy a harmadik galaktóz egység O-2

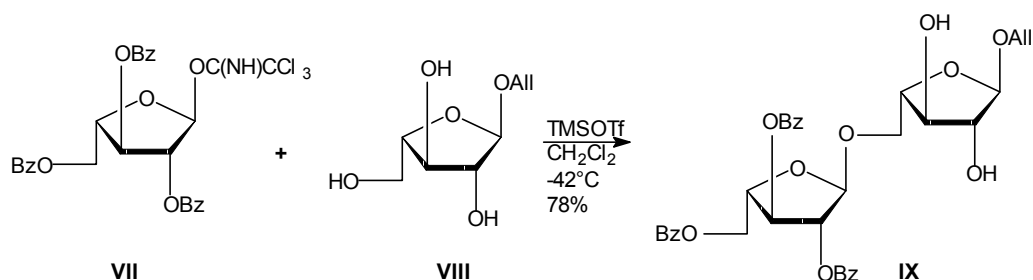
pozíciójában α -L-arabinofuranozil elágazást hordoznak. A vegyületeket 11-metoxikarbonilundecil glikozidok formájában preparálták.



A szintézis 1,2-anhidrogalaktoz (VI) származék alkalmazására épül, melyet 6-*O*-*tert*-butil-difenilszilil-D-galaktálból (IV) állítottak elő. Az anhidroszármazékot glikozil donorként alkalmazva $ZnCl_2$ aktiválószerrel preparálták a β -(1 \rightarrow 6)-kötésű trigalaktláncot, megfelelő 6-OH akceptorvegyületet használva. Az arabinofuranozil elágazásokat etil 1-tio-arabinofuranozil-tribenzoát donorvegyület alkalmazásával alakították ki.

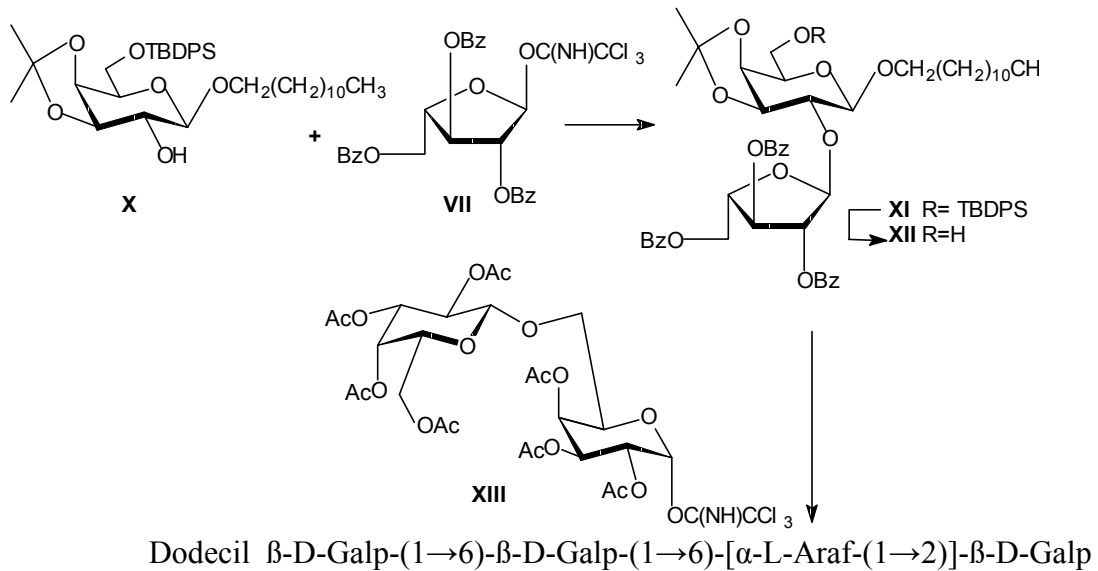


Du és mtsai (1 \rightarrow 5)-kötésű α -L-arabinozil oligoszacharidok szintézisét valósították meg⁸⁸. Az 1. ábrán látható, hogy a Wagner-csoport által feltételezett szerkezetben előfordulnak (1 \rightarrow 5)-kötésű α -L-arabinofuranozil mono-és dimer elágazások. A Du és mtsai egy α -(1 \rightarrow 5)-kötésű arabinofuranozil oktamer allil glikozidját szintetizálták, igen érdekes nyitott glikozilezési módszert alkalmazva. A módszer lényege, hogy glikozil akseptorként allil α -L-arabinofuranozidot használtak (VIII), és kihasználva a primer 5-OH reaktivitását, regioszelektív reakció során csak az (1 \rightarrow 5)-kötésű diszacharid (IX) keletkezett.

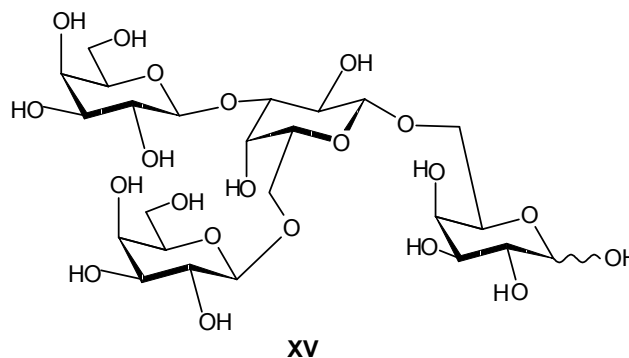
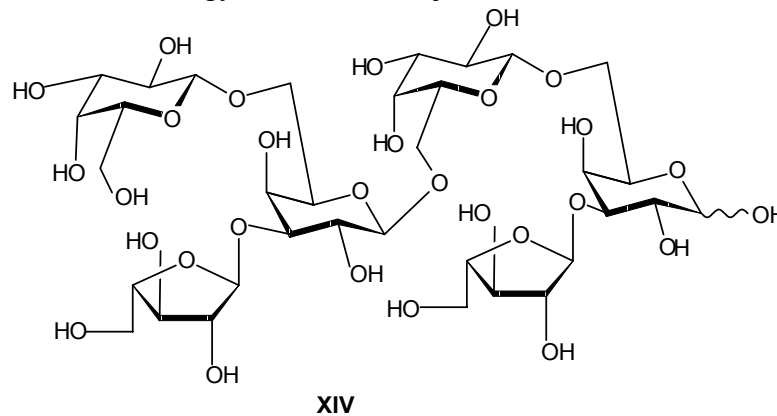


2000-ben Du és mtsai egy tetraszacharid epitópot⁸⁹ állítottak elő, melynek szerkezete analóg a van Boom-csoport által előállított I vegyülettel⁸⁷, csak dodecil-glikozid formájában.

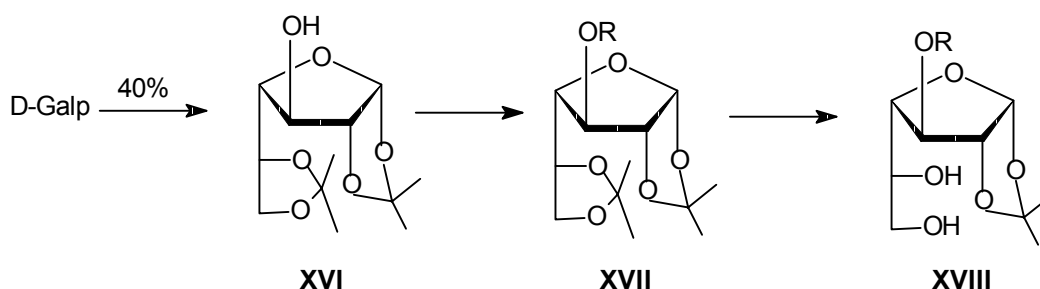
A szintetikus út: a dodecil-galaktozidot (**X**) 2-pozícióban glikozilezték α -L-arabinozil donorvegyülettel (**VII**), majd a kapott arabinozil-galaktozidot (**XII**) 2+2 blokkszintézisben kapcsolták össze egy β -(1 \rightarrow 6)-kötésű digalaktán (**XIII**) egységgel.



Ning és mtsai 2002-ben publikálták egy arabinogalaktán-típusú hexaszacharid és egy tetragalaktozid⁹⁰ szintézisét. A célvegyületek struktúrája:

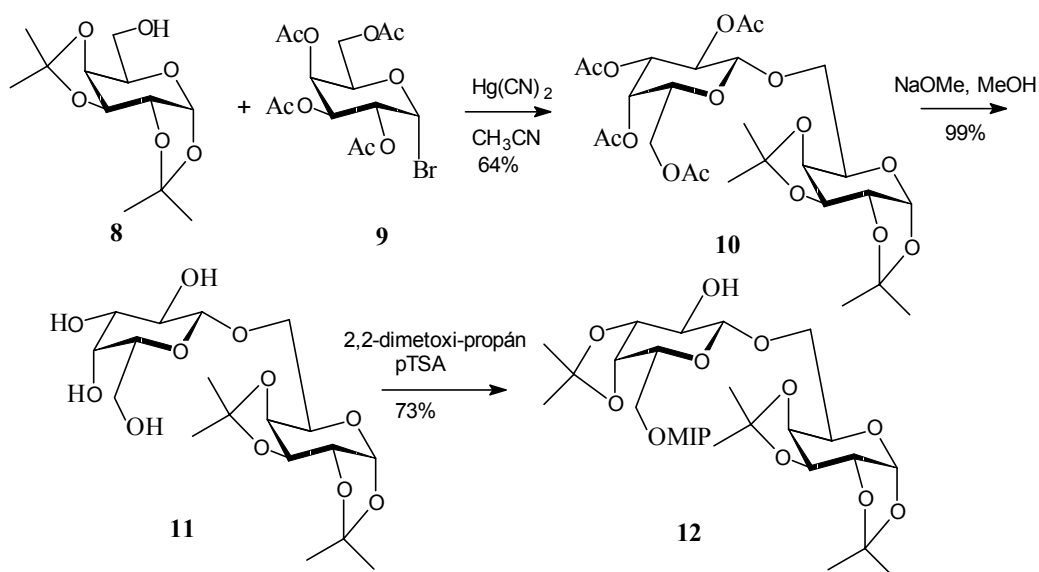


A reakcióút kulcslépése az (1→3) glikozidos kötés kialakítása volt, melyet 1,2:5,6-di-*O*-izopropilidén- α -L-galaktofuranózon keresztül oldottak meg. Ekkor a galaktofuranóz egység 3-pozícióban szelektíven glikozilezhető, majd az 5,6-*O*-izopropilidén acetál szelektíven eltávolítható és a 6-OH primer csoport ismét szelektíven glikozilezhető.



2.3.1. A szintetikus munka közvetlen háttere

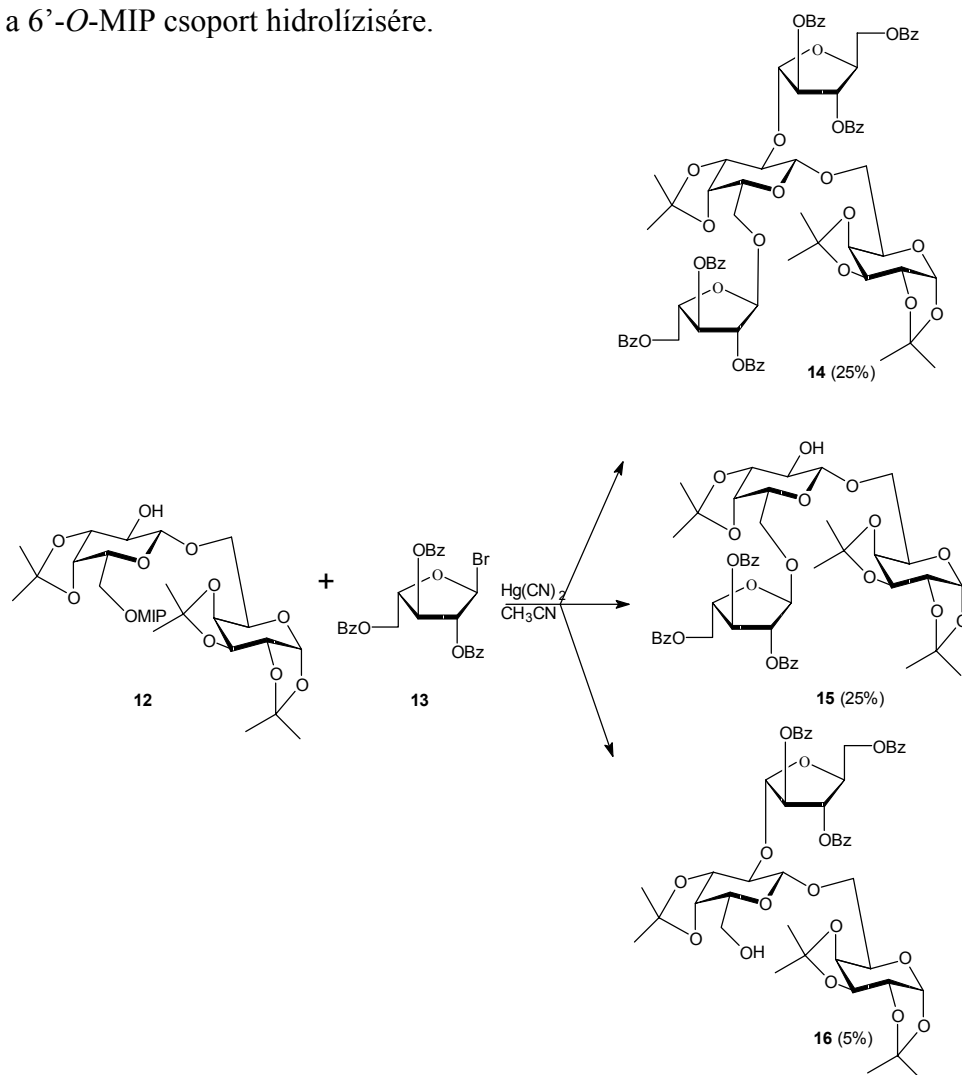
A kutatócsoportunkhoz 1996-ban érkezett felkérés Prof. Wagnertől arabinogalaktán típusú oligoszacharidok szintézisére. Az *Echinacea purpurea* sejttenyészetéből izolált arabinogalaktán komponensek feltételezett szerkezetének (ld. 1. ábra) megfelelő legegyszerűbb oligoszacharid az alábbi triszacharid: α -L-Araf-(1→2)- β -D-Galp-(1→6)-D-Gal (**1**). Lipták és mtsai a triszacharid szintézisét⁹¹ az ismert 1,2:3,4-di-*O*-izopropilidén- α -D-galaktopiranozból⁹² (**8**) kiindulva végezték el, ezt glikozilezték α -acetobrom-D-galaktózzal (**9**) Helferich-típusú reakcióban és kapták a **10** diszacharidot⁹³, melyet Zemlén szerint dezacetilezve olyan származékot nyertek⁹⁴ (**11**) melyen alkalmazható a MIP-módszer.



Az oligoszacharid (**1**) szintézise során a MIP-módszer kiválóan alkalmazhatónak tűnt, hiszen a **11** vegyületen az izopropilidén acetál és a MIP vegyes acetál egy lépésben történő kialakítása után maradó egyetlen szabad -OH csoport közvetlenül arabinozilezhető.

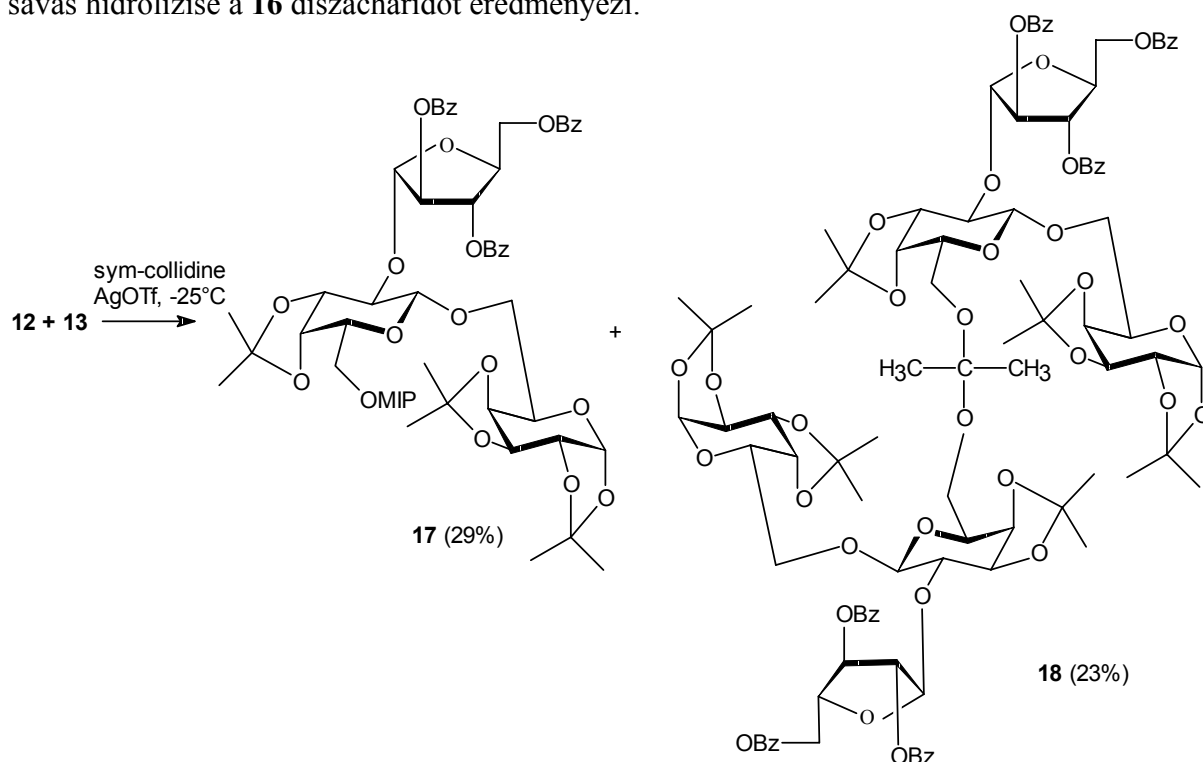
Az acetálozást 2,2-dimetoxi-propánnal *p*-toluol-szulfonsav jelenlétében végezve kapták a **12** származékot, mely szabad OH-2 csoportjával alkalmasnak tűnt glikozil akceptornak.

A glikozilezési reakciót $\text{Hg}(\text{CN})_2$ aktiváló szerrel végezték acetonitrilben, 2,3,5-tri-*O*-benzoil- α -L-arabinofuranozil bromid⁹⁵ (**13**) donorral. A glikozilezés során három, kromatográfiásan is jól megkülönböztethető terméket nyertek, és NMR vizsgálatok után megállapították, hogy egyik termék sem tartalmazott 6'-*O*-MIP csoportot. A reakcióban keletkezett oligoszacharidok: 2',6'-pozícióban (**14**), 6'-pozícióban (**15**) és 2'-pozícióban (**16**) arabinofuranozilezett termékek, és a **16** triszacharid célvegyület mindössze 5.3%-ban keletkezett. A kísérleti eredményeket azzal magyarázhatjuk- ismerve a MIP-csoport savérzékenységét- , hogy a glikozilezési reakció kezdőlépéseként a kívánt, teljesen védett triszacharid keletkezik, azonban a reakció során keletkező higany-bromid elég erős Lewis-sav és képes a 6'-*O*-MIP csoport hidrolízisére.

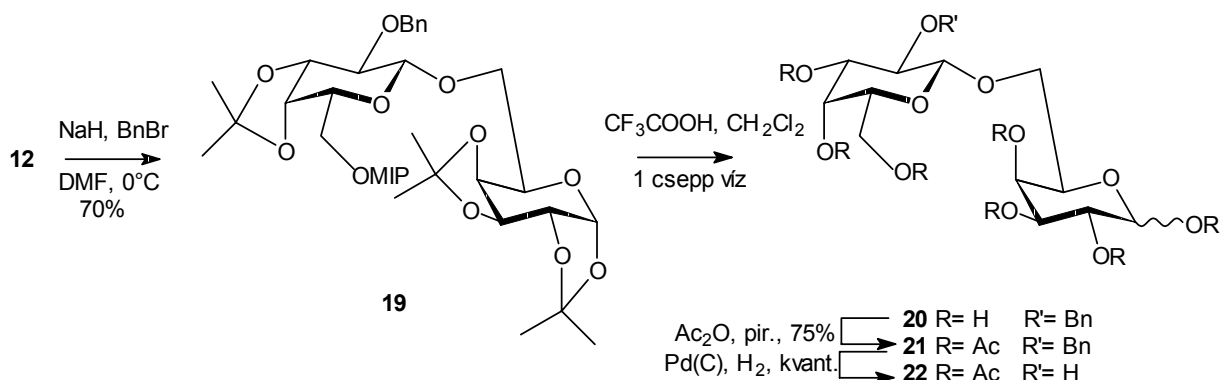


A sav hatására felszabaduló 6'-OH csoport a reakció során a 2'-OH csoporttal versengve reagál az arabinofuranozil donorral és ismerve a primer hidroxil-csoport nagyobb reaktivitását a számunkra kedvezőtlen termékarány is megmagyarázható.

