



Új típusú szénhidrát bázisú polimerek szintézise

Doktori (PhD) értekezés

Bakai-Bereczki Ilona

Témavezető: Dr. Zsuga Miklós

Debreceni Egyetem
Természettudományi Doktori Tanács
Kémiai Doktori Iskola
Debrecen, 2008

*Ezen értekezést a Debreceni Egyetem Természettudományi Doktori Tanács ..Kémiai...Doktori Iskola ..K/4..programja keretében készítettem a Debreceni Egyetem természettudományi doktori (PhD) fokozatának elnyerése céljából.
Debrecen, 200.....*

a jelölt aláírása

Tanúsítom, hogy ..Bakai-Bereczki Ilona... doktorjelölt 2004- 2007 között a fent megnevezett Doktori Iskola ..K/4..programjának keretében irányításommal végezte munkáját. Az értekezésben foglalt eredményekhez a jelölt önálló alkotó tevékenységével meghatározóan hozzájárult. Az értekezés elfogadását javasolom.

Debrecen, 200.....

a témavezető aláírása

Új típusú szénhidrát bázisú polimerek szintézise

Értekezés a doktori (Ph.D.) fokozat megszerzése érdekében
a kémia tudományágban

Írta: Bakai-Bereczki Ilona, okleveles vegyész.

Készült a Debreceni Egyetem, TTK Kémiai Doktori Iskolája
(Makromolekuláris és felületi kémia, K/4 programja) keretében.

Témavezető: Dr. Zsuga Miklós

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Dr.
tagok: Dr.
Dr.

A doktori szigorlat időpontja: 200.....

Az értekezés bírálói:

Dr.
Dr.
Dr.

A bírálóbizottság:

elnök: Dr.
tagok: Dr.
Dr.
Dr.
Dr.

Az értekezés védésének időpontja: 200.....

Köszönetnyilvánítás

Köszönetemet fejezem ki témavezetőmnak *Dr. Zsuga Miklós*nak a Debreceni Egyetem Alkalmazott Kémiai Tanszék egyetemi tanárának, hogy lehetővé tette doktori munkám elvégzését az Alkalmazott Kémiai Tanszéken, és hogy hasznos tanácsaival segítette disszertációm elkészülését.

Köszönettel tartozom *Dr. Herczegh Pálnak*, a Debreceni Egyetem OEC Gyógyszerészi Kémiai Tanszék tanszékvezető egyetemi tanárának, hogy laboratóriumában lehetővé tette számomra a kísérletes munkám elvégzését, és hogy mindig bátran fordulhattam hozzá kérdéseimmel.

Köszönöm *Dr. Kéki Sándornak*, az Alkalmazott Kémiai Tanszék vezetőjének, hogy lehetővé tette számomra a tömegspektrometriás mérések elvégzését, hasznos tanácsait.

Baráti köszönet illeti *Nagy Lajos* PhD hallgatót a rengeteg segítségért, a baráti beszélgetésekért, és hogy bármikor zaklathattam kérdéseimmel, problémáimmal.

Köszönettel tartozom *Dr. Batta Gyulának* és *Józsa Sándorné Éva* néninek az NMR mérésekért; *Dr. Kandra Lilinek*, *Dr. Gyémánt Gyöngyinek*, *Dr. Zajác Ágnesnek* az enzimgátlás-mérésekért; *Dr. Deák Györgynek* a GPC mérésért.

Köszönöm *Dr. Kiricsi Imrének* a zeolit katalizátorokat, és *Dr. Kuzmann Jánosnak* az 1,6-dibróm-1,6-didezoxi-D-mannitolt.

Ezúton szeretnék köszönetet mondani az Alkalmazott Kémiai Tanszék és a Gyógyszerészi Kémiai Tanszék összes munkatársának minden segítségért, és a jó munkahelyi hangulat megteremtéséért.

Hálával tartozok a *férjemnek* és a *családomnak* a türelméért, a rengeteg segítségért, és a nyugodt, biztos háttérért, ami nélkül ez a disszertáció nem jöhetett volna létre.

Munkámhoz az anyagi háttérrel az OTKA T 042740, T 62213, T 42512, T 049468, M 28369 és M 36872, MU-00204/2001 és a RET 006/2004 számú pályázatai biztosították. Köszönöm továbbá a Celladam Rt.-nek, hogy a MALDI-TOF MS mérésekhez szükséges készüléket a tanszékünk rendelkezésére bocsátotta.

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés	1
1.1 Szénhidrát alapú polimerek előállítása.....	3
1.1.1 A szénhidrátok gyűrűfelnyílásos polimerizációja	4
1.1.1.1 Az anhidro-cukrok gyűrűfelnyílásos polimerizációja	4
1.1.1.2 Anhidro-hexitol származékok gyűrűfelnyílásos polimerizációja (ciklopolimerizáció)	6
1.1.1.3 Az 1,2,4-ortoészter típusú monomerek gyűrűfelnyílásos polimerizációja.....	7
1.1.2 Polimerizálható csoportokat tartalmazó szénhidrátok polimerizációja.....	8
1.1.2.1 A vinil-szénhidrát monomerek polimerizációja.....	8
1.1.3 Enzimes és enzim-közvetített polimerizáció (kemo-enzimes módszerek).....	9
1.1.4 Polimeranalóg reakciók.....	10
2. Glikálok polikondenzációja	11
2.1 Glikálok.....	12
2.1.1 A glikálok felhasználása α -amiláz enzim gátlására.....	12
2.1.2 Glikálok előállítása.....	15
2.1.3 A glikálok reakciói	19
2.1.4 Addíciós reakciók.....	19
2.1.4.1 Poláris addíciók	19
2.1.4.2 Cikloaddíciós reakciók.....	20
2.1.5 Az OH-csoportok reakciói	24
2.1.6 Átrendeződéses reakciók.....	25
2.1.6.1 Átrendeződéses reakciók O-nukleofilekkel	26
2.1.6.2 Átrendeződéses reakciók S- és N-nukleofilek jelenlétében	28
2.1.6.3 Átrendeződéses reakciók C-nukleofilekkel.....	29
2.2 A Ferrier-típusú átrendeződéses reakció felhasználása poliszacharidok szintézisére (saját vizsgálatok)	31
2.2.1 Célkitűzés	34
2.2.2 A célok megvalósítása.....	34
2.2.2.1 A 3,6-di-O-acetil-D-glükál előállítása.....	34
2.2.2.2 A 3,6-di-O-acetil-D-glükál polikondenzációja	36
2.2.2.3 A polimer dezacetilezése.....	42
2.3 Kísérleti rész.....	44
3. Polidiszulfid szénhidrátok.....	53
3.1 Diszulfidok előállítása.....	55
3.2 Tiol-diszulfid kicserélődési reakció	65
3.2.1 Dinamikus kombinatorikus kémia	67
3.3 Szénhidrát bázisú polidiszulfidok (saját vizsgálatok)	72
3.3.1 Célkitűzés	73
3.3.2 A célok megvalósítása.....	73
3.3.2.1 A monomer szintézise	73
3.3.2.2 Az 1,6-ditio-D-mannitol polikondenzációja	77
3.3.2.3 A templáteffektus tanulmányozása	83
3.3.2.4 A tetraetilén-glikol és a polietilén-glikol ditio-származékának oxidációja	88
3.3.3 Kísérleti rész.....	93
4. Összefoglalás	101
5. Summary	103

6. Rövidítések jegyzéke	109
7. Irodalomjegyzék	110
8. Tudományos közlemények és konferenciárészvételek	117
8.1 Az értekezés témájában megjelent közlemények	117
8.2 Az értekezés témájában elhangzott előadások	117
8.3 Az értekezés témájában bemutatott poszter	118
8.4 Egyéb poszter	118

1. Bevezetés

Az elmúlt néhány évtizedben a környezetvédelem fontossá válása és a kőolaj drágulása elindított egy folyamatot, mely egyre inkább előtérbe helyezi a megújuló nyersanyagok használatát. A figyelem központjába a szénhidrátok kerültek. A szénhidrátok igen nagy mennyiségben fordulnak elő a természetben, és rendkívül változatos formákban. Számos különböző funkciót töltenek be az élő szervezetekben. Lehetnek támasztó vagy vázanyagok, növényi és bakteriális sejtfalak építőelemei (cellulóz, peptidoglikánok), tartalék energiaforrások (keményítő, glikogén), és információ hordozására is alkalmasak (glikokonjugátumok). Bár a monoszacharidok is fontos szerepet játszanak a különböző biokémiai folyamatokban, az esetek túlnyomó részében a szénhidrát alegységeket tartalmazó glikozidok, oligo- és poliszacharidok a biológiai, biokémiai folyamatok főszereplői.

A szénhidrátkémiai kutatási témák egyik legfontosabb területe a biológiailag aktív oligoszacharidok előállítása, ám ezek soklépéses szintézise igen bonyolult, hosszadalmas folyamat. A legtöbb ilyen oligomer felhasználása jelenleg az orvosbiológia területére korlátozódik.

A polimerkémiai kutatási témák között egyre nagyobb szerepet kap a biológiailag lebontható polimerek szintézise, és ezen belül a szénhidrát alapú polimerek előállítása. A természetes eredetű monoszacharidok, diszacharidok, oligoszacharidok, esetleg poliszacharidok alapanyagul szolgálhatnak szénhidrát bázisú polimerek szintéziséhez.

A polimerkémia egy másik kiemelkedő kutatási területe a polimerek funkcionálásával foglalkozik. Ezen belül egyre nagyobb figyelmet kap a szénhidrát molekulák szintetikus polimerekhez való kapcsolása. Ezzel a módszerrel új, kedvező tulajdonságokat lehet bevinni a polimerbe. A polisztirol cukor-funkcionálásával például biológiailag lebontható polimereket lehet előállítani.

A természetes és mesterséges poliszacharidok felhasználása széleskörű. A keményítőt például a textilipar keményítésre, a gyógyszeripar adalékanyagként használja, de ilyen segédanyag a karboximetil-keményítő nátrium sója is. A mikrokristályos cellulózt szintén segédanyagként használja a gyógyszeripar. A karboximetil-cellulóz és a nátrium-karboximetil-cellulóz az E-466-os számú emulgeálószerként ismert, illetve a karboximetil-cellulózt tapétaragasztóként is használják. A dextrán vérkészítményként használatos a vérplazma pótlására [1]. Az inulin [2] egyfajta természetes polifruktóz, növényi rost, mely

prebiotikumként ismert étrendkiegészítő és édesítőszerként is forgalmazzák. A hialuronán is egy természetes glikopolimer, amely az ízületek kenőanyagaként szolgál, de felhasználják mesterséges beültethető szemlencsék gyártására is [3].

A ciklodextrin felhasználhatósága igen széleskörű, és ez egyre inkább növekvő tendenciát mutat [4]. A ciklodextrin azért különleges, mert henger alakú molekula, amelynek belső oldala inkább hidrofób, míg a külső felülete hidrofil. Legnagyobb mennyiségben az élelmiszer- és kozmetikaipar használja fel, de fontosak a gyógyszeripari alkalmazásai is vízben rosszul, vagy vízben nem oldódó gyógyszer-molekulák molekuláris kapszulázására.

Az elmúlt években újfajta poliszacharidszintézis-módszerek kidolgozásával foglalkoztam az Alkalmazott Kémiai Tanszék és a Gyógyszerészi Kémiai Tanszék szoros együttműködésében. A doktori disszertációmban két új típusú, szénhidrát bázisú polimer szintéziséről számolok be. Az egyik egy hagyományos értelemben vett poliszacharid, amelyet 3,6-di-*O*-acetil-D-glükázból állítottam elő Ferrier-típusú átrendeződéses reakcióval. A másik pedig egy lineáris mannitol származékot tartalmazó szénhidrát oligomerkeverék, amelyben a monomeregységek diszulfid-hidakon keresztül kapcsolódnak egymáshoz.

1.1 Szénhidrát alapú polimerek előállítása

Poliszacharidoknak (glikánok) azokat a makromolekulákat nevezzük, amelyekben nagyszámú monoszacharid egység (glikóz) egymáshoz glikozidos kötéssel kapcsolódik. Vannak természetes és mesterséges poliszacharidok is. A mesterséges poliszacharidokat kétféleképpen állíthatjuk elő: a természetes poliszacharidok kémiai módosításával, vagy kémiai szintézissel. A poliszacharidokon kívül ismertek más szénhidrát bázisú polimerek is. Ilyenek például a poli(vinil-szacharidok), melyeknek van egy szintetikus C-C-alapvázuk, amihez szénhidrát molekulák kapcsolódnak. Mivel a szénhidrátok a mikroorganizmusok számára jó tápanyagforrások, a poli(vinil-szacharidok) esetén megvan az a lehetőség, hogy biológiailag lebontható polimerekként alkalmazzák őket. A módosított poliszacharidoknak ezzel szemben szénhidrát alapvázuk van, amire szintetikus molekulákat kapcsolnak.

A szintetikus szénhidrát polimerek előállítására négy általános módszer ismert [5,6]:

- gyűrűfelnylásos polimerizáció szintetikus poliszacharidok keletkezése közben, ezen belül a legáltalánosabban használt módszer az anhidro-cukrok kationos polimerizációja,
- polimerizálható csoportokat tartalmazó szénhidrátok hagyományos módszerekkel történő polimerizációja, amin belül a legismertebb a vinil-szénhidrát monomerek polimerizációja poli(vinil-szacharidok) keletkezése közben,
- enzimes vagy enzim-közvetített (kemo-enzimes) polimerizációs módszer, mely során cukortartalmú polimerek keletkeznek,
- szénhidrát molekulák funkcionális polimervázra való ojtása polimeranalóg reakciókkal.

Az oligo- illetve a poliszacharidokat lépcsőzetes glikozid-szintézissel is elő lehet állítani, de a reakció bonyolultsága miatt nem használják ezt a módszert poliszacharid szintézisre.

A felsorolt általános módszereken felül létezik néhány specifikus eljárás is, amelyekkel csak az adott poliszacharid állítható elő.

Az általam előállított hex-2-enán szerkeztű poliszacharid szintézise egy teljesen új módszernek tekinthető, a fent említett négy általános módszer egyikébe sem sorolható be. Az 1,6-ditio-D-mannitol oxidatív polikondenzációja pedig a második csoportba tartozik.

Az anhidro-cukrokat általában kationosan polimerizálják gyűrűfelnyílásos polimerizációval, és sztereoreguláris szintetikus poliszacharidokat kapnak. Ezt a módszert kiterjesztették olyan szintetikus polimerek előállítására is, amelyeket anhidro-cukrok halogénezett polimerekre történő ojtásos kopolimerizációjával szintetizálnak. A poli(vinil-szacharidokat) legáltalánosabban vagy a vinil-cukor homopolimerizációjával, vagy pedig a vinil-cukor és más polimerizálható vinil monomer kopolimerizációjával állítják elő. Enzimes reakciókkal olyan lineáris polimereket kaphatunk, ahol a cukormolekulák alkotják a főláncot. Az enzimes reakciók specifikusak, így nem kell a hidroxil-csoportokat védeni a reakció folyamán, de nagyon lassúak. Az enzimesen polimerizálható poliszacharidok száma meglehetősen korlátozott. Az enzim-közvetített polimerizációt poli(vinilszacharidok) szintézisére használják, ahol a polimerizálni kívánt vinil-szacharidot enzim segítségével szintetizálják és a polimerizációt hagyományos módszerekkel viszik véghez. Egy másik lehetséges út szénhidrát polimerek előállítására, ha szintetikus polimerekre szacharid molekulákat ojtunk.

1.1.1 A szénhidrátok gyűrűfelnyílásos polimerizációja

1.1.1.1 Az anhidro-cukrok gyűrűfelnyílásos polimerizációja

Az anhidro-cukrok biciklusos monoszacharidok, amelyek hexóz esetén általában 1,6-, illetve 1,5-anhidrogyűrűt, pentóz esetén pedig általában 1,4-, illetve 1,5-anhidrogyűrűt tartalmaznak. Ezeket leggyakrabban a hagyományos módszerrel, a megfelelő monoszacharid, vagy poliszacharid (mint például a cellulóz, amilóz, vagy mannán) redukzív pirolízisével állítják elő. Ezen kívül ismertek még az 1,3- és 1,2-anhidro-cukrok is. Az anhidro-cukrok gyűrűfelnyílásos polimerizációját a legáltalánosabban kationos polimerizációs módszerrel valósítják meg, és iniciátorként karbónium-iont használnak. A polimerizáció előrehaladását segíti az anhidro-gyűrű feszülése, és a hidroxil-védőcsoportok jelenléte is. Ezek a polimerizációs reakciók nagy tisztaságú monomert és oldószereket kívánnak, emellett a

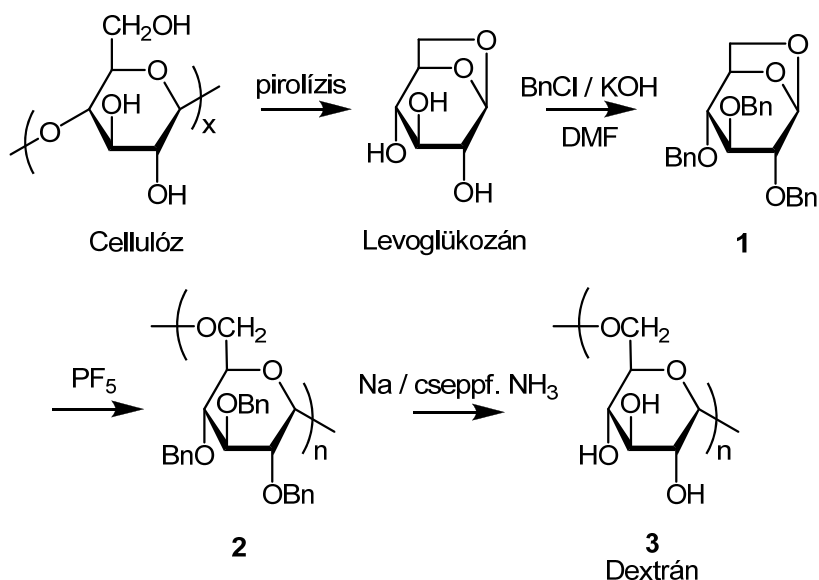
reakció érzékeny a reakcióelegyben levő szennyező nukleofil nyomokra is. A nukleofillekkel szemben mutatott érzékenység korlátozza ezen polimerek tömeges előállításra való alkalmasságát. A módszer előnye abban rejlik, hogy a folyamat során nagy molekulatömegű, sztereoreguláris polimer keletkezik, ami elsőszámú követelmény a sejtek biokémiai folyamatainak tanulmányozásakor.

Az anhidro-cukrok polimerizációjának lehetséges változatai a következők:

- 1,6-anhidro-cukrok polimerizációja
- 1,5-anhidro-cukrok polimerizációja
- 1,4-anhidro-cukrok polimerizációja
- 1,3-anhidro-cukrok polimerizációja
- 1,2-anhidro-cukrok polimerizációja.

Ezek közül a legfontosabbak az 1,6-anhidro-hexózok, és 1,4-anhidro-pentózok gyűrűfelnyílasos polimerizációja.

1966-ban Ruckelnek és Schuerchnek sikerült először sztereoreguláris poliszacharidot előállítani a perbenzilezett levoglükózán (**1**) gyűrűfelnyílasos polimerizációjával, mely során (1→6)- α -D-glükopiránánt (dextránt) (**3**) kaptak termékként (**1. képletábra**) [7].

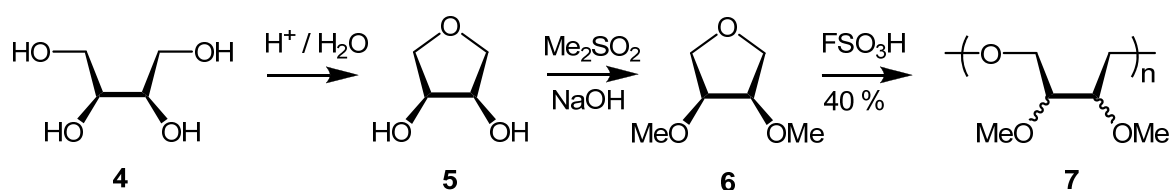


1. képletábra

A dextrán előállítása gyűrűfelnyílasos polimerizációval.

1.1.1.2 Anhidro-hexitol származékok gyűrűfelnyílásos polimerizációja (ciklopolimerizáció)

Az erősen feszült kis gyűrűs oxolánok gyűrűfelnyílásos polimerizációjának a poliéterek szintézisében van jelentősége. A D-eritritolból (4) származó 1,4-anhidro-2,3-di-O-metil-D-eritritol (*cisz*-3,4-dimetoxioxolán) (6) gyűrűfelnyílásos polimerizációjával például poli-oxi(2,3-dimetoxitetrametilén) (7) keletkezik (2. képletábra) [8].



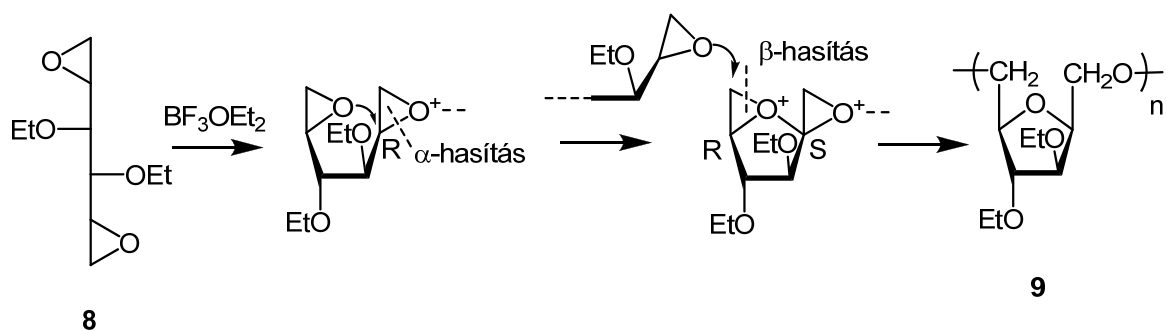
2. képletábra

A D-eritritolból előállítható cisz-3,4-dimetoxioxolán gyűrűfelnyílásos polimerizációja.

Az 1,4:2,5:3,6-trianhidro-D-mannitol polimerizációjakor keresztkötéseket tartalmazó szénhidrát oligomereket kaptak [9].

Az 1,2:5,6-dianhidrohexitolok ciklopolimerizációja az anhidro-cukorszármazékok gyűrűfelnyílásos polimerizációjához hasonló módszer. A ciklopolimerizáció során keletkező polimer szerkezete eltér a gyűrűfelnyílásos polimerizáció során keletkezőétől. Míg az anhidro-cukrok gyűrűfelnyílásos polimerizációjával előállított poliszacharid monomeregységei anomer kötéssel kapcsolódnak, az 1,2:5,6-dianhidrohexitolok ciklopolimerizációja során olyan polimerek keletkeznek, amelyek nem tartalmaznak anomer kötést.

Az 1,2:5,6-dianhidro-3,4-di-O-etil-D-mannitol (8) kationos polimerizációjakor például intramolekuláris gyűrűzáródással poli[(1→6)-2,5-anhidro-3,4-di-O-etil-D-glucitol] (9) keletkezik (3. képletábra) [10].



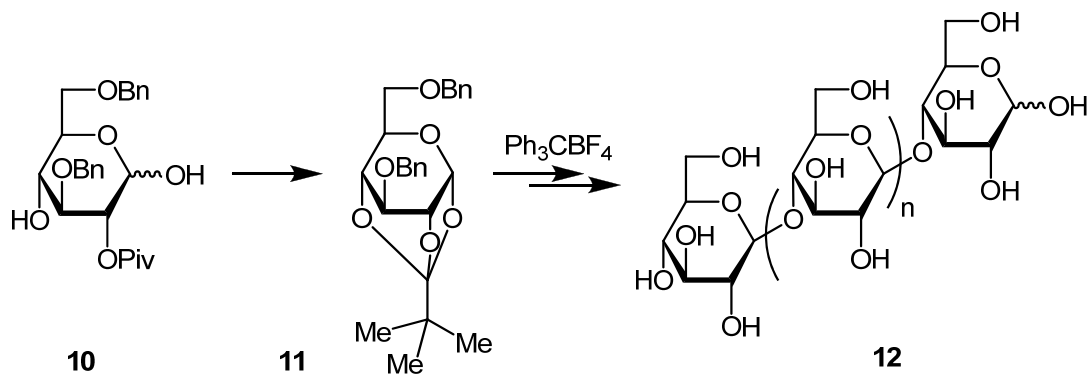
3. képletábra.

Az 1,2:5,6-dianhidro-3,4-di-O-etil-D-mannitol kationos polimerizációja.

A reakció anionosan is végbemegy, ilyenkor iniciátorként általában kálium-terc-butoxidot, vagy kálium-hidroxidot használnak.

1.1.1.3 Az 1,2,4-ortoészter típusú monomerek gyűrűfelynyílásos polimerizációja

Az 1,4-anhidro-piranoz származékokhoz képest sokkal reaktívabbak az 1,2,4-ortoészter származékok. Cellulózt (**12**) lehet például előállítani a 3,6-di-O-benzil- α -D-glükóz 1,2,4-ortopivalát (**11**) származékából a védőcsoportok eltávolítása után (**4. képletábra**) [11].



4. képletábra

Cellulóz előállítása a 3,6-di-O-benzil- α -D-glükóz 1,2,4-ortopivalát származékából.

1.1.2 Polimerizálható csoportokat tartalmazó szénhidrátok polimerizációja

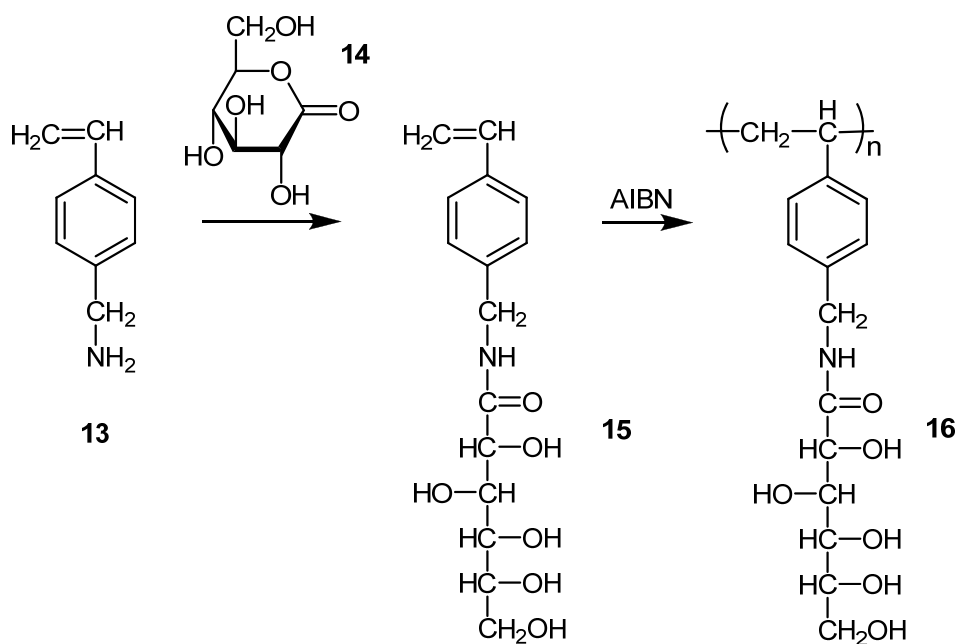
1.1.2.1 A vinil-szénhidrát monomerek polimerizációja

A vinil-cukrok polimerizációja egyre népszerűbb téma a kutatók körében. Ezzel a módszerrel elő lehet állítani vízdoldható és biológiailag lebontható polimereket is.

A szénhidrát oldalláncokat tartalmazó szintetikus polimerek felhasználhatóak arra, hogy segítségükkel tanulmányozzák a sejtek felületén levő proteoglikánokban, glikoproteinekben, glikolipidekben előforduló összetett természetes poli- és oligoszacharidok biológiai szerepét.

A szénhidrátok vinil-éter származékainak polimerizációjára kationos polimerizációs módszer is alkalmazható, ahol katalizátorként bórtrifluorid-éterátot használnak. A legáltalánosabb poli(vinil-szacharid) szintézismódszer a vinil-cukrok szabad gyökös polimerizációján alapul. Itt leggyakrabban AIBN (azo-bisz-*izo*-butironitril) iniciátort használnak vizes közegben, nemvizes közegben pedig benzoil-peroxidot. A polimer vázhoz kapcsolódó cukor-molekulák tetszés szerint kapcsolódhatnak pl. éter, amid, karbamid, vagy észter kötésen keresztül. A cukor és a polimer között lehet „spacer” molekula is, pl. valamilyen alkil-lánc.

Például oligoszacharid oldalláncokat tartalmazó polisztirolt (**16**) lehet előállítani olyan sztírol-származékok gyökös polimerizációjával, amelyeket *p*-vinil-benzilamin (**13**) és oligoszacharid-laktonok összekapcsolásával szintetizálnak [12]. Ilyen sztírol-származék pl. az *N-p*-vinil-benzil-D-glükonsavamid (**15**), amely *p*-vinil-benzilamin (**13**) és D-glükono-1,5-lakton (**14**) összekapcsolásával képződik [13] (**5. képletábra**).



5. képletábra

Az N-p-vinil-benzil-D-glükonsavamid polimerizációja.

1.1.3 Enzimes és enzim-közvetített polimerizáció (kemo-enzimes módszerek)

Ha enzim által katalizált szénhidrát polimerizációról beszélünk, akkor általában poliszacharidok enzimkatalizált bioszintézisére gondolunk. 1991-ben Kobayashi új módszert fejlesztett ki a cellulóz előállítására celluláz enzim által katalizált átglikozilezéssel, ahol a β-cellobiozil-fluorid szerepelt glikozil-donorként [14].

Az enzimek sztereoszelektív katalizátorok, és hatékonyan használhatók szénhidrátbázisú polimerek vagy speciális poli(vinil-szacharidok) szintézisére is. Az enzimes reakciók előnye, hogy vizes és nemvizes közegben is végrehajthatók, és mivel szelektívek, nem szükséges a kiindulási szénhidrát hidroxil-csoportjait védőcsoportokkal ellátni. Az enzimkatalizált reakciók felhasználhatósága korlátozott. A legtöbb ismert enzim csak speciális cukor-származékok szelektív előállítására alkalmas, ezért jelenleg csak néhány típusú vinil-cukor származék szintetizálására használják ezt a módszert. Enzimesen szintetizálható vinil-cukor származékok például a szacharóz 1-akrilát [15], vagy a metil-6-akriloil-β-galaktozid [16].

Az enzimes reakciók egy másik hátránya, hogy nagyon lassúak. Ez a probléma kiküszöbölhető úgynevezett kemo-enzimes módszert használva, ahol a vinil-cukor származékot enzimesen szintetizálják egy lépésben, hidroxil-védőcsoportok alkalmazása nélkül, és a polimerizációt kémiai módszerekkel valósítják meg.

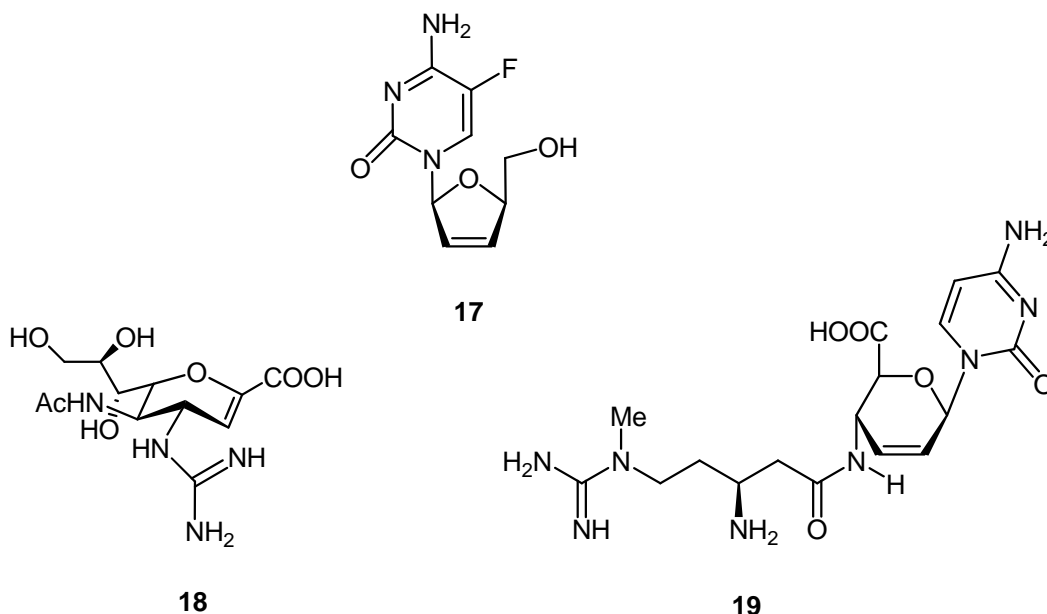
1.1.4 Polimeranalóg reakciók

A poli(vinil-szacharidok)at leggyakrabban a vinil-szacharidok polimerizációjával állítják elő, de polimeranalóg reakciókkal is készíthetünk szénhidrát oldalláncokat tartalmazó polimereket. Az ojtott polimerek tulajdonságai optimálisan befolyásolhatóak és emellett jelentősen növelhető ezen polimerek biológiai lebonthatósága. Ennek ellenére a cukor molekulák szintetikus polimerekre való ojtását eddig még nem vizsgálták mélyrehatóan, ami annak köszönhető, hogy a nagyméretű molekulák polimerláncokra történő kvantitatív ojtása nehéz.

2. Glikálok polikondenzációja

A kettőskötést tartalmazó cukorszarmazékok széles körben használt vegyületek. Ezek a vegyületek alkotják a szintézisekben használt szénhidrátok legváltozatosabb csoportját. Felhasználhatók számos enantiomertiszta vegyület szintézisére, melyek közül sokat a gyógyszerkémiában hasznosítanak. Számos telítetlen cukorszarmazékról kiderült, hogy gyógyhatása van. Például a **17**-es L-nukleozid inhibitora a reverz transzkriptáz enzimnek, és hatékony, szelektív AIDS-ellenes aktivitást mutat [17]. Szintén glikál szerkezetű a szialidáz-inhibitor tulajdonságú influenzaellenes gyógyszer, a Relenza, mely egy telítetlen neuraminsav-analóg (**18**) [18]. Fontos megjegyezni, hogy a glikálokból könnyen készíthetünk 2-amino-2-deoxi cukrokat is, melyeket más úton nehéz előállítani.

A természetben is található néhány telítetlen szénhidrát részt tartalmazó vegyület. Ezen vegyületek ismert példája a blaszticidin S (**19**), mely gátolja a rizsszemek egyik betegségének kialakulását [19]. Egy másik kevésbé ismert példa egy indiai növényből izolált 1,2-telítetlen gyűrűs vegyület, amely egy 2,6-didezoxi-triszacharid [20].



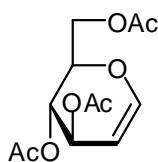
17: *β -L-5-fluoro-2',3'-didezoxi-2',3'-didehidrocitidin (β -L-Fd₄C)*;

18: Relenza; **19:** Blaszticidin S.

2.1 Glikálok

A glikálok vinil-éter típusú vegyületek, az egyes és kettes szénatom között kettőskötést tartalmazó piranoid és furanoid származékok. Az első és a második szénatom között exociklusos kettős kötést tartalmazó 2-ketózokkal analóg vegyületek, ezért ezeket néha exoglikáloknak nevezzük. A glikálok és származékaik szintézisekben való alkalmazás szempontjából a telítetlen szénhidrátszármazékok legfontosabb csoportja. Az utóbbi években több kitűnő összefoglaló munka jelent meg róluk [21,22,23].

A glikálok legjobban ismert és leghasznosabb tagja a kereskedelemben kapható tri-*O*-acetyl-D-glükál (**20**).



20

2.1.1 A glikálok felhasználása α -amiláz enzim gátlására

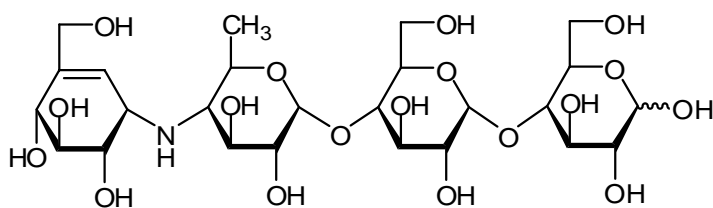
A cukorbetegség (diabetes mellitus) a szervezet anyagcseréjének krónikus megbetegedése. Az elnevezés az egyik főtünetre, a cukor vizelettel való fokozott kiválasztására és a megemelkedett vizeletmennyiségre utal. A betegség oka a hasnyálmirigy által termelt inzulin nevű hormon hiánya, vagy a szervezet inzulinnal szembeni érzéketlensége (inzulinrezisztencia, relatív inzulinhiány), vagy mindkettő. Az abszolút vagy relatív inzulinhiány következtében a sejtek nem képesek a glükóz felvételére, így a vércukorszint megemelkedik, és ez okozza a betegség fő tüneteit.

A cukorbetegségnek több típusa létezik. A kialakulás okai, a tünetek és a kezelés az egyes típusoknál különbözik. A cukorbetegségek különböző fajtái közül a leggyakrabban az 1-es és 2-es típusú diabetes fordul elő.

Az 1-es típusú diabetes mellitus (más néven *inzulinfüggő diabétesz*) autoimmun betegség, melyet abszolút inzulinhiány okoz. Ez a diabétesz bármely életkorban előfordulhat, de leggyakrabban gyermek- és fiatal felnőttkorban jelentkezik.

A 2-es típusú diabetes mellitus (más néven *nem inzulinfüggő diabétesz*) esetében a betegség kezdeti szakaszában a béta-sejtek termelnek inzulint, de az nem fejt ki megfelelően a hatását, mert a sejtek érzéketlenek vele szemben. Ezen érzéketlenség, az ún. inzulinrezisztencia általában az inzulinreceptorok hibás működése következtében alakul ki, és a vércukorszint megemelkedik. A magas vércukorszint, hiperglikémia miatt a béta-sejtek több inzulint próbálnak termelni, hogy az inzulinrezisztenciát kiegyenlítsék. Ez a folyamat kóros inzulintermeléshez vezet, végül az inzulintermelés kimerül. A betegség általában középkorú vagy idős embereknél alakul ki.

A 2-es típusú diabetesben szenvedő betegeket orális antidiabetikummal is kezelik. Ilyen gyógyszer az akarbóz (**21**) is, amely elsősorban az étkezés utáni vércukorszint-emelkedést csökkenti. Az akarbóz egy bakteriális eredetű pszeudotetraszacharid. Hatása azon alapszik, hogy gátolja a bélben lévő emésztőenzimek (α -glikozidázok) működését, amelyek szükségesek a di-, oligo- és poliszacharidok lebontásához. A szénhidrátokból származó szőlőcukor így lassabban szabadul fel, és később szívódik fel. Ily módon az akarbóz késlelteti és csökkenti az étkezés utáni vércukorszint emelkedést. Ezen kiegyenlítő hatás következtében a vércukorszint napi ingadozása csökken, és az átlagos vércukorértékek is mérséklődnek.



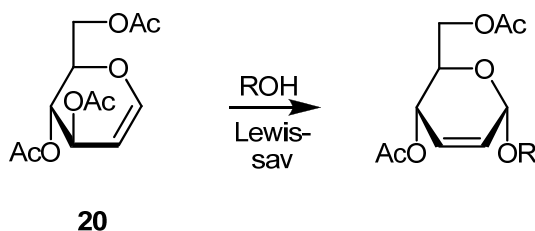
Akarbóz

21

A molekulában található maltobióz egység az enzimhez való kapcsolódást segíti, a karbacukor rész konformációja pedig utánozza a keményítő glikozidos kötésének hidrolízisekor az átmeneti állapot konformációját. A karbacukor glikozidos kötését az α -amiláz enzim nem tudja hasítani, és az NH-csoport erősebben kötődik az enzim aktív centrumához.

