



A *Shigella sonnei* lipopoliszacharidja O-specifikus szénhidrátlánca ismétlődő egységének szintézise

doktori (PhD) értekezés

Medgyes Adél

Témavezető: Prof. Dr. Lipták András

Debreceni Egyetem, Természettudományi Kar
Debrecen, 2004

Ezen értekezést a KLTE kémia doktori program K/5 alprogramja keretében készítettem és ezúton benyújtom a KLTE doktori Ph.D. fokozatának elnyerése céljából.

Debrecen, 2004, december

..... Medgyes Adél

Tanúsítom, hogy Medgyes Adél doktorjelölt 1993-2004 között a fent megnevezett doktori alprogram keretében irányításommal végezte munkáját. Az értekezésekben foglaltak a jelölt önálló munkáján alapulnak, az eredményekhez az önálló alkotó tevékenységével meghatározóan hozzájárult. Az értekezés elfogadását javaslom.

Debrecen, 2004, december

..... Prof. Dr. Lipták András

Tartalomjegyzék

1. Bevezető	7
2. Irodalmi áttekintés	8
2.1. Vakcinák, sejtfelszíni poliszacharidok	8
2.1.1. Történelmi áttekintés	8
2.1.2. Immunogenitás	9
2.1.3. Lipopoliszacharidok	10
2.2. Oligoszacharidok szintézise	12
2.2.1. Oligoszacharidok szintézisének általános vonásai	12
2.2.2. Oligoszacharidok szintézisének alkalmazott stratégiák	15
2.2.3. 2-N-védőcsoportok	18
2.2.4. 2-amino-2-dezoxi-cukrok glikozidjainak szintézisében használt glikozil-donorok	20
2.2.5. Szintézisek glikozil-halogenidekből (Koenigs-Knorr reakciók)	23
2.2.6. Szintézisek tioglikozidokból	24
2.2.7. Az imidát módszer	25
3. Saját vizsgálatok	28
3.1. A <i>Shigella sonnei</i> O-specifikus poliszacharidja ismétlődő egységének szintézise	28
3.1.1. Irodalmi előzmények, célkitűzés	28
3.1.2. A <i>Shigella sonnei</i> LPS ismétlődő egységének szerkezete	29
3.1.3. A 2-acetamido-4-amino-2,4,6-tridezoxi-D-galaktóz egység előállítása .	29
3.1.4. A tetraklórftálimido származékok előállítása	34
3.1.5. A diszacharidok szintézise	38
3.1.6. Az I szekvencia szintézise	40
3.1.7. A II szekvencia szintézise	44
3.1.8. A diasztereomér glikozidok szintézise	49
3.1.9. Immunológiai vizsgálatok	51
4. Kísérleti rész	53

5. Összefoglalás	71
5.1. Irodalmi előzmények, célkitűzés	71
6. Summary	74
7. Közlemények jegyzéke	80
8. Köszönetnyilvánítás	82

Rövidítések jegyzéke

AIBN	azo-bisz-izobutironitril
Ac	acetyl
AgOTf	ezüst(I)-trifluormetán-szulfonát
bs	kiszélesedett szinglett
Bu	butil
Bzl	benzil
CA	klóracetyl
d	dublett
DBMP	2,6-di- <i>terc</i> -butil-4-metilpiridin
DDQ	2,3-dikloro-5,6-diciano-1,4-benzokinon
DMF	N,N-dimetil-formamid
δ	kémiai eltolódás
Et	etyl
IDCP	jodónium-di-(<i>szim</i> -kollidin-perklorát)
Ip	izopropilidén
IR	infravörös
LTMP	litium-tetrametilpiperidin
m	multipllett
Me	metil
MTBD	7-metil-1,5,7-triazabiciklo[4.4.0]dec-5-én
MP	<i>p</i> -metoxy-fenil
NBS	N-bróm-borostyánkősav-imid
NIS	N-jód-borostyánkősav-imid
NMR	mágneses magrezonancia
Ph	fenil
Phth	ftaloil
q	kvadruplett
s	szinglett
t	triplett
TBDPS	<i>terc</i> -butil-difenilszilil
TBDMS	<i>terc</i> -butil-dimetilszilil
TCP	tetraklórfaloil
TEMPO	2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi
THF	tetrahidrofurán
Tf	trifluor-metánszulfonil
TfOH	trifluor-metánszulfonsav
TMSOTf	trimetilszilil-trifluor-metánszulfonát
Ts	4-toluolszulfonil
UV	ultraibolya

1. Bevezető

Napjainkban a szénhidrátok biológiai szerepének felismerése a szénhidrátkémia páratlan fejlődését vonta maga után. Míg korábban a szénhidrátokat kizárólag tartaléktápanyagként tartották számon, újabban a modern műszeres technikák, elsősorban az NMR és tömegspektroszkópia fejlődése révén tudjuk, hogy a szénhidrátok (oligo- és poliszacharidok) akár szabadon, akár pedig proteinekkel és lipidekkel alkotott konjugátok formájában (glikoproteinek, proteoglikánok és glikolipidek), fontos biológiai szerepet töltenek be. Legfontosabb a biológiai felismerési folyamatokban játszott szerepük. E molekulák oligoszacharid láncai általában a sejtmembrán felületén helyezkednek el, ezáltal kitüntetett szerepük van a sejtek külvilággal történő és a sejtek közötti kommunikációban. Például szénhidrátok szerepelhetnek receptorként vírusok, fehérjék, hormonok kötődésében, oligoszacharid egységek felelősek immunológiai reakciókért vagy mikroorganizmusok gazdasejtekhez való kapcsolódásáért. E terület fejlődése a szénhidrátkémián belül főleg az oligoszacharidok szintézisére szolgáló módszerek fejlődését vonta maga után. Így új védőcsoport stratégiák és újabbnál újabb védőcsoportok jelentek meg, újfajta sztereospecifikus glikozilezési módszereket dolgoztak ki, tovább fejlődtek a vegyületek izolálására és a szerkezetük igazolására szolgáló módszerek (HPLC, NMR, MS).

Mindezek ellenére nem sikerült oligoszacharidok előállítására általánosan használható védőcsoport stratégiát és glikozilezési módszert kidolgozni. Ez igaznak bizonyult az én esetemben is a *Shigella sonnei* lipopoliszacharidjának O-specifikus szénhidrátlánca ismétlődő egységének előállítása során. Kezdetben viszonylag egyszerű feladatnak tűnt a 4-NH₂-2,4,6td- β -D-GalpNAc-(1 $\rightarrow$ 4)-2d- α -L-AltNAcU és 2d- α -L-AltpNAcU-(1 $\rightarrow$ 3)-4-NH₂-2,4,6td- β -D-GalNAc diszacharidok előállítása, mégis a szintézis közben sok nehézség adódott.

1993-tól kezdve vettem részt a Debreceni Egyetem Biokémiai Tanszékén Prof. Dr. Lipták András irányításával a doktori képzésben. Dolgozatom az ez idő alatt elért eredmények összefoglalása.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. Vakcinák, sejtfelszíni poliszacharidok

2.1.1. Történelmi áttekintés

Az oltóanyagkutatás kezdete a 18. század végére nyúlik vissza, amikor Európa-szerte himlőjárványok szedték áldozataikat. Edward Jenner, egy angol vidéki orvos 1796-ban végezte el híres kísérletét [1], amely azon a megfigyelésen alapult, hogy a tehénfejő asszonyok enyhe fertőzések kivételével a himlőt nem kapták el. Egy nyolcéves fiút nem virulens tehénhimlővel oltott be, majd egy idő után az emberre ártalmas himlő vírussal. Mivel a fiú nem kapta meg a himlőt, bebizonyosodott, hogy a tehénhimlő "megtanítja" az emberi szervezetet a himlővel szembeni viselkedésre. Ez a kísérlet bizonyítja azt is, hogy a fertőző mikroorganizmusok gazdaspecifikusak, az emberben betegséget okozó mikroorganizmusok általában állatokra nem veszélyesek és ugyanez fordítva is igaz. Az oltóanyag kutatás következő jelentős állomása 1881-ben Pasteur kísérlete volt, aki 31 kísérleti állatot fertőzött meg erősen gyengített antrax bacilussal, majd 12 nap múlva az állatokat újra beoltotta az antrax bacillus az előzőkhöz képest kevésbé gyengített változatával. A kísérleti állatok közül csak egy nem maradt életben, míg a huszonnyolc kontroll állat mind elpusztult. Pasteur úttörő kísérlete, mely kimutatta, hogy az immunoprofilaxis kiváltható a fertőző mikroorganizmus gyengített változatával máig is az oltóanyagkutatás legfontosabb felfedezései közé tartozik és módszerét Jenner tiszteletére vakcinálásnak nevezte el (vacca latin szó, jelentése tehén).

Napjainkban mintegy harminc oltóanyag van orvosi gyakorlatban virális és bakteriális fertőzések megelőzésére [2]. Az oltóanyagokat az emlős szervezet testidegen anyagként ismeri fel, ellenük antitesteket hoz létre melyek kémiai szerkezetüket tekintve általában glikoproteinek. Az oltóanyagok közös jellemzője, hogy az általuk létrehozott antitestek közül azok amelyek fertőzéssel szemben védelmet biztosítanak, a mikroorganizmusok felületén lévő kis számú protein vagy szénhidrát szerkezetekre irányulnak. Az oltóanyagban található antigének nem mindenike váltja ki a szervezet védekező mechanizmusát, némelyik éppen a kívánt eredmény ellen hat (immunszurpresszió) vagy egyéb nem kívánatos következményeket okozhat (pl. túlérzékenység).

A védettség kialakításához nem szükséges magát a korokozót használni, sőt ez sok esetben nem is kívánatos, elég ha a mikroorganizmus felületén található anyagok közül csak a védettség létrehozásához szükséges vegyületet használjuk az oltóanyag aktív alkotórészeként.

Az 1920-as években bebizonyosodott, hogy a pneumococcus baktériumoknál izolált tokanyag poliszacharidok nem toxikus anyagok és felnőttekben immunogének [3, 4]. Később az 1940-es években kiderítették, hogy a tokanyag poliszacharidok védelmet biztosítanak emberben a homológ baktériumokkal szemben. A baktériumokkal szembeni védettség szerotípus specifikus és mivel a szerotípust a poliszacharid szerkezete definiálja a védettség tokanyag-poliszacharid specifikus. Az első humán, gyakorlatban használt pneumococcus vakcina 1946-ban került piacra és a hat legvirulensebb szerotípus tokanyag poliszacharidját tartalmazta.

A vakcinakutatás ezen időszakában kezdtek elterjedni az antibiotikumok és a szulfonamidok, amelyek sikere a gyógyászatban háttérbe szorította a megelőzésre irányuló kutatásokat. Az oltóanyagkutatás az 1960-as években került ismét az érdeklődés középpontjába, amikor kiderült, hogy a mikroorganizmusok rezisztenciát alakíthatnak ki az antibiotikumokkal szemben. A kutatások felélesztése rendkívül sikeresnek bizonyult. 1978-ban bevezettek egy 14 komponensű vakcinát pneumococcus okozta fertőzések megelőzésére, amit rövidesen követtek a ma forgalomban lévő készítmények, Pneumovax 23 (Merck, Sharp & Doehme), Pnu-Immune 23 (Lederle-Praxis), melyek a huszonhárom leggyakoribb és legveszélyesebb pneumococcus tokanyag poliszacharidját tartalmazzák és felnőttekben kb. 90% -os védettséget biztosítanak az összes pneumococcus fertőzéssel szemben. A pneumococcus-vakcinákon kívül jelenleg a *Haemophilus influenzae* b típus, *Neisseria meningitidis* A,C, W-135, Y típusok és a *Salmonella typhi* ellen van forgalomban poliszacharidot tartalmazó oltóanyag.

2.1.2. Immunogenitás

Kifejlett immunrendszerű egyénekben a poliszacharidok a B-limfocitákkal való közvetlen kölcsönhatás révén indukálnak immunválaszt [5]. A pneumococcusból izolált és tisztított tokanyag poliszacharidokkal létrehozott antitestek felnőttekben nyolc éven át is védettséget biztosítanak, de a vakcina ismételt alkalmazása nem jelent az előzőhöz képest fokozottabb antitest képződést. Két évnél fiatalabb csecsemőknél a B-sejtek még nem elég fejlettek a nem protein típusú anyagok elleni immunválasz kialakítására. Ezt bizonyítják a *Haemophilus influenzae* b elleni vakcinaprogram során észlelt megfigyelések is. E fertőzés csecsemőkben és kisgyermekekben agyhártyagyulladást okoz, a betegség ritkán fordul elő kéthónaposnál fiatalabb csecsemőkben, a megbetegedés gyakorisága háromhónapos kortól kezdve fokozódik, tíz hónapos korban tetőződik, majd fokozatosan csökken. A fertőzés gyakorisága összefüggésben van a véráramban lévő immunoglobulin G (IgG) antitestek mennyiségével. A csecsemő az anyától örökölt védő IgG antitestjeinek szintje háromhónapos korra a védő-

képesség biztosításához szükséges kritikus érték alá csökken. Saját védettség csak kb. 10 hónapos kor elérése után alakul ki. Robbins és munkatársai a hetvenes években feltételezték, hogy a vér IgG antitestjei mennyiségének aktív immunizációval való növelése e súlyos gyermek betegség megelőzéséhez vezetne [6], a tisztított poliszacharidok azonban csecsemőkben nem immunogének.

A század elején végzett kutatások nyomán tudjuk, hogy haptének immunogén proteinekhez való kovalens kapcsolásával immunválasz váltható ki [7].

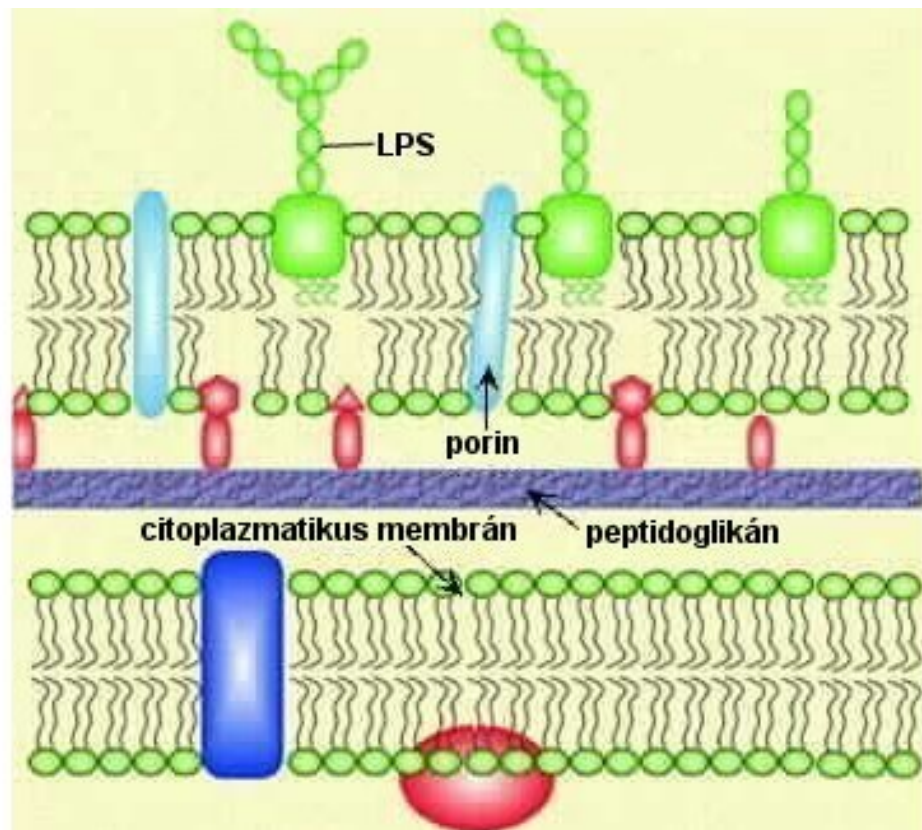
A konjugátokat a haptén specifikus B-sejtek átalakítják és közvetítik a hordozó protein-specifikus T segítő sejtekhez. A B és T sejtek kooperatív kölcsönhatása eredményeképpen keletkeznek a poliszacharid-specifikus antitestek. E folyamat során a B sejtekben immunológiai emlékezet alakul ki, ami a konjugáttal való ismételt találkozás során az előzőkhöz képest fokozott mennyiségű antitest termelését eredményez (booster effect). Poliszacharidok T-sejt függő immunogénné való alakításához a poliszacharid és a hordozó protein között stabil kovalens kötés létrehozása szükséges [2].

A *Haemophilus influenza b* elleni első konjugált vakcinát 1987-ben vezették be, ezt követte 1990-ben a második generációs változat. Ez utóbbi már kéthónapos kortól képes a védettséget biztosító poliszacharid-specifikus antitestek indukálására.

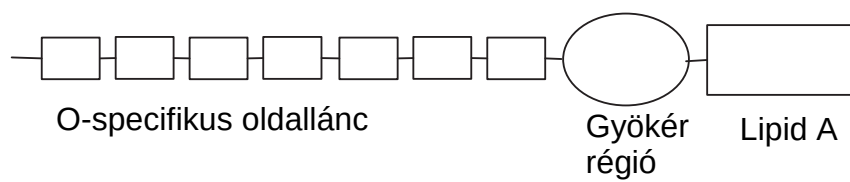
2.1.3. Lipopoliszacharidok

Az emésztőrendszer betegségeit okozó Gram-negatív baktériumokban a citoplazmatikus membránt és a peptidoglikán réteget egy külső membrán veszi körül amelyet komplex lipopoliszacharidok (LPS), proteinek és foszfolipidek alkotnak (1. ábra). A lipopoliszacharidok három, egymástól funkcionálisan és szerkezetiileg jól elkülöníthető szerkezeti egységből épülnek fel (2. ábra) [8, 9]. A legbelső szerkezeti egység a Lipid A, melynek legfontosabb építőelemei a hidroxil és nem-hidroxil zsírsavak, ehhez kapcsolódik egy oligoszacharidból álló konzervatív egység melyet ritkán előforduló monoszacharidok heptózok, Kdo (3-dezoxi-D-manno-okt-2-ulopiranozon sav) alkotnak. Az LPS külső részét az O-specifikus poliszacharid alkotja, ezek a poliszacharidok szabályos szerkezetű periódikus polimérek (5-40 ismétlődő egység), melyekben az ismétlődő egység 1-7 monoszacharidot tartalmaz. Az O-specifikus poliszacharid változatossága oly mértékű, hogy ez az egység önmagában kifejezi a baktérium szerotípusát.

Az LPS-ok vagy más néven endotoxinok erősen mérgező anyagok, toxicitásuk a Lipid A egység eltávolításával megszüntethető. Az O-specifikus poliszacharidok nem toxikusak,



1. ábra. A Gram-negatív baktériumok sejtfalának szerkezete



2. ábra. A lipopoliszacharidok felépítése

kis molekulásúlyuk miatt emberben nem immunogének, viszont proteinekhez való kovalens kapcsolással immunogénné alakíthatóak. Kísérleti vizsgálatok kimutatták, hogy a *Shigella*, *Salmonella*, *Escherichia coli* és *Vibrio cholerae* baktériumok által okozott emésztőrendszeri fertőzések megelőzhetők a megfelelő baktériumból izolált O-specifikus poliszacharidot tartalmazó konjugált vakcinákkal [10]. Bár a vakcinák hatékonysága bizonyított a kívánt immunogenitás szerkezeti feltételei csak részben ismertek. Különös figyelmet érdemel, hogy a baktériumok tenyésztésére alkalmazott fermentációs folyamat során lehetséges a biológiai szennyeződés veszélye (bakteriális, virális vagy prionokkal történő fertőzés). További nehézséget okoz a baktériumból izolált poliszacharidok tisztítása (elsősorban a toxikus Lipid A-val történő szennyeződés elkerülése), kémiai és fizikai jellemzése, valamint immunológiai standardizálása. Ezeknek a problémáknak a nagy része kiküszöölhető lenne kémiaiilag definiált szerkezetű oltóanyagokkal.

2.2. Oligoszacharidok szintézise

A glikokonjugátumokról szerzett ismeretek sokaságát jelzi a napjainkban önállósuló új tudományág, a glikobiológia. E tudományterületen szerzett ismeretek alapján nyilvánvalóvá vált a szénhidrátok kulcsfontosságú szerepe a biológiai folyamatokban [11–13] és ennek nyomán az oligoszacharidok szintézise ma a szénhidrátkémia legintenzívebben fejlődő ága. Mégis a terület bonyolultságára utal, hogy míg a fehérjék és nukleinsavak szintézise ma már automatákkal megvalósítható, az intenzív kutatómunka ellenére az oligoszacharidok előállítására még nem áll rendelkezésre általánosan használható módszer. Az oligoszacharid-szintézis nehézségei a szénhidrátok szerkezetéből adódnak: például egy aminosav esetében az oligomer lánc felépülése szempontjából két funkciós csoportot kell figyelembe venni, ezzel szemben például egy hexopiranoz öt funkciós csoporttal rendelkezik és tekintettel kell lenni az új glikozidos kötés konfigurációjára is [14].

2.2.1. Oligoszacharidok szintézisének általános vonásai

Az oligoszacharidok szintézise két vagy több polifunkciós molekula glikozidos kötéssel történő összekapcsolása úgy, hogy a gyűrű mérete, a kapcsolódás helye és az interglikozidos kötés konfigurációja megegyezzek a kívánttal. Ahhoz, hogy a megfelelő szerkezetű oligoszacharidot nyerjük, a következő regio- és sztereoszelektivitási követelményeknek kell eleget tenni:

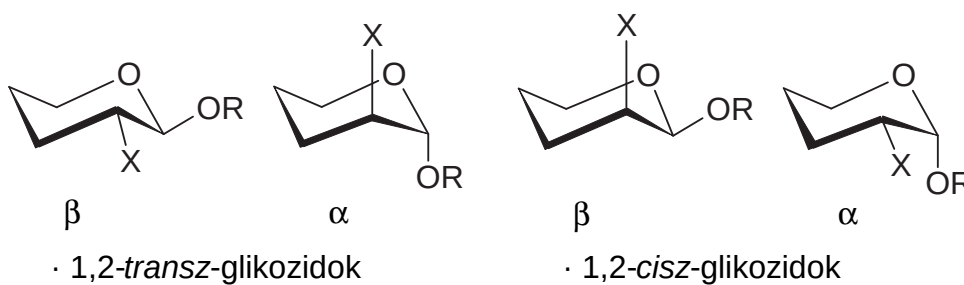
- olyan glikozil akceptor előállítása mely lehetőleg csak a glikozilezés helyén tartalmaz

szabad hidroxilt, egyéb hidroxilcsoportjai megfelelő védőcsoportokkal blokkolva vannak,

- anomer centrumon aktivált glikozil donor előállítás,
- a glikozil donor és az akceptor lehetőleg sztereoszelektív kapcsolása jó hozammal,
- a szintetizált oligoszacharid védőcsoportjainak eltávolítása úgy, hogy sem az interglikozidos kötések hidrolízise sem azok anomerizációja ne következzen be.

A fenti követelmények közül általában a sztereoszelektív glikozilezés a legnehezebben megvalósítható feladat, különösen fontos ez magasabb tagszámú oligoszacharidok szintézisének, ahol anomerkeveréket adó glikozilezés megoldhatatlan elválasztási problémákhoz vezethet.

A létrehozandó glikozidos kötés konfigurációját alapvetően két tényező befolyásolja: az axiális térállású glikozidok kialakulásának kedvező anomer effektus és a 2-s helyzetű csoportnak (X) a résztvevő (észter típusú) vagy nem résztvevő (éter típusú) jellege. A glikozidos kötés és a szomszédos szén atom szubsztituensének térállása szerint az alábbi főbb glikozid-típusokat különböztetjük meg (3. ábra) [15]:



3. ábra.

- 1,2-*transz*- β -glikozidok
- 1,2-*transz*- α -glikozidok
- 1,2-*cisz*- β -glikozidok
- 1,2-*cisz*- α -glikozidok

Nagyon leegyszerűsítve a problémát, a résztvevő csoportok esetében főleg 1,2-*transz*-glikozidok képződnek, a nem résztvevő csoportok esetében 1,2-*cisz* és 1,2-*transz* glikozidok is képződhetnek.

A glikozilezés eredményességét a fent említetteken kívül még számos tényező befolyásolja:

- a donor és akceptor szerkezete (pl. az anomer leváló csoport jellege és térállása, a donor és az akceptor szubsztituenseinek jellege),
- a donor és az akceptor közötti szterikus kölcsönhatások,
- a promotor típusa,
- az alkalmazott hőmérséklet,
- az alkalmazott oldószer,
- a koncentráció,
- a vízmentes feltételek.

A reakció-partnerek reaktivitása kulcsszerepet játszik a glikozilezések eredményességében [12,16]. Az acilcsoportok (acetil, benzoil), különösen az erős elektronszívó csoportok (triklór-acetil) csökkentik, az elektronküldő étercsoportok (benzil, allil) növelik a reaktivitást. Az étercsoportokhoz hasonló a glikozil szubsztituensek hatása is és igen erős a dezoxi csoportok ilyen effektusa. Az akceptor reaktivitását illetően megállapították, hogy a primer hidroxilok nagyobb reaktivitást mutatnak mint a szekunderek, a szekunder hidroxilok reaktivitásában is van különbség (pl. a glükopiranoznál a hidroxilok reaktivitási sorrendje 6-OH $\gg$ 3-OH>2-OH>4-OH), de ez csak ritkán elég nagy ahhoz, hogy a regioszelektivitás biztosított legyen. Az akceptor molekulában lévő szubsztituensek elektronszívó vagy elektronküldő jellege hasonló módon befolyásolja a glikozilezendő hidroxil reaktivitását mint a glikozil donorokét. Különösen fontos az aglikon hidroxiljával szomszédos csoportok típusa. Meghatározó a glikozilezendő hidroxil axiális és ekvatoriális helyzete is.

Megfelelő védőcsoport stratégia kidolgozása mindig központi kérdés volt az oligoszacharid-szintézis történetében, napjainkban új és egyre hatékonyabb módszerek kidolgozása a cél. A védőcsoportok kiválasztásánál fontos szempont, hogy a glikozilezés körülményei között stabilak, ugyanakkor a glikozidos kötés kialakítása után enyhe körülmények között szelektíven eltávolíthatók legyenek. Az oligoszacharid szintézisekben leggyakrabban alkalmazott védőcsoportok az acetil- és benzoil-észterek, a benzil- és allil-éterek,

gyűrűs acetálok közül a benzilidén- és izopropilidén acetálok. Az utóbbi években a szénhidrátkémiában alkalmazott védőcsoportokkal illetve védőcsoport stratégiákkal foglalkozó kitűnő összefoglaló közlemények jelentek meg [12, 13, 16–23].

Napjainkban di- és oligoszacharidok szintézisére leggyakrabban glikozil-halogenid, tioglikozid és triklór-acetimidát donorokat alkalmaznak. Egyéb glikozil donorok speciális esetekben bizonyultak hasznosnak. A 1. táblázat a napjainkban alkalmazott legfontosabb donorokat foglalja össze [12].

2.2.2. Oligoszacharidok szintézisének alkalmazott stratégiák

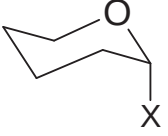
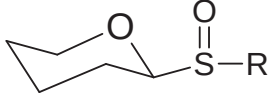
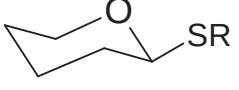
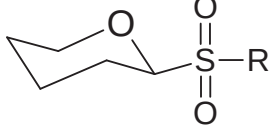
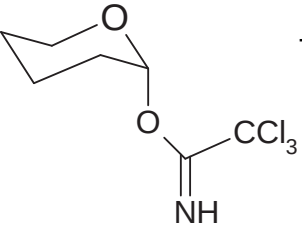
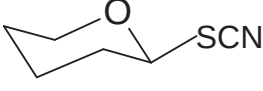
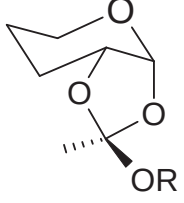
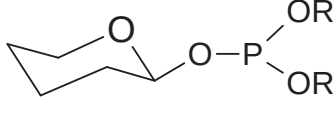
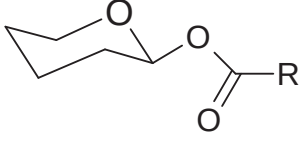
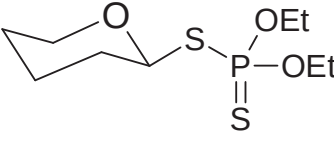
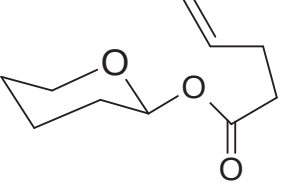
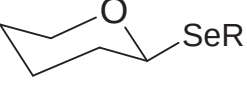
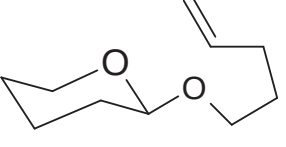
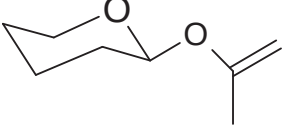
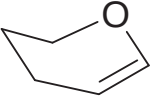
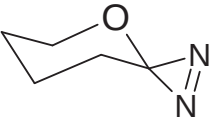
Nagyobb tagszámú oligoszacharidok szintézisére napjainkban új és egyre hatékonyabb stratégiák kerültek kidolgozásra [24].

1. Több szénhidrát egységből álló oligoszacharidok szintézisére két lehetőség kínálkozik: a *lineáris* és a *blokk szintézis*. *Lineáris* (lépésenkénti) oligoszacharid-szintézis [12, 25–27] alkalmazásakor az oligoszacharid lánc növelése egyesével történik, ez a módszer elsősorban ugyanabból a monomerből felépülő, szabályos szerkezetű lineáris oligoszacharidok szintézisében használatos, ahol ugyanaz a glikozil donor ismételten használható. *Blokk szintézis*ről beszélünk amikor [28–30], a kisebb oligoszacharid egységeket, nagyobb molekulákká kapcsolják össze, ez a módszer bonyolultabb szerkezetű molekulák szintézisére alkalmazható, amikor a nehezebben megvalósítható lépéseket kisebb molekulákon végzik el, míg a blokkok összekapcsolására a könnyen végrehajtható, jó sztereoszelektivitást biztosító glikozilezések választhatók.

2. A magasabb tagszámú oligoszacharidok szintézisének az anomer védőcsoport eltávolítása és a távozó csoport felvitele jelentősen csökkenti a glikozilezés hozamát, ezért olyan stratégiákat dolgoztak ki, amelyekben az egyik típusú anomer távozó csoport stabil, mialatt a másik típusú anomer távozó csoportot *szelektíven* aktiválják. Lönn és munkatársai dolgozták ki a módszert amellyel bromid donor glikozilezési reakcióba vihető tioglikozid akceptorral, majd az így keletkezett diszacharid tioetil csoportját MeOTf-al aktiválták [31, 32].

A Nicolaou által leírt *kétszintű glikozilezési stratégia* lényege, hogy a tioglikozidok könnyen glikozil fluoriddá alakíthatók és az így nyert glikozil-fluoridot alkalmazzák donorként [33]. A fentiekhez hasonlóan a tioglikozidból nyert szulfoxid donorokat is eredményesen használták [34].

Az *ortogonális stratégia* amelyet Ogawa alkalmazott először a kétszintű glikozilezés továbbfejlesztett változata. Két különböző anomer védőcsoportot használtak, amelyek egyi-

	Glikozil-halogenidek		Glikozil-szulfoxidok
X = F, Cl, Br			
	Tioglikozidok		Glikozil-szulfonok
	Triklór-acetimidátok		Glikozil-tiocianátok
	Ortoészterek		Glikozil-dialkylfoszfitok
	1-O-Acyl-glikozidok		Glikozil-foszfordinióátok
	1-O-Pentenoil-glikozidok		Szeleno-glikozidok
	Pentenil-glikozidok		Izopropenil-glikozidok
	Glikálok		Glikozil-diazirinek

1. táblázat. Glikozil donorok

dőben voltak védő és távozó csoportok. Például tioglikozid aktiválható anomer fluorid jelenlétében és fordítva az anomer fluorid is aktiválható tioglikozid jelenlétében [35].

3. A *kemoszelektív* glikozilezési stratégia azon a megfigyelésen alapszik, hogy a C-2 észterek dezaktiválják (disarm), míg a C-2 éterek aktiválják (arm) az anomer centrumot [36,37]. Fraser-Reid és munkatársai végeztek először olyan kemoszelektív glikozilezéseket amelyekben donorként a 2-s helyzetben éter típusú védőcsoportot tartalmazó pentenil glikozidot enyhe promotórral (pl. IDCP) aktiválták, mialatt az akceptorként alkalmazott 2-s helyzetben O-acil csoportot tartalmazó pentenil glikozid nem volt aktiválható [38,39]. Azt is észrevették, hogy a gyűrűs acetálok szintén csökkentik a pentenil glikozidok reaktivitását és így sikeresen hajtottak végre kemoszelektív glikozilezéseket benzilezett pentenil glikozil donor és gyűrűs acetállal védett pentenil glikozil akceptor alkalmazásával [40]. Van Boom és munkatársai kemoszelektív glikozilezési stratégiát dolgoztak ki tioglikozidokat alkalmazva a kapcsolási reakciókban míg Danishefsky és munkatársai a kemoszelektív glikozilezéseket glikálokra is kiterjesztették [41–43].

4. A *latens-aktív* stratégia alapja, hogy a glikozilezési körülmények között stabil anomer védőcsoportot egyszerű kémiai átalakítással távozó csoporttá alakítottak. Pl. a "latens" *p*-nitrofenil-tioglikozid nitro csoportját *N*-acetilre cserélve "aktív" tioglikozidot nyertek [44].

5. Az utóbbi tíz évben fejlődött ki az oligoszacharidszintézis új területe, az *intramolekuláris* glikozilezés, melynek lényege, hogy a donort és az akceptort már a glikozilezési reakció előtt egy hídmolekulán keresztül kötik össze. Az intramolekuláris reakciók előnye, hogy az ilyen módon végrehajtott glikozilezések általában jobb regio- és sztereoselektivitást biztosítanak. Az intramolekuláris glikozilezések terén elért eredményeket számos közleményben foglalták össze [12,45–47].