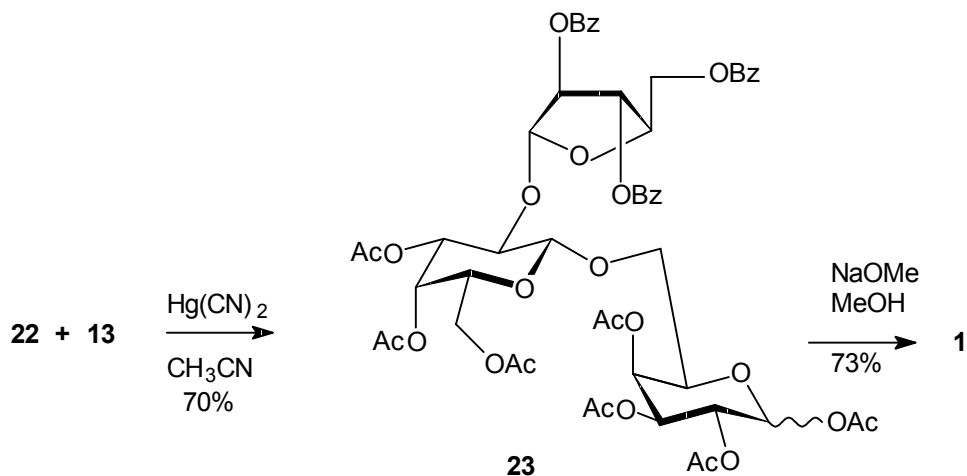
A glikozilezés során felmerült problémát megpróbálták bázikus körülmények közti kapcsolási reakcióval megoldani, AgOTf-tal aktivált reakcióban *sym*-collidine jelenlétében. Ebben az esetben két terméket izoláltak, az egyik a kívánt **17** triszacharid, míg a másik egy igen érdekes struktúrájú szimmetrikus dimer molekula (**18**). Hasonló dimer molekuláról számolt be Barresi és Hindsgaul β -mannopiranozidok szintézise során⁹⁶. A **18** termék enyhe savas hidrolízise a **16** diszacharidot eredményezi.



Tapasztalva a MIP-csoport jelenlétében felmerülő nehézségeket alternatív reakcióutat dolgoztak ki a glikozilezés kivitelezésére. A **12** diszacharid 2'-OH csoportját NaH jelenlétében, benzil-bromiddal benzilezték és a kapott **19** származékot savas hidrolízisnek alávétve eltávolították az izopropilidén acetálokat és a MIP-félacetált.



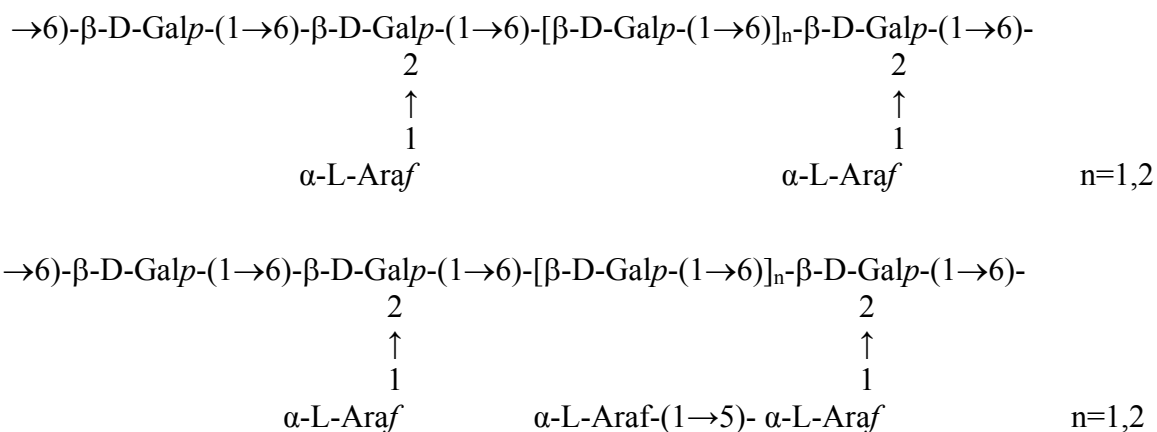
A **20** diszacharidot tisztítás nélkül acetilezve (**21**), majd katalitikus hidrogénezéssel eltávolítva a benzil-csoportot izolálták a glikozil-akceptorként használt **22** diszacharidot, melyet **13** donorral reagáltatva jó hozammal nyerték a teljesen védett arabinogalaktán típusú triszacharidot (**23**). A védőcsoportok eltávolítása Zemplén-szerinti dezacilezéssel történt, és 91.4%-os hozammal izolálták a célvegyületet (**1**).



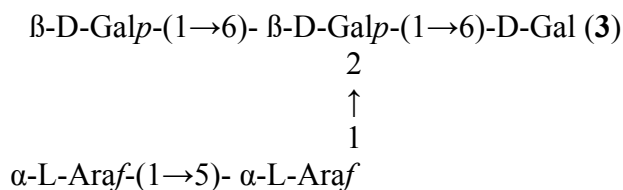
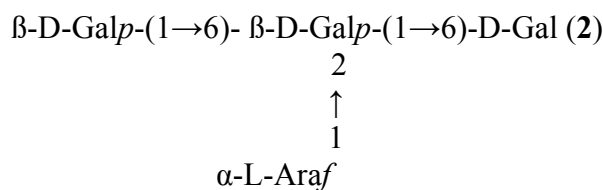
3. SAJÁT VIZSGÁLATAIM

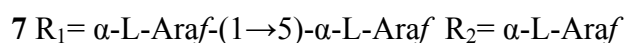
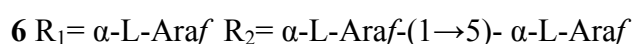
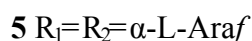
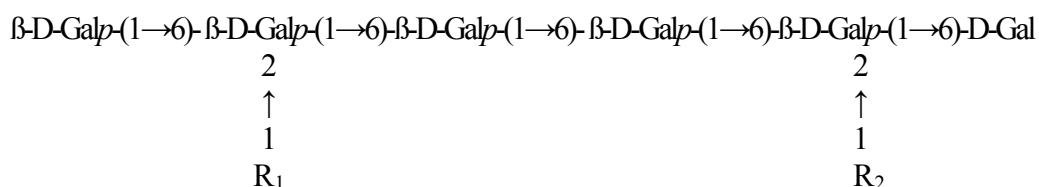
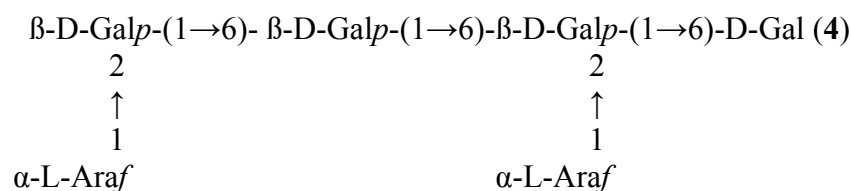
3.1. Célkitűzés

Saját vizsgálataim célja egy arabinogalaktán típusú oligoszacharid-sorozat előállítása volt, melyeknek szerkezete analóg az *Echinacea purpurea* sejttenyészetéből izolált, magas biológiai aktivitással bíró oligoszacharidok struktúrájával. A feltételezett szerkezet szerint β -(1 \rightarrow 6)-kötésű galaktán lánc szükséges, melyen minden harmadik vagy negyedik galaktopiranozid egység kettes pozíciójában α -L-arabinofuranozil vagy α -L-arabinofuranozil-(1 \rightarrow 5)- α -L-arabinofuranozil elágazás található.



Célkitűzésem olyan arabinogalaktán oligoszacharid-sorozat szintézise volt (2-7), melynek tagjai rendelkeznek a kívánt szerkezeti felépítéssel. Az alapvető biológiai motiváció, hogy lehetőség nyíljon a biológia aktivitásért felelős minimális molekularészlet (epitóp) meghatározására.





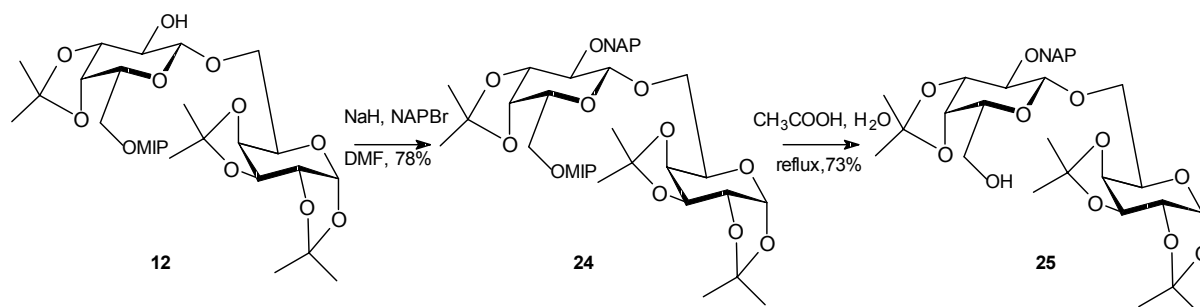
A természetes poliszacharidok pontos szerkezete nem ismert, így az előállított oligoszacharid-sorozat vizsgálata három szerkezeti kérdés megválaszolását teszi lehetővé:

1. Az oligoszacharidok különböző lánchosszúsága alkalmat ad a minimális kívánt lánchosszúság meghatározására.
2. Az oligoszacharidok között szerepel olyan vegyület ahol minden második (4) illetve minden harmadik (5, 6 és 7) galaktopiranozil egységen szerepel arabinozil/diarabinozil elágazás, tehát megállapítható az elágazások egymáshoz való pozíciója.
3. Az oligoszacharid-sorozatnak vannak olyan tagjai melyekben monoarabinozil elágazás (2, 4, 5, 6 és 7) és amelyekben diarabinozil (3, 6 és 7) elágazás található. A nagyobb lánchosszúságú nonaszacharidok esetén lehetőség nyílt szerkezeti izomerek szintézisére is.

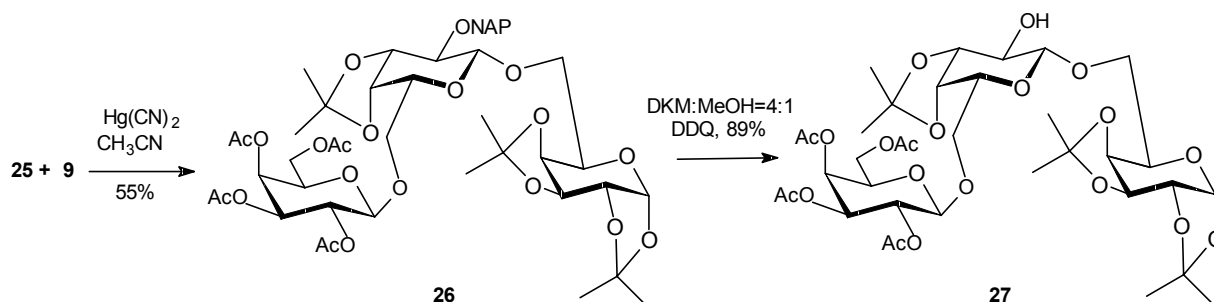
3.2. Az arabinogalaktán tetra- és pentaszacharid szintézise

A szintetikus munka egyik célkitűzése egy szabad tetra- (2) és pentaszacharid (3) szintézise volt, melyek azonos trigalaktán vázzal rendelkeznek. A minimális, biológiai aktivitással bíró arabinogalaktán építőegység meghatározásakor fontos szempont, hogy megismerjük az arabinozil elágazások minőségét. Az előállított tetra- és pentaszacharid szerkezete mindössze az arabinozil elágazásban különbözik.

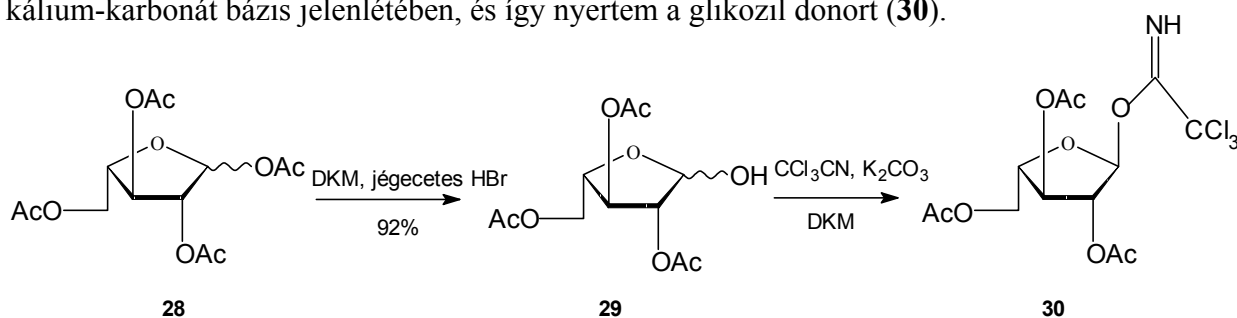
A szintetikus munka kiindulási kulcsvegyülete a **12** diszacharid, melynek OH-2' csoportját NAP-éterrel blokkoltuk (**24**). A (2-naftil)etil-csoport bevezetését az indokolta, hogy egyrészt megvizsgáljuk az éter kompatibilitását izopropilidén acetálokkal, másrészt a magasabb tagszámú oligoszacharidok szintéziséhez használható kiindulási anyagot nyerünk. A **24** diszacharidról a MIP-csoportot ecetsavas hidrolízissel szelektíven eltávolítva glikozil akceptort állítottunk elő (**25**), melyet a **9** donorral Helferich-körülmények közt triszachariddá alakítottunk (**26**).



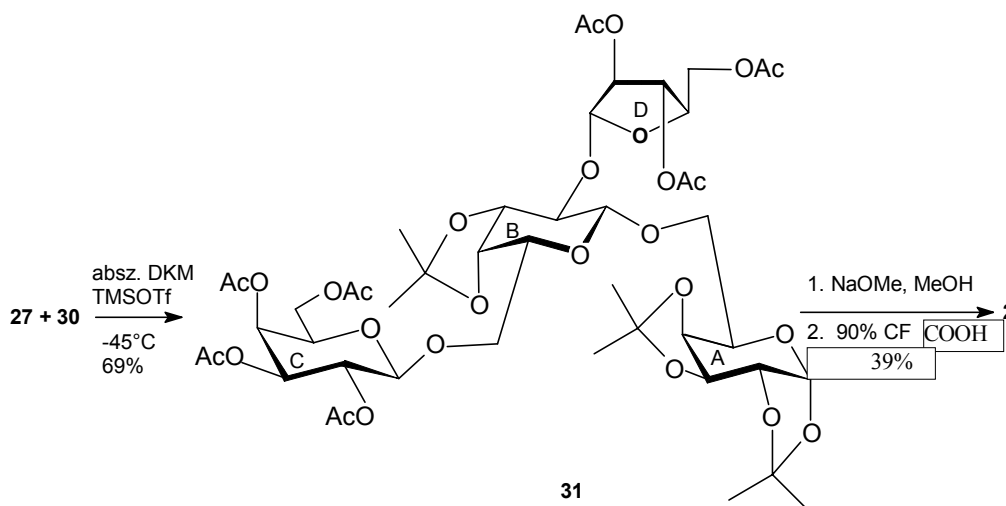
A NAP-éter eltávolítását megvizsgáltam hidrogenolízissel (etanolban, Pd(C)-nel hidrogén atmoszférában) és oxidatív módszerekkel (diklórmetán-metanol=4:1 oldószerkeletben, 1.5 ekv. DDQ reagenssel), mindkét úton 90% körüli hozammal izoláltam a triszacharid akceptort (**27**). Az oxidatív módszerek megismerésére a magasabb tagszámú oligoszacharidok előállításához volt szükség.



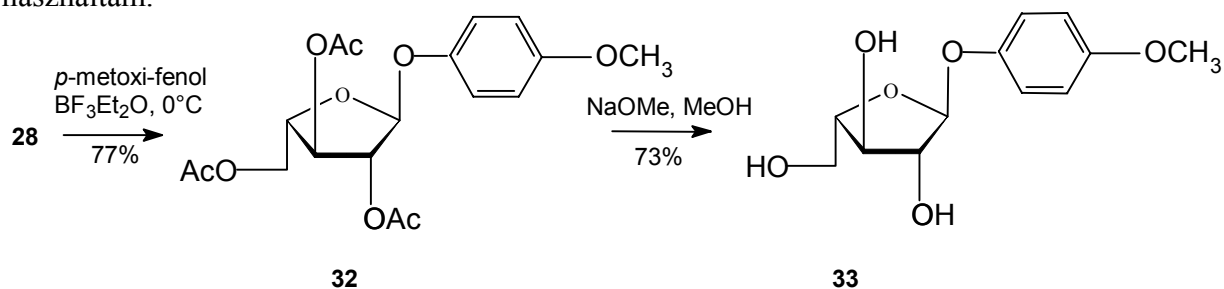
A monoarabinozil donort az irodalomból ismert 1,2,3,5-tetra-*O*-acetyl- α -L-arabinozól (**28**) állítottam elő, első lépésként az anomer acetil-csoport eltávolításával, jégcetetes HBr segítségével izoláltam az 1-OH származékot (**29**), amit triklóracetonnitrilrel reagáltattam kálium-karbonát bázis jelenlétében, és így nyertem a glikozil donort (**30**).



Az arabinogalaktán tetra- és pentaszacharidot hasonló módszerrel állítottam elő, a megfelelő arabinozil származék triklóracetimidát származékával, trimetilszililtriflát aktiválószerrel. A tetraszacharid (**31**) szintézise a **27** és a **30** vegyületekből 69%-os hozammal történt, a védőcsoportok eltávolítása két lépésben valósult meg. Elsőként Zemplén szerint dezacetileztem, majd 90%-os trifluoecetsavval hidrolizáltam le az izopropilidén acetálokat, és izoláltam a szabad arabinotetragalaktánt (**2**).



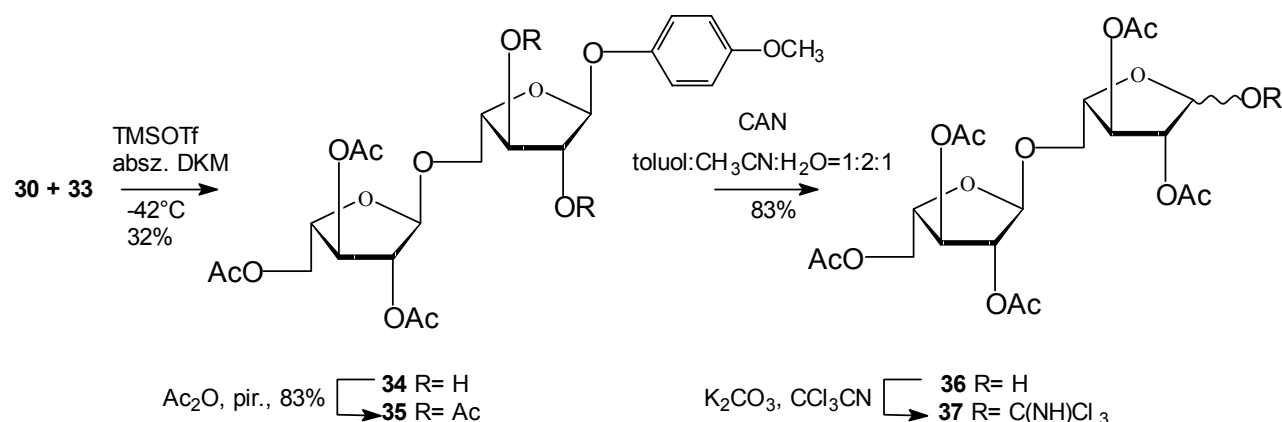
A pentaszacharid (**3**) szintéziséhez rendelkezésemre állt a trigalaktán váz glikozil akceptora (**27**). A diarabinozid donor előállítását Kong és munkatársai eredményeit⁸⁸ felhasználva oldottam meg; a szintézishez glikozil donorként a már előállított **30** vegyületet használtam.



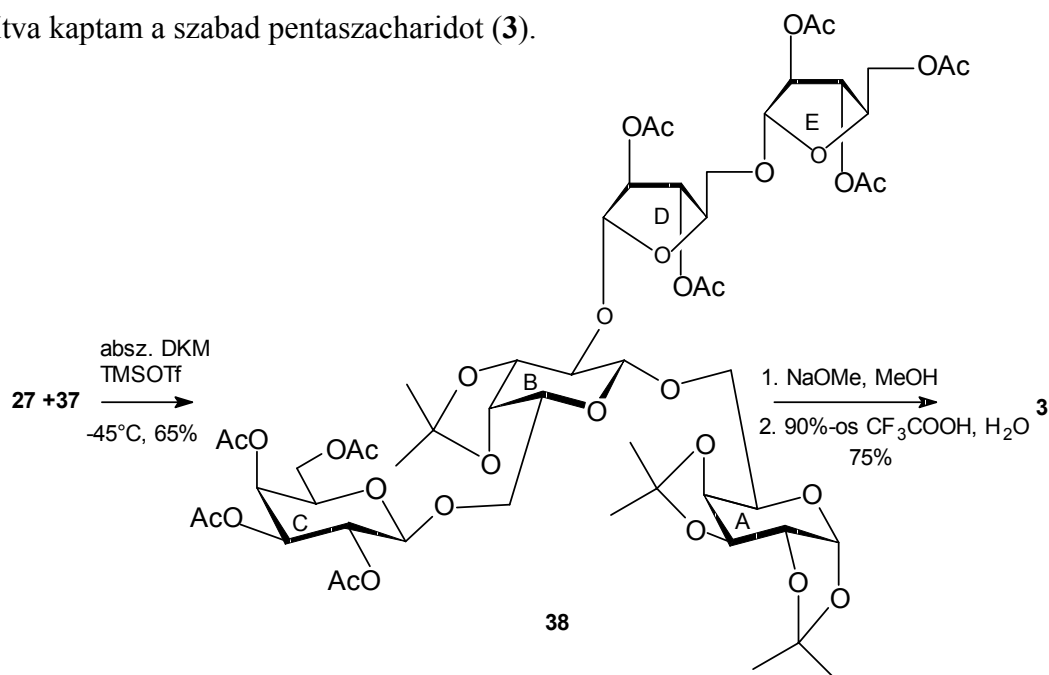
A glikozil akceptort peracetilezett α -L-arabinózból (**28**) állítottam elő, melyből elsőként *p*-metoxi-fenollal, bór-trifluorid-dietil-éterát jelenlétében *p*-metoxi-fenil glikozidot képeztem (**32**), ezt követően dezacetileztem és az így nyert, három –OH csoportot tartalmazó, vegyületet (**33**) használtam glikozil akceptorként.