Az akarbóz tehát jól használható a keményítő hidrolízisét végző enzimek inhibitoraként, de gyógyszerként használva van egy nemkívánatos, kellemetlen mellékhatása. A vékonybél és a vastagbél enzimeit lebontják a vegyületet, mely során akarbiozin-glükóz és D-glükóz keletkezik. A D-glükóz a vastagbélbe érve mikrobiálisan fermentálódik, ami kellemetlen panaszokat okozhat.

Az α -1,4-amilázok a keményítő és a keményítővel rokon poli- és oligoszacharidok α -1,4-glikozidos kötéseinek hidrolízisét katalizálják. Mint láttuk, az akarbóz molekulában található kettőskötés fontos szerepet játszik az α -amiláz enzim gátlásában. A D-glükál egy olyan glükóz származék, amely az egyes és a kettes szénatom között telítetlen kötést tartalmaz. A tri-*O*-acetyl-D-glükál (**20**) Ferrier-típusú átrendeződéses reakciója (**6. képletábra**) során egy *O*-glikozid keletkezik és a molekula kettőskötése a kettes pozícióba vándorol. A képződő vegyület a jelenlévő kettőskötés miatt utánozhatja a keményítő-hidrolízis átmeneti állapotát. A reakció során főleg α -anomerek keletkeznek, ezért ez a módszer alkalmas lehet kettőskötés(ek)e)t tartalmazó keményítőszármazékok előállítására, amelyek α -amilázgátló hatással rendelkezhetnek. A Ferrier-reakciót diszacharidok szintézisére már felhasználták, de poliszacharidok előállítására eddig még nem.

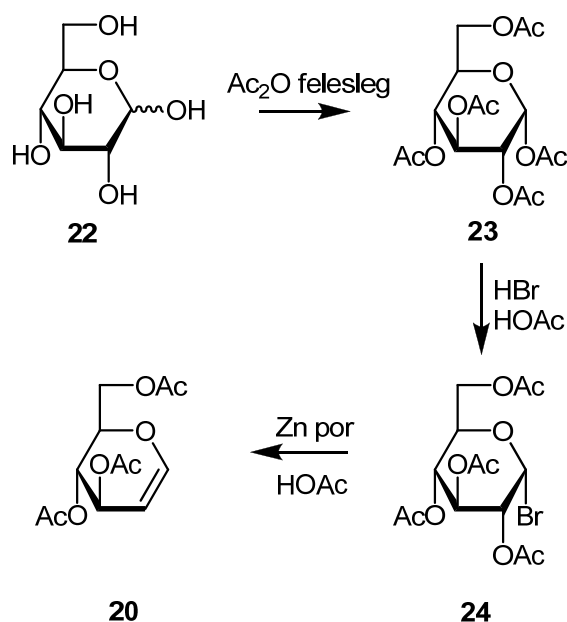


6. képletábra

A glükálok Ferrier-típusú átrendeződéses reakciója alkoholokkal.

2.1.2 Glikálok előállítása

A glikálok előállítását először Fischer és Zach dolgozta ki, mely során tetra-*O*-acetyl- α -D-glükopiranozil-bromidot (**24**) redukáltak cinkporral vizes ecetsavas oldatban (**7. képletábra**) [24]. A módszer hátránya, hogy furanoid glikálok esetén a savas körülmények miatt furánszármazékok keletkeznek.



7. képletábra

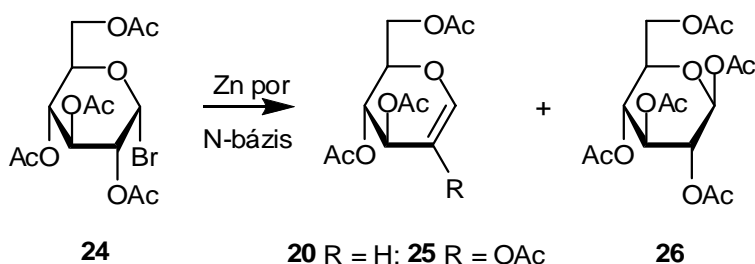
A tri-O-acetyl-D-glükál előállítása.

Néhány módosítás tökéletesítette az eljárást. Kifejlesztettek egy hatékony, egy lombikban végrehajtható háromlépéses reakciót peracetilezett glikál-származékok előállítására. Kiindulási vegyületként redukáló cukrokat használtak, mint pl. D-glükózt, D-galaktózt, L-ramnózt, L-arabinózt, D-maltózt, D-laktózt vagy maltotriózt. A háromlépéses reakció első lépése a redukáló cukor peracetilezése ecetsavanhidrid feleslegében és kevés HBr/ecetsav hozzáadásával. A második lépés az anomer acetát-csoport lecserélése brómra további 5-6 ekvivalens felesleg HBr/ecetsav hozzáadásával. A harmadik lépésben ecetsavas, nátrium-acetát tartalmú $\text{Zn}/\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ szuszpenziót adunk a reakcióelegyhez. A nátrium-acetát semlegesíti a HBr felesleget, míg a Zn/CuSO_4 reduktilvan eliminálja az 1-bróm- és a 2-

acetoxi-csoportokat. Közel 100%-os hozam érhető el ezzel a módszerrel, de nem minden cukor alakítható át ilyen nagy hatékonysággal [25].

Számos próbálkozást tettek arra, hogy aprotikus, savmentes körülmények között állítsanak elő glikál-származékokat. Ezeknek a módszereknek azonban több hátránya is van: például az inert atmoszféra szükségessége, vagy az erősen toxikus reagensek használata. Létezik egy egyszerűbb, széles körben alkalmazható magas hozamú módszer is. A reakció során *O*-acetilezett glikozil-bromidot reagáltatnak cinkporral bázis jelenlétében, különböző oldószerekben. Bázisként használható pl. trietilamin, piridin, 4-metilpiridin vagy 1-metilimidazol. Az alkalmazott bázis minőségével befolyásolható a keletkező termékek aránya. Ha pl. 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-glükopiranozil-bromidot (**24**) reagáltatunk cinkporral egy ekvivalens trietilamin jelenlétében benzolban, reflux alatt, akkor 3,4,6-tri-*O*-acetil-1,5-anhidro-2-deoxi-D-arabino-hex-1-enitolt (**20**) és penta-*O*-acetil- β -D-glükopiranozót (**26**) kapunk 6:4 arányban (**8. képletábra**). Ez az arány teljes mértékben eltolható csak az egyik vagy a másik anyag képződésének irányába, ha trietilamin helyett valamilyen más N-bázist alkalmazunk. Ha 4-metilpiridin vagy 1-metilimidazol van jelen savmegkötőként, 100%-ban a **20**-as vegyületet kapjuk végtermékként, míg ha 2,6-dimetilpiridint alkalmazunk, két termék keletkezik, az egyik a **26**-os, a másik a 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1,5-anhidro-D-arabino-hex-1-enitol (**25**), és a reakcióelegyből nem mutatható ki a **20**-as vegyület [26].

Ez a módszer a legtöbb acetilezett glikozil-bromidra alkalmazható, és belőlük igen jó hozammal kaphatjuk meg a megfelelő *O*-acil-glikálokat.

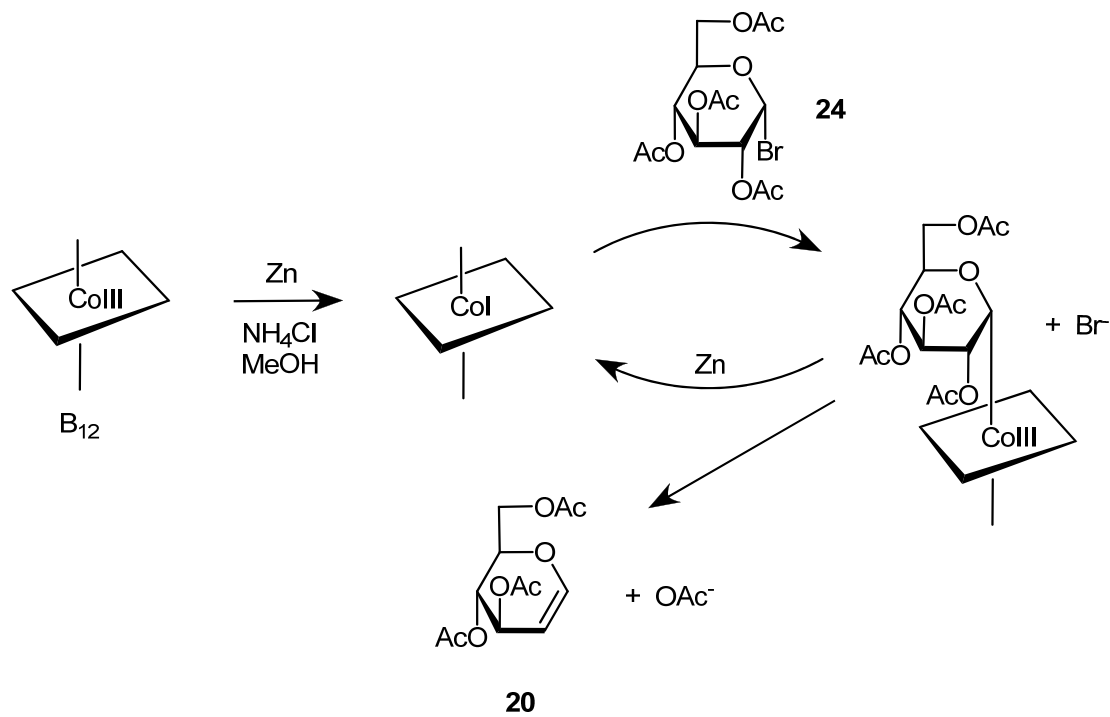


8. képletábra

*A 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-glükopiranozil-bromid reakciója cinkporral bázis jelenlétében.*

Kevés, katalitikus mennyiségű cianokobolamint (B₁₂-vitamint) [Co(III)-forrás] és cinket együtt alkalmazva újabb eredményes módszert kapunk [27]. A Co(III)-t redukálja a cink Co(I)-é, ami feltételezhetően beékelődik a C-halogen kötés közé, és újra Co(III)-má

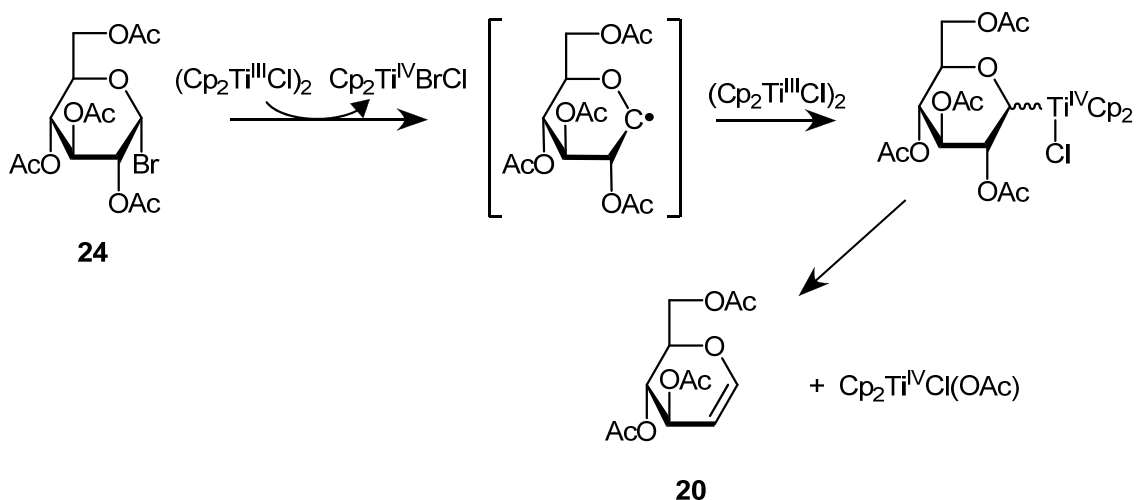
alakul. Ezt követően a Co(III) ismételt redukciójakor a C-fém kötés szétesik, és triacetilglükál (**20**) keletkezik (**9. képletábra**). A reakció metanolban, ammónium-klorid pufferoldat jelenlétében megy végbe. Ez a módszer nem alkalmazható furanoid glükálok előállítására.



9. képletábra

A tri-O-acetil-D-glükál előállítása cianokobalamin és cink jelenlétében.

Schwartz és munkatársai 1999-ben dolgoztak ki egy igen eredményes, enyhe körülmények között végrehajtható módszert, mely során a glikozil-bromidot (**24**) dimer titán(III) reagenssel, $(\text{Cp}_2\text{TiCl})_2$ -vel redukáljuk THF-ban. A reagens segítségével lejátszódik egy gyors elektrontranszfer a brómra, és egy anomer gyök keletkezik. Ezt egy újabb $(\text{Cp}_2\text{TiCl})_2$ redukálja a megfelelő anionná, amelyet a 2-es szénatomon levő acetát-csoport eliminációja kísér (**10. képletábra**)[28].



10. képletábra.

A tri-O-acetil-D-glükál előállítása $(\text{Cp}_2\text{TiCl})_2$ segítségével.

Ez a módszer nemcsak acetál védőcsoportok mellett alkalmazható, hanem használhatunk pl. benzil- és szilil-éter-csoportokat is az OH-csoportok védelmére. A reagens egyetlen hátránya, hogy meglehetősen száraz körülményeket igényel a használata. Ha a $(\text{Cp}_2\text{TiCl})_2$ -t Cp_2TiCl_2 -ből fém redukálószerrel *in situ* állítjuk elő, a módszer egyszerűbbé válik, és magas hozam érhető el [29]. A redukciót különböző módon hajthatjuk végre: például fémekkel (Zn, Al és Mn), vagy közvetlen elektrokémiai redukcióval.

Egy másik, az előzőhöz hasonló módszer glikozil-Cr(III) kötést tartalmazó intermedieren keresztül megy végbe *O*-acetilezett glikozil-bromidok vagy -kloridok és $[\text{Cr}(\text{OAc})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}]$ reakciójakor EDTA jelenlétében [30]. A reakció során jó hozammal *O*-acetilezett piranoid glikálok keletkeznek.

Ha a glikozil-halogenid második szénatomján levő hidroxil-csoporton alkil- vagy alkilidén-szubsztituens található, kálium-grafit laminátot használhatunk reagensként THF-ban piranoid és furanoid glikálok előállítására [31]. Ezzel a módszerrel például tri-*O*-benzil-D-glükált is elő lehet állítani. Azokból a glikozil-halogenidekből, amelyeknek 2,3-*O*-acetál védőcsoportjuk van, olyan glikálokat szintetizálhatunk, amelyeknek a harmadik hidroxil-csoportja szabad.

Ha a kiindulási vegyületben nem észter-csoportokkal védjük a hidroxil-csoportokat, megnő az anomer helyzetben használható távozó csoportok száma. Ebben az esetben glikálszintézisre leggyakrabban használt vegyületek az 1-tioglikozidok, glikozil-szulfonok és glikozil-szulfoxidok.

Habár a glikálok legáltalánosabban eliminációs reakciókkal állíthatóak elő, ezen reakciók alkalmazhatósága korlátozott. A D-glükál és a D-galaktál esetén a kiindulási aldohexóz könnyen hozzáférhető vegyület, de a D-allóz, D-altróz, D-gulóz és a D-idóz viszonylag ritka, és így nem bizonyulnak jó alapanyagoknak. A D-allál és a D-gulál a D-glükál és a D-galaktál C-3 epimerjei. Ezen vegyületek előállíthatóak például az utóbbi két glikál megfelelő epimerizációs reakcióival [32].

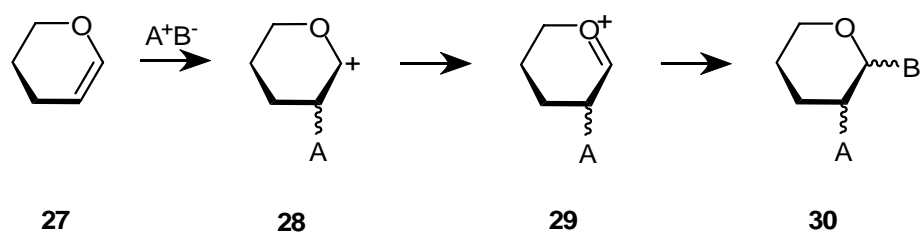
2.1.3 A glikálok reakciói

A glikáloknak és származékaiknak számos addíciós, szubsztitúciós és átrendeződéssel járó reakciója ismert. Sok közülük jó sztereoselektivitást mutat. Ennek következtében a glikálok és származékaik számos vegyülettípus kiindulási anyagaként szolgálnak.

2.1.4 Addíciós reakciók

2.1.4.1 Poláris addíciók

A glikálok kettőskötésére számos anyag addícionálhat ionosan. Nagy jelentőségű vegyületek állíthatók elő ezzel a módszerrel, mint például a 2-dezoxi-, 2-amino-2-dezoxi-glikozidok és –oligoszacharidok. Ezen addíciós folyamatok általában regioszelektívek a gyűrűben levő, enoléter funkciójú oxigén (27) irányító hatása miatt. Az oxigén az elektrofil reagenst a C-2-es pozícióba irányítja, és rezonancia-stabilizált intermedierek jönnek létre (28, 29). Ennek következtében a nukleofil ágens támadása telített termékhez vezet (30) (11. képletábra). Ha az „A” hidrogén, bevihetjük a vegyületbe közvetlenül proton formájában, vagy redukív úton eltávolítható csoportokon keresztül, mint pl. halogének vagy tioéterek redukálásával. De az „A” lehet nitrogéneken keresztül kapcsolódó csoport is, mint pl. azid, amely redukcióval amino-csoporttá alakítható. Ha a nukleofil ágens alkohol, glikozidokat kaphatunk termékként. Ugyancsak glikozidok képződéséhez vezet, ha a nukleofil olyan távozó csoport (pl. halogén), amelyet később könnyen helyettesíthetünk pl. egy alkohollal. Ha az „A” nem hidrogén, 4 lehetséges sztereoiszomer keletkezhet egyenlő eséllyel, ezért fontos követelmény ezen reakciókkal szemben a regioszelektivitás mellett a sztereoselektivitás.



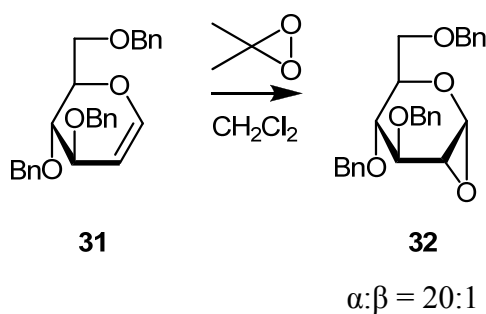
11. képletábra

A glikálok poláris addíciós reakciói.

Ha az „A” hidrogén, csökken a lehetséges sztereoizomerek száma. A víz, alkoholok, fenolok és karbonsavak glikál-származékokra történő savkatalizált addíciója során 2-dezoxi-aldózok, -aldozidok és –aldozil-észterek keletkeznek. A reakció során azonban sav-katalizált átrendeződéssel, és a hidroxil-védőcsoportok eltávozásával melléktermékek keletkezhetnek (erről majd egy későbbi részben bővebben lesz szó). Számos módszert kifejlesztettek arra, hogy meggátolják ezeket a mellékreakciókat. Például ha *O*-acetilezett glikálok hidroxivegyületekkel való reakciójakor trifenilfoszfin-hidrobromidot használunk katalizátorként száraz diklórmetánban szobahőmérsékleten, kizárólag addíciós termék keletkezik [33].

2.1.4.2 Cikloaddíciós reakciók

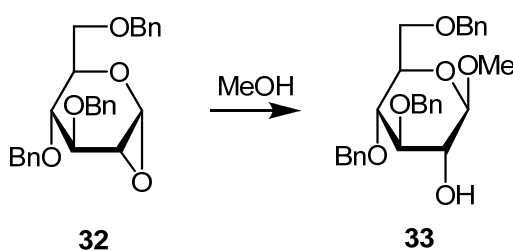
A glikalkémia új korszakát Danishefsky indította el, amikor 1989-ben kimutatta, hogy az éter típusú védőcsoportokat tartalmazó glikálok dimetil-dioxiránnal való reakciója 1,2-anhidro terméket ad [34]. A reakció sztereoselektív, a termék epoxidgyűrűje a 3-as szén szubsztituenséhez viszonyítva anti helyzetű. Tri-*O*-benzil-D-glükál (**31**) esetén pl. 20:1 a szelektivitás aránya (**12. képletábra**) [35], és ha növeljük az *O*-szubsztituensek méretét, pl. *tert*-butildimetilszilil alkalmazunk védőcsoportként, *manno* termék nem jelenik meg az α -glükó-epoxid mellett. Acetil-csoportok jelenlétében az epoxidálás sztereoselektivitása jelentősen lecsökken.



12. képletábra

A tri-O-benzil-D-glükál cikloaddíciós reakciója dimetil-dioxiránnal.

Az α -epoxidokat glikozil-donorokként β -glikozilezésre használják fel. Ha a **32**-es vegyületet tiszta metanolban oldjuk, metanolízis játszódik le, és metil-glikozid keletkezik (**13. képletábra**) [35].



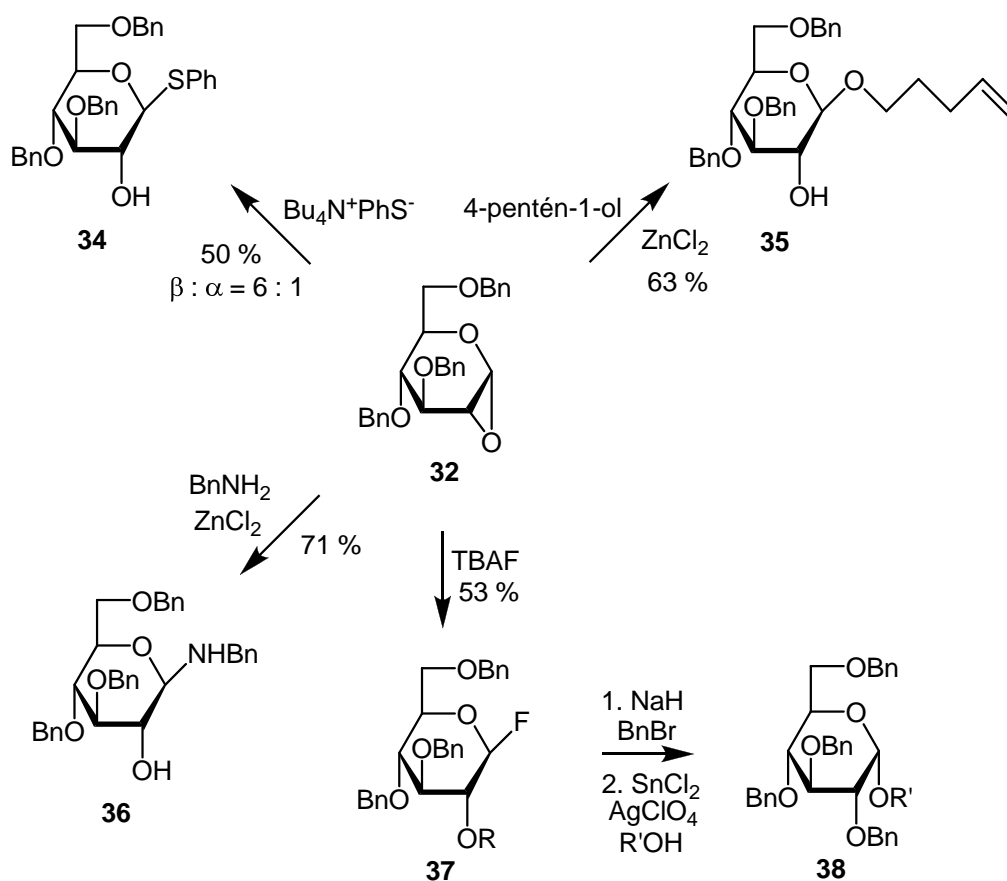
13. képletábra

Az 1,2-epoxidgyűrű felnyitása metanollal.

Más OH-csoportot tartalmazó vegyület is alkalmazható glikozil-akceptorként, pl. egy szabad OH-csoportot tartalmazó cukormolekula, ilyenkor diszacharid keletkezik. Ezekben a reakciókban katalizátor alkalmazására is szükség van, leggyakrabban vízmentes ZnCl_2 -ot használnak. A glikozilezés akceptora maga a glükál is lehet. Így egymás utáni glikozilezéssel oligoszacharidokat állíthatunk elő.

Az epoxidált glükálok 2-dezoxi- β -glikozidok előállítására is felhasználhatók a második szénatomon keletkező szabad OH-csoport átalakításával.

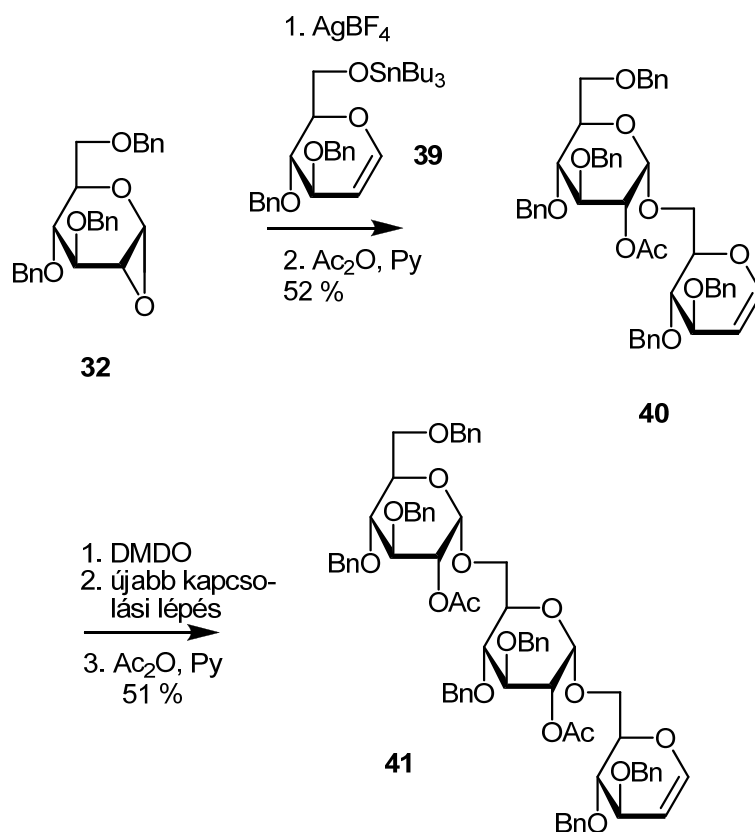
A glükál-epoxidokat leggyakrabban β -O-glikozidok előállítására használják fel, de más glikozidokká is átalakíthatóak (**14. képletábra**) [35]. Készíthetünk például β -tioglikozidokat, β -N-glikozidokat, vagy β -fluoro-glikozidot, amiből α -glikozidokat lehet előállítani.



14. képletábra

Az α -epoxi-glikálok felhasználása.

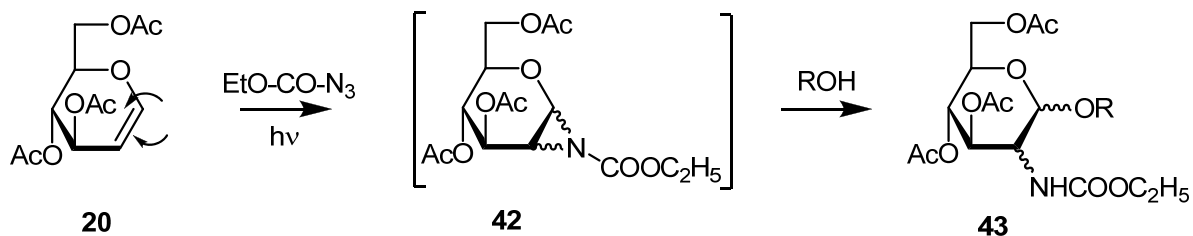
Ezen kívül bizonyos esetekben a glükál-epoxidokból közvetlenül is megkaphatjuk az α -glükozidokat. Ha például a 32-es epoxidot reagáltatjuk a 39-es sztanniléterrel AgBF_4 katalizátor jelenlétében, majd megacetilezzük a keletkező OH-csoportot, akkor a 40-es α -glükozidot kapjuk. Ha újabb ekvivalens reagenst adunk a reakcióelegyhez, a reakció továbbmegy, és triszacharid (41) keletkezik (15. képletábra) [35]. Szekunder glikozil-akceptorral a reakció lassabban és kisebb hozammal megy végbe, a sztereoszelektivitás is kisebb.



15. képletábra

α-Glükozid előállítása α-epoxidból.

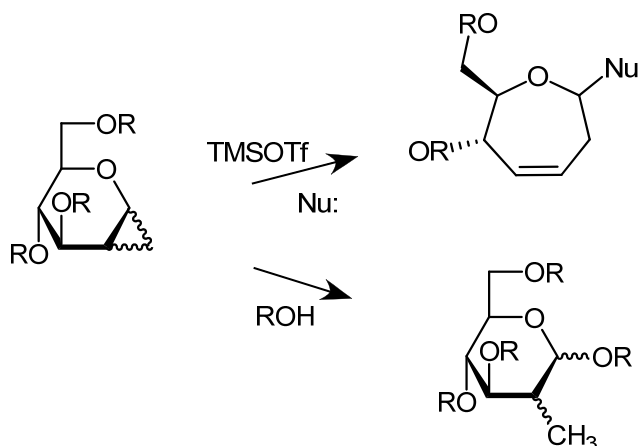
Ha a glikálok kettőskötésére nitrént addicionáltunk, aziridin-származékokat kapunk. Az etil-azidoformiát fotolízise során a vegyület nitrogénmolekulát veszít, és nitrén keletkezik, mely addicionál a glikál kettős kötésére *N*-etoxikarbonil-aziridén képződése közben (42) [36]. A termék könnyen reagál alkoholokkal. Az addíció sztereoselektivitása csekély, és bonyolult termékelegy keletkezik (16. képletábra).



16. képletábra

2-Amino-2-dezoxi-cukrok előállítása glikálokból.

A karbének glikálokra történő addíciója sztereoszелеktiv. A keletkező vegyületeket felhasználhatjuk pl. oxigéntartalmú héttagú gyűrűs vegyületek, vagy hattagú gyűrűs szénhidrát-származékok szintézisére (**17. képletábra**) [37].



17. képletábra

Az 1,2-ciklopropa-glikálok felhasználása.

2.1.5 Az OH-csoportok reakciói

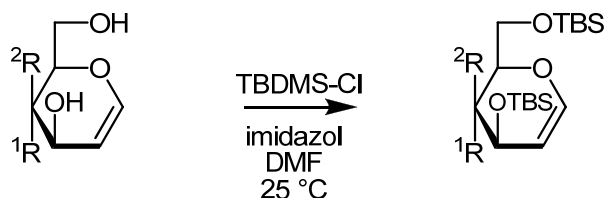
A glikálok közül az *O*-szubsztituált vegyületek a legjelentősebbek. Ezeket a vegyületeket számos szintézisben kiindulási anyagként használják fel.

Ahhoz, hogy a szénhidrátok jó kiindulási anyagok legyenek, fontos hogy közvetlenül és szelektíven lehessen az OH-csoportokat védeni. A szerves kémiai szintéziseknél fontos, hogy a védőcsoport elhelyezését célzó lépések gyorsak és hatékonyak legyenek. A szénhidrátok között a glikálok nagy jelentőséggel bírnak, és a glikálokokon belül is a D-glükálok és a D-galaktálok a legfontosabbak.

A primer hidroxil-csoport szelektíven acilezhető, szulfonilezhető és szililezhető. A 6-*O*-benzoil- és 6-*O*-*tert*-butil-dimetilszilil-D-glükált például közvetlenül elő lehet állítani [38].

3,6-di-*O*-szubsztituált D-glükál és D-galaktál előállításához olyan védőcsoportokat kell alkalmazni, amelyek nagy térkitöltésűek. Használhatunk pl. *tert*-butil-dimetilszilil-kloridot (TBDMS-Cl) reagensként (**18. képletábra**) [39]. A reakció során nagy hozamra számíthatunk. Tri-*O*-szililezett melléktermék csak nagyon kis mennyiségben keletkezik, mert

feltehetően a primer 6-os pozíciójú hidroxil-csoport szilileződik először, és a védőcsoport nagy térkitöltése miatt a 4-es pozícióval szemben a 3-as előnyösebbé válik. Mivel a 4-es OH-csoport szabadon marad, különböző reakciókat hajthatunk végre rajta. Pl. acetilezhető, vagy benzilezhető, majd eltávolítva a szilil-védőcsoportokat, 4-*O*-szubsztituált glikált kapunk [39].



44: D-glükál: $^1R = OH, ^2R = H$

46: D-galaktál: $^1R = H, ^2R = OH$

45: $^1R = OH, ^2R = H$

47: $^1R = H, ^2R = OH$

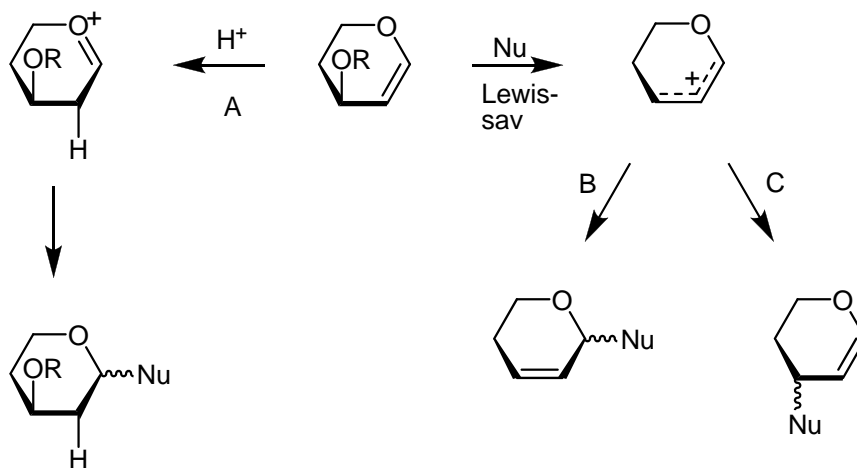
18. képletábra

A 3,6-di-O-t-butil-dimetilszilil-D-glükál és -D-galaktál előállítása.

2.1.6 Átrendeződéses reakciók

Ha a glikálokhoz, vagy a glikálok *O*-szubsztituált származékaihoz protikus sav jelenlétében alkoholt vagy fenolt adunk, 2-dezoxi-glikozidokat kapunk (**19/A képletábra**). A Lewis-sav által katalizált reakcióik (legfőképp az *O*-acilezett glikálok esetén) normál körülmények között meglehetősen eltérő módon mennek végbe; a C-3-as allil-helyzetű szubsztituens eltávozásával köztiterméként egy delokalizált kation keletkezik, mely nukleofil partner jelenlétében 2,3-telítetlen glikoziddá alakul át (**19/B képletábra**). Az ilyen típusú átalakulást Ferrier-féle átrendeződési reakciónak nevezzük [21,22,40]. A reakció során pl. az *O*-acetyl-D-glükál és -galaktál esetén az α -anomerek keletkeznek nagyobb mennyiségben a β -anomerekhez képest 7:1 ill. 10:1 arányban. A **19-es képletábrán** a C reakciót kivételt mutat be, ez a reakciótípus *S*- és *N*-nukleofilek esetén játszódhat le, ahol a reakciótermék látszólag a glikál allil-helyzetű szubsztituensének közvetlen helyettesítésével keletkezik.

A Lewis-sav által katalizált átrendeződéses reakció a 2,3-telítetlen szénhidrátok fő előállítási útvonala. Ezek a reakciók enyhe körülmények között végrehajthatók. A módszer bizonyos mértékben furanoid származékokra is alkalmazható, bár ezek a vegyületek, és a belőlük képződő termékek kevésbé stabilisak, mint a piranoid analógjaik.



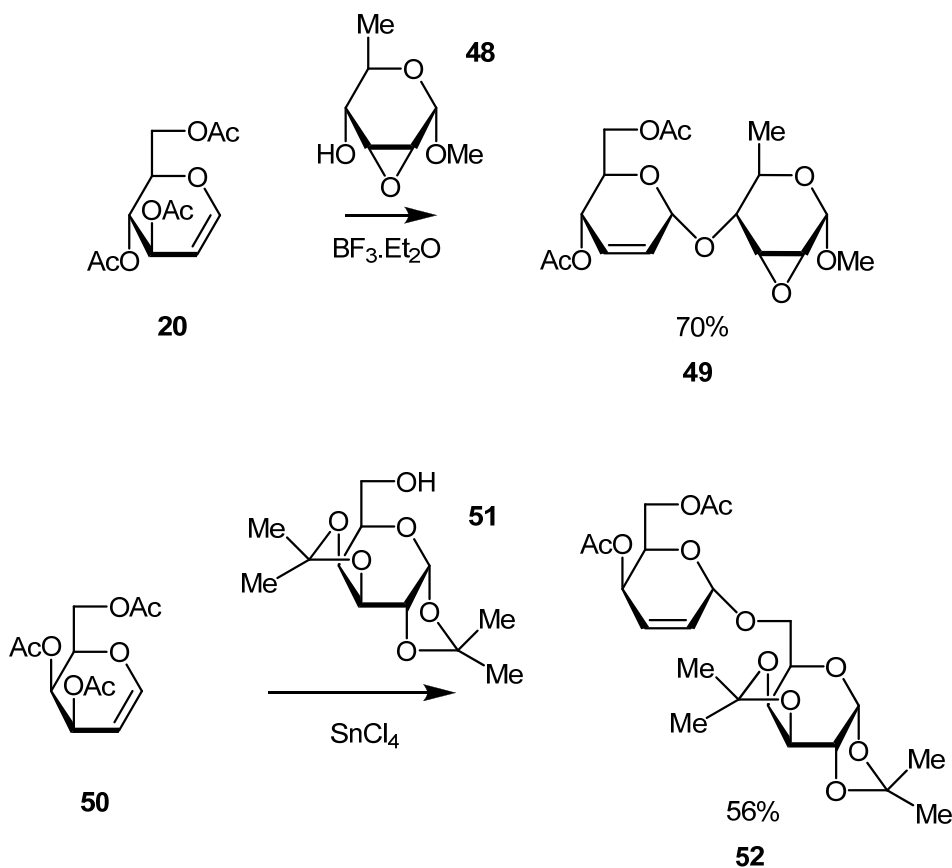
19. képletábra

A glikálok átrendeződéses reakciói.

2.1.6.1 Átrendeződéses reakciók O-nukleofilekkel

A tri-*O*-acetyl-D-glükál hatékonyan reagál alkoholokkal és fenollokkal 2,3-telítetlen glikozidok keletkezése közben. A reakció nem igényel katalizátort, de a nukleofilt feleslegben kell alkalmazni, és a hőmérsékletnek jóval 100°C felett kell lennie. Lewis-sav (leggyakrabban bór-trifluorid-éterát) jelenlétében, inert oldószerben a reakció jó hozammal megy végbe szobahőmérsékleten is. A nukleofilből elegendő ekvimoláris mennyiséget alkalmazni, ekkor a reakcióban főleg α -glikozidok keletkeznek. Tri-*O*-acetyl-D-galaktál esetén a BF₃·OEt₂ hatástalan, helyette ón(IV)-kloridot használnak [21,22]. A Ferrier-reakciókban más Lewis-savakat is alkalmazhatunk. Jó katalizátor pl. az InCl₃, a ZnCl₂, a FeCl₃, az SnCl₂/LiBF₄, a LiBF₄, vagy pl. a Sc(OTf)₃ is.

A **20-as képletábrán** a tri-*O*-acetyl-D-glükál (**20**) és a tri-*O*-acetyl-D-galaktál (**50**) Ferrier-reakciójára láthatunk példát, ahol a nukleofil reagens valamilyen cukorszármazék, és termékként diszacharid keletkezik 70%-os ($\alpha:\beta = 1:0$) [41] ill. 56%-os ($\alpha:\beta = 10:1$) [42] hozammal.