6. Napjainkban a glikobiológia fejlődése nyomán nagymértékben megnőtt az igény a biokémiai és biofizikai vizsgálatok során felhasználható bonyolult szerkezetű oligoszacharidok iránt. A komplex szénhidrátszármazékok hatékony előállítása iránti szükség vonta maga után az utóbbi tíz évben a *szilárd fázisú oligoszacharidszintézis* fejlődését és a *kombinatorikus szénhidrátkönyvtárak* megjelenését. Az oligoszacharidszintézis fent említett két területének fejlődése új védőcsoportok, glikozil-donorok, promotorok és glikozilezési stratégiák megjelenését vonta maga után, az így elért eredményeket számos összefoglaló munka tárgyalja [24,48,49].

7. Az enzimológia nagy arányú fejlődése lehetővé tette [50] az oligoszacharidok enzimatisz uton történő előállítását. Az enzimatisz módszerek előnye a regio- és sztereo-

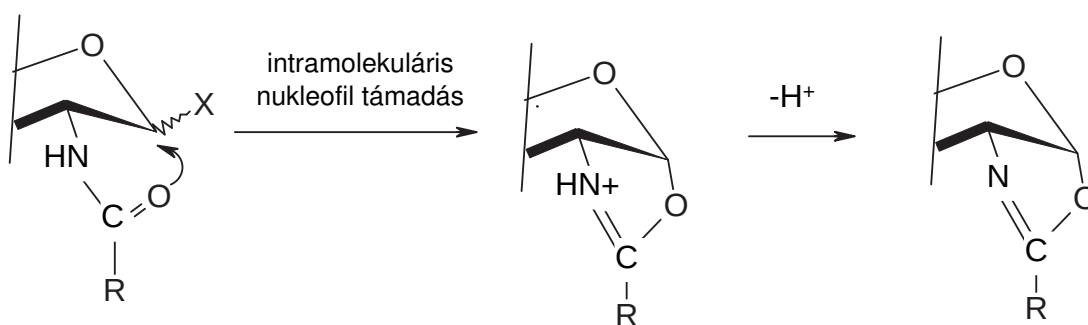
szelektív reakciók biztosítása, a védőcsoportok alkalmazásának elkerülhetősége és semleges közegben végrehajtható reakciók lehetősége. Az enzimek által katalizált reakciók hátránya, hogy bizonyos enzimek izolálása, tisztítása meglehetősen költséges, és nem ismert minden lépéshez a megfelelő, preparatív szempontból felhasználható enzim. Glikoziltranszferázok alkalmazása esetén aktivált donorokra van szükség, amelyek előállítása, illetve regenerálása külön eljárást igényel [51].

A félszintetikus glikozilezési stratégiák olyan kombinált módszerek amelyek segítségével a szintetikus úton nehezen előállítható glikozidos kötéseket enzimatikusan hozzák létre és fordítva [52,53]. Enzimátikus oligoszacharid szintéziseket szilárd fázison is sikeresen alkalmaztak [48,54].

A glikozilezési reakciókat számos összefoglaló munka részletesen tárgyalja [8, 12–21, 24, 27, 55–69].

2.2.3. 2-*N*-védőcsoportok

A természetben az amino-cukrok számos oligo- és poliszacharid fontos alkotóelemei, például kitin, glikokonjugátumok, mukopoliszacharidok, vércsoport antigének, baktériumok sejtfelszíni oligoszacharid antigénjeinek felépítésében vesznek részt. Legelterjedtebbek az *N*-acetyl-glükózamin (GlcNAc) és az *N*-acetyl-galaktózamin (GalNAc) származékok, ezért a szintézisek nagy része is 2-*N*-acetyl származékok előállítására törekszik. Annak ellenére, hogy az acetamido csoport (NHAc) az aminocukrok természetes alkotóeleme, a 2-*N*-acetyl donorok glikozilezési reakciókban általában nem használhatók, mert a kapcsolási reakciók során keletkező oxazolin intermedierek viszonylag stabil rendszerek. Emiatt a 2-amino-



4. ábra.

2-dezoxi cukrok glikozidjai előállításának központi problémája a nitrogénatom megfelelő védőcsoportjának a megtalálása. Az ideális amino védőcsoport eléggé stabil és megfelelő reaktivitást, sztereoszelektivitást és magas hozamot biztosít a glikozilezési reakció-

ban. Továbbá szelektíven, enyhe reakció körülmények között magas hozammal eltávolítható. A 2-amino-2-dezoxi-1,2-*transz*-glikozidok előállítására leggyakrabban alkalmazott eljárás a ftálimido módszer. 1976-ban Lemieux és munkatársai vezették be a szénhidrátkémiába [70]. Az *N*-ftaloil csoport nagy térkitöltésének és résztvevő jellegének tulajdonítható, hogy az 1,2-*transz*-glikozidok jó sztereoszelektivitással és hozammal képződnek. Eltávolítására számos módszert használtak, például sikerrel alkalmaztak: hidrazint [70,71], hidroxilamint [72], NaBH₄-et [73], butil-amint [74], etilén-diamint [75], Merrifield-gyantára kötött etilén-diamint [76]. A deftaloilezések hozama változó a szénhidrátszármazékok szerkezetétől és nagyságától függően, ezek mindegyike bázikus körülményeket biztosít, ezért bázis-érzékeny csoport jelenlétében (uronsav-észterek, *O*-glikopeptidek) nem alkalmazhatóak.

B. Fraser-Reid és munkatársai által 1995-ben bevezetett 2-*N*-tetraklórftaloil csoport [77–79] szintén jó 1,2-*transz* sztereoszelektivitást biztosít és esetenként jobb hozamot értek el, mint az *N*-ftaloillal. Eltávolítása enyhe körülményeket igényel, néhány ekvivalens etilén-diamint szemben az *N*-ftaloilnál alkalmazott nagy reagens fölösleggel. Az *N*-4,5-diklórftaloil származékok reakcióit is tanulmányozták, de e védőcsoport az eltávolításnál alkalmazott nagy reagens fölösleg miatt nem nyert széleskörű felhasználást [80,81].

A szilárd fázisú peptidszintézisben már hosszú ideje használt ditioszukcinoil (Dts) funkciót 1994-ben Bárány és munkatársai [82] valamint Meldal és munkatársai [83] alkalmazták először a szénhidrátkémiában amino csoport védelmére. A Dts-al védett bromid és imidát donorokkal sztereoszelektív glikozilezést hajtottak végre jó eredménnyel, csak β -glikozidokat nyerve. A Dts eltávolítása tiolokkal (β -merkaptóetanol [82, 83], *N*-metilmerkaptóacetamid [82], ditiotreit [83]) továbbá NaBH₄-el és Zn/Ac₂O-AcOH-al végrehajtott redukcióval is sikeres volt.

A Schmidt és munkatársai által bevezetett dimetilmaloil (DMM) csoport [84] enyhe körülmények között, jó hozammal eltávolítható. Például a három DMM csoportot tartalmazó oktaszacharidból 73%-os hozammal nyerték a megfelelő NHAc származékot [85]. A glikozilezési reakciók során a DMM-al védett imidát donorokat TMSOTf-al aktiválták. A kapcsolási reakciók csak β -glikozidokat eredményeztek. Ugyancsak Schmidt és munkatársai alkalmazták először az *N*-tiodiglikokoil (TDG) védőcsoportot [86]. A reakciók során jó eredménnyel nyerték 1,2-*transz* glikozidokat. A TDG eltávolítását három lépésben valósították meg, előbb NaOMe/NaOH-al hasították a gyűrűs imidet, majd az így nyert vegyületet Bu₃SnH/AIBN-el kezelték és végül acetilezték.

A fent említett gyűrűs védőcsoportok mellett *N*-haloacetyl védőcsoportokat is alkal-

maztak, az elektronvonzó halogének hatására a glikozilezés során képződő oxazolin intermedier jobb donor tulajdonságokkal rendelkezik. Például *N*-klóracetil [87], *N*-diklóracetil [88], *N*-triklóracetil [89], *N*-trifluoracetil [90] funkciókat tartalmazó glikozil-donorokat állítottak elő. Különösen jó eredményeket értek el Jacquinet és munkatársai a 2-dezoxi-2-triklóracetamido donorok használatával [89,91–93], a triklóracetil funkció eltávolítását semleges körülmények között Bu_3SnH /AIBN-el uronsav metilészter jelenlétében is sikerült elvégezniük [94,95]. Schmidt és munkatársai alkalmazták először a résztvevő jellegű *N*-2,2,2-triklóretoxikarbonil és *N*-acetil-*N*-2,2,2-triklóretoxikarbonil [96] funkciókat. A kapcsolási reakciókban imidát és tioetil donorokat alkalmaztak, az *N*-2,2,2-triklóretoxikarbonil csoport eltávolítását Zn /ecetsavval végezték. A fent említett kutatócsoport olyan glikozilezési reakciókat is végzett, amelyekben a 2-amino funkciót *N,N*-diacetil csoport védte [97]. A módszer egyetlen hátránya, hogy kevésbé reaktív akceptorok alkalmazásakor a donorról az akceptorra történő acetil vándorlás játszódott le. Az *N*-pent-4-enoil funkciót Fraser-Reid és munkatársai [77,98] használták először amino védőcsoportként a szénhidrátkémiában. Erőteljesen bázikus és savas körülmények között is stabil, könnyen, szelektíven eltávolítható semleges körülmények között ($\text{I}_2/\text{THF-H}_2\text{O}=1:1$). Hátránya, hogy kapcsolási reakciókban csak glikozil-klorid donorokon alkalmazható.

Az *N,N*-dibenzil funkció glikozilezési reakciókban ígéretes védőcsoportnak bizonyult, alkalmazásával jó hozamot és β -sztereoszelektivitást értek el, eltávolítása semleges körülmények között hidrogénezéssel történt [99].

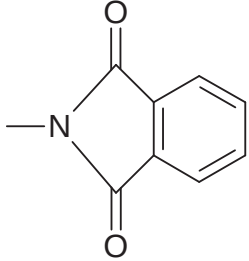
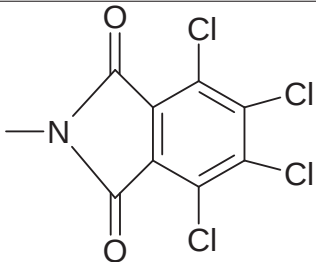
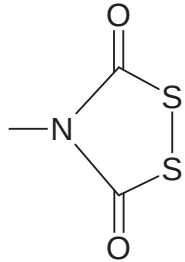
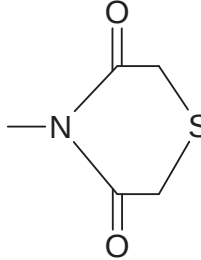
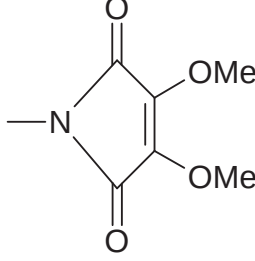
A 2-azido donorok használata oldható promotorok mellett 1,2-*cisz*-glikozidokat, oldhatatlan promotorok jelenlétében 1,2-*transz*-glikozidokat eredményez jó hozammal [16], a 2-azido-2-dezoxi-cukrok gazdaságos előállítása viszont még napjainkban sem megoldott.

A fent említetteken kívül számos 2-amino védőcsoportot alkalmaztak oligoszacharid szintézisekben több kevesebb sikerrel, ezek közül néhányat a 2. táblázat mutat be.

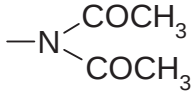
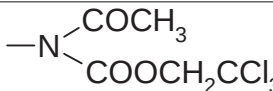
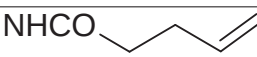
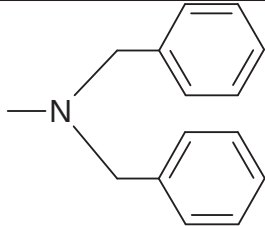
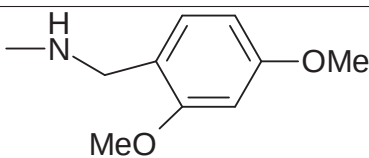
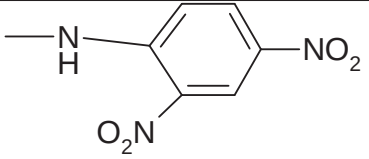
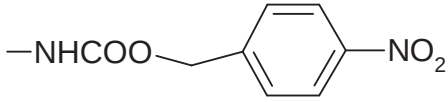
2.2.4. 2-amino-2-dezoxi-cukrok glikozidjainak szintézisében használt glikozil-donorok

Napjainkban di- és oligoszacharidok szintézisére leggyakrabban glikozil-halogenid, tioglikozid és triklór-acetimidát donorokat alkalmaznak. 2-amino-2-dezoxi-cukrok glikozidjainak szintézisében 1,2-*transz*-glikozilezésre két általános módszer használatos. Legtöbb esetben a donor C-2-nak amino csoportját valamilyen reakcióban résztvevő csoport védi (pl. oxazolin módszer, ftálimido módszer).

A másik módszer 2-amino-2-dezoxi- α -D-glikopiranozil halidokat használ donorként,

Védőcsoport	Irodalom
 <i>N</i> -ftaloil (NPhth)	[70]
 <i>N</i> -tetraklórftaloil (NTCP)	[77]
 <i>N</i> -ditioszukcinoil (Dts)	[82,83]
 <i>N</i> -tiodiglikokoil (TDG)	[86]
 <i>N</i> -dimetilmaloil (DMM)	[84,85]

▷ A táblázat a következő oldalon folytatódik ▷ ▷

Védőcsoport	Irodalom
-NH-COCH ₂ Cl	<i>N</i> -klóracetil [87]
-NH-COCHCl ₂	<i>N</i> -diklóracetil [88]
-NH-COCCl ₃	<i>N</i> -triklóracetil [89,91–93]
-NH-COCF ₃	<i>N</i> -trifluoracetil [90]
-NHCOOCH ₂ CCl ₃	<i>N</i> -2,2,2-triklóretoxikarbonil [96]
 <i>N,N</i> -diacetil	[97]
 <i>N</i> -acetil- <i>N</i> -2,2,2-triklóretoxikarbonil	[96]
 <i>N</i> -pent-4-enoil	[77,98]
 <i>N,N</i> -dibenzil	[99]
 <i>N</i> -2,4-dimetoxibenzil	[100]
 <i>N</i> -2,4-dinitrofenil	[101]
 <i>N</i> -p-nitrobenziloxikarbonil	[102]

2. táblázat. 2-*N*-védőcsoportok

ahol a 2-s amino csoportot nem résztvevő csoport védi és a glikozil-donornak oldhatatlan, aktív felületű promotorokhoz (ezüst-oxid, ezüst-karbonát, ezüst-szilikát [103], ezüst-zeolit [104]) történő kötődése biztosítja az 1,2-*transz* glikozid képződését [105]. Ennek a módszernek a hozama általában alacsonyabb a C-2-n résztvevő csoportot alkalmazó glikozilezéseknél.

Az 1,2-*cisz* glikozidok szintézise kevésbé kidolgozott az oligoszacharid-szintézisben, előállításuknál két fő követelménynek kell eleget tenni, először a donor 2-amino csoportját nemrésztvevő csoportnak kell védenie (általában azido funkció), másodszor az anomer távozó csoportnak 1,2-*transz* helyzetűnek kell lennie a C-2 szubsztituenshez képest. Oldható vagy részben oldható promotorokat használnak és a donorokat általában *in situ* generálják nagy reaktivitásuk miatt [106, 107]. Napjainkban di- és oligoszacharidok szintézisére leggyakrabban glikozil-halogenid, tioglikozid és triklór-acetimidát donorokat alkalmaznak.

2.2.5. Szintézisek glikozil-halogenidekből (Koenigs-Knorr reakciók)

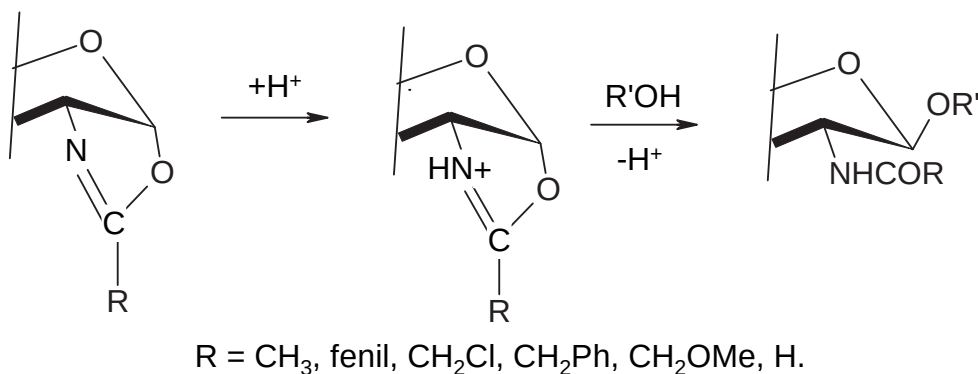
A Koenigs-Knorr reakció egyike a legrégebben használt glikozilezési módszereknek [108]. A glikozil donorként használatos halogenidek reaktivitása a $I > Br > Cl > F$ sorrendben változik, a gyakorlatban azonban a jodidok érzékenysége és a fluoridok eltérő aktiválása miatt általában csak glikozil-bromidokat és kloridokat használnak [15]. Promotorként az oldhatatlan ezüst (I)-oxidot vagy ezüst(I)-karbonátot alkalmazták a legrégebbi Koenigs-Knorr reakciókban, majd Zemplén és munkatársai vezették be a higany(II)-acetátot, Helferich pedig az oldható higany(II)-cianidot vagy higany(II)-cianid és higany(II)-bromid elegyét használta. Ezenkívül higany(II)-bromidot, higany(II)-joditot, ezüst(I)-perklorátot, ezüst-imidazolátot is alkalmaztak. Napjainkban leggyakrabban használt promotor az ezüst(I)-trifluormetánszulfonát.

A reakciókat oldhatatlan promotorok esetében általában apoláros oldószerben, diklórmetán, kloroform, 1,2-diklóretán, oldható promotorok használatakor nitrometán, acetonitril oldószerekben vagy nitrometán-benzol, nitrometán-toluol elegyekben végzik.

A glikozil-fluoridokat 1981-ben Mukaiyama és munkatársai alkalmazták először glikozil-donorként. Legfőbb előnyük egyéb glikozil-halogenidekhez képest stabilitásuk. A glikozil-fluoridok aktiválására számos fluorofil promotort használnak, például: $SnCl_2$ - $AgClO_4$, $SnCl_2$ - $AgOTf$, $TMSOTf$, SiF_4 , TiF_4 , SnF_4 , $BF_3 \cdot Et_2O$, Cp_2ZrCl_2 - $AgBF_4$, Cp_2HfCl_2 - $AgOTf$, Tf_2O , $LiClO_4$, Cp_2MCl_2 - $AgClO_4$ ($M=Zr$ vagy Hf) [13].

A 2-acetamido glikozil-halogenidek Koenigs-Knorr reakció körülmények közötti ala-

csony reaktivitású izolálható intermedierei az oxazolinok. Így nagyon gyakran önálló glikozil donorként is szerepelhetnek. A glikozil-halogenidekből vagy más utakon (pl. 1-O-acetil származékokból) könnyen előállítható oxazolin savas közegben visszaalakul oxazolinium ionná és akceptor alkohol jelenlétében 1,2-transz-glikozidot képezhet [109] (5. ábra). Az oxazolinok átalakulását általában proton-(p-toluol-szulfonsavval [110],

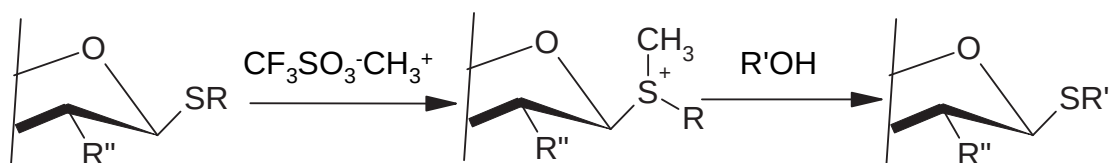


5. ábra.

triizopropil-benzolszulfonsavval [111]), és Lewis savakkal (trimetilszilil-trifláttal [112] és vas(III)-kloriddal [113]) katalizálják. A módszer egyik legfőbb előnye, hogy a β -glikozidok N-acetil (R=CH₃) formában keletkeznek, így nem kell a nitrogén védőcsoport eltávolításának, esetenként igen nehéz problémájával foglalkozni. Hátránya azonban az, hogy az oxazolin átalakítása erőteljes savas körülményeket és bizonyos esetekben magas hőmérsékletet igényel amely a β -glikozidos kötés anomerizációját és a savérzékeny védőcsoportok lehasadását eredményezheti. Az oxazolin módszer mára már teljesen kiszorulni látszik az oligoszacharidok előállításának gyakorlatából.

2.2.6. Szintézisek tioglikozidokból

A tioglikozidokban az anomer oxigént egy alkil/aril-tiocsoport helyettesíti. Előnyük más donorokkal szemben, hogy egyszerűen előállíthatók, változatos kémiai reakciók végrehajthatók rajtuk és stabilak különböző reakció körülmények között (lásd 3. táblázat). Tioglikozidok aktiválására a legrégebbi módszer a tiofil Hg(II)-sókat alkalmazó aktiválás, amelyeket Ferrier és Van Cleve vezettek be [114, 115]. 1985-ben Lönn és munkatársai dolgozták ki a metil-trifláttal történő aktiválást [31], amely a tioglikozidoknak metil-trifláttal történő alkilezésén alapszik, a reakció közbeeső terméke a nagy reaktivitású szulfonium csoportot tartalmazó származék (6. ábra). 2-Ftálimido-tioetil-glikozid metil-trifláttal

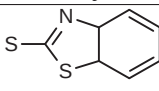
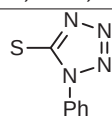


6. ábra.

történt aktiválása eredményeként Lönn és munkatársai jó hozamokat (70-80%) értek el tetra- és heptaszacharid szinten is [31, 32]. A Fügedi és Garegg által kifejlesztett DMTST [dimetil(metiltio)sulfonium-triflát] reagens kiküszöböli az előző módszer számos hátrányát és nagyon hatásosnak bizonyult kevésbé reaktív akceptorok esetében is [28]. Elektrofil reagensek mint *N*-bróm-borostyánkősav-imid (NBS) [116] és *N*-jód-borostyánkősav-imid (NIS) [39, 117] és trifluormetán-szulfonsav kombinációval szintén nagyon jó eredményeket értek el 2-dezoxi-2-ftálimido-tioglikozidok aktiválásával. Ezekben a reakciókban *in situ* glikozil-halogenid generálódik amely a jelenlévő akceptorral képezi a megfelelő glikozidot. Más egy vagy többkomponensű promotort is sikerrel alkalmaztak tioglikozid donorok aktiválására, például: nitrozil-tetrafluoroborát [131, 132], fenilszelenil-triflát [125, 126], réz(II)-bromid, tetrabutil-ammónium-bromid és AgOTf elegy [124], metilszulfenil-bromid vagy klorid és AgOTf elegy [134], bróm és AgOTf elegy [127]. Ez utóbbi promotor elegy kiküszöböli a nagyon mérgező metil-triflát vagy DMTST használatát. Az alkil- és ariltioglikozidok mellett jól ismertek a szénhidrátkémiában a heterociklusos tioglikozidok, mint például a benzotiazolil-tioglikozid [121] vagy piridil-tioglikozid [120].

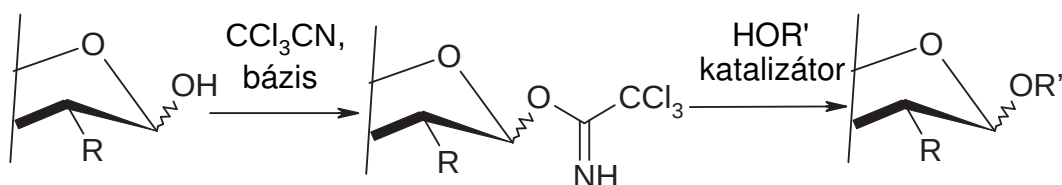
2.2.7. Az imidát módszer

Anomer hidroxil aktiválására Schmidt és munkatársai alkalmaztak először triklóracetimidátokat. A szabad anomer hidroxilt tartalmazó monoszacharidok bázikus körülmények [K_2CO_3 , Cs_2CO_3 , NaH , 1,8-diazabiciklo[5,4,0]undec-7-én(DBU)] között triklóracetonitrillel triklóracetimidátokat képeznek. Cs_2CO_3 -ot vagy NaH -et használva a termodinamikailag kedvezőbb α -glikozil triklóracetimidátok képződnek, míg K_2CO_3 -al kinetikailag kontrollált reakcióban a β -anomer keletkezik. A DBU használata általában α/β elegyhez vezet [67, 137, 138]. (7. ábra). Az újabban alkalmazott MTBD bázis [139] és fázistranszfer katalízis [140] kizárólag α -triklóracetimidátot eredményez. Aktiválószerként leggyakrabban $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ -ot vagy TMSOTf -ot használnak, de ismereteseek AgOTf [141], LiClO_4 [142], LiOTf [143] és TBDMSOTf [144] katalizátorokat alkalmazó módszerek is. A glikozilezési reakciókat diklórmetán, diklórmetán-hexán, dietiléter, acetonitril oldószerekben végzik, ál-

Aktivátor	SR	Hivatkozás
HgSO ₄	SPh	[114]
HgCl ₂	SEt, SPh	[114, 118]
PhHgOTf	SPh	[119]
Hg(OBz) ₂	SPh	[115]
Hg(NO ₃) ₂	SPy	[120]
Cu(OTf) ₂		[121]
Pd(ClO ₄) ₂	SPy	[122, 123]
CuBr ₂ /Bu ₄ NBr/AgOTf	SMe, SEt	[124]
PhSeOTf	SMe	[125, 126]
AgOTf/Br ₂	SEt	[127]
NBS	SPh	[116]
NIS/TfOH	SMe, SEt, SPh	[39, 117]
IDCP	SEt	[41, 128]
I ₂	SMe	[129]
PhIO/Tf ₂ O	SMe	[130]
NOBF ₄	SMe	[131, 132]
MeI	SPy	[133]
MeOTf	SEt	[31]
MeSOTf	SMe, SEt, SPh	[134]
DMTST	SMe, SEt, SPh	[28]
AgOTf		[135]
(BrPh) ₃ NSbCl ₆	SEt, SPh	[58, 136]

3. táblázat. Tioglikozidok aktiválásának lehetőségei

talában alacsony hőmérsékleten ($-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -tól szobahőmérsékletig).



7. ábra.

A reakció lefolyása nagyban függ a katalizátoroktól és a donor védőcsoportjaitól, például figyelemreméltó vonása az imidátos glikozilezésnek, hogy nemrésztvevő csoportot tartalmazó α -imidát donor és $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ használatakor az anomer centrumon konfiguráció inverzió lép fel, így β -glikozidok képződnek jó hozammal és sztereoszelektivitással [145–147]. Ezzel ellentétben erős savakkal, pl. TMSOTf katalizátor jelenlétében β -imidátból kiindulva a termodinamikailag stabilabb α -glikozid keletkezik [30, 148].

Az imidátos kapcsolások hozamai általában magasak és az oligoszacharidok jó sztereoszelektivitással képződnek [149, 150]. Nagyon kis reaktivitású glikozil akceptor használatakor imidát átrendeződés vagy/és glikozil-fluorid képződése figyelhető meg [14, 151].

B. A. Silwanis és munkatársai 6 különböző standard 2-dezoxi-2-ftálimido donor reaktivitását tanulmányozták. A glikozilezési reakciókban az akceptor ugyanaz volt, a donorok szerkezete csak a leváló anomer csoportban (imidát, Cl, Br, SEt, F, OAc) különbözött. A kísérletek eredményeképpen a triklór-acetimidát donor bizonyult a legreaktívabbnak [152].

3. Saját vizsgálatok

3.1. A *Shigella sonnei* O-specifikus poliszacharidja ismétlődő egységének szintézise

3.1.1. Irodalmi előzmények, célkitűzés

A shigellózis gyakori és komoly fertőző betegség, amely főleg a fejlődő országokban okoz járványszerű megbetegedéseket [153]. Enyhébb formában hasmenést, súlyosabb esetekben vérhast okozhat, igen alacsony (kb. 100-1000 baktérium) dózisban [154].

Világszerte évente kb. 200 millió megbetegedést jegyeztek fel, amiből kb. 650 ezer fertőzés halálos kimenetelű [154]. Leginkább az 1-4 éves korú gyermekek és rossz higiéniai körülmények között élők veszélyeztetettek. A betegség gyógyítására gyógyszeres terápiát alkalmaznak, viszont a kezelést bonyolítja és költségessé teszi, hogy a baktériumtörzs, egyre több antibiotikumra rezisztenssé vált, ezért igazi megoldást a betegség ellen a megelőzés jelentene. Megfelelő védőoltást azonban még nem dolgoztak ki, annak ellenére, hogy a WHO kiemelt fontosságot tulajdonított a betegség megelőzésének.

A *Shigella* Gram-negatív baktérium, a baktériumtörzset Kauffmann a lipopoliszacharid O-specifikus oldalláncának felépítése alapján négy csoportba osztotta [155]: *Shigella dysenteriae* (A csoport), *Shigella flexneri* (B csoport), *Shigella boydii* (C csoport), *Shigella sonnei* (D csoport).

Robbins és munkatársai kimutatták, hogy a *Shigella* baktériumok természetes forrásból izolált O-specifikus poliszacharidjai védelmet biztosítanak a fertőzés ellen [153,154,156]. Ugyanez a kutatócsoport a *Shigella dysenteriae* elleni védőoltás kidolgozása során észlelte, hogy a kémiai úton szintetizált oligoszacharidok jobb immunogenitással rendelkeznek mint a természetes poliszacharid [157,158].

A Debreceni Egyetem Biokémiai Tanszékén célunk a *Shigella sonnei* által okozott fertőzés elleni védőoltás kifejlesztésének előkészítése volt. Feltételezéseink szerint hatékony oltóanyag a *Shigella sonnei* lipopoliszacharidja O-specifikus szénhidrátláncának természetes poliszacharidjánál rövidebb, 2-4 ismétlődő egységből álló, oligoszacharid előállítás és hordozó proteinhez való kovalens kapcsolása útján állítható elő. Ilyen konjugált vakcinák kidolgozásához fontos azon szerkezeti tényezők ismerete, amelyek az oltóanyag immunogenitását befolyásolják, ezen szerkezeti feltételek csak részben ismertek [158,159]:

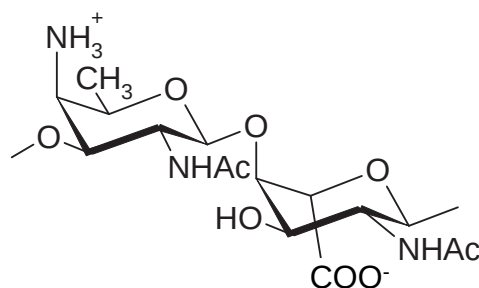
- az oligoszacharid lánc mérete,

- a szacharid és a protein közötti kémiai kapcsolat természete,
- a konjugálás módszere,
- a szacharid és a protein közötti távolság,
- a szacharid és protein közötti molarány.

Ezen tényezőket szem előtt tartva a *Shigella sonnei* O-specifikus oldallánca ismétlődő egysége mono-, di-, tri- és tetramér oligoszacharidjának előállítását tűztük ki célul. A következőkben dolgozatomban a *Shigella sonnei* lipopoliszacharidja O-specifikus oldallánca ismétlődő egységének szintézisét ismertetem.

3.1.2. A *Shigella sonnei* LPS ismétlődő egységének szerkezete

A *Shigella sonnei* LPS szerkezetének felderítésében fontos szerepet játszott az 1970-es években a Pécsi Orvostudományi Egyetem Kontrohr Tivadar vezette kutatócsoportja [160]. Az ismétlődő egység szerkezetét NMR-el Kenne és munkatársai igazolták [161]. A *Shigella sonnei* lipopoliszacharidjának O-specifikus oldallánca két ritka monoszacharidból épül fel, egy α -kötéssel kapcsolódó 2-acetamido-2-dezoxi-L-altruronsavból és a β -kötéssel kapcsolódó 2-acetamido-4-amino-2,4,6-tridezoxi-D-galaktopiranozból (8. ábra). A diszacharid pepti-



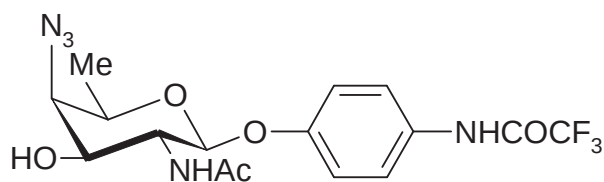
8. ábra.

dekre jellemző ikerionos szerkezete, az interglikozidos kötések [α -L-(1 $\rightarrow$ 3) és β -D-(1 $\rightarrow$ 4)], a mindkét monoszacharidban fellelhető 2-NHAc, szokatlan szerkezetre utalnak. NMR adatok bizonyítják, hogy a természetes poliszacharidban mindkét egység esetében a 4C_1 szék konformációs állapot a kedvezményezett [162, 163].

3.1.3. A 2-acetamido-4-amino-2,4,6-tridezoxi-D-galaktóz egység előállítása

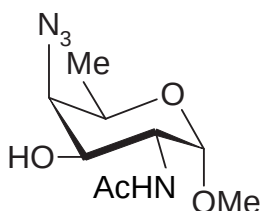
Garegg és Haraldsson [164] 1990-ben publikálta a *Shigella sonnei* O-specifikus poliszacharidja ismétlődő egységének előállítása céljából végzett kísérleteit, melyeknek eredménye-

ként sikeresen előállították a 9. ábrán látható 2-acetamido-4-amino-2,4,6-tridezoxi- β -D-

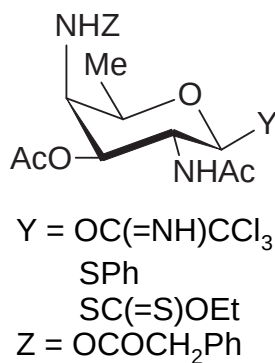


9. ábra.

galaktóz származékot, azonban oldékonysági problémák miatt nem tudták a galaktóz egy-
séget az általuk szintetizált L-altruronsav származékkal összekapcsolni. Lönn és munka-
társai [165] α -D-tridezoxi-galaktóz (10. ábra), Van Boom és munkatársai [166] (11. ábra)



10. ábra.