A kapcsolás során az akceptor primer hidroxil-csoportjának reaktivitása jóval nagyobb, mint a szekunder hidroxil-csoportoké, így kizárólag az α -(1 \rightarrow 5) kötésű diszacharid (**34**) keletkezik az úgynevezett nyitott glikozilezés során. A **34** terméket acetileztem és a peracetát származékról (**35**) cérium-ammónium-nitrát (CAN) reagenssel távolítottam el az aglikont,

majd a kapott anomer acetil csoportot tartalmazó vegyületből (**36**) triklóracetonitrillel, K_2CO_3 bázis jelenlétében képeztem glikozil donort (**37**).



A teljesen védett pentaszacharid (**38**) előállítása tehát a **27** és **37** vegyületekből történt, 65%-os hozammal, melyről a védőcsoportokat dezacetilezéssel és savas hidrolízissel eltávolítva kaptam a szabad pentaszacharidot (**3**).

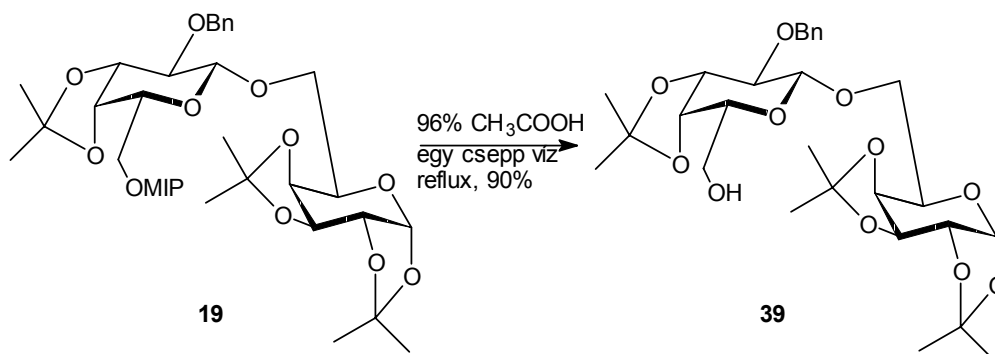


3.3. Az arabinogalaktán hexaszacharid előállítása

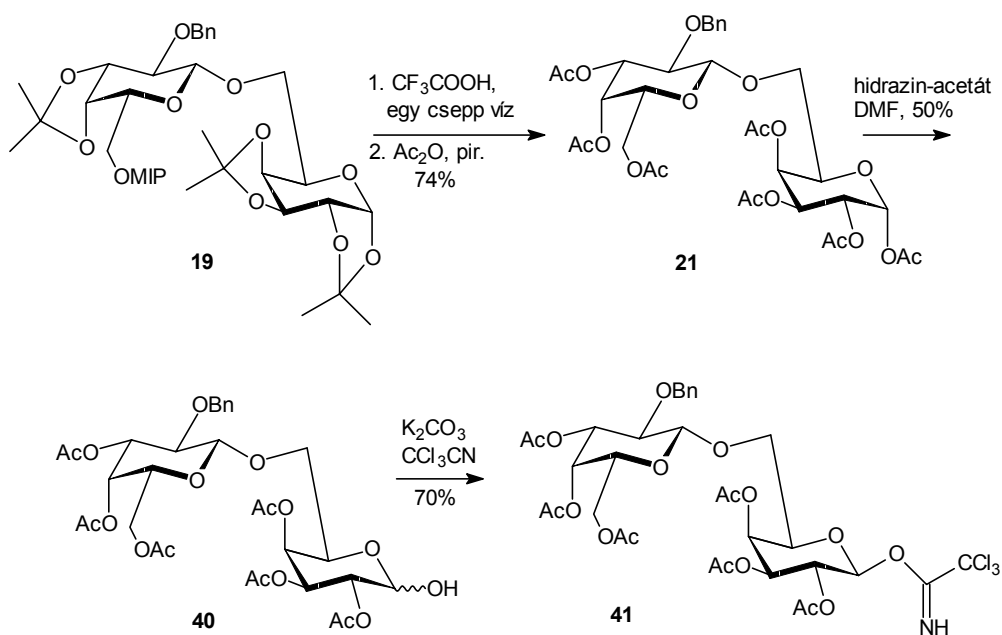
A magasabb tagszámú arabinogalaktán oligoszacharidok tervezése során arra törekedtünk, hogy a vegyületsorozatnak legyen olyan tagja, melyben a β -(1 \rightarrow 6) kötésű galaktán lánc minden második, illetve minden harmadik galaktopiranozil egysége hordozzon arabinozil elágazást. A hexaszacharid (**4**) esetében a tetragalaktán lánc második és negyedik egységén található 2-es pozícióban monoarabinofuranozil elágazás.

A szintézis alapanyagául a **19** diszacharid szolgált, melyből mind a glikozil akceptor, mind a glikozil donor molekula előállítható a β -(1 \rightarrow 6)-kötésű tetragalaktán szintéziséhez. A

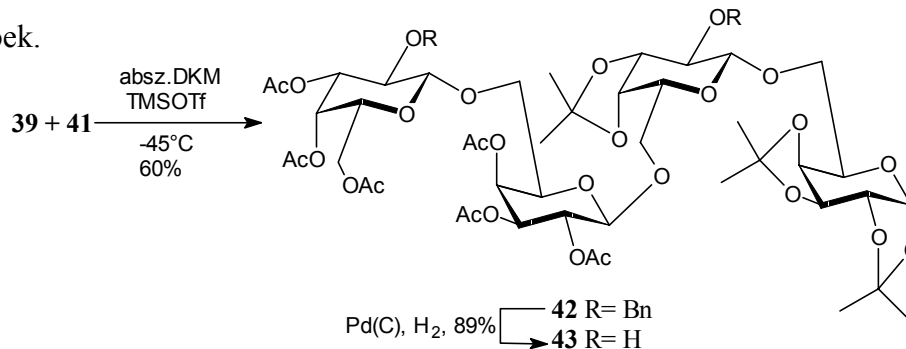
glikozil akceptort nagyon egyszerűen, a MIP-csoport szelektív ecetsavas eltávolításával nyerhetjük (**39**).



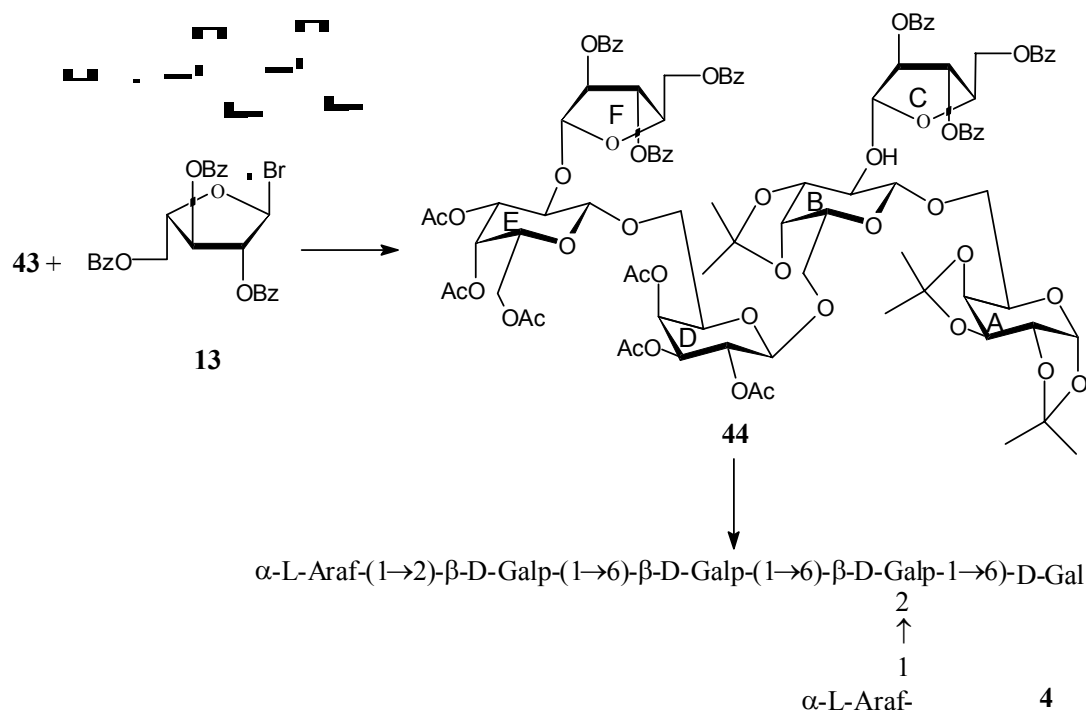
A glikozil donort a **19** diszacharidból az alábbi úton nyertem: az izopropilidén acetátokat és a MIP-csoportot savval elhidrolizáltam, majd acetilezéssel kaptam a **21** vegyületet. Az anomer acetil csoport hidrazin-acetáttal történő eltávolításával kapott OH-1 származékból (**40**) triklóracetimidoil vegyületet készítettem (**41**).



Trimetilszililtriflát által aktivált glikozilezési reakcióban 60%-os hozammal kaptam a tetraszacharidot (**42**), melyből a benzil csoportok hidrogenolízise révén egy újabb glikozil akceptort nyertem (**43**), melyre az α -L-arabinofuranozil elágazások egy lépésben bevezethetőek.



A **13** brómcukor donorral $\text{Hg}(\text{CN})_2$ katalizátor jelenlétében reagáltatva a **43** aglikont, 62.5%-os hozammal izoláltam a teljesen védett arabinogalaktán hexaszacharidot (**44**). A **44** deprotektálása két lépésben (dezacetilezés és deizopropilidénezés) történt meg, és kiváló, 88%-os hozammal kaptam a szabad oligoszacharidot (**4**).



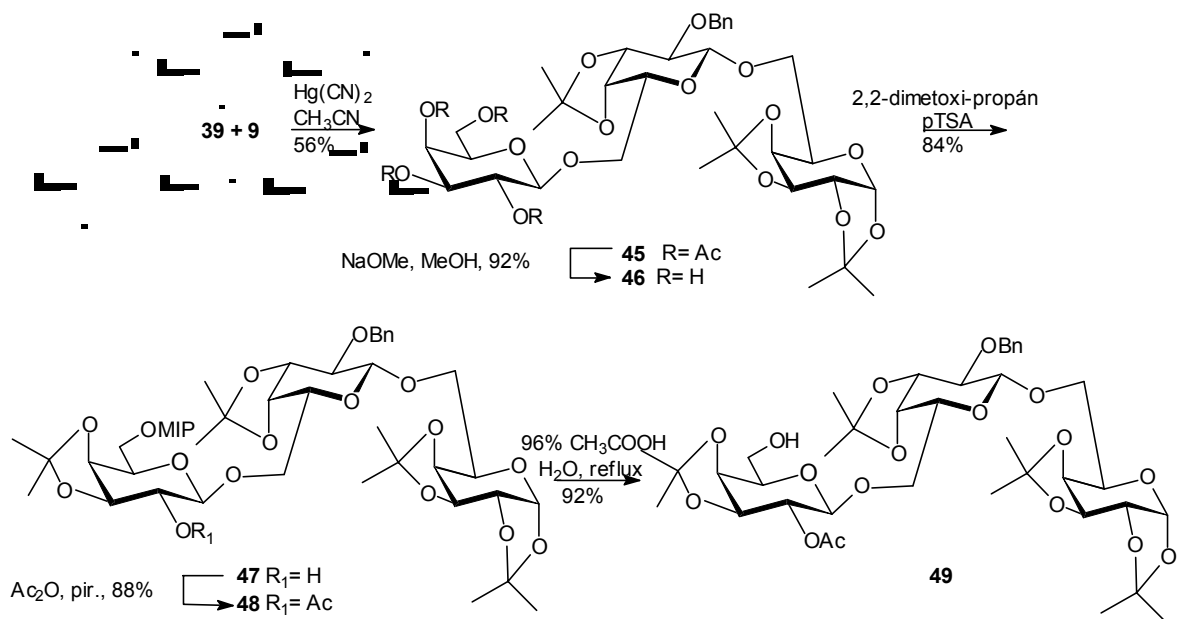
A **44** teljesen védett hexaszacharid egydimenziós ^1H - és ^{13}C -NMR spektruma és a COSY, HETCOR illetve HMBC spektrumok lehetővé tették a vegyület teljes asszignálását.

A **4** szabad hexaszacharid egydimenziós ^1H - és ^{13}C -NMR spektrumából teljes hozzárendelést nem tudunk megvalósítani, de szerencsére mindkét spektrumban jól szeparáltak az anomer pozícióban levő protonok és szénatomok jelei. A csatolási állandók ($^3J_{\text{H1,H2}}$ és $^1J_{\text{C1,H1}}$) igazolták a kívánt struktúrát, melyet a tömegspektrum is megerősített.

3.4. Az arabinogalaktán okta- és két izomer nonaszacharid előállítása

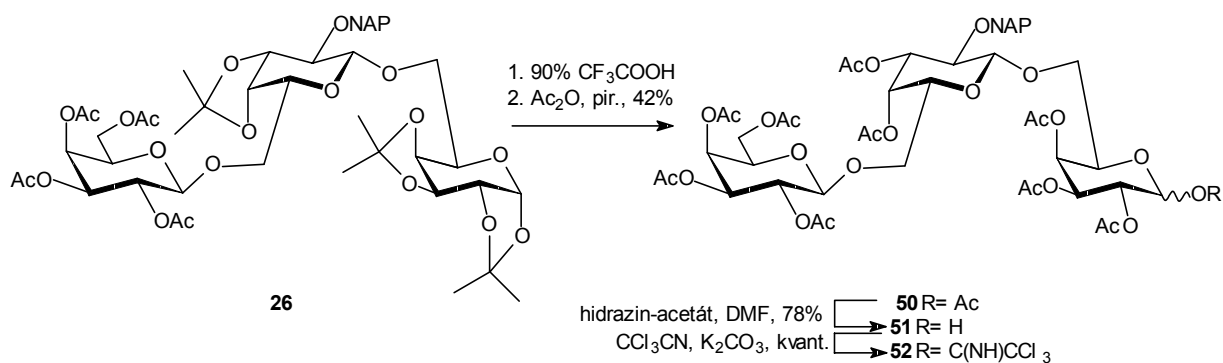
Az okta- (**5**) és két nonaszacharid (**6**, **7**) struktúrájában közös, hogy β -(1 \rightarrow 6)-kötésű hexagalaktán vázzal rendelkeznek, és minden harmadik, azaz a második és ötödik galaktozil egység hordoz arabinozil elágazásokat. A szintetikus munka első lépése tehát egy olyan hexagalaktán váz szintézise volt, melyen a fent említett 2' és 2''' pozícióban glikozidos kötés kialakítására van lehetőség.

A hexagalaktozid váz 3+3 blokk szintézissel építettem fel, a glikozil akceptor triszacharidot a **39** termékből kiindulva szintetizáltam.

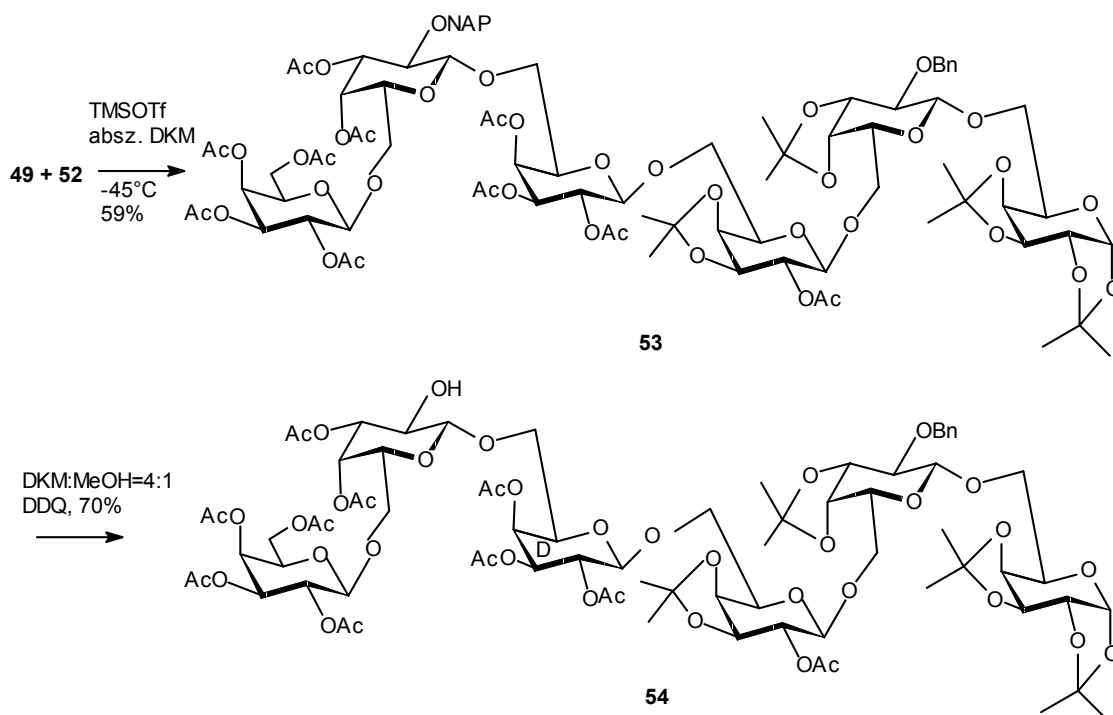


A **39** vegyületet a **9** donorral glikozileztem Hg(CN)_2 jelenlétében, majd a kapott triszacharidot (**45**) dezacetilezve olyan származékot nyertem (**46**), melynek harmadik galaktopiranozil egységén alkalmazható a MIP-módszer. A **46** vegyületet 2,2-dimethoxy propánnal kezelve *pTSA* jelenlétében egyetlen -OH-csoportot tartalmazó **47** terméket kaptam, és az OH-2" csoportját acetyl csoporttal védtem. A keletkezett **48** triszacharidból a MIP-csoport szelektív eltávolításával nyertem a **49** triszacharid akceptor molekulát.

A glikozil donor triszacharidot a korábban előállított **26** származékból építettem fel, melyről a donorrá alakításhoz el kellett távolítani az izopropilidén acetálokat. Ebben a lépésben lehetőség nyílt a NAP-éter savas kezeléssel szembeni rezisztenciájának vizsgálatára. A deizopropilidénezést 90%-os trifluorecetsavval végeztem el, a reakcióidő mindössze 15 percet igényelt szobahőmérsékleten. Végeztem kísérleteket hosszabb reakcióidővel is, ám ekkor a NAP-éter hidrolízisét is tapasztaltam. A reakció során a teljes dezacetilezés is megtörtént, és a terméket izolálás nélkül acetileztem. A két lépés 42%-os hozammal eredményezte az **50** triszacharidot. A termékről eltávolítottam az anomer acetyl csoportot, és az **51** származékból triklóracetyl-imidát-donort (**52**) képeztem.



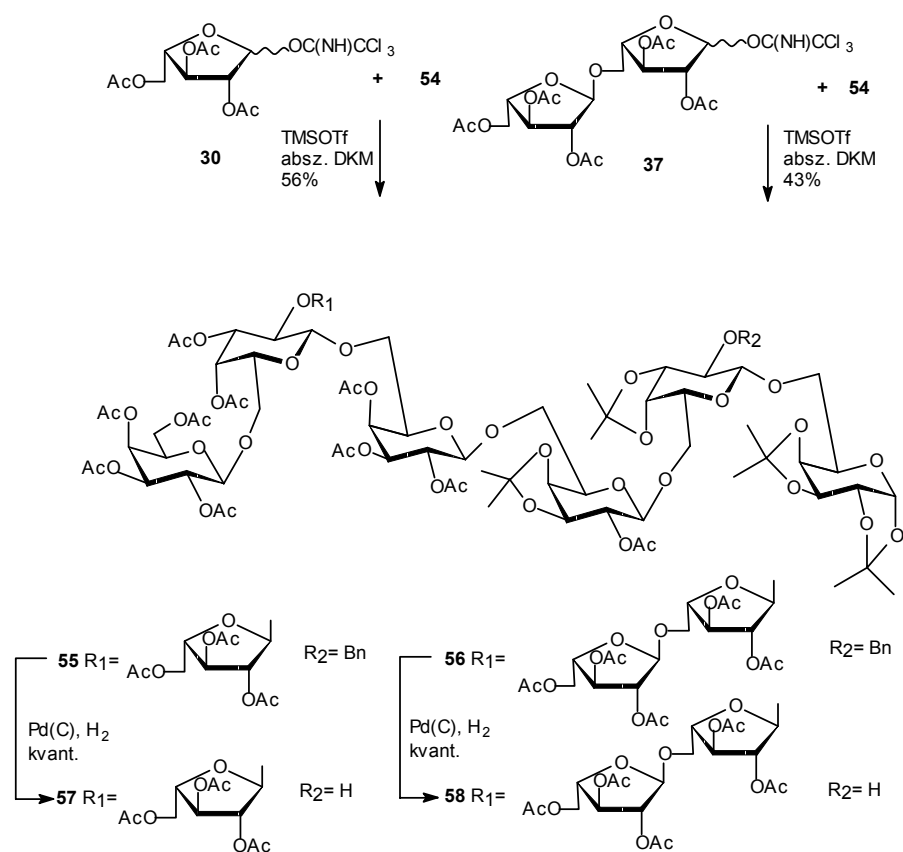
Az **52** donorból és a **49** akceptorból TMSOTf-os aktiválással állítottam elő a hexagalaktozidot (**53**). Az 59%-os hozammal nyert **53** származék közös kiindulási anyaga mindhárom célvegyületnek (**5**, **6** és **7**). A hexaszacharid struktúráját elemezve látható, milyen nagy szerepe van a védőcsoportok alkalmas összehangolásának. A 2'-*O*-Bn csoport mellől szelektíven eltávolítható a NAPO-2''''-éter oxidatív módszerekkel, a két ortogonális védőcsoport lehetőséget teremt mind az okta-, mind a két izomer nonaszacharid előállítására.