20. képletábra

Példa a tri-O-acetil-D-glükál és a tri-O-acetil-D-galaktál

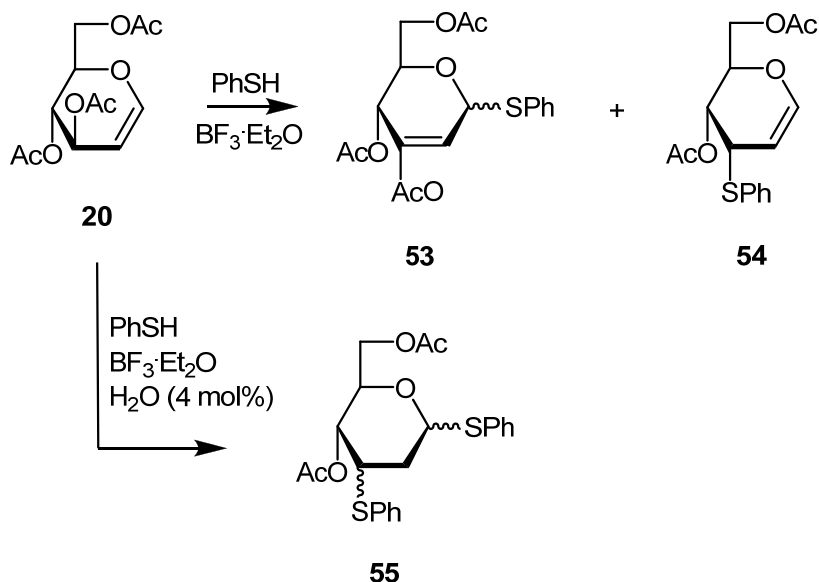
Ferrier-reakciójára.

Azok a glikálok, amelyeknek allil helyzetben hidroxil-csoportjuk van, aktiválhatóak pl. Mitsunobu-reagenssel (Ph_3P , dietil-azodikarboxilát, (DEAD)) [43], vagy pl. DDQ-t (2,3-diklór-5,6-diciano-*p*-benzokinon) használva katalizátorként [44]. Az utóbbi reagens esetén *O*-3-acilezett glikál származékok is használhatóak kiindulási anyagként.

Semleges körülmények között is véghezvihető a reakció, ha olyan allil-helyzetű csoportokat alkalmazunk, amelyek enyhe körülmények között eltávolíthatóak. Ilyenek pl. az alkil- illetve aril-tio-csoportok, vagy a pent-4-enil-csoportok, amelyek elektrofil jelenlétében eltávolíthatóak, ha pl. jodónium-iont tartalmazó katalizátort használunk [45].

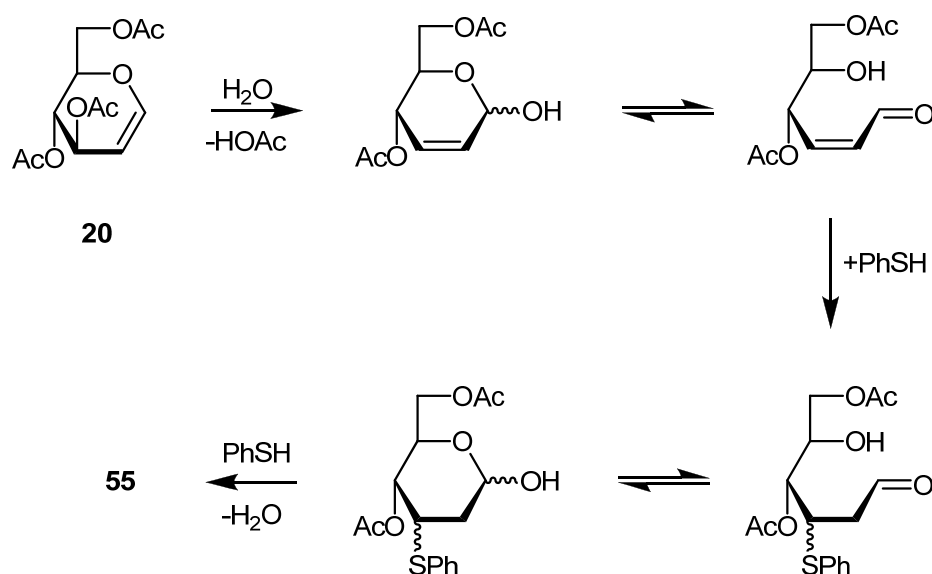
2.1.6.2 Átrendeződéses reakciók S- és N-nukleofilek jelenlétében

A glikálok savkatalizátor jelenlétében úgy reagálnak tiolokkal, mint ahogyan azt alkoholokkal teszik, és a reakcióban 2,3-telítetlen tioglikozidok keletkeznek (**19. képletábra, B**). A 2,3-telítetlen tioglikozidok viszont csak a reakció kinetikai termékei, és egyensúlyban az izomer 3-szubsztituált glikálok vannak jelen (**19. képletábra, C**). Ennek ellenére a tioglikozidok könnyen előállítható vegyületek, mivel a reakció kezdetén főleg ezek a származékok vannak jelen a csekély mennyiségű 3-szubsztituált izomerek mellett. Ha például tri-*O*-acetyl-D-glükált (**20**) reagáltatunk tiofenollal, $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ jelenlétében, az **53**-as 2,3-telítetlen S-fenil-1-tioglikozid keletkezik kis mennyiségű 3-feniltio-D-allál izomer (**54**) mellett (**22. képletábra**) [46]. A reakcióban legnagyobb mennyiségben az **53**-as vegyület α izomerje keletkezik. Ha a reakcióelegyben jelen van 4 mol% víz, az **55**-ös vegyület négy izomere keletkezik 83%-os összhozammal. Az α -ribo-, β -ribo-, α -arabino- és β -arabino-származék 3:5:5:1 arányban van jelen a reakcióelegyben. Víz jelenlétében a reakció feltételezett mechanizmusa a **23. képletábrán** látható. Ez a jelenség azt mutatja, hogy a Ferrier-féle átrendeződéses reakciókat S-nukleofil jelenlétében vízmentes körülmények között kell végrehajtani.



22. képletábra

*A tri-*O*-acetyl-D-glükál reakciója S-nukleofillel.*



23. képletábra

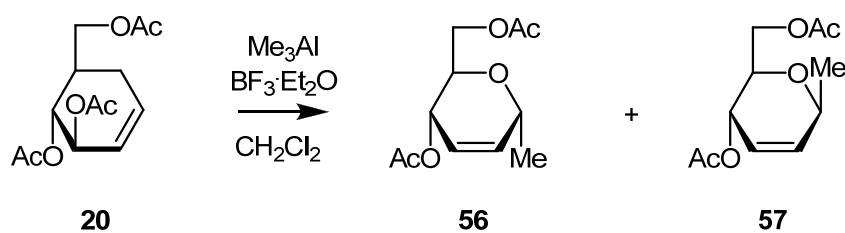
Az átrendeződéses reakció feltételezett mechanizmusa víz jelenlétében.

Azid-ionnal való reakció esetén, hasonlóan, mint a tio-nukleofileknél, bórtrifluorid-éterát katalizátor mellett kezdetben 2,3-telítetlen glikozil-azidok, majd főleg 3-azido-3-dezoxiglikálok keletkeznek. Ha tri-*O*-acetyl-D-glükált nátrium-aziddal reagáltatunk BF₃·Et₂O jelenlétében, 3-azido-3-dezoxi-D-allál és -glükál 50, ill. 24%-ban keletkeznek, és ezek mellett 26% α- és β-glikozil-azid van jelen a reakció termékegyében [47].

2.1.6.3 Átrendeződéses reakciók C-nukleofilekkel

A fémorganikus vegyületek, a cianidok, a különböző C-szililezett származékok, az enol-éterek és észterek, az aktivált aril- és β-dikarbonil vegyületek nukleofil reagensekként használhatók az átrendeződéssel járó reakciókban, és termékként 2,3-telítetlen C-glikozidok keletkeznek. Az előbb felsorolt nagyszámú C-nukleofil által sokféle 2,3-telítetlen C-glikozid állítható elő. Csak elvétve fordult elő, hogy C-3-elágazó láncú glikálokról számoltak be végtermékként.

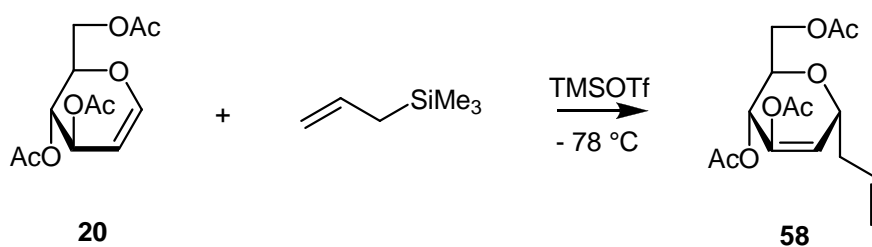
Ha például a tri-*O*-acetyl-D-glükált (**20**) trimetilalumíniummal reagáltatjuk bórtrifluorid-éterát jelenlétében, a megfelelő C-glikozidok keletkeznek 94%-os hozammal, α:β = 83:17 arányban (**24. képletábra**) [48].



24. képletábra

A tri-O-acetil-D-glükál reakciója C-nukleofillel.

A legfontosabb 2,3-telítetlen C-glikozidok az allil-származékok, amelyek intermediereként használhatóak egyes természetes anyagok szintézisének. Ilyen például az **58**-as vegyület, amelyet közvetlenül elő lehet állítani tri-O-acetil-D-glükálból (**20**) alliltrimetilszilánnal 2,3-diklór-5,6-diciano-*p*-benzokinon (DDQ) jelenlétében [49]. Ha a glikozilezési reakciót diklórmetán-acetonitril elegyében, alacsony hőmérsékleten, trimetilszilil-triflát katalizátor jelenlétében hajtják végre, szinte teljes mértékben 2,3-telítetlen C-allil glikozidokat kapnak termékként, és α -anomerek keletkeznek (**25. képletábra**) [50]. Érdekessége a reakciónak, hogy olyan glikál származékokra is alkalmazható, amelyek nem *O*-szubsztituáltak, mivel a C-glikozid-kötés kialakulásának a sebessége nagyobb, mint az *O*-glikozid-kötésé. A szubsztituátlan glikálok esetén nagyobb a reakció sztereoselektivitása és hozama, mint az *O*-acilezett glikáloknál.



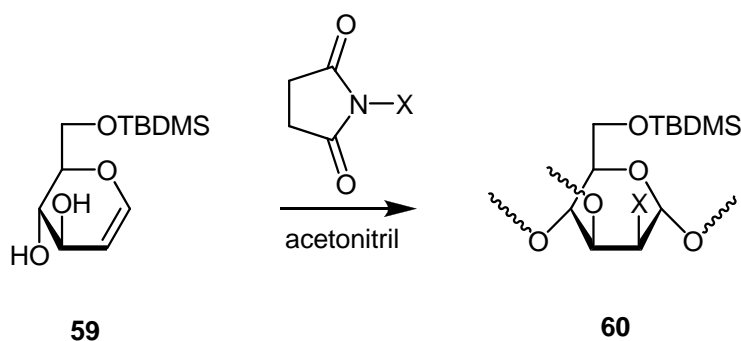
25. képletábra

A tri-O-acetil-D-glükál allil C-glikozilezése.

2.2 A Ferrier-típusú átrendeződéses reakció felhasználása poliszacharidok szintézisére (saját vizsgálatok)

A glikálok polimerizációjára, illetve polikondenzációjára nem sok módszer ismert. A glikálok egymás utáni összekapcsolására, és ilyen módon történő oligoszacharidképzésre található példa a szakirodalomban (**14. képletábra**) [35], de a láncban kettőskötéseket tartalmazó poliszacharidokat eddig még nem állítottak elő glikálokból, sem pedig más monoszacharidokból. A Ferrier reakcióval szintetizáltak már diszacharidokat (**20. képletábra**) [41,42], de polikondenzációs reakcióra eddig még nem használták fel.

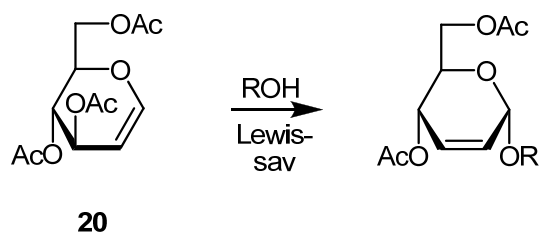
Elágazó láncú poliszacharidokat már állítottak elő glükál típusú vegyületekből. A kiindulási vegyület (6-*O*-*t*-butildimetilszilil-D-glükál, **59**) két szabad hidroxilcsoportot tartalmazott. A polimerizációt *N*-haloszukcinimid katalizátor segítségével hajtották végre (**26. képletábra**) [51].



26. képletábra

*Elágazó láncú poliszacharid előállítása 6-*O*-*t*-butildimetilszilil-D-glükálból.*

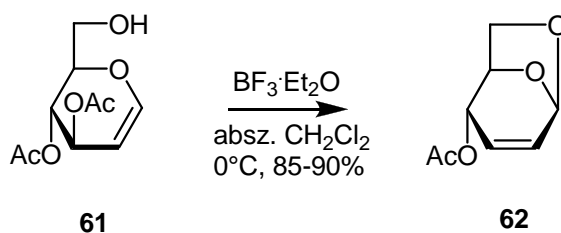
A Ferrier-típusú átrendeződéses reakció során az 1,2-telítetlen glikálokból *O*-nukleofil jelenlétében 2,3-telítetlen glikozidok keletkeznek (**27. képletábra**). Ha a reakcióban a szükséges *O*-nukleofil egy másik glikál szabad OH-csoportja, újabb és újabb átrendeződéses reakcióban sok glikál egység összekapcsolódásával oligoszacharidot vagy poliszacharidot kaphatunk végtermékként.



27. képletábra

A tri-O-acetil-D-glükál Ferrier-reakciója.

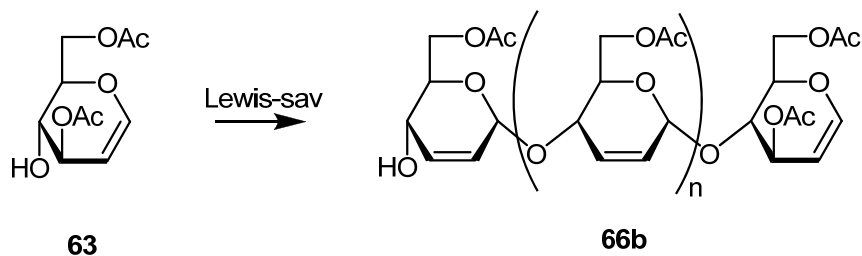
Azok a glikálok, amelyeknél hatos helyzetben van a szabad OH-csoport (**61**), nem alkalmasak a polikondenzációs reakcióra, mert Ferrier körülmények között intramolekuláris reakció zajlik le, és ez mindig preferált a polikondenzációhoz képest, ezért a reakcióban 1,6-anhidro-származék (**62**) keletkezik (**28. képletábra**) [52].



28. képletábra

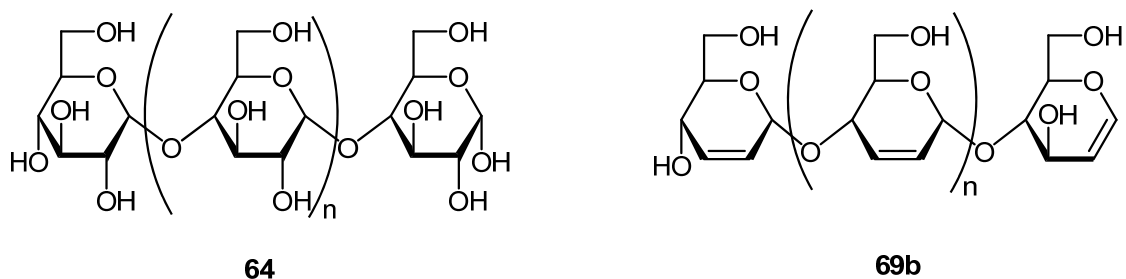
A 3,4-di-O-acetil-D-glükál Ferrier-reakciója.

Ha a Ferrier-reakcióban glikálként a 3,6-di-O-acetil-D-glükált (**60**) használjuk, maga a glükál lesz a szükséges nukleofil ágens, mert a 4-es helyzetben szabad OH-csoportja van. Újabb és újabb átrendeződéses reakcióban, több glükál egység összekapcsolásával, a monomeregységekben kettőskötéseket tartalmazó oligo-, illetve poliszacharidokat kaphatunk végtermékként (**29. képletábra**). A Ferrier-reakció sztereoselektivitása miatt főleg α -(1→4)-kapcsolás játszódik le, így dezacetilezés után keményítő (**64**) típusú vegyületnek (**69b**) kell keletkeznie.



29. képletábra

A 3,6-di-O-acetil-D-glükál Ferrier-reakciója.



A 2-es típusú diabetes kezelésére használt akarbóz (**21**) α -amiláz-inhibitor tulajdonságában fontos szerepet játszik a kettőskötést tartalmazó karbacukor egység, mely utánozza a szubsztrát konformációját a glikozidos kötés hidrolízisekor. A 3,6-di-O-acetil-D-glükál Ferrier reakciójakor hex-2-enán típusú vegyület keletkezik, amely minden egyes monomeregységben kettőskötést tartalmaz, ezért konformációja miatt alkalmas lehet a keményítő típusú vegyületek hidrolízisét végző enzimek gátlására.

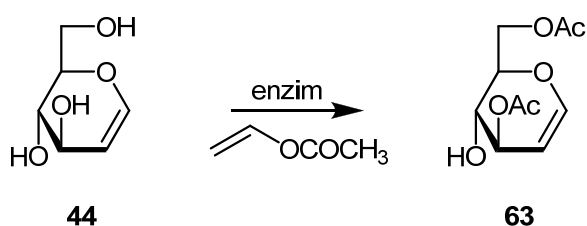
2.2.1 Célkitűzés

Munkám célja az volt, hogy a 3,6-di-*O*-acetyl-D-glükál Ferrier-reakciójával olyan oligo-, illetve poliszacharidokat állítsak elő, amelyek monomeregysége kettőskötéseket tartalmaz. A reakció sztereoselektivitása miatt α -(1 \rightarrow 4)-kapcsolásnak kell lejátszódnia, azért a keletkező vegyület keményítő-analógnak tekinthető. A polimer dezacetilezése után céлом volt a termék α -amiláz-inhibitor tulajdonságának megvizsgálása is.

2.2.2 A célok megvalósítása

2.2.2.1 A 3,6-di-*O*-acetyl-D-glükál előállítása

A 3,6-di-*O*-acetyl-D-glükál (**63**) előállítására csak kevés módszer található a szakirodalomban. A D-glükál (**44**) és a D-galaktál regioszelektív acetilezése nem egyszerű feladat. Ezeknek a vegyületeknek a szintézisére kidolgoztak egy enzim által katalizált módszert. A reakció vízmentes körülmények között, szerves oldószerben, lipáz enzim jelenlétében megy végbe (**30. képletábra**) [53]. Az irreverzibilis enzimátikus acetiltranszferre az olcsó vinilacetát bizonyult alkalmasnak. Kétféle lipáz enzimet használtak. Az egyik a *Candida cylindracea*-ból, a másik a *Pseudomonas fluorescens*-ből származik. A 3,6-di-*O*-acetyl-D-glükál a második enzim segítségével állítható elő 92%-os hozammal.



30. képletábra

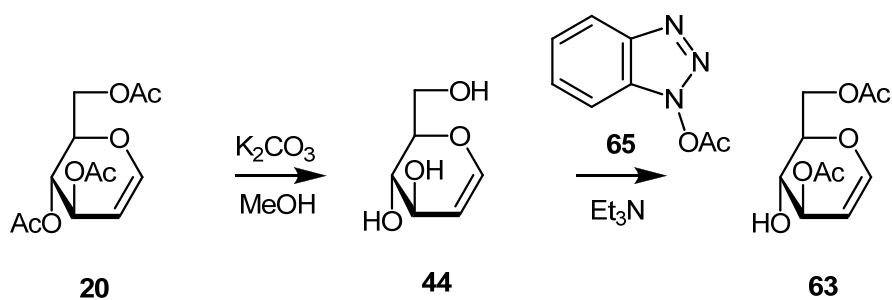
*A 3,6-di-*O*-acetyl-D-glükál előállítása enzimmatalizált reakcióval.*

Egy másik módszer szerint a D-glükál szelektíven acetilezhető acetyl-kloriddal piridin jelenlétében diklór-metánban, 65-67 °C-on 83%-os hozammal [54].

A 3,6-di-*O*-acetyl-D-glucal parciális dezacetilezéssel is elő lehet állítani tri-*O*-acetyl-D-glucalból KOH-dal DMF-ben, 0°C-on, 69%-os kitermeléssel [55].

A parciális acetilezés nagy térkitöltésű aktív észterrel, pl. *N*-acetoxibenzotriazollal (**65**) is véghezvihető [56]. Ezt a módszert választottam a 3,6-di-*O*-acetyl-D-glucal (**63**) előállítására. A reakció kiindulási anyaga a D-glucal (**44**) volt, amit tri-*O*-acetyl-D-glucalból (**20**) állítottam elő dezacetilezéssel (**31. képletábra**). A tri-*O*-acetyl-D-glucal dezacetilezése jól ismert folyamat, számos példa található rá az irodalomban [54,57]. Ilyen pl. a Zemplén féle dezacetilezés, amely fém Na jelenlétében metanolban megy végbe. Az acetyl védőcsoportok eltávolítása nem csak nátrium-metilát segítségével vihető végbe, reagensként használnak még pl. K₂CO₃-t, Na₂CO₃-t, Et₃N-t, LiOH-t, KCN-t, NH₃-t, ioncserélő gyantákat, vagy pl. trisz-(2,4,6-trimetoxifenil)-foszfint. A K₂CO₃-os dezacetilezés egy egyszerű és hatékony reakció, ezért erre esett a választásom, ezzel a módszerrel hajtottam végre a tri-*O*-acetyl-D-glucal dezacetilezését (**31. képletábra**) [57].

Mint már említettem, a D-glucal parciális acetilezését *N*-acetoxibenzotriazollal végeztem diklórmetánban, trietilamin jelenlétében (**31. képletábra**). Az *N*-acetoxibenzotriazol nagy térkitöltésű aktív észter, és mivel a D-glucalban viszonylag közel helyezkednek el az OH-csoportok, így a reakcióban főleg 3,6-di-*O*-acetyl-D-glucal keletkezett termékként, de mellette volt még jelen tri- és mono-*O*-acetyl-D-glucal is. A terméket oszlopkromatográfiával tisztítottam.



31. képletábra

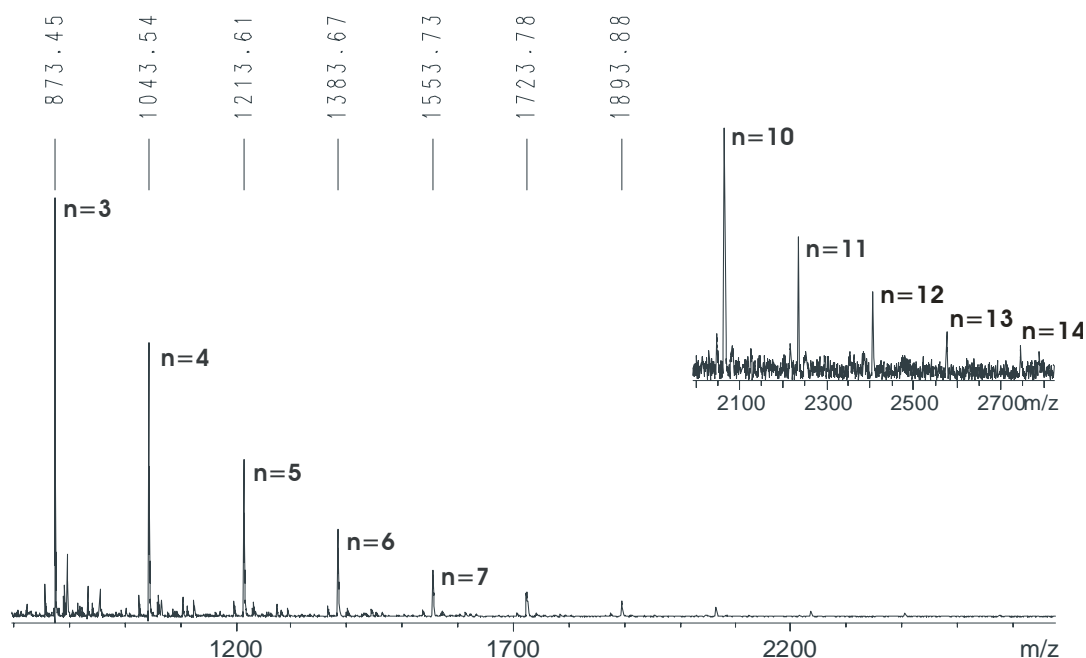
*A 3,6-di-*O*-acetyl-D-glucal előállítása.*

2.2.2.2 A 3,6-di-O-acetil-D-glükál polikondenzációja

Munkámban a Ferrier féle átrendeződéses reakciót használtam fel poliszacharidok előállítására (**29. képletábra**). A Ferrier típusú reakciók leggyakrabban használt katalizátora a $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$. Elsőként én is ezzel próbáltam meg végrehajtani a polimerizációt, de nem jártam sikerrel. A reakcióelegyről készült vékonyréteg-kromatogramon a várt oligomer-intermedierek helyett csak egy, a startponton maradó folt volt észlelhető, ami az intenzív bomlás következménye lehetett.

A bórtrifluorid-éteráton kívül több olyan katalizátort is kipróbáltam, amelyet már sikerrel használtak Ferrier-típusú átrendeződéses reakciókban. Ilyen katalizátor volt a jód is, de a készített vékonyréteg alapján a 3,6-di-O-acetil-D-glükál polikondenzációja nem ment végbe. Réz(II)-trifluormetánszulfonát esetén a polikondenzáció csak nagyon kis mértékben ment végbe, és sok melléktermék is keletkezett. Itterbium-trifluormetánszulfonát esetén a MALDI-TOF tömegspektrum alapján a polikondenzáció beindult, de csak kis tömegű oligomerek keletkeztek.

Az első igazán jó eredményt a ZnX típusú zeolit használatakor kaptam. A polikondenzáció szépen végbement a MALDI-TOF MS spektrum (**1. ábra**) alapján.



1. ábra

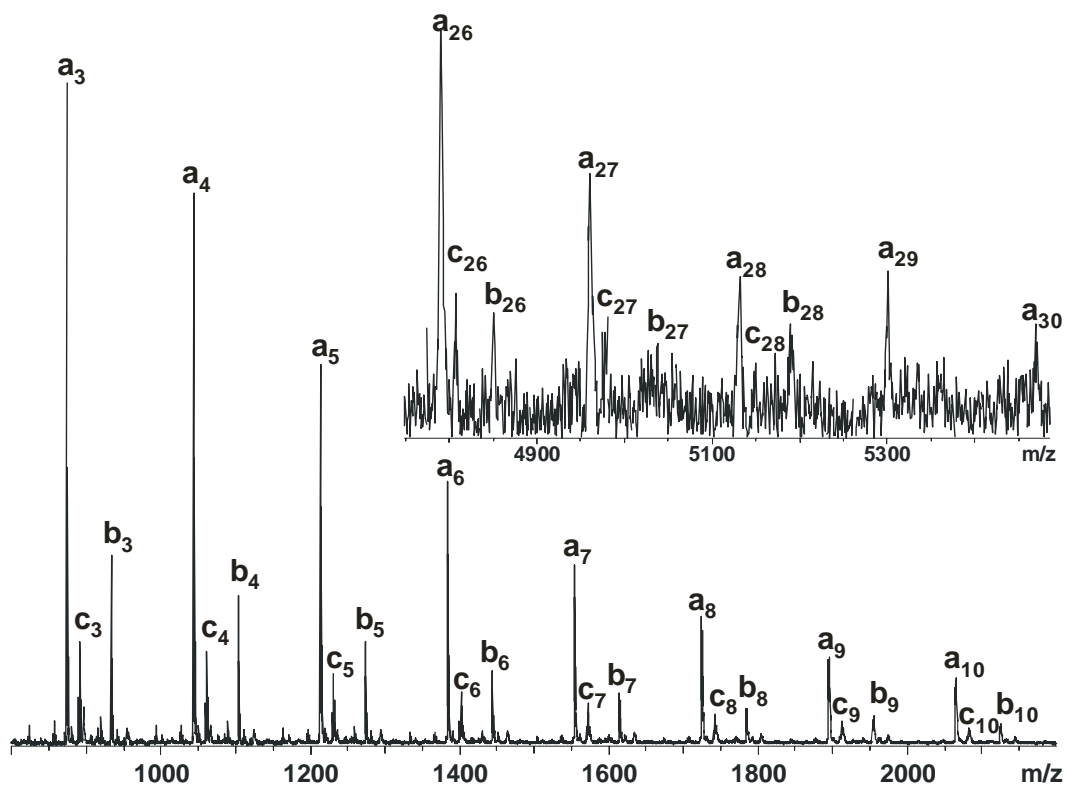
A ZnX zeolit által katalizált reakció termékelegyének MALDI-TOF tömegspektruma.

A ZnX típusú zeolit mellett más típusú zeolitokat (HMFI vagy HZSM, és USY típusú) is kipróbáltam katalizátorként, de egyik sem vált be, a reakció nem ment végbe.

K9F típusú savas montmorillonit agyagásvány jelenlétében a vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálat alapján úgy tűnt, hogy végbement a polikondenzáció, de a MALDI-TOF MS spektrumban nem találhatóak meg az oligomerek jelenlétére utaló csúcsok.

A leghatásosabb Lewis-sav katalizátornak a vízmentes ZnCl_2 bizonyult. Hasonlóan jó eredményt tudtam elérni a használatával, mint ZnX típusú zeolit esetén, de amíg a zeolittal kb. 10 nap alatt ment végbe a polikondenzáció, addig a ZnCl_2 használatával 1 napra csökkent le a reakcióidő.

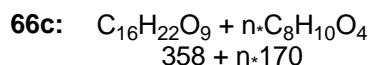
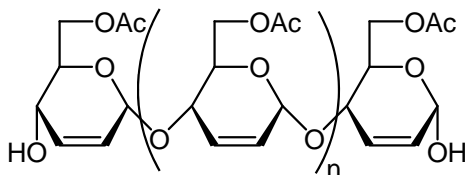
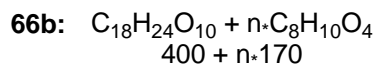
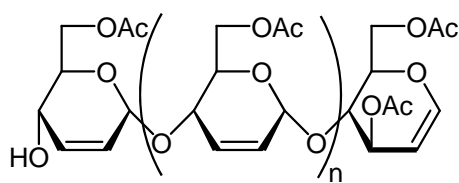
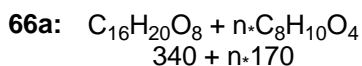
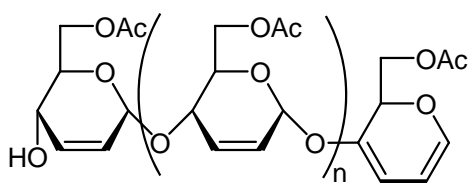
A cink-klorid által katalizált reakcióban képződött polimerről készült MALDI-TOF tömegspektrum (**2. ábra**) három különböző csúcssorozatot mutat (**32. képletábra 66a, b és c**). A Ferrier-reakció útján származtatható polimer tömege $400 \text{ Da} + n \cdot 170 \text{ Da}$, ahol a 400 Da a diszacharid moláris tömege, és a 170 Da az ismétlődő egységek moláris tömege. A spektrumon ez a **b**-vel jelölt sorozat.



2. ábra

A cink-klorid által katalizált reakció termékelegyének MALDI-TOF tömegspektruma.

(Az alsó indexben szereplő számok n értékét jelölik.)



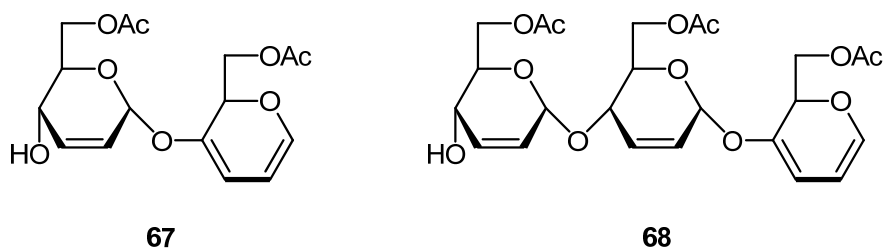
32. képletábra

Az a, b, és c, sorozathoz tartozó poliszacharidok általános képletei.

Az **a** és a **c** sorozat egyes csúcsai 170 Da-nal térnek el egymástól, ami a várt glikán egység tömegével egyezik meg. A tömegspektrumban mindhárom sorozat oligomerjei $m/z \sim 5000$ -ig (kb. 30 ismétlődő egységből álló vegyületig) azonosíthatóak. Az **a** és a **c** sorozat a **b** sorozatból származtatható. Az **a** jelű sorozat tagjai a **b** megfelelő tagjaiból egy ecetsavvesztéssel keletkeznek, míg a **c** jelű sorozat formális kéténvesztéssel jön létre. Amikor a MALDI módszernél kíméletesebb ESI ionizációt használtam, akkor is jelen volt a spektrumban mindhárom sorozat. Ez azt bizonyította, hogy nem a MALDI módszer körülményeinek hatására jött létre az **a** és a **c** sorozat, hanem eredetileg is jelen volt a reakciótermékben.

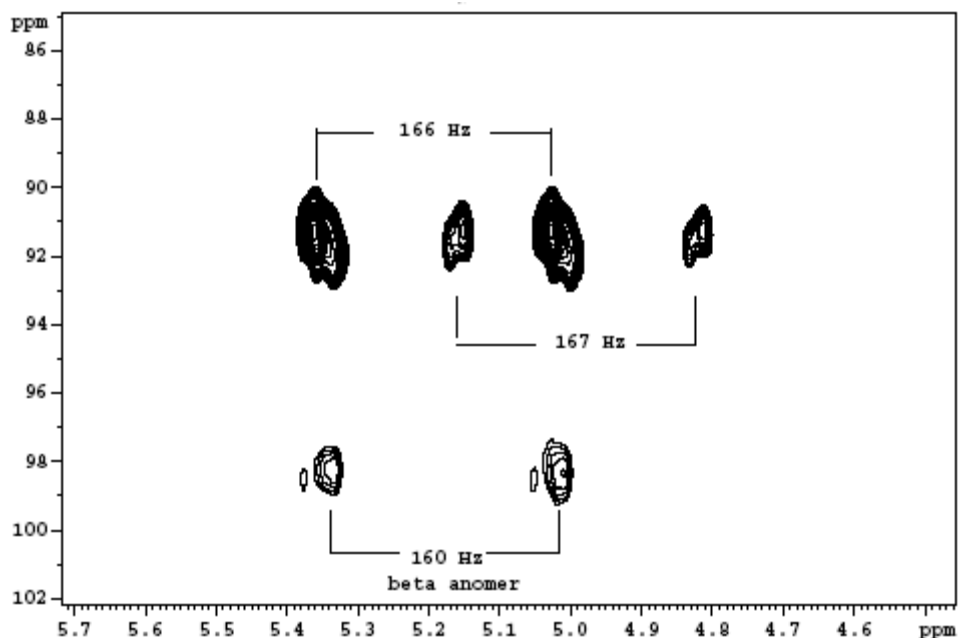
A termékelegyben legnagyobb mennyiségben az **a** polimertípus van jelen. Ezen sorozatból sikerült izolálni a diszacharidot (**67**) és a triszacharidot (**68**) (**33. képletábra**). Az ecetsavvesztés a Lewis-sav hatására végbemenő másodlagos eliminációval magyarázható. Ilyen dién-enoléter típusú szacharidot eddig még nem állítottak elő, és ezt az eliminációs reakciót sem figyelték még meg. A **c** sorozat tagjai valószínűleg a reakció feldolgozásakor keletkeznek az oligoszacharid glikál végének Ferrier-reakciójával, mely reakcióban nukleofilként a víz szerepel.

A diszacharid (67) NMR spektrumai alapján (3. ábra) megállapítható, hogy az interglikozidos kötések α helyzetűek (ezt bizonyítja az $^1J_{C1,H1} = 166$ Hz csatolási állandó).



33. képletábra

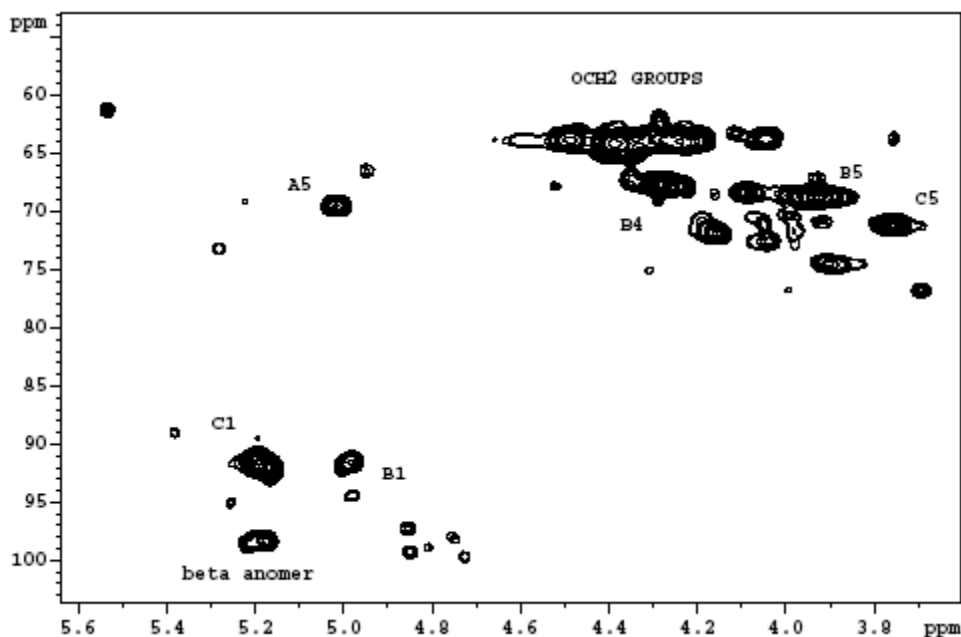
Az izolált di- és triszacharid.



3. ábra

A diszacharid 1H -kapcsolt ^{13}C -HSQC spektruma.

A feldolgozatlan polimer HSQC spektrumában (4. ábra) látható a β anomer szén jele is 98,3 ppm-nél, aminek $^1J_{C1,H1} = 160$ Hz a csatolási állandója. Ha az α anomer jelet 100 %-nak vesszük, akkor a β anomer kevesebb, mint 10 %-ban van jelen a termékelegyen az α anomerhez képest. Ez azt mutatja, hogy a poliglikozilezés jó sztereoselektivitással ment végbe.



4. ábra

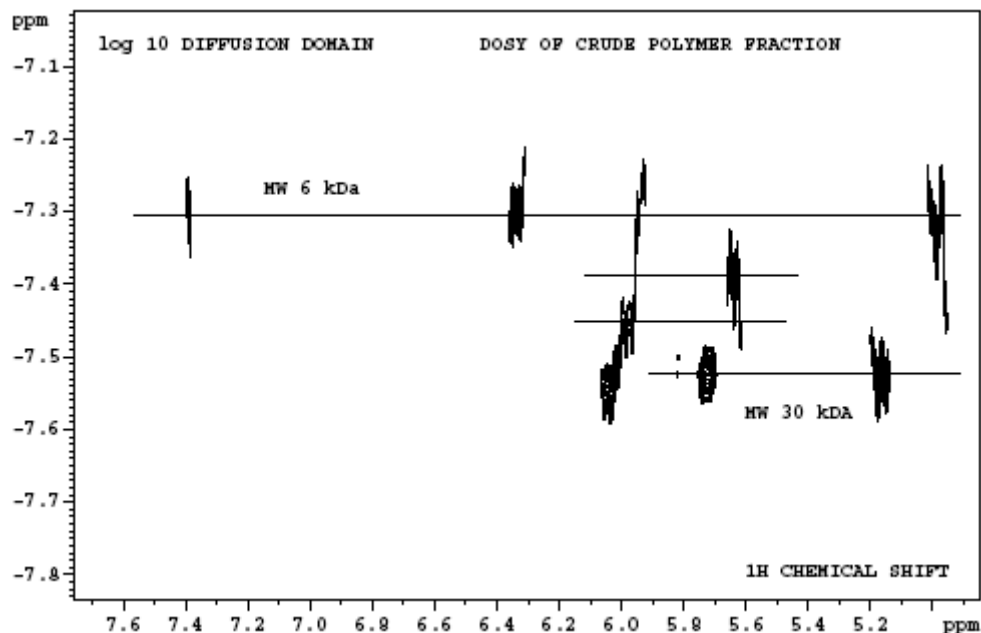
A polimer HSQC spektrumának részlete.