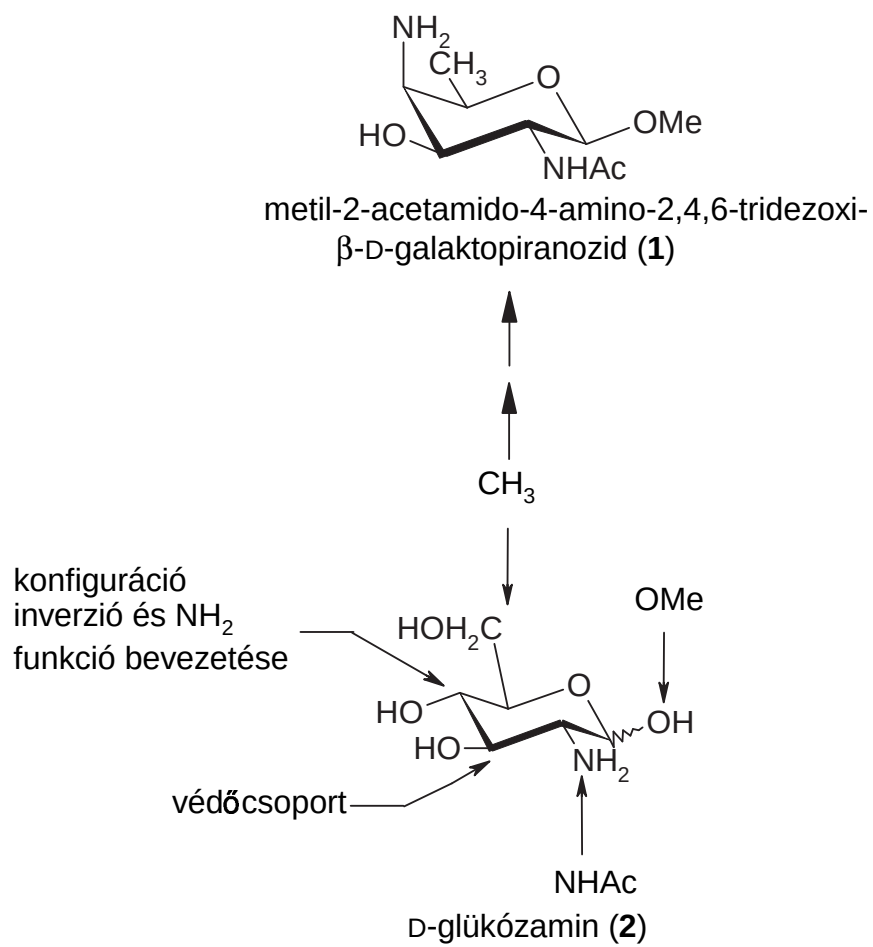


11. ábra.

β -D-tridezoxi-galaktóz előállítására dolgoztak ki módszereket és glikozilezési reakciókban
használták fel az így nyert vegyületeket.

A célvegyület metil-2-acetamido-4-amino-2,4,6-tridezoxi- β -D-galaktopira-
nozid (1) előállításához kiindulási anyagként D-glükózamint (2) használtam amelyen
következő átalakításokra volt szükség (12. ábra) :

- OMe glikozid kialakítása a redukáló végen,

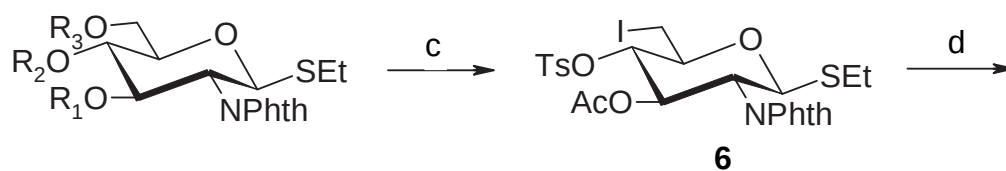


12. ábra.

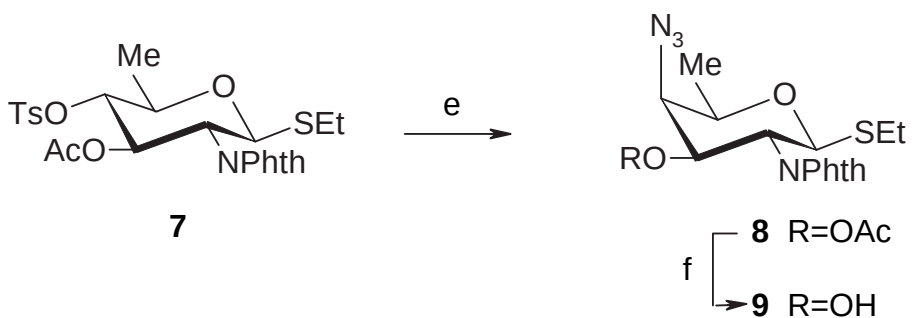
- a C-2 helyzetben 2-acetamido-2-dezoxi funkció kialakítása,
- a C-3 helyzetben az OH csoport ideiglenes védelme,
- a C-4 helyzetben konfiguráció inverzió és 4-amino-4-dezoxi csoport bevezetése,
- a C-6 helyzetben a 6-dezoxi funkció kialakítása.

A 2-s helyzetű amino funkció védelmére ftaloil és tetraklórftaloil csoportokat alkalmaztam, amelyek a későbbiekben a glikozilezési reakciók 1,2-*transz* szelektivitását biztosítják majd. Az anomer helyzetben kialakított S_{Et} funkció miatt az így nyert vegyület donorként és akceptorként is alkalmazható, emellett a S_{Et} csoport lehetőséget nyújt számos más donor előállítására és a biológiai vizsgálatoknál felhasznált OMe glikozid szintetizálására is.

Fontos szempont volt a reakciósor kidolgozásánál a védőcsoportok összeférhetőségének figyelembe vétele és a reakciólépések sorrendjének pontos meghatározása. Az irodalomban jól ismert módszer szerint [70] állítottam elő az 1,3,4,6-tetra-O-acetil-2-dezoxi-2-ftálimido- β -D-glükopiranozt, amiből a Spijker és van Boeckel [167,168] által kidolgozott stratégiát alkalmazva négy lépésben az etil-3-O-acetil-2-dezoxi-2-ftálimido-4,6-O-izopropilidén-1-tio- β -D-glükopiranozidot (**3**) nyertem. Gyengén savas közegben végzett hidrolízis a 4 diolt eredményezte [169] (13. ábra), amit tozil-kloriddal észterestítem a 4,6-O-ditozil származékot (**5**) 77%-os hozammal nyerve. A primér toziloxi csoportok szelektív redukciójára NaBH₄-et alkalmazó jól ismert módszer [165] az én esetemben a bázisérzékeny N-ftaloil csoport jelenléte miatt nem volt célravezető. Ezért a 6-O-tozil csoportot NaI-al szelektíven jódra cseréltem [170] a **6** vegyületet nyerve. Három módszer is alkalmasnak bizonyult a **7** 6-dezoxi származék előállítására: a redukciót Wessel módszer szerint [171] katalitikusan Pd/C-en, NEt₃ jelenlétében 86%-os hozammal hajtottam végre, szintén jó hozamokat értem el Zn/ecetsavat [172] (76%) és Bu₃SnH-et [173] (74%) alkalmazva redukálószerként. Az általában használt fém hidridek mint a LiAlH₄ és NaBH₄ az N-ftaloil és a toziloxi csoport jelenléte miatt nem voltak alkalmasak a 6-jód származék redukciójára. Az etil-3-O-acetil-2,6-didezoxi-2-ftálimido-1-tio-4-O-tozil- β -D-glükopiranozid (**7**) nagy mennyiségben történő előállítására a Wessel redukciós módszerét használtam a reakcióelegy feldolgozásának egyszerűsége miatt. Az **7** vegyület nátrium-aziddal végzett nukleofil cseréje az etil-3-O-acetil-4-azido-2,4,6-tridezoxi-2-ftálimido-1-tio- β -D-galaktopiranozidot (**8**) eredményezte 60%-os hozammal. Az NMR spektrum $J_{3,4} = 3,5$ Hz és $J_{4,5} = 2$ Hz csatolási állandóinak kis értékei a H-3/H-4 és a H-4/H-5 protonok *gauche* helyzetét mutatják és ezáltal a *galakto* konfigurációt igazolják. A **8** vegyület dezacetilezése eredményeként nyert terméket (**9**) a diszacharid



	R ₁	R ₂	R ₃
a → 3	Ac	Ip	
b → 4	Ac	H	H
b → 5	Ac	Ts	Ts



Reagensek és reakciókörülmények: (a) CF_3COOH , H_2O , CH_2Cl_2 , 2 óra, 96%; (b) TsCl , piridin, 4 nap, 77%; (c) NaI , MeCOEt , reflux, 16 óra, 69%; (d) H_2 , Pd/C , EtOH , Et_3N , 2 óra, 86%; (e) NaN_3 , DMF , 120°C , 16 óra, 61%; (f) NaOMe , MeOH , 30 perc, 88%.

13. ábra.

szintézisben akceptorként használtam fel. Biológiai vizsgálatokhoz az O-specifikus polisza-
charid ismétlődő egysége építőelemeinek metil glikozidjára volt szükség, ezért előállítottam
a **8** vegyület metil-glikozidját (14. ábra). Lönn módszerét [31] alkalmazva a tioglikozid
aktiválására MeOTf-tal metanol jelenlétében a β -anomér konfigurációjú metil-galaktozidot
(**10**) izoláltam 63%-os hozammal, melléktermékként a megfelelő trehalóz típusú vegyület
(**11**) keletkezett 26%-os hozammal. A melléktermék képződését $(\text{BrPh})_3\text{NSbCl}_6$ tiofil rea-
gens [136] használatával kerültem el. A **10** β -metil-galaktozidot ebben a reakcióban 87%-os
hozammal izoláltam. A **10** vegyületet NaOMe-al dezacetileztem, az így nyert **12** termék
glikozil-akceptorként szerepelt a diszacharidszintézisben. A **15** célvegyületet a **10** vegyület
védőcsoportjainak eltávolításával állítottam elő a következőképpen:

- a **10** vegyületből etilén-diaminnal [75] eltávolítottam a ftaloil csoportot, majd Ac_2O -el
piridinben acetilezve, a **13** vegyületet 75%-os hozammal nyertem,
- az O-acetilcsoport vándorlás elkerülése végett a **13** 2-acetamido-4-azido származékot
a redukció előtt dezacetileztem, így a **14** terméket 96%-os hozammal izoláltam,
- a **14** vegyületet katalitikus redukcióval (H_2/Pd) a metil-2-acetamido-4-amino-2,4,6-
tridezoxi- β -D-galaktopiranoziddá (**15**) alakítottam.

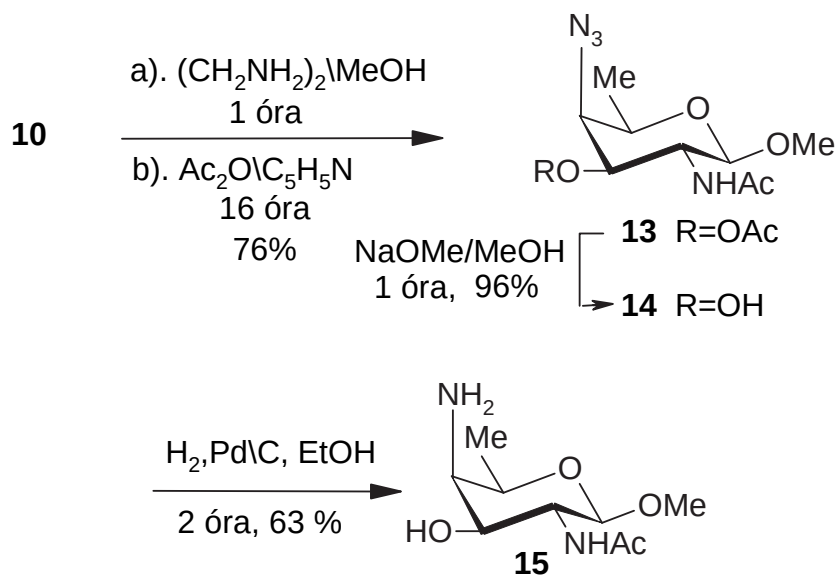
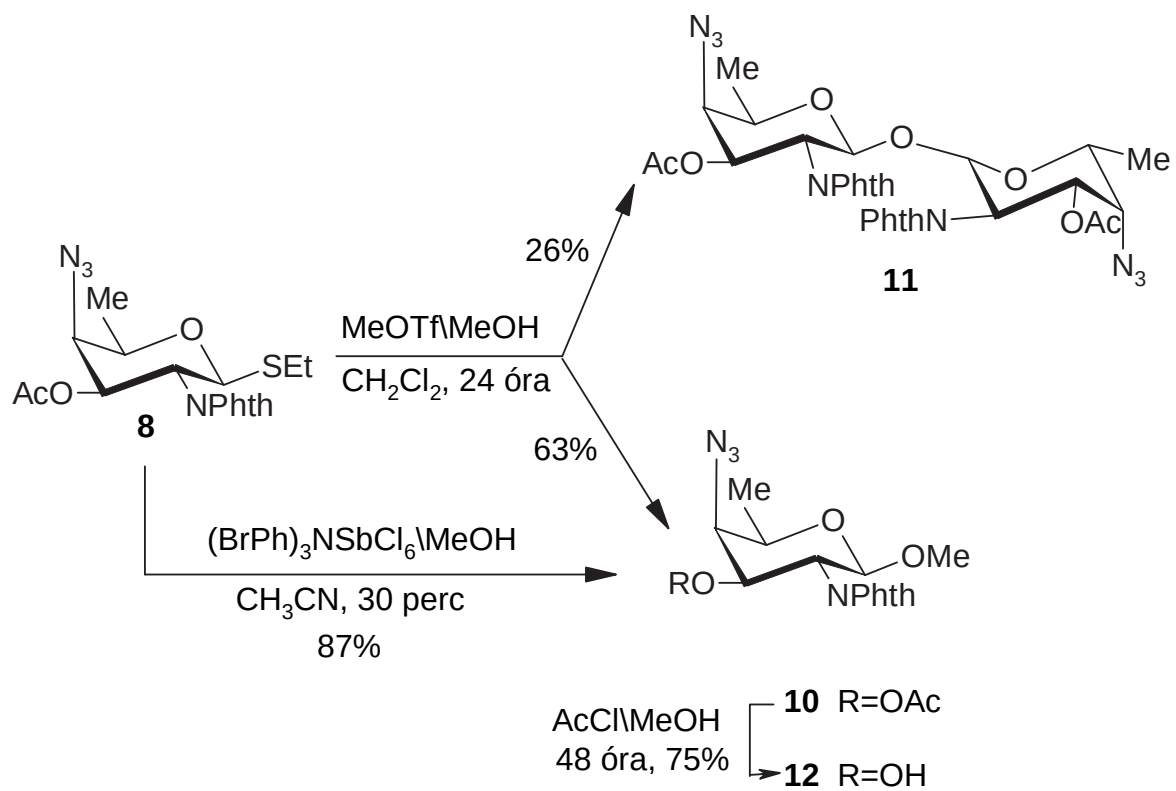
A **15** célvegyület szerkezetét a ^1H és ^{13}C NMR adatok igazolják, a H-1/H-2 és H-2/H-3
($J_{1,2} = 8,0$ Hz és $J_{2,3} = 10,5$ Hz) protonok nagy csatolási állandói és a H-3/H-4 és H-4/H-5
($J_{3,4} = 3,5$ Hz és $J_{4,5} = 1,5$ Hz) protonok kis csatolási állandói alátámasztják a piranóz gyűrű
 $^4\text{C}_1$ konformációját. A fent említett csatolási állandók csak kis mértékben különböznek a
természetes poliszacharidban mért értékektől [162].

Annak ellenére, hogy a fent leírt reakciósor minden lépésében 60% fölötti hozamot
értem el, **15** vegyületre vonatkozó összesített termelés nem több 1-2%-nál.

3.1.4. A tetraklórftálimido származékok előállítása

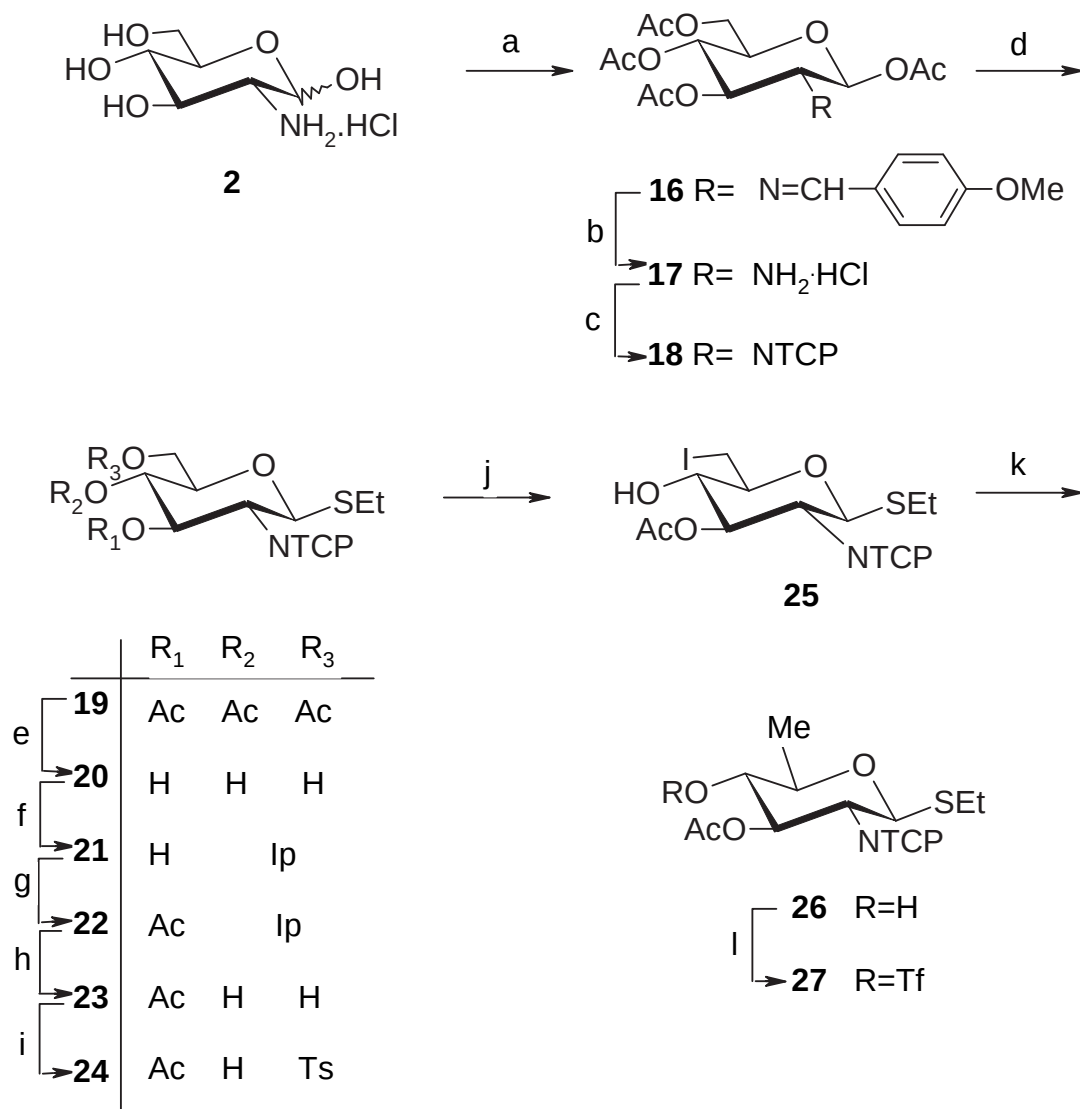
A tetraklórftálimido származékok előállítása több okból történt:

- 2-N-tetraklórftaloil donorok igen jó 1,2-*transz*-sztereoszelektivitást biztosítanak,
- eltávolításuk enyhébb körülmények között lehetséges mint az N-ftaloil csoporté,
- lehetőségünk nyílt e védőcsoport kémiai tulajdonságainak a tanulmányozására.



14. ábra.

Célvegyületem az etil-3-*O*-acetyl-4-azido-2,4,6-trideoxi-2-tetrachloro- β -D-galactopyranoside (28) és ennek metil-glikozidja volt (29). A 28 vegyület donorként és a 29 vegyület dezacetilezés után akceptorként szerepelt az oligoszacharid szintézisben. A 28 2-*N*-tetrachloro- β -D-galactopyranoside származék előállítására két utat dolgoztam ki. Egyik esetben D-glükózaminból kiindulva, ugyanazt a reakciósort alkalmazva mint az etil-3-*O*-acetyl-4-azido-2,4,6-trideoxi-2-tetrachloro- β -D-galactopyranoside (8) előállítása során. Az irodalomban jól ismert módszer szerint [174] D-glükózamin-hidrokloridot (2) vizes NaOH jelenlétében 4-metoxi-benzaldehiddel Schiff-bázissá alakítottam, majd piridinben ecetsav-anhidriddel acetileztem és az így nyert vegyületet (16) HCl-MeOH-al kezelve 1,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-2-deoxi-2-amino- β -D-glükopiranozid hidrokloriddá (17) alakítottam (lásd 15. ábrát). Az 1,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-2-deoxi-2-tetrachloro- β -D-glükopiranozid (18) szintézisére a Bert Fraser-Reid és munkatársai [78] által kidolgozott módszert alkalmaztam. A 17 vegyületből (TCP)₂O-el, piridin és Et₃N jelenlétében 74%-os hozammal nyertem a kristályos 18 terméket. Ebből az ugyancsak kristályos 19 tioglikozidot etán-tiollal 93%-os hozammal állítottam elő BF₃·Et₂O-t alkalmazva promotorként [175]. Mivel a Zemplén-dezacetilezés az *N*-tetrachloro- β -D-galactopyranoside csoport jelenléte miatt nem alkalmazható, ezért a 19 vegyületet savas körülmények között metanolban sósavval dezacetileztem. Az így nyert 20-as vegyület 4,6-*O*-izopropilidén acetálját (21) 95%-os hozammal állítottam elő majd a 21 vegyület 3-as helyzetű hidroxil csoportját acetileztem (22). Trifluor-ecetsavat használva savkatalizátorként vizes diklórmetánban végrehajtott hidrolízis [169] a 23 terméket eredményezte. A következőkben egy olyan reakcióutat dolgoztam ki, amely hasonló az etil-3-*O*-acetyl-4-azido-2,4,6-trideoxi-2-tetrachloro- β -D-galactopyranoside (8) előállításához, de figyelembe vettem a tetrachloro- β -D-galactopyranoside csoport bázis-érzékenységét. Ennek megfelelően a 23 4,6-diol primér hidroxil csoportját szelektíven 6-*O*-tozilá (24) észteressítettem 1,2 ekvivalens tozil-kloridot használva, melynek eredményeként 58%-os hozammal izoláltam az etil-3-*O*-acetyl-2-deoxi-2-tetrachloro- β -D-glükopiranozid (24) terméket. A 25 6-jód származékot a 6-toziloxi NaI-al történő helyettesítési reakciójával nyertem, majd a terméket hidrogén atmoszférában katalitikusan Et₃N jelenlétében redukáltam, így a 2-*N*-tetrachloro- β -D-galactopyranoside-6-deoxi (26) származékot 74%-os hozammal izoláltam. A galakto konfiguráció kialakítását 4-*O*-Tf (27) észteren keresztül NaN₃-al végrehajtott nukleofil szubsztitúciós reakcióval próbáltam elvégezni, sikertelenül. Trimetilszilil-aziddal [176] végrehajtott nukleofil csere sem vezetett eredményre. A másik út a 28 vegyület előállítására az etil-3-*O*-acetyl-4-azido-2,4,6-trideoxi-2-tetrachloro- β -D-galactopyranoside (8) kiindulva a 2-*N*-ftaloil funkció 2-*N*-tetrachloro- β -D-galactopyranoside-ra való cseréjével történt. A 8 vegyületből kiindulva



Reagensek és reakciókörülmények: (a) 4-metoxibenzaldehid, NaOH, H_2O , Ac_2O , piridin; (b) HCl, MeOH (c) $(\text{TCP})_2\text{O}$, Et_3N , Ac_2O , 2 óra, 74%; (d) EtSH, $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, CH_2Cl_2 , 20 óra, 93%; (e) HCl, MeOH, 48 óra; (f) dimetoxi-propán, pTsoH, 2 óra, 95%; (g) Ac_2O , piridin, 2 óra, 94%; (h) CF_3COOH , H_2O , CH_2Cl_2 , 15 perc, 99%; (i) TsCl, piridin, CH_2Cl_2 ; (j) NaI, MeCOEt, reflux, 16 óra; (k) H_2 , Pd/C, EtOAc, 4 óra, 74%; (l) Tf_2O , piridin, 1 óra, 94%.

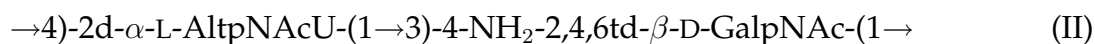
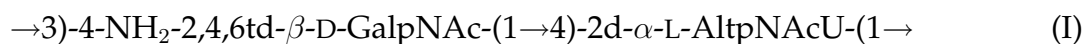
15. ábra.

(16. ábra) etilén-diaminnal eltávolítottam az *N*-ftaloil csoportot [75], majd a nyerste-terméket tetraklórftálsavanhidriddel kezeltem és acetileztem a **28** terméket 75%-os hozammal nyerve. Az **28** vegyület metil-glikozidjának előállítására (BrPh)₃NSbCl₆ [136] reagenst alkalmaztam, a reakció eredményeként a metil-3-*O*-acetil-4-azido-2,4,6-tridezoxi-2-tetraklórftálimido-β-*D*-galaktopiranozidot (**29**) 95%-os hozammal izoláltam.

A **28** és **29** vegyületeket savasan dezacetileztem, és az így nyert **30** és **31** termékeket az oligoszacharid-szintézisben akceptorként használtam fel.

3.1.5. A diszacharidok szintézise

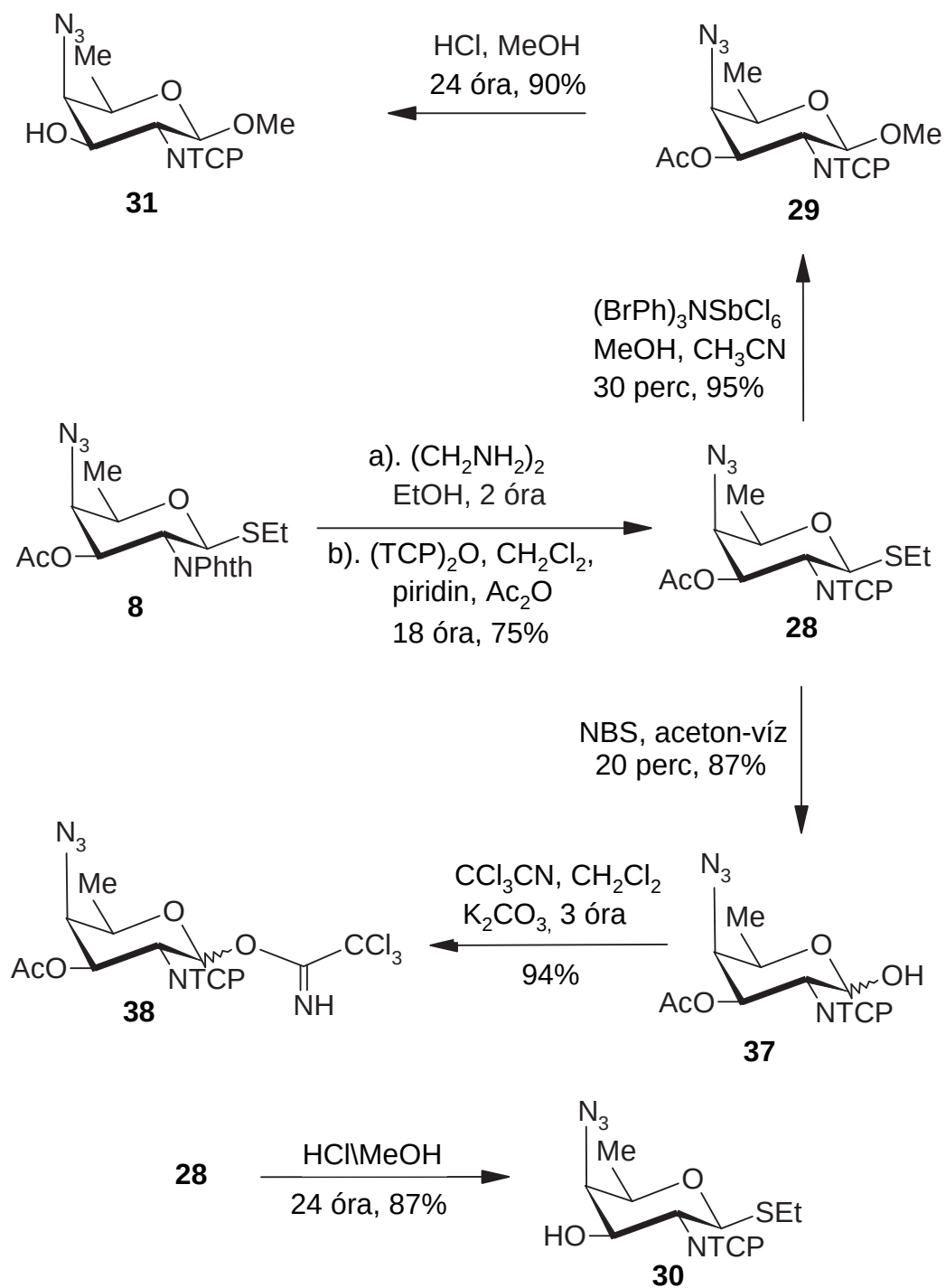
A természetben megtalálható poliszacharidok bioszintézise (így a *Shigella sonnei* O-specifikus oldallánca sem) nincs közvetlen génszabályozás alatt, szerkezetüket elsősorban a szintézisükben résztvevő enzimek határozzák meg. Ezért a *Shigella sonnei* O-specifikus oldallánca ismétlődő egységének esetében lehetetlen megállapítani melyik monoszacharid egység az első. A következő szerkezetek bármelyike leírhatja a O-specifikus poliszacharid ismétlődő egységét:



A fenti két diszacharid egység előállítása volt a célom. A szintézisben a legfőbb nehézséget a mindkét monoszacharid egységben jelenlévő 2-acetamido-2-dezoxi funkció jelentette. Az ilyen típusú 1,2-*transz* glikozidok szintézise napjainkban is egyik fő problémája az oligoszacharid szintézisnek. Legfontosabb a nitrogénatom megfelelő védőcsoportjának a megtalálása. A 2-amino funkció védelmére leggyakrabban az *N*-ftaloil csoport használatos. Mivel irodalmi adatok szerint egyes esetekben az *N*-ftaloil eltávolításánál problémák adódhatnak, elsősorban ha a molekula több *N*-ftaloil csoportot tartalmaz [177], ezért az *N*-ftaloil funkción kívül az *N*-tetraklórftaloil származékok használata mellett döntöttem. Szintén problémát okozott a célvegyületek galaktóz egységében lévő szabad amino funkció kialakítása és az altróz egységben megtalálható karboxil csoport megfelelő védelme. Az anomer centrumot tioglikozid, triklór-acetimidát és halogenid formában aktiváltam.

Célul tűztem ki a diasztereomér diszacharidok szintézisét is, amelyekben az altruronsav egység a nem természetes *D*-konfigurációban van.

A glikozilezési reakciókban akceptorként metil-(metil-2-acetamido-3-*O*-benzil-2-dezoxi-α-*L*-altropiranozid)uronát (**32**), metil-(metil-3-*O*-benzil-2-dezoxi-2-ftálimido-α-*L*-altro-



16. ábra.

piranozid)uronát (**33**), metil-(metil-3-*O*-benzil-2-dezoxi-2-tetraklórftálimido- α -L-altropiranozid)uronát (**34**) és donorként metil-(4-*O*-acetyl-3-*O*-benzil-2-dezoxi-2-tetraklórftálimido-L-altropiranozil)uronát-triklór-acetimidát (**35**), metil-(4-*O*-acetyl-3-*O*-benzil-2-dezoxi-2-tetraklórftálimido- α -L-altropiranozil)uronát-bromid (**36**) felhasznált uronsavszármazékokat dr. Bajza István, dr. Farkas Erzsébet kollégáim bocsájtották rendelkezésemre. A metil-(2-dezoxi-2-azido- α -L-altropiranozid)uronát származékok előállításának stratégiáját dr. Farkas Erzsébet dolgozta ki doktori értekezésében.

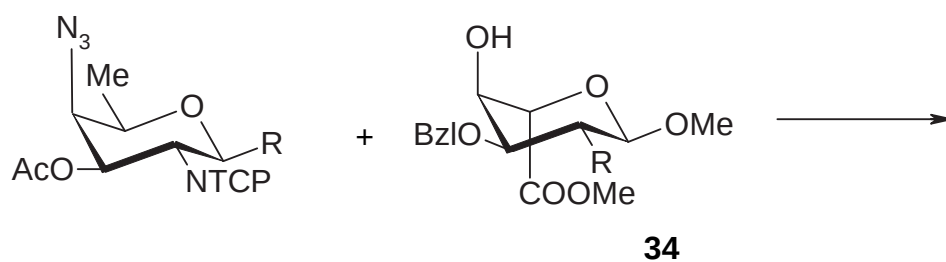
3.1.6. Az I szekvencia szintézise

Az I szerkezetnek megfelelő diszacharid előállítására végrehajtott glikozilezési reakciók tanulmányozása céljából különböző 2-*N*-ftaloil, 2-*N*-tetraklórftaloil és 2-NHAc donorokat és akceptorokat használtam. Először a 2-*N*-tetraklórftaloilal védett **28** tioetil donor és a **34** altruronsav kapcsolási reakciójával próbálkoztam, NIS/TfOH promotor jelenlétében sikertelenül [39, 117]. Ezért a **28** tioglikozidból kiindulva előállítottam a 3-*O*-acetyl-4-azido-2,4,6-tridezoxi-2-tetraklórftálimido- β -D-galaktopiranozil-triklór-acetimidátot (**38**) a következőképpen: *N*-bróm-szukcinimidet alkalmazva, aceton:víz = 9:1 elegyben, hidrolízissel nyertem a **37** félacetált (16. ábra), majd a **37** vegyületből K₂CO₃ jelenlétében triklóracetonnitrilrel állítottam elő a **38** 1-*O*-triklór-acetimidátot [178], amelyet tisztítás nélkül felhasználtam a kapcsolási reakciókban. A glikozilezési reakciókban alkalmazott aktivátorokat valamint a reakciók hozamait a 4. táblázatban foglaltam össze.