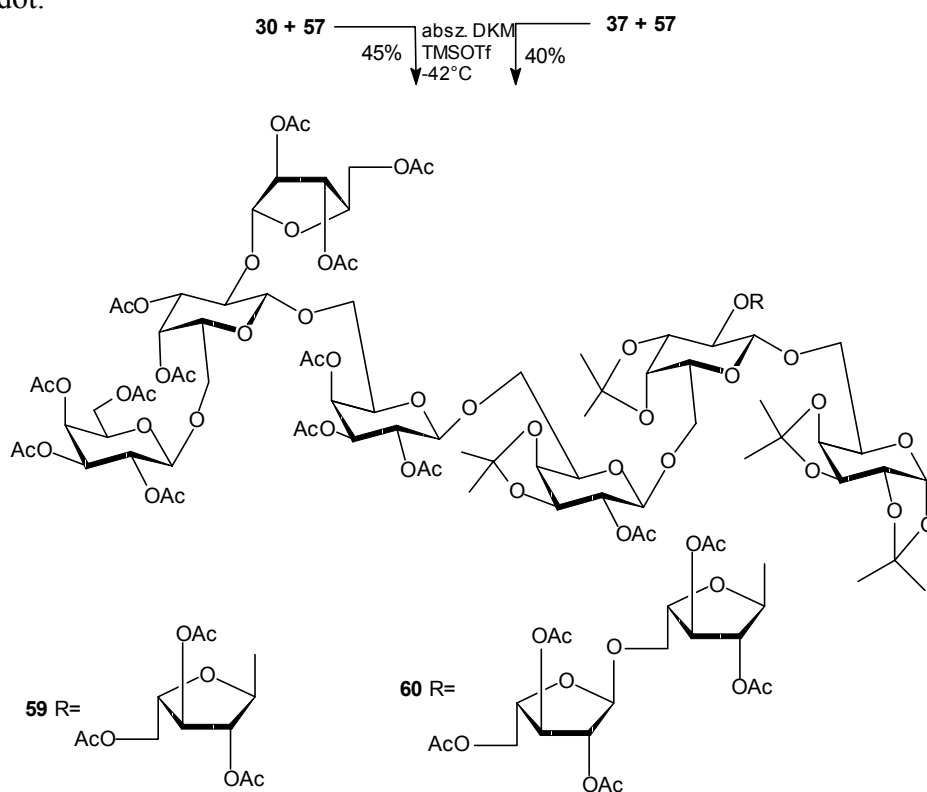
A 2''''-pozíció felszabadítása után bevezethető egy mono- vagy egy diarabinozil egység, majd ezután eltávolítva a BnO-2' étert, tetszés szerint újabb mono- illetve diszacharid elágazás alakítható ki. A védőcsoportok alkalmas kombinálása révén így egyszerűen megvalósítható volt a magasabb tagszámú analógok szintézise.

A teljesen védett **53** hexaszacharidról elsőként a NAP-étert távolítottam el DDQ-val, az így keletkezett akceptor molekulát (**54**) reagáltattam a **30** illetve a **37** donorral és izoláltam az **55** hepta- és az **56** oktaszacharid molekulát.

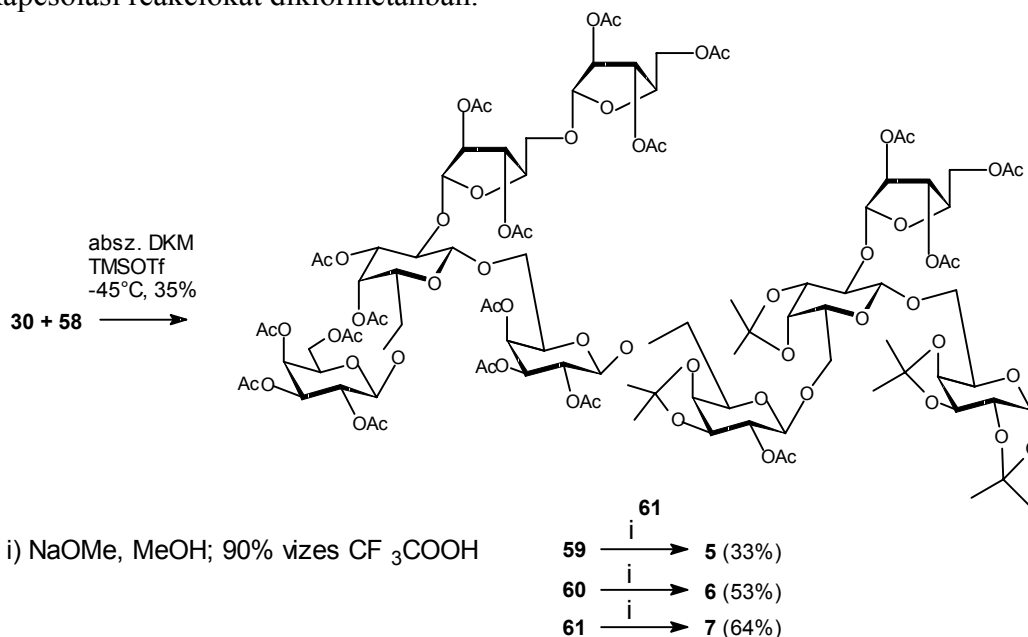
Mindkét glikozilezést TMSOTf-tal végeztem el. A kapott termékekről hidrogenolízissel eltávolítottam a BnO-2' védőcsoportot, kvantitatív reakcióban, majd a kapott **57** és **58** oligoszacharidokat újból glikozil akceptorként használtam.



Az **57** heptaszacharidot glikozileztem mind a **30** mind a **37** donorról, TMSOTf aktiváló szer jelenlétében, és így nyertem az **59** arabinogalaktán oktaszacharidot és a **60** nonaszacharidot.



Az **58** oktaszacharid akceptort reagáltattam a **30** donorral és izoláltam az **61** nonaszacharidot. Minden esetben diklórmetánban, TMSOTf aktivátorral, -45°C -on végeztem a kapcsolási reakciókat diklórmetánban.



A védett okta- és két nonaszacharid deprotektálására azonos módszert alkalmaztam: először a dezacetilezést, majd az izopropilidén-csoportok eltávolítását végeztem el és izoláltam az **5**, **6** és **7** arabinogalaktán-típusú szabad oligoszacharidokat.

Az előállított oligoszacharidok szerkezetét ^1H - és ^{13}C -NMR mérésekkel és MALDI-TOF tömegspektrometriai vizsgálatokkal igazoltuk, bár a magasabb tagszámú oligomerek teljes asszignálását nem tudtuk megvalósítani a COSY, HETCOR, HMBC és HSQC felvételek ellenére sem. Az **59**, **60** és **61** származékok esetén mért $^3J_{\text{H}_1,\text{H}_2}$ és $^1J_{\text{C}_1,\text{H}_1}$ csatolási állandók értékei is megerősítik a kívánt szerkezet helyességét.

Vizsgálataim eredményét összefoglalva megvalósítottam számos olyan magas tagszámú arabinogalaktán-oligoszacharid szintézisét, melyek szerkezete megfelel a lángvörös kasvirágból izolált, magas immunológiai aktivitást mutató poliszacharidok feltételezett struktúrájával.

4. KÍSÉRLETI RÉSZ

A reakciók végbemenetelét vékonyrétegekromatográfiával követtem és a termékek tisztaságát is így ellenőriztem. A vizsgálatokat Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck) rétegen végeztem. Az anyagok detektálására 50%-os kénsavval történő lefújás és 140°C-ra történő felmelegítés szolgált. Oszlopkromatográfiás tisztításhoz és elválasztáshoz Kieselgel 60 adszorbenst használtam.

A szerves oldatokat MgSO₄-tal szárítottam, bepárlásuk vákuumban történt 40°C-os vízfürdőről.

Az optikai forgatóképességeket Perkin-Elmer 241 fényelektromos polariméteren, szobahőmérsékleten mértük.

Az olvadáspontokat Kofler-berendezésben határoztuk meg.

A ¹H (200, 360 és 500 MHz) és ¹³C (50.3, 90.54 és 125.76 MHz) NMR spektrumok Bruker WP-200 SY és Bruker AM-360 és Bruker DRX-500 spektrométeren készültek CDCl₃-ban vagy D₂O-ban, tetrametil-szilán (0.00 ppm ¹H-spektrumban) és CDCl₃ (77.00 ppm ¹³C-spektrumban) belső standard használatával.

3,4-O-Izopropilidén-6-O-(metoxidimetil)metil-2-O-(2-naftil)metil-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-1,2:3,4-di-O-izopropilidén-α-D-galaktopiranoz (24).- 13.5g (0.018 mol) **12** diszacharidot feloldottunk 15 ml száraz *N,N*-dimetil-formamidban és 1.3 g (1.3 ekv.) 80%-os NaH-et adtunk hozzá, miközben a reakcióelegyet 0°-ra lehűtöttük. Fél óra kevertetés után 6.73g (1.2 ekv.) (2-naftil)metil-bromidot adtunk hozzá és 3 órán át kevertettük. A reakcióelegyet 700 ml diklórmetánnal meghígítottuk, vízzel semlegesre mostuk, szárítottuk és bepároltuk. A kapott szirupot oszlopkromatográfiával tisztítottuk DKM:aceton=95:5-ben és 13.4 g (78%) **24** terméket izoláltunk. [α]_D +7.33 (c 0.6141, CHCl₃). Elemanalízis: C₃₆H₅₀O₁₂ (674.79): C, 64.02, H, 7.41, talált: C, 63.98, H, 7.40. ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 1.18–1.62 (8s, 24H, CH_{3ip}), 3.22 (s, 3H, -OCH₃), 4.43 (d, 1H, H-1', *J*_{1',2'} 8 Hz), 5.06 (dd, 2H, CH₂-Naf, *J*_{gem} 11 Hz), 5.63 (d, 1H, H-1, *J*_{1,2} 5Hz), 7.42-7.95 (m, 7H, -NAP). ¹³C-NMR (CDCl₃): δ 24.35–27.62 (CH_{3ip}), 48.46 (OCH₃), 60.15 (C-6'), 69.21 (C-6), 73.28 (CH₂-Naf), 96.35 (C-1), 103.69 (C-1'), 99.99 (C_{kvat.,MP}), 108.49, 109.24, 109.60 (C_{kvat.,ip}).

3,4-O-Izopropilidén-2-O-(2-naftil)metil-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-1,2:3,4-di-O-izopropilidén-α-D-galaktopiranoz (25).- 9.24 g (4.8 mmol) **24** diszacharidot feloldottunk 50

ml DKM-ban és 6 ml 96%-os ecetsavat és két csepp vizet adtunk az oldathoz, majd refluxáltattuk 3 órán át. A reakcióelegyet DKM-nal meghígítettük, semlegesre mostuk NaHCO₃-oldattal és vízzel, szárítottuk és bepároltuk. A nyersterméket etil-acetát-ciklohexánból kristályosítottuk és 6.0 g (73%) **25** származékot nyertünk. Op: 154-156°C, [α]_D +16.54° (c 0.4449, CHCl₃). Elemanalízis: C₃₂H₄₂O₁₁ (602.68) : C, 63.72, H, 6.97, talált: C, 63.75, H, 6.95. ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 1.18–1.64 (6s, 18H, CH_{3ip}), 2.58 (s, 1H, -OH), 4.44 (d, 1H, H-1', J_{1',2'} 8 Hz), 5.04 (dd, 2H, CH₂-Naf, J_{gem} 12 Hz), 5.61 (d, 1H, H-1, J_{1,2} 5Hz), 7.42-7.93 (m, 7H, -NAP). ¹³C-NMR (CDCl₃): δ 24.32–27.56 (CH_{3ip}), 62.31 (C-6'), 70.43 (C-6), 73.88 (CH₂-Naf), 96.40 (C-1), 103.43 (C-1'), 108.54, 109.33, 110.04 (C_{kvat.,ip}).

2,3,4,6-Tetra-O-acetil-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-3,4-O-izopropilidén-2-O-(2-naftil)metil-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-1,2:3,4-di-O-izopropilidén-α-D-galaktopiranozil (26).- 4.2 g (6.45 mmol) **25** vegyületet feloldottunk 50 ml száraz acetonitrilben, hozzáadtunk 2.2 g Hg(CN)₂-ot (1.3 ekv.) és 2 g 4Å molekulaszitát, 30 percig kevertettük szobahőmérsékleten, majd hozzáadtunk 3.2g **9** donort, és egy éjszakán át kevertettük. Miután a VRK teljes átalakulást mutatott (DKM:aceton=87:13), a reakcióelegyet bepároltuk, DKM-nal hígítottuk, a szervesen sót kiszűrtük, és extraháltuk KI-oldattal és vízzel. A szerves fázist szárítottuk, szűrtük, majd a nyersterméket etanolból kristályosítottuk át és 3.41 g **26** triszacharidot kaptunk (55 %). Op: 140-142°C. [α]_D 11.74 (c, 0.3066, CHCl₃) Elemanalízis: C₄₆H₆₀O₂₀ (932.97) : C, 59.17, H, 6.43, talált: C, 59.20, H, 6.42. ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 1.18–1.58 (6s, 18H, CH_{3ip}), 1.97–2.26 (4s, 12H, CH_{3acetil}), 4.40 (d, 1H, H-1', J_{1',2'} 8 Hz), 4.62 (dd, 2H, CH₂-Naf, J_{gem} 16 Hz), 4.68 (d, 1H, H-1'', J_{1,2} 7.8Hz), 5.62 (d, 1H, H-1, J_{1,2} 4.9Hz), 7.41-7.93 (m, 7H, -NAP). ¹³C-NMR (CDCl₃): δ 24.19–27.48 (CH_{3ip}), 20.56 (CH_{3acetil}), 61.09 (C-6'), 68.66, 68.75 (C-6, C-6'), 73.15 (CH₂-Naf), 96.30 (C-1), 101.25, 103.63 (C-1', C-1''), 108.45, 109.17, 110.01 (C_{kvat.,ip}), 169.37, 169.91, 170.15 (CH₃CO).

2,3,4,6-Tetra-O-acetil-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-3,4-O-izopropilidén-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-1,2:3,4-di-O-izopropilidén-α-D-galaktopiranozil (27).- 800 mg (0.86 mmol) **26** triszacharidot oldottunk 8 ml DKM:MeOH=4:1 oldószerkeverékben és 216 mg (1.1 ekv.) DDQ-t adtunk hozzá. 5 óra után a VRK teljes átalakulást mutatott (DKM:aceton=85:15, R_f 0.3). A reakcióelegyet bepároltam, DKM-ban felvéve 3-szor NaHCO₃-tal, kétszer vízzel

mostam, szárítottam, szűrtem, bepároltam. A nyerste­r­mé­ket osz­lo­p­kro­ma­to­grá­fiá­val tisztítottam és 604 mg (89%) **27** terméket izoláltam. $[\alpha]_D -29.27^\circ$ (c 0.2665, CHCl_3). Elemanalízis: $\text{C}_{35}\text{H}_{52}\text{O}_{20}$ (792.79) : C, 52.98, H, 6.56, talált: C, 52.96, H, 6.56. $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): δ 1.28–1.51 (6s, 18H, $\text{CH}_{3\text{ip}}$), 1.94–2.13 (4s, 12H, $\text{CH}_{3\text{acetil}}$), 2.91 (s, 1H, -OH) 4.63 (d, 1H, H-1', $J_{1,2}$ 8 Hz), 5.18 (d, 1H, H-1'', $J_{1,2}$ 8Hz), 5.51 (d, 1H, H-1, $J_{1,2}$ 5Hz),. $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ 24.16–27.99 ($\text{CH}_{3\text{ip}}$), 20.55 ($\text{CH}_{3\text{acetil}}$), 61.12 (C-6''), 69.08 (C-6, C-6'), 96.13 (C-1), 101.34, 103.17 (C-1', C-1''), 108.68, 109.34, 110.12 ($\text{C}_{\text{kvat.,ip}}$), 169.35, 169.94, 170.14 (CH_3CO).

2,3,5-Tri-O-acetil- α,β -L-arabinofuranóz (29).- 5 g (15.7 mmol) 1,2,3,5-tetra-O-acetil- α -L-arabinofuranózt (**28**) oldottunk 20 ml DKM-ban és 12 ml jégecetes HBr-ot adtunk hozzá. A reakció 3 órán át ment szobahőmérsékleten, ekkor a VRK (DKM:aceton=95:5) teljes átalakulást mutatott. A reakcióelegyet DKM-nal meghígítot­tam (400 ml), semlegesre mostam NaHCO_3 -tal és vízzel. A nyerste­r­mé­ket osz­lo­p­kro­ma­to­grá­fiá­val tisztítottam és 4 g **29** terméket kaptam (92%). $[\alpha]_D -9.85^\circ$ (c 1.0965, CHCl_3). Elemanalízis: $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_8$ (276.24) : C, 47.78, H, 5.79, talált: C, 47.80, H, 5.77. $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): δ 2.05–2.09 (3s, 9H, $\text{CH}_{3\text{acetil}}$), 5.37 (s, 1H, H-1 β), 5.52 (d, 1H, H-1, $J_{1,2}$ 5Hz),. $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ 20.70 ($\text{CH}_{3\text{acetil}}$), 63.43, 65.21 (C-5 α , C-5 β), 94.96, 100.52 (C-1 α , C-1 β), 169.94, 170.32, 170.84 (CH_3CO).

2,3,5-Tri-O-acetil- α,β -L-arabinofuranozil triklóracetimidát (30).- 1.018 g (3.66 mmol) **29** származékot oldottam 15 ml DKM-ban és 1.1 g izzított K_2CO_3 -ot és 3.67 ml (0.366 mol, 10 ekv.) CCl_3CN -t adtunk hozzá. Egy éjszakán át kevertettük szobahőmérsékleten, reggelre a VRK (DKM:aceton=95:5+ 1% Et_3N) teljes átalakulást mutatott. A reakcióelegyet Celite-rétegen átszűrtük és bepároltuk. A terméket (1.54 g) tisztítás nélkül alkalmaztuk glikozil donorként.

2,3,4-Tri-O-acetil- β -D-galaktopiranozil-(1 \rightarrow 6)-[(2,3,5-tri-O-acetil- α -L-arabinofuranozil-(1 \rightarrow 2))-3,4-O-izopropilidén- β -D-galaktopiranozil-(1 \rightarrow 6)-1,2:3,4-di-O-izopropilidén- α -D-galaktopiranóz (31).- 270 mg (0.34 mmol) **27** triszacharid akceptort és 215 mg (1.5 ekv.) **30** donort oldottam 10 ml száraz DKM-ban és 4 Å molekulaszitát hozzáadva kevertetem 1 órán

át. -45°C -ra lehűtve a reakcióelegyet 55 μl (1 ekv.) TMSOTf-ot adtam hozzá. A VRK (DKM:aceton= 9:1) 1 óra után az akceptor teljes átalakulását mutatta. A reakcióelegyet Et_3N -nal lesemlegesítettem, a molekulaszitát kiszűrtem, majd DKM-nal meghígítva a reakcióelegyet mostam NaHCO_3 -oldattal és vízzel. A szerves fázis szárítása és bepárlása után a nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítottam és 277 mg (69%) **31** tetraszacharidot izoláltam. $[\alpha]_{\text{D}} -45.32^{\circ}$ (c 0.2692, CHCl_3). MALDI-TOF: 1073.25 $[\text{M}+\text{Na}^+]$, számított: $\text{C}_{46}\text{H}_{66}\text{O}_{27}$, 1073.38 $[\text{M}+\text{Na}^+]$. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 5.44 (d, 1H, $J_{1,2}$ 5.6 Hz, A-1), 4.26-4.28 (m, 1H, A-2), 4.59 (dd, 1H, $J_{2,3}$ 7.9 Hz, $J_{3,4}$ 2.3 Hz, A-3), 4.19 (dd, 1H, $J_{4,5}$ 1.9 Hz, A-4), 3.98-4.1 (m, 1H, A-5), 4.15 (d, 1H, $J_{5,6}$ 8.6 Hz, A-6a), 3.58 (dd, 1H, $J_{6a,6b}$ 10.3 Hz, A-6b), 4.26 (d, 1H, $J_{1,2}$ 5.2 Hz, B-1), 3.82 (dd, 1H, $J_{2,3}$ 8.3 Hz, B-2), 4.25 (s, 1H, B-3), 4.07 (dd, 1H, $J_{4,5}$ 1.9 Hz, B-4), 3.94-3.96 (m, 1H, B-5), 4.05 (dd, 1H, $J_{5,6}$ 2.3 Hz, $J_{6a,6a}$ 7.7 Hz, B-6a), 3.94-3.98 (m, 1H, B-6b), 4.72 (d, 1H, $J_{1,2}$ 8.1 Hz, C-1), 5.23 (dd, 1H, $J_{2,3}$ 10.5 Hz, C-2), 5.01 (d, 1H, $J_{3,4}$ 3.4 Hz, C-3), 5.38 (dd, 1H, $J_{4,5}$ 0.9 Hz, C-4), 3.92-3.95 (m, 1H, C-5), 4.15 (d, 2H, $J_{6a,6b}$ 6.7 Hz, C-6a, C-6b), 5.45 (s, 1H, D-1), 5.13 (s, 1H, D-2), 4.99 (d, 1H, $J_{3,4}$ 3.7 Hz, D-3), 4.68 (dd, 1H, $J_{4,5}$ 7.1 Hz, D-4), 4.48 (dd, 1H, $J_{5,6a}$ 3.4 Hz, $J_{6a,6b}$ 12.5 Hz, D-5a), 4.32 (dd, 1H, $J_{5,6b}$ 2.5 Hz, D-5b), 1.25, 1.28, 1.38, 1.49, 1.52 (s, 24H, 6 $\text{CH}_{3\text{ip}}$), 1.95, 2.02, 2.08, 2.01, 2.13, 2.15 (s, 21H, 7 $\text{CH}_{3\text{acetil}}$). $^{13}\text{C-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): 95.71 (A-1), 69.59 (A-2), 70.47 (A-3), 71.16 (A-4), 66.80 (A-5), 69.40 (A-6), 100.78 (B-1), 73.94 (B-2), 79.55 (B-3), 73.46 (B-4), 70.36 (B-5), 68.38 (B-6), 101.02 (C-1), 68.46 (C-2), 70.44 (C-3), 66.74 (C-4), 72.85 (C-5), 60.88 (C-6), 103.07 (D-1), 80.52 (D-2), 76.62 (D-3), 80.49 (D-4), 63.58 (D-5), 20.28, 20.36, 20.51, 20.54, 20.68 ($\text{CH}_{3\text{acetil}}$), 23.75, 24.51, 25.60, 25.69, 26.02, 27.71 ($\text{CH}_{3\text{ip}}$), 108.03, 108.55, 110.34 (C_{kvat}).