A MALDI MS alapján meghatározott számszerinti átlag molekulatömeg ($M_n = 1050$ g/mól) jó egyezést mutat a méretkiszorításos kromatográfiával megállapítottal ($M_n = 800$ g/mól).

A polimer vizsgálatához DOSY (Diffusion Ordered Spectroscopy) típusú NMR mérések is végeztünk. Ez az NMR technika lehetővé teszi a molekulák oldatban levő translációs diffúziós sebességének mérését. Ez a diffúzió arányos a molekulatömeggel, így a módszer egy ismert molekulatömegű belső standard segítségével, vagy külső standardként ismert molekulatömegű vegyületeket felhasználva molekulatömeg meghatározást tesz lehetővé [58, 59].

A DOSY típusú NMR mérések esetében a $CDCl_3$ -ban felvett spektrumokban 30 kDa tömegű polimer is észlelhető volt (5. ábra) (MALDI-MS mérésekkel ez az érték 5 kDa volt), azonban ha meghígítottam az oldatot, vagy oldószerként $DMSO-d_6$ -ot használtam, eltűntek a nagyobb molekulatömegű egységek (1. táblázat). Ez azzal magyarázható, hogy kloroformban az oligomerek valószínűleg hidrogén-kötésekkel összekapcsolódnak. A hidrogén-kötések megszüntethetőek az oldat hígításával, vagy olyan oldószert használva, amely nem kedvez a

hidrogén-kötésekkel összekapcsolódó aggregátumok keletkezésének. Az asszociációt az is bizonyította, hogy amikor a CDCl_3 -ban levő polimeroldathoz hozzáadtam a di- és triszacharidokat, a DOSY spektrumban a di- és triszacharid önállóan nem jelent meg.



5. ábra

A polimer DOSY NMR spektruma CDCl_3 -ban.

Minta	Oldószer	Koncentráció (mg/ml)	DOSY módszerrel mért tömeg (kDa)	MALDI-TOF módszerrel mért tömeg (kDa)
diszacharid	CDCl_3	20	0,37 (ks)	0,34
poliszacharid	CDCl_3	20	30,0 (bs)	~5
poliszacharid	CDCl_3	20	32,5 (ks)	-
poliszacharid	CDCl_3	2	12,9 (bs)	-
poliszacharid	MeOD + DMSO- d_6	2	2,69 (bs)	-

Bs: belső standard (naftalin MW = 128) segítségével kapott érték.

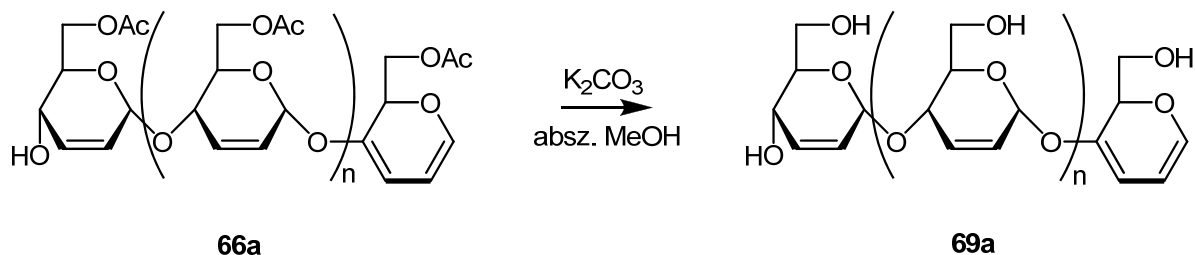
Ks: külső standard (peracetilezett malto-oligomer kalibráló sorozat) segítségével meghatározott érték.

1. táblázat

A Ferrier reakcióban keletkezett poliszacharid átlag molekulatömegének meghatározása.

2.2.2.3 A polimer dezacetilezése

A Ferrier-reakció során képződött acetoxi-poliszacharidokat metanolban K_2CO_3 -tal dezacetileztem (34. képletábra) [57].



34. képletábra

A Ferrier reakció során keletkezett polimer dezacetilezése az **a** sorozat példáján bemutatva..

A dezacetilezett polimersorozatok (**a**, **b** és **c** dezacetilezésének termékei) tekinthetők 2,3-didezoxi-2,3-didehidrokeményítőknél és -glikogéneknek, ezért megvizsgáltuk inhibitor tulajdonságukat néhány különböző típusú α -amiláz enzimre illetve α -glükózidázra (2. táblázat). Bebizonyosodott, hogy a dezacetilezett polimerkeverék gyenge kompetitív inhibitora a humán nyál-amiláznak. Két különböző molekulatömegátlagú polimerkeveréket is megvizsgáltunk, és azt tapasztaluk, hogy a nagyobb polimerizációfokú oligomereket is tartalmazó keverék kisebb koncentrációban gátolta a nyál-amiláz enzimet (2. táblázat). A nagyobb molekulatömegátlagú keverék esetében kinetikai méréseket is végeztünk, a gátlás konstansai a következők: $K_{EI} = 35,2$ mM és $K_{ESI} = 2,7$ mM.

Enzim	IC_{50} D-glükál (Mt: 146 g/mol)	IC_{50} Polimer (Mn: 900 g/mol)
Humán nyál α -amiláz	nincs	4,17 mM (3,75 mg/ml)
		IC_{50} Polimer (Mn: 700 g/mol)
Humán nyál α -amiláz	nincs	15,71 mM (11,00 mg/ml)
Sertés pankreász α -amiláz	nincs	nincs
<i>Aspergillus oryzae</i> amiláz	44,1 mM (6,44 mg/ml)	8,34 mM (5,84 mg/ml)
Sőrélesztő α -glükózidáz	1,85 mM (0,27 mg/ml)	nincs

2. táblázat

A dezacetilezett polimersorozat enzimgátlásainak IC_{50} értékei.

A 3,6-di-*O*-acetyl-D-glucal kationos polikondenzációjával tehát sikerült olyan oligo- illetve poliszacharidot szintetizálni, amelyek monomeregységei kettőskötéseket tartalmaznak. A kettőskötések átalakításával más típusú poliszacharidokat is elő lehet állítani, pl. dezoxiamino-poliszacharidot vagy más keményítőanalógokat lehet készíteni. A Ferrier féle átrendeződéssel polikondenzáció kizárólag 1-4 kötésű polimerek előállítására alkalmas, és főleg α -anomerek keletkeznek.

2.3 Kísérleti rész

Általános módszerek:

Az oldatokat csökkentett nyomáson (vízsugárszivattyú), vízfürdőn pároltam be. A szerves fázisokat Na_2SO_4 -on szárítottam. A vékonyrétegkromatográfiai detektáláshoz Merck Kieselgel F_{254} lemezt használtam. A felcseppentett anyagokat 7%-os ammónium-molibdenát 0,5 M kénsavas oldatával történő lepermetezéssel és az azt követő hevítéssel (hőpuska) detektáltam. Az oszlopkromatográfiai elválasztásokhoz Kieselgel 60 (0,063-0,2 mm) adszorbenst használtam, a („Flash”) gyors oszlopkromatográfiahoz pedig Kieselgel típusú, 0,002-0,063 szemcseméretű abszorbens állt rendelkezésemre.

NMR spektroszkópia

A tisztán izolált vegyületekről az NMR spektrumok Bruker Avance típusú készüléken készültek (oldószer: CDCl_3 , belső standard: TMS 1%(V/V)). ^1H -NMR spektrumok felvétele 500 MHz-en, a ^{13}C -NMR spektrumok felvétele pedig 125 MHz-en történt.

Optikai forgatóképesség

Az optikai forgatóképesség-meghatározást Perkin-Elmer 341 polariméteren végeztük (oldószer: diklór-metán, metanol; hullámhossz: 589 nm; optikai úthossz: 1 dm; hőmérséklet: 293 K (20 °C), koncentráció: 0,3 g/100 ml).

Az ezektől eltérő eseteket jeleztem.

Az alkalmazott tömegspektrometriás módszerek:

A polikondenzációs reakciók követéséhez tömegspektrometriás módszereket is használtam. A reakció során keletkező oligomerek jól vizsgálhatóak MALDI-TOF tömegspektrométerrel. A méréseket egy Bruker Biflex III típusú tömegspektrométeren végeztem. A MALDI betűszó az ionforrás elnevezését rövidíti: **M**atrix **A**ssisted **L**aser **D**esorption/**I**onization (mátrix segítette lézer deszorpció/ionizáció). Ez a módszer lágy ionizációs technika, mely során a minta csekély mértékben fragmentálódik, és így az egyes molekulák ionizáló ágenssel képzett molekulaion-csúcsai jelennek meg a spektrumban. A lágy ionizációt az alkalmazott mátrixanyag teszi lehetővé, amely általában valamilyen aromás vegyület, ami elnyeli a lézerfény energiáját (általában $\lambda = 337$ nm). Mátrixként DHB-t (2,5-

dihidroxibenzoésavat) használtam 20 mg/ml-es koncentrációban. A reakcióelegyekből 5 mg/ml-es oldatokat készítettem, ionizáló anyagként pedig 5 mg/ml-es nátrium-trifluoracetát-oldatot használtam. A minta előkészítéséhez 50:10:5 térfogatarányban kevertem össze a mátrix, a reakcióelegy és a kationizáló segédanyag oldatát. A mintából 0,2-0,5 µl-nyit cseppentettem fel a saválló acél mintatartó lemezre, amit szobahőmérsékleten szárítottam be. A gyorsítófeszültség minden esetben 19 kV volt, pulzáló ion extrakciós (PIE) módban. A képződött pozitív ionokat reflektoron módban detektáltam (20 kV). Mintánként 300-300 lövést összegeztem. A pontos tömegmeghatározáshoz belső kalibrációt alkalmaztam, standardként rutin-FL4-et (613, 821) és PEG-et használtam ($M_n = 1540$ g/mol, MWD= 1,02) lineáris tömegtartományban. A mért és a számított tömegek közötti eltérés 0,1 Da alatt volt.

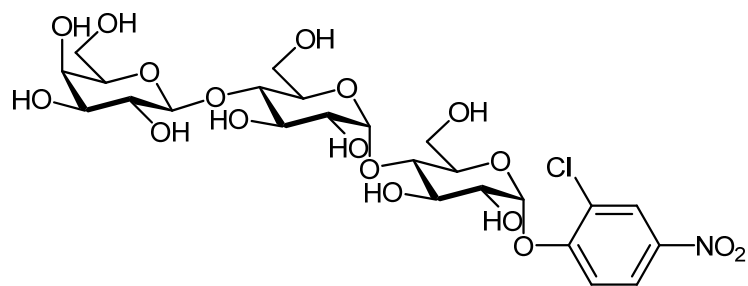
A tömegspektrumok felvételéhez ESI-TOF MS módszert is alkalmaztam (ElectroSpray Ionization). Az elektroporlasztás még a MALDI módszernél is kíméletesebb ionizációt tesz lehetővé. Segítségével molekulakomplexek, addukt vegyületek is vizsgálhatóak. Az Alkalmazott Kémiai Tanszéken Bruker gyártmányú microTOF-Q típusú QqTOFMS készülék található, amelyhez használható az ESI ionforrás. Leggyakrabban 0,01 mg/ml-es mintakonzentrációt használtam, az oldószer általában metanol volt. A mintát Hamilton fecskendő és infúziós pumpa (Cole-Parmer Ins. Co.) segítségével, 2 µl/perc áramlási sebességgel vezettem az ionforrásba. A szárító gáz (nitrogén) hőmérséklete 100 °C volt.

Méretkiszorításos kromatográfia (*Size Exclusion Chromatography – SEC*)

A polimer átlag molekulatömegét (M_n) és molekulatömegeloszlását méretkiszorításos kromatográfiával is meghatároztuk. A mérést Waters típusú gélpermeációs kromatográffal végeztük, Ultra Styragél töltetű kolonnán. Standardként polisztirol kalibráló-sorozatot használtunk.

IC₅₀ meghatározása GalG₂-CNP szubsztráton

Az IC₅₀ értékek meghatározásához a szintetikus, kromoforral ellátott 2-klór-4-nitrofenil-4-O-β-D-galaktopiranozil-α-D-maltozid (GalG₂-CNP) szubsztrátot használtuk:



GalG₂-CNP

Ezen szubsztrát alkalmazásakor nincs szükség segédenzimekre a kromofor felszabadításához, mivel az enzimreakció során csak az aglikon hasad le, amely két termék, a β -D-galaktopiranozil-maltóz és a 2-klór-4-nitrofenol létrejöttét eredményezi. Az utóbbi vegyületnek 405 nm hullámhosszon van elnyelési maximuma, ezért koncentrációja UV fotometriásan meghatározható.

A GalG₂-CNP szubsztráton való méréseket 37 °C-on, 6-os pH-n, 5 mM Ca(OAc)₂-ot, 51,5 mM NaCl-ot és 152 mM NaN₃-ot tartalmazó, 50 mM-os MES-pufferben végeztük. Az inhibitort és az enzimet összekevertük, és a reakciót a szubsztrát (0,5-3 mM) inkubációs elegyhez való hozzáadásával indítottuk. A reakcióelegy össztérfogata minden esetben 500 μ l volt. Az enzimreakcióban felszabadult 2-klór-4-nitrofenol által okozott abszorbancia növekedést GBC 911A spektrofotométer Kinetics programjával folyamatosan követtük nyomon 405 nm-nél.

Az α -glükozidáz enzimmel való mérést 5 mM *p*-nitrofenil- α -D-glükopiranozid (PNP- α -Glc) szubsztráton, pH = 6,8 foszfát pufferben végeztük az előzőekben leírttal azonos módon.

D-glükál (44)

6,8 g (25 mmol) tri-*O*-acetyl-D-glükált (20) 30 ml absz. metanolban oldottam, és 60 mg K₂CO₃-ot adtam hozzá. Az elegyet szobahőmérsékleten 2 óra hosszáig kevertetem, majd bepároltam. A keletkezett sárga szirupot feloldottam 50 ml absz. dioxánban, és újra bepároltam, hogy a metanolnyomokat eltávolítsam.

A termék halványsárga, szirupszerű anyag: 3,65 g (~100%).

A reakció követéséhez vékonyrétegkromatográfiát használtam. A VRK-hoz futtatóelegyként hexán:etilacetát = 7:3-at használtam. A D-glükál a startponton marad.

VRK: diklórometán:metanol = 9:1, (R_f = 0,23).

$[\alpha]_D^{20} = -6,3$ (c 0,30; MeOH), (irodalmi érték: $[\alpha]_D^{20} = -11,7$ (c 0,80; MeOH) [60])

Pontos tömeg (M+Na⁺): - számított: 169,048 Da

- mért (ESI-TOF MS): 169,058 Da

N-acetoxibenztriazol (65)

22,0 g (0,163 mol) szárított *N*-hidroxibenztriazolt 55 ml absz. piridinben oldottam, és adtam hozzá 38,7 ml (0,41 mol) ecetsavanhidridet. A reakcióelegyet CaCl₂-os cső feltéttel egy napig kevertetem, majd jeges vízben lehűtöttem, és adtam hozzá 3 ml vizet. 30 percig történő kevertetés alatt fehér színű csapadék vált ki. A kapott elegyet desztillált vízből készült jeges vízre öntöttem. A csapadékot kiszűrtem a hideg oldatból, és feloldottam 250 ml etilacetátban. Az oldatot először kb. 80-100 ml deszt. vízzel, majd NaHCO₃ telített oldatával, majd ismét vízzel extraháltam. Az etilacetátos fázist vízmentes Na₂SO₄-on szárítottam, szűrtem, majd bepároltam. Fehér kristályos anyag vált ki, melyet P₂O₅ és KOH felett, vákuumban szárítottam.

A termék tömege 15,83 g volt (55%).

Olvadáspont: 103-104 °C (irodalmi érték: 104-105 °C [61]).

A VRK-hoz hexán:etilacetát = 6:4 futtatóelegyet használtam, (R_f = 0,56).

Pontos tömeg (M+Na⁺): - számított: 200,044 Da

- mért (ESI-TOF MS): 200,042 Da

3,6-Di-*O*-acetyl-D-glucal (63)

3,25 g (22,2 mmol) D-glucal (44) és 7,87 g (44,4 mmol) *N*-acetoxibenzotriazol (65) oldottam 100 ml absz. dioxánban, és 6,7 ml (48,84 mmol) trietilamint adtam hozzá, majd CaCl₂-os eső feltétet használva 18 órán keresztül kevertetem. Bepároltam a besárgult oldatot, és a kapott sárga szirupot 180 ml diklórmétánban oldottam fel, majd 2×70 ml vízzel extraháltam. A diklórmétános oldatot vízmentes Na₂SO₄-on szárítottam, majd szűrtem és bepároltam.

A sárga szirupot „flash” (gyors) oszlopkromatográfiás módszerrel tisztítottam. Eluens: hexán:etilacetát = 75:25.

Fehér kristályos 3,6-di-*O*-acetyl-D-glucal keletkezett: 2,17 g (38 %).

VRK: hexán:etilacetát = 1:1 (R_f = 0,45).

Olvadáspont: 63-64 °C (irodalmi érték: 65-67 °C [54]).

$[\alpha]_D^{20} = -35,9$ (c 0,30; MeOH)

Pontos tömeg (M+Na⁺): - számított: 253,069 Da

- mért (ESI-TOF MS): 253,065 Da

¹H NMR (360 MHz, CDCl₃): δ 6,44 (1H, d, J = 5,9 Hz, H1), 5,33-5,25 (1H, m, H3), 4,74 (1H, dd, J_{H1-H2} = 5,9 Hz, H2), 4,50 (1H, dd, J_{gem} = 12,5 Hz, H6), 4,30 (1H, dd, J_{gem} = 12,5 Hz, H6), 4,04-3,96 (1H, m, H5), 3,87-3,78 (1H, m, H4), 3,60 (1H, széles s, OH), 2,14, 2,13 (6H, 2s, CH₃) ppm.

A 3,6-di-*O*-acetyl-D-glucal (63) polikondenzációja itterbium-trifluormetánszulfonáttal

100 mg (0,43 mmol) 3,6-di-*O*-acetyl-D-glucal 4 ml absz. diklórmétánban oldottam, és adtam hozzá 400 mg 3Å-ös molekulaszitát. 1 órán át kevertetem, majd 20 mg Yb(OTf)₃-ot adtam hozzá. 5 napos kevertetés után meghígítottam a reakcióelegyet diklórmétánnal, szűrtem, és NaHCO₃ telített oldatával mostam. A diklórmétános oldatot vízmentes Na₂SO₄-on szárítottam, leszűrtem, majd bepároltam.

A termékelegyet MALDI-TOF tömegspektrométerrel vizsgáltam. 5-6 monomeregység összekapcsolódásáig ment el a polikondenzáció.

A 3,6-di-*O*-acetyl-D-glucal (63) polikondenzációja UOP ZnX 89774-999 2000000001 típusú zeolittal

3 ml diklórmétánhoz 300 mg zeolitot (ZnX) adtam. Három óra kevertetés után 300 mg (1,4 mmol) 3,6-di-*O*-acetyl-D-glucal adtam az elegyhez. 10 nap múlva meghígítottam a

reakcióelegyet diklórmetánnal, celiten szűrtem, és a szűrletet NaHCO₃ telített oldatával mostam. A diklórmetános fázist vízmentes Na₂SO₄-on szárítottam, majd leszűrtem, és az oldatot bepároltam.

A VRK-hoz futtatóelegyként hexán:etilacetát = 4:6 rendszert használtam. Az oligomerek foltjai egymás alatt sorakoznak egészen a startpontig.

A keletkezett termékelegy MALDI-TOF tömegspektruma az **1. ábrán** látható.

$M_n = 847 \text{ g/mol}$

A 3,6-di-O-acetil-D-glükál (63) polikondenzációja HMFI, HZSM vagy USY típusú zeolittal

50 mg (0,22 mmol) di-O-acetil-D-glükált 3 ml absz. diklórmetánban oldottam, és adtam hozzá 50 mg zeolitot (HMFI, HZSM vagy USY). A reakcióelegyet 3 napig kevertettem, majd diklórmetánnal meghígítottam, és celiten szűrtem, a szűrletet pedig bepároltam.

A VRK-hoz hexán-etilacetát = 4:6 futtatóelegyet használtam.

A termékelegyeket MALDI-TOF tömegspektrométerrel vizsgáltam. A tömegspektrumok alapján a polikondenzációs reakció nem indult be.

A 3,6-di-O-acetil-D-glükál (63) polimerizációja K9F típusú savas montmorillonittal

3 ml absz. diklórmetánhoz 100 mg montmorillonitot (K9F) adtam. Fél óra kevertetés után adtam hozzá 100 mg (0,43 mmol) 3,6-di-O-acetil-D-glükált. Két hét reakcióidő után meghígítottam a reakcióelegyet diklórmetánnal, leszűrtem, mostam telített NaHCO₃-oldattal, a diklórmetános fázist vízmentes Na₂SO₄-on szárítottam, majd megsűrtem az oldatot, és bepároltam.

A VRK-hoz hexán-etilacetát = 4:6 futtatóelegyet használtam.

A termékelegyet MALDI-TOF tömegspektrométerrel vizsgáltam. A tömegspektrum alapján a polikondenzációs reakció nem indult be.

A 3,6-di-O-acetil-D-glükál (63) polimerizációja cink-kloriddal

1,152 g (5 mmol) 3,6-di-O-acetil-D-glükált 46 ml absz. diklórmetánban oldottam. 4,60 g 3Å-ös molekulaszitát adtam hozzá. Egy óra kevertetés után 0,230 g (1,7mmol) ZnCl₂-

ot adtam hozzá. Egy napos reakcióidő után feldolgoztam a reakcióelegyet. Meghígítottam diklórmetánnal, szűrtem, és mostam NaHCO₃ telített oldatával. A szerves fázist vízmentes Na₂SO₄-on szárítottam, majd leszűrtem, és bepároltam.

A termék tömege 712 mg volt.

Számszerinti átlag molekulatömeg: $M_n = 1050$ g/mól (MALDI MS).

$M_n = 800$ g/mól (GPC).

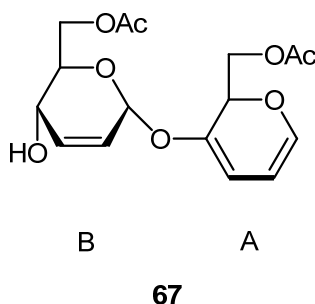
A polimer tisztítását oszlopkromatográfiásan végeztem először hexán: etilacetát = 7:3-as eluálószerrel, majd tiszta etilacetáttal.

Sikerült tisztán izolálni a diszacharidot (**67**): 97 mg (8,4 %) volt.

és a triszacharidot (**68**): 28 mg (2,4 %).

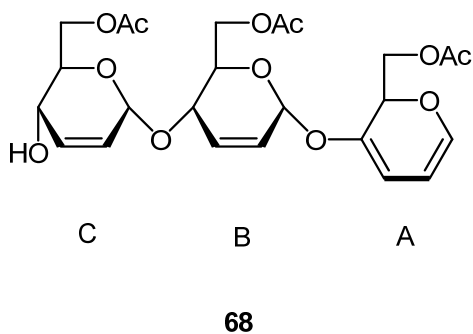
Diszacharid (67): 6-*O*-acetyl-2,3-dideoxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranozil-(1,4)-6-*O*-acetyl-2,3-dideoxi-D-hex-1,3-dienitol.

$[\alpha]_D^{20} = 137,3$ (c 0,30; MeOH)



Triszacharid (68): 6-*O*-acetyl-2,3-dideoxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranozil-(1,4)-6-*O*-acetyl-2,3-dideoxi- α -D-*eritro*-hex-2-enopiranozil-(1,4)-6-*O*-acetyl-2,3-dideoxi-D-hex-1,3-dienitol.

$[\alpha]_D^{20} = 107,3$ (c 0,30; MeOH)



	(67) Diszacharid (δ ppm, J Hz)				(68) Triszacharid (δ ppm, J Hz)			
	^{13}C	^1H	Csatolási állandók	$^1J_{\text{CH}}$	^{13}C	^1H	Csatolási állandók	
B ₁	91,92	5,004	$J_{1,2} < 2$	168	91,57	5,023	$J_{1,2} 2,7$	167
B ₂	126,37	5,668	$J_{2,3} 10,2$		127,26	5,774	$J_{2,3} 10,1$ $J_{2,4} 2,4$	
B ₃	133,86	5,968	$J_{3,4} < 2$		129,80	6,044	$J_{3,4} < 2$	
B ₄	64,09	4,075	$J_{4,5} 9,5$		68,11	4,320	$J_{4,5} 9,5$	
B ₅	70,83	3,937	$J_{5,6a} 5,4$ $J_{5,6b} 1,2$		68,45	4,116	$J_{5,6a} 2,4$ $J_{5,6b} 6,8$	
B ₆	64,13	a=4,490 b=4,313	$J_{6a,6b} -$ 12,1		63,92	a=4,436 b=4,298	$J_{6a,6b}$ (átfedés)	
A ₁	143,58	7,413	$J_{1,2} 1,4$		143,59	7,433	$J_{1,2} 2,0$	
A ₂	(110,64)	6,351	$J_{2,3} < 2$		110,65	6,371	$J_{2,3} 3,2$	
A ₃	(109,88)	6,374			109,97	6,397		
A ₄	150,79	-			150,76	-		
A ₅	69,59	5,032	$J_{5,6a} 7,7$ $J_{5,6b} 4,6$		69,54	5,052	$J_{5,6a}$ (átfedés) $J_{5,6b} 4,7$	
A ₆	65,27	a=4,411 b=4,345	$J_{6a,6b} -$ 11,5		65,20	a=4,433 b=4,389	$J_{6a,6b} -11,5$	
C ₁					92,06	5,217	$J_{1,2} 2,4$	
C ₂					126,17	5,697	$J_{2,3} 10,0$ $J_{2,4} 2,4$	
C ₃					133,99	6,026	$J_{3,4} < 2$	
C ₄					63,86	4,068	$J_{4,5} 9,3$	
C ₅					71,28	3,789	$J_{5,6a} 4,5$ $J_{5,6b} 2,3$	
C ₆					64,14	a=4,565 b=4,066	$J_{6a,6b} -12,3$	
CO	172,08 171,06				172,27 171,35 171,02			
CH ₃	21,21 21,19	2,133 2,051			21,24 21,24 21,12	2,162 2,159 2,078		

3. táblázat

Az izolált diszacharid és a triszacharid ^1H NMR és ^{13}C NMR adatai.

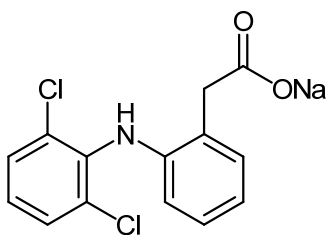
A ZnCl₂-dal készült polimer (66) dezacetilezése

395 mg polimert feloldottam 40 ml absz. metanolban. 5 óra hosszáig kevertetem az oldatot, közben óránként 5-5 mg K₂CO₃-ot adtam hozzá, hogy az oldat kémhatása lúgos legyen. A reakció végbemenetelét vékonyréteg-kromatográfiásan követtem. A dezacetilezés befejezésekor a reakcióelegy lúgos kémhatását Serdolit red kationcserélő gyantával semlegesítettem, majd kiszűrtem belőle a gyantát, és az oldatot bepároltam.

A VRK-hoz hexán:etilacetát = 6:4 futtatóelegyet használtam. A termék foltjai a startponton maradnak.

3. Polidiszulfid szénhidrátok

A gyógyszerkutatásban nagy problémát jelent, hogy számos olyan biológiailag hatásos gyógyszermolekula létezik, amelyeknek igen rossz a vízdékonysága, ezért biológiai abszorpciójuk lassú és nem teljes. Sok olyan hatóanyag van, amelyekből nem tudnak előállítani injektábilis készítményt. Ezek a vegyületek érzékenyek az oxidációra, fényre, különböző ionokra vagy termikusan bomlékonyak. Az is előfordul, hogy inkompatibilisek más hatóanyagokkal, ill. gyógyszerformulázási segédanyagokkal szemben. Manapság egyre nagyobb teret hódít a vízben rosszul oldódó gyógyszermolekulák molekuláris kapszulázása, és ezáltal vízdékhatóbbá tétele. A legtöbb ilyen kutatás ciklodextrinokkal folyik. A ciklodextrinek henger alakú, üreges szerkezetű molekulák, melyek belső oldala hidrofób, míg a külső felületük hidrofil tulajdonságú. Ezek a molekulák gyengén apoláros belső üregükbe másodlagos kötőerőkkel vendégmolekulákat képesek befogadni. Az így keletkező adduktumokat zárványkomplexeknek nevezzük. Ma már több gyógyszer van forgalomban ciklodextrines formában. Ilyen készítmény pl. a CycloLab által kifejlesztett Voltaren® szemcsepp, amely a diklofenak nátrium sóját (**70**) β -ciklodextrinbe csomagolva tartalmazza.



70

A ciklodextrinnel történő molekuláris kapszulázásnak egyik hátránya, hogy a komplexálható vegyületek mérete korlátozott. A gazdamolekula üregmérete határozza meg a befogadható vendégmolekula méretét, ami ciklodextrin esetén nem lehet nagyobb egy vagy két benzolgyűrű nagyságánál. Sok olyan vízben rosszul, vagy nem oldódó, biológiailag hatásos gyógyszermolekula létezik azonban, amelyek mérete ennél jóval nagyobb.

Doktori munkám második felében olyan szénhidrát oligomereket állítottam elő, amelyekben a nyíltláncú szénhidrát monomerek diszulfid-hidakon keresztül kapcsolódnak össze. Úgy gondoltuk, hogy az ilyen típusú vegyületek alkalmasak lehetnek gyógyszermolekulák molekuláris kapszulázására.

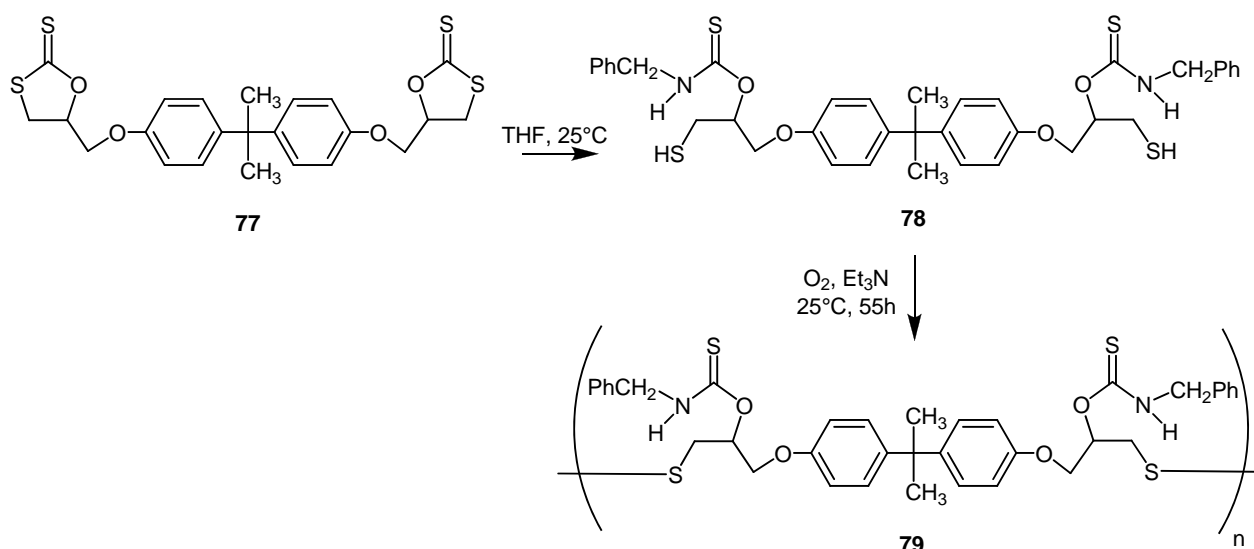
3.1 Diszulfidok előállítása

Számos módszert leírtak már arra vonatkozóan, hogy hogyan lehet diszulfid-hidakat tartalmazó polimereket előállítani [62,63,64,65], de ilyen típusú, szénhidrát tartalmú polimerekről eddig még nem számoltak be.

Az irodalomban található diszulfidképzési módszerek nagy része esetében csupán gyűrűs monomerek, vagy nyíltláncú és gyűrűs dimerek, illetve oligomerek előállítása volt a cél. A legtöbb diszulfid-előállítási reakció dihalogenid, ditionilát, illetve dimezilát diszulfid-anionnal való lecserélésén alapul [66,67]. A másik elterjedt módszer a ditio-vegyületek oxidálásával foglalkozik (oxidálószer: pl. I_2 , Et_3N [68]; Br_2 [69]; $K_3[Fe(CN)_6]$ [70], CCl_4 , Et_3N [71]; $H_2O_2/KI/AcOH$ [72]; $Pb(OAc)_4$, S [73]; KO_2 [74,75]).

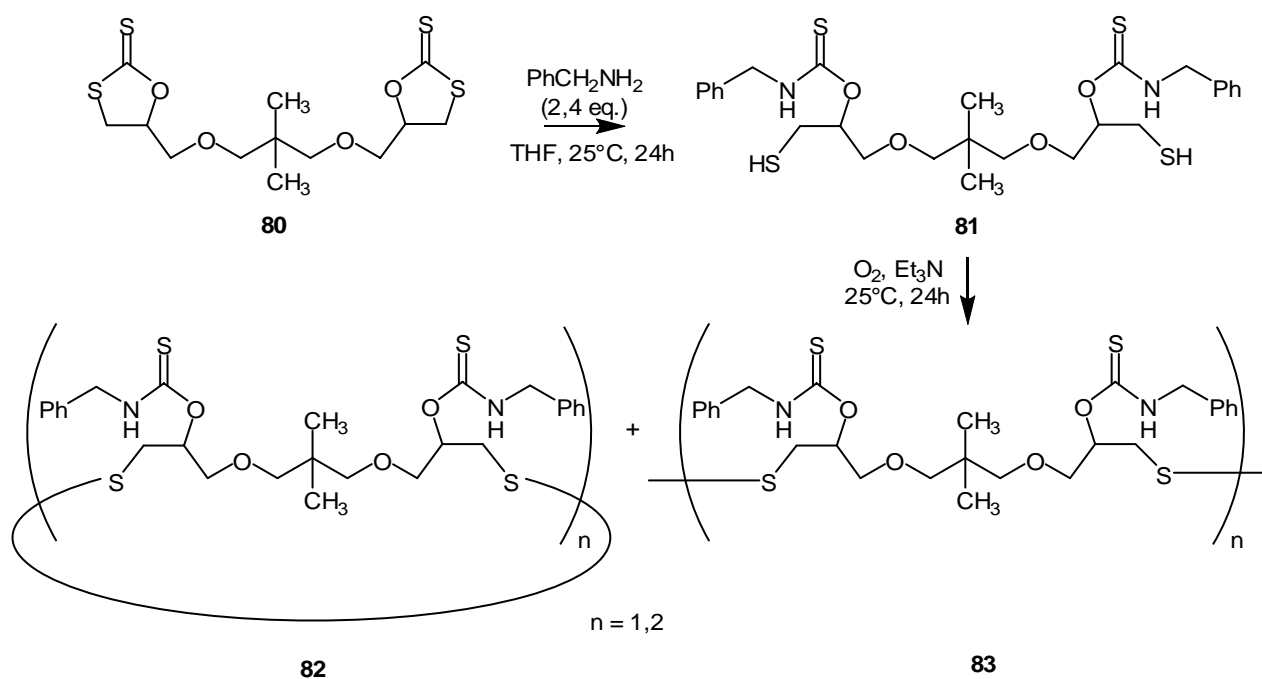
Az élő szervezetben nagy jelentősége van a diszulfid-hidaknak. Gondoljunk csak a fehérjék harmadlagos szerkezetére, ahol a fehérjelánc egyes részeit nemcsak másodlagos és ionos kötések tartják össze, hanem kovalens kötések is, például a ciszteinmolekulák között kialakuló diszulfidhidak. Ezen kívül számos – a természetben előforduló – vegyületben és biológiailag hatásos molekulában található diszulfid-kötés.

Crank és Makin pl. szuperoxid-ion ($O_2^{\cdot -}$) oxidálószerrel kísérleteztek. A szuperoxid-ion megtalálható a lélegző sejtekben. Az oxigén redukciójakor intermediereként keletkezik, de képződését más enzimkatalizált folyamatokban is kimutatták. Vizsgálataik során azt tapasztalták, hogy a tiofenol (**71**) és a 4-nitro-tiofenol (**73**) könnyen oxidálható szuperoxid-ionnal a megfelelő diszulfiddá (**35. képletábra**) [74]. A reakciót KO_2 toluolos szuszpenziójában hajtották végre. Nitrogén atmoszférában 4 órán keresztül szobahőmérsékleten kevertették a reakcióelegyet. Más termék nem képződött, további kevertetés és melegítés hatására sem. Ha a reakciót piridinben hajtják végre, és a KO_2 oldódását 18-korona-6-tal biztosítják, az oxidáció nem áll meg diszulfidnál, szulfinsav és szulfonsav kálium-sója keletkezik (**36. képletábra**) [75].



37. képletábra

Tiol-csoportokat viselő tiouretánok oxidatív polikondenzációja trietilamin jelenlétében.



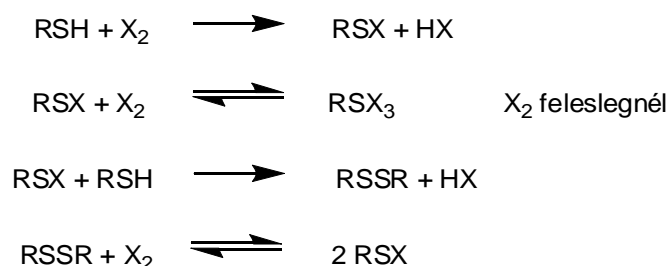
38. képletábra

Tiol-csoportokat viselő tiouretánok oxidatív polikondenzációja trietilamin jelenlétében.

Jóddal is megpróbálták véghezvinni a reakciót. A polikondenzációs reakció első pár órájában $M_n = 4600\text{-}14800$ g/mól molekulatömegű polimerek képződtek. Tovább folytatva a reakciót csökkent a hozam és a molekulatömeg is. Jód jelenlétében az idő előrehaladtával

megnőtt a mellékreakciók száma, amely kisebb molekulatömegű gyűrűs oligomerek keletkezését eredményezte.

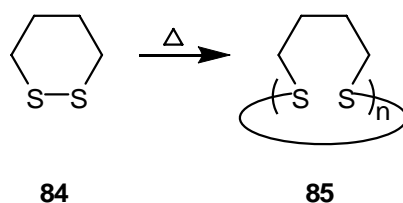
Vízmentes körülmények között halogén jelenlétében a következő reakciókat figyelték meg [77]:



Az utolsó reakció megfordíthatósága miatt lehetőség nyílik a depolimerizáció lejátszódására is.

