



Új típusú szénhidrát bázisú polimerek szintézise

Synthesis of new types of carbohydrate-based polymers

Doktori (PhD) értekezés tézisei
PhD theses

Bakai-Bereczki Ilona

Témavezető/Supervisor: Dr. Zsuga Miklós

Debreceni Egyetem
Természettudományi Doktori Tanács
Kémiai Doktori Iskola
Debrecen, 2008

I. Bevezetés és célkitűzések

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 és rendkívül változatos formákban fordulnak elő a természetben. 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 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 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 karboximetil-cellulóz és a nátrium-karboximetil-cellulóz az E-466-os számú emulgeálószerként ismert, illetve a karboximetil-cellulózt tapétaragasztóként is használják. A hialuronán egy természetes glikopolimer, amely az ízületek kenőanyagaként szolgál, de felhasználják mesterséges beültethető szemlencsék gyártására is. A ciklodextrin felhasználhatósága igen széleskörű, legnagyobb mennyiségben az élelmiszer- és kozmetikaipar használja, de fontosak a gyógyszeripari alkalmazásai is vízben rosszul, vagy vízben nem oldódó gyógyszermolekulák 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*-acetyl-D-glükózból állítottam elő Ferrier-típusú átrendeződéses reakcióval. A 3,6-di-

O-acetil-D-glükál Ferrier-reakcióját eddig még nem vizsgálta senki, és poliszacharidokat sem állítottak még elő ezzel a módszerrel. Ez a szintézis egy teljesen új poliszacharid előállítási módszernek tekinthető az anhidrocukrok gyűrűfelynyílásos polimerizációja mellett.

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.

II. Az alkalmazott kísérleti és vizsgálati módszerek

A monomerek előállítását és a polikondenzációs reakciókat laboratóriumi körülmények között végeztem el. A nyerstermékek tisztítását oszlopkromatográfiával valósítottam meg. A termékek azonosításához vékonyréteg-kromatográfiát és ESI-TOF tömegspekrometriás módszert használtam. Olvadáspont mérést, fajlagos forgatóképesség, ^1H és ^{13}C NMR méréseket is végeztem. A vékonyréteg-kromatogramokat 7%-os ammónium-molibdenát 0,5 M-os kénsavas oldatával történő lepermetezéssel és azt követő hevítéssel hívtam elő.

A Ferrier-reakciókhoz a monomer oldatát 3Å-ös molekulaszita segítségével vízmentesítettem. A reakciók előrehaladását vékonyréteg-kromatográfiával követtem. A reakciók során keletkezett oligomerkeverék mintákat MALDI-TOF MS, ESI-TOF MS, GPC és DOSY NMR módszerekkel vizsgáltam, a szerkezet meghatározásához pedig ^1H , ^{13}C és HSQC NMR spektrumok készültek.

Az oxidatív polikondenzáció során keletkezett oligomereket MALDI-TOF MS, ESI-TOF MS, ^1H és ^{13}C NMR módszerekkel vizsgáltam.