β -D-Galaktopiranozil-(1 \rightarrow 6)-[α -L-arabinofuranozil-(1 \rightarrow 2)]- β -D-galaktopiranozil-(1 \rightarrow 6)-D-galaktóz (2).- 35 mg (0.03 mmol) **31** tetraszacharidot oldottunk 5 ml MeOH-ban és NaOMe-tal pH-ját 8-asra állítottuk. A reakció 1 óra alatt végbement szobahőmérsékleten (DKM:MeOH=75:25), ekkor Amberlite IR-120 H^+ ioncserélő gyantával lesemlegesítettük, a gyantát kiszűrjük. A nyerstermékhez 1 ml 90%-os CF_3COOH -oldatot adtunk és 15 percig kevertettük szobahőn. A reakcióelegyhez étert adtunk, ekkor a szabad tetraszacharid kicsapódott, a terméket kiszűrjük és éterrel semlegesre mostuk. 7 mg (39 %) **2** tetraszacharidot izoláltam. $[\alpha]_{\text{D}} -1.55^{\circ}$ (c 0.2665, H_2O). $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, D_2O): 5.21 (A-1 α), 4.53 (A-1 β), 3.41 (A-2 β), 3.60 (A-3 β), 4.49 (B-1), 3.58 (B-2), 3.72 (B-3), 4.40 (C-1), 3.44 (C-2), 3.60 (C-3), 5.24 (D-1), 4.12 (D-2), 3.90 (D-3), 4.17 (D-4), 3.67 and 3.75 (D-5a and D-5b). $^{13}\text{C-NMR}$ (500 MHz, D_2O): 92.07 (A-1 α), 96.09 (A-1 β), 71.52 (A-2 β), 72.39 (A-

3B), 69.16 (A-6B), 101.61 (B-1), 75.66 (B-2), 72.49 (B-3), 68.73 (B-6), 103.07 (C-1), 70.43 (C-2), 72.41 (C-3), 60.69 (C-6), 107.93 (D-1), 80.64 (D-2), 76.57 (D-3), 83.95 (D-4), 61.07 (D-5). MALDI-TOF: 657.14 [M+Na⁺], számított: C₂₃H₄₀O₂₀, 657.21 [M+Na⁺].

4-Metoxi-fenil 2,3,5-tri-O-acetil- α -L-arabinofuranozid (32).- 5g (15.7 mmol) **28** származékot oldottam 50 ml DKM-ban majd 2.93 g (1.5 ekv.) 4-metoxi-fenolt és 4 ml (2 ekv) bórtrifluorid-dietyl-éterátot adtam hozzá jeges hűtés közben. 12 óra után a VRK (DKM:aceton=95:5) teljes átalakulást mutatott, az oldatot 400 ml DKM-nal meghígítva semlegesre ráztam NaHCO₃-oldattal és vízzel. A nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítva 4.11g (77%) **32** terméket nyertem. Elemanalízis: C₁₈H₂₂O₁₀ (398.37) : C, 54.22, H, 5.52, talált: C, 54.23, H, 5.50. ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 5.59 (s, 1H, H-1), 3.75 (s, 3H, -OCH₃), 2.05-2.15 (s, 9H, 3 CH₃acetyl), 6.78-7.02 (m, 5H, -Ph). ¹³C-NMR (200 MHz, CDCl₃): 104.78 (C-1), 76.85, 80.85, 81.23 (C-2, C-3, C-4), 62.93 (C-5), 55.39 (-OCH₃), 20.51 (CH₃acetyl), 169.58, 170.16, 170.60 (CH₃CO). [α]_D -30.01° (c 0.8198, CHCl₃).

4-Metoxi-fenil α -L-arabinofuranozid (33).- 3.74 g (8.8 mmol) **32** terméket oldottam 10 ml MeOH-ban és a NaOMe -tal pH-ját 8-asra állítva 12 órán át kevertetem, a reakció teljes végbemenetelig (VRK DKM:MeOH=87:13). Az oldatot ioncserélő gyantával semlegesítettem, átszűrtem, bepároltam. A nyersterméket metanolból kristályosítottam és 1.65g (73%) **33** terméket kaptam. Op: 118-120°C. [α]_D -147.68° (c 0.1896, MeOH). Elemanalízis: C₁₂H₁₆O₆ (256.26) : C, 56.19, H, 6.24, talált: C, 56.16, H, 6.25. ¹H-NMR (200 MHz, MeOH-d₄): δ 5.43 (d, 1H, H-1), 3.34 (s, 3H, -OCH₃), 6.76-7.07 (m, 5H, -Ph). ¹³C-NMR (200 MHz, MeOH-d₄): δ 108.54 (C-1), 85.81, 83.54, 78.15 (C-2, C-3, C-4), 65.17 (C-5), 55.97 (-OCH₃), 152.172, 156.18 (C_{kvat,-Ph}), 115.39, 119.11 (aromás).

4-Metoxi-fenil 2,3,5-tri-O-acetil- α -L-arabinofuranozil-(1 \rightarrow 5)- α -L-arabinofuranozid (34).- 880 mg (3.4 mmol) **33** akceptort és 1.72 g (4.08 mmol) **30** donort oldottam 30 ml DKM:CH₃CN=1:1-ben és 4 Å darabos molekulaszitát hozzáadva 1 órát kevertetem. Az oldatot lehűtöttem -45°C-ra és 86 μ l TMSOTf-ot adtunk hozzá. 1 óra után a reakcióelegyet Et₃N-nal semlegesítettem, DKM-nal meghígítva vízzel semlegesre mostam. A nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítottam (DKM: aceton=75:25) és 560 mg **34** diszacharidot nyertem (32%). [α]_D -88.54° (c 0.6912, CHCl₃). Elemanalízis: C₂₃H₃₀O₁₃ (514.48) : C, 53.65, H, 5.83, talált: C, 53.67, H, 5.82. ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 5.54 (s, 1H, H-1), 5.12 (s,

1H, H-1'), 3.76 (s, 3H, -OCH₃). ¹³C-NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 107.47 (C-1), 105.79 (C-1'), 78.18 (C-2), 81.52 (C-2'), 76.52 (C-3), 80.44 (C-3'), 80.14 (C-4), 85.46 (C-4'), 66.78 (C-5), 63.15 (C-5'), 55.51 (-OCH₃), 20.57 (CH₃acetyl).

4-Metoxi-fenil *2,3,5-tri-O-acetil-α-L-arabinofuranozil-(1→5)-2,3-di-O-acetil-α-L-arabinofuranozid (35)*.- 300 mg (0.58 mmol) **34** diszacharidhoz 5 ml piridint és 5 ml ecetsavanhidridet adtam jeges hűtés közben. A reakció két óra alatt teljes lett (VRK DKM: aceton=9:1), az oldatot bepárooltam, oszlopkromatográfiával tisztítottam és 290 mg **35** diszacharidot izoláltam (83 %). [α]_D -30.35° (c 0.3285, CHCl₃). MALDI-TOF: 621.51 [M+Na⁺], számított: C₂₇H₃₄O₁₅, 621.56 [M+Na⁺]. ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 5.59 (s, 1H, H-1), 5.32 (d, 1H, J_{2,3} 2.16 Hz, H-2), 5.28 (dd, 1H, J_{3,4} 6.5 Hz, H-3), 4.32-4.35 (m, 1H, H-4), 3.95 (dd, 1H, J_{4,5a} 4.3 Hz, J_{5a,5b} 12.9 Hz, H-5a), 3.75 (dd, 1H, J_{4,5b} 3.8 Hz, H-5b), 5.14 (s, 1H, H-1'), 5.16 (s, 1H, H-2'), 4.94 (d, 1H, J_{3,4} 4.3 Hz, H-3'), 4.26-4.30 (m, 1H, H-4'), 4.45 (dd, 1H, J_{4,5a} 3.9 Hz, J_{5a,5b} 12.9 Hz, H-5'a), 4.23 (dd, 1H, J_{4,5b} 4.7 Hz, H-5'b), 3.76 (s, 3H, -OCH₃), 2.09-2.18 (s, 15H, CH₃acetyl), 6.78-7.02 (m, 4H, -Ph). ¹³C-NMR (500 MHz, CDCl₃): 104.49 (C-1), 81.74 (C-2), 76.04 (C-3), 81.38 (C-4), 64.87 (C-5), 105.18 (C-1'), 80.68 (C-2'), 76.96 (C-3'), 80.49 (C-4'), 62.96 (C-5'), 55.31 (-OCH₃), 20.30, 20.43, 20.48 (CH₃acetyl), 169.11, 169.50, 169.85, 169.93, 170.26 (CH₃CO-), 114.25, 117.97 (-Ph), 149.72, 154.89 (-Ph_{kvat}).

2,3,5-Tri-O-acetil-α-L-arabinofuranozil-(1→5)-2,3-di-O-acetil-α,β-L-arabinóz (36).- 280 mg (0.47 mmol) **35** vegyületet oldottam 16 ml toluol:acetonitril:víz 1:2:1 oldószerkeletben és 1.3 g (2.34 mmol, 5 ekv.) cérium-ammónium-nitrátot adtam hozzá. A reakcióelegyet intenzíven kevertetem 1 órán át szobahőmérsékleten, ekkor a VRK (DKM: aceton= 9:1) teljes átalakulást mutatott. A vizes fázist elválasztottam, a szerves fázist 20 ml vízzel és 20 ml DKM-nal hígítottam, összerázás és szétválasztás után a vizes fázist 4 -szer mostam DKM-nal. A közös szerves fázisokat extraháltam vízzel, szárítottam, szűrtem és bepárooltam. A nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítva 190 mg (83%) **36** terméket izoláltam, melyet azonnal felhasználtam triklóracetimidát származék képzésére. [α]_D -48.15° (c 0.6335, CHCl₃). Elemanalízis: C₂₀H₂₈O₁₄ (482.35) : C, 49.76, H, 5.80, talált: C, 49.70, H, 5.83. ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 5.36 (s, 1H, H-1), 5.11 (s, 1H, H-1'), 2.08 (s, 1H, -OH). ¹³C-NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 94.73, 100.32 (C-1α, C-1β), 105.45 (C-1'), 65.70, 66.51 (C-5α, C-5β), 63.19 (C-5'), 20.70 (CH₃acetyl), 169.54-170.65 (CH₃CO-).

2,3,5-Tri-O-acetil- α -L-arabinofuranozil-(1 \rightarrow 5)-2,3-di-O-acetil- α,β -L-arabinofuranozil triklóracetimidát (37).- 186 mg (0.386 mmol) **36** diszacharidból a **30** vegyületnél leírt módon készítettem el a triklóracetimidóil származékot, és kvantitatív reakcióban izoláltam a **37** terméket, melyet tisztítás nélkül alkalmaztam glikozil donorként.

2,3,4-Tri-O-acetil- β -D-galaktopiranozil-(1 \rightarrow 6)-[(2,3,5-tri-O-acetil- α -L-arabinofuranozil-(1 \rightarrow 5)-2,3-di-O-acetil- α -L-arabinofuranozil-(1 \rightarrow 2)]-3,4-O-izopropilidén- β -D-galaktopiranozil-(1 \rightarrow 6)-1,2:3,4-di-O-izopropilidén- α -D-galaktopiranozil (38).- 250 mg (0.351 mmol) **27** akceptort és 240 mg (1.2 ekv) **37** donort kapcsoltunk össze a **31** vegyületnél leírt módon. Oszlopkromatográfiás tisztítás után (DKM: aceton = 87:13) 260 mg (65%) **38** pentaszacharidot nyertem. $[\alpha]_D$ -66.18° (c 0.3173, CHCl₃). ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 5.42 (d, 1H, $J_{1,2}$ 5.2 Hz, A-1), 4.24-4.27 (m, 2H, A-2, B-3), 4.56 (d, 1H, $J_{3,4}$ 2.3 Hz, A-3), 4.18 (dd, 1H, $J_{4,5}$ 8 Hz, A-4), 3.94-3.98 (m, 1H, A-5), 3.58 (d, 1H, A-6a), 4.13 (dd, 1H, $J_{5,6b}$ 2.3 Hz, $J_{6a,6b}$ 10.3 Hz, A-6b), 4.26 (d, 1H, $J_{1,2}$ 8.5 Hz, B-1), 3.81 (dd, 1H, $J_{2,3}$ 6 Hz, B-2), 4.03 (dd, 1H, $J_{3,4}$ 1.8 Hz, B-4), 3.92-3.95 (m, 1H, B-5), 3.92-3.96 (m, 1H, B-6a), 4.03-4.06 (m, 1H, B-6b), 4.69 (d, 1H, $J_{1,2}$ 8 Hz, C-1), 5.22 (dd, 1H, $J_{2,3}$ 10 Hz, C-2), 4.98 (dd, 1H, $J_{3,4}$ 3.5 Hz, C-3), 5.36 (dd, 1H, $J_{4,5}$ 1.1 Hz, C-4), 3.89-3.93 (m, 1H, C-5), 4.13-4.16 (m, 2H, C-6a, C-6b), 4.17 (s, 1H, D-1), 5.08 (s, 1H, D-2), 5.15 (d, 1H, $J_{3,4}$ 1.6 Hz, D-3), 4.56-4.5 (m, 1H, D-4), 4.14 (d, 1H, $J_{4,5a}$ 1.1 Hz, D-5a), 3.58 (dd, 1H, $J_{4,5ab}$ 1.6 Hz, $J_{5a,5b}$ 9.8 Hz, D-5b), 5.46 (s, 1H, E-1), 5.18 (s, 1H, E-2), 4.91 (dd, 1H, $J_{2,3}$ 4.9 Hz, $J_{3,4}$ 0.8 Hz, E-3), 4.29-4.34 (m, 1H, E-4), 4.44 (dd, 1H, $J_{4,5a}$ 3.1 Hz, $J_{5a,5b}$ 11.8 Hz, E-5a), 4.21-4.24 (m, 1H, E-5b), 1.26, 1.30, 1.31, 1.36, 1.49, 1.53 (s, 24H, CH_{3ip}), 1.95, 2.04, 2.06, 2.07, 2.08, 2.09, 2.10, 2.12, 2.15 (CH_{3acetil}). ¹³C-NMR (200 MHz, CDCl₃): 96.00 (A-1), 69.91 (A-2), 70.74 (A-3), 71.40 (A-4), 67.04 (A-5), 69.55 (A-6), 101.07 (B-1), 74.08 (B-2), 79.84 (B-3), 73.75 (B-4), 70.74 (B-5), 68.62 (B-6), 101.30 (C-1), 68.75 (C-2), 70.74 (C-3), 67.04 (C-4), 70.74 (C-5), 61.13 (C-6), 104.91 (D-1), 80.84 (D-2), 77.63 (D-3), 80.98 (D-4), 63.35 (D-5), 104.91 (E-1), 81.34 (E-2), 76.13 (E-3), 81.84 (E-4), 64.87 (E-5), 20.58, 20.75 (CH_{3acetil}), 24.08, 24.73, 25.87, 26.00, 26.29, 27.94, 29.19, 30.83 (CH_{3ip}), 108.12, 108.85, 110.57 (C_{kvat}), 169.27, 169.35, 169.80, 169.88, 170.15, 170.27, 170.36, 170.48 (CH_{3CO}). MALDI-TOF: 1289.87 [M+Na⁺], számított: C₅₅H₇₈O₃₃, 1289.44 [M+Na⁺].

β-D-Galaktopiranozil-(1→6)-[α-L-arabinofuranozil-(1→5)-α-L-arabinofuranozil-(1→2)]-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-D-galaktóz (3).- 124 mg (0.098 mmol) **38** pentaszacharidról a **2** vegyületnél leírt módon távolítottam el a védőcsoportokat és 56 mg **3** vegyületet izoláltam (75%). $[\alpha]_D -20.66^\circ$ (c 0.2178, H₂O). ¹H-NMR (500 MHz, D₂O): δ 5.20 (A-1α, *J*_{1,2} 3.98 Hz), 4.52 (A-1β, *J*_{1,2} 8.16 Hz), 3.72 (A-2α), 3.44 (A-2α), 3.59 (A-3), 3.91 (A-4), 4.48 (B-1, *J*_{1,2} 8.16 Hz), 3.59 (B-2), 3.71 (B-3), 3.91 (B-4), 4.40 (C-1, *J*_{1,2} 8.16 Hz), 3.48 (C-2), 3.59 (C-3), 3.87 (C-4), 5.03 (D-1, *J*_{1,2} 2.39 Hz), 4.08 (D-2), 5.23 (E-1), 4.12 (E-2). ¹³C-NMR (500 MHz, D₂O): 92.08 (A-1α), 96.10 (A-1β), 71.55 (A-2), 72.41 (A-3), 60.69 (A-6), 101.69 (B-1), 75.60 (B-2), 74.85 (B-3), 102.84 (C-1), 70.43 (C-2), 72.35 (C-3), 69.17 és 68.73 (B-6 és C-6), 107.10 (D-1), 80.60 (D-2), 76.24 (D-3), 82.25 (D-4), 66.55 (D-5), 107.98 (E-1), 80.60 (E-2), 76.90 (E-3), 83.63 (E-4), 60.89 (E-5). MALDI-TOF: 791.13 [M+Na⁺], számított: C₂₈H₄₈O₂₄, 791.25 [M+Na⁺].

2-O-Benzil-3,4-O-izopropilidén-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-1,2:3,4-di-O-izopropilidén-α-D-galaktopiranozil (39).- 3g (4.8 mmol) **19** diszacharidot feloldottunk 50 ml DKM-ban és 2 ml 96%-os ecetsavat és egy csepp vizet adtunk hozzá, majd refluxáltattuk 3 órán át. A reakcióelegyet DKM-nal meghígítottuk, semlegesre mostuk NaHCO₃-oldattal és vízzel, szárítottuk és bepároltuk. A nyersterméket ciklohexánból kristályosítottuk és 2.4g (90.1%) **39** származékot nyertünk. Op:128-129°C, $[\alpha]_D -2.6^\circ$ (c 1.3, CHCl₃). Elemanalízis: C₂₈H₄₀O₁₁ (552.62): C, 60.85, H, 7.29. Talált: C, 61.01, H, 7.27. ¹³C-NMR (360 MHz, CDCl₃): δ 96.28 (C-1), 70.74 (C-2), 70.23 (C-3), 69.30 (C-4), 67.06 (C-5), 68.79 (C-6), 103.31 (C-1'), 78.57 (C-2'), 78.94 (C-3'), 73.74 (C-4'), 72.98 (C-5'), 62.09 (C-6'), 109.88, 108.41 (C_{kvat.}), 109.22 (C_{kvat,MIP}).

3,4,6-Tri-O-acetil-2-O-benzil-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-2,3,4-tri-O-acetil-β-D-galaktopiranozil triklóracetimidát (41).- A **21** vegyületet (508mg, 0.79 mmol) oldottunk 1 ml száraz *N,N*-dimetil-formamidban és 97 mg hidrazin-acetátot adtunk hozzá. Másfél óra múlva a VRK teljes átalakulást mutatott (DKM:aceton=92:8, R_f 0.75), a reakcióelegyet 50 ml diklórmétánnal meghígítottuk, mostuk kétszer 10%-os NaCl-oldattal és háromszor vízzel, MgSO₄-on szárítottuk és bepároltuk. A nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítottuk (DKM:aceton=87:13) és 235 mg **40** diszacharidot izoláltunk 50%-os hozammal. A **40** vegyületet oldottunk száraz DKM-ban és 0.46 ml triklóracetonitrilt és 500 mg kiizzított kálium-karbonátot adtunk hozzá. 24 óra múlva teljes átalakulást tapasztaltunk (DKM:aceton=92:8). Az oldatot átszűrtük Celiten, bepároltuk és oszlopkromatográfiával

tisztítva (DKM:aceton=92:8) 197mg **41** terméket kaptunk (70%). $[\alpha]_D -18.36^\circ$ (c 0.41, CHCl₃). Elemanalízis: C₃₃H₄₀Cl₃NO₁₇ (827.14): C, 47.87, H, 4.87. Talált: C, 47.93, H, 4.88.