A diszulfid polimereket általában polikondenzációval állítják elő. Ilyen anyag pl. a poliszulfid gumi, a Thiokol is [64], aminek több változata létezik. A Thiokol A pl. egy etilén-tetraszulfid polimer, melyet 1,2-diklóretán és nátrium-tetraszulfid reakciójával állítanak elő. A polimer ismétlődő egysége a $(-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{S}_4-)$ [78]. A Thiokol B monomeregysége pedig a $(-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{S}_x-)$ [78]. Ez a típusú szintetikus gumi ellenáll az oxigénnek és az ózonnak, a benzín és más oldószerek sem támadják meg. Ezért olyan tartályok és edények bevonására használják, amelyek olajjal, benzinnel, különböző oldószerekkel érintkeznek. Ezen kívül motorokba tömítésként is használható, illetve a Thiokolt oxidálószerrel összekeverve, rakétahajtó üzemanyagot kapunk [64].

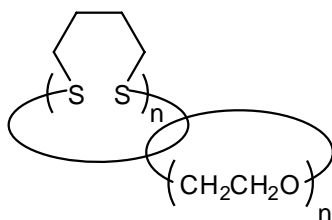
Tömb polimerizációval is elő lehet állítani polidiszulfidokat. Ezzel a módszerrel szintetizálják pl. a poli-1,2-ditiánt [65]. A ditián (**84**) tömbpolimerizációjakor, a monomer olvadáspontja felett végezve a reakciót, iniciátor hozzáadása nélkül a poli-1,2-ditián (**85**) jó hozammal keletkezik (**39. képletábra**).



39. képletábra

Az 1,2-ditián tömbpolimerizációja.

A **84**-es molekulában levő –C-S-S-C– kötés szögének torziós feszültsége lehet a hajtóerő a gyűrűfelnyílásos polimerizáció lejátszódásakor. A reakciót nagyban befolyásolja kis mennyiségű tiol jelenléte. A ditián polimerizációjakor keletkező polimer molekulatömege kontrollálható benzil-merkaptán hozzáadásával. A keletkezett poliditián szerkezete makrociklusos, de tiolok jelenlétében nyíltláncú polimereket állítottak elő. Ha a polimerizációt gyűrűs polioxietilén (CPO) jelenlétében hajtották végre, a termék tartalmazott katenán szerkezetű vegyületeket, ahol a gyűrűs poliditián és CPO kapaszkodik össze (**40. képletábra**). Ezért azt feltételezték, hogy a poliditián tartalmaz polikatenán szerkezeteket is, ahol a gyűrűs oligomerek láncszemekként kapcsolódnak össze.



40. képletábra

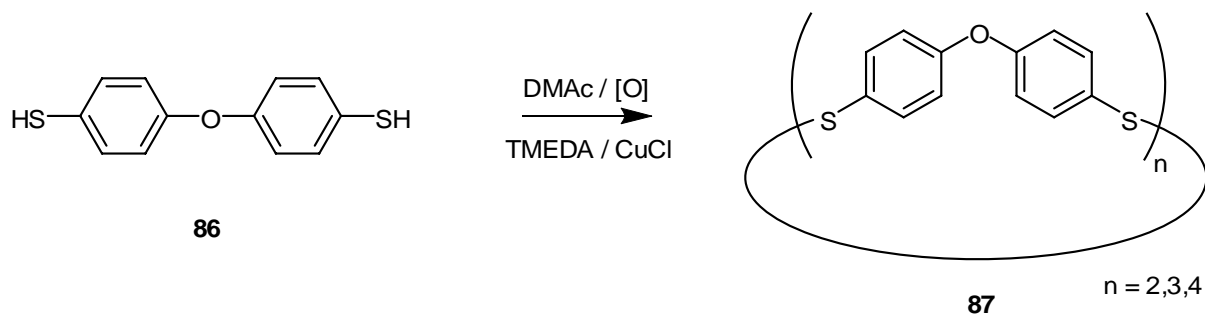
A gyűrűs poliditián és a CPO egyszerűsített katenánszerkezete.

Az alifás diszulfid-polimerek már régóta ismert és használt anyagok előnyös tulajdonságaik miatt. A környezeti hatásokkal szemben igen ellenállóak, jól tapadnak fához, fémhez, üveghez és betonhoz. Ellenállnak a szerves anyagoknak, víznek, savaknak és bázisoknak. Az aromás diszulfid-polimerek alkalmazása korlátozott, mert gyártásuk problémákba ütközik a rossz oldhatóságuk és a magas olvadákpontjuk miatt. Egyre nagyobb figyelmet fordítanak a gyűrűs aromás és a gyűrűs láncszerkezetű diszulfid-

oligomerek, mint a polimerizáció intermedierjeinek előállítására. A gyűrűs oligomerek gyűrűfelnylásos polimerizációja más diszulfid-polimerizációs módszerekhez képest előnyösebb módszer, mert nem kell hozzá oldószer, nem keletkezik melléktermék, és nagy molekulatömeg érhető el rövid reakcióidő alatt. A gyűrűs oligomereket korábban nagyon híg oldatban aromás ditiolok katalitikus oxidációjával állították elő. Reagensként leggyakrabban jódot és DMSO-t használtak [68,79,80,81]. A 4,4'-oxabisz-tiofenol (**86**) estében pl. a makrociklusos oligomerek ($n = 2,3,4...$) előállíthatóak oxidációval CuCl katalizátor és N,N,N',N'-tetrametilén-diamin (TMEDA) jelenlétében (**41. képletábra**) [80,81].

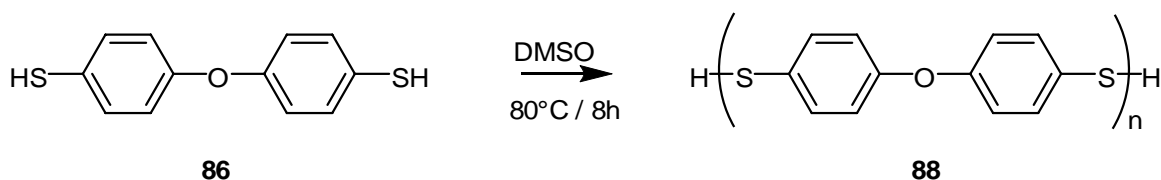
A lineáris diszulfid-polimert a 4,4'-oxabisz-tiofenol (**86**) DMSO-val történő reakciójával állítják elő (**42. képletábra**) [80,81].

Hay és munkatársai kifejlesztettek egy hatásos módszert a makrociklusos aromás diszulfid oligomerek előállítására, ahol nincs szükség híg oldatok alkalmazására [82,83]. Ez a módszer a ciklopolimerizáció, ahol a lineáris diszulfid polimert monomer hozzáadásával depolimerizálják (**43. képletábra**). A reakció N,N-dimetilacetamidban 100 °C-on játszódik le katalitikus mennyiségű kálium-karbonát és monomer jelenlétében. A reakció közel 100 %-os hozammal megy végbe.



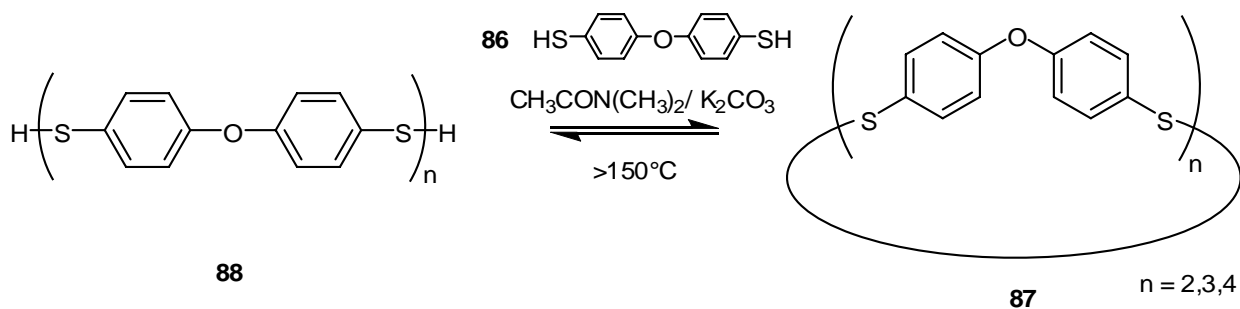
41. képletábra

4,4'-oxabisz-tiofenol polikondenzációja makrociklusos oligomerek keletkezése közben.



42. képletábra

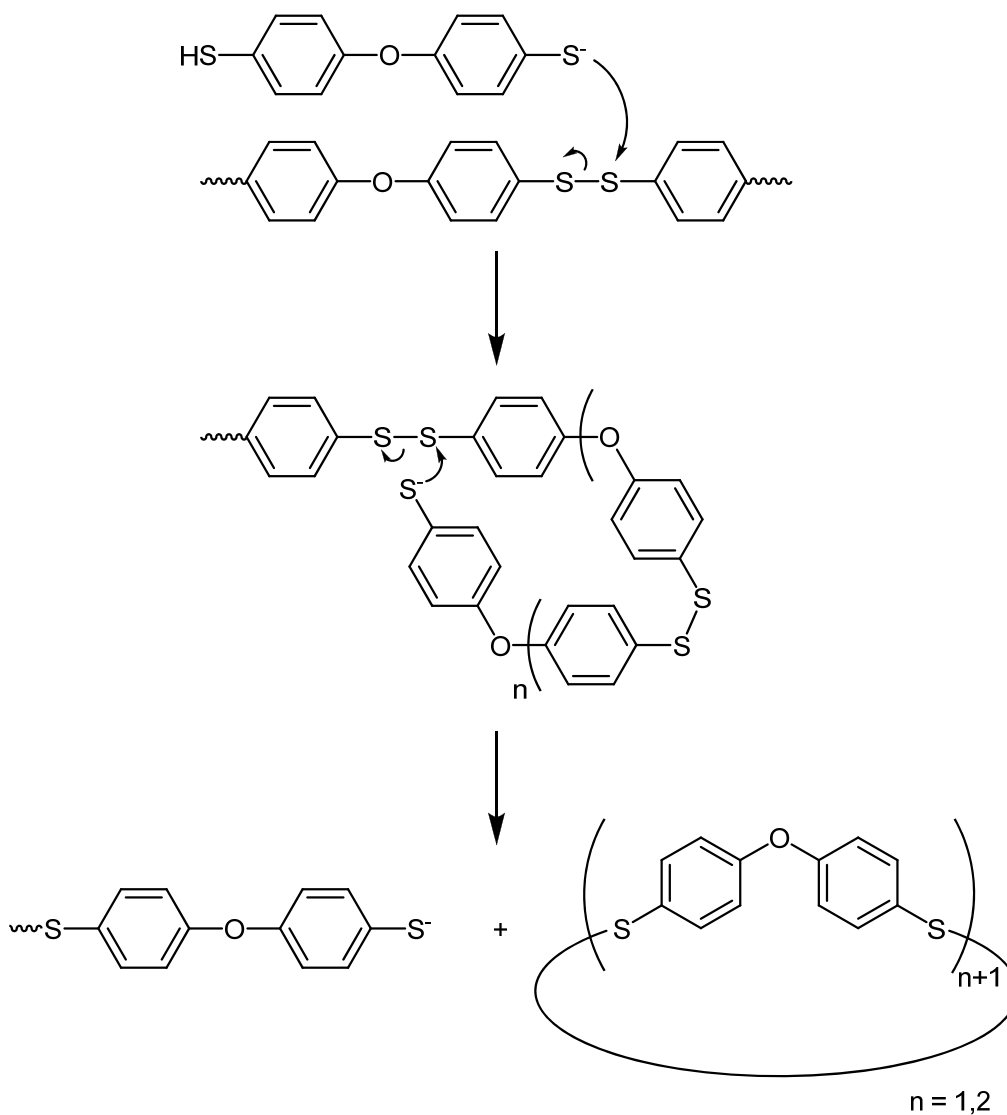
A 4,4'-oxabisz(tiofenol) DMSO-val történő polikondenzációja.



43. képletábra

A poli-4,4'-oxabisz-tiofenol depolimerizációja monomer hozzáadásával.

A ciklodepolimerizáció feltételezett mechanizmusa a **44. képletábrán** látható [83].



44. képletábra

A ciklodepolimerizáció feltételezett mechanizmusa.

A tiolok diszulfidokká történő átalakítása széntetrakloriddal is véghezvihető bázis jelenlétében (**45. képletábra**) [71]. A kísérletek során azt tapasztalták, hogy a reakció lejárásját befolyásolja a bázis minősége és az alkalmazott oldószer polaritása is. Ha pl. trietilamint használtak bázisként, a reakció hozama nagyban függött a választott oldószertől. Az oxidáció dimetilformamidban és acetonitrilben jobb kitermeléssel ment végbe, mint pl. dietiléterben.



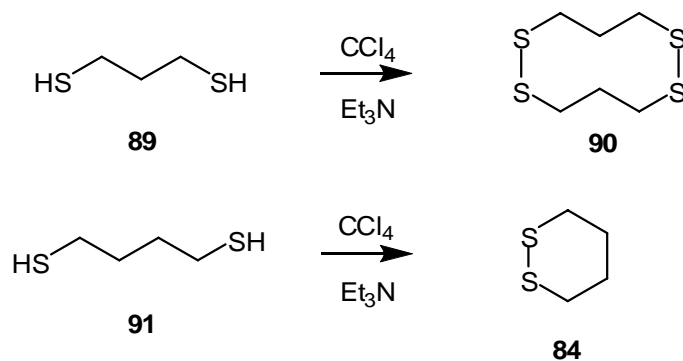
45. képletábra

Tiolok reakciója széntetrakloriddal trietilamin jelenlétében.

A reakció végbemenetele az R-csoport minőségétől is függ. Az oxidáció pl. 93 %-os hozammal ment végbe DMF-ben, ha az R-csoport 2-naftil-csoport volt, de pl. n-bután-tiol esetén csak 51 %-ban keletkezett a megfelelő diszulfid.

Nátrium-etilátot is alkalmaztak bázisként, és azt tapasztalták, hogy a reakció lejárásdát független az alkalmazott oldószer polaritásától. *Izo*-butántiolt oxidálva a megfelelő diszulfid-vegyület mind acetonitril, mind pedig dietiléter oldószer esetén nagyobb, mint 80 %-os arányban keletkezett.

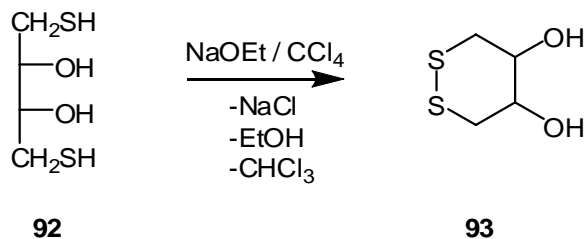
Ditiolokat is reagáltattak széntetrakloriddal trietilamin jelenlétében. Az 1,2-etánditiol reakciójakor gyűrűs oligomerek keletkeztek 63 %-ban, míg az 1,3-propánditiol (**89**) 79 %-ban dimerré alakult át. Az 1,4-butánditiol (**91**) esetében a hattagú gyűrűs 1,2-ditián (**84**) keletkezett 95 %-ban (**46. képletábra**).



46. képletábra

Az 1,3-propánditiol és az 1,4-butánditiol reakciója kloroformmal trietilamin jelenlétében.

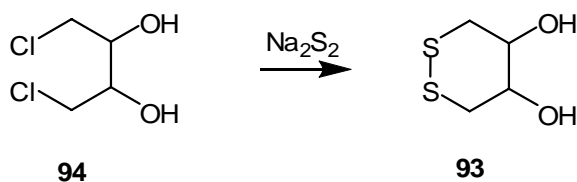
A 2R,3S-dihidroxi-1,4-butánditiol (1,4-ditioeritritol) (**92**) gyűrűzárását nátrium-etilát jelenlétében hajtották végre. 40 %-os hozammal keletkezett a 4R,5S-dihidroxi-1,2-ditián (**93**) (**47. képletábra**).



47. képletábra

Az 1,4-ditioeritritol reakciója széntetrakloriddal nátrium-etilát jelenlétében.

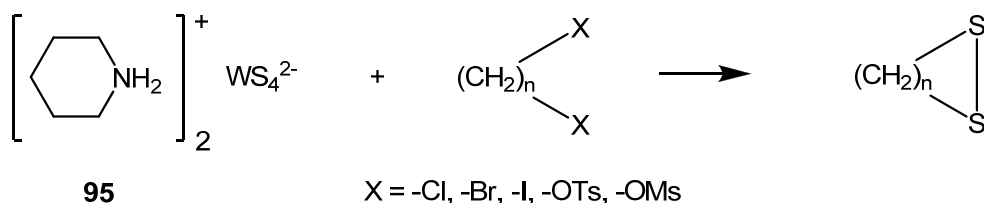
A 4,5-dihidroxi-1,2-ditián (**93**) előállítható 1,4-diklórbután-2,3-diolból (**94**) is igen jó hozammal nátrium-diszulfiddal (**48. képletábra**) [66].



48. képletábra

A 4,5-dihidroxi-1,2-ditián előállítása 1,4-diklórbután-2,3-diolból.

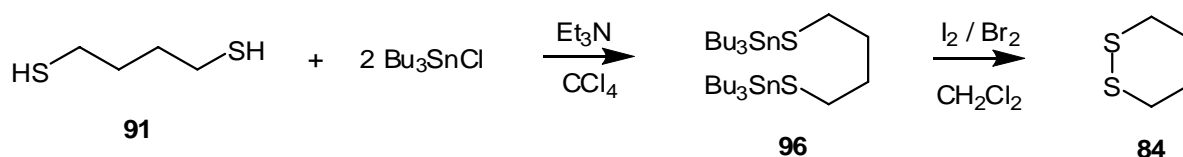
Gyűrűs diszulfidok előállítására szintén alkalmas reagens a piperidinium-tetratiovolframát (**95**) (**49. képletábra**) [84].



49. képletábra

Gyűrűs diszulfidok előállítása piperidinium-tetratiovolframáttal.

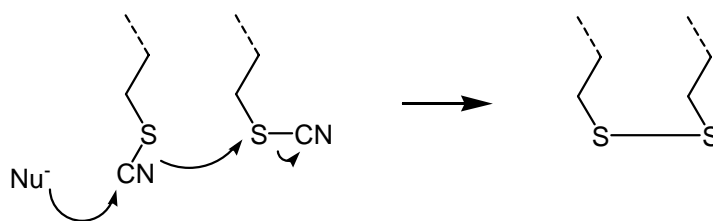
Bisz-(trialkilón)-ditiolátok oxidatív ciklizációjakor is gyűrűs diszulfidok keletkeznek, ha a reakciót sötétben hajtják végre [85]. Ha nem, akkor polimerizáció megy végbe. Az 1,4-butánditiol (**91**) és a tri-n-butilón-klorid reakciójakor bisz-(tri-n-butilón)-butánditiolát (**96**) keletkezik trietilamin és széntetraklorid jelenlétében (**50. képletábra**). Ezután a keletkezett vegyületet jóddal vagy brómmal oxidálva 1,2-ditiánt (**84**) kapunk termékként.



50. képletábra

Az 1,4-butánditiol reakciója tri-n-butilón-kloriddal.

A tiocianátok szintén felhasználhatóak diszulfidok előállítására. Bázis (pl. NaOH, NH₃) hozzáadásával a megfelelő diszulfid keletkezik jó hozammal [86]. Burns és munkatársai kifejlesztettek egy olyan diszulfidszintézis módszert, ahol a kiindulási tiocianátokon bázisra érzékeny csoportok, mint például észter-csoportok is lehetnek. Reagensként tetrabutilammónium-fluoridot alkalmaztak, ahol a fluorid-ion szerepel nukleofilként a reakcióban (**51. képletábra**) [86].



51. képletábra

Diszulfidok előállítása tiocianátokból.

Az előzőekben megemlített diszulfidszintézis módszereken kívül számos más oxidációs és szubsztitúciós módszer található még a szakirodalomban.

3.2 Tiol-diszulfid kicserélődési reakció

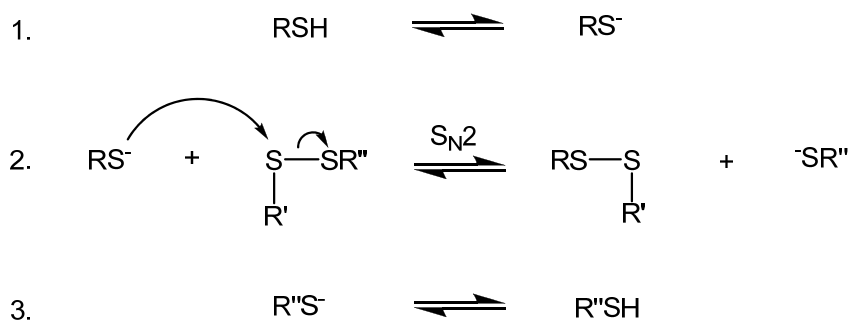
A –S–S– kötés erős kovalens kötés, ami reverzibilisen kialakítható és hasítható. Érdekessége a kötésnek, hogy maga a tiol-csoport is képes hasítani a diszulfid-kötést, illetve a diszulfid is képes a tiol-csoportokat oxidálni, miközben saját maga tiollá alakul (**52. képletábra**). Ez a tiol-diszulfid átalakulás a reakcióban résztvevő diszulfidok stabilitásán alapul. A ditiolok redukálóképessége és a belőlük kialakuló, diszulfid-kötést tartalmazó gyűrű mérete között egy általános összefüggés van: azok a ditiolok, amelyek 6-tagú gyűrűs vegyület kialakítására képesek, a leginkább redukáló tulajdonságúak. Az 5- és 7-tagú gyűrűt képző vegyületek már kevésbé redukálnak [87]. Az 1,2-etánditiol származékai viszonylag híg oldatokban (~1mM) gyűrűs bisz(diszulfid) dimereket képeznek, de nagyobb koncentrációknál polimerizálódnak. A többi ditio-vegyület általában polikondenzációra hajlamos oxidatív körülmények között.



52. képletábra

A tiol-diszulfid kicserélődési reakció.

A kicserélődési reakció három lépésből áll (**53. képletábra**). Első lépés a tiol-csoport ionizációja, a második a tiolát-anion nukleofil támadása a diszulfid-híd egyik kénatomján, majd a keletkező tiolát-anion protonálódása [87]. Mind a három lépés reverzibilis.

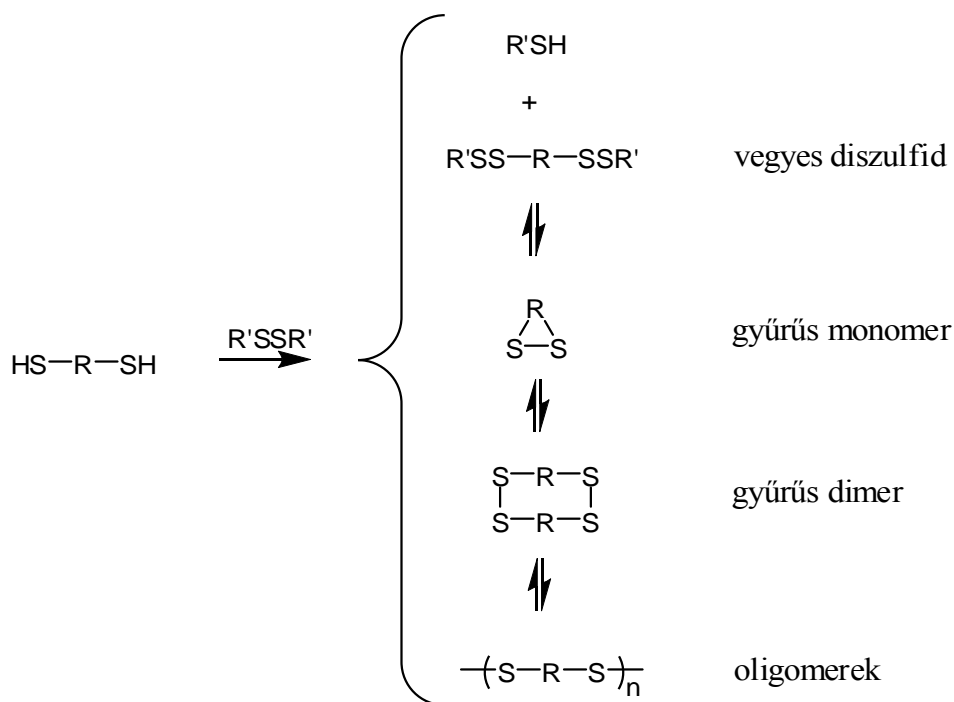


53. képletábra

A tiol-diszulfid kicserélődési reakció lépései.

Egy α,ω -diszulfid tiol-diszulfid kicserélődéssel történő oxidációjakor többféle vegyület keletkezhet. Egyensúlyi körülmények között a következő anyagok vannak legnagyobb mennyiségben jelen a rendszerben: gyűrűs monomer diszulfidok, gyűrűs dimer bisz(diszulfidok) és oligomer diszulfidok (**54. képletábra**). Ezen anyagok aránya az R-csoport minőségétől függ leginkább [87]. Ha a tiol-csoportokat 3-6 atom választja el egymástól, akkor a gyűrűs monomer diszulfid a reakció főterméke. Az ilyen gyűrűs vegyületek képzésére alkalmas ditiolok viszonylagosan erősen redukáló anyagok. Ez annak is köszönhető, hogy a tiol-csoportoknak magas a tényleges koncentrációja a tiol-diszulfid kicserélődési lépésben. Azoknál a ditioloknál, ahol több, mint hat atom van a két funkciós csoport között, a tiol-csoportok tényleges intramolekuláris koncentrációja eléggé kicsi, ezért az intermolekuláris diszulfid-kötések kialakulása összemérhetővé válik a gyűrűs monomer képződésével, és termékként oligomerek is képződnek.

Az sem igazán előnyös, ha a kialakuló gyűrű 5 atomot tartalmaz a kénatomok mérete miatt fellépő gyűrűfeszültség miatt.

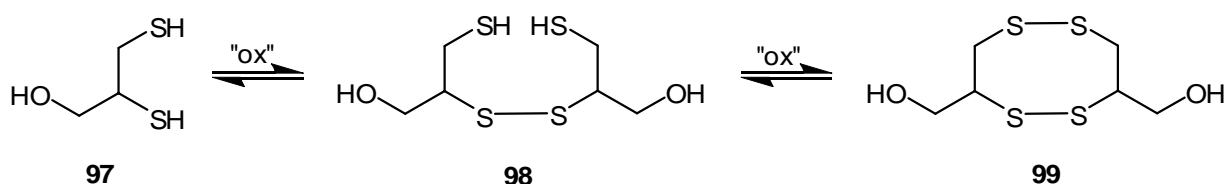


54. képletábra

Egy α,ω -diszulfid tiol-diszulfid kicserélődéssel történő oxidációjának egyensúlyi állapotában legnagyobb mennyiségben jelenlevő anyagok.

Pl. a 2,3-dimerkapto-1-propanol (**97**) sokkal erősebben redukáló tulajdonságú, mint amikor az oldat monotio-1-propanolt tartalmaz ugyanolyan tiol-csoport koncentráció mellett [88]. Ez azért van, mert a 2,3-dimerkapto-1-propanolból 7-tagú gyűrűs dimer (**99**) keletkezik (**55. képletábra**). Kis koncentrációnál gyűrűs termék, töményebb oldatban pedig polimer keletkezik.

A diszulfidok redukáló tulajdonságát több dolog is befolyásolja, és nem mindig lehet pontosan megjósolni a viselkedésüket.



55. képletábra

A 2,3-dimerkapto-1-propanol oxidációja.

3.2.1 Dinamikus kombinatorikus kémia

Egy viszonylag új kémiai tudományág, a dinamikus kombinatorikus kémia egyik ága a diszulfid-kötés reverzibilitásán alapul.

A tapasztalatok szerint pl. egy-egy új gyógyszer kifejlesztéséhez átlagosan mintegy tízezer új vegyületet kell előállítani és megvizsgálni. Ezeket a vegyületeket a nyolcvanas évekig igen fáradságos és költséges munkával egyenként szintetizálták és egyenként végezték el a hatásvizsgálatokat is. Erre a problémára jelentett megoldást a kombinatorikus kémia megjelenése, ami a gyógyszeriparban nyert először alkalmazást. A statikus kombinatorikus kémia esetén az oldatban vagy hordozón (folyadék vagy szilárd fázisban) megvalósított szintézisek során vegyületehalmazokat, vagy párhuzamos utakon egyedi molekulákat állítanak elő. A módszerre jellemző, hogy az így előállított nagyszámú vegyület közül csak néhány bizonyul biológiailag aktívnek.

A biológiailag hatásos molekula kiválasztásának, megtalálásának ideje és költségei nagymértékben csökkenthetőek, ha a biológiai célpontot közvetlenül bevonjuk a célmolekula szintézisébe, a legjobban kötődő ligandum kiválasztásával. Ezáltal a szintézis során a

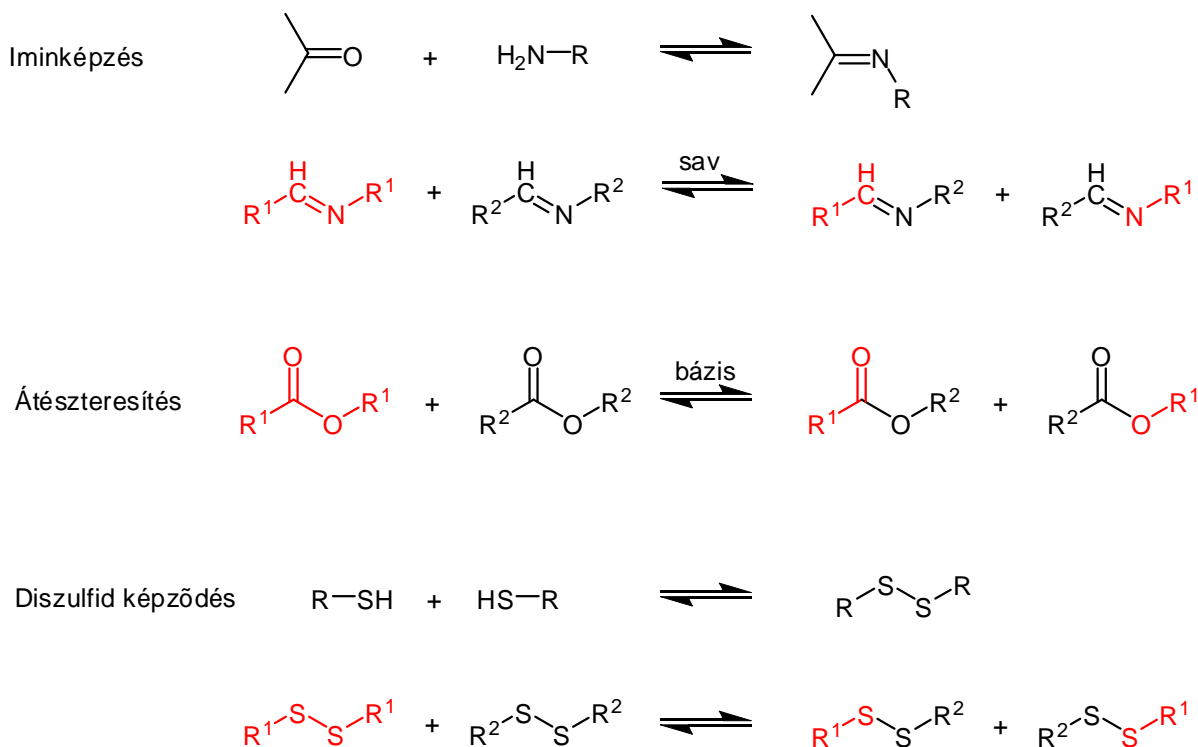
biológiailag aktív molekula dúsul fel a legjobban a reakcióelegyben, és a templát molekulához kötődve könnyebben detektálható az adott aktív molekula [89,90].

A megoldást a kilencvenes évek második felében kifejlesztett dinamikus kombinatorikus kémia jelentette. A dinamikus kombinatorikus kémia általánosságban nagyon hasonlít a hagyományos kémiai könyvtárakra, például templátmolekula, vagy valamilyen felismerő molekula jelenlétének hiányában a különböző építőkövekből álló rendszerben hasonló arányban keletkeznek a különböző molekulák attól függetlenül, hogy kinetikus vagy termodinamikus kontroll érvényesül.

A dinamikus kombinatorikus kémia reverzibilis kötések kialakulásán és felbomlásán alapul. Attól függően, hogy ez a kötés elsődleges kovalens kötés, vagy valamilyen másodlagos nemkovalens kötőerő, beszélhetünk molekuláris vagy szupramolekuláris dinamikus kémiáról.

A dinamikus folyamatban részt vevő anyagok dinamikus könyvtárat hoznak létre. A dinamikus könyvtár tagjai közt folyamatos átalakulás lehetséges. Az egyes könyvtártagok építőelemei egymással kicserélődhetnek. A folyamatok végbemenetele nem kinetikailag, hanem termodinamikailag kontrollált [89, 90]. A dinamikus rendszerek ezáltal képesek válaszolni a külső hatásokra.

A molekuláris dinamikus rendszerek alapja valamilyen reverzibilis kémiai reakció. Ilyen például az iminképződés, az átészterésítés, a Michael-addíció, vagy például a Diels-Alder reakció is (**56. képletábra**). A reakció reverzibilitásához csak a megfelelő körülményeket kell biztosítani. A dinamikus könyvtárak létrehozására alkalmas reverzibilis kötés a diszulfid-kötés is (**56. képletábra**) [89,90].



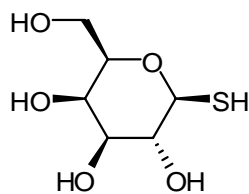
56. képletábra.

Dinamikus rendszerek kialakítására alkalmas kötéstípusok és kémiai reakciók.

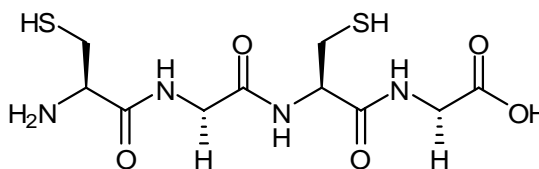
A diszulfid-kicserélődési reakció az egyik legigéretesebb reakció a dinamikus kombinatorikus kémiában. Oldatban a tiolok könnyen oxidálhatóak diszulfidokká, ehhez a levegő oxigéntartalma is elegendő, kis mennyiségű bázis jelenlétében. A diszulfid-csere enyhe körülmények között véghezvihető katalitikus mennyiségű tiol jelenlétében, és a kicserélődés könnyen „kikapcsolható” savas körülmények létrehozásával. Ezen kívül a diszulfidok számos funkciós csoport jelenlétében stabilak maradnak [89].

Mint már említettem, oxigén jelenlétében a diszulfid-kötés létrehozásához szükséges enyhén bázikus körülményeket kialakítani, de a diszulfid-csere lejátszódásához nem elegendő csupán a pH megfelelő beállítása, katalizátorként jelen kell lennie valamilyen tiolvegyületnek is. Ezt bizonyítja az a kísérlet is, amelyet Sando és munkatársai végeztek [91]. Előállítottak két különböző diszulfid vegyületet. Az egyik egy tiocukor dimer (A-A) volt, a másik pedig egy gyűrűs peptid dimer (cB-B) (**57. képletábra**). Mindkét vegyületet enyhén bázikus pufferben, nyitott edényben kevertetve készítették, a levegő oxigénjével oxidálva a kiindulási tiolokat. Ezután összekeverték a keletkezett dimereket, és szintén bázikus pufferben, nyitott edényben egy napig kevertették a reakcióelegyet. Az elegy összetétele nem változott, az érintetlen cukor-dimer és a gyűrűs peptid-dimer volt jelen az ESI tömegspektrumban.

Ditiotreitol, mint diszulfidcsere-iniciátor jelenlétében azonban diszulfid-kicserélődés révén a tömegspektrumban megjelent egy új csúcs, egy vegyes diszulfid csúcsa, amely két cukor-molekulából és egy peptidből állt (A-B-A).



100: A

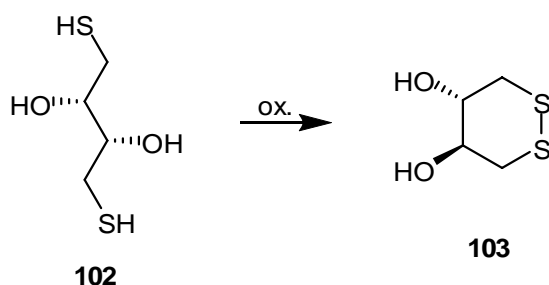


101: B

57. képletábra

Sando és munkatársai által diszulfidképzésre felhasznált tiolok.

A ditio-treitol (**102**) egy négy szénatomos cukorszarmazék, viszonylag erős redukálószer. Oxidációja során stabilis hatatomos gyűrűs diszulfid keletkezik belőle (**58. képletábra**), ezért ő maga nem épül be a dinamikus könyvtárba. Emiatt jól alkalmazható redukáló hatású tiolként dinamikus könyvtárak esetén.



102

103

58. képletábra

Az 1,4-ditiotreitol oxidációja.

A dinamikus kombinatorikus kémia egy különleges ága a molekuláris és szupramolekuláris polimerekkel foglalkozik. Ezeket az anyagokat dinamereknek nevezzük [92]. A dinamereket talán úgy lehetne definiálni, hogy ezek dinamikus konstitúcióval rendelkező polimerek. Más szavakkal: olyan polimerek, amelyek monomeregységei reverzibilis kötésekkel kapcsolódnak össze, és ezért képesek arra, hogy az egyes molekularészletek kicserélődésével, vagy a különböző részek felcserélődésével

megváltoztassák szerkezetüket. Attól függően, hogy a monomerek reverzibilis kovalens, vagy nemkovalens kötésekkel kapcsolódnak egymáshoz beszélhetünk molekuláris vagy szupramolekuláris dinamerekről. A molekuláris dinamerek polikondenzációs reakciók során keletkezhetnek, a szupramolekuláris dinamikus rendszerek pedig poliasszociációval jönnek létre. A molekuláris dinamerek esetén nem csak a reverzibilis kovalens kötések biztosíthatják a rendszer dinamikusságát, hanem a másodlagos kötőerők is. Az ilyen típusú dinamereket duplán dinamikus polimereknek nevezzük.

A dinamikus jelleg felruhazza a dinamereket azzal a tulajdonsággal, hogy képesek a körülményekhez való alkalmazkodásra, illetve külső kémiai vagy fizikai behatásra irányított átalakuláson mennek keresztül. Ez a fajta irányított önszerveződés új tulajdonságokat ad a polimereknek, „alkalmazkodó anyagokként” viselkednek. Akár önmaguk kijavítására is alkalmasak a biológiai molekulákhoz hasonlóan.

A dinamerek alkalmasak dinamikus filmek, illetve csomagolóanyagok kifejlesztésére, csakúgy, mint dinamikus formulázásra, biológiailag hatásos molekulák molekuláris kapszulázására, ami lehetővé teszi, hogy az aktív összetevők csak lassan szabaduljanak fel pl. gyógyszerek esetén, vagy pl. a mezőgazdaságban használt vegyszerek esetén. A diszulfid-kötés dinamikus kötés, így a diszulfid polimerek a megfelelő körülmények közt viselkedhetnek dinamerekként.

3.3 Szénhidrát bázisú polidiszulfidok (saját vizsgálatok)

A polidiszulfid szerkezetű szénhidrát polimerek több szempontból is érdekes anyagok lehetnek. A reverzibilisen kialakítható és felbontható kötéstípusok közül a diszulfid-kötés létrehozása tűnik a legegyszerűbbnek. Csak egyféle monomert kell szintetizálni, és nem kell két különböző funkciós csoportot kialakítani rajta, csak két tiolcsoportot kell létrehozni egy molekulán.

A diszulfid-kötés reverzibilitásának köszönhetően a polidiszulfidok reverzibilisen felépíthető és lebontható vegyületek. A diszulfid-kötés biológiailag is lebontható kötés, ezért a diszulfid-kötéseket tartalmazó polimerek alkalmasak lehetnek gyógyszermolekulák molekuláris kapszulázására. A kötés stabilis marad a sejtközi térben levő oxidatív körülmények között, ami főleg a jelenlevő cisztin magasabb koncentrációjának köszönhető (40 μM) a ciszteinnel (9,7 μM) és a glutation redukált formájával szemben (2,8 μM) [93]. A sejtek belsejében viszont (a citoszolban) a redukzív körülmények miatt a diszulfid-kötés felbomlik, a jelen levő glutation redukált formájának magas koncentrációja következtében (5 mM). Ez a jelenség jól használható gyógyszermolekulák molekuláris kapszulázásakor, mert így a becsomagolt hatóanyag sértetlenül eljuthat a sejt felszínéig, majd a sejtbe bekerülve a „csomagolás” lebomlik, és felszabadul az aktív molekula.