Donor	Akceptor	Aktivátor	Diszacharid	Hozam (%)
38	32	TMSOTf	39	32
38	33	TMSOTf	40	89
38	34	TMSOTf	41	93
28	34	NIS/TfOH	Ø	

4. táblázat. Az I szekvencia előállítására alkalmazott glikozilezési reakciók eredményei

A **38** imidátot TMSOTf-tal aktiváltam. Akceptorként a kettes helyzetben NHAc (**32**), NPhth (**33**) és NTCP (**34**) csoportokat tartalmazó metil-(metil-3-*O*-benzil-2-dezoxi-2-amino- α -L-altropiranozid)uronát származékokat használtam fel. A NPhth-val és a NTCP-val védett **33** és **34** akceptorokat a **38** imidáttal glikozilezve kitűnő 89% illetve 93%-os hozammal nyertem a **40** és **41** diszacharidot (17. ábra). A **32** akceptor oldékonysági problémák miatt csupán 32%-os hozammal adta a kívánt **39**-es diszacharidot [179, 180]. A **40** diszacharid védőcsoportjainak eltávolítása sem etilén-diaminnal [75], sem hidrazinnal [70]



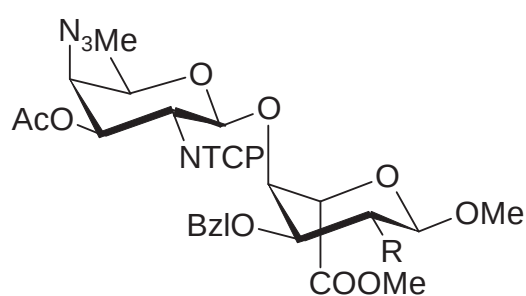
38 R= OC(=NH)CCl₃ (α/β)

28 R= SEt

32 R= NHAc

33 R= NPhth

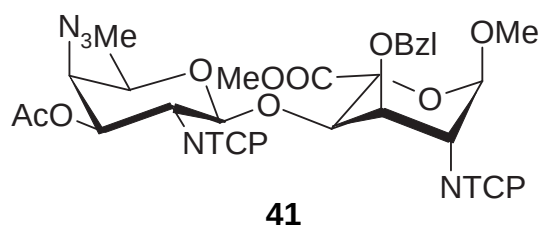
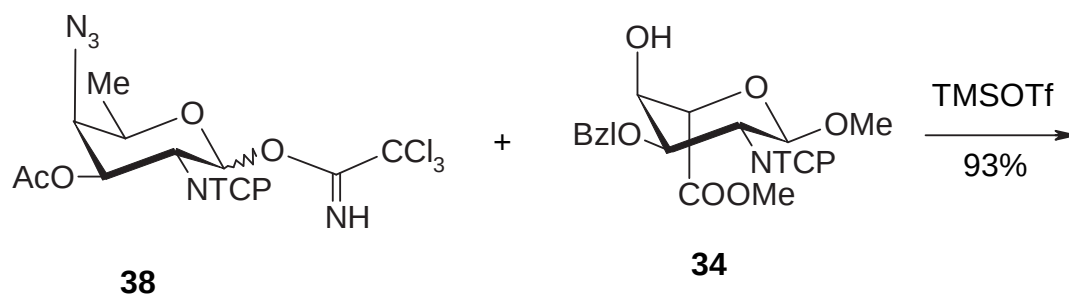
34 R= NTCP



38 + **32** → **39**, R= NHAc, 32%

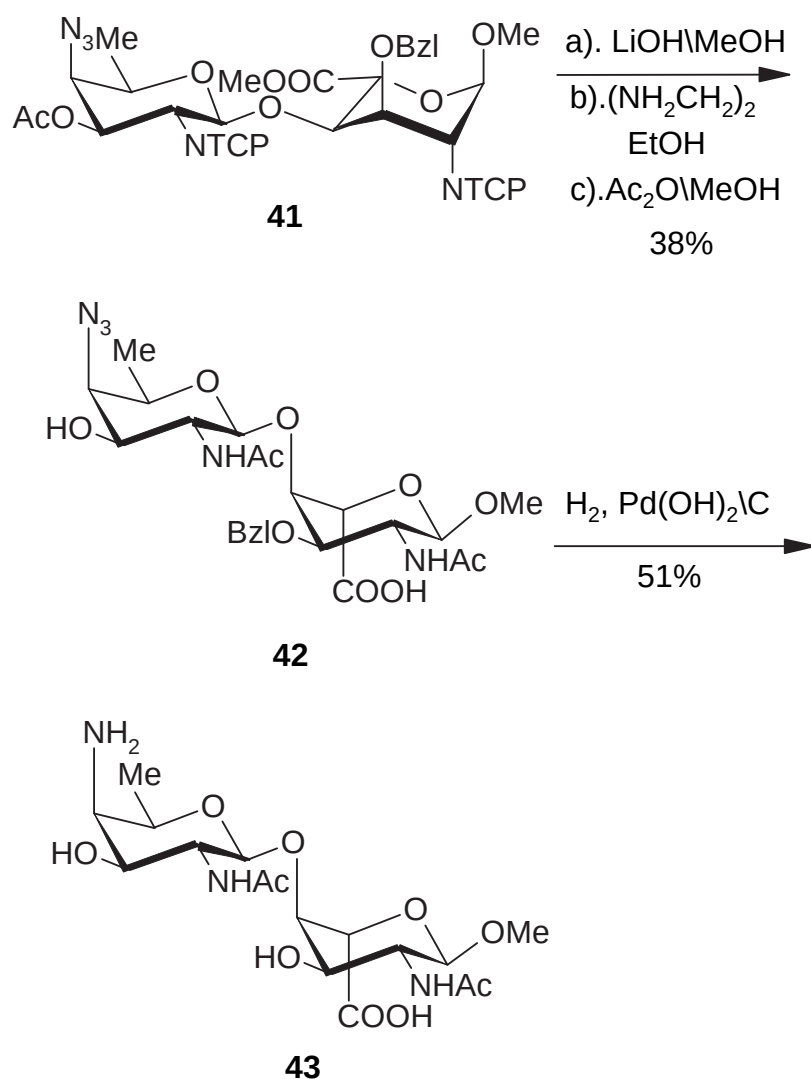
38 + **33** → **40**, R= NPhth, 89%

28 + **34** → ∅



17. ábra.

nem járt sikerrel. Irodalmi adatok szerint az *N*-tetraklórftaloil funkció enyhe körülmények között könnyen lehasítható etilén-diaminnal [77]. A védőcsoportok eltávolításának sorrendje az irodalmi javaslatok figyelembe vételével történt. Első lépésként az uronsav metil-észterének hidrolízisét kellett végrehajtani, mivel ellenkező esetben etilén-diaminnal a metil-uronátból a megfelelő amid képződik. Az azido funkciót utolsó lépésként redukáltam, a galaktóz 4-amino csoportjának acetileződése elkerülése végett. Ezeknek figyelembe vételével a két *N*-tetraklórftaloilt tartalmazó **41** diszacharid védőcsoportjainak eltávolítása a következőképpen történt (18. ábra):



18. ábra.

1. első lépésként a **41** uronsav metil-észtert hidrolizáltam LiOH-al [181], metanol:víz = 3:1 oldatban,

	39	40	41	42	43
<i>H</i> -1	4,65	5,15	4,79	4,70	4,8
<i>H</i> -2	*	3,93	4,48	*	*
<i>H</i> -3	4,14	3,98	*	*	3,74
<i>H</i> -4	3,98	4,36	*	4,63	4,44
<i>H</i> -5	4,68	4,76	*	4,52	4,46
COOCH ₃	*	3,82	3,86	-	-
OCH ₃	3,52	3,35	3,32	3,48	3,50
NHCOCH ₃	2,0	-	-	1,93;1,8	2,06;1,99
COCH ₃	1,9	2,1	2,05	-	-
<i>H</i> -1'	5,30	5,35	5,39	4,72	4,8
<i>H</i> -2'	4,53	4,70	4,71	4,1	*
<i>H</i> -3'	5,69	5,87	5,87	3,97	*
<i>H</i> -4'	*	4,01	*	3,62	*
<i>H</i> -5'	*	3,87	*	3,55	3,71
<i>H</i> -6'	1,3	1,48	1,41	1,3	1,35

* A jelek átfedése miatt ezen kémiai eltolódásokat nem tudtam meghatározni

5. táblázat. A **39**, **40**, **41**, **42**, **43** vegyületek δ^1H kémiai eltolódásai (ppm)

2. második lépésként a tetraklórfaltoil csoportot 6 ekvivalens etilén-diaminnal metanolban reflux hőmérsékleten lehasítottam,
3. harmadik lépésként a 2-amino csoportokat MeOH/Ac₂O-el acetileztem 0° C-on . A termékelegy többszörös oszlopkromatográfiás tisztítást igényelt és így 38%-os izolált hozammal nyertem a **42** vegyületet,
4. negyedik lépésként Pd(OH)₂/C-el hidrogén atmoszférában etanol:ecetsav = 1 : 1 elegyben a galaktóz azido csoportját aminná redukáltam és a benzil csoportot eltávolítottam. A **43** végterméket 51%-os hozammal izoláltam.

A szintetizált diszacharidok szerkezetét ¹H és ¹³C NMR-el bizonyítottam (5. és 6. táblázat). A **39**, **40**, **41**, **42** és **43** vegyületek nagy $J_{1',2'}$ csatolási állandói (8,2; 8,4; 8,5; 8,6; 8,5 Hz) bizonyítják a β -glikozidos kötés jelenlétét. A csatolási értékek alapján a **39**, **40**, **42** és **43** diszacharidokban mind a galaktóz mind pedig az altróz egység ⁴C₁ konformációban található. A **41** vegyület kis $J_{1,2}$ és $J_{2,3}$ csatolási (2,5 és 2,5 Hz) értékei a H-1/H-2 és H-2/H-3 protonok *transz*(*ee*) helyzetét bizonyítják és ennek megfelelően az altróz egység ¹C₄ konformációs állapotát mutatják.

Csatolási állandó értékek	39	40	41	42	43
$J_{1,2}$	6,7	8,2	2,5	8,5	8,8
$J_{2,3}$	6,7	11,1	2,5	*	10
$J_{3,4}$	3,0	2,0	*	2,5	3,0
$J_{4,5}$	2,0	2,1	*	2,0	3,0
$J_{1',2'}$	10,6	8,4	8,5	8,6	8,5
$J_{2',3'}$	11,3	11,2	11,0	10,5	*
$J_{3',4'}$	3,5	3,7	4,0	2,5	*
$J_{4',5'}$	*	*	*	2,5	*
$J_{5',6'}$	6,3	6,3	6,0	6,0	6,6

* A jelek átfedése miatt ezen csatolási állandókat nem tudtam meghatározni

6. táblázat. A **39, 40, 41, 42, 43** vegyületek csatolási állandói (Hz)

3.1.7. A II szekvencia szintézise

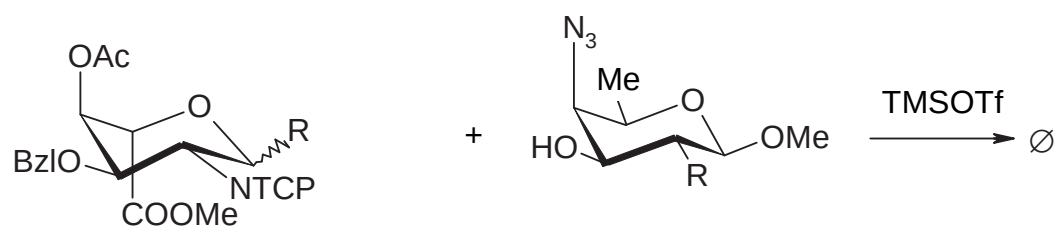
A II szerkezetnek megfelelő diszacharid szintézisének tanulmányozása céljából számos glikozilezési reakciót hajtottam végre. Az alkalmazott donorokat, akceptorokat, reakciókörülményeket, valamint a kapcsolási reakciók hozamait 7. táblázatban foglaltam össze:

Donor	Akceptor	Aktivátor	Diszacharid	Hozam (%)
35	14	TMSOTf	Ø	
35	12	TMSOTf	44	69
35	31	TMSOTf	45	44
36	31	AgOTf	45	35

7. táblázat. A II szekvencia előállítására alkalmazott glikozilezési reakciók eredményei

A II szekvencia előállítására donorként a 2-NTCP-vel védett **35** imidátot és a **36** bromidot alkalmaztam, akceptorként a 2-NHAc(**14**), 2-NPhth(**12**) és 2-NTCP(**31**) galaktózszármazékokat használtam fel. A **35** imidát donort TMSOTf-al aktiváltam (19. ábra). A 2-N-ftaloil (**12**) akceptor glikozilezése a **35** imidáttal 69%-os hozammal eredményezte a **44** diszacharidot. Jóval alacsonyabb hozammal(44%) nyertem a **45** diszacharidot a 2-N-tetraklótftaloillal védett **31** akceptorral és az előbbi donorral (**35**) végrehajtott kapcsolási reakció során. Ugyanazt a **45** diszacharidot nyertem a **36** glikozil-bromid donor és a **31** 2-NTCP akceptor reakciója során alacsonyabb, 35%-os hozammal. Nem keletkezett a várt diszacharid a 2-NHAc(**14**) akceptor glikozilezésekor.

Az alacsony hozamok magyarázata, valószínűleg az uronsav donorok kis reaktivitása [182] és az akceptor és donor közötti szterikus gátlás, ezt a térbeli gátlást a viszony-



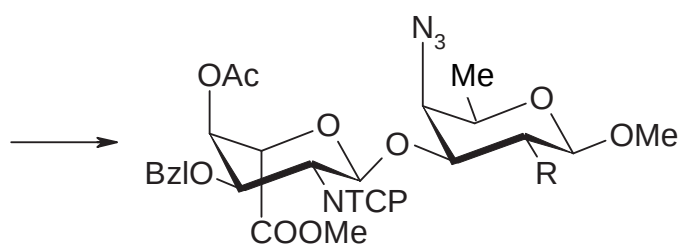
35 R = OC(=NH)CCl₃

36 R = Br

14 R = NHAc

12 R = NPhth

31 R = NTCP



35 + **14** → Ø

35 + **12** → **44**, R = NPhth, 69%

35 + **31** → **45**, R = NTCP, 44%

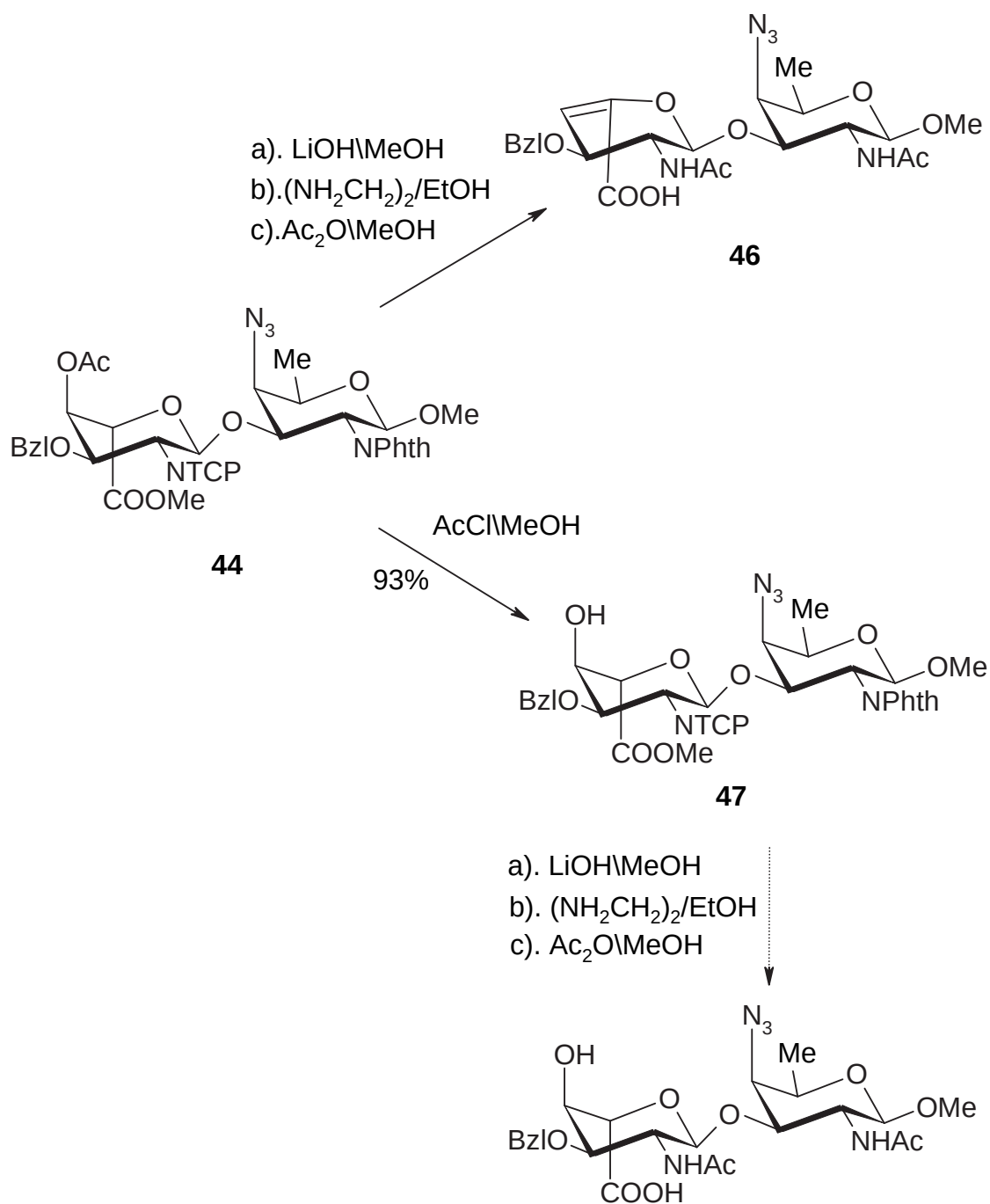
36 + **31** → **45**, R = NTCP, 35%

19. ábra.

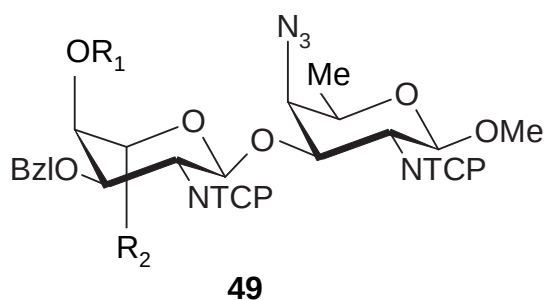
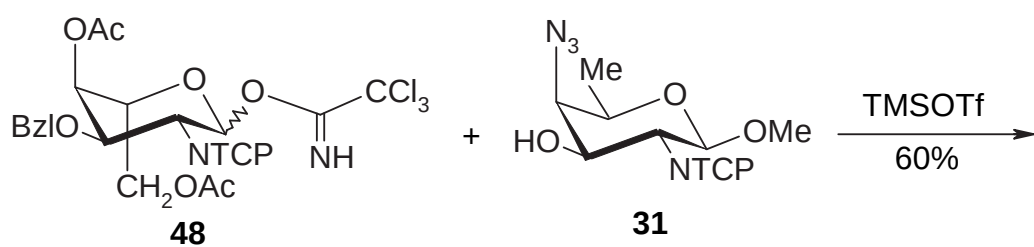
lag nagy 2-*N*-ftaloil és 2-*N*-tetraklórftaloil funkciók jelenléte okozza [167] és valószínűleg ez a magyarázata annak, hogy a 2-*N*-ftaloilt tartalmazó akceptorral jobb eredményt sikerült elérnem.

A II. szekvencia védőcsoportjainak eltávolítása (20. ábra) az I szekvenciánál felhasznált reakciók alkalmazásával történt. Első lépésként **44** vegyületet LiOH-al kezeltem, metanol:víz = 3:1 oldatban, melynek következtében hidrolízis mellett C-4/C-5 ecetsav eliminációt tapasztaltam a **46**-os termék NMR-analízise alapján. Irodalmi adatok szerint uronsavak β -eliminációja mellékreakcióként könnyen bekövetkezhet a Zemplén-féle dezacetilezés körülményei között [183]. Az én esetemben a LiOH-val történt lúgos hidrolízis hasonló eredményhez vezetett. Ezért az első lépés előtt a β -elimináció elkerülése végett a **44** vegyületet savas közegben dezacetileztem. Az így nyert diszacharid (**47**) hidrolízise után a nyersterméket etilén-diaminnal kezeltem. A deftaloilezés sajnos sikertelen volt. Sikertelennek bizonyultak a két *N*-tetraklórftaloil csoporttal védett **45** diszacharid védőcsoportjainak eltávolítására végzett kísérletek is.

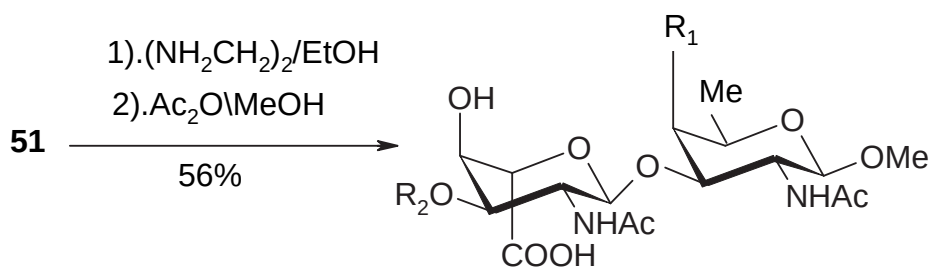
A II. szekvencia előállítására alkalmazott glikozilezési reakciók alacsony hozama, és a sikertelen deftaloilezések új reakcióút kidolgozására készítették. Az irodalomból ismert másik lehetőség uronsav tartalmú oligoszacharidok előállítására a glikozilezés után történő oxidáció. A szabad hidroxil csoportokat ideiglenesen védik, végrehajtják a kapcsolási reakciót, majd a védőcsoport eltávolítása után TEMPO-val (2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi) [182, 184–186] szelektíven oxidálják a primér hidroxil csoportot. A fentiek figyelembevételével a 21. ábrán látható reakciósort dolgoztam ki: a **31** akceptor 3-OH-ját a rendelkezésemre álló 4,6-di-*O*-acetyl-3-*O*-benzil-2-dezoxi-2-tetraklórftálimido- α -L-altropiranóz-triklór-acetimidáttal (**48**) glikozileztem, TMSOTf jelenlétében 60%-os hozammal nyerve a **49** diszacharidot. A **49** vegyület savas dezacetilezésével előállítottam az **50** 4,6-diolt, amelyet TEMPO-val és NaOCl-tal KBr és Bu₄NBr jelenlétében fázistranszfer körülmények között 61%-os hozammal az **51** uronsavvá oxidáltam. Az **51** vegyületet 6 ekvivalens etilén-diaminnal kezeltem [77], majd a nyersterméket metanolban ecetsavanhidriddel 0°C-on *N*-acetileztem, melynek eredményeképpen a metil-[2-acetamido-3-*O*-benzil-2-dezoxi- α -L-altropiranozil)uronsav]-(1→3)-2-acetamido-4-azido-2,4,6-tridezoxi-2-tetraklórftálimido- β -D-galaktopiranozidot (**52**) 56%-os hozammal nyertem. Végül katalitikus hidrogénezéssel eltávolítottam az **52** vegyületből a benzil csoportot és az azido funkciót 4-aminná redukáltam, így az **53** végterméket 51% hozammal izoláltam. Az előállított **44**, **45**, **52** és **53** diszacharidok szerkezetének igazolását NMR módszerekkel végeztem (8. és 9. táblázat). A nagy $J_{1',2'}$ csatolási állandó értékek (9; 9;



20. ábra.



	R ₁	R ₂
a → 49	Ac	CH ₂ OAc
b → 50	H	CH ₂ OH
c → 51	H	COOH



	R ₁	R ₂
c → 52	N ₃	Bzl
c → 53	NH ₂	H

Reagensek és reakciókörülmények: (a) HCl, MeOH, 1 nap, 98%; (b) TEMPO, NaOCl, 2 óra, 61%; (c) H₂, Pd(OH)₂/C, EtOH, CH₃COOH, 4 nap, 51%.

21. ábra.

	44	45	52	53
<i>H</i> -1	4,72	4,79	4,26	4,32
<i>H</i> -2	4,25	4,35	3,99	3,72
<i>H</i> -3	4,62	4,66	4,04	3,80
<i>H</i> -4	4,15	4,20	4,08	4,40
<i>H</i> -5	3,72	3,77	3,77	3,98
<i>H</i> -6	1,32	1,40	1,30	1,24
<i>H</i> -1'	5,48	5,58	5,03	4,77
<i>H</i> -2'	4,38	4,42	4,21	3,87
<i>H</i> -3'	3,96	3,99	3,66	3,55
<i>H</i> -4'	5,70	5,79	4,48	*
<i>H</i> -5'	4,66	4,72	4,42	*
COOCH ₃	3,83	3,93	-	-
OCH ₃	3,20	3,33	3,40	3,40
NHCOCH ₃	-	-	1,90;1,98	1,90;1,93
COCH ₃	2,11	2,2	-	-

* A jelek átfedése miatt ezen kémiai eltolódásokat nem tudtam meghatározni

8. táblázat. A 44, 45, 52, 53 vegyületek δ^1H kémiai eltolódásai (ppm)

6,8; 8,6 Hz) bizonyítják a 1,2-*transz* glikozidos kötés jelenlétét. A csatolási állandók értékei azt mutatják, hogy a 44, 45, 52 és 53 diszacharidokban mind a galaktóz mind pedig az altróz egység 4C_1 konformációban található.

3.1.8. A diasztereomér glikozidok szintézise

A diasztereomér diszacharidok szintézise két okból történt:

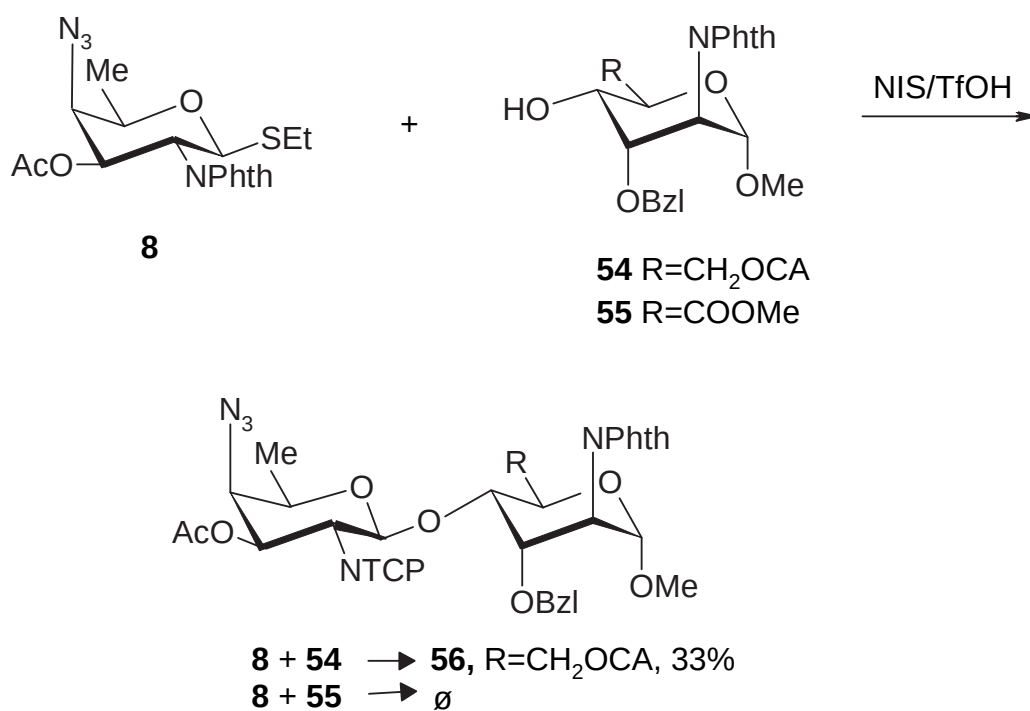
- arra a kérdésre kerestem a választ, hogy kiváltható-e immunválasz a nem természetes D-altruronsavat tartalmazó diszachariddal,
- a D-altróz D-glükózból előállítható, így jóval olcsóbb mint az L-altróz és így ezeken a modellvegyületeken tanulmányozhatom származékaim kémiai tulajdonságait.

A diasztereomér diszacharidok szintéziséhez glikozil donorként a 8 galaktóz származékot, akceptorként a dr. Bajza István kollégám által rendelkezésemre bocsájtott metil-3-O-benzil-2-dezoxi-2-ftálimido-6-O-klóracetil- α -D-altropiranozid (54) és a metil-(metil-3-O-benzil-2-dezoxi-2-ftálimido- α -D-altropiranozid)uronátot 55 használtam fel [187] (22. ábra). A 8 tioetil donort diklórmetánban NIS/TfOH-al aktiváltam. A kapcsolási reakciók során 33% hozammal nyertem az 56-os diszacharidot, míg a kis reaktivitású 55 uronsav glikozilezésekor nem sikerült előállítanom a várt diszacharidot. A 2-dezoxi-2-ftálimido-tioetil glikozidok

Csatolási állandó értékek	44	45	52	53
$J_{1,2}$	8,5	8,5	8,1	8,7
$J_{2,3}$	11,0	11,0	10,7	10,9
$J_{3,4}$	3,5	3,5	3,3	4,6
$J_{4,5}$	1,5	1,0	2,3	4,6
$J_{5,6}$	6,0	6,0	6,4	6,7
$J_{1',2'}$	9,0	9,0	6,8	8,6
$J_{2',3'}$	11,0	11,0	8,8	10,8
$J_{3',4'}$	3,0	3,0	3,0	3,0
$J_{4',5'}$	2,5	2,0	4,0	*

* A jelek átfedése miatt ezen kémiai eltolódásokat nem tudtam meghatározni

9. táblázat. A 44, 45, 52, 53 vegyületek csatolási állandói (Hz)

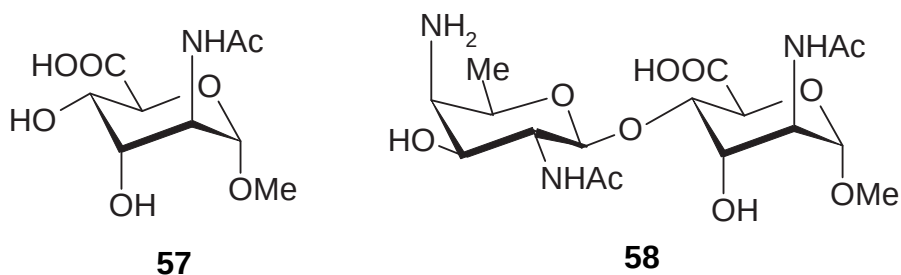


22. ábra.

sikertelen alkalmazása miatt tanszékünkön egyéb 2-*N*-védőcsoportok és glikozil donorok felhasználásának irányába folynak kutatások. Jóllehet a diasztereomér diszacharidok esetében különbségek tapasztalhatók az irodalomban [167] a hasonló körülmények között lejátszódó reakciókban, az én esetemben gyakorlatilag ugyanazon eredményeket tapasztaltam az L- és a D-altróz származékok glikozilezési reakcióiban.

3.1.9. Immunológiai vizsgálatok

A rendelkezésemre álló metil-2-acetamido-4-amino-2,4,6-tridezoxi- β -D-galaktopiranozid (15), metil-(2-acetamido-4-amino-2,4,6-tridezoxi- β -D-galaktopiranozil)-(1 $\rightarrow$ 4)-(2-acetamido-2-dezoxi- α -L-altropiranozid)uronsav (43), metil-(2-acetamido-2-dezoxi- α -L-altropiranozid)uronsav (57), metil-(2-acetamido-4-amino-2,4,6-tridezoxi- β -D-galaktopiranozil)-(1 $\rightarrow$ 4)-(2-acetamido-2-dezoxi- α -D-altropiranozid)uronsav (58) vegyületek (23. ábra) immunológiai



23. ábra.

vizsgálatát a Pécsi Orvostudományi Egyetem Mikrobiológiai Tanszékén a Kontrohr Tivadar vezette kutatócsoport végezte. A vizsgálat a passzív hemolízis inhibíció teszt alkalmazásával történt [188]. A módszer lényege, hogy *Shigella sonnei* antigén ellen termelt ellenanyagot tartalmazó nyúl immunsavót az általunk szintetizált, feltételezett antigén különböző koncentrációjú oldatával hoztak kölcsönhatásba. Ezután *Shigella sonnei* LPS-al érzékenyített bárány vörösvértest szuszpenziót adagoltak az elegyhez, végül pedig tengeri malac komplementtel idézték elő az antigénnel reakcióba lépett vörösvértestek hemolízisét. Meghatározták az 50%-os hemolízis gátlást előidéző mono- és diszacharidok koncentrációját. Minél jobb antigén a gátló anyag annál kisebb koncentrációnál gátolja a hemolízist. A vizsgálat eredményeképpen a diszacharid lényegesen kisebb koncentrációnál idézett elő 50%-os hemolízis gátlást, mint a monoszacharidok (10. táblázat) [189]. A monoszacharidok közül az 57 L-altururonsav származék bizonyult jobb hemolízist gátló anyagnak. A nem természetes, 58 D-altururonsavat tartalmazó diszacharid 20%-nál kisebb hemolízis gátlást mutatott. Ez az eredmény azt mutatja, hogy a diszacharid antitesthez történő illeszkedése és affinitása

lényegesen kedvezőbb mint a diszacharidot felépítő monoszacharidoké.