III. Új tudományos eredmények

III.1 A 3,6-di-*O*-acetyl-D-glucal polikondenzációja

III.1.1 A 3,6-di-*O*-acetyl-D-glucal előállítása

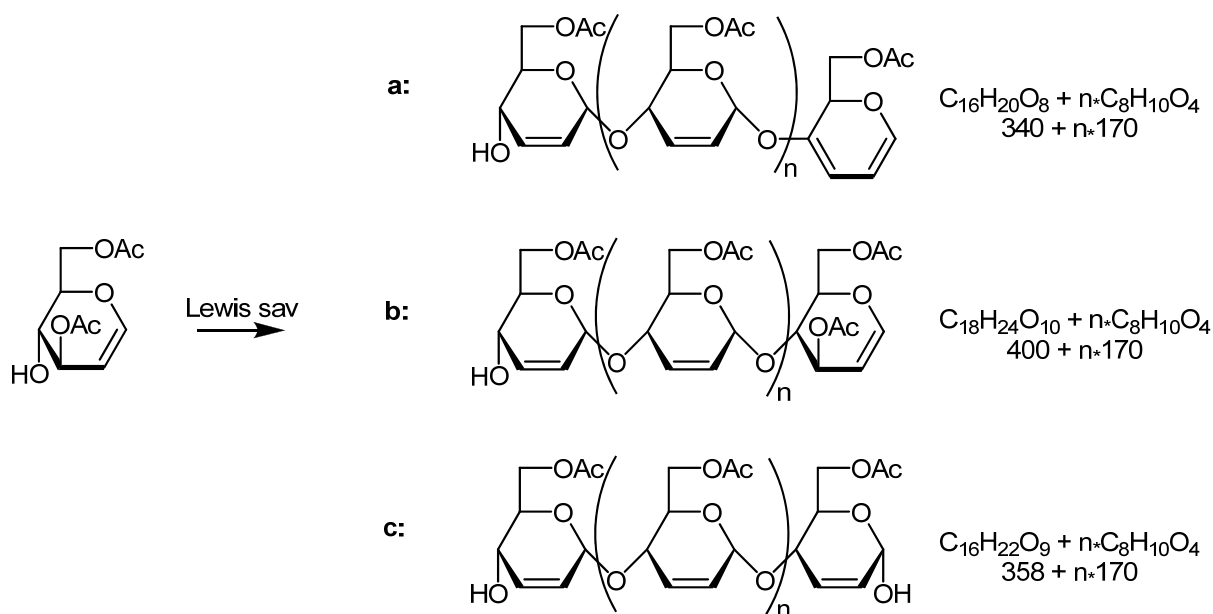
Megállapítottam, hogy a tri-*O*-acetyl-D-glucal metanolban végzett K_2CO_3 -os dezacetylizálásával, majd a kapott D-glucal parciális acetylizálásával a 3,6-di-*O*-acetyl-D-glucal előállítható. Bizonyosodott, hogy a parciális acetylizálás véghezvihető nagy térkitöltésű aktív észter, pl. *N*-acetoxy-benzotriazol segítségével.

III.1.2 A 3,6-di-*O*-acetyl-D-glucal polikondenzációja

Elsőként állítottam elő oligo- illetve poliszacharidokat a 3,6-di-*O*-acetyl-D-glucal polikondenzációjával. A szintézishez a Ferrier-típusú átrendeződéses reakciót használtam fel (**1. képletábra**).

Megállapítottam, hogy a kipróbált Lewis-savak közül a ZnX típusú zeolit és a vízmentes $ZnCl_2$ katalizálja a polikondenzációs reakciót. A ZnX típusú zeolit használatával kb. 10 nap volt a reakcióidő, amit 1 napra csökkentettem le vízmentes $ZnCl_2$ jelenlétében.

A cink-klorid által katalizált reakcióban képződött oligomerekről készült MALDI-TOF tömegspektrum alapján három különböző sorozatot azonosítottam (**1 képletábra: a, b és c**). A Ferrier-reakció termékeként várt vegyületek a **b** jelzésű oligomerek.



1. képletábra

A 3,6-di-O-acetil-D-glükál Ferrier reakciója során keletkező három polimersorozat.

Az **a**, **b** és **c** sorozat között csak a végcsoportokban van különbség. 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 a **b** típusú oligomerek glikál végcsoportjának Ferrier reakciójával keletkezik, ahol a víz szerepel nukleofilként. A legnagyobb mennyiségben az **a** polimertípus van jelen a reakcióelegyben. Ezt az eliminációs reakciót elsőként sikerült megfigyelnem, és elsőként állítottam elő ilyen dién-enoléter típusú poliszacharidot.

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 tömegspektrumban mindhárom sorozat oligomerjei $m/z \sim 5000$ -ig (kb. 30 ismétlődő egységből álló vegyületig) azonosíthatóak.

Az **a** sorozatból oszlopkromatográfiás tisztítással sikerült izolálnom a diszacharidot (**a**: $n = 0$) és a triszacharidot (**a**: $n = 1$). A diszacharid NMR spektrumai alapján megállapítottam, hogy a molekula interglikozidos kötése α helyzetű.

III.1.3 A polimer dezacetilezése

A Ferrier-reakció során képződött acetoxi-poliszacharidokat metanolban K_2CO_3 -tal dezacetileztem.