A diszulfidhíd létrehozása vagy nukleofil szubsztitúcióval, vagy a tiolcsoportok oxidációjával történik. Szubsztitúció során általában dihalogenidet, ditionitátot, illetve dimezilátot cserélünk le diszulfid-anionnal [66,67]. A ditio-vegyületek oxidációjára igen sok különböző módszer ismert. Oxidálószer lehet pl. jód trietilamin jelenlétében [68], vagy bróm [69], kálium-hexacianoferrát(III) [70], széntetraklorid bázis jelenlétében [71], $\text{H}_2\text{O}_2/\text{KI}/\text{AcOH}$ rendszer [72], vagy akár kálium-szuperoxid (KO_2) is [74,75].

A legegyszerűbb oxidálószer, amit tiolcsoportok oxidálására felhasználhatunk, az oxigén. Használata igen egyszerű, bázis jelenlétében könnyen végbemegy a reakció [62,63]. Az oxidációhoz elegendő a levegő oxigéntartalma is. A reakcióelegyben nincs jelen az oldószeren, a monomeren és a bázison kívül más idegen szennyező anyag, és nincs szükség a keletkező melléktermék eltávolítására.

3.3.1 Célkitűzés

Doktori munkám második felében olyan szénhidrát polimerek előállításával foglalkoztam, amelyek monomeregységei diszulfid-hidakon keresztül kapcsolódnak. Számos polidiszulfid szerkezetű anyag előállításáról és felhasználásáról olvashatunk a szakirodalomban [62,63,64,65], de eddig még nem szintetizáltak hasonló szerkezetű szénhidrát bázisú polimereket.

Céлом volt a ditio-cukor monomer polikondenzációjának vizsgálata, és a keletkezett polidiszulfidok molekuláris kapszulázásra való felhasználása.

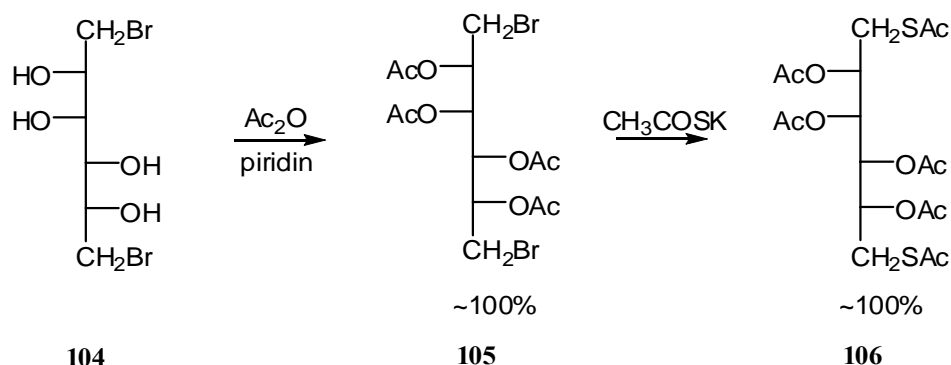
3.3.2 A célok megvalósítása

3.3.2.1 A monomer szintézise

Az első feladat a monomer előállítása volt. Kiindulási anyagnak az 1,6-dibróm-D-mannitolt (**104**) választottam. Az 1,6-dibróm-D-mannitol egy cukoralkohol származék, melyet korábban Myelobromol® [94] néven daganatellenes szerként használtak. Alkilezőszer lévén a DNS-ben keresztkötéseket létesít. Leggyakrabban csontvelő-átültetéseknel alkalmazták a daganatos sejtek elpusztítására. Korábban a Chinoin gyógyszergyár gyártotta, de ma már nincs forgalomban.

Az 1,6-dibróm-D-mannitol viszonylag könnyen átalakítható 1,6-ditio-vegyületté, amely oxidációval polikondenzációs reakcióba vihető.

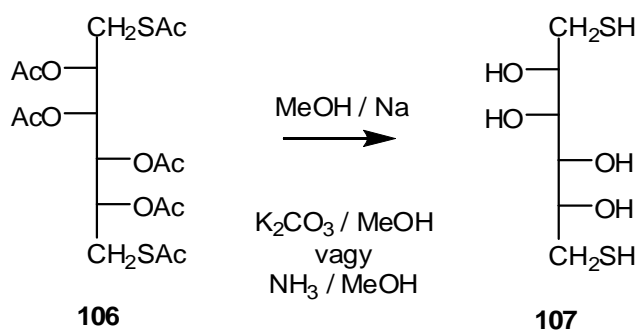
Az 1,6-dibróm-D-mannitol (**104**) OH-csoportjait először acetyl-csoportokkal védtem, majd a molekulán levő bróm-szubsztituenseket kálium-tioacetáttal tioacetyl-csoportokra cseréltem (**59. képletábra**).



59. képletábra

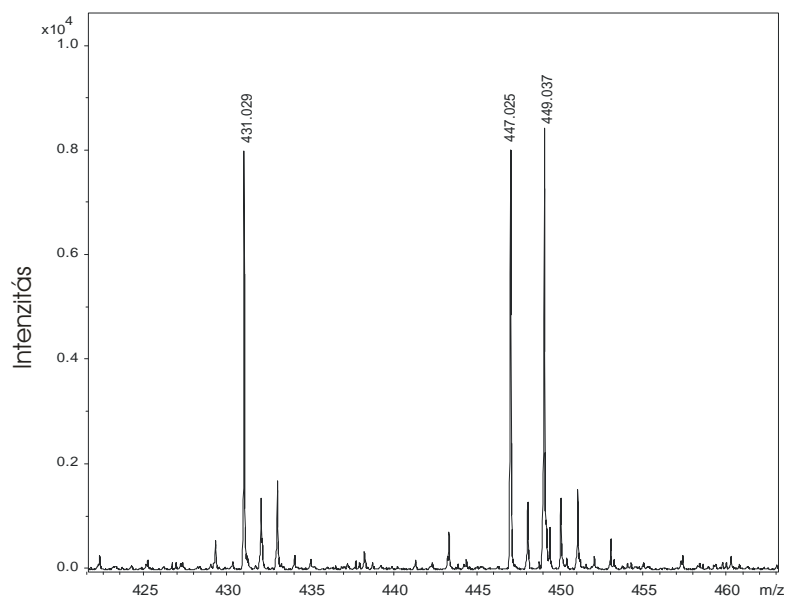
A peracetilezett 1,6-ditio-D-mannitol előállítása.

A keletkezett vegyületet (106) Zemplén-féle módszerrel dezacetileztem (60. képletábra) [54]. A terméket ESI-TOF tömegspektrométerrel vizsgáltam, és azt tapasztaltam, hogy a tömegspektrumban a monomer mellett megtalálható a dimer, a trimer, a tetramer és a pentamer csúcsa is (6. ábra). Az egyes nyíltláncú oligomerek mellett látható egy két daltonnal kisebb csúcs is, ami az adott gyűrűs oligomernek felel meg. Ezen kívül a nyíltláncú forma mindegyik csúcsához képest látható a spektrumban egy 18-as tömegvesztésnek megfelelő csúcs is, ami vízvesztéssel magyarázható.



60. képletábra

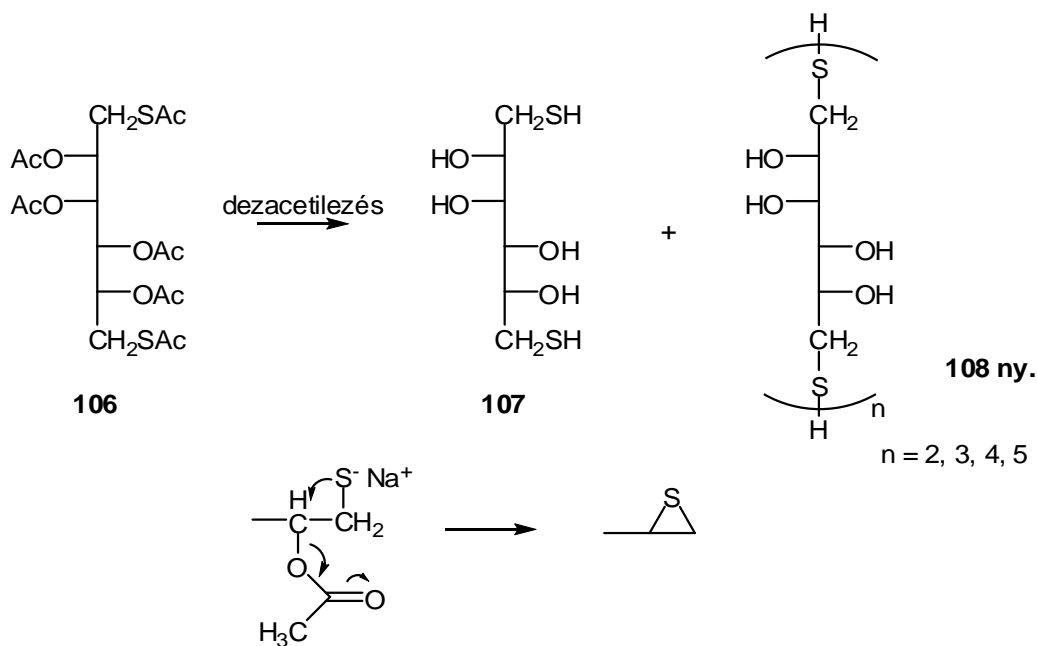
Az 1,6-ditio-D-mannitol előállítása.



6. ábra

A dezacetilezett 1,6-ditio-D-mannitol ESI-TOF tömegspektrumának részlete.

A polimerizáció tehát beindult a dezacetilezés körülményei között. Megpróbáltam más, enyhébb módszerekkel is végrehajtani a dezacetilezést, K_2CO_3 -tal [57] és ammóniával is metanolban. A reakció termékében szintén jelen volt a monomer mellett a dimer és a trimer is, és ezek gyűrűs változata, illetve a vízvesztés is tapasztalható volt. A gyűrűs oligomerekhez képest megjelenő vízvesztés úgy magyarázható, hogy az acetil-védőcsoport jelenléte miatt a rossz távozó hidroxil-csoport jó távozó csoporttá vált, és a tiolát-csoport nukleofil támadása révén a **61-es ábrán** látható módon egy tiirán gyűrű alakul ki a molekulán.

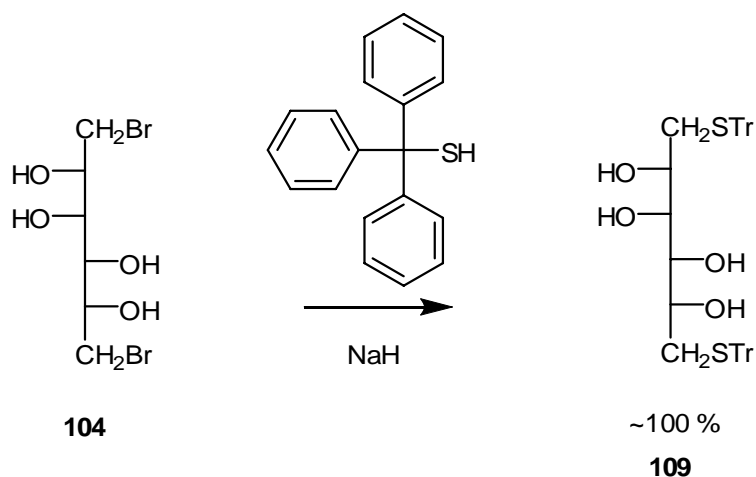


61. képletábra

A peracetilezett 1,6-ditio-D-mannitol dezacetilezésekor végbement reakciók.

A vízvesztéssel járó intramolekuláris reakció gátolja a polikondenzációt, azáltal, hogy a molekula egyik végén levő SH-csoportot viszi reakcióba, és ezzel lezárja a láncvéget.

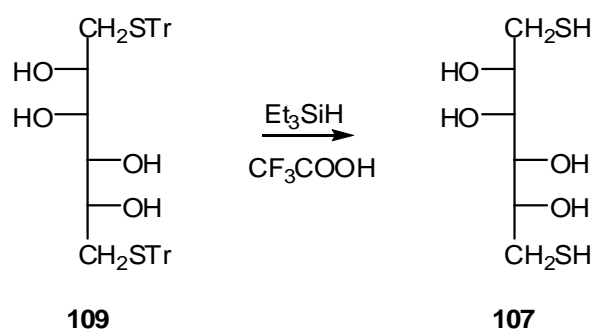
Olyan védőcsoportot kellett választanom, amelynek eltávolítása savas vagy semleges körülmények között megy, mert bázis jelenléte a reakcióelegyben a polikondenzációnak kedvez. A trifenil-metil csoportok eltávolításához savas körülmények kellene, ezért erre a védőcsoportra esett a választásom. A szabad 1,6-dibróm-D-mannitolt (**104**) trifenil-metántiollal reagáltattam nátrium-hidrid jelenlétében. A reakció igen jó hozammal ment végbe (~100 %) (**62. képletábra**).



62. képletábra

Az 1,6-bisz-trifenilmetiltio-D-mannitol előállítása.

A trifenilmetil-csoportok jól eltávolítható csoportok. Először csak trifluorecetsavval próbáltam meg eltávolítani, de a reakció nem ment teljesen végbe. Ez azzal magyarázható, hogy a tritil-kation igen stabilis, és egyensúlyi reakcióban visszakapcsolódik a tiolát láncvégre. Ezért redukálni kellett a tritil-kationt trifenilmetánná trietil-szilánnal (**63. képletábra**). A reakció termékeként megkaptam a polikondenzáció monomerét, az 1,6-ditio-mannitolt (**107**).



63. képletábra

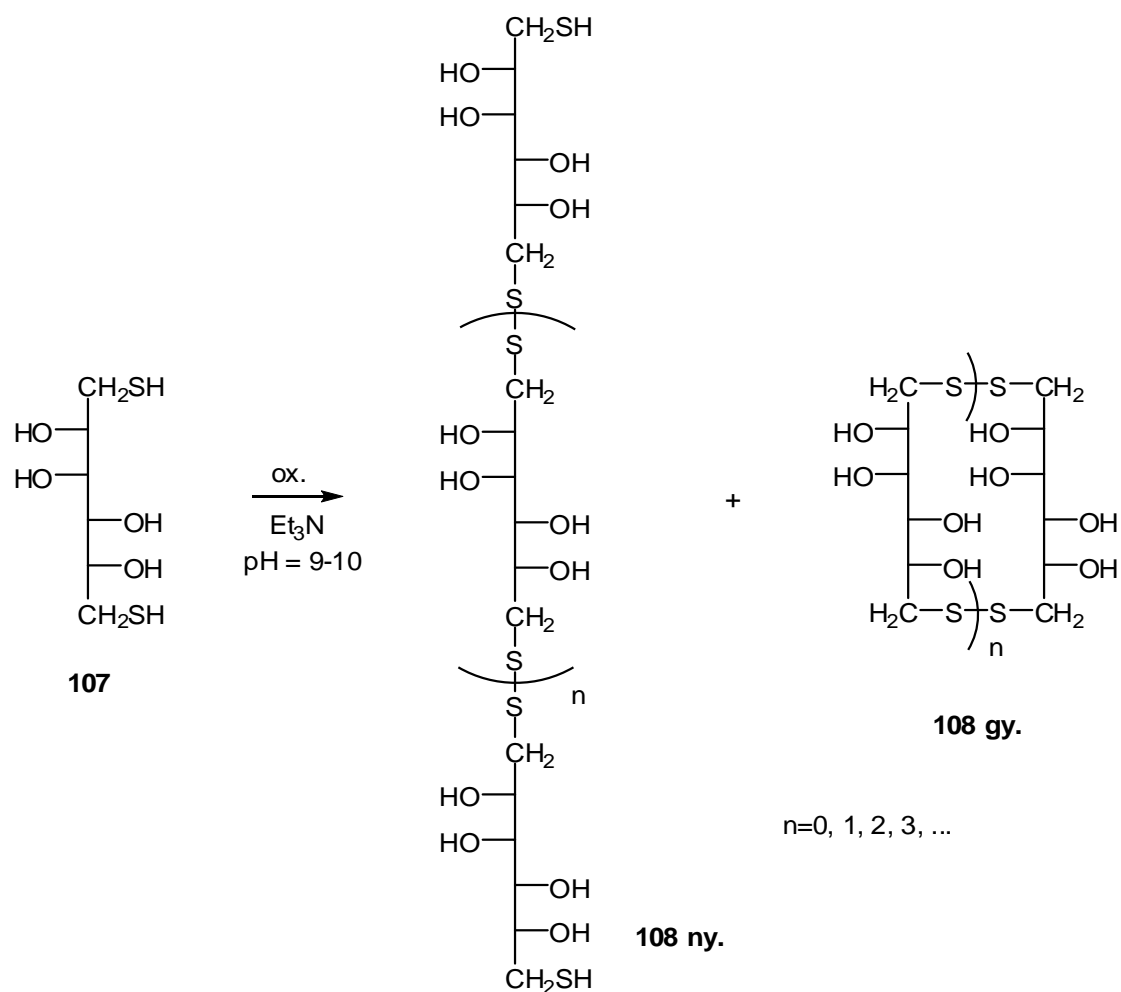
Az 1,6-ditio-D-mannitol előállítás.

3.3.2.2 Az 1,6-ditio-D-mannitol polikondenzációja

Az 1,6-ditio-D-mannitol (**107**) oxidatív polikondenzációjához a levegő oxigénjét alkalmaztam oxidálószerként. A reakciókörülmények beállítása során azt tapasztaltam, hogy savas és semleges körülmények között nem indul be az oxidáció, gyengén lúgos pH-jú oldatban (pH ~ 7,5) pedig csak igen lassan megy a reakció. Ha tiol-csoportok oxidációjára oxigént használunk oxidálószerként, akkor szükség van bázis jelenlétére [62,63]. A reakciókat ezért 9-10 pH-jú oldatban végeztem. Bázisként trietilamint használtam.

Az oxigéneken kívül más oxidálószereket is kipróbáltam, mint pl. a jódot [68] és a kálium-hexacianoferrát(III)-at [70].

Mivel a reakció során nyíltláncú (**108 ny.**) és gyűrűs (**108 gy.**) oligomerek is keletkezhetnek (**64. képletábra**), ezért szándékomban állt a két forma keletkezésének vizsgálata, és lehetőség szerint szabályozása.



64. képletábra

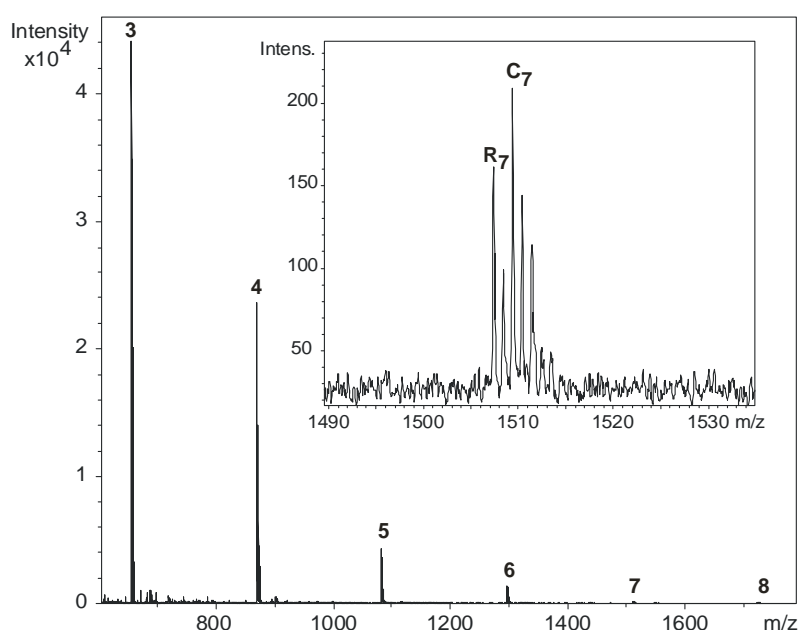
Az 1,6-ditio-D-mannitol oxidatív polikondenzációja.

Vizsgáltam a polikondenzáció idő- és oldószerfüggését is. Oldószerként desztillált vizet, metanolt, dimetil-formamidot (DMF), dioxánt és piridint alkalmaztam. A reakcióelegyek általában 0,5 %-osak (5 mg/ml-es koncentrációjúak) voltak 1,6-ditio-D-mannitolra nézve. A keletkezett oligomereket MALDI-TOF MS módszerrel vizsgáltam.

Az oxidatív polikondenzáció során, mint ahogyan az várható volt, gyűrűs és nyíltláncú oligomerek is keletkeztek a körülményektől függően. A MALDI-TOF tömegspektrumok alapján a trimertől kezdve fokozatosan csökken az egyes oligomerek mennyisége a reakcióelegyben. A polikondenzáció legtöbbször 10-12 monomer összekapcsolódásáig ment el, 2500-as tömeg egység felett már általában alig volt látható molekulacsúcs a spektrumban. Ez azzal magyarázható, hogy a nagyobb molekulatömegű

egységek vagy kiváltak az oldatból, vagy pedig a gyűrűképződések miatt leállt a polikondenzáció.

A **7. ábrán** egy olyan reakció termékelegyének MALDI-TOF tömegspektrumát tüntettem fel, ahol DMF-et használtam oldószerként. A spektrumban jól látható sorozatot adnak az oligomerek csúcsai. Az egyes oligomerek csúcsai az $[M + Na^+ = n \cdot 212 + 2 + 23]$ képlet alapján számolhatóak ki a nyíltláncú forma esetén, ahol a 212 Da az ismétlődő egységek ($C_6H_{12}O_6$) tömegének felel meg, a 2 Da a végcsoportok (2H) tömege, míg a 23 Da a molekulához kapcsolódó ion (Na^+) tömege. A gyűrűs oligomerek esetén az egyes csúcsok a következő képlet alapján határozhatóak meg: $[M + Na^+ = n \cdot 212 + 23]$.



7. ábra

A polikondenzáció során képződött oligomerek MALDI-TOF tömegspektruma.

Kinagyítottam a heptamer csúcsát, ahol az R₇ a gyűrűs forma első izotópcsúcsa, míg a C₇ a gyűrűs heptamer 3. izotópcsúcsa, és egyben a nyíltláncú forma csúcsa is. A természetes izotópeloszlás alapján, illetve a C₇-es csúcs abszolút intenzitásának alapján megközelítőleg kiszámolható a gyűrűs és a nyíltláncú forma aránya, feltételezve, hogy azonos mértékben ionizálódnak.

A szakirodalom tanulmányozása során azt tapasztaltam, hogy a néhány monomeregységből álló, közepes méretű gyűrűs diszulfidokat oxidációval általában csak igen híg oldatokban lehet előállítani [68,79,80,81], és a reakció hozama legtöbbször nem túl jó.

Ezzel szemben az általam végzett reakciók egyik érdekessége az volt, hogy az oldószer minőségével befolyásolni lehetett a gyűrűs és a nyíltlancú forma keletkezését. Míg pl. DMF-ben és deszt. vízben a gyűrűs oligomerek keletkeztek nagyobb mennyiségben (~ 90 %-ban), addig metanolban és dioxánban a nyíltlancú forma volt túlsúlyban (**4. táblázat**).

Az oxigéneken kívül más oxidálószerket is kipróbáltam. Az oxidáció gyorsabban végbement, és azt tapasztaltam, hogy az oxidálószer minősége is befolyásolhatja a nyíltlancú és gyűrűs forma arányát a reakcióelegyben. Jód esetén pl., ha metanolban végeztem az oxidációt, a várt nyíltlancú oligomerek helyett gyűrűs molekulák keletkeztek. $K_3[Fe(CN)_6]$ -os oxidáció esetében oldószerként DMF/víz elegyet használtam. Mindkét oldószer esetében gyűrűs oligomerek keletkezését vártam, és trietilamin jelenlétében valóban gyűrűbe záródtak a molekulák. Ezzel szemben, ha a $K_3[Fe(CN)_6]$ mellett nem volt jelen bázis a reakcióelegyben, nyíltlancú oligomerek keletkeztek (**4. táblázat**).

Oldószer	Reakcióidő	Gyűrűs trimer (m/z = 659 Th) (%)	Nyíltlancú trimer (m/z = 661 Th) (%)
DMF	1 hét	~ 90	~ 10
MeOH	1 hét	< 5	> 95
H ₂ O	1 hét	> 85	< 15
piridin	1 hét	~ 88	~ 12
dioxán	1 hét	~ 20	~ 80
MeOH / I ₂	6 óra	~ 90	~ 10
DMF/H ₂ O, $K_3[Fe(CN)_6]$	6 óra	~ 90	~ 10
DMF/H ₂ O $K_3[Fe(CN)_6]$, \emptyset Et ₃ N	6 óra	~ 20	~ 80

4. táblázat

A polikondenzáció során keletkezett gyűrűs és nyíltlancú trimer aránya különböző oldószerek és oxidálószeres esetén.

Az oligomerek közül legtöbbször a trimer esetén a legnagyobb a gyűrűs forma aránya, és ahogy nő a polimerizáció foka, annál több nyíltlancú forma van jelen a gyűrűs oligomerek mellett (**5. táblázat**).

Oldószer	Trimer gy. / ny.	Tetramer gy. / ny.	Pentamer gy. / ny.	Hexamer gy. / ny.	Heptamer gy. / ny.
H ₂ O	88 / 12	87 / 13	81 / 19	75 / 25	67 / 33
MeOH	7 / 93	6 / 94	< 1 / > 99	< 1 / > 99	< 1 / > 99
DMF	90 / 10	86 / 14	79 / 21	71 / 29	58 / 42

5. táblázat

Az egyes oligomerek esetén a gyűrűs és a nyíltláncú forma százalékos aránya.

Vizgáltam a reakció koncentrációfüggését is metanolban és vízben. A koncentráció növelésével csökkent a gyűrűs oligomerek aránya a nyíltláncúakhoz képest (**6. táblázat**).

MeOH	Koncentráció (%)	Trimer gy. / ny. (%)	H ₂ O	Koncentráció (%)	Trimer gy. / ny. (%)
	0,1	22 / 78		0,1	94 / 6
	0,25	10 / 90		0,25	86 / 14
	0,55	7 / 93		0,5	85 / 15

6. táblázat

A nyíltláncú és a gyűrűs forma százalékos aránya a koncentráció függvényében.

Az oligomerizáció semleges közegben, enyhe körülmények között is véghezvihető, ha reagensként dimetilszulfidot (DMSO-t) használunk [80,81]. A reakció során a tiolból diszulfid lesz, és a DMSO dimetil-szulfiddá redukálódik. α,ω -Ditio-polietilén-glikolokat illetve -oligoetilén-glikolokat is polikondenzáltattak már DMSO jelenlétében [93]. A reakciókban oldószerként DMSO vagy DMSO-víz keveréket használtak. Azt tapasztalták, hogy a legjobban akkor ment a polikondenzáció, ha az oldószer mennyiségének csak 20 %-a volt a DMSO.

Három párhuzamos kísérletet végeztem (**7. táblázat**). Az elsőben csak DMSO volt jelen oldószerként, a másodikban DMSO:víz = 1:1 arányt alkalmaztam, a harmadikban pedig csak 20 %-nyi DMSO volt jelen a víz mellett. A reakcióelegyek 0,25 %-osak voltak 1,6-ditio-

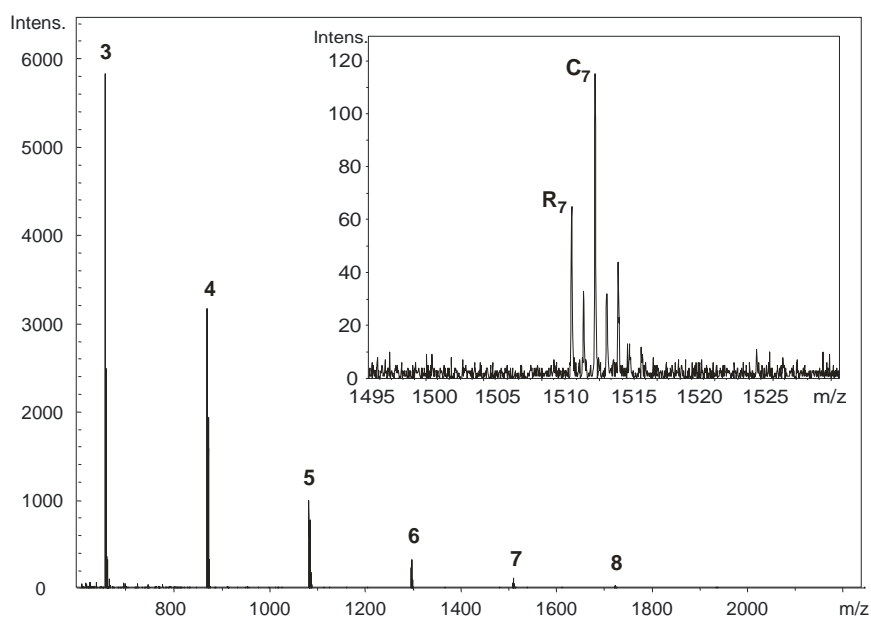
mannitolra nézve, és bázis jelenlétére nem volt szükség a reakció lejátszódásához. Az első esetben ment a leglassabban az oxidáció, a harmadik esetben pedig a keletkező oligomerek egy idő után kiváltak az oldatból. A jelen levő 20 %-nyi DMSO nem volt elegendő ahhoz, hogy oldatban tartsa a nagyobb polimerizációfokú oligomereket.

A legjobbnak a DMSO:víz = 1:1 arány bizonyult. A reakcióelegyben már négy nap után jelentős mennyiségű (85-90%) gyűrűs oligomer volt jelen. Mint már láthattuk korábban az irodalmi áttekintésben, a DMSO-val történő diszulfidképzési reakciókban lineáris diszulfid-polimereket kaptak termékként (**41. képletábra**) [80,81], és csak igen híg oldatot használva keletkeztek gyűrűs polimerek a reakciók során. Ezzel szemben, az 1,6-ditio-mannitol DMSO-víz elegyben történő polikondenzációjakor nagy százalékban gyűrűs oligomerek keletkeztek.

DMSO : H ₂ O	Reakcióidő	Gyűrűs trimer (%)	Nyítláncú trimer (%)	Polimerizációfok
1 : 0	4 nap	5	95	5
	9 nap	18	82	7
1 : 1	4 nap	91	9	13
1,6 : 0,4	4 nap	86	14	14

7. táblázat

Az 1,6-ditio-D-mannitol reakciója DMSO-val.



8. ábra

A DMSO:víz = 1:1 oldószerkegyben készült reakció MALDI-TOF tömegspektruma.

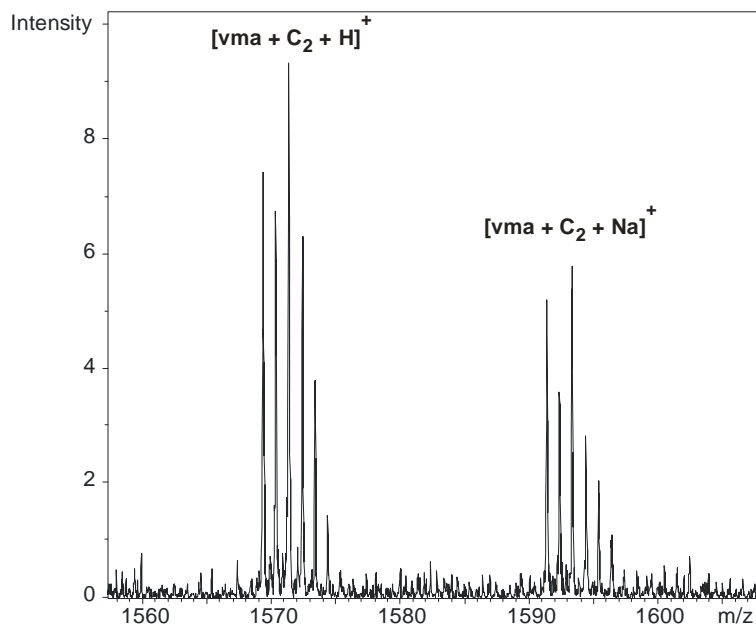
vártam, hogy majd gyűrűs oligomerek fognak keletkezni, ezzel szemben nagy százalékban a nyíltláncú forma került túlsúlyba (**8. táblázat**).

	Trimer gy. / ny. (%)	Tetramer gy. / ny. (%)	Pentamer gy. / ny. (%)	Hexamer gy. / ny. (%)	Heptamer gy. / ny. (%)
H₂O	88 / 12	87 / 13	81 / 19	75 / 25	67 / 33
H₂O Vank. agl.	11 / 89	12 / 88	8 / 92	9 / 91	8 / 92

8. táblázat

A gyűrűs és a nyíltláncú oligomerek arány vízben vankomicin aglikon jelenléte nélkül és jelenlétében.

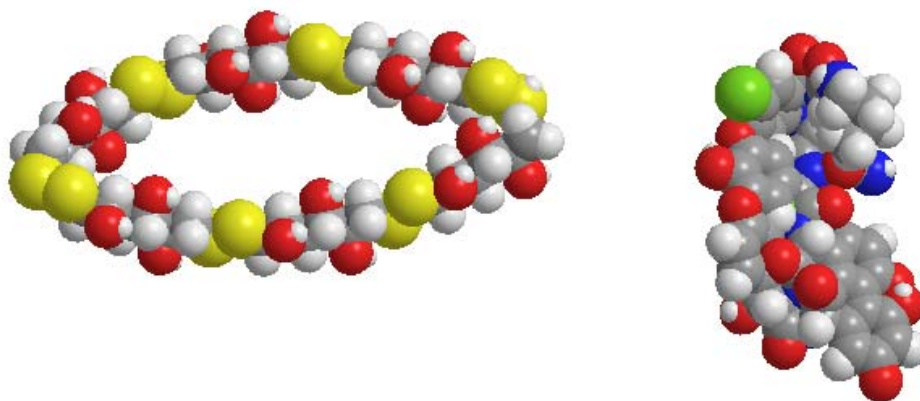
A vankomicin aglikon és az 1,6-ditio-D-mannitol feltételezhetően hidrogénkötések segítségével összekapcsolódik, és erről az adduktumról indul el a polikondenzációs folyamat. A keletkező oligomerek feltekerednek a templátmolekulára, és ez gátolja a láncvégi tiolcsoportok reakcióját a láncközi diszulfidhidakkal, az úgynevezett „back-biting” reakciót. Ennek következtében gyűrűs diszulfidok helyett nyíltláncú oligomerek keletkeznek. A vankomicin aglikonból és a diszulfid-oligomerekből kialakuló asszociátumok jelenlétét ESI-TOF MS módszerrel is alátámasztottam. A komponensek között kialakuló erős kölcsönhatást mutatja, hogy a nyíltláncú oligomereket és vankomicin aglikont tartalmazó oldat ESI-TOF tömegspektrumában megtalálhatóak a képződő aglikon-oligomer molekulakomplexek jelenlétére utaló csúcsok. A **9. ábra** ennek a tömegspektrumnak egy részletét mutatja, ahol a vankomicin aglikon nyíltláncú dimerrel alkotott asszociátumának proton- illetve nátriumcsúcsa látható.



9. ábra

A vankomicin aglikon nyíltláncú dimerrel alkotott asszociátumának proton- illetve nátriumcsúcsa az ESI-TOF tömegspektrumban.

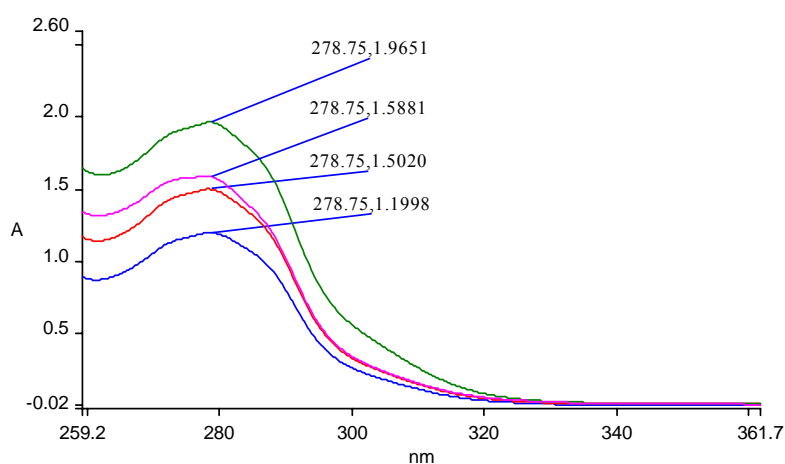
A **10-es ábrán** egy hexamer és egy vankomicin aglikon molekula 3 dimenziós ábrája található. Jól látható, hogy a hexamer molekula mérete alkalmas arra, hogy kialakítson egy olyan gyűrűt, ami körül foghatja a vankomicin aglikont.



10. ábra

A hexamer és a vankomicin aglikon 3 dimenziós ábrája.

A vankomicin aglikon oldódásának ditio-mannitol-származékok hatására bekövetkező növekedését UV-VIS spektrofotometriás módszerrel vizsgáltam (**11. ábra**). Az aglikon abszorbanciájának kb. 278 nm-en van maximuma, ezen a hullámhosszon a ditio-mannitol oligomerjeinek nincs elnyelése. Az oldódás mértékének meghatározásához kalibráló egyenest vettem fel. Ezután megvizsgáltam a ditio-D-mannitol monomert, a nyíltláncú oligomereket és a gyűrűs oligomereket tartalmazó oldatok hatását is a vankomicin aglikon oldódására. Kétszeresére hígított, vankomicin aglikonra nézve telített oldatokat használtam a méréshez. A ~278 nm-en mért maximumok és a kalibráló egyenes alapján meghatározható az adott minta aglikonkoncentrációja.



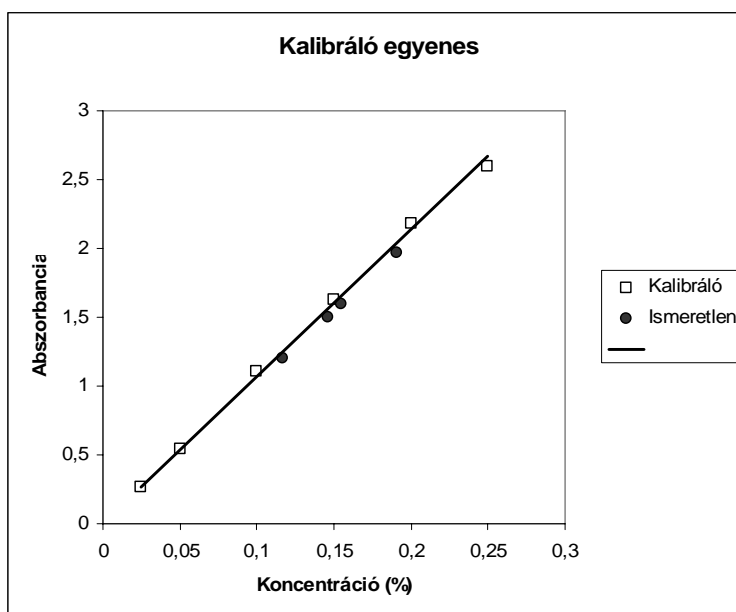
- Jelmagyarázat:
- kék: telített vankomicin aglikon oldat
 - piros: ditio-mannitol monomer oldat + vankomicin aglikon
 - lila: gyűrűs oligomereket tartalmazó oldat + vankomicin aglikon
 - zöld: nyíltláncú oligomereket tartalmazó oldat + vankomicin aglikon

11. ábra

*A vankomicin aglikon vízoldhatóságának növekedése az 1,6-ditio-D-mannitol, és diszulfid oligomerek jelenlétében.
UV-spektrum.*

Látható, hogy a legjobban a nyíltláncú oligomereket tartalmazó oldat növelte meg az aglikon oldhatóságát vízben. A kalibráló egyenesről (**12. ábra**) leolvashatóak az egyes abszorbanciaértékekhez tartozó koncentrációk (**9. táblázat**). A %-ban megkapott értékeket

kettővel megszorozva kapjuk a tényleges koncentrációkat, mivel kétszeresére hígított mintákat használtam.