3,4,6-Tri-O-acetil-2-O-benzil-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-2,3,4-tri-O-acetil-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-2-O-benzil-3,4-O-izopropilidén-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-1,2:3,4-di-O-izopropilidén-α-D-galaktopiranóz (42).- 235 mg **39** akceptort (0.43 mmol) oldottunk 10 ml száraz DKM-ban és hozzáadtunk 430mg (0.51 mmol, 1.2 ekv.) **41** donort és 600 mg 4Å molekulaszitát. Az elegyet 1 óra kevertetés után aktiváltuk -45°C-on 15 µl TMSOTf 0.5 ml-es DKM-os oldatának bemérésével. 2 óra alatt a reakció végbement, az oldatot 100 µl trietil-aminnal lesemlegesítettük, meghígítottuk 40 ml DKM-nal, vízzel mostuk, szárítottuk és bepároltuk. A kapott szirupot oszlopkromatográfiával tisztítva (DKM:aceton=88:12) kaptunk 320 mg **42** tetraszacharidot (60%). $[\alpha]_D -1.63^\circ$ (c 0.97, CHCl₃). A ¹H- és ¹³C-NMR adatokat az 1.-2. táblázatban foglaltuk össze. Elemanalízis: C₅₉H₇₈O₂₇ (1218.47): C, 58.11, H, 6.45. Talált: C, 58.30, H, 6.44.

3,4,6-Tri-O-acetil-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-2,3,4-tri-O-acetil-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-3,4-O-izopropilidén-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-1,2:3,4-di-O-izopropilidén-α-D-galaktopiranóz (43).- 500 mg (0.4 mmol) **42** tetraszacharidot oldottunk 5 ml EtOAc-ban és 100 mg Pd(C) hozzáadásával hidrogén atmoszférában kevertettük 12 órán át. A reakcióelegyet meghígítottuk EtOAc-tal, Celiten átszűrtük és bepároltuk. A nyerstelemet DKM:aceton=7:3-ban oszlopkromatográfiával tisztítottuk és 308mg **43** tetraszacharid akceptort izoláltunk (89%). $[\alpha]_D -22.37^\circ$ (c 0.22, CHCl₃). Az NMR adatokat az 1.-2. táblázatban foglaltuk össze. Elemanalízis: C₄₅H₆₆O₂₇ (1038.38): C, 51.98, H, 6.40. Talált: C, 52.06, H, 6.39.

2,3,5-Tri-O-benzoil-α-L-arabinofuranozil-(1→2)-3,4,6-tri-O-acetil-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-2,3,4-tri-O-acetil-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-[2,3,5-tri-O-benzoil-α-L-arabinofuranozil-(1→2)]-3,4-O-izopropilidén-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-1,2:3,4-di-O-izopropilidén-α-D-galaktopiranóz (44).-308 mg (0.29 mmol) **43** akceptort feloldottunk 7 ml száraz acetonitrilben és hozzáértünk 162 mg Hg(CN)₂-ot (2.2 ekv.) és 4Å molekulaszitát. 3 óra kevertetés után hozzáadtunk 748 mg **13** donort (1.45 mmol, 5 ekv.). 2 óra után a VRK az akceptor teljes átalakulását mutatta (DKM:aceton=9:1). A reakcióelegyet DKM-nal meghígítottuk, a szervesen sókat kiszűrtük és bepároltuk. A kapott szirupot feloldottuk 150 ml DKM-ban és mostuk 4-szer 25 ml KI-oldattal, 3-szor 25 ml vízzel, a szerves fázist

szárítottuk és bepároltuk. A nyerste­méket DKM:aceton=93:7-ben osz­lopkromatográfiával tisztítottuk és 340 mg **44** hexaszacharidot kaptunk (62.5%). $[\alpha]_D -7.36^\circ$ (c 0.063, CHCl₃). Az NMR adatokat az 1.-2. táblázatban foglaltuk össze. MALDI-TOF: 1949.33 [M+Na⁺], számított: C₉₇H₁₀₆O₄₁, 1949.62 [M+Na⁺].

α-L-Arabinofuranozil-(1→2)-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-[α-L-arabinofuranozil-(1→2)]-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-α,β-D-galaktóz (4).- 220 mg (0.114 mmol) **44** hexaszacharidot oldottunk 25 ml DKM-ban és 3.8 ml trifluorecetsavat és egy csepp vizet adtunk hozzá. 24 óra után az oldatot trietil-aminnal lesemlegesítettük, 75 ml DKM-nal hígítva mostuk NaHCO₃-oldattal (4×15 ml) és vízzel (2×15 ml). A szerves fázist szárítottuk és bepároltuk. A nyerste­méket (180 mg) feloldottuk 10 ml metanolban és annyi Na-metilátot adtunk hozzá, hogy az elegy pH-ja 8 legyen. 12 óra után a VRK (aceton:etanol:víz=5:5:2) teljes átalakulást mutatott. A reakcióelegyet ioncserélő gyantával semlegesítve, átszűrve bepároltuk. A szirupos anyagot vízben oldottuk (50 ml) és éterrel extraháltuk (3×10 ml) a metil-benzoát eltávolítása céljából. A nyerste­méket osz­lopkromatográfiával tisztítottuk (aceton:etanol:víz=50:50:28) és 94 mg szabad hexaszacharidot **4** izoláltunk (88%). $[\alpha]_D -31.43^\circ$ (c 0.14, H₂O). Az NMR adatokat az 1.-2. táblázatban foglaltuk össze. MALDI-TOF: 953.34 [M+Na⁺], számított: C₃₄H₅₈O₂₉, 953.30 [M+Na⁺].

2,3,4,6-Tetra-O-acetil-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-2-O-benzil-3,4-O-izopropilidén-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-1,2:3,4-di-O-izopropilidén-α-D-galaktopiranoz (45).- 4.7 g (8.5 mmol) **39** akceptorból és 4.2 g (1.2 ekv.) **9** donorból a **26** vegyületnél leírt recept alapján készítettem el a **45** triszacharidot, a nyerste­méket etanolból kristályosítva 4.21 g (56%) terméket izoláltam. Op: 156-158°C Elemanalízis: C₄₂H₅₈O₂₀ (882.91) : C, 57.08, H, 6.57, talált: C, 57.10, H, 6.55. ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 1.16–1.48 (6s, 18H, CH_{3ip}), 1.92–2.14 (4s, 12H, CH_{3acetyl}), 4.28 (d, 1H, H-1', J_{1',2'} 8 Hz), 4.60 (d, 1H, H-1'', J_{1,2} 7.9Hz), 5.49 (d, 1H, H-1, J_{1,2} 5Hz), 4.80 (dd, 2H, CH₂-Ph), 7.16-7.39 (m, 5H, -Ph). ¹³C-NMR (CDCl₃): δ 24.13–27.98 (CH_{3ip}), 20.52 (CH_{3acetyl}), 61.12 (C-6''), 96.8 (C-1), 101.8,104.01 (C-1', C-1''), 73.5 (CH₂-Ph). $[\alpha]_D -13.85^\circ$ (c 0.1300, CHCl₃).

β-D-Galaktopiranozil-(1→6)-2-O-benzil-3,4-O-izopropilidén-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-1,2:3,4-di-O-izopropilidén-α-D-galaktopiranoz (46).- 3.2 g (3.62 mmol) **45** triszacharidot oldottam 20 ml metanolban és annyi NaOMe-ot adtam hozzá, hogy pH-ja 8 legyen. 3 óra alatt

a VRK teljes átalakulást mutatott (DKM: MeOH= 87:13). Az oldatot ioncserélő gyantával lesemlegesítettem, szűrtem, bepároltam. A kapott szirupot átkristályosítottam és 2.38 g **46** terméket nyertem (92%). Op: 171-173°C. Elemanalízis: C₃₄H₅₀O₁₆ (714.76) : C, 57.08, H, 7.00, talált: C, 57.04, H, 7.02. [α]_D -31.02° (c 0.1064, CHCl₃).

3,4-O-Izopropilidén-6-O-(metoxidimetil)metil- β -D-galaktopiranozil-(1 \rightarrow 6)-2-O-benzil-3,4-O-izopropilidén- β -D-galaktopiranozil-(1 \rightarrow 6)-1,2:3,4-di-O-izopropilidén- α -D-galaktopiranóz (47).- 2.2 g (3.07 mmol) **46** származékot oldottam 40 ml 2,2-dimetoxi propánban és katalitikus mennyiségű pTSA-at adtam hozzá. 4 órán át kevertettem szobahőmérsékleten, majd trietil-aminnal semlegesítettem, DKM-nal hígítva semlegesre mostam vízzel, szárítottam, szűrtem, 1 ml trietil-amint hozzáadva bepároltam. A nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítottam (DKM: acetone = 85:15), és 2.11 g (84%) **47** terméket kaptam. Elemanalízis: C₄₁H₅₉O₁₇ (823.91) : C, 59.72, H, 7.16, talált: C, 59.68, H, 7.15. ¹H-NMR (360 MHz, CDCl₃): δ 1.28–1.50 (10s, 30H, CH_{3ip,MIP}), 3.18 (s, 3H, -OCH₃), 4.23 (d, 1H, H-1', $J_{1',2'}$ 8.2 Hz), 4.34 (d, 1H, H-1'', $J_{1'',2''}$ 8Hz), 5.53 (d, 1H, H-1, $J_{1,2}$ 5Hz), 4.82 (dd, 2H, CH₂-Ph), 7.20-7.43 (m, 5H, -Ph). ¹³C-NMR (CDCl₃): δ 24.21–28.00 (CH_{3ip,MIP}), 60.05 (C-6''), 68.65, 69.34 (C-6, C-6'), 96.21 (C-1), 102.98, 103.63 (C-1', C-1''), 72.35 (CH₂-Ph), 48.35 (-OCH₃), 99.95 (C_{kvat,MIP}), 108.38, 109.23, 109.69, 109.84 (C_{kvat.}). [α]_D +4.2° (c 0.3092, CHCl₃).

2-O-Acetil-3,4-O-izopropilidén-6-O-(metoxidimetil)metil- β -D-galaktopiranozil-(1 \rightarrow 6)-2-O-benzil-3,4-O-izopropilidén- β -D-galaktopiranozil-(1 \rightarrow 6)-1,2:3,4-di-O-izopropilidén- α -D-galaktopiranóz (48).- 1.57 g (1.92 mmol) **47** triszacharidot oldottam 5 ml piridinben és 5 ml ecetsavanhidridet adtam hozzá jeges hűtés közben. 2 óra alatt a kiindulási anyag teljes átalakulását tapasztaltam (DKM: acetone= 9:1), ekkor az oldatot jégre öntöttem. A kivált nyersterméket kiszűrtem és átkristályosítottam. 1.45 g **48** terméket izoláltam (84%). Op: 166-168°C. Elemanalízis: C₄₃H₅₁O₁₈ (855.87) : C, 50.24, H, 5.96, talált: C, 50.25, H, 5.94.

2-O-Acetil-3,4-O-izopropilidén- β -D-galaktopiranozil-(1 \rightarrow 6)-2-O-benzil-3,4-O-izopropilidén- β -D-galaktopiranozil-(1 \rightarrow 6)-1,2:3,4-di-O-izopropilidén- α -D-galaktopiranóz (49).- 1.5 g (1.7 mmol) **48** vegyületről a **39** vegyületnél leírt módon távolítottam el a 6''-O-MIP csoportot. A nyersterméket etanolból kristályosítva 1.22 g (92%) **49** kristályt kaptam. [α]_D +14.28° (c

0.3012, CHCl₃). Op: 145-147°C. Elemanalízis: C₃₉H₄₃O₁₇ (783.76) : C, 59.71, H, 5.49, talált: C, 59.72, H, 5.48. ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 1.27–1.58 (8s, 24H, CH_{3ip,MIP}), 2.11 (s, 3H, CH_{3acetil}), 2.29 (s, 1H, -OH), 4.38 (d, 1H, H-1', J_{1',2'} 8 Hz), 4.51 (d, 1H, H-1'', J_{1'',2''} 8Hz), 5.57 (d, 1H, H-1, J_{1,2} 5Hz), 4.86 (dd, 2H, CH₂-Ph), 7.23-7.46 (m, 5H, -Ph). ¹³C-NMR (CDCl₃): δ 24.30–27.57 (CH_{3ip,MIP}), 20.88 (CH_{3acetil}), 62.16 (C-6''), 68.36, 69.35 (C-6, C-6'), 96.30 (C-1), 100.45, 103.57 (C-1', C-1''), 73.04 (CH₂-Ph), 108.45, 109.29, 110.02, 110.64 (C_{kvat.}), 169.60 (CH₃CO).

2,3,4,6-Tetra-O-acetil-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-3,4-di-O-acetil-2-O-(2-naftil)metil-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-1,2,3,4-tetra-O-acetil-α,β-D-galaktopiranóz (50).- 1g (1.04 mmol) **26** triszacharidot reagáltattam 8 ml 90%-os trifluorecetsavval és 15 percig kevertetem szobahőmérsékleten. A reakcióelegyhez dietil-étert adtam, a kivált terméket kiszűrtem. A kapott 700 mg anyagot feloldottam 5 ml piridinben és jeges hűtés közben 5 ml ecetsavanhidridet adtam hozzá. 5 óra után a reakcióelegyet bepároltam, majd hexán:etil-acetát 9:1 eluensben oszlopkromatografáltam. 490 mg (42%) **50** triszacharidot kaptam. [α]_D +10.09° (c 0.3171, CHCl₃). Elemanalízis: C₄₉H₆₀O₂₆ (1065.00) : C, 55.21, H, 5.63, talált: C, 55.21, H, 5.61. ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 1.85-2.14 (s, 30H, CH_{3acetil}), 5.65 (d, 1H, H-1β, J_{1,2} 8Hz),), 5.45 (d, 1H, H-1α, J_{1,2} 4Hz), 7.28-7.82 (m, 10H, -Naf). ¹³C-NMR (CDCl₃): δ 20.39 (CH_{3acetil}), 60.11, 61.02 (C-6''α, C-6''β), 89.42, 91.86 (C-1α, C-1β), 100.21, 103.16 (C-1', C-1''), 74.48 (CH₂-Naf), 169.65-170.12 (CH₃CO).

2,3,4,6-Tetra-O-acetil-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-3,4-di-O-acetil-2-O-(2-naftil)metil-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-2,3,4-tri-O-acetil-α,β-D-galaktóz (51).- 340 mg (0.304 mmol) **50** triszacharidot oldottam 5 ml *N,N*-dimetilformamidban és 74 mg (0.79 mmol) hidrazin-acetátot mértem hozzá. 5 óra kevertetés után a VRK (DKM: aceton= 9:1) a kiindulási anyag teljes átalakulását mutatta. A reakcióelegyet meghígítottam 100 ml DKM-nal és 3-szor mostam vízzel, szárítottam, szűrtem és bepároltam. Oszlopkromatográfia után 254 mg (78%) **51** származékot nyertem. Elemanalízis: C₄₇H₅₈O₂₅ (1022.96) : C, 55.13, H, 5.67, talált: C, 55.15, H, 5.66. ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 1.88-2.17 (s, 27H, CH_{3acetil}), 7.40-7.57 (m, 10H, -Naf). ¹³C-NMR (CDCl₃): δ 20.55 (CH_{3acetil}), 60.17, 61.10 (C-6''α, C-6''β), 90.43, 95.68 (C-1α, C-1β), 100.47, 103.28 (C-1', C-1''), 74.73 (CH₂-Naf), 169.35-170.36 (CH₃CO). [α]_D +15.81° (c 0.2530, CHCl₃).

2,3,4,6-Tetra-O-acetil-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-3,4-di-O-acetil-2-O-(2-naftil)metil-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-2,3,4-tri-O-acetil-α,β-D-galaktopiranozil triklóracetimidát (52).- 5 ml száraz DKM-ban oldottam 254 mg (0.24 mmol) **51** terméket, hozzáadtam 250 mg kiizzított kálium-karbonátot és 360 μl (15 ekv.) triklóracetonitrilt. Egy éjszakán át kevertetem szobahőn, ekkor a kiindulási anyag teljes átalakulását tapasztaltam. A reakcióelegyet Celite-rétegen átszűrtem és bepároltam, 290 mg terméket kaptam, melyet tisztítás nélkül használtam glikozil donorként.

2,3,4,6-Tetra-O-acetil-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-3,4-di-O-acetil-2-O-(2-naftil)metil-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-2,3,4-tri-O-acetil-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-2-O-acetil-3,4-O-izopropilidén-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-2-O-benzil-3,4-O-izopropilidén-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-1,2:3,4-di-O-izopropilidén-α-D-galaktopiranozil (53).- A reakciót a **42** vegyületnél leírt módon hajtottam végre, 780 mg (0.98 mmol) **49** akceptort, 1.37 g (1.2 ekv.) **52** donort és 24 μl TMSOTf-ot használva. Másfél óra után az akceptor átalakult (VRK DKM:Ac= 85:15), a reakcióelegy feldolgozása és oszlopkromatográfiás tisztítása után 1.04 g (59%) hexaszacharidot (**53**) kaptam. $[\alpha]_D -6.46^\circ$ (c 0.3250, CHCl₃). MALDI-TOF: 1824.37 [M+Na⁺], számított: C₈₆H₁₁₂O₄₁, 1824.81 [M+Na⁺]. Az ¹H- és ¹³C-NMR adatok a 3. táblázatban találhatóak.

2,3,4,6-Tetra-O-acetil-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-3,4-di-O-acetil-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-2,3,4-tri-O-acetil-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-2-O-acetil-3,4-O-izopropilidén-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-2-O-benzil-3,4-O-izopropilidén-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-1,2:3,4-di-O-izopropilidén-α-D-galaktopiranozil (54).- 924 mg (0.51 mmol) **53** hexaszacharidról a **27** vegyületnél leírt módon távolítottam el a NAP-étért. Oszlopkromatográfia után (DKM: Ac=8:2) 602 mg **54** terméket kaptam (70%). $[\alpha]_D -8.63^\circ$ (c 0.3825, CHCl₃). MALDI-TOF: 1684.26 [M+Na⁺], számított: C₇₅H₁₀₄O₄₁, 1684.63 [M+Na⁺]. Az ¹H- és ¹³C-NMR adatok a 3. táblázatban találhatóak.

2,3,4,6-Tetra-O-acetil-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-3,4-di-O-acetil-[2,3,5-tri-O-acetil-α-L-arabinofuranozil-(1→2)]-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-2,3,4-tri-O-acetil-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-2-O-acetil-3,4-O-izopropilidén-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-2-O-benzil-3,4-O-izopropilidén-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-1,2:3,4-di-O-izopropilidén-α-D-galaktopiranozil (55).- 400 mg (0.24 mmol) **54** hexaszacharid akceptort a **31** vegyületnél leírt

módon kapsoltam össze a **30** donorral (125 mg, 1.2 ekv.), 43 µl TMSOTf-ot használva. Oszlopkromatográfia után (DKM: Ac=75:25) 260 mg **55** terméket kaptam (56%). $[\alpha]_D -16.49^\circ$ (c 0.3821, CHCl₃). MALDI-TOF: 1942.62 [M+Na⁺], számított: C₈₆H₁₁₈O₄₈, 1942.85 [M+Na⁺]. Az ¹H- és ¹³C-NMR adatok a 3. táblázatban találhatóak.

2,3,4,6-Tetra-O-acetil-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-3,4-di-O-acetil-[2,3,5-tri-O-acetil-α-L-arabinofuranozil-(1→5)-2,3-di-O-acetil-α-L-arabinofuranozil-(1→2)]-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-2,3,4-tri-O-acetil-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-2-O-acetil-3,4-O-izopropilidén-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-2-O-benzil-3,4-O-izopropilidén-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-1,2:3,4-di-O-izopropilidén-α-D-galaktopiranóz (56).- 200 mg (0.12 mmol) **54** hexaszacharid akceptort a **31** vegyületnél leírt módon kapsoltam össze a **37** donorral (115 mg, 1.2 ekv.), 25 µl TMSOTf-ot használva. Oszlopkromatográfia után (DKM: Ac=82:18) 260 mg **56** terméket kaptam (43%). $[\alpha]_D -30.42^\circ$ (c 0.2926, CHCl₃). MALDI-TOF: 2159.11 [M+Na⁺], C₉₅H₁₃₀O₅₄, 2159.04 [M+Na⁺]. Az ¹H- és ¹³C-NMR adatok a 3. táblázatban találhatóak.

2,3,4,6-Tetra-O-acetil-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-3,4-di-O-acetil-[2,3,5-tri-O-acetil-α-L-arabinofuranozil-(1→2)]-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-2,3,4-tri-O-acetil-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-2-O-acetil-3,4-O-izopropilidén-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-3,4-O-izopropilidén-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-1,2:3,4-di-O-izopropilidén-α-D-galaktopiranóz (57).- 260 mg (0.14 mmol) **55** heptaszacharidot oldottam 5 ml etil-acetátban és 26 mg Pd(C)-t adtam hozzá, majd hidrogén atmoszférában kevertetem egy éjszakán át. A VRK (DKM: Ac= 75:25) szerint a kiindulási anyag teljesen átalakult, ekkor a reakcióelegyet Celite-n átszűrtem, bepároltam. A reakció kvantitatív módon játszódott le és 248 mg **57** terméket nyertem. $[\alpha]_D -26.00^\circ$ (c 0.5615, CHCl₃). Elemanalízis: C₇₉H₁₁₂O₄₈, (1829.73) : C, 51.81, H, 6.12, talált: C, 51.85, H, 6.12. Az ¹H- és ¹³C-NMR adatok a 3. táblázatban találhatóak.