A keletkezett poliszacharid interglikozidos kötése $\alpha(1\rightarrow4)$ helyzetűek, ezért a dezacetilezett polimersorozatok (**a**, **b** és **c** dezacetilezésének termékei) 2,3-didezoxi-2,3-didehidrokeményítőknak és –glikogéneknek tekinthetőek. Kimutattam, hogy a dezacetilezett polimerkeverék a humán nyál-amiláz enzim gyenge kompetitív inhibitora.

III.2 Az 1,6-ditio-D-mannitol oxidatív polikondenzációja

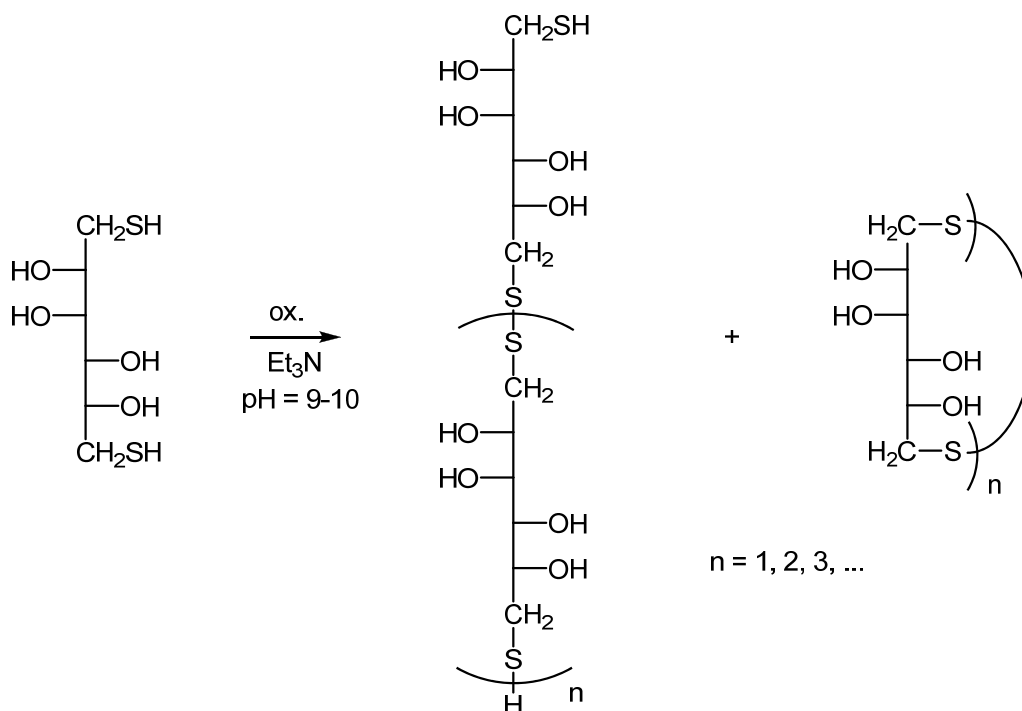
III.2.1 A monomer szintézise

A monomer előállításához kiindulási anyagként az 1,6-dibróm-1,6-didezoxi-D-mannitolt használtam. Megállapítottam, hogy a vegyületet nátrium-hidrid jelenlétében trifetilmetántiollal reagáltatva, majd a trifetilmetil-csoportokat diklórmétánban trifluor-ecetsavval, trietil-szilán jelenlétében eltávolítva az 1,6-ditio-D-mannitol előállítható.

III.2.2 Az 1,6-ditio-D-mannitol polikondenzációja

Arra a következtetésre jutottam, hogy az 1,6-ditio-D-mannitol oxidatív polikondenzációja a levegő oxigénje és trietilamin bázis jelenlétében, kb. 9-10-es pH-jú oldatban megy végbe.

A keletkezett oligomereket MALDI-TOF MS módszerrel vizsgálva bebizonyítottam, hogy a reakció során nyíltláncú és gyűrűs oligomerek is keletkeznek (**2. képletábra**). A reakcióelegyek MALDI-TOF tömegspektrumai alapján kiszámoltam a gyűrűs és a nyíltláncú forma arányát.