12. ábra

A vankomicin aglikon koncentrációjának meghatározásához készített kalibráló egyenes.

minta	abszorbancia	koncentráció/2 (%)	tényleges koncentráció (%)
vankomicin aglikon (v.a.) oldat	1,1998	0,117	0,234
v.a. + ditio-mannitol monomer	1,5020	0,146	0,292
v.a. + gyűrűs oligomerek	1,5881	0,155	0,310
v.a. + nyíltláncú oligomerek	1,9651	0,191	0,382

9. táblázat

Az 1,6-ditio-D-mannitol és a különböző diszulfid-oligomer oldatok hatása a vankomicin aglikon vízdoldhatóságára.

Molekuláris kapszulázással tehát több mint 60 %-kal növelni tudtam a vankomicin aglikon vízdoldhatóságát. Mivel az 1,6-ditio-D-mannitol oldhatósága is korlátozott vízben a molekulán levő nagy térkitöltésű kénatomok miatt, ezért az aglikon további oldásának céljából nem lehet jelentősen tovább növelni a monomer koncentrációját.

3.3.2.4 A tetraetilénglikol és a polietilénglikol ditio-származékának oxidációja

A monomer és a keletkező oligomerek vízoldhatóságát úgy fokozhatjuk, hogy ha pl. a kénatomok között levő hidrofil lánc hosszúságát megnöveljük. A polietilénglikolokat (PEG) gyakran használják a gyógyszeriparban segédanyagként, emellett sokszor kovalens PEG származékok képzésével növelik meg egyes gyógyszermolekulák vízoldhatóságát, a szervezetben való keringési idejét. A PEG molekulát kovalensen kötik a gyógyszermolekulához úgy, hogy a biológiai hatás megmaradjon. Mindemellett az is fontos, hogy a polimer molekula elrejtje a hatásos molekulát az immunrendszer elől. Az első „polimer terapeutikum” használatát 1990-ben engedélyezték. Enzimhiányos betegeket kezeltek PEG-láncokat tartalmazó adenzin-dezamináz enzimmel, amelyet Adagen® néven hoztak forgalomba [97]. Ha az enzimet önmagában juttatták be a szervezetbe, a fehérjével szemben immunreakció lépett fel, és a második kezelés már veszélyessé vált. A PEG-gel módosított fehérjét használva viszont lehetővé váltak az ismételt kezelések, és a betegek gyógyítása is eredményesebbé vált.

A forgalomban levő PEG-hatóanyag konjugátumok gyakran tumorellenes szerek, amelyekben a hatásos molekula sokszor erősen citotoxikus anyag. A PEG „csomagolás” általában csökkenti a molekula toxicitását, emellett a keringési idő növekedése miatt kevesebb hatóanyagtartalmú gyógyszerek használata is elegendő a beteg kezeléséhez.

A PEG-hatóanyag konjugátumoknak két fő típusa van. Az egyik esetben úgy kapcsolják a PEG láncokat a gyógyszermolekulához, hogy a molekula aktív része szabadon marad. Ebben az esetben előfordulhat, hogy a polietilénglikol oldalláncok annyira leárnyékolják a hatás kifejtéséhez szükséges molekularészletet, hogy jelentősen lecsökken a molekula biológiai aktivitása. Egy másik lehetőség, hogy hidrolízissel felbontható kötésen keresztül kötik a gyógyszermolekulát az oligo- illetve polietilénglikol molekulához, és a kötés hidrolízisével aktiválódik a vegyület. Előfordul, hogy a polimer oldallánc megnehezíti a hidroláz enzimek hozzáférését a kötéshez, és túl lassan szabadul fel az aktív hatóanyag.

A polietilénglikolok alkalmazását korlátozza, hogy nem minden gyógyszermolekulával köthető úgy össze, hogy a molekula hatása ne romoljon jelentősen. Sokszor az is lerontja a biológiailag hatásos molekula aktivitását, ha kovalensen hozzákapcsolunk egy tetraetilénglikolt.

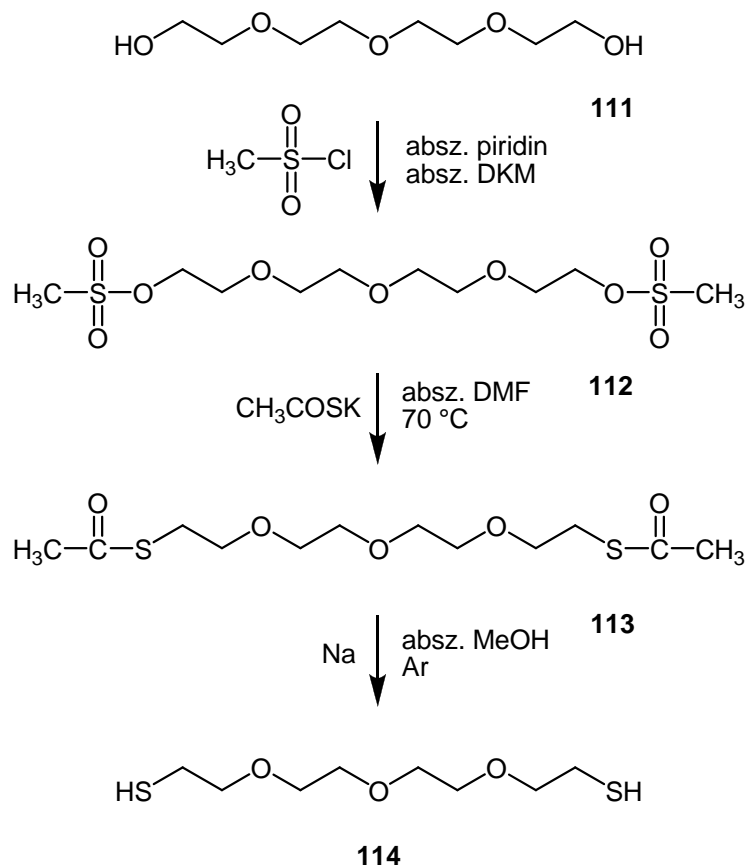
A problémát megoldhatja, ha a PEG-et nem kovalensen kötjük a célmolekulához, hanem molekuláris kapszulázással másodlagos kötőerővel kötött molekulakomplexet hozunk

létre. Ebből a komplexből könnyebben felszabadulhat a hatóanyag a kovalensen kötött molekulával szemben.

A ditio-mannitol példájára a polietilén-glikolokból, illetve az oligoetilén-glikolokból is kialakíthatunk diszulfidhidas, nagy gyűrűmérettel rendelkező molekulákat. Már mások is szintetizáltak diszulfid-hidakat tartalmazó polietilén-glikolokat [93], de a keletkezett oligomereket nem vizsgálták tömegspektrometriásan, nem határozták meg, hogy milyen mértékben tartalmaznak gyűrűs és nyíltláncú oligomereket, illetve nem vizsgálták meg felhasználhatóságukat gyógyszer-molekulák molekuláris kapszulázására. Ezeket a polimereket poli-etilén-oxid-szulfidoknak nevezik (PEOS). Trietilén-, tetraetilén- és hexaetilén-glikolból előállított diszulfid-polimereket, illetve 12 és 37 etilén-oxid egységet tartalmazó ditiolok oxidációját vizsgálták. Az előállított PEOS származékok citotoxicitását HepG2 sejtvonalon vizsgálták, és nem bizonyultak toxikusnak.

A kisebb méretű oligoetilén-glikolok közül a tetraetilén-glikol ditio-származékának illetve a polietilén-glikolok közül a 400-as és az 1540-es átlag molekulatömegű α,ω -ditio-PEG-ek oxidációját vizsgáltam.

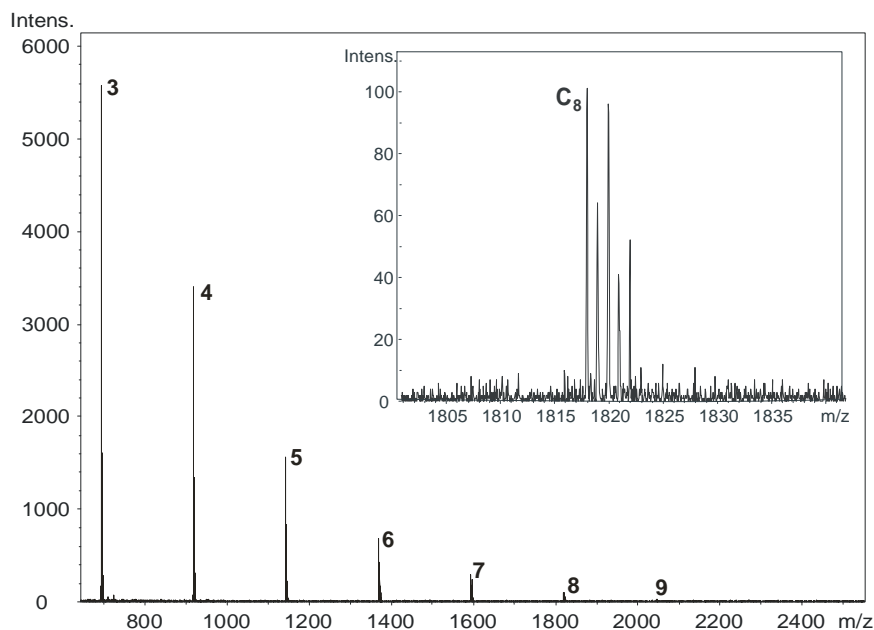
A tetraetilén-glikol és a polietilén-glikolok esetén azonos módon állítottam elő a ditio-vegyületeket. A módszert a tetraetilén-glikol (TEG) **(111)** példáján szemléltetve mutatom be **(65. képletábra)**. A TEG molekulát metánszulfonil-kloriddal tetraetilén-glikol-dimeziláttá **(112)** alakítottam, az *O*-mezil csoportokat *S*-acetyl csoportokra cseréltem kálium-tioacetáttal, majd az acetyl-csoportokat eltávolítva állítottam elő a monomert, a TEG ditio-származékát, az 1,11-ditio-3,6,9-trioxaundekánt **(114)**.



65. képletábra

A ditio-tetraetiénglikol előállítása.

A TEG ditio-származéka jobban oldódik vízben, mint az 1,6-ditio-D-mannitol, ezért a polikondenzációs reakciója is jobban ment vízben (**12. ábra**), nagyobb molekulatömegű oligomerek is keletkeztek, mint az 1,6-ditio-mannitol esetén. Mindez alkalmasabbá teszi a TEG-ből, illetve az oligoetilénglikolokból és a polietilénglikolokból képezhető ditio-vegyületeket a vízben nem vagy csak kis mértékben oldódó gyógyszer-molekulák molekuláris kapszulázására.



12. ábra

A ditio-TEG polikondenzációs reakcióelegyének MALDI-TOF tömegspektruma.

A ditio-TEG polikondenzációs reakcióját vízben ugyanolyan körülmények között hajtottam végre, mint ditio-mannitol esetén. Vízben mannitolból gyűrűs vegyületek keletkeztek, ezzel szemben TEG esetén nagyobb, mint 90 %-ban nyíltláncú oligomerek voltak jelen a reakcióelegyben. A reakció is gyorsabban végbement, az egy hetes reakcióidővel ellentétben egy nap is elég volt az oligomerek képződéséhez.

A nagyobb molekulatömegű, 400-as és 1540-es PEG-ekkel való munkám során azt tapasztaltam, hogy az α,ω -diacetiltio-polietilén-glikolok dezacetilezésekor ha nem használok teljesen oxigénmentes körülményeket (nem buborékolatok át Ar gázt a reakcióelegyen), nagy százalékban gyűrűs makromonomer molekulák keletkeznek. Oxigén átbuborékolatással közel 100 %-ossá tehető a gyűrűs makromonomerek képződése. A MALDI-TOF tömegspektrumban csak nagyon kis mennyiségű makrodimer és makrotrimer PEG-diszulfid látható.

A polidiszulfidok dinamikus polimerek, a diszulfid-kötés biológiailag lebomló kötés, ezért a tetraetilén-glikol-diszulfid oligomerek alkalmasak lehetnek dinamikus viselkedő molekuláris kapszulák létrehozására. A gyűrűs PEG-diszulfidok szintén alkalmasak lehetnek molekuláris kapszulázásra. A poliéter szerkezetük miatt könnyen szolvatálódnak, és hidrogén-kötések kialakítására képes molekulákkal asszociátumokat képesek létrehozni. A

gyógyszermolekulák becsomagolásával a molekula vízoldhatóságát növelhetjük, és mivel a diszulfid-kötés a citoszolban bomlik le, a hatóanyag a sejtekben szabadul fel. A „csomagolás” ezért csökkentheti a molekula toxicitását, emellett a keringési idő növekedése miatt kevesebb hatóanyagtartalmú gyógyszerek használata is elegendő a beteg kezeléséhez.

3.3.3 Kísérleti rész

1,6-dibróm-1,6-didezoxi-2,3,4,5-tetra-*O*-acetyl-D-mannitol (105)

2 g (6,5 mmol) 1,6-dibróm-D-mannitolt (**104**) 100 ml absz. diklórmétánban oldottam. Adtam hozzá 4,9 ml (51,95 mmol) ecetsavanhidridet, és 8,4 ml (103,9 mmol) absz. piridint, majd CaCl₂-os cső feltétet használva 1 napig kevertetem a reakcióelegyet. Mivel nem oldódott fel a dibróm-D-mannitol, adtam hozzá még 8,4 ml absz. piridint. Két napos reakcióidő után 200 ml diklórmétánnal hígítottam meg a reakcióelegyet, mostam háromszor 40-50 ml 10 %-os NaHSO₄-oldattal, egyszer 40-50 ml deszt. vízzel, majd kétszer 50 ml telített NaHCO₃ oldattal. A szerves fázist vízmentes Na₂SO₄-on szárítottam, majd szűrtem és bepároltam.

Fehér kristályos anyag vált ki: 3,08 g (~100 %).

VRK: hexán:etilacetát = 6:4 (R_f = 0,62)

$[\alpha]_D^{20} = 28,9$ (c 0,30; CH₂Cl₂) (irodalmi $[\alpha]_D^{20} = 29,6$ (c 0,95; CH₂Cl₂) [98])

Olvadáspont: 122,5-125 °C (irodalmi: 120-122 °C [98])

Pontos tömeg (M+Na⁺): - számított: 496,942 Da

- mért (ESI-TOF MS): 496,944 Da

1,6-ditio-1,6-di-*S*-acetyl-2,3,4,5-tetra-*O*-acetyl-D-mannitol (106)

1 g (2,1 mmol) peracetylezett dibróm-D-mannitolt (**105**) 100 ml acetonban oldottam. 576 mg (5,0 mmol) kálium-tioacetátot adtam az oldathoz. Félóra kevertetés után zavarosodni kezdett az oldat, elkezdett kiválni a KBr. Másnap még 58 mg (0,5 mmol) CH₃COSK-t adtam hozzá. Még egy nap kevertetés után bepároltam a reakcióelegyet, a maradékot pedig 200 ml diklórmétánban oldottam fel. Ezt az oldatot mostam kétszer 70 ml deszt. vízzel. A szerves fázist vízmentes Na₂SO₄-on szárítottam, majd szűrtem és bepároltam.

A reakció terméke fehér kristályos anyag: 0,98 g (~100 %).

VRK: hexán:etilacetát = 6:4 (R_f = 0,43)

$[\alpha]_D^{20} = 85,3$ (c 0,30; CH₂Cl₂)

Olvadáspont: 111-112,5 °C

Pontos tömeg (M+Na⁺): - számított: 489,087 Da

- mért (ESI-TOF MS): 489,086 Da

^1H NMR (360 MHz, CDCl_3): δ 5,39-5,34 (2H, m, CH); 5,11-5,04 (2H, m, CH); 3,40-3,32 (2H, 2d, CH_2); 2,90-2,81 (2H, dd, CH_2); 2,33 (6H, s, CH_3); 2,12 (6H, s, CH_3); 2,02 (6H, s, CH_3) ppm.

Az 1,6-ditio-1,6-di-S-acetil-2,3,4,5-tetra-O-acetil-D-mannitol (106) Zemplén-féle dezacetilezése

10 ml absz. metanolon 10 percig argon gázt buborékolattam keresztül, majd 200 mg (0,43 mmol) peracetilezett 1,6-ditio-D-mannitolt oldottam benne. Adtam hozzá egy rizsszemnyi darabka nátriumot, hogy az oldat lúgos legyen (pH~10-11). Argon atmoszféra alatt 2 órán át kevertettem a reakcióelegyet. A reakciót vékonyrétegekromatográfiával követtem (futtatóelegy: hexán:aceton = 1:1), és amikor az végbement, adtam hozzá egy kisebb spatulányi Serdolit Red kationcserélő gyantát. 10 perc kevertetés után, amikor az oldat kémhatása semleges lett, leszűrtem a reakcióelegyet, és bepároltam.

ESI-TOF tömegspektrométerrel vizsgálva az anyagot monomertől pentamerig minden oligomer nyíltlancú és gyűrűs változata megtalálható a spektrumban, illetve az ezekből vízvesztéssel keletkező vegyületek is.

Az 1,6-ditio-1,6-di-S-acetil-2,3,4,5-tetra-O-acetil-D-mannitol (106) dezacetilezése K_2CO_3 -tal

10 ml absz. metanolon 10 percig argon gázt buborékolattam keresztül, majd 200 mg (0,43 mmol) peracetilezett ditio-mannitolt oldottam benne. 30 mg (0,22 mmol) K_2CO_3 -t adtam az oldathoz, majd argon atmoszféra alatt kevertettem. Mivel az oldat kémhatása nem volt elég lúgos, még kétszer 30 mg K_2CO_3 -t (pH~10-11) adtam hozzá. 5 óra kevertetés után adtam a reakcióelegyhez egy kisebb spatulányi Serdolit Red kationcserélő gyantát, és 10 percig kevertettem, ami alatt az oldat kémhatása semlegesre változott. Ekkor leszűrtem és bepároltam az elegyet.

A reakció termékét ESI-TOF tömegspektrométerrel vizsgáltam. A monomer csúcsa mellett tetramerig minden oligomer nyílt lánccú és gyűrűs változatának a csúcsa megtalálható a spektrumban, illetve az ezekből vízvesztéssel keletkező vegyületeké is.

Az 1,6-ditio-1,6-di-S-acetil-2,3,4,5-tetra-O-acetil-D-mannitol (106) dezacetilezése ammóniával

10 ml absz. metanolon 10 percig argon gázt buborékolattam keresztül, majd 200 mg (0,43 mmol) peracetilezett 1,6-ditio-D-mannitolt oldottam benne. Adtam hozzá 2 ml absz. metanolos telített ammónia-oldatot, amit előzőleg argon gázzal átbuborékolattam. A reakciót vékonyréteg-kromatográfiásan követtem, hexán:etilacetát = 1:1 rendszerben a startponton gyűlnek össze a termékek foltjai. Egy napos reakcióidő után bepároltam a reakcióelegyet.

A termékelegyet ESI-TOF tömegspektrométerrel vizsgáltam. A spektrumban hasonlóan az előzőekhez, monomertől tetramerig minden oligomer nyíltláncú és gyűrűs változata megtalálható, illetve az ezekből vízvesztéssel keletkező vegyületek csúcsa is.

1,6-bisz-trifenilmetiltio-D-mannitol (109)

940 mg 50 %-os (19,57 mmol) nátrium-hidridet kétszer mostam 5-5 ml hexánnal, hogy a tárolásához használt olajat lemossam róla. Argonáram alatt megszáritottam a NaH-t, majd 130 ml absz. dioxánt és 4,50 g (16,28 mmol) trifenil-metántitolt adtam hozzá. Enyhe pezsgés volt tapasztalható. A sárgásfehér, sűrű szuszpenziót 15 percig kevertettem argon atmoszféra alatt, ezután 2 g (6,49 mmol) dibrom-D-mannitolt (**104**) adtam hozzá. Besárgult a szuszpenzió. Kétórás reakcióidő után 3 ml metanolt adtam a reakcióelegyhez, hogy elbontsam a maradék NaH-t, majd félórás kevertetés után bepároltam. A nyersterméket oszlopkromatográfiásan tisztítottam. Eluens: hexán:aceton = 75:25.

Fehér szilárd anyag keletkezett: 4,53 g (~ 100 %)

VRK: hexán:aceton = 6:4 (Rf = 0,35)

$[\alpha]_D^{20} = -18,4$ (c 0,30; CH₂Cl₂)

Olvadáspont: 83-90 °C

Pontos tömeg (M+Na⁺): - számított: 721,242 Da

- mért (ESI-TOF MS): 721,244 Da

¹H NMR (360 MHz, CDCl₃): δ 7,46-7,10 (30 H, m, C₆H₅); 3,35-3,15 (4H, m, CH); 2,87 -2,58 (4H, szélesd, OH); 2,52 -2,37 (4H, m, CH₂) ppm.

1,6-ditio-D-mannitol előállítása (107)

1 g (1,43 mmol) 1,6-bisz-trifenilmetiltio-D-mannitolt (**109**) 15 ml diklórometánban oldottam, majd 0,5 ml trifluoecetsavat adtam hozzá, amitől erős sárga lett az oldat (a tritil-kation színe látszik). Ezután 0,25 ml (1,57 mmol; 183 mg) trietilszilánt adtam a reakcióelegyhez. 1 óra elteltével még 0,25 ml (1,57 mmol; 183 mg) trietilszilánt adtam hozzá. A reakcióelegyet még egy órán át kevertettem, ami alatt fehér anyag vált ki az oldatból és a tritil-kation sárga színe eltűnt. A kivált anyagot kiszűrtem és mostam kevés absz. éterrel.

Fehér, porszerű anyag keletkezett: 270 mg (88 %).

$[\alpha]_D^{20} = 7,9$ (c 0,3; MeOH)

Olvadáspont: 149-156 °C

A keletkezett anyagot ESI-TOF tömegspektrometriásan vizsgáltam. A tömegspektrumban csak a várt anyag csúcsa látható.

Pontos tömeg ($M+Na^+$): - számított: 237,023 Da

- mért (ESI-TOF MS): 237,022 Da

1H NMR (360 MHz, MeOD): δ 3,80-3,65 (4H, m, CH); 2,89 (2H, szélesd, SH); 2,66 (4H, dd, CH₂) ppm.

Az 1,6-ditio-D-mannitol (107) oxidációja oxigén jelenlétében

Általános módszer:

5 mg 1,6-ditio-D-mannitolt (**107**) 1 ml oldószerben (pl. víz, DMF, MeOH) oldottam. Adtam hozzá 10 μ l trietilamint, és egy héten keresztül kevertettem. A reakcióelegyet közvetlenül MALDI-TOF MS módszerrel vizsgáltam.

$M_n = 675-725$ g/mol

Az 1,6-ditio-D-mannitol (107) oligomerizációjának vizsgálata a koncentráció függvényében

1-5 mg 1,6-ditio-D-mannitolt (**107**) 1 ml metanolban illetve deszt. vízben oldottam, és adtam hozzá 10 μ l trietilamint. Az oldatokat 5 napig kevertettem. A reakcióelegyeket közvetlenül MALDI-TOF MS módszerrel vizsgáltam.

Az 1,6-ditio-D-mannitol (107) oxidációja jóddal

15 mg (0,07 mmol) ditio-mannitolt (107) 3 ml metanolban oldottam. Adtam hozzá 15 µl trietilamint és 44,5 mg (0,175 mmol) jódot. A reakcióelegyet 6 órás kevertetés után MALDI-TOF tömegspektrométerrel vizsgáltam.

$$M_n = 688 \text{ g/mol}$$

Az 1,6-ditio-D-mannitol (107) oxidációja kálium-hexacianoferrát(III)-tal

Két lombikban 15-15 mg (0,07 mmol) ditio-mannitolt (107) oldottam 2-2 ml DMF és 1-1 ml deszt. víz elegyében. Az egyik oldathoz 15 µl trietilamint adtam, a másikhoz pedig nem adtam bázist. Mindegyik lombikba raktam 58 mg (0,176 mmol) $K_3[Fe(CN)_6]$ -at. A reakcióelegyet 6 órás kevertetés után MALDI-TOF tömegspektrométerrel vizsgáltam.

$$M_n = 763 \text{ g/mol}$$

1,11-bisz-metánszulfoniloxi-3,6,9-trioxaundekán-dimezilát (112)

(Tetraetilénglikol-dimezilát)

1 g (5,1 mmol) tetraetilénglikolt (111) 5 ml absz. toluolban oldottam, és bepároltam. Ugyanezt még egyszer megismételtam, hogy a TEG által megkötött vizet eltávolítsam. A maradékot feloldottam 20 ml absz. diklórometánban és 1,48 ml (18,4 mmol; 1,45 g) absz. piridint adtam hozzá. Jeges vizes hűtést alkalmazva 1,18 ml (15,3 mmol; 1,75 g) mezil-kloridot adtam a reakcióelegyhez lassan adagolva. Egy éjszakán át kevertettem, majd behűtöttem a reakcióelegyet és 1 ml deszt. vizet adtam hozzá, 15 percig kevertettem. Meghígítottam 200 ml diklórometánnal, majd kétszer mostam 50 ml 10 %-os $NaHSO_4$ -oldattal, egyszer 50 ml. deszt. vízzel és kétszer 50 ml $NaHCO_3$ telített oldatával. A szerves fázist vízmentes Na_2SO_4 -on szárítottam, majd szűrtem és bepároltam.

Barna folyadék: 1,8 g (100 %).

VRK: hexán:aceton = 1:1 ($R_f = 0,43$)

Pontos tömeg ($M+Na^+$): - számított: 373,060 Da

- mért (ESI-TOF MS): 373,058 Da

1H NMR (360 MHz, $CDCl_3$): δ 4,32-4,28 (4H, m, CH_2); 3,73-3,67 (4H, m, CH_2); 3,63-3,56 (8H, m, CH_2); 3,02-2,99 (6H, s, CH_3) ppm.

1,11-Bisz-acetiltio-3,6,9-trioxaundekán (113)

(Diacetiltio-tetraetilénglikol)

1 g (2,85 mmol) tetraetilénglikol-dimezilátot (**112**) 100 ml absz. dimetilformamidban oldottam. 976 mg (8,55 mmol) kálium-tioacetátot adtam hozzá, és 70 °C-on egy éjszakán át kevertetem. A besűrűsödött sötétbarna reakcióelegyet bepároltam. A párlási maradékot feloldottam 300 ml diklórmetánban és mostam ötször 80-100 ml telített sós vízzel. A szerves fázist vízmentes Na₂SO₄-on szárítottam, majd szűrtem és bepároltam.

„Flash” (gyors) oszlopkromatográfias módszerrel tisztítottam, 15 cm magas, 4 cm széles oszlopra tettem fel az anyagot.

Eluens: hexán:aceton = 85:15.

A termék vörösesbarna színű folyadék: 572 mg (65 %).

Az anyagot 50 ml absz. diklórmetánban oldva szobahőmérsékleten aktív szenet használva derítettem, majd bepároltam az oldatot.

Sárga folyadékot kaptam termékként: 486 mg (55 %).

VRK: hexán:aceton = 6:4 (R_f = 0,56).

Pontos tömeg (M+Na⁺): - számított: 333,081 Da

- mért (ESI-TOF MS): 333,080 Da

¹H NMR (360 MHz, CDCl₃): δ3,68-3,58 (12H, m, CH₂); 3,14-3,07 (4H, m, CH₂); 2,37-2,32 (6H, 2s, CH₃) ppm.

1,11-Ditio-3,6,9-trioxaundekán (114)

(Ditio-tetraetilénglikol)

0,5 g (1,61 mmol) diacetiltio-tetraetilénglikolt (**113**) oldottam 25 ml absz metanolban. Argon gázt buborékolattam keresztül az oldaton 30 percig, majd adtam hozzá 2 kis rizsszemnyi Na darabkát, hogy az oldat kémhatása erősen lúgos legyen (pH ~ 11-12). Két órán keresztül kevertetem argon atmoszféra alatt, majd adtam hozzá egy kisebb spatulányi Serdolit red kationcserélő gyantát. Amikor semleges lett az oldat, leszűrtem az oldatot és bepároltam.

Sárga folyadék: 364 mg (100 %).

VRK: hexán:aceton = 6:4 (R_f = 0,54)

Pontos tömeg (M+Na⁺): - számított: 249,060 Da

- mért (ESI-TOF MS): 249,056 Da

¹H NMR (360 MHz, CDCl₃): δ3,70-3,60 (12H, m, CH₂); 2,74-2,66 (4H, m, CH₂); 1,63-1,56 (2H, m, SH) ppm.

Az 1,11-ditio-3,6,9-trioxaundekán (114) polikondenzációja

Általános módszer:

5-20 mg 1,11-ditio-3,6,9-trioxaundekánt (**114**) oldottam 1 ml vízben. Adtam hozzá 10 µl trietilamint, és egy napig kevertettem. A reakcióelegyet bepároltam, majd a kapott termékelegyet MALDI-TOF MS módszerrel vizsgáltam.

$M_n = 550-770$ g/mol

400-as átlag molekulatömegű polietilénlikol- α,ω -dimezilát

1540-es átlag molekulatömegű polietilénlikol- α,ω -ditozilát

Általános módszer:

2,5 mmol polietilénlikolt 5-10 ml absz. toluolban oldottam, és bepároltam. A műveletet megismételtem, hogy a PEG által megkötött vizet eltávolítsam. A maradékot feloldottam 20-40 ml absz. diklórmétánban és 15 mmol absz. piridint adtam hozzá. A reakcióelegyet jeges vizes fürdőben behűtöttem, és lassan adagolva adtam hozzá 12,5 mmol mezil- illetve tozil-kloridot. Egy éjszakán át kevertettem, majd behűtöttem a reakcióelegyet jeges vizes fürdőt használva, és 1 ml deszt vizet adtam hozzá, 15 percig kevertettem. A reakcióelegyet meghígítottam 200-300 ml diklórmétánnal, majd kétszer mostam 50 ml 10 %-os NaHSO₄-oldattal, egyszer 50 ml. deszt. vízzel és kétszer 50 ml NaHCO₃ telített oldatával. Az oldatot vízmentes Na₂SO₄-on szárítottam, majd szűrtem és bepároltam.

400-as PEG esetén barna folyadék keletkezett, közel 100 %-os konverzióval.

VRK: CH₂Cl₂:Hexán:MeOH = 7:2:1.

1540-es PEG esetén a keletkezett terméket „flash” (gyors) oszlopkromatográfiás módszerrel tisztítottam, 15 cm magas, 4 cm széles oszlopon. A nyertermék tömege 2 g volt.

Eluens: CH₂Cl₂:hexán: MeOH = 4:5:1.

A termék barna viaszszerű anyag. Kitermelés: 57 %.

α,ω -Diacetiltio-polietilénlikol

Általános módszer:

1 mmol polietilénlikol- α,ω -dimezilátot 50-100 ml absz. DMF-ben oldottam és adtam hozzá 2 mmol kálium-tioacetátot. 70 °C-on egy éjszakán keresztül kevertetem a reakcióelegyet, ami megbarnult és besűrűsödött. A kapott elegyet bepároltam, a párlási maradékot pedig feloldottam 150-250 ml diklórmétánban, amit ötször 50-100 ml telített NaHCO₃ oldattal extraháltam. A szerves fázist vízmentes Na₂SO₄-on szárítottam, majd szűrtem és bepároltam.

Kitermelés: 80 %.

α,ω -Ditio-polietilénlikol

Általános módszer:

100 mg α,ω -diacetiltio-polietilénlikolt oldottam 5 ml absz. toluolban és lepároltam róla, hogy a megkötött vizet eltávolítsam. A kapott anyagot feloldottam 5 ml absz. metanolban. Adtam az oldathoz egy kis darabka Na-ot, hogy az oldat kémhatása erősen lúgos legyen (pH = 11-12). Egy órás kevertetés után egy kisebb spatulányi Serdolit Red kationcserélő gyantát adtam a reakcióelegyhez. Öt perc kevertetés után semleges lett az oldat. Kiszűrtem belőle a gyantát, majd bepároltam.

Kitermelés: ~100 %.

4. Összefoglalás

Doktori munkám során két újfajta poliszacharidszintézis módszer kidolgozásával foglalkoztam. Az első esetben a Ferrier-reakciót használtam fel a 3,6-di-*O*-acetyl-D-glükál polikondenzációs reakciójához. Ezzel a módszerrel valódi oligo- illetve poliszacharidokat tudtam előállítani, ahol az interglikozidos kötések $\alpha(1\rightarrow4)$ helyzetűek. A 3,6-di-*O*-acetyl-D-glükál Ferrier-reakcióját eddig még nem vizsgálta senki, és poliszacharidokat sem állítottak még elő ezzel a módszerrel. A reakció lejátszódásához Lewis-sav katalizátorra van szükség, és azt tapasztaltam, hogy a polikondenzáció során vízmentes körülményeket kell biztosítani molekulaszita használatával. Többféle katalizátort kipróbáltam, az első sikeres eredményt a ZnX-zeolit használatakor kaptam, a reakcióidő kb. 10 nap volt. A leghatásosabb katalizátornak a ZnCl₂ bizonyult. Segítségével a reakcióidőt egy napra lehetett csökkenteni.

A reakciók termékegyét MALDI-TOF tömegspektrométerrel vizsgáltam. A cink-klorid által katalizált reakcióban képződött oligomerekről készült tömegspektrum alapján három különböző sorozatot azonosítottam. A három sorozat csupán végcsoportjaik szerkezetében tér el egymástól. A mért legnagyobb molekulatömeg ~5kDa volt, azonban DOSY-NMR módszerrel CDCl₃-ban 30kDa-os tömegű molekula is kimutatható volt a különleges asszociátumok képződésének köszönhetően. A termékegyben legnagyobb mennyiségben jelen levő oligomersorozatból sikerült izolálnom a diszacharidot és a triszacharidot. A diszacharid NMR spektrumai alapján megállapítottam, hogy az interglikozidos kötések α -helyzetűek.

A dezacetilezett oligomerek szerkezetük alapján 2,3-dideoxi-2,3-didehidrokeményítőknak és -glikogéneknek tekinthetőek, ezért megvizsgáltuk inhibítor tulajdonságukat humán nyál-amiláz enzimre. Bebizonyosodott, hogy a dezacetilezett termék kompetitív inhibitora a humán nyál-amiláznak, a gátlás konstansai pedig a következők: $K_{EI} = 35,2$ mM és $K_{ESI} = 2,7$ mM, ami gyenge inhibitorra vall.

Doktori munkám második felében az 1,6-ditio-D-mannitol oxidatív polikondenzációjával foglalkoztam. A reakció során diszulfid-kötésekkel kapcsolódó mannitol-egységeket tartalmazó oligomer keveréket kaptam. Számos polidiszulfid szerkezetű

anyag előállításáról és felhasználásáról olvashatunk a szakirodalomban, de eddig még nem szintetizáltak hasonló szerkezetű szénhidrát bázisú polimereket.

A reakció során oxidálószerként a levegő oxigénje volt jelen. A polikondenzáció lejátszódásához lúgos közegre volt szükség, katalizátorként trietilamint használtam. A reakció során gyűrűs és nyíltlancú oligomerek is keletkeztek. Az oldószer megválasztásával szabályozni lehetett a gyűrűs és nyíltlancú forma keletkezésének arányát. Míg metanolban nyíltlancú oligomerek voltak túlsúlyban (> 90 %), addig DMF-ben és vízben a gyűrűs forma volt a meghatározó (> 90 %-ban).

A reakció bázis jelenléte nélkül is véghezvihető, ha DMSO:víz = 1:1 oldószerkeletet használunk. A tio-csoportok diszulfiddá alakulnak át, a DMSO-ból pedig dimetil-szulfid keletkezik. A reakció során főleg gyűrűs oligomerek keletkeztek.

A diszulfid-kötés megfelelő körülmények között reverzibilisen kialakítható és lebontható kötés. A diszulfid-kötés biológiailag is lebontható kötés, ezért a keletkezett gyűrűs szénhidrát-oligomerek alkalmasak lehetnek gyógyszermolekulák molekuláris kapszulázására. Ezért az 1,6-ditio-D-mannitol polikondenzációját vízben templát molekula jelenlétében is tanulmányoztam. Templátként vankomicin aglikont használtam. A reakció során gyűrűs oligomerek helyett nyíltlancú oligomerek keletkeztek nagy százalékban. A vankomicin aglikonból és a diszulfid-oligomerekből kialakuló asszociátumok jelenlétét ESI-TOF MS módszerrel is alátámasztottam. Megvizsgáltam a vankomicin aglikon vízzoldékonyságának növekedését UV-VIS spektrofotometriás módszerrel, és azt tapasztaltam, hogy a nyíltlancú oligomerek hatására az aglikon oldhatósága kb. 1,6-szorosára növekedett meg.

Az 1,6-ditio-D-mannitol polikondenzációja mellett a tetraetilénglikol és a polietilénglikol ditio-származékának oxidációjával is foglalkoztam. Megállapítottam, hogy a polikondenzáció sokkal gyorsabban ment végbe vízben, mint az 1,6-ditio-mannitol esetén, és nyíltlancú oligomerek keletkeztek. α,ω -Ditio-polietilénglikolok oxidációjakor azt tapasztaltam, hogy nagyobb, mint 90 %-ban gyűrűs makromonomer molekulák keletkeztek.

A gyűrűs PEG-diszulfidok szintén alkalmasak lehetnek molekuláris kapszulázásra. A poliéter szerkezetük miatt könnyen szolvatálódnak, és hidrogén-kötések kialakítására képes molekulákkal asszociátumokat képesek létrehozni.

5. Summary

Synthesis of polymers based on carbohydrates have re-emerged as an interesting subject in polymer chemistry. One of the most challenging topics both in the field of polymer and carbohydrate chemistry is to synthesize biologically active polysaccharides with well-controlled molecular weight and stereoselectivity. Another important field in polymer research is the synthesis of biodegradable polymers. Since sugars are good sources of food for micro-organisms, carbohydrate polymers have the potential to be utilized as biodegradable polymers.

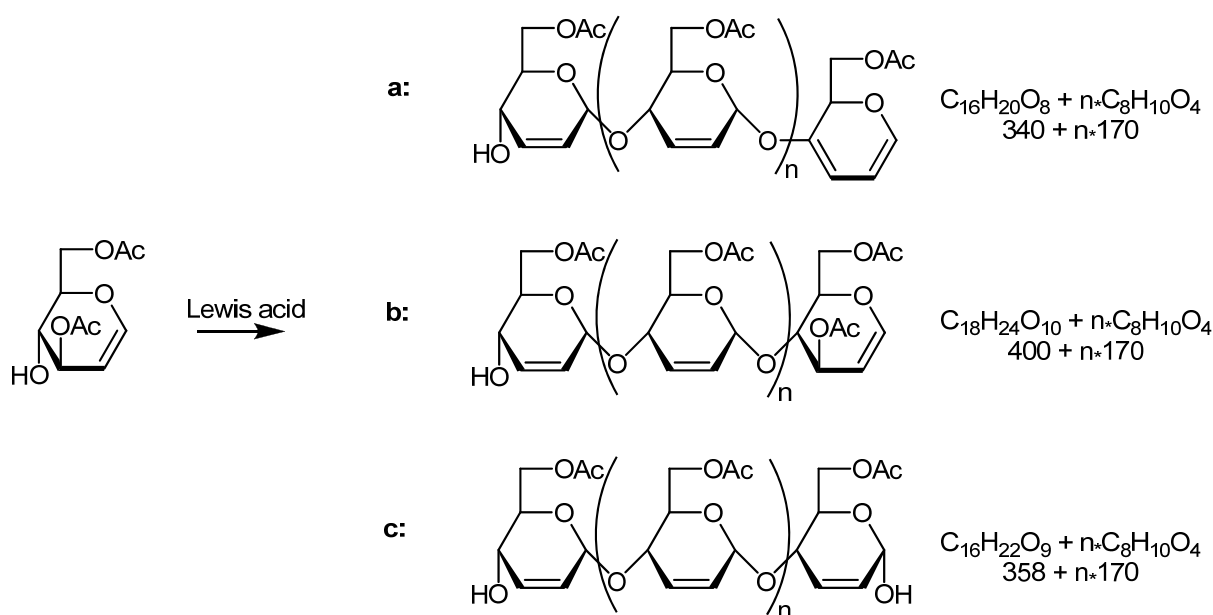
During my PhD work, I dealt with working out new polysaccharide synthesis methods at the Department of Applied Chemistry in cooperation with the Department of Pharmaceutical Chemistry. In my dissertation I give an account of two new types of carbohydrate-based polymer syntheses. One of them is an authentic polysaccharide with interglycosidic bonds, which was produced from 3,6-di-*O*-acetyl-D-glucal with the Ferrier-type rearrangement reaction. The Ferrier reaction has been utilized for the synthesis of O-, S-, N- and C-glycosides, and the influence of the reaction conditions and the used Lewis acid on the process has been extensively examined. However, the application of this useful reaction for the synthesis of new, biologically active polysaccharides has not been studied so far.