Antigén	IK ₅₀ (mM) ^b
43	3,9
57	6,9
15	9,8

^a: IK₅₀: 50%-os inhibíciós koncentráció

^b: becsült mérési hiba : $\leq 10\%$

10. táblázat. A **43, 57, 15** szintetizált szénhidrátszármazékok azon koncentrációja, amellyel 50%-os hemolízis inhibíciót értek el^a.

4. Kísérleti rész

Az olvadáspontokat Kofler készülékkel határoztam meg, az értékek nem korrigáltak. Az optikai forgatóképességet Perkin-Elmer 241 polariméterrel mérték, szobahőmérsékleten. Az NMR spektrumok felvétele Bruker WP-200 SY (^1H 200 MHz, ^{13}C 50,3 MHz), Bruker AM-360 (^1H 360 MHz, ^{13}C 90,54 MHz), Bruker DRX-500 (^1H 500 MHz, ^{13}C 125,76 MHz) készülékekkel történt szobahőmérsékleten, Me_4Si belső standard alkalmazásával. A tömegspektrumokat VG 7035 tömegspektrométerrel készítették. Az IR felvételeket Perkin-Elmer 283B spektrofotométerrel készítettem. A reakciók lefutását Kieselgel 60 F_{254} vékonyrétegen készült kromatogramok alapján ellenőriztem. A detektálás UV-fényben, majd ezt követő kénsavas lefujással és melegítéssel történt. Az oszlopkromatográfiás tisztítások során Kieselgel 60 (0,063-0,2 mm, Merck) adszorbenst használtam. A kromatográfiához és extrakciókhoz használt oldószereket egyszeri desztillálással tisztítottam. Az absz. oldószerek készítésekor az adott oldószert a megfelelő szárítószerrel egy éjszakán át kevertettem, majd légköri (vagy csökkentett) nyomáson desztilláltam és aktivált molekulaszitán, argon atmoszférában tároltam. Az extraktív feldolgozások során a szerves oldatok szárítására izzított MgSO_4 -ot használtam. A nagy felbontású folyadékkromatográfiás vizsgálatokat Hewlett-Packard 1090 típusú készüléken végezték, refraktív index, és UV detektorokkal.

Etil-3-O-acetil-2-dezoxi-2-ftálimido-1-tio- β -D-glükopiranozid (4). 6,28 g (14,4 mmol) etil-3-O-acetil-2-dezoxi-2-ftálimido-4,6-O-izopropilidén-1-tio- β -D-glükopiranozidot (3) [167] 20 ml CH_2Cl_2 -ban oldottam és 2 ml CF_3COOH -val és 0,5 ml vízzel két órát szobahőmérsékleten kevertettem. Ezután bepároltam és oszlopkromatográfiásan tisztítottam (CH_2Cl_2 -MeOH 95:5), 5,45 g **4** terméket nyerve 96%-os hozammal: $[\alpha]_{\text{D}} + 5,7^\circ$ (c 0,75 CHCl_3); R_f 0,3 (CHCl_2 -MeOH 95:5); ^1H (200 MHz, CDCl_3); δ 5,73 (t, 1 H, $J_{3,4}$ 8,31 Hz, H -3), 5,54 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 11 Hz, H -1), 4,3 (t, 1 H, $J_{2,3}$ 9,2 Hz, H -2), 2,69 (m, 2 H, SCH_2CH_3), 1,93 (s, 3 H, CH_3CO), 1,21 (t, 3 H, SCH_2CH_3); ^{13}C (90,54 MHz, CDCl_3); δ 81,0 (C-1), 78,7; 74,4 és 69,9 (C-3, C-4, C-5), 62,3 (C-6), 53,7 (C-2), 24,4 (SCH_2CH_3), 20,7 (CH_3CO), 14,9 (SCH_2CH_3). Anal. számított ($\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{O}_7\text{NS}$): C, 54,68; H, 5,32; N, 3,54; S, 8,10. Mért: C, 54,61; H, 5,29; N, 3,43; S, 7,98.

Etil-3-O-acetil-2-dezoxi-2-ftálimido-1-tio-4,6-di-O-tozil- β -D-glükopiranozid (5). 4,8 g **4** (12,1 mmol) piridin- CH_2Cl_2 = 9:1-es (25 ml) oldatához jeges hűtés közben 9,9 g (51,9 mmol) *p*-toluolszulfonil-kloridot adtam és 1 órán át kevertettem majd 2 napot a hűtőszekrényben állni hagytam. Jeges NaHCO_3 -os vízre öntöttem, CH_2Cl_2 -nal extraháltam, 1 N-os H_2SO_4 oldattal, majd vízzel mostam, szárítottam, bepároltam, a nyersterméket etanolból

kristályosítottam így nyerve az 5-ös vegyületet (6,58g, 77,0%): op. 160-162 °C: $[\alpha]_D - 7,8^\circ$ (c 1,0 C₅H₅N); ¹H (360 MHz, CDCl₃); δ 7,20-7,83 (m, 12 H, Ph), 5,78 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 10,0 Hz, *H*-3), 5,44 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 10,8 Hz, *H*-1), 4,66 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 8,80 Hz, *H*-2), 4,25 (m, 2 H, *H*-6), 3,98 (dd, 1 H, $J_{4,5}$ 6,1 Hz, *H*-4), 3,79 (m, 1 H, $J_{5,6a}$ 9,5 Hz, $J_{5,6b}$ 2,1 Hz, *H*-5), 2,41 (2s, 6 H, CH₃C₆H₄), 2,54 (m, 2 H, SCH₂CH₃), 1,70 (s, 3 H, CH₃CO), 1,11 (t, 3 H, SCH₂CH₃); ¹³C NMR (90,54 MHz, CDCl₃); δ 80,07 (C-1), 75,1; 74,6 és 70,05 (C-3, C-4, C-5), 67,7 (C-6), 53,44 (C-2), 24,30 (SCH₂CH₃), 21,32 (CH₃CO), 20,11 (CH₃C₆H₄), 14,91 (SCH₂CH₃). CIMS: m/z 721 [(M+NH₄⁺)]. Anal. számított (C₃₂H₃₃NO₁₁S₃): C, 54,60; H, 4,72; N, 1,99; S, 13,66. Mért: C, 54,57; H, 4,61; N, 1,87; S, 13,51.

Etil-3-O-acetil-2,6-didezoxi-2-ftálimido-6-jód-1-tio-4-O-tozil- β -D-glükopiranozid

(6). 610 mg (0,92 mmol) 5 száraz *n*-butanonos oldatához 200 mg száraz NaI-ot (1,33 mmol) adtam és reflux hőmérsékleten 16 órát kevertettem. A reakcióelegyet lehűtöttem, szűrtem, bepároltam, majd CH₂Cl₂-ban feloldottam és 10% Na₂S₂O₃-al és vízzel mostam, szárítottam és bepároltam. A nyersterméket EtOH-ból kristályosítottam, 69%-os hozammal nyertem a színtelen kristályos (6) terméket op: 180-181 °C: $[\alpha]_D - 17,82^\circ$ (c 1,1 CHCl₃); ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃); δ 7,25-7,90 (m, 8 H, Ph), 5,87 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 9,5 Hz, *H*-3), 5,53 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 10,5 Hz, *H*-1), 4,69 (t, 1 H, $J_{4,5}$ 9,3 Hz, *H*-4), 4,35 (t, 1 H, $J_{2,3}$ 9,00 Hz, *H*-2), 3,64 (m, 1 H, $J_{5,6a}$ 2,8 Hz, $J_{5,6b}$ 8,00 Hz, *H*-5), 3,61 (dd, 1 H, $J_{6a,6b}$ 11,0 Hz, *H*-6a), 3,18 (dd, 1 H, *H*-6b), 2,76 (m, 2 H, SCH₂CH₃), 2,43 (s, 3 H, CH₃Ph), 1,71 (s, 3 H, CH₃CO), 1,27 (t, 3 H, SCH₂CH₃); ¹³C NMR (50,3 MHz, CDCl₃); δ 80,69 (C-1), 78,93; 70,30, (C-3, C-4, C-5), 54,13 (C-2), 24,46 (SCH₂CH₃), 21,62 (CH₃CO), 20,19 (CH₃Ph), 15,03 (SCH₂CH₃), 3,74 (C-6); CIMS: m/z 677 [(M+NH₄)⁺]. Anal. számított (C₂₅H₂₆INO₈S₂): C, 45,52; H, 3,97; I, 19,24; N, 2,12; S, 9,72. Mért: C, 45,48; H, 3,84; I, 19,19; N, 2,02; S, 9,56.

Etil-3-O-acetil-2,6-didezoxi-2-ftálimido-1-tio-4-O-tozil- β -D-glükopiranozid (7).

a). 27,4g-ot a 6-ből (41,58 mmol), 200 ml száraz CH₂Cl₂-al, 60g Zn porral és 20 ml AcOH-val (99,5%) 2 órán keresztül erőteljesen kevertettem. Ezután celiten átszűrtem, 5%-os NaHCO₃-al, majd vízzel mostam, szárítottam, bepároltam és etanolból átkristályosítottam, így nyerve 16,76g (76%) 7-et: op. 122-124 °C: $[\alpha]_D - 3,2^\circ$ (c 1,091, CHCl₃); ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃); δ 7,28-7,90 (m, 8 H, Ph), 5,82 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 9,0 Hz, *H*-3), 5,45 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 10,5 Hz, *H*-1), 4,58 (t, 1 H, $J_{4,5}$ 9,0 Hz, *H*-4), 4,33 (t, 1 H, $J_{2,3}$ 10,00 Hz, *H*-2), 3,76 (m, 1 H, *H*-5), 2,66 (m, 2 H, SCH₂CH₃), 2,44 (s, 3 H, CH₃Ph), 1,68 (s, 3 H, CH₃CO), 1,34 (d, 3 H, *H*-6), 1,19 (t, 3 H, SCH₂CH₃); ¹³C NMR (50,3 MHz, CDCl₃); δ 80,81 (C-1), 80,53, 74,36 és 70,70 (C-3, C-4, C-5), 54,20 (C-2), 24,09 (SCH₂CH₃), 21,54 (CH₃CO), 20,17 (CH₃Ph), 17,96 (6-CH₃), 14,78 (SCH₂CH₃); CIMS: m/z 551 [(M+NH₄)⁺]. Anal. számított (C₂₅H₂₇NO₈S₂): C, 56,27; H, 5,09;

N, 2,62; S, 12,01. Mért: C, 56,23; H, 5,01; N, 2,52; S, 11,85.

b). 5,48 g **6** (8,31 mmol) száraz etanolos oldatához 10%-os Pd/C (3,25g)-ot és 3,25 ml Et₃N-t adtam, majd hidrogén atmoszférában 2 órán át erőteljesen kevertettem. A katalizátort kiszűrtem, etanollal mostam, a szűrletet bepároltam és etanolból átkristályosítottam. A **7**-es terméket 86%-os (3,79g) hozammal izoláltam.

c). 30 mg (8,31 mmol) 6-jód származékot (**6**) toluolban (1 ml) Bu₃SnH (16 µl, 59 mmol) és katalitikus mennyiségű azo-bisz-izobutironitrillel reflux hőmérsékleten 15 percet kevertettem. Bepároltam és oszlopkromatográfiával tisztítottam (hexán), így nyerve 18mg (74%) **7** vegyületet.

Etil-3-O-acetil-4-azido-2,4,6-tridezoxi-2-ftálimido-1-tio-β-D-galaktopiranozid (8).

4,98g (9,34mmol) 6-dezoxi származékot (**7**) száraz *N,N*-dimetil-formamidban (10 ml) oldottam és 2,75g (42,3 mmol) nátrium azidot adtam az oldathoz, majd 120°C-on 16 órát keveredett, mialatt a reakcióelegy pH-ját ecetsavval semlegesén tartottam. Ezután lehűtöttem, CH₂Cl₂-nal hígítottam, a sókat kiszűrtem, vízzel mostam, szárítottam, bepároltam és a terméket Ac₂O (10 ml)/piridinben (10 ml) vissza acetileztem (1 éjszaka, 60°C -on). Az elegyet bepároltam, CH₂Cl₂-ban oldottam, 1 M-os H₂SO₄-ben, vízzel mostam, szárítottam, bepároltam, etanolból kristályosítottam 2,3g **8**-et nyerve, 61%-os hozammal: op. 106-108 °C: [α]_D 48,8° (c 0,48 CHCl₃); IR (KBr): ν 2100 cm⁻¹ (azid); ¹H NMR (360 MHz, CDCl₃); δ 7,68-7,92 (m, 4 H, Ph), 5,88 (dd, 1 H, J_{3,4} 3,5 Hz, *H*-3), 5,33 (d, 1 H, J_{1,2} 10 Hz, *H*-1), 4,65 (t, 1 H, J_{2,3} 10 Hz, *H*-2), 3,99 (dd, 1 H, J_{4,5} 2 Hz, *H*-4), 3,94 (m, 1 H, J_{5,6} 6 Hz, *H*-5), 2,69 (m, 2 H, SCH₂CH₃), 1,99 (s, 3 H, CH₃CO), 1,41 (d, 3 H, *H*-6), 1,19 (t, 3 H, SCH₂CH₃); ¹³C NMR (90,54 MHz, CDCl₃); δ 80,61 (C-1), 73,28 (C-5), 71,33 (C-3), 63,63 (C-4), 49,86 (C-2), 23,59 (SCH₂CH₃), 20,40 (CH₃CO), 17,80 (6-CH₃), 14,70 (SCH₂CH₃); CIMS: *m/z* 379 [(M-N₂+H₃)⁺], 422 [(M+NH₄)⁺]. Anal. számított (C₁₈H₂₀N₄O₅S): C, 53,45; H, 4,98; N, 13,85; S, 7,92. Mért: C, 53,40; H, 4,89; N, 13,72; S, 7,79.

Etil-4-azido-2,4,6-tridezoxi-2-ftálimido-1-tio-β-D-galaktopiranozid (9). 144 mg (0,40 mmol) **8**-at 2 ml metanolban 5 mg NaOMe-al dezacetileztem. 30 perc után ioncserélő gyan-tával semlegesítettem (Amberlite IR 120 (H⁺)), szűrtem, bepároltam, CH₂Cl-MeOH 98:2 eluenssel oszlopkromatográfiával tisztítottam 129 mg (88%) kristályos **9** terméket nyerve: op. 129-131 °C: [α]_D +10,2° (c 1,1 CHCl₃); ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃); δ 7,68-7,90 (m, 4 H, *H* Ph), 5,24 (d, 1 H, J_{1,2} 10 Hz, *H*-1), 4,63 (ddd, 1 H, J_{3,4} 4 Hz, *H*-3), 4,33 (t, 1 H, J_{2,3} 10 Hz, *H*-2), 3,95 (dq, 1 H, J_{5,6} 6,2 Hz, *H*-5), 3,84 (dd, 1 H, J_{4,5} 1,8 Hz, *H*-4), 2,67 (m, 2 H, SCH₂CH₃), 1,46 (d, 3 H, *H*-6), 1,21 (t, 3 H, SCH₂CH₃); ¹³C NMR (50,3 MHz, CDCl₃); δ 80,75 (C-1), 74,29, 69,34

(C-5, C-3)), 67,12 (C-4), 53,20 (C-2), 23,67 (SCH₂CH₃), 17,92 (6-CH₃), 14,76 (SCH₂CH₃). Anal. számított (C₁₆H₁₈N₄O₄S): C, 53,04; H, 4,97; N, 15,47; S, 8,84. Mért: C, 53,20; H, 4,91; N, 15,72; S, 8,79.

Metil-3-O-acetil-4-azido-2,4,6-tridezoxi-2-ftálimido-β-D-galaktopiranozid (10).

a). 500 mg (1,24 mmol) **8**-at 5 ml száraz CH₂Cl₂-ben oldottam és 3 Å-s por molekulaszitával 340 μl (4,9 mmol) száraz metanollal 1 órát kevertettem, ezután (570 μl, 5,0 mmol) MeOTf-ot csepegtettem a reakcióelegyhez. 24 óra múlva Et₃N-nal semlegesítettem (0,75 ml), szűrtem, bepároltam, oszlopkromatográfiával tisztítottam (hexán-EtOAc 7:3) 292 mg (63,1%) metil-glikozidot **10** nyerve: [α]_D -58,6° (c 0,3, CHCl₃); R_f 0,57; ¹H (200 MHz, CDCl₃); δ 7,85-8,00 (m, 4 H, *H* aromás), 5,70 (dd, 1 H, *J*_{3,4} 4,2 Hz, *H*-3), 5,19 (d, 1 H, *J*_{1,2} 9,9 Hz, *H*-1), 4,04 (dd, 1 H, *H*-4), 4,01 (dd, 1 H, *J*_{2,3} 11,5 Hz, *H*-2), 3,88 (dd, 1 H, *J*_{5,6} 6,1 Hz, *H*-5), 3,37 (s, 3 H, OCH₃), 1,89 (s, 3 H, CH₃CO), 1,42 (d, 3 H, *H*-6); ¹³C NMR (50,3 MHz, CDCl₃): d 98,81 (C-1), 70,58 (C-5), 69,02 (C-3), 63,35 (C-4), 56,44 (OCH₃), 51,05 (C-2), 20,28 (CH₃CO), 17,28 (6-CH₃); CIMS:*m/z* 349 [(M-N₂+H₃)⁺], 392 [(M+NH₄)⁺]. Anal. számított (C₁₇H₁₈N₄O₆): C, 54,54; H, 4,81; N, 14,97. Mért: C, 54,48; H, 4,71; N, 14,77. További eluálással izoláltam a **11**-es mellékterméket 26%-os hozammal (116 mg): [α]_D -120,3° (c 1,03, CHCl₃); ¹H (360 MHz, CDCl₃); δ 7,68-7,82 (m, 4 H, Ph), 5,75 (dd, 1 H, *J*_{3,4} 3,9 Hz, *H*-3), 5,29 (d, 1 H, *J*_{1,2} 8 Hz, *H*-1), 4,36 (dd, 1 H, *J*_{2,3} 11 Hz, *H*-2), 3,78 (dd, 1 H, *J*_{4,5} 1,3 Hz, *H*-4), 3,71 (dd, 1 H, *J*_{5,6} 6 Hz, *H*-5), 1,94 (s, 3 H, CH₃CO), 1,65 (s, 1 H, NH), 0,89 (d, 3 H, *H*-6); ¹³C (90,54 MHz, CDCl₃); δ 97,36 (C-1), 70,29, 69,10 (C-5, C-3), 62,73 (C-4), 50,89 (C-2), 20,35 (CH₃CO), 16,79 (C-6); CIMS:*m/z* 720 [(M-N₂+H₃)⁺]. Anal. számított (C₁₆H₁₆N₄O₆): C, 53,33; H, 4,44; N, 15,55. Mért: C, 53,29; H, 4,34; N, 15,38.

b). 940 mg (2,33 mmol) **8** száraz acetonitriles (10 ml) oldatát 189 μl száraz metanollal és 3 Å por molekulaszitával 1 órát kevertettem. A reakcióelegy 2,8 g (3,43 mmol) (BrPh)₃NSbCl₆-al elszíntelenedésig keveredett (kb. 30 perc), majd szűrtem, bepároltam és oszlopkromatográfiával tisztítottam, 757 mg terméket (87,0%) nyertem.

Metil-4-azido-2,4,6-tridezoxi-2-ftálimido-β-D-galaktopiranozid (12). 170 mg (0,454 mmol) **10** vegyületet 7 ml metanolban szuszpendáltam és jeges hűtés közben 1 ml acetyl-kloridot csepegtettem az elegyhez. Két napot kevertettem, majd bepároltam, diklórmetánban feloldottam és vízzel semlegesre mostam, szárítottam, bepároltam, 142 mg **12** terméket nyerve (75,5%): [α]_D 2,4° (c 0,3 CHCl₃); R_f 0,3 (CH₂Cl₂-EtOAc 95:5); ¹H (360 MHz, CDCl₃); δ 5,05 (d, 1 H), *J*_{1,2} 8,5 Hz, *H*-1), 4,56 (td, 1 H, *J*_{3,OH} 10 Hz; *J*_{3,4} 4 Hz *H*-3), 4,21 (dd, 1-H, *J*_{2,3} = 11 Hz, *H*-2), 3,90 (qd, *J*_{5,6} = 6,5 Hz, *H*-5), 3,79 (dd, 1 H, *J*_{4,5} 1 Hz, *H*-4), 3,40 (s,

3 H, OCH₃), 2,62 (d, 1 H, 3-OH), 1,46 (d, 3-H, *H*-6); ¹³C (90,54 MHz, CDCl₃); δ 99,02 (C-1), 69,98; 68,71 (C-3,5); 66,99 (C-4) 56,51 (OCH₃), 54,37 (C-2), 17,46 (C-6). Anal. számított (C₁₅H₁₆N₄O₅): C, 54,21; H 4,85; N 16,86. Mért: C, 54,19; H 4,83; N 16,89.

Metil-2-acetamido-3-O-acetil-4-azido-2,4,6-tridezoxi-β-D-galaktopiranozid (13). 146 mg (0,39 mmol) **10** 2 ml száraz etanolban, 2,5 ml etilén-diaminnal reflux hőmérsékleten 1 órát keveredett. A reakcióelegyet bepároltam, többször toluolt pároltam le róla és a nyers-terméket 3 ml ecetsavanhidriddel piridinben (3 ml) acetileztem. Hat óra múlva feldolgoztam és oszlopkromatográfiával CH₂Cl₂-CH₃OH 9:1 eluensben tisztítottam a **13**-es terméket nyerve 76%-os hozammal (85 mg) : op 216-220 °C: [α]_D -31,6° (c 0,44, DMSO); ¹H NMR (200 MHz, DMSO); δ 5,04 (dd, 1 H, *J*_{2,3} 11 Hz, *J*_{3,4} 4 Hz, *H*-3), 4,31 (d, 1 H, *J*_{1,2} 8,2 Hz, *H*-1), 4,02 (d, 1 H, *H*-4), 3,88 (m 1 H, *H*-5), 3,79 (m, 1 H, *H*-2), 3,31 (s, 3 H, OCH₃), 2,01 (s, 3 H, CH₃CON), 1,78 (s, 3 H, CH₃CO), 1,21 (d, 3 H, *J*_{5,6} 6 Hz, *H*-6); ¹³C NMR (50,3 MHz, DMSO); δ 101,52 (C-1), 73,13, 68,56 (C-5, C-3), 63,08 (C-4), 56,02 (OCH₃), 49,34 (C-2), 22,96 (CH₃CON), 20,52 (CH₃CO), 17,33 (6-CH₃); CIMS:*m/z* 261 [(M-N₂+H₃)⁺], 287 [(M+H)⁺], 304 [(M+NH₄)⁺]. számított C₁₁H₁₈O₅N₄: C, 46,14; H, 6,33; N, 19,57. Mért: C, 46,09; H, 6,17; N, 19,43.

Metil-2-acetamido-4-azido-2,4,6-tridezoxi-β-D-galaktopiranozid (14). 85 mg (0,30 mmol) **13**-at száraz metanolban (3 ml) katalitikus mennyiségű NaOCH₃-tal dezacetileztem, 1 óra után semlegesítettem IR (120 H⁺) gyantával, szűrtem, bepároltam, 70 mg (96,5%) **14** terméket nyerve: [α]_D-10,79° (c 0,77 MeOH); ¹H NMR (360 MHz, MeOD); δ 4,24 (d, 1 H, *J*_{1,2} 8,0 Hz, *H*-1), 3,88, (dd, *J*_{3,4} 3,5 Hz, *H*-3), 3,80 (dd, 1 H, *J*_{2,3} 10 Hz, *H*-2), 3,73 (m 1 H, *H*-5), 3,69 (dd, 1 H, *J*_{4,5} 1,5 Hz, *H*-4), 3,41 (s, 3 H, OCH₃), 1,97 (s, 3 H, CH₃CON), 1,31 (d, 3 H, *J*_{5,6} 6 Hz, *H*-6); ¹³C NMR (90,54 MHz, MeOD); δ 103,54 (C-1), 73,16, 70,59 (C-5, C-3), 67,54 (C-4), 57,15 (OCH₃), 53,88 (C-2), 23,04 (CH₃CON), 17,62 (6-CH₃); CIMS:*m/z* 217 [(M-N₂+H)⁺], 219 [(M-N₂+H₃)⁺], 245 [(M+H)⁺], 262 [(M+NH₄)⁺]. Anal. számított (C₉H₁₆N₄O₄): C, 44,25; H, 6,60; N, 22,93. Mért: C, 44,19; H, 6,48; N, 22,78.

Metil-2-acetamido-4-amino-2,4,6-tridezoxi-β-D-galaktopiranozid (15). 70 mg **14** száraz etanos oldatához (1 ml) 100 mg Pd/C-t (10%) adtam és hidrogén atmoszférában szobahőmérsékleten 2 órát kevertettem. A katalizátort kiszűrtem, etanollal mostam, majd a szűrletet bepároltam és oszlopkromatográfiával (CH₂Cl₂-CH₃OH 6:4, R_f 0,35) tisztítottam, 40 mg (63%) **15** terméket izolálva: [α]_D -8,72° (c 1,0, CH₃OH); ¹H NMR (200 MHz, CD₃OD); δ 4,22 (d, 1 H, *J*_{1,2} 8,0 Hz, *H*-1), 3,76 (dd, 1 H, *J*_{2,3} 10,5 Hz, *H*-2), 3,71 (m 1 H, *H*-5), 3,61 (dd, *J*_{3,4} 3,5 Hz, *H*-3), 3,45 (s, 3 H, OCH₃), 2,85 (dd, 1 H, *J*_{4,5} 1,5 Hz, *H*-4), 1,98 (s, 3 H, CH₃CON),

1,28 (d, 3 H, $J_{5,6}$ 6 Hz, $H-6$); ^{13}C NMR (90,54 MHz, CD_3OD); δ 103,93 (C-1), 73,31 (C-3), 71,42 (C-5), 56,87 (OCH_3), 55,89 (C-4), 53,63 (C-2), 22,95 (CH_3CON), 17,22 (6- CH_3); CIMS m/z 219 [$(\text{M}+\text{H})^+$]. Anal. számított ($\text{C}_9\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4$): C, 49,52; H, 8,31; N, 12,83. Mért: C, 49,46; H, 8,13; N, 12,63.

1,3,4,6-Tetra-O-acetil-2-dezoxi-2-tetraklórfáltalimido-D-glükopiranóz (18). 2,3 g 1,2,4,6-tetra-O-acetil-2-amino-2-dezoxi- β -D-glükopiranóz-hidrokloridot (17) (6 mmol) 10 ml piridinben 0,94 ml Et_3N -nal 15 percet kevertettem, ezután két részletben adagoltam a tetraklórfáltalsavanhidridet a reakcióelegyhez, először 1,088 g (3,78 mmol) majd 30 perc után 1,046g-ot (3,66 mmol) és 1,04 ml Et_3N -t. A reakcióelegy még 45 percet keveredett szobahőmérsékleten majd 80 °C-on 15 percet, miután 3,4 ml (1,24x6 mmol) ecetsavanhidriddel újabb 15 percet keveredett. Feldolgozáskor a reakcióelegyet bepároltam, és az anyagot CH_2Cl_2 -nal extraháltam, vízzel mostam, szárítottam, bepároltam, etanolból kristályosítottam 2,91 g (74%) terméket nyerve: op. 180-184° C; $[\alpha]_{\text{D}} +70,9^\circ$ (c 1,04, CHCl_3); ^1H NMR (360 MHz, CDCl_3); δ 6,52 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 8,5 Hz, $H-1$), 5,85 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 10,5 Hz, $J_{2,3}$ 9 Hz, $H-3$), 5,29 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 10,5 Hz, $H-2$), 4,51 (dd, 1 H, $J_{4,5}$ 10,5 Hz, $H-4$), 4,42 (dd, 1 H, $J_{5,6a}$ 4,5 Hz, $J_{6a,6b}$ 12,5 Hz, $H-6a$), 4,19 (dd, 1 H, $J_{5,6b}$ 2,5 Hz, $H-6b$), 4,04 (qd, 1 H, $H-5$), 2,17; 2,1; 2,09; 1,96 (4s, 4x3 H, CH_3CO); ^{13}C NMR (90,54 MHz, CDCl_3): 89,64 (C-1), 72,63, 70,71, 67,96 (C-3, C-4, C-5), 61,42 (C-6), 54,33 (C-2), 20,78; 20,68; 20,53; 20,41 (4x CH_3CO). Anal. számított ($\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{Cl}_4\text{NO}_{11}$): C, 42,95; H, 3,11; N, 2,27; Cl, 23,05. Mért: C, 43,01; H, 3,05; N, 2,18; Cl, 22,90.

Etil-3,4,6-tri-O-acetil-2-dezoxi-2-tetraklórfáltalimido-1-tio- β -D-glükopiranozid (19). 2,45 g (3,98 mmol) 18-et 20 ml száraz CH_2Cl_2 -ban oldottam 0,5 ml (1,7 x 3,98 mmol) etántiollal és 0,75 ml (1,5 x 3,98 mmol) $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ -al 20 órát keveredett. Ezután Et_3N -nal semlegesítettem, CH_2Cl_2 -nal hígítottam és vízzel mostam. Etanolból kristályosítva 2,3 g (93%) (19) terméket nyertem: op. 146-149 °C; $[\alpha]_{\text{D}} +54,7^\circ$ (c 1,01 CHCl_3); ^1H NMR (360 MHz, CDCl_3); δ 5,68 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 12 Hz, $H-1$), 5,38 (d, 1 H, $J_{4,5}$ 13,5 Hz, $H-4$), 5,13 (t, 1 H, $J_{3,4}$ 2,5 Hz, $H-3$), 4,3 (t, 1 H, $J_{2,3}$ 12,5 Hz, $H-2$), 4,24 (dd, 1 H, $J_{6a,6b}$ 16 Hz, $H-6a$), 4,1 (dd, 1 H, $H-6b$), 3,78 (qd, 1 H, $J_{5,6b}$ 3 Hz, $J_{5,6a}$ 6,5 Hz, $H-5$), 2,62 (m, 2 H, SCH_2CH_3); 2,23; 1,97; 1,84 (3s, 3x3 H, CH_3CO), 1,18 (t, 3 H, SCH_2CH_3); ^{13}C NMR (90,54 MHz, CDCl_3): 80,83 (C-1), 77,36; 76,00; 68,56 (C-3,4,5), 62,18 (C-6), 54,39 (C-2), 24,48 (SCH_2CH_3), 20,74; 20,58; 20,49 (3x CH_3CO), 14,86 (SCH_2CH_3). Anal. számított ($\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{Cl}_4\text{NO}_9\text{S}$): C, 42,80; H, 3,42; N, 2,26; Cl, 22,97; S, 5,19. Mért: C, 42,85; H, 3,35; N, 2,21; Cl, 23,00; S, 5,05.

Etil-2-dezoxi-2-tetraklórfáltalimido-1-tio- β -D-glükopiranozid (20). 2,04 g 19-t 70 ml

metanolban szuszpendáltam, majd 0°C-on 10 ml acetil-kloridot csepegtettem az elegyhez, két napot keveredett szobahőmérsékleten, majd NaOCH₃-al semlegesítettem és bepároltam. Kis mennyiséget szerkezet meghatározás céljából megtisztítottam (CH₂Cl₂-CH₃OH 85:15; R_f 0,6): [α]_D +16,63° (c 0,60 CHCl₃); ¹H NMR (360 MHz, DMSO); δ 5,51 (br s, 1 H, OH), 5,26 (d, 1 H, OH), 5,13 (d, 1 H, J_{1,2} 10,5 Hz, H-1), 4,62 (t, 1 H, OH) 4,0 (td, 1 H, J_{3,4} 9 Hz, H-3), 3,83 (t, 1 H, J_{2,3} 10,5 Hz, H-2), 3,72 (ddd, 1 H, J_{4,5} 5 Hz, H-4), 3,50 (m, 1 H, H-5), 3,18-3,3 (m, 2 H, H-6) 2,6 (m, 2 H, SCH₂CH₃), 1,11 (s, 3 H, SCH₂CH₃); ¹³C NMR (90,54 MHz, DMSO); δ 81,66 (C-1), 79,85, 71,48, 70,21 (C-3, C-4, (C-5) 60,92 (C-6), 57,28 (C-2), 23,33 (SCH₂CH₃), 14,83 (SCH₂CH₃). Anal. számított (C₁₆H₁₅Cl₄NO₆S): C, 39,12; H, 3,07; N, 2,85; Cl, 28,87; S, 6,52. Mért: : C, 39,22; H, 3,00; N, 2,80; Cl, 28,75; S, 6,67.

Etil-2-dezoxi-4,6-O-izopropilidén-2-tetraklórftálimido-1-thio-β-D-glükopiranozid

(21). A **20** nyersterméket 50 ml dimetoxi-propánban oldottam és p-toluolszulfonsavval a pH-ját 3-4-re állítottam. 3 nap múlva a reakcióelegyet CH₂Cl₂-vel hígítottam és 5% NaHCO₃-al és vízzel mostam, szárítottam, bepároltam, oszlopkromatográfiával tisztítottam (hexán-EtOAc 7:3, R_f 0,4) 1,67 g (95%) **21** terméket nyertem: [α]_D +18,3° (c 0,70); CHCl₃; ¹H NMR (360 MHz, CDCl₃); δ 5,2 (d, 1 H, J_{1,2} 11 Hz, H-1), 4,35 (dd, 1 H, J_{3,4} 9,5 Hz, H-3), 4,05 (t, 1 H, J_{2,3} 11 Hz, H-2), 3,9 (dd, 1 H, J_{6a,6b} 10,5 Hz, H-6a), 3,74 (t, 1 H, H-6b), 3,53 (t, 1 H, J_{4,5} 9,5 Hz, H-4), 3,4 (ddd, 1 H, J_{5,6a} 5 Hz, J_{5,6b} 10,5 Hz, H-5), 3,15 (br s, 1 H, OH), 2,59 (m, 2 H, SCH₂CH₃), 1,49; 1,35 (2s, 6 H, C(CH₃)₂), 1,12 (t, 3 H, SCH₂CH₃); ¹³C NMR (90,54 MHz, CDCl₃); δ 99,90 (C(CH₃)₂), 81,24 (C-1), 74,65, 71,35, 69,43 (C-3, C-4, C-5), 61,79 (C-6), 55,85 (C-2), 28,89; 19,09 (C(CH₃)₂), 24,05 (SCH₂CH₃), 14,77 (SCH₂CH₃). Anal. számított (C₁₉H₁₉Cl₄NO₆S): C, 42,95; H, 3,60; N, 2,63; Cl, 26,69; S, 6,03. Mért: C, 49,88; H 3,63; N, 2,65; Cl, 26,80; S 5,89.