2. képletábra

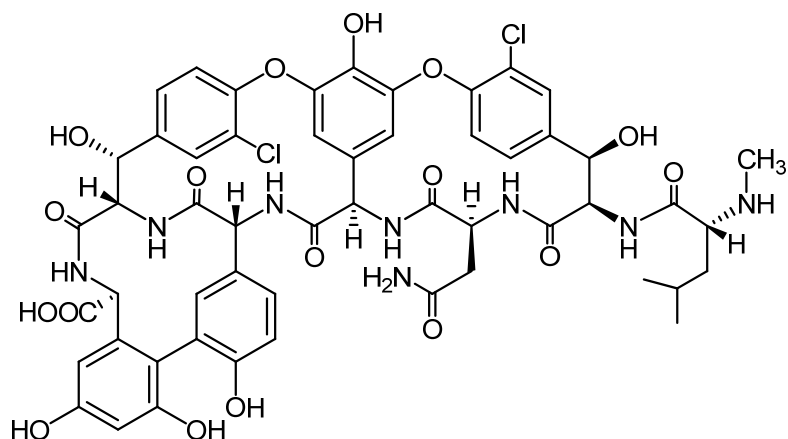
Az 1,6-ditio-D-mannit oxidatív polikondenzációja.

Megállapítottam, hogy az oldószer minőségével befolyásolni lehet a gyűrűs és a nyíltláncú forma keletkezését. Míg pl. DMF-ben és deszt. vízben a gyűrűs oligomerek keletkeztek nagyobb mennyiségben (~ 90 %-ban), addig metanolban és dioxánban a nyíltláncú forma volt túlsúlyban. Kimutattam, hogy a koncentráció növelésével csökken a gyűrűs oligomerek aránya a nyíltláncúakhoz képest.

Bebizonyítottam, hogy az oligomerizáció semleges közegben, enyhe körülmények között is véghezvihető, DMSO jelenlétében. A reakció során 85-90 %-ban gyűrűs oligomerek keletkeztek.

III.2.3 A templáteffektus tanulmányozása

A polikondenzációs reakciót templátmolekula alkalmazása mellett is megvizsgáltam. Vizes oldatban templátként vankomicin aglikont (**3. képletábra**) használtam. Azt tapasztaltam, hogy míg vizes oldatban, templát jelenléte nélkül gyűrűs oligomerek keletkeznek, addig a vankomicin aglikon jelenlétében a nyíltláncú forma keletkezése kedvezményezett.



3. képletábra

Vancomicin aglikon

A vancomicin 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 vancomicin aglikont tartalmazó oldat ESI-TOF tömegspektrumában megtalálhatóak a képződő aglikon-oligomer molekulakomplexek jelenlétére utaló csúcsok.

UV-VIS spektrofotometriás módszerrel megállapítottam, hogy a vancomicin aglikon oldhatóságát vízben a nyíltláncú oligomereket tartalmazó oldat növelte meg a legjobban.

III.2.4 A tetraetilénglikol és a polietilénglikol ditio-származékának oxidációja

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 nyíltláncú oligomerek keletkeztek. α,ω -Ditio-polietilénglikolok oxidációjakor azt tapasztaltam, hogy nagyobb, mint 90 %-ban gyűrűs makromonomer molekulák keletkeztek.

V. Az előállított vegyületek alkalmazhatósága

A 3,6-di-*O*-acetyl-D-glucal polikondenzációs reakciójával keményítőanalóg oligoszacharidokat sikerült előállítani, melyek monomeregységei kettőskötéseket tartalmaznak. A 2-es típusú cukorbetegségben szenvedő betegeket orális antidiabetikummal is kezelik. Ilyen gyógyszer az Akarbóz® is, amely egy pszeudotetraszacharid. A molekula hatása azon alapszik, hogy gátolja az α -glikozidáz enzimek működését. Az akarbóz karbocukor egysége tartalmaz egy kettőskötést, ami utánozza a keményítő hidrolízisekor a glükóz egységek által felvett konformációt. A 3,6-di-*O*-acetyl-D-glucal polikondenzációjával szintetizált oligoszacharidkeverék monomeregységei szintén tartalmaznak kettőskötéseket, ezért megvizsgáltam a dezacetilezett termék inhibitortulajdonságát néhány különböző típusú amiláz enzimen. Bebizonyosodott, hogy az oligomerkeverék a humán nyálamiláz enzim gyenge kompetitív inhibitora.