2,3,4,6-Tetra-O-acetil-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-3,4-di-O-acetil-[2,3,5-tri-O-acetil-α-L-arabinofuranozil-(1→5)-2,3-di-O-acetil-α-L-arabinofuranozil-(1→2)]-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-2,3,4-tri-O-acetil-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-2-O-acetil-3,4-O-izopropilidén-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-3,4-O-izopropilidén-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-1,2:3,4-di-O-izopropilidén-α-D-galaktopiranóz (58).- 100 mg (0.049 mmol) **56** oktaszacharidon az **57** vegyületnél leírt módon hajtottam végre a hidrogenolízist. A reakció kvantitatív módon ment végbe és 96 mg (**58**) terméket kaptam. $[\alpha]_D -42.13^\circ$ (c 0.5175, CHCl₃). C₈₈H₁₂₄O₅₄, (2045.92):

C, 51.61, H, 6.06, talált: C, 51.58, H, 6.05. Az ^1H - és ^{13}C -NMR adatok a 3. táblázatban találhatóak.

2,3,4,6-Tetra-O-acetil- β -D-galaktopiranozil-(1 \rightarrow 6)-3,4-di-O-acetil-[2,3,5-tri-O-acetil- α -L-arabinofuranozil-(1 \rightarrow 2)]- β -D-galaktopiranozil-(1 \rightarrow 6)-2,3,4-tri-O-acetil- β -D-galaktopiranozil-(1 \rightarrow 6)-2-O-acetil-3,4-O-izopropilidén- β -D-galaktopiranozil-(1 \rightarrow 6)-[2,3,5-tri-O-acetil- α -L-arabinofuranozil-(1 \rightarrow 2)]-3,4-O-izopropilidén- β -D-galaktopiranozil-(1 \rightarrow 6)-1,2:3,4-di-O-izopropilidén- α -D-galaktopiranozil (**59**).- 110 mg (0.06 mmol) **57** heptaszacharid akceptort glikozileztem 42 mg (1.5 ekv.) **30** donorral 13 μl TMSOTf-ot használva aktiválószerként, a **31** vegyületnél leírt módon. Oszlopkromatográfia után (DKM: Ac= 88:12) 50 mg **59** oktaszacharidot izoláltam (45%). $[\alpha]_{\text{D}} -37.79^\circ$ (c 0.2170, CHCl_3). MALDI-TOF: 2110.05 $[\text{M}+\text{Na}^+]$, számított: $\text{C}_{90}\text{H}_{126}\text{O}_{55}$, 2110.96 $[\text{M}+\text{Na}^+]$. Az ^1H - és ^{13}C -NMR adatok a 3. és 4. táblázatban találhatóak.

2,3,4,6-Tetra-O-acetil- β -D-galaktopiranozil-(1 \rightarrow 6)-3,4-di-O-acetil-[2,3,5-tri-O-acetil- α -L-arabinofuranozil-(1 \rightarrow 2)]- β -D-galaktopiranozil-(1 \rightarrow 6)-2,3,4-tri-O-acetil- β -D-galaktopiranozil-(1 \rightarrow 6)-2-O-acetil-3,4-O-izopropilidén- β -D-galaktopiranozil-(1 \rightarrow 6)-[2,3,5-tri-O-acetil- α -L-arabinofuranozil-(1 \rightarrow 5)-2,3-di-O-acetil- α -L-arabinofuranozil-(1 \rightarrow 2)]-3,4-O-izopropilidén- β -D-galaktopiranozil-(1 \rightarrow 6)-1,2:3,4-di-O-izopropilidén- α -D-galaktopiranozil (**60**).- 110 mg (0.06 mmol) **57** heptaszacharid akceptort glikozileztem 63 mg (1.5 ekv.) **37** donorral 13 μl TMSOTf-ot használva aktiválószerként, a **31** vegyületnél leírt módon. Oszlopkromatográfia után (DKM: Ac= 88:12) 55 mg **60** nonaszacharidot izoláltam (40%). $[\alpha]_{\text{D}} -44.27^\circ$ (c 0.1875, CHCl_3). MALDI-TOF: 2325.79 $[\text{M}+\text{Na}^+]$, számított: $\text{C}_{99}\text{H}_{138}\text{O}_{61}$, 2325.77 $[\text{M}+\text{Na}^+]$. Az ^1H - és ^{13}C -NMR adatok a 3. és 4. táblázatban találhatóak.

2,3,4,6-Tetra-O-acetil- β -D-galaktopiranozil-(1 \rightarrow 6)-3,4-di-O-acetil-[2,3,5-tri-O-acetil- α -L-arabinofuranozil-(1 \rightarrow 5)-2,3-di-O-acetil- α -L-arabinofuranozil-(1 \rightarrow 2)]- β -D-galaktopiranozil-(1 \rightarrow 6)-2,3,4-tri-O-acetil- β -D-galaktopiranozil-(1 \rightarrow 6)-2-O-acetil-3,4-O-izopropilidén- β -D-galaktopiranozil-(1 \rightarrow 6)-[2,3,5-tri-O-acetil- α -L-arabinofuranozil-(1 \rightarrow 2)]-3,4-O-izopropilidén- β -D-galaktopiranozil-(1 \rightarrow 6)-1,2:3,4-di-O-izopropilidén- α -D-galaktopiranozil (**61**).- 97.5 mg (0.047 mmol) **55** nonaszacharid akceptort reagáltattam 30 mg (1.5 ekv.) **30** donorral és 10 μl TMSOTf-tal aktiváltam a **31** vegyületnél szereplő recept szerint. Oszlopkromatográfias tisztítás után (DKM: Ac= 82:18) 40 mg **61** nonaszacharidot izoláltam (35%). $[\alpha]_{\text{D}} -47.21^\circ$ (c 0.2224, CHCl_3). MALDI-TOF: 2325.95

[M+Na⁺], számított: C₉₉H₁₃₈O₆₁, 2325.77 [M+Na⁺]. Az ¹H- és ¹³C-NMR adatok a 3. és 4. táblázatban találhatóak.

β-D-Galaktopiranozil-(1→6)-[α-L-arabinofuranozil-(1→2)]-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-β-D-galaktopiranozil-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-[α-L-arabinofuranozil-(1→2)]-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-D-galaktóz (5).- 31 mg (15 μmol) **59** oktaszacharidról a **2** vegyületnél leírt módon távolítottam el a védőcsoportokat és 6.1 mg (33%) **5** szabad oktaszacharidot kaptam. [α]_D -8.42° (c 0.0713, H₂O), MALDI-TOF: 1277.27 [M+Na⁺], számított: C₄₆H₇₈O₃₉, 1277.41 [M+Na⁺]. Az ¹H- és ¹³C-NMR adatok a 3. táblázatban találhatóak.

β-D-Galaktopiranozil-(1→6)-[α-L-arabinofuranozil-(1→2)]-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-β-D-galaktopiranozil-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-[α-L-arabinofuranozil-(1→5)-α-L-arabinofuranozil-(1→2)]-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-D-galaktóz (6).- 23 mg (10 μmol) **60** nonaszacharidról a **2** vegyületnél leírt módon távolítottam el a védőcsoportokat és 7.3 mg (53%) **6** szabad nonaszacharidot nyertem. [α]_D -20.00° (c 0.0060, H₂O), MALDI-TOF: 1410.74 [M+Na⁺], számított: C₅₁H₈₆O₄₃, 1410.22 [M+Na⁺]. Az ¹H- és ¹³C-NMR adatok a 3. táblázatban találhatóak.

β-D-Galaktopiranozil-(1→6)-[α-L-arabinofuranozil-(1→5)-α-L-arabinofuranozil-(1→2)]-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-β-D-galaktopiranozil-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-[α-L-arabinofuranozil-(1→2)]-β-D-galaktopiranozil-(1→6)-D-galaktóz (7).- 31.6 mg (13.7 μmol) **61** nonaszacharidról a **2** vegyületnél leírt módon távolítottam el a védőcsoportokat és 12.1 mg (64%) **7** szabad nonaszacharidot nyertem. [α]_D -23.86° (c 0.1006, H₂O), MALDI-TOF: 1411.01 [M+Na⁺], számított: C₅₁H₈₆O₄₃, 1410.22 [M+Na⁺]. Az ¹H- és ¹³C-NMR adatok a 3. táblázatban találhatóak.

1. táblázat. Az 44 és 4 vegyület ^1H NMR adatai és $^3J_{\text{H1,H2}}$ csatolási állandó értékek

Gyűrű/szénatom		δ (ppm)			$^3J_{\text{H1,H2}}$ (Hz)			
		44	4		44	4		
			α	β		α	β	
A	1	5.207	5.44	4.75	$J_{1,2}$	4.91	3.07	8.0
	2	4.113	3.99	3.68	$J_{2,3}$	7.88		
	3	4.447			$J_{3,4}$	2.36		
	4	4.171			$J_{4,5}$	7.87		
	5	3.960			$J_{5,6}$	2.0		
	6	4.201			$J_{6,6'}$	10.4		
	6'	3.567						
B	1	4.359	4.70		$J_{1,2}$	8.2		7.5
	2	3.940	3.84		$J_{2,3}$	10.5		
	3	4.738	4.16		$J_{3,4}$	4.8		
	4	4.078			$J_{4,5}$	10.3		
	5	3.93			$J_{5,6}$	6.1		
	6	4.048			$J_{6,6'}$	10.3		
	6'	3.780						
C	1	5.679	5.48		$J_{1,2}$	> 1		< 3
	2	5.066	4.37		$J_{2,3}$	3.5		
	3	5.647	4.14		$J_{3,4}$	3.4		
	4	5.582	4.34		$J_{4,5}$	> 1		
	5	4.895	3.9		$J_{5,5'}$	12.0		
	5'	4.825						
D	1	4.647	4.63		$J_{1,2}$	8.0		7.5
	2	5.093	3.73		$J_{2,3}$	9.5		
	3	5.210			$J_{3,4}$	3.6		
	4	5.380			$J_{4,5}$	3.6		
	5	3.900			$J_{5,6}$	2.0		
	6	3.819			$J_{6,6'}$	10.4		
	6'	3.682						
E	1	4.509	4.74		$J_{1,2}$	7.7		7.5
	2	3.940	3.818		$J_{2,3}$	10.4		
	3	5.031	4.163		$J_{3,4}$	3.4		
	4	5.474			$J_{4,5}$	3.6		
	5	3.989			$J_{5,6}$	1.8		
	6	4.130			$J_{6,6'}$	9.3		
	6'							
F	1	5.495	5.48		$J_{1,2}$	> 1		< 3
	2	5.066	4.37		$J_{2,3}$	3.4		
	3	5.647	4.14		$J_{3,4}$	1.4		
	4	5.415	4.38		$J_{4,5}$	1.6		
	5	4.823	3.92		$J_{5,5'}$	12.0		
	5'	4.710						

2. táblázat. A **42**, **43**, **44** és a **4** vegyületek ^{13}C -NMR kémiai eltolódás és $^1J_{\text{Cl,H}}$ csatolási állandó értékei

Gyűrű/ szénatom	δ (ppm)					$^1J_{\text{Cl,H}}$ (Hz)		
	42	43	44	4α	4β	4α	4β	
A	1	96.27	96.15	96.77	93.05	97.09	170.2	161.4
	2	70.65	70.60	70.66	73.55	72.56		
	3	70.90	70.85	71.52				
	4	70.35	70.29	72.27				
	5	67.52	67.35	67.96				
	6	68.91	68.90	70.36				
B	1	103.27	103.05	102.01	102.72		161	
	2	78.01	71.04	75.40	73.32			
	3	78.66	78.81	81.65	69.51			
	4	73.66	73.61	74.63				
	5	72.65	72.31	72.85				
	6	69.51	69.12	69.70				
C	1			104.65	108.91		176	
	2			81.65	81.64			
	3			78.41	77.54			
	4			83.14	85.21			
	5			64.20	61.89			
D	1	101.27	101.22	102.01	103..88		161	
	2	71.88	71.85	71.60	71.44			
	3	68.75	68.69	69.63				
	4	67.28	66.77	67.96				
	5	70.66	70.70	70.36				
	6	67.05	67.04	67.28				
E	1	103.53	103.17	102.52	102..72		161	
	2	75.98	67.87	75.40	76.78			
	3	72.97	73.03	73.57	69.51			
	4	68.91	68.90	68.32				
	5	73.66	73.15	73.15				
	6	61.22	61.31	62.02				
F	1			106.72	108.91		176	
	2			81.15	81.64			
	3			78.41	77.54			
	4			82.91	85.04			
	5			64.28	62.07			

3. táblázat. Az 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 5, 6 és 7 vegyületek ¹³C-NMR adatai

	Anomer szénatomok	Primer vázszénatomok	Védőcsoportok
53	96.24 (C-1), 100.40 (dupla), 101.31, 101.34, 103.43	61.09, 66.32, 67.09, 65.68, 68.89, 69.32	CH _{3ac} : 20.56, CH _{3CO} :169.19-170.28, CH _{3ip} : 24.24-27.54, C _{kvat,ip} :108.42, 109.23, 109.93, 110.43, -CH ₂ -Naf: 74.67, -CH ₂ -Ph: 72.98
54	96.24 (C-1), 100.32 (dupla), 101.00, 102.96, 103.32	61.11, 63.43, 66.29, 68.43, 68.57, 69.32	CH _{3ac} :20.58, CH _{3CO} :169.15-170.45, CH _{3ip} : 23.02-27.48, C _{kvat,ip} :108.19, 109.21, 109.93, 110.54, -CH ₂ -Ph: 73.03
55	96.19 (C-1), 100.44 (dupla), 101.06, 101.75, 103.50, 106.13 (C-1, Araf)	61.12, 63.05 (C-5, Araf), 66.33, 66.59, 68.61, 68.89, 69.31	CH _{3ac} :20.46, CH _{3CO} :169.20-170.35, CH _{3ip} : 24.15-27.96, C _{kvat,ip} :108.40, 109.13, 109.92, 110.63, -CH ₂ -Ph: 73.01
56	96.18 (C-1), 100.36 (dupla), 101.03, 101.59, 103.42, 105.21(C-1, Araf), 105.82 (C-1, Araf)	61.12, 63.02 (C-5, Araf), 64.72 (C-5, Araf), 66.35 (dupla), 68.60, 68.92, 69.41	CH _{3ac} :20.82, CH _{3CO} :169.05-170.89, CH _{3ip} : 24.03-27.34, C _{kvat,ip} :108.32, 108.82, 109.60, 110.38, -CH ₂ -Ph: 72.96
57	96.08 (C-1), 100.40, 100.50, 101.51, 101.77, 103.09, 106.03 (C-1, Araf)	61.06, 62.95 (C-5, Araf), 66.27, 66.56, 68.75, 68.88, 68.99	CH _{3ac} :20.61, CH _{3CO} :169.11-171.02, CH _{3ip} : 24.11-27.33, C _{kvat,ip} :108.68, 109.40, 110.11, 110.58
58	96.09 (C-1), 100.40, 100.57, 101.22, 101.63, 103.12, 105.24 (C-1, Araf), 105.77 (C-1, Araf)	61.04, 63.04 (dupla, C-5, Araf), 64. 68, 66.29, 68.77, 68.94 (dupla)	CH _{3ac} :20.33, CH _{3CO} :169.58-170.10, CH _{3ip} : 24.81-27.59, C _{kvat,ip} :108.63, 109.38, 110.12, 110.57
59	96.50 (C-1), 100.99 (dupla), 101.51, 101.72, 102.37, 103.87 (C-1, Araf), 106.61 (C-1, Araf)	61.60, 63.53 (C-5, Araf), 64.21 (C-5, Araf), 67.02, 67.32, 66.78, 69.19, 69.59	CH _{3ac} :21.22, CH _{3CO} :169.46-170.32, CH _{3ip} : 24.58-30.05, C _{kvat,ip} :108.44, 109.36, 110.10, 110.47
60	96.52 (C-1), 101.03 (dupla), 101.53, 101.76, 102.41, 103.81, 105.43 (C-1, Araf), 106.66 (C-1, Araf)	61.59, 63.57 (C-5, Araf), 63.80 (C-5, Araf), 65.40, 66.86, 69.03, 69.51, 69.79	CH _{3ac} :20.95, CH _{3CO} :169.55-170.28, CH _{3ip} : 24.66-30.05, C _{kvat,ip} :108.32, 108.91, 110.08, 110.58
61	96.50 (C-1), 101.03 (dupla), 101.52, 101.83, 102.27, 103.86 (C-1, Araf), 105.84, 106.35 (C-1, Araf)	61.58, 63.63 (C-5, Araf), 64.73 (C-5, Araf), 65.39, 67.51, 67.83, 69.16, 69.57, 69.88	CH _{3ac} :21.20, CH _{3CO} :169.48-170.19, CH _{3ip} : 24.59-30.05, C _{kvat,ip} :108.32, 108.96, 110.22, 110.62
5	92.78, 96.81, 102.34, 102.50, 103.74 (dupla), 108.68 (dupla)	61.43, 61.74 (dupla), 69, 15 (tripla), 69.65 (dupla)	
6	92.77, 96.80, 102.50 (dupla), 103.74, 107.76, 108.70(dupla)	61.40, 61.65, 67.18, 69.13 (tripla), 69.67(tripla)	
7	92.76, 96.80, 102.49 (dupla), 103.73 (dupla), 107.72, 108.75 (dupla)	61.43, 61.67, 66.40 (dupla), 67.24, 69.16 (tripla), 69.65	

4. táblázat. Az **59**, **60** és **61** vegyületek ^1H - és ^{13}C -NMR kémiai eltolódási értékei és a csatolási állandók értékei

	δ (ppm)	δ (ppm)	$^3J_{\text{H}_1,\text{H}_2}$ (Hz)	$^1J_{\text{C}_1,\text{H}_1}$ (Hz)
59	96.50	5.422	(szingulett)	178
	100.99	4.46	8.2	158
	100.99	4.47	7.9	160
	101.51	4.28	7.2	159
	101.72	4.63	8.0	161
	102.37	4.48	7.9	158
	103.87	5.42	(szingulett)	178
	106.61	5.21	(szingulett)	179
60	96.52	5.38	(szingulett)	178
	101.03	4.480	8.2	163
	101.03	4.482	9.6	163
	101.53	4.31	8.7	161
	101.76	4.67	8.0	163
	102.41	4.483	7.8	163
	103.81	5.38	(szingulett)	178
	105.43	5.18	(szingulett)	178
	106.66	5.21	(szingulett)	178
61	96.50	5.50	(szingulett)	179
	101.03	4.490	8.2	158
	101.03	4.493	8.0	185
	101.52	4.28	8.7	157
	101.83	4.62	8.8	160
	102.27	4.496	7.8	160
	103.86	5.41	(szingulett)	178
	105.84	5.18	(szingulett)	176
	106.35	5.22	(szingulett)	178

5. IRODALOMJEGYZÉK

- 1) Lasky, L. A., *Science*, 258, (1992), 964.
- 2) Blithe, D.L., *Trends in Glycoscience & Glycotechnol.*, 5, (1993), 964.
- 3) Varki, A., *Glycobiology*, 3, (1993), 97.
- 4) Albersheim, P., Darvill, A.G., *Sci. Am.*, (1986), 44.
- 5) Fincher, G.B., Stone, B.A., Clarke, A.E., *Ann. Rev. Plant. Physiol.*, 34, (1983) 47.
- 6) Anderson, D.M.W., Farquhar, J.G.K, *Phytochemistry*, 18, (1979), 609.
- 7) Lamport, D.T.A., *Recent. Adv. Phytochem.*, 11, (1977), 79.
- 8) Cho, Y.P., Chrispeels, M.J., *Phytochemistry*, 15,(1976), 165.
- 9) Hoson, T., *Int. Rev. Cytol.*, 130, (1991), 233.
- 10) Smith, E., Roberts, K., Hutchings, A., Galfre, G., *Planta*, 161, (1984), 330.
- 11) Moore, P.J., Darvill, A.G., Albersheim, P., Staehelin, L.A., *Plant Physiol.*, 82, (1986), 787.
- 12) Knox., J.P., Linstead, P.J., King, J., Cooper, C., Roberts, K., *Planta*, 181, (1990), 512.
- 13) Hoson, T., Nevins, D.J., *Plant Physiol.*, 90, (1989), 1353.
- 14) Kaku, H., Shibata, S., Satsuma, Y., Sone, Y., Misaki, A., *Phytochemistry*, 25, (1986), 2041.
- 15) Steffan, W., Kovač, P., Albersheim. P., Darvill, A.G., Hahn, M.G., *Carbohydr. Res.*, 275, (1995), 295.
- 16) Puhlmann, J., Bucheli, E., Swain, M.J., Dunning, N., Albersheim, P., Darvill, A.G., Hahn, M.G., *Plant Physiol.*, 104, (1994), 699.
- 17) Ádám, V., Dux, L., Faragó, L., Fésüs, L., Machovich, R., Mandl, J., Sümegi, B., *Orvosi biokémia*, Medicina Könyvkiadó Rt., Budapest, (2002).
- 18) Ritteshaus, E., Ulrich, J., Weiss, A., Westphal, K., *Bioengineering*, 5, (1989), 28.
- 19) Wagner, H.: szóbeli információ.
- 20) Wagner, H., Proksch, A., Riess-Maurer, I., Vollmar, A., Odenthal, S., Stuppner, H., Jurcic, Le Turdu, M., Heur, Y. H, *Arzneim. Forsch.*, 34, 6, (1984), 659.
- 21) Proksch, A., Wagner, H., *Phytochemistry*, 26, 7, (1987), 1989.
- 22) Wagner, H., Stuppner, H., Schäfer, Zenk, M., *Phytochemistry*, 27, 1, (1988), 119.
- 23) Fügedi, P., Lipták, A., *Magy. Kém. Lapja*, XLII, (1987), 179.
- 24) Fügedi, P., Lipták, A., *Magy. Kém. Lapja*, XLII, (1987), 226.
- 25) Fügedi, P., Lipták, A., *Magy. Kém. Lapja*, XLII, (1987), 308.