Etil-3-O-acetil-2-dezoxi-4,6-O-izopropilidén-2-tetraklórftálimido-1-tio-β-D-glükopiranozid (22). A **21** acetilezését (1,7 g, 3,2 mmol) piridinben (10 ml) ecetsavanhidriddel (10 ml) végeztem szobahőmérsékleten. 2 óra reakcióidő után az elegyet jeges vízre öntöttem, CH₂Cl₂-nal extraháltam, 1 M H₂SO₄-el, 5%-os NaHCO₃-al, végül vízzel mostam, szárítottam, bepároltam. 1,72 g (**22**) terméket nyertem, 94%-os hozammal: [α]_D +21,96° (c 1,13 CHCl₃); ¹H NMR (360 MHz, CDCl₃); δ 5,64 (t, 1 H, J_{3,4} 9,5 Hz, H-3), 5,48 (d, 1 H, J_{1,2} 11 Hz, H-1), 4,29 (dd, 1 H, J_{2,3} 9,5 Hz, H-2), 4,01 (dd, 1 H, J_{5,6a} 5,5 Hz, J_{6a,6b} 11 Hz, H-6a), 3,82 (m, 2 H, H-4,6b), 3,57 (ddd, 1 H, J_{5,6a} 5 Hz, J_{5,6b} 11 Hz, J_{4,5} 10 Hz, H-5), 2,68 (m, 2 H, SCH₂CH₃), 1,93 (s, 3 H, CH₃CO), 1,50, 1,39 (2s, 6 H, C(CH₃)₂), 1,21 (t, 3 H, SCH₂CH₃); ¹³C NMR (90,54 MHz, CDCl₃): 99,80 (C(CH₃)₂), 81,17(C-1), 71,82, 71,51, 71,05 (C-3, C-4, C-5), 61,92(C-6), 50,01(C-2), 28,86; 20,65 (C(CH₃)₂), 24,43(SCH₂CH₃), 18,98(CH₃CO), 14,86(SCH₂CH₃). Anal. számított

(C₂₁H₂₁Cl₄NO₇S): C, 43,99; H, 3,69; N, 2,44; Cl, 24,73; S, 5,59. Mért: C, 43,97; H, 3,60.

Etil-3-O-acetil-2-dezoxi-2-tetraklórftálimido-1-tio- β -D-glükopiranozid (23). 1,57 g (2,74 mmol) **22**-öt 10 ml CH₂Cl₂-ban oldottam, 1 ml CF₃COOH-al és pár csepp vízzel 15 percet kevertettem, majd a reakcióelegyet bepároltam, 1,44 g (**23**) terméket nyerve (99%): $[\alpha]_D +19,84^\circ$ (c 0,65, CHCl₃); ¹H NMR (360 MHz, CDCl₃): δ 5,63 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 9,5 Hz, *H*-3), 5,51 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 10,5 Hz, *H*-1), 4,28 (t, 1 H, $J_{2,3}$ 10,5 Hz, *H*-2), 3,65 (dt, 1 H, $J_{5,6a} \simeq J_{5,6b}$ = 3,5 Hz, *H*-5), 3,90 (dd, 1 H, $J_{6a,6b}$ 12 Hz, *H*-6a), 3,85 (t, 1 H, $J_{4,5}$ 9,5 Hz, *H*-4), 3,99 (dd, 1 H, $J_{5,6b}$ 3,5 Hz, *H*-6b), 2,69 (m, 4 H, SCH₂CH₃, 6-OH és 4-OH), 1,99 (s, 3 H, CH₃CO), 1,22 (t, 3 H, SCH₂CH₃); ¹³C NMR (90,54 MHz, CDCl₃): 80,68(C-1), 79,56, 74,29, 69,60 (C-3, C-4, C-5), 62,19(C-6), 54,42(C-2), 24,49(SCH₂CH₃), 20,76(CH₃CO), 14,89(SCH₂CH₃). Anal. számított (C₁₈H₁₇Cl₄NO₇S): C, 40,54; H, 3,21; N, 2,62 Cl, 26,59; S, 6,01. Mért: C, 40,52; H, 3,24.

Etil-3-O-acetil-2-dezoxi-2-tetraklórftálimido-1-tio-6-O-tozil- β -D-glükopiranozid (24). 1,37 g (2,58 mmol) **23**-t 10 ml CH₂Cl₂-ban és 1 ml piridinben oldottam majd 0°C-on 590 mg (3,095 mmol) *p*-toluolszulfonil-kloridot adagoltam a reakcióelegyhez. Két nap múlva NaHCO₃-os jeges vízre öntöttem, a kivált csapadékot CH₂Cl₂-nal hígítottam, és a szerves fázist 1 M H₂SO₄-el, majd vízzel mostam, szárítottam, bepároltam. Oszlopkromatográfiával CH₂Cl₂-aceton 95:5 eluenssel, 1,03 g (58%) **24** terméket izoláltam: $[\alpha]_D +23,9^\circ$ (c 1,09, CHCl₃); ¹H NMR (360 MHz, CDCl₃): δ 7,8-7,3 (m, 4 H, Ph), 5,59 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 10,5 Hz, $J_{3,4}$ 9 Hz, *H*-3), 5,41 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 10,5 Hz, *H*-1), 4,33 (br s, 2 H), 4,21 (t, 1 H, $J_{2,3}$ 10,5 Hz, *H*-2), 3,72 (m, 2 H), 3,0 (br s, 1 H), 2,59 (m, 2 H, SCH₂CH₃), 2,45 (s, 3 H, CH₃Ph), 1,94 (s, 3 H, CH₃CO), 1,15 (t, 3 H, SCH₂CH₃); ¹³C NMR (90,54 MHz, CDCl₃): 79,72(C-1), 76,72, 73,09, 68,14 (C-3, C-4, C-5), 67,69(C-6), 53,35(C-2), 23,37(SCH₂CH₃), 20,90, 19,95 (2s, 6 H, CH₃CO, CH₃Ph), 14,09(SCH₂CH₃). Anal. számított (C₂₅H₂₃Cl₄NO₉S₂): C, 43,68; H, 3,37; N, 2,03; Cl, 20,63; S, 9,32. Mért: C, 43,70; H, 3,34.

Etil-3-O-acetil-2,6-didezoxi-6-jód-2-tetraklórftálimido-1-tio- β -D-glükopiranozid (25). 900 mg (1,31 mmol) **24**-et 10 ml száraz 2-butanonnal és 393 mg (2,62 mmol) NaI-al reflux hőmérsékleten 16 órát kevertettem ezután bepároltam CH₂Cl₂-ban feloldottam és 10%-os Na₂S₂O₃-al majd vízzel mostam, szárítottam, bepároltam, 813 mg (96%) terméket nyerve: $[\alpha]_D 19,1^\circ$ (c 0,97, CHCl₃); ¹H NMR (360 MHz, CDCl₃): δ 5,57 (t, 1 H, $J_{3,4}$ 9,5 Hz, *H*-3), 5,46 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 10,5 Hz, *H*-1), 4,23 (t, 1 H, $J_{2,3}$ 10,5 Hz, *H*-2), 3,59 (m, 2 H), 3,34 (m, 2 H), 2,95 (br s, 1 H, 4-OH), 2,67 (m, 2 H, SCH₂CH₃), 1,92 (s, 3 H, CH₃CO), 1,20 (t, 3 H, SCH₂CH₃); ¹³C NMR (90,54 MHz, CDCl₃): 80,05(C-1), 78,28; 73,92; 73,31(C-3,4,5), 54,37(C-2), 24,31(SCH₂CH₃),

20,75(CH₃CO), 15,03(SCH₂CH₃), 5,75(C-6). Anal. számított (C₁₈H₁₆Cl₄INO₆S): C, 33,61; H, 2,50; I, 19,73; N, 2,17; Cl, 22,05; S, 4,98. Mért: C, 33,59; H, 2,52.

Etil-3-O-acetil-2,6-didezoxi-2-tetraklórfáltalimido-1-tio-β-D-glükopiranozid (26).

639 mg (0,994 mmol) **24**-et 10 ml EtOAc-ban oldottam majd 1 ml Et₃N-al és Pd/C-el (10%) hidrogén atmoszférában 4 órát kevertettem, majd a reakcióelegyet bepároltam és oszlopkromatográfiával tisztítottam (CH₂Cl₂-aceton 95:5, R_f 0,45), 380 mg (74%) **26** terméket nyertem: [α]_D 17,25° (c 0,72, CHCl₃); ¹H NMR (360 MHz, CDCl₃); δ 5,53 (dd, 1 H, J_{3,4} 9 Hz, H-3), 5,41 (d, 1 H, J_{1,2} 10,5 Hz, H-1), 4,26 (t, 1 H, J_{2,3} 10,5 Hz, H-2), 3,6 (qd, 1 H, J_{5,6} 6,5 Hz, H-5), 3,43 (t, 1 H, J_{4,5} 9 Hz, H-4), 2,66 (m, 2 H, SCH₂CH₃), 1,96 (s, 3 H, CH₃CO), 1,39 (d, 3 H, H-6), 1,2 (t, 3 H, SCH₂CH₃); ¹³C NMR (90,54 MHz, CDCl₃): 80,19(C-1), 76,30; 74,84; 74,58(C-3,4,5), 54,63(C-2), 24,33(SCH₂CH₃), 20,78(CH₃CO), 17,91(C-6), 14,83(SCH₂CH₃). Anal. számított (C₁₈H₁₇Cl₄NO₆S): C, 41,79; H, 3,31; N, 2,70; Cl, 27,41; S, 6,19. Mért: C, 41,79; H, 3,30.

Etil-3-O-acetil-2,6-didezoxi-2-tetraklórfáltalimido-1-tio-4-O-trifluor-metánszulfonil-β-D-glükopiranozid (27). 270 mg (0,522 mmol) **26**-t 2 ml száraz CH₂Cl₂-ben és 0,5 ml piridinben oldottam majd 0 ° C-on 513 ml (3,13 mmol) Tf₂O csepegtettem az elegyhez, 1 óra múlva CH₂Cl₂-al hígítottam, vízzel mostam, szárítottam, bepároltam, 320 mg (94%) **27** termék nyerve: [α]_D 6,4° (c 1,03, CHCl₃); ¹H NMR (360 MHz, CDCl₃); δ 5,8 (dd, 1 H, J_{3,4} 9,5 Hz, H-3), 5,43 (d, 1 H, J_{1,2} 10,5 Hz, H-1), 4,69 (t, 1 H, J_{4,5} 9,5 Hz, H-4), 4,31 (t, 1 H, J_{2,3} 10,5 Hz, H-2), 3,86 (qd, 1 H, J_{5,6} 6,5 Hz, H-5), 2,66 (m, 2 H, SCH₂CH₃), 1,96 (s, 3 H, CH₃CO), 1,45 (d, 3 H, H-6), 1,2 (t, 3 H, SCH₂CH₃); ¹³C NMR (90,54 MHz, CDCl₃): 84,59(C-1), 80,83; 73,66; 70,47(C-3,4,5), 54,99(C-2), 24,41(SCH₂CH₃), 20,26(CH₃CO), 17,71(C-6), 14,79(SCH₂CH₃). Anal. számított (C₁₉H₁₆Cl₄F₃NO₈S₂): C, 35,14; H, 2,48; F, 8,77; N, 2,15; Cl, 21,84; S, 9,87. Mért: C, 35,15; H, 2,49;

Etil-3-O-acetil-4-azido-2,4,6-tridezoxi-2-tetraklórfáltalimido-1-tio-β-D-galaktopiranozid (28). 240 mg (0,593 mmol) **8**-t száraz etanolban szuszpendáltam és 1,2 ml etiléndiaminnal reflux hőmérsékleten 2 órát kevertettem. A reakcióelegyet bepároltam, többször toluolt pároltam le róla, majd 5 ml piridin és 5 ml CH₂Cl₂ elegyben oldottam és 507 mg (3x 0,593 mmol) tetraklórfaltásv-anhidriddel 2 órát kevertettem, majd 5 ml Ac₂O-el 50 °C-on egy éjszakát keveredett. Bepároltam és CH₂Cl₂-os extrakcióval feldolgoztam majd oszlopkromatográfiával tisztítottam (hexán-etilacetát 8:2 eluensben) 240 mg (74,6%) **28** terméket nyerve: [α]_D -32,69° (c 0,84 CHCl₃); R_f 0,45 (hexán-EtOAc 8:2); ¹H NMR (360 MHz, CDCl₃); δ 5,73 (dd, 1-H, J_{3,4} 4 Hz, H-3), 5,21 (d, 1-H, J_{1,2} 11 Hz, H-1), 4,58 (t, 1-H, J_{2,3} 11 Hz, H-

2), 3,92 (dd, 1-*H*, $J_{4,5}$ 1 Hz, *H*-4), 3,83 (qd, 1-*H*, $J_{5,6}$ 6,5 Hz, *H*-5), 2,62 (m, 2-*H*, S CH₂CH₃), 1,95 (s, 3-*H*, CH₃CO), 1,33 (d, 3-*H*, *H*-6), 1,14 (t, 3-*H*, S CH₂CH₃); ¹³C NMR (90,54 MHz, CDCl₃); δ 80,17 (C-1), 73,33, 71,18 (C-3,5), 63,47 (C-4), 50,63 (C-2); 23,66 (S CH₂CH₃), 20,45 (CH₃CO), 17,74 (C-6), 14,67 (SCH₂CH₃). Anal. számított (C₁₈H₁₆Cl₄N₄O₅S): C, 39,87; H, 2,97; Cl, 26,15; N 10,33; S 5,91. Mért: C, 39,80; H, 2,92.

Metil-3-*O*-acetil-4-azido-2,4,6-tridezoxi-2-tetraklórftálimido- β -D-galaktopiranozid

(29). 715 mg (1,319 mmol) **28** 10 ml száraz acetonitriles oldatát 100 μ l száraz metanollal és 3Å-s por molekulaszitával 1 órát kevertettem, majd 1,61 g (BrPh)₃NSbCl₆-et adtam hozzá. A reakcióelegyet 30 perc múlva szűrtem, bepároltam és oszlopkromatográfiával tisztítottam, 640 mg **30** terméket nyerve (95%): $[\alpha]_D +43,82^\circ$ (2,30 CHCl₃); R_f 0,3 (hexán-EtOAc 8:2); ¹H NMR (360 MHz, CHCl₃); δ 6,2 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 4 Hz, *H*-3), 5,56 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 8,5 Hz, *H*-1), 5,00 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 11 Hz, *H*-2), 4,44 (dd, 1 H, $J_{4,5}$ 1,5 Hz, *H*-4), 4,34 (qd, 1 H, $J_{5,6}$ 6,5 Hz, *H*-5), 3,88 (s, 3 H, OCH₃), 2,48 (s, 3 H, CH₃CO), 1,88 (d, 3 H, *H*-6); ¹³C NMR (90,54 MHz, CHCl₃); δ 98,46 (C-1), 70,59, 69,18 (C-3,5), 63,32 (C-4), 56,50 (OCH₃), 51,98 (C-2), 20,42 (CH₃CO), 17,33 (C-6). Anal. számított (C₁₇H₁₄Cl₄N₄O₆): C, 39,87; H, 2,75; Cl, 27,69; N, 10,94. Mért: C, 39,88; H, 2,75.

Etil-4-azido-2,4,6-tridezoxi-2-tetraklórftálimido-1-tio- β -D-galaktopiranozid (30).

100 mg (0,184 mmol) **28** metanolos (5 ml) oldatához acetil-kloridot (200 μ l) csepegtettem jeges hűtés közben, majd egy nap múlva a reakcióelegyet bepároltam, CH₂Cl₂-ben oldottam, NaHCO₃-oldattal (5%) és vízzel mostam, szárítottam, bepároltam, végül CH₂Cl₂-EtOAc 95:5 eluensben oszlopkromatográfiával tisztítottam, 80 mg **29** vegyületet nyertem 87%-os hozammal: $[\alpha]_D +26,39^\circ$ (c 6,75 CHCl₃; R_f 0,5 (hexán-EtOAc 7:3); ¹H NMR (360 MHz, CDCl₃); δ 5,09 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 10 Hz, *H*-1); 4,50 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ Hz, *H*-3); 4,26 (d, 1 H, $J_{2,3}$ 10 Hz, *H*-2); 3,81 (qd, 1 H, $J_{5,6}$ 6 Hz, *H*-5); 3,74 (dd, 1 H, $J_{4,5}$ 1 Hz, *H*-4); 2,6 (m, 6 H, SCH₂CH₃); 1,37 (d, 3 H, *H*-6); 1,13 (t, 3 H, SCH₂CH₃); ¹³C NMR (90,54 MHz, CDCl₃); δ 80,44 (C-1), 74,21, 68,86 (C-3,5), 66,96 (C-4), 53,65 (C-2), 23,71 (SCH₂CH₃), 17,79 (C-6), 14,65 (SCH₂CH₃). Anal. számított (C₁₆H₁₄Cl₄N₄O₄S): C, 38,42; H, 2,82; N, 11,20; Cl, 28,35; S 6,41. Mért: C, 38,51; H, 2,85.

Metil-4-azido-2,4,6-tridezoxi-2-tetraklórftálimido- β -D-galaktopiranozid (31).

640 mg **29**-t a **30**-nél leírt módszer szerint savasan dezacetileztem (15 ml CH₃OH, 0,6 ml AcCl) 530 mg **31** terméket nyerve oszlopkromatográfiával történt tisztítás után (90%): $[\alpha]_D -9,14^\circ$ (c 0,4047 CHCl₃); R_f 0,35 (hexán-EtOAc 7:3); ¹H NMR (360 MHz, CDCl₃); δ 4,92 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 8 Hz, *H*-1), 4,41 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 4 Hz, *H*-3), 4,10 (dd, 1 H, $J_{4,5}$ 1,5 Hz, *H*-4), 3,81 (qd, 1 H, $J_{5,6}$ 6,5

Hz, *H*-5), 3,73 (dd, 1 H, $J_{4,5}$ 1,5 Hz, *H*-4), 3,4 (s, 3 H, OCH₃), 1,4 (d, 3 H, *H*-6); ¹³C NMR (90,54, MHz); δ 98,70 (C-1), 70,21, 68,31, (C-3, C-4) 66,97 (C-5), 56,54 (OCH₃), 55,10 (C-2), 17,40 (C-6). Anal. számított (C₁₅H₁₂Cl₄N₄O₅): C, 38,32; H, 2,57; N, 11,91; Cl, 30,16. Mért: C, 38,31; H, 2,59.

3-O-Acetil-4-azido-2,4,6-tridezoxi-2-tetraklórftálimido-D-galaktopiranóz (37). 1,2 g (2,22 mmol) **28**-at aceton-víz 8:1 (50 ml)-ben oldottam és hűtés közben rendre 900 mg N-bróm-szukcinimidet (5,06 mmol) adagoltam az elegyhez, majd 20 perc kevertetés után (0 °C-on) etilacetáttal (200 ml) hígítottam, NaHCO₃-al és vízzel mostam, szárítottam, öszlop-kromatográfiával tisztítottam (CH₂Cl₂-EtOAc = 9:1) 953 mg terméket nyerve 87%-os hozammal: [α]_D +15,5 (c 0,30); R_f 0,4 (CH₂Cl₂-EtOAc 9:1); ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃); δ 5,81 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ = 11 Hz, $J_{3,4}$ = 3,5 Hz, *H*-3), 5,36 (t, 1 H, $J_{1,2}$ = $J_{1,OH}$ = 8,5 Hz, *H*-1), 4,47 (dd, 1 H, $J_{1,2}$ = 8,5 Hz, $J_{2,3}$ = 11 Hz, *H*-2), 4,00 (d, 1 H, $J_{3,4}$ = 3,5 Hz, *H*-4), 3,93 (dd, 1 H, $J_{5,6}$ = 6,6 Hz, *H*-5), 3,33 (d, 1 H, $J_{1,OH}$ = 8,5 Hz, OH), 2,03 (s, 3 H, Ac), 1,41 (d, 3 H, $J_{5,6}$ = 6,6 Hz, *H*-6); ¹³C NMR (50,3 MHz, CDCl₃); δ 92,48 (C-1), 70,26, 69,56 (C-3, C-5), 63,14 (C-4), 53,74 (C-2), 17,41 (C-6). Anal. számított (C₁₆H₁₂Cl₄N₄O₆) (498,1): C, 38,58; H, 2,42; N, 11,24; Cl, 28,47. Mért: C, 38,59; H, 2,44.

3-O-Acetil-4-azido-2,4,6-tridezoxi-2-tetraklórftálimido-D-galaktopiranozil-triklór-acetimidát (38). 140 mg (0,28 mmol) **37** száraz CH₂Cl₂-os oldatához (5 ml), 400 μl triklór-acetonitrilt és 500 mg K₂CO₃-t adtam, majd 3 órát kevertettem szobahőmérsékleten. A szervesen sót kiszűrtem, CH₂Cl₂-val mostam majd bepároltam és tisztítás nélkül felhasználtam a kapcsolási reakcióban, 170 mg (94%) **38** terméket nyertem.

Metil-(3-O-acetil-4-azido-2,4,6-tridezoxi-2-tetraklórftálimido-β-D-galaktopiranozil)-(1→4)-(metil-2-acetamido-3-O-benzil-2-dezoxi-α-L-altropiranozid)uronát (39). 77 mg (0,218 mmol) metil-(metil-2-acetamido-3-O-benzil-2-dezoxi-α-L-altropiranozid)uronát (**32**) és 168 mg (0,261 mmol) **38**-as imidát száraz CH₂Cl₂-os oldatát 4 Å molekulaszitával –50 °C-on argon atmoszférában 30 percet kevertettem majd 0,065 ml 1M-os TMSOTf-ot (CH₂Cl₂-s oldat) csepegtettem az elegyhez. 60 perc múlva a reakcióelegyet 0,009 ml Et₃N-nal semlegesítettem, CH₂Cl₂-al hígítottam, vízzel mostam, szárítottam, bepároltam. A nyersterméket oszlop-kromatográfiával tisztítottam 48 mg (32%) **39** terméket nyerve: [α]_D –85,6 ° (c 0,36 CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): 7,2–6,9 (2 m, 5 H, Ph), 5,8 (d, 1 H, $J_{1',2'}$ 8,2 Hz, *H*-1'), 5,69 (dd, 1 H, $J_{3',4'}$ 3,5 Hz, *H*-3'), 5,3 (d, 1 H, $J_{1',2'}$ 10,6 Hz, *H*-1), 4,68 (d, 1 H, $J_{4',5'}$ 2 Hz, *H*-5), 4,65 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 6,7 Hz, *H*-1'), 4,49 (d, 1 H, J 12,5 Hz, PhCH₂), 4,53 (dd, 1 H, $J_{2',3'}$ 11,3 Hz, *H*-2'), 4,25

(d, 1 H, J 12,5 Hz PhCH), 4,14 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 6,7 Hz, H -3), 3,98 (d, 1 H, $J_{3,4}$ 3,01 Hz, H -4), 3,85-3,78 (m, 6 H, H -2,4',5', COOCH₃, 6 H), 3,52 (s, 3 H, OCH₃), 2,0 (s, 3 H, CH₃CONH), 1,9 (s, 3 H, CH₃CO), 1,37 (d, 3 H, $J_{5',6'}$ 6,3 Hz, H -6'); ¹³C NMR (90,54 MHz, CDCl₃): 99,82 (C-1), 96,88 (C-1'), 73,67, 73,20, 70,51, 70,44, 69,24, 60,07, 55,80 (OCH₃), 52,42 (COOCH₃), 51,80, 49,48 (C-2 és 2'), 23,24 (CH₃CONH), 20,40 (CH₃CO), 17,33 (C-6'). Anal. számított (C₃₃H₃₃Cl₄N₅O₁₂): C, 47,54; H, 3,96. Mért: C, 47,55; H, 3,99.

Metil-(3-O-acetil-4-azido-2,4,6-tridezoxi-2-tetraklórftálimido-β-D-galaktopiranozil)-(1→4)-(metil-2-ftálimido-3-O-benzil-2-dezoxi-α-L-altropiranozid)uronát (40). 219 mg (0,496 mmol) metil-(metil-3-O-benzil-2-dezoxi-2-ftálimido-α-L-altropiranozid)uronát akceptort (33) és 383 mg (0,593 mmol) 38-as donort 2 ml száraz CH₂Cl₂-ban feloldottam és 4Å-os darabos molekulaszitával -50°C-on argon atmoszférában 30 percet kevertettem, majd 0,149 ml 1 M-os TMSOTf száraz CH₂Cl₂-os oldatát csepegtettem az elegyhez. 15 perc múlva a reakcióelegyet 0,021 ml Et₃N-nal semlegesítettem CH₂Cl₂-vel hígítottam, vízzel semlegesre mostam, szárítottam, bepároltam. A nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítottam 406 mg (89%) 40 terméket nyerve: $[\alpha]_D$ -30,0° (c 1,34 CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 7,67-6,81 (4 m, 6 H), 5,87 (dd, 1 H, $J_{2',3'}$ 11,2 Hz $J_{3',4'}$ 3,7 Hz, H -3'), 5,35 (d, 1 H, $J_{1',2'}$ 8,4 Hz, H -1'), 5,15 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 8,2 Hz, H -1), 4,76 (d, 1 H, $J_{4,5}$ 2,1 Hz, H -5), 4,70 (dd, 2 H, $J_{2',3'}$ 11,3 Hz, H -2'), 4,44 (d, 1 H, J 12,6 Hz, PhCH₂), 4,36 (dd, 1 H, $J_{3,4} = J_{4,5}$ 2 Hz, H -4), 4,12 (d, 1 H, J 12,6 Hz, PhCH₂), 4,01 (d, 1 H, $J_{3',4'}$ 3,8 Hz, H -4'), 3,98 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 11,1 Hz, H -3), 3,93 (dd, 1 H, $J_{1,2}$ 8,2 Hz, H -2), 3,87 (qd, $J_{5',6'}$ 6,3 Hz, H -5'), 3,82 (s, 3 H, COOCH₃), 3,35 (s, 3 H, OCH₃), 2,1 (s, 3 H, CH₃CO), 1,48 (d, 3 H, $J_{5',6'}$ 6,4 Hz, H -6'); ¹³C NMR (125,76 MHz, CDCl₃): 99,34 (C-1), 96,54 (C-1'), 75,46 (C-4), 73,90 (C-3), 71,90 (C-3'), 71,54 (PhCH₂), 70,35 (C-5), 69,13 (C-5'), 63,13 (C-4'), 55,20 (OCH₃), 52,49 (COOCH₃), 51,48 (C-2'), 50,78 (C-2), 20,48 (CH₃CO), 17,42 (C-6'). Anal. számított: (C₃₉H₃₃Cl₄N₅O₁₃): C, 50,83; H, 3,60. Mért: C, 49,76; H, 3,64.

Metil-(3-O-acetil-4-azido-2,4,6-tridezoxi-2-tetraklórftálimido-β-D-galaktopiranozil)-(1→4)-(metil-2-tetraklórftálimido-3-O-benzil-2-dezoxi-α-L-altropiranozid)uronát (41). 550 mg (0,95 mmol) 34 akceptort a 40-nél leírt módszerrel 38-as donorral (730 mg, 1,14 mmol) glikozileztem 937 mg 41 terméket nyerve 93%-os hozammal: $[\alpha]_D$ -21,3° (c 1,1 CHCl₃); R_f 0,3 (hexán-EtOAc 65:35); ¹H NMR (360 MHz, CDCl₃): δ 6,8 (m, 5 H, Ph), 5,87 (dd, 1 H, $J_{2',3'}$ 11 Hz $J_{3',4'}$ 4 Hz, H -3'), 5,39 (d, 1 H, $J_{1',2'}$ 8,5 Hz, H -1'), 4,79 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 2,5 Hz, H -1), 4,71 (dd, 1 H, H -2'), 4,56 és 3,99 (2d, 2-H, PhCH₂), 4,48 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 2,5 Hz, H -2), 3,86 (s, 3 H, COOCH₃), 3,32 (s, 3 H, OCH₃), 2,05 (s, 3 H, COCH₃), 1,41 (d, 1 H, $J_{5',6'}$ 6 Hz, H -6'); ¹³C NMR (90,54 MHz, CDCl₃) 99,36 és 95,86 (C-1 és C-1'), 63,13 (C-4'), 55,29 (OCH₃), 52,72 (COOCH₃),

51,91 és 51,56 (C-2 és C-2'), 20,52 (CH₃CO), 17,48 (C-6'). Anal. számított (C₃₉H₃₀O₁₃Cl₈N₅) (M 1060,30) C, 44,18; H, 2,85; Mért: C, 44,17, H 2,88.

Metil-(2-acetamido-4-azido-2,4,6-tridezoxi-β-D-galaktopiranozil)-(1→4)-(2-acetamido-3-O-benzil-2-dezoxi-α-L-altropiranozid)uronsav (42). 100 mg (0,094 mmol) **41**-t 4 ml metanol:H₂O = 3:1-el és LiOH-al (100 mg) 30 percet kevertettem. A reakcióelegyet IR 120 H⁺ ioncserélő gyantával semlegesítettem, szűrtem, bepároltam. A nyersterméket 5 ml etanolban feloldottam és 38 ml (0,564 mmol) etilén-diaminnal egy éjszakán át forraltam. Az elegyet bepároltam, többször toluolt pároltam le róla, majd 1 ml metanolban 0°C-on 0,5 ml ecetsav-anhidriddel acetileztem. 1 óra múlva bepároltam és oszlopkromatográfiával tisztítottam 20 mg (38%) **42** terméket nyerve: $[\alpha]_D +12,79^\circ$ (c 0,1 CH₃OH); R_f 0,4 (CH₂Cl₂:CH₃OH:Et₃N 8:1:1); ¹H NMR (360 MHz, CD₃OD); δ 7,4-7,2 (m, 5 H, Ph), 4,72 (d, 1 H, J_{1',2'} 8,6 Hz, H-1'), 4,70 (d, 1 H, J_{1,2} 8,5 Hz, H-1), 4,69 és 4,52 (2d, 2 H, CH₂Ph), 4,63 (t, 1 H, J_{3,4} 2,5 Hz, H-4), 4,52 (d, 1 H, J_{4,5} 2,0 Hz, H-5), 4,1 (dd, 1 H, J_{1',2'} 8,5 Hz, J_{2',3'} 10,5 Hz, H-2'), 3,97 (dd, 1 H, J_{2',3'} 10,5 Hz, J_{3',4'} 4 Hz, H-3'), 3,72-3,65 (m, 2 H, H-2,3), 3,62 (t, 1 H, J_{3',4'} = J_{4',5'} 2,5 Hz, H-4') 3,55 (bq, 1 H, H-5'), 3,48 (s, 3 H, OCH₃), 1,93, 1,80 (2s, 6 H, 2X NHCOCH₃), 1,3 (d, 3 H, J_{5',6'} 6 Hz, H-6'); ¹³C NMR (90,54 MHz, CD₃OD); δ 103,3 (C-1), 101,3 (C-1'), 79,1, 78,4, 76,0, 74,1, 73,5, 70,6, 67,5, 56,8 (OCH₃), 55,9, 52,2 (C-2 és C-2'), 23,1, 23,0 (NHCOCH₃), 17,7 (C-6'). Anal. számított (C₂₄H₃₃N₅O₁₀): C, 52,26; H, 6,03. Mért: C, 52,22; H, 6,00.

Metil-(2-acetamido-4-amino-2,4,6-tridezoxi-β-D-galaktopiranozil)-(1→4)-(2-acetamido-2-dezoxi-α-L-altropiranozid)uronsav (43). 20 mg (0,036 mmol) **42** -t 2 ml etanol-ecetsav (96%) = 1:1 elegyben feloldottam és Pd (OH)₂/C-el hidrogén atmoszférában (6 atm) 4 napot kevertettem. A katalizátort kiszűrtem, metanollal mostam, a szűrletet bepároltam és oszlopkromatográfiával tisztítottam 8 mg **43** (51%) terméket nyerve: $[\alpha]_D +15,91^\circ$ (c 0,01 CH₃OH); ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD); δ 4,8 (m, 6 H, J_{1,2} = 8,8 Hz, J_{1',2'} = 8,5 Hz, H-1, H-1'), 4,46 (d, 1 H, J_{4,5} = 3 Hz, H-5), 4,44 (bd, 1 H, J_{4,5} = 3 Hz, H-4), 3,71 (m, 1 H, H-5'), 3,74 (dd, 1 H, J_{3,4} = 3 Hz, J_{2,3} = 10 Hz, H-3), 3,50 (s, 3 H, OCH₃), 2,06 és 1,99 (2s, 6 H, NHCOCH₃), 1,35 (d, 3 H, J_{5',6'} = 6,6 Hz, H-6'); ¹³C NMR (125,76 MHz, CD₃OD); δ 102,51 (C-1'), 100,06 (C-1), 78,88 (C-5), 77,00 (C-4), 69,84, 67,96, 64,29, 56,35 (OCH₃), 54,78, 52,43 (C-2 és C-2'), 17,7 (C-6'); Anal. számított (C₁₇H₂₉N₃O₁₀): C 46,89; H 6,71. Mért: C 46,88, H 6,67.