The Ferrier reaction of 3,6-di-*O*-acetyl-D-glucal can be considered a really new polysaccharide synthesis in addition to the ring-opening polymerization of anhydrosugars.

The second part of my PhD work deals with the oxidative polycondensation of 1,6-dithio-D-mannitol. The reaction resulted in an oligomer mixture, where the mannitol monomers linked with disulfide bonds. Several compounds are reported in the literature with polysulfide structure, but carbohydrate-based polymers with similar structures have not been synthesized.

3,6-Di-*O*-acetyl-D-glucal was prepared from tri-*O*-acetyl-D-glucal by deacetylation with K_2CO_3 in methanol and subsequent partial acetylation of the produced D-glucal. The partial acetylation can be performed with bulky activated esters, such as *N*-acetoxy-benzotriazole.

The Ferrier rearrangement reaction was used for the polycondensation of 3,6-di-*O*-acetyl-D-glucal (**Scheme 1**). It was determined that the ZnX-type zeolite and anhydrous ZnCl₂ catalyzed the polycondensation reaction. When the zeolite was used as catalyst the reaction time was 10 days that I was able to reduced to 1 day with anhydrous ZnCl₂. The MALDI-TOF mass spectrum of the oligomers produced in the reaction catalyzed with zinc chloride shows three different series of peaks (**Scheme 1**). Each of the series possesses the same mass for the repeating unit (170 Da), i.e., the mass of the expected glycan unit.



Scheme 1

The three series produced from 3,6-di-O-acetyl-D-glucal with the Ferrier reaction.

Among the three series the difference lies only in the endgroups. The original products of the Ferrier reaction are the oligomers marked with **b**. The **a** and the **c** series are derived from the **b** oligomers. The members of the **a** are produced from the corresponding members of the **b** by losing acetic acid, while the **c** series is produced from the **b** in the Ferrier reaction of the glycal endgroups with water. In the reaction mixture the **a** type polymer occurred in the largest amount. I was the first who observed this elimination process, and I prepared this kind of diene-enoether polysaccharide first.

When the ESI ionization method was used, which is more considerate than MALDI, the three series are present, as well. This goes to show that the **a** and the **c** series produced in the reaction mixture, and not under the MALDI conditions.

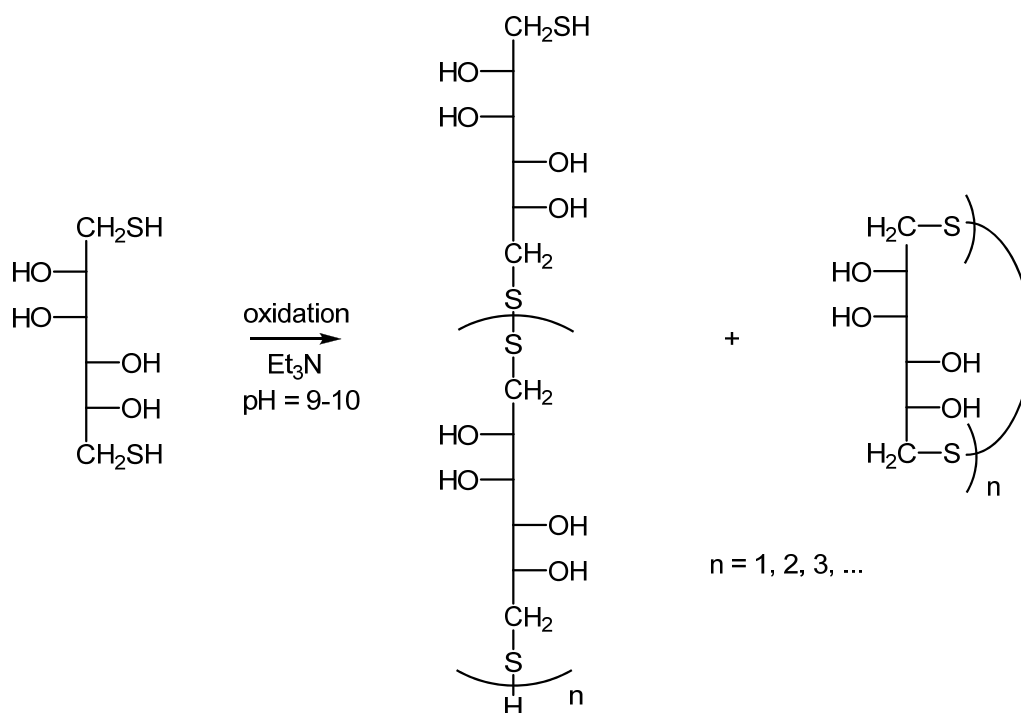
In the mass spectrum the oligomers up to $m/z \sim 5000$ (up to 30 repeating units) are identifiable. Using diffusion-ordered NMR (DOSY) in CDCl_3 solution, aggregates with masses up to 30 kDa were observed. Diluting the solution, or using DMSO-d_6 solvent resulted in the disappearance of the species with higher molecular mass. These phenomena can be explained by a unique self-assembly of the oligomers in chloroform that can be avoided by dilution, or using a solvent unfavourable for the formation of hydrogen-bonded aggregates.

I was able to isolate the disaccharide (**a**: $n = 0$) and the trisaccharide (**a**: $n = 1$) with column chromatography. The NMR spectra of the disaccharide show that the interglycosidic linkage has an α direction.

The acetoxy polysaccharides produced in the Ferrier reaction were deacetylated in methanol with K_2CO_3 . The synthesized polysaccharide has $\alpha(1 \rightarrow 4)$ interglycosidic bonds, therefore the deacetylated polymer series can be considered 2,3-dideoxy-2,3-didehydro starch, or glycogen. This polysaccharide consists of unsaturated monomer units containing double bonds. Acarbose is an oral antidiabetic, and it is a pseudotetrasaccharide. The effect of this molecule is based on its α -amylase enzyme inhibitory effect. The carbasugar moiety of acarbose contains a double bond that imitates the conformation of a glucose unit in the enzyme-starch complex. The monomer units of the polysaccharide synthesized from 3,6-di-*O*-acetyl-D-glucal also contain double bonds, therefore I investigated the inhibitory effect of the deacetylated oligomer mixture on some kinds of amylase enzymes. It proved to be a semicompetitive inhibitor of the human salivary α -amylase enzyme with inhibition constants K_{EI} and K_{ESI} of 35.2 and 2.7 mM, respectively.

In the second part of my PhD work I dealt with the oxidative polycondensation of 1,6-dithio-D-mannitol. For the synthesis of the monomer 1,6-dibromo-1,6-dideoxy-D-mannitol was treated with triphenyl methanethiol in the presence of sodium hydride. The triphenyl-methyl groups were removed with trifluoroacetic acid in dichloromethane in the presence of triethylsilane, and 1,6-dithio-D-mannitol was obtained.

The oxidative polycondensation of 1,6-dithio-D-mannitol proceeded using air as oxidant in the presence of triethylamine base (pH \sim 9-10) (**Scheme 2**).



Scheme 2

The oxidative polycondensation of the 1,6-dithio-D-mannitol.

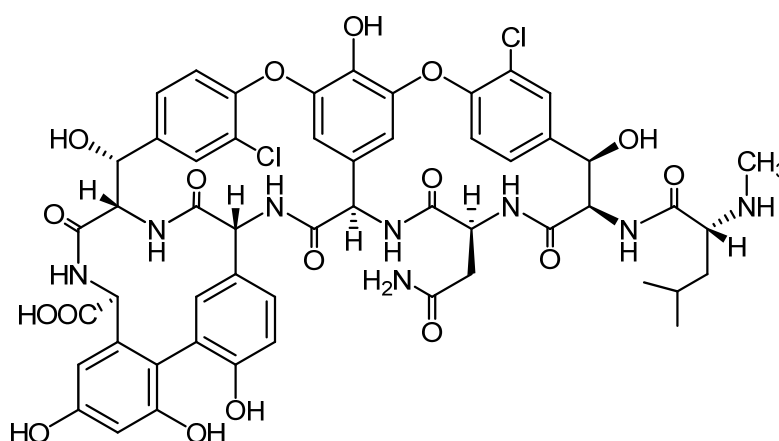
The produced oligomers were investigated with MALDI-TOF MS method, and it was proved that both cyclic and chain oligomers were formed along the reaction. On the basis of the MALDI-TOF mass spectra the proportion of the cyclic and chain forms was calculated. It was found that the production of the cyclic and the chain forms could be influenced with the quality of the solvent. While, for example, in DMF and in water cyclic oligomers were produced (~90 %), in methanol and in dioxane the chain form was dominant. The ratio of the two forms depends on the concentration too. The proportion of the cyclic oligomers decreases with the increase of the concentration.

The oligomerization could be carried out under neutral and mild conditions, as well, in the presence of DMSO. In the reaction cyclic oligomers were formed in a ratio of 85-90%.

The polydisulfides formed in the polycondensation reaction of 1,6-dithio-D-mannitol are reversible polymers due to the reversible disulfide bonds. The disulfide linkage is biodegradable, it is degraded into thiol groups under reductive conditions in the cytosol. On the contrary, disulfides are very stable in the oxidative environment of the cell exterior. This phenomenon can be well-applicable to the molecular encapsulation of drug

molecules, because the packed agent can reach the cell surface uninjured, then getting into the cell the packing disintegrates and the agent is released. Therefore, the polycondensation reaction was also investigated in the presence of a template.

In water the vancomycin aglycon (**Scheme 3**) was used as a model molecule. This is an effective antibacterial compound, but possesses a very poor water-solubility. Therefore, the polycondensation reaction was performed in the presence of the aglycon in water. I experienced that in this case the formation of the chain form was favourable, while without the template in water the cyclic form was dominant.



Scheme 3

Structure of the vancomycin aglycon

The presence of the vancomycin aglycon-oligomer molecular complexes in the oligomerization mixture was supported by ESI-TOF MS method. These results clearly indicated the relatively strong interaction between the vancomycin aglycon and the oligomers of 1,6-dithio-D-mannitol.

UV-VIS spectrophotometry showed that the water solubility of the vancomycin aglycon was most increased by the solution containing the linear chain oligomers.

In addition to the polycondensation of 1,6-dithio-D-mannitol I studied the oxidation of the dithio derivatives of tetraethylene glycol and polyethylene glycols. The polycondensation reaction was faster in water than in the case of 1,6-dithio-D-mannitol, and chain oligomers were formed. When α,ω -dithiopolyethylene glycols were oxidized, macrocyclic monomers were formed in more than 90 %.

The cyclic PEG-disulphides can also be suitable for molecular capsulation of drug molecules. They can be solvated easily because of their polyether structure, and they can form molecular associates with other molecules by hydrogen bonds.

6. Rövidítések jegyzéke

Ac:	acetyl
AIBN:	azo-bisz- <i>izo</i> -butironitril
Bn:	benzil
Bu:	butil
Cp:	ciklopropil
CPO:	gyűrűs poli(oxietilén)
DEAD:	dietil-azodikarboxilát
DDQ:	2,3-diklór-5,6-diciano- <i>p</i> -benzokinon
DHB:	2,5-dihidroxi-benzoészav
DKM:	diklórmétán
DMAc:	N,N-dimetilacetamid
DMDO:	dimetil-dioxirán
DMF:	dimetilformamid
DMSO:	dimetil-szulfoxid
DNS:	deoxiribonukleinsav
DOSY:	Diffusion Ordered Spectroscopy
EDTA:	etiléndiamin-tetraecészav
ESI-TOF MS:	ElectroSpray Ionization-Time Of Flight Mass Spectrometry
Et:	etil
GPC / SEC:	Gélpermeációs kromatográfia / Size Exclusion Chromatography
HSQC:	Heteronuclear Single Quantum Coherence
MALDI-TOF MS:	Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization-Time Of Flight Mass Spectrometry
Me:	metil
NMR:	mag-mágneses rezonancia spektroszkópia
Nu:	nukleofil
OMs:	mezil (metil-szulfonil)
OTf:	trifluormétán-szulfonát
OTs:	tozil (para-toluol-szulfonil)
PEG:	poli(etilén-glikol)
Ph:	fenil
Piv:	pivaloil
Py:	piridin
TBAF:	tetrabutillammónium-fluorid
TBDMS:	tercier-butil-dimetilszilil
TBS:	tributil-szilil
TEG:	tetraetilén-glikol
THF:	tetrahidrofurán
TMEDA:	N,N,N',N'-tetrametilén-diamin
TMS:	trimetil-szilil
TMSOTf:	trimetilszilil-trifluormétán-szulfonát
VRK:	vékonyréteg-kromatográfia
X:	halogén

7. Irodalomjegyzék

- [1] <http://www.pharminindex.hu/gyogyszer-betegtajekoztato.xhtml?tid=5644>
- [2] M. B. Roberfroid, Concepts in functional foods: the case of inulin and oligofructose, *J. Nutr.*, **1999**, 129, 1398S-1401S.
- [3] K. L. Goa, P. Benfield, Hyaluronic acid. A review of its pharmacology and use as a surgical aid in ophthalmology, and its therapeutic potential in joint disease and wound healing, *Drugs*, **1994**, 47, 536-66.
- [4] J. Szejtli, Ciklodextrinek alkalmazása vegyipari termékekben és eljárásokban, *Magyar Kémikusok Lapja*, **1998**, 53, 271-282.
- [5] J. F. Varma, J. F. Kennedy, P. Galgali, Synthetic polymers functionalized by carbohydrates: a review, *Carbohydr. Polym.*, **2004**, 56, 429-445.
- [6] T. Yoshida, Synthesis of polysaccharides having specific biological activities, *Prog. Polym. Sci.*, **2001**, 26, 379-441.
- [7] E. R. Ruckel, C. Schuerch, Preparation of high polymers from 1,6-anhydro-2,3,4-tri-*O*-substituted β -D-glucopyranose, *J. Org. Chem.*, **1966**, 31, 2233-8.
- [8] J. Thiem, T. Haring, Ring-opening polymerization of *cis*-3,4-dimethoxyoxolane, *Makromol. Chem.*, **1987**, 188, 711-8.
- [9] W. A. Strietholt, J. Thiem, U. F. B. Howeler, Synthesis and ring-opening polymerization of 1,4:2,5:3,6-trianhydro-D-mannitol and structure studies by MNDO calculations, *Makromol. Chem.*, **1991**, 192, 317-31.
- [10] T. Kakuchi, T. Satoh, S. Umeda, H. Hashimoto, K. Yokota, Regio- and stereospecificity in cationic cyclopolymerization of 1,2:5,6-dianhydro-D-mannitols and synthesis of poly[(1 \rightarrow 6)-2,5-anhydro-3,4-di-*O*-ethyl-D-glucitol], *Macromolecules*, **1995**, 28, 4062-6.
- [11] F. Nakatsubo, H. Kamitakahara, M. Horii, Cationic ring-opening polymerization of 3,6-di-*O*-benzyl- α -D-glucose 1,2,4-orthopivalate and the first chemical synthesis of cellulose, *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, 118, 1677-81.
- [12] K. Kobayashi, H. Sumitomo, Y. Ina, Synthesis and functions of polystyrene derivatives having pendant oligosaccharides, *Polym. J.*, **1985**, 17, 567-75.
- [13] K. Kobayashi, H. Sumitomo, Y. Ina, A carbohydrate-containing synthetic polymer obtained from *N-p*-vinylbenzyl-D-gluconamide, *Polym. J.*, **1983**, 15, 667-71.

- [14] S. Kobayashi, K. Kashiwa, T. Kawasaki, S. Shoda, Novel method for polysaccharide synthesis using an enzyme: the first in vitro synthesis of cellulose via a nonbiosynthetic path utilizing cellulase as catalyst, *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, 113, 3079-84.
- [15] D. R. Patil, J. S. Dordick; D. G. Rethwisch, Chemoenzymatic synthesis of novel sucrose-containing polymers, *Macromolecules*, **1991**, 24, 3462-3463.
- [16] B. D. Martin, S. A. Ampofo, R. J. Linhardt, J. S. Dordick, Biocatalytic synthesis of sugar-containing polyacrylate-base hydrogels, *Macromolecules*, **1992**, 26, 7081-7085.
- [17] S.-H. Chen, S. Lin, I. King, T. Spinka, G. E. Dutschman, E. A. Gullen, Y.-C. Cheng, T. W. Doyle, Synthesis and comparative evaluation of two antiviral agents: β -L-Fd₄C and β -D-Fd₄C, *Biorg. Chem. Med. Lett.*, **1998**, 8, 3245-3250.
- [18] M. von Itzstein, W.-Y. Wu, G. B. Kok, M. S. Pegg, J. C. Dyason, B. Jin, T. Van Phan, M. L. Smythe, H. F. White, S. W. Oliver, P. M. Colman, J. N. Varghese, D. M. Ryan, J. M. Woods, R. C. Bethell, V. J. Hotham, J. M. Cameron, C. R. Penn, Rational design of potent sialidase-based inhibitors of influenza virus replication, *Nature*, **1993**, 363, 418-423.
- [19] J. J. Fox, K. K. Watanabe, On the structure of blasticidin S, a nucleoside antibiotic, *Tetrahedron Lett.*, **1966**, 897-904.
- [20] A. Kumar, A. Khare, N. K. Khare, Two oligosaccharides from *Marsdenia roylei*, *Phytochemistry*, **1999**, 50, 1353-1357.
- [21] R. J. Ferrier and O. A. Zubkov, The rearrangement of glycols to 2,3-unsaturated derivatives, *Org. React.*, **2003**, 62, 569-736.
- [22] R. J. Ferrier, Substitution-with-allylic rearrangement reactions of glycol derivatives, in A. E. Stütz (Ed.), *Topics in Current Chemistry*, Vol. 215, Springer-Verlag, Berlin, **2001**, 153-175.
- [23] R. J. Ferrier, J. O. Hoberg, Synthesis and reactions of unsaturated sugars, *Adv. Carbohydr. Chem.*, **2003**, 58, 55-119.
- [24] E. Fischer, K. Zach, Reduction of acetobromoglucose, *Sitzber. kgl. preuss. Akad. Wiss.*, **1913**, 16, 311-317.
- [25] B. K. Shull, Z. Wu, M. Koreeda, A convenient highly efficient one-pot preparation of peracetylated glycols from reducing sugars, *J. Carbohydr. Chem.*, **1996**, 15, 955-964.
- [26] L. Somsák, I. Németh, A simple method for the synthesis of acetylated pyranoid glycols under aprotic conditions, *J. Carbohydr. Chem.*, **1993**, 12, 679-684.
- [27] C. L. Forbes, R. W. Franck, Improved version of the Fischer-Zach synthesis of glycols, *J. Org. Chem.*, **1999**, 64, 1424-1425.

- [28] R. P. Spencer, C. L. Cavallaro, J. Schwartz, Rapid preparation of variously protected glycols using titanium(III), *J. Org. Chem.*, **1999**, 64, 3987-3995.
- [29] T. Hansen, S. L. Krintel, K. Daasbjerg, T. Skrydstrup, A convenient synthesis of glycols employing *in situ* generated Cp₂TiCl, *Tetrahedron Lett.*, **1999**, 40, 6087-6090.
- [30] Gy. Kovács, J. Gyarmati, L. Somsák, K. Micskei, Long-lived glycosyl-chromium (III) complex intermediates in aqueous medium. Preparation of pyranoid glycols, *Tetrahedron Lett.*, **1996**, 37, 1293-1296.
- [31] A. Fürstner, H. Weidmann, A simple and efficient new glycol synthesis, *J. Carbohydr. Chem.*, **1988**, 7, 773-783.
- [32] M. D. Wittmann, R. L. Halcomb, S. J. Danishefsky, A route to glycols in the allal and gual series, *J. Org. Chem.*, **1990**, 55, 1979-1981.
- [33] V. Bolitt, C. Mioskowski, S.-G. Lee, J. R. Falk, Direct preparation of 2-deoxy-D-glucopyranosides from glucals without Ferrier rearrangement, *J. Org. Chem.*, **1990**, 55, 5812-5813.
- [34] R. L. Halcomb, S. J. Danishefsky, On the direct epoxidation of glycols, *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, 111, 6661-6666.
- [35] S. J. Danishefsky, M. T. Bilodeau, Glycols in organic synthesis: the evolution of comprehensive strategies for assembly of oligosaccharides and glycoconjugates of biological consequence, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **1996**, 35, 1380-1419.
- [36] E. Kozłowska-Gramsza, G. Descotes, Addition of nitrenes to cyclic vinyl ethers. Application to the synthesis of aminosugars, *Tetrahedron Lett.*, **1981**, 22, 563-566.
- [37] G. S. Cousins, J. O. Hoberg, Synthesis and chemistry of cyclopropanated carbohydrates, *Chem. Soc. Rev.*, **2000**, 29, 165-174.
- [38] I. D. Blackburne, P. M. Fredericks, R. D. (Gus) Guthrie, Studies on unsaturated sugars with particular reference to the synthesis of 6-deoxy-6-fluoro derivatives, *Aust. J. Chem.*, **1976**, 29, 381-91.
- [39] W. Kinzy, R. R. Schmidt: Direct 3,6-di-O-protection of glucal and galactal, *Tetrahedron Lett.*, **1987**, 28, 1981-1984.
- [40] R. J. Ferrier, Unsaturated sugars, in W. Pigman and D. Horton (Eds.), *The Carbohydrates*, 2nd edn., Vol. 1B, Academic Press, New York, **1980**, 843-879.
- [41] J. Thiem, J. Schwentner, E. Schüttelpeza, J. Kopf, Synthesis, structure elucidation and conformational studies of 1 → 4-linked disaccharide glycosides, *Chem. Ber.*, **1979**, 112, 1023-1034.

- [42] G. Gryniewicz, W. Priebe, A. Zamojski, Synthesis of 4-6-di-*O*-acetyl-2,3-dideoxy- α -D-*threo*-hex-2-enopyranosides, *Carbohydr. Res.*, **1979**, 68, 33-41.
- [43] A. Sobti, G. A. Sulikowski, Mitsunobu reaction of glycols with phenoxy nucleophiles, *Tetrahedron Lett.*, **1994**, 35, 3661-3664.
- [44] K. Toshima, T. Ishizuka, G. Matsuo, M. Nakata, M. Kinoshita, Glycosidation of glycols by DDQ as catalytic promoter, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1993**, 704-706.
- [45] J. C. López, A. M. Gómez, S. Valverde, B. Fraser-Reid, Ferrier rearrangement under nonacidic conditions, *J. Org. Chem.*, **1995**, 60, 3851-3858.
- [46] R. Blattner, R. J. Ferrier, R. H. Furneaux, Intervention of catalytic amounts of water in the allylic rearrangement of glycol derivatives, *Tetrahedron: Asymm.*, **2000**, 11, 379-383.
- [47] R. D. Guthrie, R. W. Irvine, Allylic substitutions in tri-*O*-acetyl-glycols and related compounds, *Carbohydr. Res.*, **1980**, 82, 207-224.
- [48] J. M. Lukesh, W. A. Donaldson, Synthesis of (+)-decaresstrictine L, *Tetrahedron: Asymm.*, **2003**, 14, 757-762.
- [49] K. Toshima, T. Ishizuka, G. Matsuo, M. Nakata, Allyl *C*-glycosidation of glycols mediated by 2,3-dichloro-5,6-dicyano-*p*-benzoquinone (DDQ), *Chem. Lett.*, **1993**, 2013-2016.
- [50] K. Toshima, G. Matsuo, T. Ishizuka, Y. Ushiki, M. Nakata, S. Matsumura, Aryl and allyl *C*-glycosidation methods using unprotected sugars, *J. Org. Chem.*, **1998**, 63, 2307-2313.
- [51] J.-I. Kadokawa, M. Yamamoto, H. Tagaya, K. Chiba, Synthesis of branched polysaccharides by polymerization of 6-*O*-*t*-butyldimethylsilyl-D-glucal through stereoregular haloglycosylation, *Carbohydr. Lett.*, **2001**, 4, 97-101.
- [52] H. B. Mereyala, K. C. Venkataramanaiah, V. S. Dalvoy, Synthesis of 1,6-anhydro-2,3-dideoxy- β -D-*erythro*- and -*threo*-hex-2-enopyranose from 3,4-di-*O*-substituted glycols by a facile intramolecular Ferrier reaction, *Carbohydr. Res.*, **1992**, 225, 151-153.
- [53] Von E. W. Holla, Enzymatische synthesen selektiv geschützter Glycole, *Angew. Chem.*, **1989**, 101, 222-223.
- [54] P. A. Grieco, J. D. Speake, Studies directed toward the total synthesis of scytophycin C: synthesis of the C(1)-C(18) fragment of scytophycin C, *Tetrahedron Lett.*, **1998**, 39, 1275-1278.
- [55] K. Tatsuta, S. Nakano, F. Narazaki, Y. Nakamura, The first total synthesis and establishment of absolute structure of luminacins C₁ and C₂, *Tetrahedron Lett.*, **2001**, 42, 7625-7628.
- [56] I. F. Pelyvás, T. K. Lindhorst, H. Streicher, J. Thiem, Regioselective acylation of carbohydrates with 1-acyloxy-1H-benzotriazoles, *Synthesis (Stuttgart)*, **1991**, 11, 1015-1018.

- [57] M. Teijeira, P. L. Suárez, G. Gómez, C. Tedán, Y. Fall, The furan approach to oxacycles. Part 5: Synthesis of a chiral butenolide, building block towards biologically interesting natural products, *Tetrahedron Lett.*, **2005**, 46, 5889-5892.
- [58] M. D. Pelta, H. Barjat, G. A. Morris, A. L. Davis, S. J. Hammond, Pulse sequences for high resolution diffusion ordered spectroscopy (HR-DOSY), *Magn. Reson. Chem.*, **1998**, 36, 706-714.
- [59] P. Groves, M. O. Rasmussen, M. D. Molero, E. Samain, F. J. Cañada, H. Driguez, J. Jiménez-Barbero, Diffusion ordered spectroscopy as a complement to size exclusion chromatography in oligosaccharide analysis, *Glycobiology*, **2004**, 14, 451-456.
- [60] S. Raina, B. A. Bhanu Prasad, A model synthetic approach towards the furan-acetal component of azadirachtin: a potent insect antifeedant, *ARKIVOC* (Gainesville, FL, United States) **2003**, 3, 16-24.
- [61] N.J. Leonard, K. Golankiewicz, Thermolysis of substituted 1-acetoxybenzotriazoles. Carbon-to-oxygen migration of an alkyl group, *J. Org. Chem.*, **1969**, 34, 359-365.
- [62] C. S. Mavrel, L. E. Olson, Polyalkylene disulfides, *J. Am. Chem. Soc.*, **1957**, 79, 3089-3091.
- [63] W. Choi, F. Sanda, N. Kihara, T. Endo, A novel one-pot oxidation polymerization of dithiols obtained from bifunctional five-membered cyclic dithiocarbonates with amines, *J. Polym. Sci.*, **1998**, 36, 79-84.
- [64] S. K. Flanders, R. C. Klingender, Polysulfide Elastomers, Chapter 11, *Handbook of Specialty Elastomers*, CRC Press, **2008**, 371-384.
- <http://books.google.hu/books?id=AUNa7lZseLAC&printsec=frontcover#PPA369,M1>
- [65] K. Endo, T. Shiroy, N. Murata, G. Kojima, T. Yamanaka, Synthesis and characterization of poly(1,2-dithiane), *Macromolecules*, **2004**, 37, 3143-3150.
- [66] J. E. McCormic, R. S. McElhinney, 3-Heteroglutaraldehydes. Part III. The 1,2-dithian-4,5-diols and tetrahydrothiophen-3,4-diols and their oxidation by periodate, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I.*, **1972**, 2795-2803.
- [67] A. V. R. Rao, M.K. Gurjar, K. Garyali, T. Ravindranathan, Enantiospecific synthesis of R(+) - lipoic acid from D-glucose, *Carbohydr. Res.*, **1986**, 148, 51-55.
- [68] D. N. Harpp, J. G. Gleason, The chemistry of small-ring sulfur compounds. Thietanes and 1,2-dithiolanes, *J. Org. Chem.*, **1970**, 35, 3259-3263.
- [69] X. Wu, R. D. Rieke, L. Zhu, Preparation of disulfides by the oxidation of thiols using bromine, *Synth. Commun.*, **1996**, 26, 191-196.

- [70] W. W. Cleland, Dithiothreitol, a new protective reagent for SH groups, *Biochemistry*, **1964**, 3, 480-482.
- [71] E. Wenschuh, M. Heydenreich, R. Runge, S. Fischer, CCl₄ als mildes Oxidans in der Schwefelchemie: Oxidation von Thiolen zu Disulfiden, *Sulfur Lett.*, **1988**, 8, 251-260.
- [72] L. Field, Y. H. Khim, Organic disulfides and related substances. 34. Synthesis and reactions of some substituted cyclic disulfides and corresponding S-oxides, *J. Org. Chem.*, **1972**, 37, 2710-2714.
- [73] R. H. Cragg and A. F. Weston, Lead dithiolates: Their use in the synthesis of cyclic disulphides, *Tetrahedron Lett.*, **1973**, 9, 655-656.
- [74] G. Crank, M. I. H. Makin, Oxidation of thiols by superoxide ion, *Aust. J. Chem.*, **1984**, 37, 2331-2337.
- [75] S. Oae, T. Takata, Y. H. Kim, Reaction of organic sulfur compounds with superoxide anion-III : Oxidation of organic sulfur compounds to sulfinic and sulfonic acids, *Tetrahedron*, **1981**, 37, 37-44.
- [76] J. C. Patric, Polysulfide copolymers, US Patent 2,363,614, **1944**.
- [77] G. Capozzi, G. Modena, The chemistry of the thiol group, Vol. II, 17. Oxidation of thiols, edited by S. Patai, Wiley, New York, **1974**, on page 791.
- [78] M. S. M. Alger, *Polymer Science Dictionary*, 2nd edition, Chapman & Hall, London, **1997**, pp. 569.
http://books.google.com/books?id=OSAaRwBXGuEC&pg=PA569&lpg=PA569&dq=thioko+l+rubber&source=web&ots=wTDI531qBw&sig=KLHN_Nrz1mA5qcqBmnRvqirBkGs)
- [79] C. H. Yiannios, J. V. Karabinos, Oxidation of thiols by dimethyl sulfoxide, *J. Org. Chem.*, **1963**, 28, 3246-48.
- [80] K. Chen, X. S. Du, Y. Z. Meng, S. C. Tjong, A. S. Hay, The preparation and characterization of novel cocyclic(arylene disulfide) oligomers, *Polym. Adv. Technol.*, **2003**, 14, 114-121.
- [81] Y. Z. Meng, S. C. Tjong, A. S. Hay, Synthesis of cocyclic(arylene disulfide) oligomers and their adhesion properties as heating-melt adhesive, *Polymer*, **2001**, 42, 5215-5224
- [82] Z. A. Liang, Y. Z. Meng, L. Li, X. S. Du, A. S. Hay, Novel synthesis of macrocyclic aromatic disulfide oligomers by cyclodepolymerization of aromatic disulfide polymers, *Macromolecules*, **2004**, 37, 5837-5840.
- [83] Y. Z. Meng, Z.A. Liang, Y. X. Lu, A. S. Hay, Aromatic disulfide polymers back to macrocyclic disulfide oligomers via cyclo-depolymerization reaction, *Polymer*, **2004**, 46, 11117-11124.

- [84] P. Dhar, N. Chidambaram, S. Chandrasekaran, Piperidinium tetrathiotungstate as sulfur transfer reagent: Synthesis of cyclic disulfides, *J. Org. Chem.*, **1992**, 57, 1699-1702.
- [85] D. N. Harpp, S. J. Bodzay, T. Aida, T. H. Chan, High yield preparation of cyclic disulfides using alkyltin thiolates, *Tetrahedron Lett.*, **1986**, 27, 441-444.
- [86] C. J. Burns, L. D. Field, J. Morgan, D. D. Ridley, V. Vigneich, Preparation of cyclic disulfides from bithiocyanates, *Tetrahedron Lett.*, **1999**, 40, 6489-6492.
- [87] J. Houk, G. M. Whitesides, Structure-reactivity relations for thiol-disulfide interchange, *J. Am. Chem. Soc.*, **1987**, 109, 6825-6836.
- [88] R. P. Szajewski, G. M. Whitesides, Rate constants and equilibrium constants for thiol-disulfide interchange reactions involving oxidized glutathione, *J. Am. Chem. Soc.*, **1980**, 102, 2011-2026.
- [89] S. Otto, R. L. E. Furlan, J. K. M. Sanders, Dynamic combinatorial chemistry, *Drug Discovery Today*, **2002**, 7, 117-125.
- [90] I. Hermeecz, Z. Török, Dinamikus kombinatorikus kémia, *Magyar Kém. Folyóirat*, **2005**, 111, 185-193.
- [91] S. Sando, A. Narita, Y. Aoyama, A facile route to dynamic glycopeptide libraries based on disulfide-linkage sugar-peptide coupling, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2004**, 14, 2835-2838.
- [92] J.-M. Lehn, Dynamers: dynamic molecular and supramolecular polymers, *Prog. Polym. Sci.*, **2005**, 30, 814-831.
- [93] Y. Lee, H. Koo, G.-w. Jin, H. Mo, M. Y. Cho, J.-Y. Park, J. S. Choi, J. S. Park, Poly(ethylene oxide sulfide): New Poly(ethylene glycol) Derivatives Degradable in Reductive Conditions, *Biomacromolecules*, **2005**, 6, 24-26.
- [94] T. Szabo, L. Institoris, Gy. Dalmi, E. Kaczmarek, Preparation of the neoplasm inhibitors myelobromol and elobromol by hydrobromination, (Chinoín Gyógyszer és Vegyészeti Termékek Gyára Rt., Hung), **1987**, Hung. Teljes (Patent).
- [95] K. C. Nicolaou, C. N. Boddy, S. Bräse, N. Winssinger, Chemistry, biology and medicine of the glycopeptide antibiotics, *Angewandte Chem., Intern. Ed.*, **1999**, 38, 2097-2152.
- [96] J. Wanner, D. Tang, C. C. McComas, B. M. Crowley, W. Jiang, J. Moss, D. L. Boger, A new and improved method for deglycosidation of glycopeptide antibiotics exemplified with vancomycin, ristocetin, and ramoplanin, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2003**, 6, 1169-1173.
- [97] F. Hudecz, Polimer terapeutikumok, *Magyar Tudomány*, **1998**, 10, 1211-1222.
- [98] B. Schmidt, S. Nave, Synthesis of dihydrofurans and dihydropyrans with unsaturated side chains based on ring size-selective ring-closing metathesis, *Adv. Synth. & Catal.* **2007**, 349(1+2), 215-230.

8. Tudományos közlemények és konferenciárészvételek

8.1 Az értekezés témájában megjelent közlemények

1. S. Kéki, Gy. Batta, I. Berezki, Zs. Fejes, L. Nagy, Á. Zajác, L. Kandra, I. Kiricsi, Gy. Deák, M. Zsuga, P. Herczegh: New types of α -amylase enzyme-inhibitory polysaccharides from D-glucal, *Carb. Polym.*, 2006, **63**, 136-140. **IF: 1.78**
2. I. Berezki, S. Kéki, P. Herczegh, M. Zsuga: Template Effect of Vancomycin Aglycon in the Oxidative Oligomerization of 1,6-Dithio-D-Mannitol: a MALDI-TOF MS and solvent effect study, *Carb. Polym.*, 2008, **73**, 1-7. **IF: 1.78**
3. Berezki I., Kéki S., Herczegh P., Zsuga M.: Szénhidrát polimerek, *Műanyag és Gumi*, 2008, **45(1)**, 10-14.

8.2 Az értekezés témájában elhangzott előadások

1. Berezki I., Herczegh P., Kéki S., Batta Gy., Fejes Zs., Zsuga M., Deák Gy., Nagy L., Zajác Á., Kandra L., Kiricsi I.: Új típusú polikondenzációs reakció Ferrier-átrendeződéssel. Új poliszacharidok szintézise glükál-származékok polikondenzációjával. **MTA Szénhidrátkémiai Munkabizottsági Ülés, Debrecen (2004. október 29.)**
2. Berezki I., Herczegh P., Kéki S., Batta Gy., Fejes Zs., Zsuga M., Deák Gy., Nagy L., Zajác Á., Kandra L., Kiricsi I.: Új típusú polikondenzációs reakció Ferrier-átrendeződéssel. Új poliszacharidok szintézise glükál-származékok polikondenzációjával. **X. Nemzetközi Vegyészkonferencia, Kolozsvár (2004. november 12-14.)**
3. I. Berezki, S. Kéki, Gy. Batta, Zs. Fejes, L. Nagy, Á. Zajác, L. Kandra, I. Kiricsi, Gy. Deák, M. Zsuga, P. Herczegh: New type of unsaturated glycans by polymerization of D-glucal, **Austrian-Hungarian Carbohydrate Chemistry Symposium, Somogyaszaló (2005. május 24-26.)**
4. Berezki I.: Szénhidrát tartalmú polimerek szintézise, **MTA Anyagtudományi és Technológiai Komplex Bizottság, MTA Műanyag Munkabizottság, MTA Polimer Munkabizottság, Doktoranduszok fóruma, Debrecen (2006. április 4.)**
5. Berezki I., Kéki S., Zsuga M., Herczegh P.: Az 1,6-ditio-D-mannitol diszulfid-polimerizációjának vizsgálata, **XII. Nemzetközi Vegyészkonferencia, Csíkszereda, Románia (2006. október 03-08.)**

6. Bereczki I.: Az 1,6-ditio-mannitol oligomerizációja, **MTA Műanyag és Természetes Polimerek Munkabizottsági ülése, Budapest (2007. április 12.)**
7. I. Bereczki, Gy. Batta, M. Zsuga, S. Kéki, P. Herczegh: Az 1,6-ditio-D-mannitol oligomerizációja, **Zilele Academice Aradene, Arad, Románia (2007. május 11-13.)**
8. Bereczki I.: „Új típusú szénhidrát bázisú polimerek szintézise” című PhD értekezés bemutatása, **Az MTA Anyagtudományi és Technológiai Komplex Bizottsága, Az MTA Műanyag Munkabizottsága, Az MTA Természetes Polimerek Munkabizottsága, Az MTA DAB Polimerkémiai Munkabizottsága, Doktoranduszok Fóruma, Debrecen (2007. november 28.)**

8.3 Az értekezés témájában bemutatott poszter

1. Bereczki I., Kéki S., Zsuga M., Herczegh P.: Ditiolok oxidatív polikondenzációja, **Vegyészkonferencia, Hajdúszoboszló (2008. június 19-21.)**

8.4 Egyéb poszter

1. Bereczki I., Batta Gy., Zsuga M., Kéki S., Herczegh P.: Új típusú tioglikozidok szintézise polimerizációs célra, **XI. Vegyészkonferencia Kolozsvár (2005. november 11-13.)**

A posztert a Magyar Kémikusok Egyesülete a diák-poszter szekció versenyén *kiemelt első díjban* részesítette.