- 26) Bochkov, A. F., Zaikov, G. E., *Chemistry of the O-glycosidic bond: Formation and cleavage*, Pergamon Press, Oxford, (1979).
- 27) Boons, G.-J., *Carbohydrate Chemistry*, Thomson Science, London, (1998), 98.
- 28) Boons, G.-J., *Oligosaccharide synthesis, Organic synthesis with carbohydrates*, Sheffield Academic Press, (2000), 103.
- 29) Schmidt, R. R., *Comprehensive organic synthesis*, Pergamon Press, Oxford, 6, (1991), 33.
- 30) Kaji, E., Lichtenthaler, W., *Trends in Glycoscience & Glycotechn.*, 5, (1993), 121.
- 31) Lipták, A., Fügedi, P., Szurmai, Z., *Handbook of oligosaccharides, Vol. I., Disaccharides*, Boca Raton, FL., USA, (1990), CRC Press INC.
- 32) Lipták, A., Szurmai, Z., Harangi, J., Fügedi, P., *Handbook of oligosaccharides, Vol. II., Trisaccharides*, Boca Raton, FL., USA, (1990), CRC Press INC.
- 33) Lipták, A., Szurmai, Z., Fügedi, P., Harangi, J., *Handbook of oligosaccharides, Vol. III., Higher oligosaccharides*, Boca Raton, FL., USA, (1991), CRC Press INC.
- 34) Sinay, P., *Pure Appl. Chem.*, 50, (1978), 1437.
- 35) Sinay, P., *Pure Appl. Chem.*, 63, (1991), 519.
- 36) Toshima, K., Tatsuta, K., *Chem. Rev.*, 92, (1993), 1503.
- 37) Collins, P. M., Ferrier, R. J., *Monosaccharides*, 2nd Ed., John Wiley & Sons INC, Chichester, (1995), 415.
- 38) Wong, C.-H., Whitesides, G. M., *Enzymes in synthetic organic chemistry*, Tetrahedron Organic Chemistry Series, Vol. 12, Pergamon, (1995).
- 39) Ferrier, R.J., Hay, R.W., Vethaviasar, N., *Carbohydr. Res.*, 27, (1973), 55.
- 40) Lönn, H., *Carbohydr. Res.*, 135, (1985), 105.
- 41) Fügedi, P., Garegg, P.J., *Carbohydr. Res.*, 149, (1986), C9.
- 42) Anderson, F., Birberg, W., Fügedi, P., Garegg, P.J., Nashed, M., Pilotti, Å., *ACS Symp. Ser.*, 386, (1989), 117.
- 43) Veeneman, G.H., van Leeuwen, S.H., van Boom, J.H., *Tetrahedron Lett.*, 31, (1990), 1331.
- 44) Pougny, J.-R., Jacquinet, J.-C., Nassr, M., Milat, M.-L., Sinay, P., *J. Am. Chem. Soc.*, 99, (1977), 6762.
- 45) Schmidt, R.R., Michel, J., *Angew. Chem.*, 92, (1980), 763.
- 46) Schmidt, R.R., Grundler, G., *Synthesis*, (1981), 885.
- 47) Ernst, B., Hart, G.W., Sinay, P., *Carbohydrates in Chemistry and Biology*, Vol. I., Wiley-VCH, Weinheim, (2000).

- 48) Kovensky, J., Duchaussoy, Ph., Petitou, M., Sinay, P., *Tetrahedron: Asymmetry*, **7**, (1996), 3119.
- 49) Koenigs, W., Knorr, E., *Ber.*, **34**, (1901), 957.
- 50) Helferich, B., Weis, K., *Chem. Ber.*, **89**, (1956), 314.
- 51) Helferich, B., Zirner, J., *Chem. Ber.*, **95**, (1962), 2604.
- 52) Kronzer, F.J., Schuerch, C., *Carbohydr. Res.*, **27**, (1973), 379.
- 53) Hanessian, S., Banoub, J., *Carbohydr. Res.*, **53**, (1977), C13.
- 54) Mukaijama, T., Murai, Y., Shoda, M. S., *Chem. Lett.*, (1979), 487.
- 55) Hashimoto, S., Hayashi, M., Noyori, R., *Tetrahedron, Lett.*, **25**, (1984), 1379.
- 56) Srivastava, V. K., Schuerch, C., *Carbohydr. Res.*, **79**, (1980), C13.
- 57) Ogawa, K., Beppu, K., Nakabayashi, S., *Carbohydr. Res.*, **93**, (1981), C6.
- 58) Kothetkov, N.K., Bochkov, A.F., Sokolovskaya, T.A., Snyatkova, V.J., *Carbohydr. Res.*, **16**, (1971), 17.
- 59) Fraser-Reid, B., Meritt, J.R., Handlon, A.L., Andrews, C.W., *Pure Appl. Chem.*, **65**, (1993), 779.
- 60) Halcomb, R.L., Danishefsky, S.J., *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, (1989), 6661.
- 61) Kanie, O., Ito, Y., Ogawa, T., *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, (1994), 12073.
- 62) Roy, R., Anderson, F.O., Letellier, M., *Tetrahedron Lett.*, **33**, (1992), 6053.
- 63) Müller, M., Huchel, U., Geyer, A., Schmidt, R.R., *J. Org. Chem.*, **64**, (1999), 6190.
- 64) Kocięński, P.J., *Protecting groups*, Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, (1994).
- 65) Greene, T.W., Wuts, P.G.M., *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2nd Ed., John Wiley & Sons, Inc., (1991).
- 66) Fisher, E., *Ber.*, **28**, (1895), 1145.
- 67) Clode, D.M., *Chem. Rev.*, **79**, (1979), 461.
- 68) Verhart, C.G.J., Caris, B.M.G., Zwanenburg, B., Chittenden, G.F.J., *Recl.Trav. Chim. Pays-Bas*, **111**, (1992), 348.
- 69) Lipták, A., Fügedi, P., Kerékgyártó, J., Nánási, P., *Carbohydr. Res.*, **113**, (1983), 225.
- 70) Gelas, J., Horton, D., *Carbohydr. Res.*, **71**, (1979), 103.
- 71) Barili, P.L., Berti, G., Catelani, G., Colonna, F., Marra, A., *Tetrahedron Lett.*, **27**, (1986), 2307.
- 72) Barili, P.L., Catelani, G., Colonna, F., Marra, A., Cerini, S., Lamba, D., *Carbohydr. Res.*, **177**, (1988), 29.
- 73) Pozsgay, V., Glaudemans, C.P.J., Robbins, J.B., Schneerson, R., *Carbohydr. Res.*, **244**, (1993), 259.

- 74) Willson, T.M., Kocienski, P., Jarowicki, K., Isaac, K., Hitchcock, P.M., Faller, A., Campbell, S.F., *Tetrahedron*, **46**, (1990), 1767.
- 75) Posner, G.H., Rogers, D.Z., *J. Am. Chem. Soc.*, **99**, (1977), 8208.
- 76) Chen, S.-H., Horvath, R.F., Joglar, J., Fisher, M.J., Danishefsky, S.J., *J. Org. Chem.*, **56**, (1991), 5834.
- 77) Cruzado, C., Bernabe, M., Martin-Lomas, M.J., *J. Org. Chem.*, **54**, (1989), 2247.
- 78) Sviridov, A.F., Ermolenko, M.S., Yashunsky, D.V., Borodkin, V.S., Kotchetkov, N.K., *Tetrahedron Lett.*, **28**, (1987), 3839.
- 79) Gaunt, M.J., Yu, J., Spencer, J.B., *J. Org. Chem.*, **63**, (1998), 4172.
- 80) Wright, J.A., Yu, J., Spencer, J.B., *Tetrahedron Lett.*, **42**, (2001), 4033.
- 81) Xia, J., Abbas, S.A., Locke, R.D., Piskory, C.F., Alderfer, J.L., Matta, K.L., *Tetrahedron Lett.*, **41**, (2000), 169.
- 82) Liao, W., Locke, R.D., Matta, K.L., *Chem. Commun.*, (2000), 369.
- 83) Lipták, A., Borbás, A., Jánossy, L., Szilágyi, L., *Tetrahedron Lett.*, **41**, (2000), 4949.
- 84) A. Borbás, Szabó, Z.B., Szilágyi, L., Bényei, A., Lipták, A., *Tetrahedron*, **58**, (2002), 5723.
- 85) Mori, M., Ito, Y., Ogawa, T., *Carbohydr. Res.*, **192**, (1982), 131.
- 86) Zhang, Z., Magnusson, G., *Carbohydr. Res.*, **295**, (1996), 41.
- 87) Timmers, C.M., Wigchert, S.C.M., Leeuweburgh, M.A., van der Marel, G.A., van Boom, J.H., *Eur. J. Org. Chem.*, (1998), 91.
- 88) Du, Y., Pan, Q., Kong, F., *Synlett*, **10**, (1999), 1648.
- 89) Du, Y., Pan, Q., Kong, F., *Carbohydr. Res.*, **323**, (2000), 28.
- 90) Ning, J., Wang, H., Yi, Y., *Tetrahedron Lett.*, **43**, (2002), 7349.
- 91) Borbás, A., Jánossy, L., Lipták, A., *Carbohydr. Res.*, **318**, (1999), 98.
- 92) van Grunenbergh, H., Brecht, C., Freudenberg, W., *J. Am. Soc. Chem.*, **60**, (1938), 1507.
- 93) Garegg, P.J., Johansson, R., Samuelsson, B., *Acta Chem. Scand. Ser. B*, **36**, (1982), 249.
- 94) Glaudemans, C.P.J., Zissis, E., Jolley, M.E., *Carbohydr. Res.*, **40**, (1975), 129.
- 95) Fletcher, H.G. Jr., *Methods Carbohydr. Chem.*, **2**, (1963), 228.
- 96) Barresi, F., Hindsgaul, O., *Can. J. Chem.*, **2**, (1994), 1477.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

Az oligoszacharinok és az arabinogalaktán-proteinek a növényi sejtfa-fragmensei, melyek fitobiológiai, immunológiai, sőt humánbiológiai szempontból is fontos szerepet játszanak. Az *Echinacea purpurea* (lángvörös kasvirág) kivonata humán immunrendszert stimuláló hatással bír, a magas farmakológiai aktivitást a kivonatok arabinogalaktán tartalmához rendelik. A hatásért felelős oligoszacharidok pontos szerkezete nem ismert, ezért célul tűztük ki a feltételezett szerkezettel analóg epitóp vegyületek szintézisét.

Sikerült megvalósítani egy olyan arabinogalaktán-típusú oligoszacharid-sorozat szintézisét, melynek szerkezete analóg a biológiai aktivitást hordozó vegyületek feltételezett struktúrájával. A doktori munkám során előállítottam olyan tri-, tetra-, hexa-, okta- és két izomer nonaszacharidot, melyek szerkezete megfelel az alábbi követelménynek: β -(1 \rightarrow 6)-kötésű galaktán vázzal rendelkeznek, melynek minden második vagy harmadik galaktopiranozil egysége kettes pozícióban α -L-arabinofuranozil- vagy α -L-arabinofuranozil-(1 \rightarrow 5)- α -L-arabinofuranozil elágazást tartalmaz.

Biológiai vizsgálatok során lehetőség nyílik annak eldöntésére, hogy az immunológiai aktivitással bíró epitóp milyen hosszúságú galaktán láncot tartalmaz, megválaszolható, hogy hány darab arabinozil elágazásra van szükség és egymáshoz képest milyen távolságra helyezkednek el valamint reményeink szerint megtudhatjuk, hogy mono- vagy diszacharid elágazások kívánatosak az immunválasz kiváltásához.

A kísérleti eredmények közé tartozik számos magas tagszámú oligoszacharid szintézise, valamint egy új α -(1 \rightarrow 5)-kötésű diarabinozid donor előállítása. Preparatív munkám során sikeresen alkalmaztam a MIP-módszert, eredményes ortogonális védőcsoport-stratégiát dolgoztam ki, mely jelentősen redukálta az oligoszacharidok szintéziséhez szükséges lépések számát. Sikeresen összehangoltam a benzil-, (2-naftil)metil-, 4-metoxifenil és az izopropilidén acetálok alkalmazását, vizsgáltam kompatibilitásukat, alkalmazásuk korlátait, mely remélhetően alkalmazásra talál egyéb komplex oligoszacharidok szintézisében.

7. SUMMARY

Among the plant tissue glycoproteins the arabinogalactan-proteins are the most widespread representatives in nature. Their presumed biological function is participation in cell-cell adhesion, communication and morphogenesis.

The medical use of the cell-cultured exudates of *Echinacea purpurea* has long been known and the polysaccharide components of these extracts were systematically investigated. Most recently an arabinogalactan fraction possessing promising biological activity was isolated. Although the exact structure of these oligosaccharides is unknown, monoclonal antibodies directed against epitopes of the polysaccharides can provide useful and fast structural information.

Monoclonal antibodies play an important role in the structure determination of plant polysaccharides. Their production or the evaluation of their specificity requires well-defined oligosaccharides which are epitopes of the antigens. Unfortunately only a limited number of the L-arabinose and D-galactose containing synthetic oligosaccharides is known. Study of the structure of arabinogalactans isolated from the cell-cultured *Echinacea purpurea* required a series of exactly identified oligosaccharides.

The present work summarizes the results of the synthesis of an arabinogalactan-type oligosaccharide series having β -(1 \rightarrow 6)-linked galactan skeleton and each second or third unit was α -L-arabinofuranosylated or α -L-arabinofuranosyl-(1 \rightarrow 5)- α -L-arabinofuranosylated at position 2.

Our key reaction was the MIP-method: treatment of a free β -D-galactopyranosyl unit with 2,2-dimethoxy-propane in the presence of an acid catalyst gives a 3,4-*O*-isopropylidene-6-*O*-(methoxydimethyl)methyl- β -D-galactopyranosyl building block. On the other hand we successfully employed the suitable tuning of benzyl-, (2-naphthyl)methyl-, 4-methoxyphenyl- and isopropylidene *O*-protecting groups.

Firstly, an arabinogalactan tetra- and pentasaccharides were synthesized, possessing common β -(1 \rightarrow 6)-linked trigalactan skeleton. The known 3,4-*O*-isopropylidene-6-*O*-(methoxydimethyl)methyl-D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-1,2;3,4-di-*O*-isopropylidene- α -D-galactopyranose (**12**) was (2-naphthyl)methylated at position 2', the MIP-group was removed by acetic acid and the obtained disaccharide acceptor (**25**) was glycosylated using acetobromo-galactose as donor compound to furnish trisaccharide **26**. The NAP-group could be selectively removed by DDQ or CAN, yielding the trisaccharide acceptor **27**, which was glycosylated with two different arabinosyl donor compounds **30** and **37** to give the fully

protected tetra- (**31**) and pentasaccharide (**38**), respectively. For the deprotection of these products common procedures were applied: Zemplén deacylation and consecutive hydrolysis of the isopropylidene acetals by trifluoroacetic acid resulted in the free oligosaccharides **1** and **2**.

Secondly, an arabinogalactan hexasaccharide (**3**) was synthesized having arabinosyl branches at position 2' and 2'''. The known digalactoside **19** was converted into digalactoside donor **41** and acceptor **39**, and coupling of them in the presence of TMSOTf resulted in the tetrasaccharide **42**. The benzyl groups of the latter were hydrogenolysed to furnish the tetrasaccharide acceptor **43**, which was glycosylated with arabinosyl bromide tri-*O*-benzoate (**13**) to yield the fully protected hexasaccharide **44**. Deprotection by deacylation and subsequent acid hydrolysis afforded the free hexasaccharide **3** in good yield.

Thirdly, an octa- (**5**) and two isomeric nonasaccharides (**6** and **7**) were prepared having the common β -(1 \rightarrow 6)-linked hexagalactan skeleton, which was synthesized by 3+3 block synthesis. The trigalactoside acceptor was prepared from compound **39**, and was transformed into compound the **49** in 5 steps, yielding the acceptor having 2'-*O*-Bn group. The glycosyl donor was synthesized from compound **26** *via* a trichloroacetimidoyl donor **52** having a 2'-*O*-NAP group. TMSOTf-activated glycosylation gave the hexagalactan-skeleton **53**, from which the *O*-NAP group was selectively removed by DDQ. The hexagalactan acceptor **54** was coupled with arabinosyl donor **30** and diarabinosyl donor **37**, to get the heptasaccharides **55** and **56**. These compounds were transformed into the acceptors **57** and **58** by catalytic hydrogenolysis of the benzyl ethers. Heptasaccharide **57** was coupled with donors **30** and **37** yielding the fully protected octa- (**59**) and nonasaccharides (**60**). Octasaccharide **58** was glycosylated with donor **30** to give the other isomeric nonasaccharide **61**. Common procedures were used for the deprotection: Zemplén deacetylation and subsequent acid hydrolysis of the isopropylidene acetals, and we could isolate the free octa- (**5**) and two isomeric arabinogalactan nonasaccharides (**6** and **7**).

In summary, we provided an efficient synthesis of a branched arabinogalactan-type oligosaccharide series. As oligosaccharides remain challenging synthetic targets, the introduction and the use of the MIP-method and its combination with NAP and benzyl ethers will hopefully find application in the synthesis of other complex oligosaccharides.

8. Publikációk jegyzéke

A dolgozat témakörében megjelent közlemények jegyzéke:

1. Csávás, M., Borbás, A., Jánossy, L., Batta, Gy., Lipták, A.
Synthesis of the α -L-Araf-(1 \rightarrow 2)- β -D-Galp-(1 \rightarrow 6)- β -D-Galp-(1 \rightarrow 6)-[α -L-Araf-(1 \rightarrow 2)]- β -D-Galp-(1 \rightarrow 6)-D-Gal hexasaccharide as a possible repeating unit of the cell-cultured exudates of *Echinacea purpurea* arabinogalactan
Carbohydr. Res., **336** (2001) 107-115.
2. Csávás, M., Borbás, A., Szilágyi, L., Lipták, A.
Successful combination of (methoxydimethyl)methyl (MIP) and (2-naphthyl)methyl (NAP) ether for the synthesis of arabinogalactan-type oligosaccharides
Synlett, **6** (2002) 887-890.
3. Csávás, M., Borbás, A., Jánossy, L., Lipták, A.
Synthesis of an arabinogalactan-type octa- and two isomeric nonasaccharides. Suitable tuning of protecting groups
Tetrahedron Lett., **44** (2003) 631-635.

Publikáció egyéb témában:

1. Borbás, A., Szabovik, G., Antal, Zs., Fehér, K., Csávás, M., Szilágyi, L., Herczegh, P., Lipták, A.
Sulfonic acid analogues of the sialyl Lewis X tetrasaccharide
Tetrahedron: Asymmetry, **11** (2000) 549-566.

A dolgozat körében bemutatott előadások és poszterek jegyzéke:

1. Csávás, M., Borbás, A., Jánossy, L., Batta, Gy., Lipták, A.
Anticipated repeating unit of the cell-cultured exudates of *Echinacea purpurea* arabinogalactan. Synthesis of the α -L-Araf-(1 \rightarrow 2)- β -D-Galp-(1 \rightarrow 6)- β -D-Galp-(1 \rightarrow 6)-[α -L-Araf-(1 \rightarrow 2)]- β -D-Galp-(1 \rightarrow 6)-D-Gal hexasaccharide
Annual Meeting of the Committee of Carbohydrates of Chemistry of the Hungarian Academy of Sciences. 2001, Mátrafüred, Hungary.
2. Csávás, M., Borbás, A., Jánossy, L., Batta, Gy., Lipták, A.

Az *Echinacea purpurea* sejtenyészetéből izolált arabinogalaktánban ismétlődő egységként előforduló hexaszacharid szintézise

MKE-Vegyészkonferencia , 2001, Hajdúszoboszló.

3. Csávás, M., Borbás, A., Jánossy, L., Batta, Gy., Lipták, A.

Synthesis of the anticipated repeating hexasaccharide unit of the cell-cultured exudates of *Echinacea purpurea* arabinogalactan

11th European Carbohydrate Symposium, 2001, Lisszabon, Portugal.

4. Csávás, M., Borbás, A., Jánossy, L., Lipták, A.

Synthesis of an arabinogalactan-type oligosaccharide series

Annual Meeting of the Committee of Carbohydrates of Chemistry of the Hungarian Academy of Sciences. 2002, Mátrafüred, Hungary.

5. Csávás, M., Borbás, A., Jánossy, L., Lipták, A.

Suitable tuning of protecting groups. Synthesis of an arabinogalactan-type oligosaccharide series

Summer Course Glycosciences. 7th European Training Course on Carbohydrates, 2002, Wageningen, The Netherlands.

Előadások és poszterek egyéb témákban:

1. Csávás, M., Borbás, A., Lipták, A.

Synthesis of the sulfonic-acid analogues of the sialyl Lewis X tetrasaccharide

2nd East-European Carbohydrate Workshop, 1999, Güstrow, Germany.

2. Csávás, M., Borbás, A., Lipták, A.

Szénhidrát ligandumok szulfonsav analógjainak szintézise

OTDK Konferencia, 2001, Gödöllő