Metil-[metil-(4-O-acetil-3-O-benzil-2-dezoxi-2-tetraklórftálimido-α-L-altropiranozil)uronát]-(1→3)-4-azido-2,4,6-tridezoxi-2-ftálimido-β-D-galaktopiranozid (44). 100 mg (0,301 mmol) **12** akceptort és 200 mg (0,266 mmol) **35** donort 4Å molekulaszitával szá-

raz CH₂Cl₂-ben (5 ml) -30 °C-on 30 percet kevertettem argon atmoszférában, majd 5,9 µl TMSOTf-ot csepegtettem az elegyhez 1 ml CH₂Cl₂-ben oldva. A reakcióelegyet egy órát kevertettem -30° C-on majd Et₃N-nal semlegesítettem, szűrtem, CH₂Cl₂-al hígítottam vízzel semlegesre mostam, szárítottam, bepároltam. A nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítottam 168 mg **44** (69%) terméket nyerve: $[\alpha]_D -8,17^\circ$ (c 0,65 CHCl₃); ¹H NMR (360 MHz, CDCl₃); δ 7,45-6,78 (m, 9 H, Ph), 5,7 (t, 1 H, *J*_{3',4'} 2,5 Hz, *H*-4'), 5,48 (d, 1 H, *J*_{1',2'} 9 Hz, *H*-1'), 4,72 (d, 1 H, *J*_{1,2} 8,5 Hz, *H*-1), 4,66 (d, 1 H, *J*_{4',5'} 2 Hz, *H*-5'), 4,62 (dd, 1 H, *J*_{2,3} 11 Hz, *J*_{3,4} 3,5 Hz, *H*-3), 4,42 (d, 1 H, *J* 13 Hz, PhCH₂), 4,38 (dd, 1 H, *J*_{1',2'} 9 Hz, *J*_{2',3'} 11 Hz, *H*-2'), 4,25 (dd, 1 H, *J*_{1,2} 8,5 Hz, *J*_{2,3} 11 Hz, *H*-2), 4,15 (dd, 1 H, *J*_{4,5} 1,5 Hz, *J*_{3,4} 3,5 Hz, *H*-4), 4,03 (d, 1 H, *J* 13 Hz, PhCH₂), 3,96 (dd, 1 H, *J*_{2',3'} 11 Hz, *J*_{3',4'} 3 Hz, *H*-3'), 3,83 (s, 3 H, COOCH₃), 3,72 (qd, *J*_{5,6} 6 Hz, *H*-5), 3,2 (s, 3 H, OCH₃), 2,11 (s, 3 H, CH₃CO), 1,32 (d, 3 H, *H*-6 Hz); ¹³C NMR (90,54 MHz, CDCl₃): 98,65, 97,08 (C-1 és C-1'), 77,43, 76,66, 73,97, 71,47, 70,18, 69,06, 66,79, 65,14, 56,02 (OCH₃), 53,00 (COOCH₃), 52,72, 51,70 (C-2 és C-2'), 20,80 (CH₃CO), 17,40 (C-6'). Anal. számított (C₃₉H₃₃Cl₄N₅O₁₃): C, 50,83; H, 3,60. Mért: C, 50,90; H, 3,59.

Metil-[metil-(4-O-acetil-3-O-benzil-2-dezoxi-2-tetraklórftálimido-α-L-altropiranozil)uronát]-(1→3)-4-azido-2,4,6-tridezoxi-2-tetraklórftálimido-β-D-galaktopiranozid (45).

a). 55 mg (0,117 mmol) **31** akceptort 115 mg (0,153 mmol) **35** donorral a **44**-nél leírt módszerrel glikozileztem 55 mg (44%) **45** diszacharidot nyerve: $[\alpha]_D +1,79$ (c 1,06 CHCl₃); ¹H NMR (360 MHz, CDCl₃); δ 7,0-6,8 (m, 5 H, Ph), 5,79 (t, 1 H, *J*_{3',4'} 3 Hz, *H*-4'), 5,58 (d, 1 H, *J*_{1',2'} 9 Hz, *H*-1'), 4,79 (d, 1 H, *J*_{1,2} 8,5 Hz, *H*-1), 4,72 (d, 1 H, *J*_{4',5'} 2 Hz, *H*-5'), 4,66 (dd, 1 H, *J*_{2,3} 11 Hz, *J*_{3,4} 3,5 Hz, *H*-3), 4,49 (d, 1 H, *J* 13 Hz, PhCH₂), 4,42 (dd, 1 H, *J*_{1',2'} 9 Hz, *J*_{2',3'} 11 Hz, *H*-2'), 4,35 (dd, 1 H, *J*_{1,2} 8,5 Hz, *J*_{2,3} 11 Hz, *H*-2), 4,2 (dd, 1 H, *J*_{4,5} 1 Hz, *J*_{3,4} 3,5 Hz, *H*-4), 4,05 (d, 1 H, *J* 13 Hz, PhCH₂), 3,99 (dd, 1 H, *J*_{2',3'} 11 Hz, *J*_{3',4'} 3 Hz, *H*-3'), 3,92 (s, 3 H, COOCH₃), 3,77 (qd, 1 H, *J*_{5,6} 6 Hz, *H*-5), 3,3 (s, 3 H, OCH₃), 2,2 (s, 3 H, CH₃CO), 1,4 (d, 3 H, *H*-6); ¹³C NMR (90,54 MHz, CHCl₃) 98,27, 96,94 (C-1 és C-1'), 74,02, 71,69, 70,54, 69,21, 66,8, 65,12, 56,08 (OCH₃), 53,13 (COOCH₃), 53,06, 52,50 (C-2 és C-2'), 20,89 (CH₃CO), 17,43 (C-6'). Anal. számított (C₃₉H₃₃Cl₈N₅O₁₃): C, 43,80; H, 3,67. Mért: C, 44,28; H, 2,72.

b). 180 mg (0,269 mmol) **36** bromidot és 105 mg (0,223 mmol) **31** akceptort 4 Å por molekulaszitával 2,5 ml száraz CH₂Cl₂-al -20°C-on 30 percet kevertettem argon atmoszférában, majd 92 mg AgOTf oldatot csepegtettem a reakcióelegyhez (1,6 ml toluolban). 4 óra keveredés után (-20° C-on) az elegyet 50 µl száraz piridinnel semlegesítettem, CH₂Cl₂-vel hígítottam vízzel semlegesre mostam, szárítottam, bepároltam. A nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítottam, 35%-os hozammal nyerve a **45** diszacharidot.

**Metil-[(2-acetamido-3-O-benzil-2-dezoxi- α -L-treo-hex-4,5-enopranozil)-uronsav]-
(1 $\rightarrow$ 3)-2-acetamido-4-azido-2,4,6-tridezoxi- β -D-galaktopiranozid (46).** 100 mg (0,109 mmol) **44** diszacharid védőcsoportjainak eltávolítását a **42**-nél leírt módszerrel végeztem és így 25 mg (43%) **46** eliminációs terméket nyertem: $[\alpha]_D +55,91^\circ$ (c 0,19 DMSO); R_f 0,5 (CH₂Cl₂:CH₃OH:Et₃N 8:1:1); ¹H NMR (360 MHz, CD₃OD); δ 7,42-7,28 (m, 5 H, Ph), 6,15 (d, 1 H, $J_{3',4'}$ 4 Hz, H - 4'); 5,28 (d, 1 H, $J_{1',2'}$ 4 Hz, H -1'); 4,34 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 8,5 Hz, H-1), 4,17 (dd, 1 H, $J_{2',3'}$ 8,5 Hz, H-3'), 4,07 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 11 Hz, $J_{3,4}$ 4 Hz, H-3), 4,01-4,94 (m, 2 H), 3,81 (qd, 1 H, $J_{4,5}$ 1 Hz, H-5), 3,45 (s, 3 H, OCH₃), 2,05, 1,93 (2s, 6 H, 2X NHCOCH₃), 1,3 (d, 3 H, $J_{5,6}$ 6 Hz, H-6); ¹³C NMR (90,54 MHz, CD₃OD): 103,35 (C-1'), 101,24 (C-1), 80,72, 71,59, 71,18, 70,42, 66,89, 57,26 (OCH₃), 52,52, 51,62 (C-2 és C-2'), 23,24, 22,73 (2X NHCOCH₃), 17,5 (C-6'). Anal. számított (C₂₄H₃₁Cl₄N₅O₁₂): C, 39,85; H, 4,31. Mért: C, 39,77; H, 4,30.

**Metil-[metil-(3-O-benzil-2-dezoxi-2-tetraklórfálímido- α -L-altropiranozil)uronát]-
(1 $\rightarrow$ 3)-4-azido-2,4,6-tridezoxi-2-tetraklórfálímido- β -D-galaktopiranozid (47).** 45 mg (0,045 mmol) **44** diszacharidot metanolban (2,5 ml) acetil-kloriddal dezacetileztem a **29**-nél leírt módszerrel. 40 mg (**47**) terméket nyertem 93%-os hozammal: $[\alpha]_D +1,79^\circ$ (c 1,06 CHCl₃); ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃); δ 7,55-6,85 (m, 9 H, Ph), 5,42 (d, 1 H, $J_{1',2'}$ 9 Hz, H-1'), 4,74 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 8,0 Hz, H-1), 4,71 (d, 1 H, $J_{4',5'}$ 1 Hz, H-5'), 4,65 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 11 Hz, $J_{3,4}$ 3,5 Hz, H-3), 4,52 (d, 1 H, J 13 Hz, PhCH₂), 4,46 (t, 1 H, $J_{3',4'} = J_{4',5'}$ 3 Hz, H-4'), 4,36 (dd, 1 H, $J_{1',2'}$ 9 Hz, $J_{2',3'}$ 11 Hz, H-2'), 4,25 (dd, 1 H, $J_{1,2}$ 8,5 Hz, $J_{2,3}$ 11 Hz, H-2), 4,16 (dd, 1 H, $J_{4,5}$ 1,5 Hz, $J_{3,4}$ 3,5 Hz, H-4 Hz), 4,07 (d, 1 H, J 13 Hz, PhCH₂), 3,99 (dd, 1 H, $J_{2',3'}$ 11 Hz, $J_{3',4'}$ 3 Hz, H-3'), 3,90 (s, 3 H, COOCH₃), 3,8 (qd, $J_{5,6}$ 6 Hz, H-5), 3,28 (s, 3 H, OCH₃), 1,4 (d, 3 H, H-6 Hz); Anal. számított (C₃₇H₃₁Cl₄N₅O₁₂): C, 50,52; H, 3,55. Mért: C, 50,51; H, 3,51.

**Metil-(4,6-di-O-acetil-3-O-benzil-2-dezoxi-2-tetraklórfálímido- α -L-altropiranozil)-
(1 $\rightarrow$ 3)-4-azido-2,4,6-tridezoxi-2-tetraklórfálímido- β -D-galaktopiranozid (49).** 28 mg (0,98 mmol) 4,6-di-O-acetil-3-O-benzil-2-dezoxi-2-tetraklórfálímido- α -L-altropiranozil-triklóracetimidát (**48**) donort és 357 mg (0,76 mmol) **31** akceptort 4Å molekulaszitával száraz diklór-metánban (5 ml) -50 °C-on argon atmoszférában 30 percet kevertettem, miután 52 μ l TMSOTf-t csepegtettem az elegyhez 0,50 ml száraz CH₂Cl₂-ben oldva. 30 perc múlva 40 μ l Et₃N-nal semlegesítettem a reakcióelegyet, CH₂Cl₂-ban hígítottam, vízzel semlegesre mostam, szárítottam, bepároltam, oszlopkromatográfiával tisztítottam (hexán-EtOAc 7:3), 490 mg (60%) **49** terméket nyerve: $[\alpha]_D +10,38^\circ$ (c 1,11 CHCl₃); R_f 0,4 (hexán-EtOAc 7:3); ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) 5,46 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 8 Hz, H-1), 5,39 (t, 1 H, $J_{3',4'} = J_{4',5'} = 3,1$ Hz, H-4'), 4,75 (d, 1 H, $J_{1',2'} = 8,63$ Hz, H-1'), 4,66 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 1,7$ Hz, $J_{3,4} = 3,1$ Hz, H-3), 3,30 (s, 3

H, OCH₃), 2,15 és 2,19 (2s, 6 H, COCH₃), 1,39 (d, 3 H, $J_{5',6'} = 6,17$ Hz, H-6'); ¹³C NMR (50,3 MHz, CDCl₃) 98,46 és 98,22 (C-1 és C-1'), 72,17 (CH₂Ph), 62,89 (C-6'), 56,113 (OCH₃); 53,24 és 52,54 (C-2 és C-2'); 20,86 (H₃CCO); 17,46 (C-6'). Anal. számított (C₄₀H₃₁Cl₈N₅O₁₃): C, 44,76; H, 2,91, Mért: C, 44,80; H, 2,92.

Metil-(3-O-benzil-2-dezoxi-2-tetraklórftálimido- α -L-altropiranozil)-(1 $\rightarrow$ 3)-4-azido-2,4,6-tridezoxi-2-tetraklórftálimido- β -D-galaktopiranozid (50). 400 mg (0,4 mmol) **49**-t 10 ml metanolban szuszpendáltam és 0°C-on 400 μ l AcCl-ot csepegtettem a keverékhez. Egy nap múlva a reakcióelegyet bepároltam oszlopkromatográfiával tisztítottam (CH₂Cl₂-CH₃OH 95:5 eluenssel), 360 mg **50** terméket nyerve 98%-os hozammal: $[\alpha]_D +8,40^\circ$ (c 0,29 CHCl₃); R_f 0,5 (CH₂Cl₂-CH₃OH 95:5); ¹H NMR (360 MHz, CDCl₃); δ 6,90 (m, 5 H, Ph), 5,33 (d, 1 H, $J_{1,2} = 7,4$ Hz, H-1), 4,66 (d, 1 H, $J_{1',2'} = 8,6$ Hz, H-1'), 4,64 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 11,1$ Hz, $J_{3,4} = 3,1$ Hz, H-3), 3,86 (dd, 1 H, $J_{6'a,6'b} = 12$ Hz, $J_{6',5'} = 3,7$ Hz, H-6'a), 3,77 (dd, 1 H, $J_{6'b,5'} = 6,8$ Hz, H-6'b), 3,71 (m, 1 H, $J_{5,6} = 6,78$ Hz, H-5), 3,22 (s, 3 H, OCH₃), 1,32 (d, 3 H, H-6'); ¹³C NMR (90,54 MHz, CDCl₃) 98,73 és 98,55 (C-1 és C'-1), 65,52 (C-6'), 65,14 (PhCH₂), 62,94 (C-4), 54,13 (OCH₃), 52,69 és 52,49 (C-2 és C-2'), 17,37 (C-6'). Anal. számított (C₃₆H₂₇Cl₈N₅O₁₁): C 43,71; H 2,75. Mért: C, 43,70; H, 2,79

Metil-[(3-O-benzil-2-dezoxi-2-tetraklórftálimido- α -L-altropiranozil)uronsav]-(1 $\rightarrow$ 3)-4-azido-2,4,6-tridezoxi-2-tetraklórftálimido- β -D-galaktopiranozid (51). 260 mg (0,26 mmol) **50**-t CH₂Cl₂-os (10 ml) oldatához 750 μ l telített NaHCO₃-os oldatot, 4,46 mg (0,03747 mmol) KBr, 9,34 mg (0,02245 mmol) Bu₄NBr és 5 mg TEMPO-t (2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi) adagoltam, majd 0° C-on 5 ml NaOCl-t (Clorox HYPO) csepegtettem az elegyhez. Két óra múlva a reakcióelegy pH-ját 4-re állítottam (1M-os HCl-al), EtOAc-al extraháltam, a szerves fázist vízzel mostam, szárítottam, bepároltam és tisztítás nélkül továbbvittem. 160 mg **51** terméket nyertem 61%-os hozammal. Mielőtt a rendelkezésemre álló összes **50**-es anyagmennyiséget reakcióba vittem volna, próbareakciót hajtottam végre **50** mg **50**-es vegyülettel. A fentiekől eltérően feldolgozáskor a reakcióelegyet bepároltam, többször toluolt pároltam le róla, majd 1 ml DMF-ben feloldottam és hűtés közben 0,05 ml metil-jodidot adtam hozzá. Húsz órát szobahőmérsékleten keveredett, majd feldolgozáskor a reakcióelegyhez vizet adtam, diklórmetánnal extraháltam, szárítottam, bepároltam és így az **51'** (22 mg) uronsav metilésztert nyertem, amelyet analitikai vizsgálatokra leadtam: $[\alpha]_D +10,08^\circ$ (c 0,30 CHCl₃); ¹H NMR (360 MHz, CDCl₃); δ 7,0-6,8 (m, 5 H, Ph), 5,56 (d, 1 H, $J_{1',2'} = 9$ Hz, H-1'), 4,80 (d, 1 H, $J_{1,2} = 8,0$ Hz, H-1), 4,82 (d, 1 H, $J_{4',5'} = 2$ Hz, H-5'), 4,89 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 11$ Hz, $J_{3,4} = 3,5$ Hz, H-3), 4,79 (d, 1 H, $J = 12,5$ Hz, PhCH₂), 4,66 (t, 1 H, $J_{3',4'} = J_{4',5'} = 3$ Hz, H-4'),

4,56-4,33 (m, 2 H, *H*-2 és *H*-2'), 4,25 (dd, 1 H, $J_{4,5}$ 1 Hz, $J_{3,4}$ 3,5 Hz, *H*-4), 4,05 (d, 1 H, J 12,5 Hz, PhCH_2), 4,01 (dd, 1 H, $J_{2',3'}$ 11 Hz, $J_{3',4'}$ 3 Hz, *H*-3'), 3,92 (s, 3 H, COOCH_3), 3,77 (qd, 1 H, $J_{5,6}$ 6 Hz, *H*-5), 3,28 (s, 3 H, OCH_3), 1,39 (d, 3 H, *H*-6). Anal. számított ($\text{C}_{37}\text{H}_{27}\text{Cl}_8\text{N}_5\text{O}_{12}$): C 43,68; H 2,67. Mért: C 43,62; H 2,55.

Metil-[(2-acetamido-3-*O*-benzil-2-dezoxi- α -L-altropiranozil)uronsav]-(1 $\rightarrow$ 3)-2-acetamido-4-azido-2,4,6-tridezoxi - β -D-galaktopiranozid (52). 130 mg (0,181 mmol) **51** etanolos oldatát (30 ml) 50 μl etilén-diaminnal egy éjszakán át forraltam, miután a reakcióelegyet bepároltam, többször toluolt pároltam le róla, oszlopkromatográfiával tisztítottam (CH_2Cl_2 :EtOH 60%: AcOH 5:4:1) 90 mg diamin származékot nyerve. A nyersterméket 5 ml metanolban 500 μl Ac_2O -el 0°-on acetileztem, oszlopkromatográfiával tisztítottam, 40 mg (56%) **52**-t nyertem: $[\alpha]_{\text{D}} +22,66^\circ$ (c , 0,35 MeOH); R_f : 0,4 (CH_2Cl_2 - EtOH - 60% AcOH 5:4:1); ^1H NMR (360 MHz, CD_3OD); δ 7,30 (m, Ph), 5,03 (d, $J_{1',2'}$ = 6,84 Hz, *H*-1'), 4,71 és 4,58 (2d, PhCH_2), 4,48 (t, 1 H, $J_{4',5'}$ = 4 Hz, *H*-4'), 4,42 (d, 1 H, *H*-5'), 4,26 (d, 1 H, $J_{1,2}$ = 8,1 Hz, *H*-1), 4,21 (dd, 1 H, $J_{2',3'}$ = 8,8 Hz, *H*-2'), 4,08 (dd, 1 H, $J_{4,5}$ = 2,3 Hz, *H*-4), 4,04 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ = 3,34 Hz, *H*-3), 3,99 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ = 10,7 Hz, *H*-2), 3,77 (m, 1 H, $J_{5,6}$ = 6,4 Hz, *H*-5), 3,66 (dd, 1 H, $J_{3',4'}$ = 3 Hz, *H*-3'), 3,40 (s, 3 H, OCH_3), 1,90 és 1,98 (2s, 6 H, NHCOCH_3), 1,30 (d, 3 H, CH_3); ^{13}C NMR (90,54 MHz, CD_3OD); 102,9 (C-1), 100,7 (C-1'), 78,9 (C-3), 77,0 (C-3'), 76,4 (C-5'), 71,2 (PhCH_2), 69,6 (C-5), 67,0 (C-4'), 65,9 (C-4), 55,8 (OCH_3), 51,5 (C-2), 50,8 (C-2'), 22,1 (NHCOCH_3), 16,6 (H - 6, CH_3). Anal. számított ($\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{N}_5\text{O}_{10}$): C 51,98; H 6,54. Mért: C 51,89, H 6,55.

Metil-[(2-acetamido-2-dezoxi- α -L-altropiranozil)uronsav]-(1 $\rightarrow$ 3)-2-acetamido-4-amino-2,4,6-tridezoxi- β -D-galaktopiranozid (53). 20 mg (0,036 mmol) **52**-t a **43**-nál leírt módszerrel katalitikusan hidrogéneztem. Oszlopkromatográfiával tisztítottam (CH_2Cl_2 - EtOH - 60% AcOH 5:4:1) 8 mg **53** terméket nyerve (51%): $[\alpha]_{\text{D}} 7,53^\circ$ (c = 0,1 H_2O); R_f 0,3 (CH_2Cl_2 - EtOH - 60% AcOH 5:4:1); ^1H NMR (500 MHz, D_2O); δ 4,77 (d, 1 H, $J_{1',2'}$ = 8,6 Hz, *H*-1'), 4,40 (dd, 1 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 4,6$ Hz, *H*-4), 4,32 (d, 1 H, $J_{1,2} = 8,7$ Hz, *H*-1), 4,28 (m, 6 H, *H*-4', *H*-5'), 3,98 (qd, 1 H, $J_{5,6} = 6,7$ Hz, *H*-5), 3,87 (dd, 1 H, $J_{2',3'}$ = 10,8 Hz, *H*-2'), 3,80 (dd, 1 H, *H*-3), 3,72 (dd, $J_{2,3} = 10,9$ Hz, *H*-2), 3,55 (dd, 1 H, $J_{3',4'}$ = 3 Hz, *H*-3'), 3,40 (s, 3 H, OCH_3), 1,9 és 1,93 (2s, 6 H, NHCOCH_3), 1,24 (d, 3 H, H - 6); ^{13}C NMR (125,76 MHz, D_2O), 102,9 (C-1'), 101,3 (C-1), 78,4 (C-5'), 76,5 (C-3), 69,6 (C-4'), 68,5 (C-3'), 67,8 (C-5), 57,8 (OCH_3), 55,1 (C-4), 51,8 (C-2'), 50,9 (C-2), 22,6 (NHCOCH_3), 15,9 (C - 6). Anal. számított ($\text{C}_{17}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_{10}$): C 46,89; H 6,71. Mért: C 46,98, H 6,69.

Metil-(3-*O*-acetyl-4-azido-2,4,6-trideoxi-2-ftálimido-2- β -D-galaktopiranozil)-

(1 $\rightarrow$ 4)- 3-*O*-benzil-2-dezoxi-2-ftálimido-6-*O*-klóracetyl- α -D-altropiranozid (56). 49 mg (0,1 mmol) metil-3-*O*-benzil-2-dezoxi-2-ftálimido-6-*O*-klóracetyl- α -D-altropiranozid **54** akceptort és 44 mg (0,11 mmol) **8** donort 4Å molekulaszitával száraz diklór-metánban (1 ml) 30 percet argon atmoszférában kevertettem, majd -40°C-ra hűtöttem. 0,13 mmol *N*-jód-szukcinimid és 0,013 mmol TfOH száraz CH₂Cl₂-os oldatát (1 ml, 10% tetrahidrofuránt is tartalmazott) az elegyhez csepegtettem. A reakcióelegyet -40°C-on 20 percet kevertettem, majd 100 μ l Et₃N-al semlegesítettem, diklór-metánnal (20 ml) hígítottam, vízzel mostam, szárítottam, bepárooltam. A nyersterméket oszlopkromatográfiával tisztítottam így 30 mg **56** terméket nyertem 33%-os hozammal: $[\alpha]_D$ -93,1° (*c* 1,03); ¹H NMR (360 MHz, CDCl₃); δ 7,75 (m, 8 H, aromás), 7,11 (m, 5 H, aromás), 5,83 (dd, 1 H, $J_{1',2'} = 6,0$ Hz, *H*-1), 4,70 (dd, 1 H, *H*-2'), 4,43 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 8,0$ Hz, *H*-2), 4,38 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 3,5$ Hz, $J_{4,5} = 4,5$ Hz, *H*-4), 4,29 (dd, 1 H, *H*-3), 4,10 (s, 6 H, ClCH₂), 3,92 (m, 1 H, *H*-5'), 2,90 (s, 3 H, OCH₃), 2,00 (s, 3 H, CH₃CO), 1,33 (d, 3 H, $J_{5',6'} = 6$ Hz, *H*-6'); ¹³C NMR (90,54 MHz, CDCl₃) δ 170,1 (ClCH₂CO), 167,7, 166,9, (C=O), 98,2 és 96,9 (C-1 és C-1'), 72,5, 71,8, 71,2 (PhCH₂), 70,69, 70,3, 69,4, 65,1 (C-6), 63,2, 54,8 (OCH₃), 52,5 és 51,1 (C-2 és C-2'), 40,7 (ClCH₂), 20,4 (CH₃CO), 17,3 (C-6'). Anal. számított (C₄₀H₃₈ClN₅O₁₃): C, 57,73; H, 4,60. Mért: C, 57,99; H, 4,53.

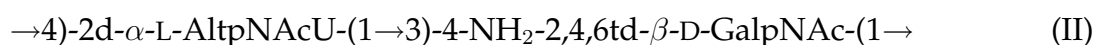
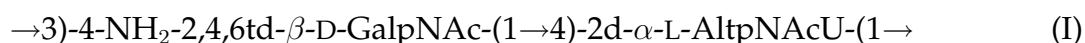
5. Összefoglalás

5.1. Irodalmi előzmények, célkitűzés

Doktori értekezésem témája a Debreceni Egyetem Biokémiai Tanszékén végzett kutatási program része. Célunk a *Shigella sonnei* által okozott fertőzés elleni védőoltás kifejlesztése volt. A *Shigella sonnei* Gram-negatív baktérium. Feltételezéseink szerint hatékony oltóanyag a *Shigella sonnei* lipopoliszacharidja O-specifikus szénhidrátláncának természetes poliszacharidjánál rövidebb, 2-4 ismétlődő egységből álló, oligoszacharid előállítása és hordozó proteinhoz való kovalens kapcsolása útján állítható elő. Dolgozatomban az O-specifikus oldallánc ismétlődő egységének szintézisét tűztem ki célul.

A *Shigella sonnei* O-specifikus oldalláncának ismétlődő egysége két ritka monoszacharidból épül fel, egy α -kötéssel kapcsolódó 2-acetamido-2-dezoxi-L-altruronsavból és a β -kötéssel kapcsolódó 2-acetamido-4-amino-2,4,6-tridezoxi-D-galaktopiranózból (8. ábra). A diszacharid peptidekre jellemző ikerionos szerkezete, az interglikozidos kötések [α -L-(1 $\rightarrow$ 3) és β -D-(1 $\rightarrow$ 4)] a mindkét monoszacharidban fellelhető 2-NHAc, szokatlan szerkezetre utalnak. A 2-acetamido-4-amino-2,4,6-tridezoxi-D-galaktopiranóz egység előállítása D-glükózaminból (2) kiindulva történt. A szintézis során a C-4 helyzetben konfiguráció inverziót és 4-amino-4-dezoxi csoport bevezetését a 7 4-O-tozil származék NaN₃-al végzett nukleofil cseréjével végeztem, majd az azido funkció redukcióját a szintézis legutolsó lépéseként, oligoszacharid szinten hajtottam végre [174].

A következő szerkezetek bármelyike leírhatja a *Shigella sonnei* O-specifikus poliszacharidjának ismétlődő egységét:



A fenti két diszacharid egység előállítása volt a célom. A 2-amino funkció védelmére *N*-ftaloil és *N*-tetraklórftaloil csoportot alkalmaztam. Az anomer centrumot tioglikozid, triklór-acetimidát és halogenid formában aktiváltam.

Az I szerkezetű diszacharid előállítására felhasznált tetraklórftaloillal védett 3-*O*-acetil-4-azido-2,4,6-tridezoxi-2-tetraklórftálimido- β -D-galaktopiranozil-triklór-acetimidát (38) donort az etil-3-*O*-acetil-4-azido-2,4,6-tridezoxi-2-ftálimido-1-tio- β -D-glaktopiranozid (8) galaktózszármazékból állítottam elő. Az NPhth-val és az NTCP-vel védett metil-(metil-3-*O*-benzil-2-dezoxi-2-ftálimido- α -L-altropiranozid)uronát (33) és metil-(metil-3-*O*-benzil-2-dezoxi-2-tetraklórftálimido- α -L-altropiranozid)uronát (34) akceptorokat TMSOTf jelenlété-

ben a **38** imidáttal glikozilezve kitűnő 89% illetve 93%-os hozammal nyertem a metil-(3-*O*-acetyl-4-azido-2,4,6-trideoxi-2-tetrachlorfuranosyl)- β -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-(metil-2-furanosyl-3-*O*-benzyl-2-deoxy- α -L-altropyranosyl)uronát (**40**) és metil-(3-*O*-acetyl-4-azido-2,4,6-trideoxi-2-tetrachlorfuranosyl)- β -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-(metil-2-tetrachlorfuranosyl-3-*O*-benzyl-2-deoxy- α -L-altropyranosyl)uronát (**41**) diszacharidokat. Az NHAc-al védett metil-(metil-3-*O*-benzyl-2-deoxy-2-acetamido- α -L-altropyranosyl)uronát (**32**) akceptorral és **38** donorral végrehajtott glikozilezés eredményeként 32%-os hozammal izoláltam a metil-(3-*O*-acetyl-4-azido-2,4,6-trideoxi-2-tetrachlorfuranosyl)- β -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-(metil-2-acetamido-3-*O*-benzyl-2-deoxy- α -L-altropyranosyl)uronát (**39**) diszacharidot.

A **41** diszacharid védőcsoportjai eltávolításának eredményeként a metil-(2-acetamido-4-amino-2,4,6-trideoxi- β -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-(2-acetamido-2-deoxy- α -L-altropyranosyl)uronát (**43**) végtermékhez jutottam.

Az II szerkezetű diszacharid szintézisére a metil-(4-*O*-acetyl-3-*O*-benzyl-2-deoxy-2-tetrachlorfuranosyl)- α -L-altropyranosyl)uronát-trichloracetimidát (**35**) donorral és metil-4-azido-2,4,6-trideoxi-2-furanosyl)- β -D-galactopyranosyl (**12**) akceptorral TMSOTf jelenlétében végrehajtott glikozilezésben 69%-os hozammal izoláltam a metil-[metil-(4-*O*-acetyl-3-*O*-benzyl-2-deoxy-2-tetrachlorfuranosyl)- α -L-altropyranosyl)uronát]-(1 $\rightarrow$ 3)-4-azido-2,4,6-trideoxi-2-furanosyl)- β -D-galactopyranosyl (**44**) diszacharidot. Jóval alacsonyabb hozammal (44%) nyertem a metil-[metil-(4-*O*-acetyl-3-*O*-benzyl-2-deoxy-2-tetrachlorfuranosyl)- α -L-tetrachlorfuranosyl)- β -D-galactopyranosyl (**45**) diszacharidot az előbbi **35** donor és a metil-4-azido-2,4,6-trideoxi-2-tetrachlorfuranosyl)- β -D-galactopyranosyl (**31**) akceptor reakciója során. A **31** akceptor 3-as hidroxiljának metil-(4-*O*-acetyl-3-*O*-benzyl-2-deoxy-2-tetrachlorfuranosyl)- α -L-altropyranosyl)uronát-bromiddal **36** történt glikozilezése AgOTf jelenlétében alacsonyabb, 35%-os hozammal eredményezte a **45** diszacharidot. Sikertelennek bizonyultak a **44** és **45** diszacharidok védőcsoportjainak eltávolítására végzett kísérletek.

Az előző pontban tapasztalt nehézségek miatt a II szerkezetű diszacharid előállítására a glikozilezés után történő oxidáció stratégiáját alkalmaztam.

A metil-4-azido-2,4,6-trideoxi-2-tetrachlorfuranosyl)- β -D-galactopyranosyl (**31**) akceptor 3-as hidroxilját a 4,6-di-*O*-acetyl-3-*O*-benzyl-2-deoxy-2-tetrachlorfuranosyl)- α -L-altropyranosyl-trichloracetimidáttal (**48**) glikozileztem, TMSOTf jelenlétében, így 60%-os hozammal jutottam a metil-(4,6-di-*O*-acetyl-3-*O*-benzyl-2-deoxy-2-tetrachlorfuranosyl)- α -L-altropyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 3)-4-azido-2,4,6-trideoxi-2-tetrachlorfuranosyl)- β -D-galactopyranosyl (**49**) diszacharid-

hoz.

Az **49** vegyület savas dezacetilezésével előállítottam a 4,6-diolt(**50**), amelyet TEMPO-val mediált gyökös oxidációval a metil-[(3-O-benzil-2-dezoxi-2-tetraklórftálimido- α -L-altropiranozil)uronsav]-(1 $\rightarrow$ 3)-4-azido-2,4,6-tridezoxi-2-tetraklórftálimido- β -D-galaktopiranozid (**51**) terméké alakítottam.

Ez esetben is a szokásos reakciókat alkalmaztam az **51** vegyület védőcsoportjainak eltávolítására és így állítottam elő az metil-[(2-acetamido-2-dezoxi- α -L-altropiranozil)uronsav]-(1 $\rightarrow$ 3)-2-acetamido-4-amino-2,4,6-tridezoxi- β -D-galaktopiranozid (**53**) végterméket.

A rendelkezésemre álló metil-2-acetamido-4-amino-2,4,6-tridezoxi- β -D-galaktopiranozidot (**15**), metil-(2-acetamido-2-dezoxi- α -L-altropiranozid)uronsav (**57**), a metil-(2-acetamido-4-amino-2,4,6-tridezoxi- β -D-galaktopiranozil)-(1 $\rightarrow$ 4)-(2-acetamido-2-dezoxi- α -L-altropiranozid)uronsav (**43**) diszacharidot immunológiai vizsgálatoknak vetettük alá. Az immunológiai vizsgálatot a Pécsi Orvostudományi Egyetem Mikrobiológiai Tanszékén a Kontrohr Tivadar vezette kutatócsoport végezte. A vizsgálat a passzív hemolízis inhibíció teszt alkalmazásával történt. Ennek eredményeként mindkét monoszacharid és a **43** diszacharid kompetitív inhibitornak bizonyult, az IK_{50} inhibíciós konstans 9,8 mM a **15** galaktózszármazék, 6,9 mM az **57** altruronsav és 3,9 mM a **43** diszacharid esetében. Ez az eredmény azt mutatja, hogy a diszacharid antitesthez történő illeszkedése és affinitása lényegesen kedvezőbb mint a diszacharidot felépítő monoszacharidoké.