A kettőskötések átalakításával más típusú keményítőanalógokat is elő lehet állítani, pl. dezoxiamino-poliszacharidokat.

Az 1,6-dithio-D-mannitol polikondenzációjával keletkező polidiszulfidok a diszulfidkötés reverzibilitásának köszönhetően reverzibilisen felépíthető és lebontható vegyületek. A diszulfidkötés biológiailag is lebontható kötés, ezért a diszulfidkötéseket tartalmazó polimerek alkalmasak lehetnek gyógyszermolekulák molekuláris kapszulázására. A kötés stabilis marad a sejtközi térben levő oxidatív körülmények között, a sejtek belsejében viszont (a citoszolban) a redukzív körülmények miatt a diszulfidkötés felbomlik. 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 gyűrűs PEG-diszulfidok szintén alkalmasak lehetnek molekuláris kapszulázásra. A poliéter szerkezetük miatt könnyen szolvatálódnak, és hidrogénkötések kialakítására képes molekulákkal asszociátumokat képesek létrehozni.

VI. Tudományos közlemények és konferenciárészvételek

VI.1 Az értekezés témájában megjelent közlemények

1. S. Kéki, Gy. Batta, I. Berczki, 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. Berczki, 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. Berczki I., Kéki S., Herczegh P., Zsuga M.: Szénhidrát polimerek, *Műanyag és Gumi*, 2008, **45(1)**, 10-14.

VI.2 Az értekezés témájában elhangzott előadások

1. Berczki 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. Berczki 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. Berczki, 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. Berczki I.: Szénhidrát tartalmú polimerek szintézise, **MTA Anyagtudományi és Technológiai Komplex Bizottság, MTA Műanyag Munkabizottság, MTA Polimer Munkabizottság, Doktoranduszok fóruma, Debrecen (2006. április 4.)**

5. Bereczki 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.)**

VI.2 Az értekezés témájában bemutatott poszter

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

VIII. 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.

I. Introduction

In the last few decades attention is increasingly focused on renewable materials due to the growing importance of environmental protection and the more and more expensive crude oil. In nature, carbohydrates can be found in large quantities and in various forms. Carbohydrates have numerous functions in organisms, such as frameworks in cell walls (cellulose, chitin), constituents of bacterial cell walls (peptidoglycans), reserve nutrients (starch, glycogen), and they are suitable for transportation of information (glycoconjugates). Although monosaccharides are also important materials, predominantly glycosides, oligo- and polysaccharides have leading roles in biochemical processes.

Synthesis of polymers based on carbohydrates have re-emerged as an interesting topic in polymer chemistry. However, multi-step synthesis of carbohydrate polymers have made their use as commodity plastics uneconomical, and currently their applications are restricted to biomedical fields. Nature-derived monosaccharides, disaccharides, oligosaccharides and polysaccharides can serve as raw materials for the production of various carbohydrate-based polymers.

The use of natural and artificial polysaccharides is extensive. Starch is used for starching in textile industry, or as an additive in pharmaceutical industry. Another auxiliary material is the sodium salt of the carboxymethyl starch too. Carboxymethyl cellulose and sodium carboxymethyl cellulose are known as the E-466 emulsifiers, and carboxymethyl-cellulose is used as wallpaper paste too. Hyaluronan is a natural glycopolymer that acts as a lubricant in joints, and it can be used for the production of plastic intra-ocular lenses. Cyclodextrines are utilized extensively in food industry and cosmetology. Cyclodextrines are also used in pharmaceutical industry for molecular encapsulation of drugs with low water solubility.

In the past years 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 of 3,6-di-*O*-acetyl-D-glucal has never been studied, and this

method has never been used for polysaccharide synthesis. This method can be considered a really new polysaccharide synthesis in addition to the ring-opening polymerization of anhydrosugars.

In the second part of my PhD work I dealt 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.

II. Investigation and synthetic methods

The preparation of the monomers and the polycondensation reactions were carried out under laboratory circumstances. The crude products were purified by column chromatography. To identify the products thin layer chromatography and ESI-TOF MS measurements were used. For the characterisation of the compounds optical rotation and melting point determinations, ^1H NMR and ^{13}C NMR measurements were made. The thin layer chromatograms were detected by sprinkling with 7 % ammonium molybdenate solution in 0,5 M sulfuric acid and subsequent heating.

For the Ferrier reaction the monomer solution was dried with 3Å molecule sieves. The progress of the reactions were followed by thin layer chromatography. The produced oligomers were detected with MALDI-TOF MS, ESI-TOF MS, GPC and DOSY NMR methods. For the characterization of the oligomers ^1H , ^{13}C and HSQC NMR spectroscopy was applied.

The oligomers produced in the oxidative polycondensation reaction were investigated with MALDI-TOF MS, ESI-TOF MS, ^1H and ^{13}C NMR methods.

III. New scientific results

III. 1 Polycondensation of 3,6-di-*O*-acetyl-D-glucal

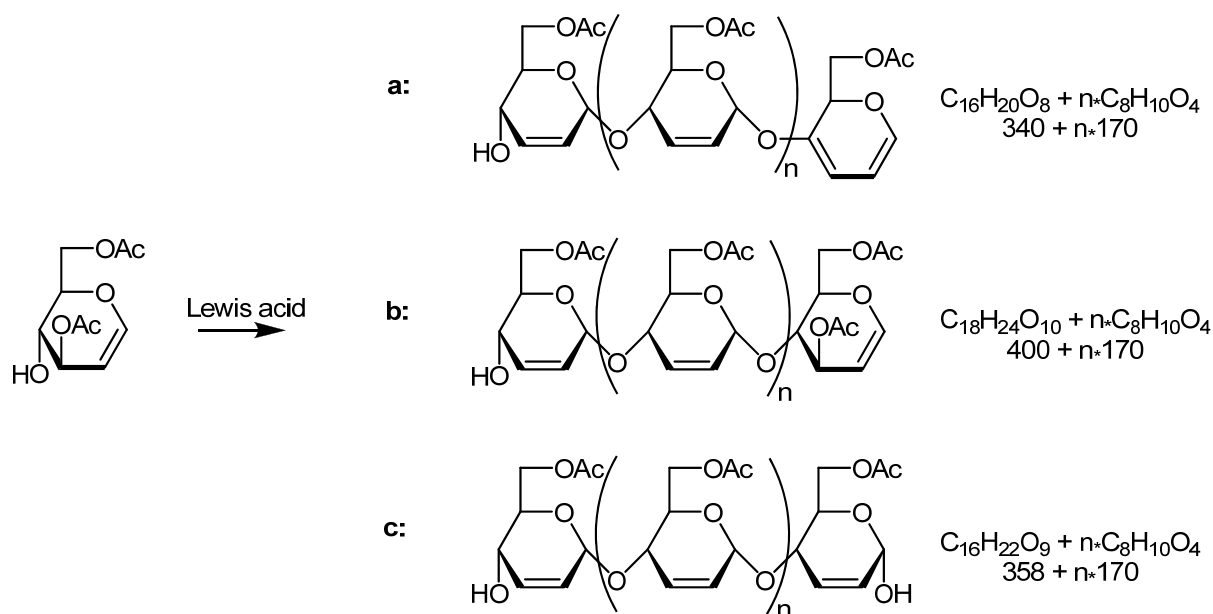
III.1.1 Preparation of 3,6-di-*O*-acetyl-D-glucal

It was found that 3,6-di-*O*-acetyl-D-glucal could be prepared by the deacetylation of tri-*O*-acetyl-D-glucal with K_2CO_3 in methanol and subsequent partial acetylation of the produced D-glucal. It was established that the partial acetylation could be performed with bulky activated esters, like *N*-acetoxy-benzotriazole.

III.1.2 Polycondensation of 3,6-di-*O*-acetyl-D-glucal

I was the first to prepare oligo- and polysaccharides by the polycondensation of 3,6-di-*O*-acetyl-D-glucal. I used the Ferrier rearrangement reaction for the synthesis (**Scheme 1**).

It was determined that the ZnX-type zeolite and anhydrous $ZnCl_2$ 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 $ZnCl_2$. The MALDI-TOF mass spectrum of the oligomers produced in the reaction catalyzed with zinc chloride shows three different series of peaks (**Scheme 1: a, b and c**). The original products of the Ferrier reaction are the oligomers marked with **b**.



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 **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 glycol 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 were 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.

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.

III.1.3 Deacetylation of the polymer

The acetoxy polysaccharides produced in the Ferrier reaction were deacetylated in methanol with K_2CO_3 .

The synthesized polysaccharide has $\alpha(1\rightarrow4)$ interglycosidic bonds, therefore the deacetylated polymer series can be considered 2,3-dideoxy-2,3-didehydro starch, or glycogen. The deacetylated polymer proved to be a semicompetitive inhibitor of the human salivary amylase enzyme.

III.2 Oxidative polycondensation of 1,6-dithio-D-mannitol

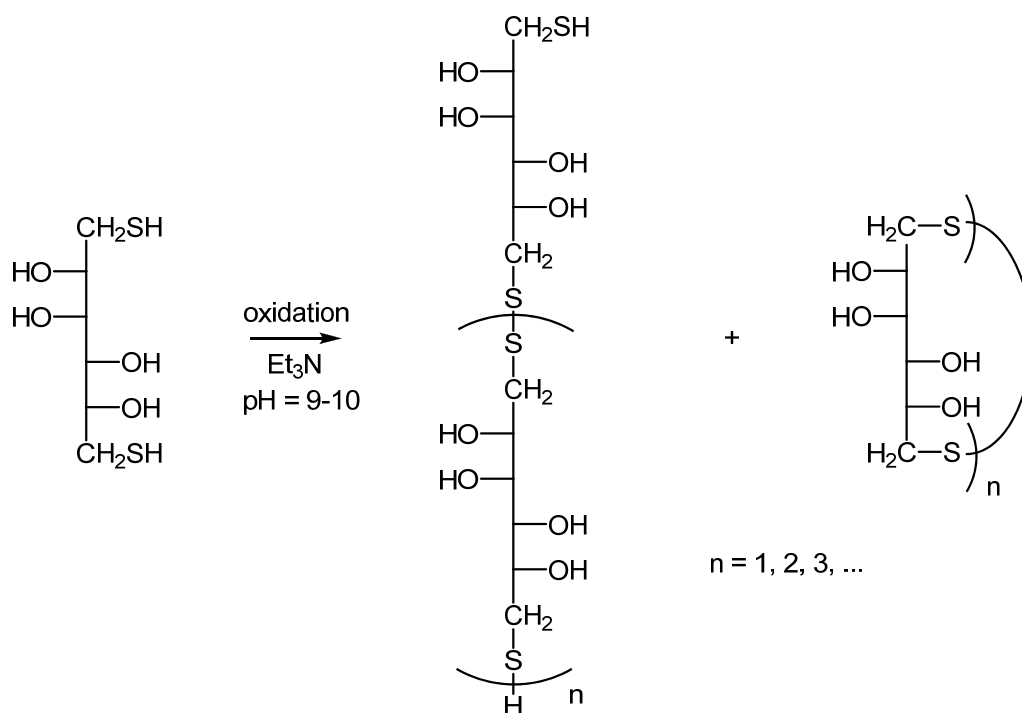
III.2.1 Synthesis of the monomer

1,6-Dithio-D-mannitol was prepared from 1,6-dibromo-1,6-dideoxy-D-mannitol. For the synthesis of the monomer 1,6-dibromo-D-mannitol was treated with triphenylmethanethiol in the presence of sodium hydride. The triphenylmethyl groups were removed with trifluoroacetic acid in dichloromethane in the presence of triethylsilane, and 1,6-dithio-D-mannitol was obtained.

III.2.2 Polycondensation of the 1,6-dithio-D-mannitol

I came to the conclusion that the oxidative polycondensation of 1,6-dithio-D-mannitol proceeded using air as oxidant in the presence of triethylamine base (pH ~ 9-10).

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 (**Scheme 2**).



Scheme 2

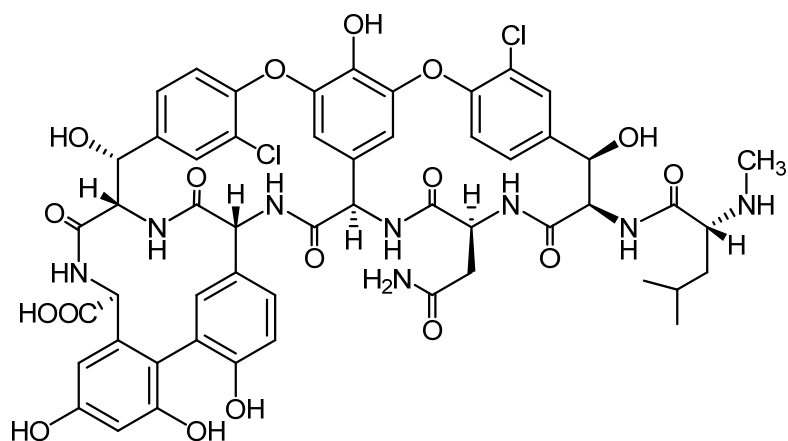
The oxidative polycondensation of the 1,6-dithio-D-mannitol.

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. It was demonstrated that the ratio of the cyclic oligomers decreased with the increase of the concentration.

It was proved that the oligomerization could be carried out under neutral and mild conditions in the presence of DMSO. In the reaction cyclic oligomers were formed in a ratio of 85-90%.

III.2.3 Investigation of the template effect

The polycondensation reaction was also investigated in the presence of a template. In water the vancomycin aglycon (**Scheme 3**) was used as a template. In the presence of the aglycon 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.

III.2.4 Oxidation of the dithio derivatives of tetraethylene glycol and polyethylene glycols

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. It was found that 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, it was experienced that macrocyclic monomers were formed in more than 90 %.

IV. The application of the prepared compounds

With the polycondensation reaction of 3,6-di-*O*-acetyl-D-glucal I managed to prepare polysaccharides analogous to starch. These polysaccharides have unsaturated monomers containing double bonds. Diabetic patients are treated with oral antidiabetics too, such as acarbose, which is a pseudotetrasaccharide. The effect of this molecule is based on its α -amylase enzyme inhibitor property. 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 the inhibitory effect of the deacetylated oligomer mixture was investigated on some kinds of amylase enzymes. It proved to be a weak competitive inhibitor of the human salivary amylase.

Other starch-type polysaccharides (e.g. aminodeoxy polysaccharides) can be prepared by the conversion of the double bonds.

The polydisulphides formed in the polycondensation reaction of 1,6-dithio-D-mannitol are reversible polymers due to the reversible disulphide bonds. The disulphide linkage is biodegradable, therefore the polymers containing disulphide bonds can be suitable for molecular packing of drug molecules. The bond remains stable under oxidative conditions in the intercellular space, on the other hand in the cytosol the disulphide bond breaks up because of the reductive circumstances. This phenomenon can be well-applicable to the molecular encapsulation of drug molecules, because the packed agent can reach the cell surface uninjured, then after getting into the cell the packing disintegrates and the agent is released.

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.

VI. Scientific publications and lectures

VI.1 Publications related to the subject of the dissertation

1. S. Kéki, Gy. Batta, I. Bereczki, 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. Bereczki, 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. Bereczki I., Kéki S., Herczegh P., Zsuga M.: Szénhidrát polimerek, *Műanyag és Gumi*, 2008, **45(1)**, 10-14.

VI.2 Lectures related to the subject of the dissertation

1. Bereczki 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. Bereczki 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. Bereczki, 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. Bereczki I.: Szénhidrát tartalmú polimerek szintézise, **MTA Anyagtudományi és Technológiai Komplex Bizottság, MTA Műanyag Munkabizottság, MTA Polimer Munkabizottság, Doktoranduszok fóruma, Debrecen (2006. április 4.)**

5. Bereczki 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.)**

VI.2 Poster related to the subject of the dissertation

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

VIII. Other poster

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

This poster was appointed to the first place in the student-poster section competition from the Hungarian Chemical Society.