6. Summary

Introduction

In this dissertation the synthesis of the repeating unit of the O-specific polysaccharide of *Shigella sonnei* is presented.

Our primary, long-range objective is the development of a carbohydrate-protein conjugate vaccine against enteric infections caused by the Gram-negative bacterium *Shigella sonnei*.

Shigellosis, an inflammatory disease of the lower intestine, is a continuing public health problem in both the developing and industrialized countries. *Shigellae* are the leading cause of dysentery throughout the world. It is dysentery (fever, mucous and blood in the stool) which is the leading cause of growth retardation in the world. In the United States ~60.000 cases are reported annually, and the rate of disease is increasing e.g. among patients infected with the human immunodeficiency virus. The incidence in Israel is ~20 times higher than in the United States, and affects ~0.15% of the population. The attack rate is especially high in the military field units of the Israeli Defense Force and among children between 1 and 4 years of age. Four groups of *Shigellae* (*Sh. dysenteriae* type 1, *Sh. flexneri* type 2a, *Sh. boydii*, and *Sh. sonnei*) account for almost all cases of shigellosis throughout the world. *Sh. sonnei* is responsible for ~3/4 of the cases of shigellosis among the recruits of the IDF, while the other quarter is caused by *Sh. flexneri* type 2a.

An approach to combat this disease can be vaccine development. In spite of the fact, that the causative organisms have been identified a century ago, there is no licensed vaccine against shigellosis. The need for such vaccines is documented by a World Health Organisation document which accords priority to the development of vaccines against Shigellosis.

The essential role of the O-specific polysaccharides of *Sh. sonnei*, and also other enteropathogenic bacteria led to the hypothesis of Robbins and co-workers, that serum IgG antibodies to the O-SPs confer protective immunity to the host. The validity of this hypothesis was substantiated by experiments with conjugate vaccines containing purified, O-specific polysaccharides covalently linked to an immunogenic protein. In mice, subcutaneous, injection of a conjugate containing the O-SP of *Sh. sonnei* elicited O-specific polysaccharide IgG and IgM antibodies.

The repeating unit of *Shigella sonnei* O-specific polysaccharide

The O-specific polysaccharide of *Shigella Sonnei* is composed of the disaccharide repeating unit consisting of the rare sugars 2,4,6-trideoxy-2-acetamido-4-amino-D-galactose and 2-acetamino-2-deoxy-L-altruonic acid that are connected through 1,2-trans interglycosidic linkages (Scheme 8). This disaccharide is quite unique since it possesses the zwitterionic structure of the peptides/proteins, as well as the interglycosidic (α -L and β -D) linkage characteristic of the oligosaccharides, two different types of linkage [(1 $\rightarrow$ 3) and (1 $\rightarrow$ 4)], as well as the NHAc-2 moiety present in both saccharide units.

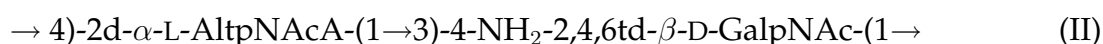
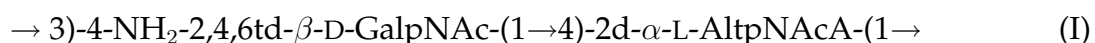
Synthesis of 4-amino-2,4,6-trideoxy-2-acetamido-D-galactose [174]

To design the synthetic route to this compound the compatibility of the protecting groups and selection of a strict order of the steps in the reaction sequence were essentially important. When selecting the *N*-protecting group, essential requirements were to ensure the development of an 1,2-*trans*-glycosidic bond, and also an easy exchange to an *N*-acetyl function in a later phase of the synthesis. For such purposes a great majority of the literature examples suggest the application of the *N*-phthaloyl group. Thus, the starting sugar D-glucoseamine **2** was conventionally converted into ethyl 3-*O*-acetyl-2-deoxy-4,6-*O*-isopropylidene-2-phthalimido-1-thio- β -D-glucopyranoside (**3**), described earlier by the van Boeckel group. Following removal of the isopropylidene function under mild acidic conditions, the resulting diol **4** was treated with *p*-toluenesulfonyl chloride to obtain ethyl 3-*O*-acetyl-2-deoxy-2-phthalimido-1-thio-4,6-di-*O*-(*p*-toluenesulfonyl)- β -D-glucopyranoside (**5**) (Scheme 13). Since direct conversion of the primary *p*-toluenesulfonyl group of **5** into a deoxy moiety failed, it was exchanged to an iodo function, to allow to isolate ethyl 3-*O*-acetyl-2,6-dideoxy-6-iodo-2-phthalimido-1-thio-4-*O*-(*p*-toluenesulfonyl)- β -D-glucopyranoside (**6**). Reduction of the iodosugar **6** could be best achieved by using the procedure of Wessel. Thus, hydrogenation over Pd/C in the presence of Et₃N resulted in 86% of ethyl 3-*O*-acetyl-2,6-dideoxy-2-phthalimido-1-thio-4-*O*-(*p*-toluenesulfonyl)-D-galactopyranoside (**7**). Reduction with Zn powder in acetic acid, or with tri-*n*-butyltin hydride proceeded with 76% and 74% yield, respectively, but workup of the reaction mixtures were much more tedious. Nucleophilic substitution of the 4-*O*-(*p*-toluenesulfonyl) derivative **7** with sodium azide furnished crystalline ethyl 3-*O*-acetyl-4-azido-2,4,6-trideoxy-2-phthalimido-1-thio- β -D-galactopyranoside (**8**) in acceptable (61%) yield. Either this compo-

und itself, or its 1-*O*-trichloroacetimidate derivative, which are available from **8**, were considered to be promising glycosyl donors for the subsequent glycosylation reactions. At the same time, the azidosugar **8** was an excellent starting material for the synthesis of the aglycones: methyl 4-azido-2,4,6-trideoxy-2-phthalimido- β -D-galactopyranoside (**12**) and methyl 2-acetamido-4-azido-2,4,6-trideoxy- β -D-galactopyranoside (**14**), and also of methyl 4-amino-2,4,6-trideoxy-2-acetamido- β -D-galactopyranoside (**15**) (Scheme 14), which was required for the biological studies. Although the lowest yields in the applied reaction sequence were higher than 60%, the overall yield for the synthesis of compound **15** was still near 1-2% because of the numerous reaction step.

Synthesis of the disaccharides

Since the biosynthesis of the natural polysaccharides (i.e. also the O-PS of *Shigella sonnei*) is not under genetic-control, their structure is primarily determined by the specificity of the enzymes (e.g. glycosyltransferases) participating in the biosynthetic process. In the present case it is impossible to claim that which is the monosaccharide building unit the sequence is started with. Therefore-taking the inhomogeneity by the molecular mass also into consideration-we can suppose that either of the following two structures may describe the correct structure of the O-PS:



It is of historical interest that in the Arrhenius Laboratory (Stockholm, Sweden), one of the finest carbohydrate research team of Europe, attempted to realize the synthesis of structure I in 1990. However, the trial was unsuccessful, and although this team elucidated the structure of many natural polysaccharides, they gave up related research. The severe difficulty in the synthesis of the disaccharides with structure I and II is encountered with the presence of the 2-acetamido-2-deoxy unit in both monosaccharides. This is why generation of the interglycosidic linkage can not be carried out with the participating 2-acetamido groups, and also, the zwitterionic structure of both units is much more characteristic of peptides than of the carbohydrate oligomers.

For the production of 1,2-*trans* interglycosidic linkages built up from 2-acetamido sugars *N*-phthaloyl (NPhth) and *N*-tetrachlorophthaloyl (NTCP) protecting groups are gene-

rally applied, which work well also for *N*-glycoproteins, although removal of the imide-type protecting groups calls for rather drastic conditions. Activation of the anomeric centers of the monosaccharide units is usually facilitated with various leaving groups, represented by the trichloroacetimidate, thioglycoside, halogeno derivatives. With these literature experiences in mind, we designed our oligosaccharide syntheses mainly with the NPhth and the NTCP protecting groups, and based on the thio, imidate, and halogeno leaving groups.

Synthesis of disaccharides with structure I.

For the preparation of the disaccharide represented by structure I, methyl (methyl 3-*O*-benzyl-2-deoxy-2-phthalimido- α -L-altropyranoside)uronate (**33**), the corresponding 2-tetrachlorophthalimido derivative (**34**), and methyl (methyl 2-acetamido-3-*O*-benzyl-2-deoxy- α -L-altropyranoside)uronate (**32**) were applied as the aglycone.

The glycosyl donors to the syntheses were ethyl 3-*O*-acetyl-4-azido-2,4,6-trideoxy-2-phthalimido-1-thio- β -D-galactopyranoside (**8**), its 2-tetrachlorophthalimido derivative (**28**), and the 1-trichloroacetimidate **38**. The prepared building blocks were employed in the following combinations: the NHAc uronate (**32**), *N*-phthaloyl uronate and (**33**) *N*-tetrachlorophthaloyl (**34**) uronate were glycosylated with the *N*-tetrachlorophthaloyl trichloroacetimidate (**38**), and afforded the disaccharides **39** in 32% yield, **40** in 89% yield and **41** in 93% yield (Scheme 17, Table 4).

Although we strictly kept the literature suggestions, i.e. 1) hydrolysis of the uronic ester with LiOH or LiI in pyridine; 2) treatment with the base; 3) acetylation, removal of the *N*-protecting group of both disaccharides (**39** and **40**) either with hydrazine hydrate or ethylenediamine proceeded with rather low yields.

Literature data, and our investigations with the monosaccharide models showed that the *N*-tetrachlorophthaloyl group can be much quickly removed with a considerably lower diamine concentration than the *N*-phthaloyl function. The above difficulties with the removal of the protecting groups led us to prepare structure I also with the *N*-tetrachlorophthaloyl protecting group. By removal of the methyl ester moiety with LiOH (Scheme 18.), followed by refluxing with 6 equivalents of ethylenediamine in methanol for 14h, we could get rid of the tetrachlorophthaloyl group. However, acetylation of the product could be achieved only with 38% yield, to obtain the di-*N*-acetyl derivative **42**. Splitting off of the benzyl group, and reduction of the azide function into amino was effected with

catalytic hydrogenation, to obtain the target disaccharide **43** with 51% yield. Full characterization of each of the disaccharide derivatives was carried out by means of ^1H and ^{13}C -NMR measurements (Table 5, 6).

Synthesis of disaccharides with structure II.

In this case we applied methyl 4-azido-2,4,6-trideoxy-2-phthalimido- β -D-galactopyranoside (**12**), and its 2-tetrachlorophthalimido analogue (**31**) as the aglycones, and methyl(4-*O*-acetyl-3-*O*-benzyl-2-deoxy-2-phthalimido- 1-*O*-trichloroacetimidoyl- α -L-altropyranosid)uronate (**35**) as the glycosyl donor.

Coupling of **12** with **35** in the presence of trimethylsilyl triflate catalyst furnished 69% of methyl[methyl(4-*O*-acetyl-3-*O*-benzyl-2-deoxy-2-tetrachlorophthalimido- α -L-altropyranosyl)uronate]-(1 $\rightarrow$ 3)-4-azido-2,4,6-trideoxy-2-phthalimido- β -D-galactopyranoside (**44**). Under equal conditions, the two 2-tetrachlorophthalimido components **31** and **35** afforded methyl[methyl(4-*O*-acetyl-3-*O*-benzyl-2-deoxy-2-tetrachlorophthalimido- α -L-altropyranosyl)uronate]-(1 $\rightarrow$ 3)-4-azido-2,4,6-trideoxy-2-tetrachlorophthalimido- β -D-galactopyranoside (**45**) in an essentially lower yield (44%). The **36** bromid glycosyl donor and the **31** 2-*N*-tetrachlorophthaloyl alglycone afforded the **45** disaccharide also in rather low yield (35%) (Scheme 19, Table 7).

The removal of the *N*-phthaloyl and *N*-tetrachlorophthaloyl groups from the disaccharide **44** and **45**, could not be performed (Scheme 20).

Due to the observed low yields, this route was somewhat modified, as we learnt that a TEMPO-mediated oxidation reaction under phase-transfer conditions can be accomplished even in the presence of base-sensitive functional groups.

Thus, glycosylation of the *N*-tetrachlorophthaloyl derivative **31** with the donor: 4,6-di-*O*-acetyl-3-*O*-benzyl-2-deoxy-2-tetrachlorophthalimido-1-*O*-trichloroacetimidoyl- α -L-altropyranose (**48**) furnished methyl (4,6-di-*O*-acetyl-3-*O*-benzyl-2-deoxy-2-tetrachlorophthalimido- α -L-altropyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 3)-4-azido-2,4,6-trideoxy-2-tetrachlorophthalimido- β -D-galactopyranoside (**49**) with good (60%) yield (Scheme 21). This latter compound, after acidic de-*O*-acetylation, was oxidized with NaOCl and 2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-oxide (TEMPO), in the presence of KBr and tetrabutylammonium bromide in dichloromethane. The reaction mixture was slightly acidified, and the disaccharide **51** was isolated from the organic phase over 60% yield. Following removal of the tetrachlorophthaloyl groups, acety-

lation afforded the disaccharide **52** with 56% yield carrying C-4 azido and O-3'-benzyl groups. Catalytic hydrogenation then led us to the target disaccharide **53** with 53% yield. The structure of the products were demonstrated by means of ^1H and ^{13}C -NMR measurements (Table 8, 9).

Immunological study [189]

The antigenicity of the disaccharide was assayed by the passive hemolysis inhibition test as described by Kontrohr and Péterffy. The method is based on complement-mediated hemolysis of lipopolysaccharide-sensitized erythrocytes after anti-LPS antibody binding. Using sheep erythrocytes, guinea pig complement, phase I lipopolysaccharide of *S. sonnei*, and hyper-immune polyclonal rabbit serum raised against *Shigella Sonnei*, the concentration of the disaccharide **43** and those of the component monosaccharides **57** and **15** were determined that were necessary for 50% inhibition of hemolysis. The results (Table 10) show that the disaccharide **43** is a better inhibitor than either one of its monosaccharide components of which the altruronic acid derivative **57** is superior. Less than 20% inhibition could be observed with the unnatural disaccharide **58** up to 15 mM concentration and no inhibition was seen with unrelated saccharides.

7. Közlemények jegyzéke

A PhD dolgozat alapját képező közlemények

- Synthesis of the Monosaccharide Units of the O-Specific Polysaccharide of *Shigella sonnei*, A. Medgyes, E. Farkas, A. Lipták, V. Pozsgay, *Tetrahedron*, **53**, (1997), 4159.
- Synthetic Studies Towards the O-specific Polysaccharide of *Shigella sonnei*, A. Medgyes, I. Bajza, E. Farkas, V. Pozsgai, A. Lipták, *J. Carbohydr. Chem.*, **19(3)**, (2000), 285.
- Synthesis of the Repeating Unit of the O-specific Polysaccharide of *Shigella sonnei* and Quantitation of its Serologic Activity, A. Tóth, A. Medgyes, I. Bajza, A. Lipták, Gy. Batta, T. Kontrohr, K. Péterffy, V. Pozsgay, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **10**, (2000), 19.

Egyéb közlemények

- The Use of a New Magnesium-Derived Hydride Reagent for Carbohydrate Derivatives, G. Szabovik, A. Medgyes, Zs. Antal, Zs. Varga, W. Knott, A. Lipták, *Polish J. Chem.*, **73**, 1999, 1003.
- Synthesis of 4-substituted phenyl 2,5-anhydro-1,6-dithio- α -D-glucoside and α -L-guloseptanosides possessing antithrombotic activity, É. Bozó, A. Medgyes, S. Boros, J. Kuszmann, *Carbohydr. Res.*, **329**, (2000), 25.

Előadások

- Új megközelítés az N-glikoproteinek törzs régiójának előállításában, A. Medgyes, A. Lipták, *Magyar Szénhidrátkémiai Munkabizottsági Ülés*, május 22-24, 1995.
- Unusual Opening of Sugar Oxiranes with a New Magnesium-Derived Hydride Reagent, A. Medgyes, Zs. Antal, G. Szabovik, A. Lipták, W. Knott, *XVIII International Carbohydrate Symposium*, July 21-26, 1996, Milano, Italy.
- Synthesis of the Monosaccharide Units of the O-Specific Polysaccharide of *Shigella sonnei*, A. Medgyes, E. Farkas, A. Lipták, and V. Pozsgay, 1. *German-East-European- Carbohydrate Workshop for Field Researchers*, March 22-24, 1997, Güstrow.
- Synthesis of the Monosaccharide Units of the O-Specific Polysaccharide of *Shigella sonnei*, A. Medgyes, E. Farkas, A. Lipták, and V. Pozsgay, *Magyar Szénhidrátkémiai Munkabizottsági Ülés*, május 24-27, 1997, Mátrafüred.

Poszterek

- A *Shigella sonnei* O-specifikus oldallánca monoszaccharid egységeinek szintézise, E. Farkas, A. Medgyes, A. Lipták, *Vegyészkonferencia* 1995, augusztus 29-31, 1995, Debrecen.
- Synthesis of the Monosaccharide Constituents of the Mimetic Antigen of *Shigella sonnei*, A. Lipták, A. Medgyes, E. Farkas, V. Pozsgay, *XVIII International Carbohydrate Symposium*, July 21-26, 1996, Milano, Italy.
- The Use of a new Derived Magnesium-Derived Hydride Reagent for Carbohydrate Derivatives, A. Medgyes, G. Szabovik, Zs. Antal, W. Knott and A. Lipták, *XVIII International Carbohydrate Symposium*, July 21-26, 1996, Milano, Italy.

8. Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom mindenekelőtt Dr. Prof. Lipták András témavezetőmnek, aki munkámat lehetővé tette a KLTE Biokémiai Tanszékén, mindvégig figyelemmel kísérte és hasznos tanácsaival segítette.

Köszönet illeti dr. Bajza Istvánt értékes tanácsaiért és munkám során nyújtott segítségéért. Köszönettel tartozom Dr. Szilágyi Lászlónak, Dr. Kövér Katalinnak, Dr. Batta Gyulának és dr. Ősz Erzsébetnek az anyagok NMR spektrumainak elkészítésében és a felvételek értelmezésében nyújtott segítségükért.

Megköszönöm dr. Gyémánt Gyöngyi tanársegédnek és Madarasiné Molnár Katalinnak a gázkromatográfiás és nagynyomású folyadékkromatográfiás vizsgálatok elvégzését és a vegyületeim $[\alpha]_D$ értékeinek meghatározását.

Köszönetet mondok Dr. Kuzsmann Jánosnak és dr. Bozó Évanak dolgozatomban nyújtott segítségükért.

Továbbá megköszönöm mindazok közreműködését akik dolgozatom elkészítésében segítettek, hálával tartozom legközvetlenebb munkatársaimnak Jánossy Lórántnak, dr. Szurmai Zoltánnak, dr. Kerékgyártó Jánosnak, dr. Hajkó Jánosnak, dr. Farkas Erzsébetnek, dr. Varga Zsoltnak és dr. Antal Zsuzsának.

Köszönettel tartozom férjemnek dr. Kovács Zsoltnak lelkes támogatásáért, a szöveg szerkesztéséért és $\text{\LaTeX} 2_{\epsilon}$ -ben adott segítségéért.

Tudományos előrehaladásomat a következő alapítványok és szervezetek támogatták:

Howard Hughes Medical Institute

Kereskedelmi Bank "Universitas" alapítványa

Országos Tudományos Kutatási Alap

Göd, 2004. november. 29.

Hivatkozások

- [1] M. M. Levine, G. C. Woodrow, J. B. Kaper, G. S. Cobon. *New Generation Vaccines*, page 1. Marcel Dekker Inc., (1997).
- [2] A. Robinson, G. H. Farrar, C. N. Wiblin, N. J. Totowa. *Vaccine Protocols*. Human Press, Inc., (1996).
- [3] M. Heidelberger, O. T. Avery. *J. Exp. Med.*, **38**, (1923), 73.
- [4] T. Francis Jr., W. S. Tillett. *J. Exp. Med.*, **52**, (1930), 573.
- [5] K. E. Stein. *Int. J. Tech. Ass. Health Care*, **10**, (1994), 167.
- [6] J. B. Robbins, R. Schneerson, P. Anderson, D. H. Smith. *J. Am. Med. Assoc.*, **276**, (1996), 1181.
- [7] K. Landsteiner. *The Specificity of Serological Reactions*. Harvard University Press, Cambridge, (1970).
- [8] D. R. Bundle. *Topics in Curr. Chem.*, **154**, (1990), 1.
- [9] A. Preston, R. E. Mandrell, B. W. Gibson, M. A. Apicella. *Crit. Rev. Microbiol.*, **22**, (1996), 139.
- [10] J. B. Robbins, R. Schneerson, S. Szu, V. Pozsgay. *Vaccina, Vaccination and Vaccinology: Jenner, Pasteur and their Successors*, 135. Elsevier, Paris, (1996).
- [11] R. A. Dwek. *Chem. Rev.*, **96**, (1996), 683.
- [12] B. Ernst, G. W. Hart, P. Sinaý. *Carbohydrates in chemistry and biology. Vol. 1*. Wiley-VCH Verlag GmbH, (2000).
- [13] B. Fraser-Reid, K. Tatsuta and J. Thiem. *Glycoscience*. Springer, (2001).
- [14] R. R. Schmidt. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **25**, (1986), 212.
- [15] Fügedi P., Lipták A. *Magy. Kém. Lapja*, **42**, 179 226 (1987), 308.
- [16] H. Paulsen. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **21**, (1982), 155.
- [17] A. F. Bochkov, G. E. Zaikov. *Chemistry of the O-glycosidic bond, formation and cleavage*. Pergamon Press, Oxford, (1979).

- [18] A. H. Haines. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **33**, (1976), 11.
- [19] A. H. Haines. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **39**, (1981), 13.
- [20] R. W. Binkley. *Modern Carbohydrate Chemistry*. M. Dekker, New York, (1988).
- [21] J. Stanek Jr. *Topics in Current Chemistry*, **154**, (1990), 209.
- [22] T. W. Greene, P. G. M. Wuts. *Protective groups in organic synthesis*, Wiley-Interscience Publications, (1991).
- [23] P. J. Kocienski. *Protecting groups*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, (1994).
- [24] G. J. Boons. *Tetrahedron*, **52**, (1996), 1095.
- [25] M. Bertolini, C. P. J. Glaudemans. *Carbohydr. Res.*, **15**, (1970), 263.
- [26] P. Kováč, J. Hirsch. *Carbohydr. Res.*, **100**, (1982), 177.
- [27] H. Paulsen. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **29**, (1990), 823.
- [28] P. Függedi, P. J. Garegg. *Carbohydr. Res.*, **149**, (1986), C9.
- [29] H. Paulsen, W. Stenzel. *Angew. Chem. Ind. Ed. Engl.*, **14**, (1975), 157.
- [30] G. Grundler, R. R. Schmidt. *Liebigs Ann. Chem.*, 1826, (1984).
- [31] L. Lönn. *Carbohydr. Res.*, **139**, (1985), 105.
- [32] L. Lönn. *Carbohydr. Res.*, **139**, (1985), 115.
- [33] K. C. Nicolaou, T. J. Caulfield, H. Kataoka. *Carbohydr. Res.*, **202**, (1990), 177.
- [34] L. A. J. M Sliedrecht, G. A. van der Marel, J. H. van Boom. *Tetrahedron Lett.*, **35**, (1994), 4015.
- [35] O. Kanie, Y. Ito, T. Ogawa. *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 1994, 1447.
- [36] M. S. Feather, J. F. Harris. *J. Org. Chem.*, **30**, (1965), 153.
- [37] B. Capon. *Chem. Rev.*, **69**, (1969), 407.
- [38] D. R. Mootoo, P. Konradsson, B. Fraser-Reid. *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, (1988), 5583.
- [39] P. Konradsson, U. E. Udodong, B. Fraser-Reid. *Tetrahedron Lett.*, **31**, (1990), 4313.

- [40] B. Fraser-Reid, Z. Wu, C. W. Andrews, E. Skowroski, J. B. Bowen. *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, (1991), 1434.
- [41] G. H. Veeneman, J. H. van Boom. *Tetrahedron*, **31**, (1990), 275.
- [42] R. W. Friesen, S. J. Danishefsky. *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, (1989), 6656.
- [43] J. Gervay, S. J. Danishefsky. *J. Org. Chem.*, **56**, (1991), 5448.
- [44] R. Roy, F. O. Andersson, M. Letellier. *Tetrahedron Lett.*, **33**, (1992), 6053.
- [45] F. Barresi, O. Hindsgaul. *Can. J. Chem.*, , 1994, 12073.
- [46] M. Bols, T. Skydstrup. *Chem. Rev.*, **95**, (1995), 1253.
- [47] K. H. Jung, M. Müller, R. R. Schmidt. *Chem. Rev.*, **100**, (2000), 4423.
- [48] P. H. Seeberger, W.-C. Haase. *Chem. Rev.*, **100**, (2000), 4349.
- [49] D. J. Gravert, K. D. Janda. *Chem. Rev.*, **97**, (1997), 489.
- [50] C. H. Wong, R. L. Halcomb, Y. Ichikawa, T. Kajimoto. *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, **34**, (1995), 412.
- [51] Farkas E. *Biomolekulák szubsztrátjainak és ligandjainak előállítása szénhidrát bázison*. PhD thesis, Debreceni Egyetem, (1997).
- [52] E. J. Toone, E. S. Simon, M. D. Bednarski, G. Whiteside. *Tetrahedron*, **45**, (1989), 5365.
- [53] C. A. Compston, C. Condon, H. R. Hanna, M. A. Mazid. *Carbohydr. Res.*, **239**, (1993), 176.
- [54] M. Schuster, P. Wang, J. C. Paulson, C. H. Wong. *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, (1994), 1135.
- [55] D. M. Whitfield, S. P. Douglas. *Glycoconjugate J.*, **13**, (1996), 5.
- [56] H. Paulsen. *J. Chem. Soc. Rev.*, **13**, (1984), 15.
- [57] J. Banoub, P. Boullanger, D. Lafont. *Chem Rev.*, **92**, (1992), 1167.
- [58] P. Sinaÿ. *Pure Appl. Chem.*, **63**, (1991), 519.
- [59] B. Fraser-Reid, U. E. Udodong, Z. Wu, H. Ottosen, J. R. Merritt, C. Srinivas Rao, C. Roberts, R. Madsen. *Synlett*, 927, (1992).

- [60] L. A. J. Sliedregt, K. Zegelaar-Jaarsveld, G. A. van der Marel, J. H. van Boom. *Synlett*, 335, (1993).
- [61] S. H. Kim, D. Augeri, D. Yang, D. Kahne. *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, (1994), 1766.
- [62] L. A. J. M. Sliedregt, G. A. van der Marel, J. H. van Boom. *Tetrahedron Lett.*, **35**, (1994), 4015.
- [63] M. Palme, A. Vasella. *Bioorg. Med. Chem.*, **2**, (1994), 1169.
- [64] V. Ferrières, J.-N. Bertho, D. Plusquellec. *Tetrahedron Lett.*, **36**, (1995), 2749.
- [65] Y. Du, F. Kong. *J. Carbohydr. Chem.*, **14**, (1995), 341.
- [66] K. Toshima, K. Tatsuta. *Chem. Rev.*, **93**, (1993), 1503.
- [67] R. R. Schmidt, W. Kinzy. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **50**, (1994), 21.
- [68] T. Ogawa. *Chem. Soc. Rev.*, **23**, (1994), 397.
- [69] S. J. Danishefsky, M. T. Bilodeau. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **35**, (1996), 1380.
- [70] R. U. Lemieux, T. Takeda, B.Y. Chung. *A.C.S. Symp. Ser.*, **39**, (1976), 90.
- [71] D. R. Bundle, S. Josephson. *Can. J. Chem.*, **57**, (1979), 662.
- [72] D. R. Mootoo, B. Fraser-Reid. *Tetrahedron Lett.*, **30**, (1989), 2363.
- [73] Y. Ito, S. Sato, M. Mori, T. Ogawa. *J. Carbohydr. Chem.*, **7**, (1988), 359.
- [74] P. L. Durette, E. P. Meitzner, T. Y. Shen. *Tetrahedron Lett.*, 4013, (1979).
- [75] O. Kanie, S.C. Crawley, M. M. Palcic, O. Hindsgaul. *Carbohydr. Res.*, **243**, (1993), 139.
- [76] P. Stangier, O. Hindsgaul. *Synlett*, 179, (1996).
- [77] J. S. Debenham, R. Madsen, C. Roberts, B. Fraser-Reid. *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, (1995), 3302.
- [78] J.S. Debenham, D. Debenham, B. Fraser-Reid. *Bioorg. Med. Chem.*, **4**, (1996), 1909.
- [79] J. S. Debenham, R. Rodebaugh, B. Fraser-Reid. *J. Org. Chem.*, **61**, (1996), 6478.
- [80] M. Lergenmüller, Y. Ito, T. Ogawa. *Tetrahedron*, **54**, (1998), 1381.

- [81] H. Shimizu, Y. Ito, T. Ogawa. *Synlett*, 533, (1994).
- [82] K. J. Jensen, P. R. Hansen, D. Venugopal, G. Barany. *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, (1996), 3148.
- [83] E. Meinjohanns, M. Meldal, K. Bock, H. Paulsen. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 405, (1995).
- [84] M. R. E. Aly, J. C. Castro-Palomino, E. S. I. Ibrahim, E. S. H. El-Ashry, R. R. Schmidt. *Eur. J. Org. Chem.*, 2305, (1998).
- [85] M. R. E. Aly, E. S. I. Ibrahim, E. S. H. El-Ashry, R. R. Schmidt. *Eur. J. Org. Chem.*, 319, (2000).
- [86] J. C. Castro-Palomino, R. R. Schmidt. *Tetrahedron Lett.*, **41**, (2000), 629.
- [87] F. Dasgupta, L. Anderson. *Carbohydr. Res.*, **202**, (1990), 239.
- [88] A. J. Acher, D. Shapiro. *J. Org. Chem.*, **34**, (1969), 2652.
- [89] G. Blatter, J. M. Beau, J. C. Jacquinet. *Carbohydr. Res.*, **260**, (1994), 189.
- [90] W. Meyer zu Reckendorf, N. Wassiliadon-Micheli. *Chem. Ber.*, **103**, (1970), 1792.
- [91] C. Coutant, J. C. Jacquinet. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1573, (1995).
- [92] F. Bélot, J. C. Jacquinet. *Carbohydr. Res.*, **290**, (1996), 79.
- [93] F. Bélot, J. C. Jacquinet. *Carbohydr. Res.*, **325**, (1999), 93.
- [94] G. Blatter, J. C. Jacquinet. *Carbohydr. Res.*, **288**, (1996), 109.
- [95] F. Bélot, J. C. Jacquinet. *Carbohydr. Res.*, **326**, (2000), 88.
- [96] W. Dullenkopf, J. C. Castro-Palomino, L. Manzoni, R. R. Schmidt. *Carbohydr. Res.*, **296**, (1996), 135.
- [97] J. C. Castro-Palomino, R. R. Schmidt. *Tetrahedron Lett.*, **36**, (1995), 6871.
- [98] R. Madwen, C. Roberts, B. Fraser-Reid. *J. Org. Chem.*, **60**, (1995), 7920.
- [99] H. Jiao, O. Hindsgaul. *Angew. Chem. Int. ed. Engl.*, **38**, (1999), 346.
- [100] N. M. Kelly, K. J. Jensen. *J. Carbohydr. Chem.*, **20**, (2001), 537.
- [101] R. Plourde, M. d'Alarcao. *Tetrahedron Lett.*, **31**, (1990), 2693.

- [102] X. Qian, O. Hindsgaul. *Chem. Commun.*, 1059, (1997).
- [103] H. Paulsen, O. Lockhoff. *Chem. Ber.*, **114**, (1981), 3102.
- [104] P. J. Garegg, P. Ossowski. *Acta. Chem. Scand. B*, **37**, (1983), 249.
- [105] H. Paulsen. *Angew. Chem.*, **94**, (1982), 184.
- [106] H. Paulsen, M. Paal. *Carbohydr. Res.*, **113**, (1983), 203.
- [107] N. V. Bovin, S. É. Zurabyan, A. Ya. Khrolin,. *Carbohydr. Res.*, **112**, (1983), 23.
- [108] W. Koenigs, E. Knorr. *Chem. Ber.*, **34**, (1901), 957.
- [109] W. P. Stöckl, H. Weidmann. *J. Carbohydr. Chem.*, **8**, (1989), 169.
- [110] C. D. Warren, M.-L. Milat, C. Augé, R. W. Jeanloz. *Carbohydr. Res.*, **126**, (1984), 61.
- [111] C. A. A. van Boeckel, J. P. G. Hermans, P. Westerduin, J. J. Oltvoort, G. A. van der Marel, J. H. van Boom. *Tetrahedron Lett.*, **23**, (1982), 1951.
- [112] T. Ogawa, K. Beppu, S. Nakabayashi. *Carbohydr. Res.*, **93**, (1981), C6.
- [113] M. Kiso, L. Anderson. *Carbohydr. Res.*, **136**, (1985), 309.
- [114] R. J. Ferrier, R. W. Hay, N. Vethaviasar. *Carbohydr. Res.*, **27**, (1973), 55.
- [115] J. W. Van Cleve. *Carbohydr. Res.*, **70**, (1979), 161.
- [116] K. C. Nicolaou, S. P. Seitz, D. P. Papahatjis. *J. Am. Chem. Soc.*, **105**, (1983), 2430.
- [117] G. H. Veeneman, S. H. van Leeuwen, J. H. van Boom. *Tetrahedron Lett.*, **31**, (1990), 1331.
- [118] T. Y. R. Tsai, H. Jin, K. Wiesner. *Can. J. Chem.*, **62**, (1984), 1403.
- [119] P. J. Garegg, P. Henrichson, T. Norberg. *Carbohydr. Res.*, **116**, (1983), 162.
- [120] S. Hanessian, C. Bacquet, N. Lehong. *Carbohydr. Res.*, **80**, (1980), C17.
- [121] T. Mukaiyama, T. Nakatsuka, S. I. Shoda. *Chem. Lett.*, 487, (1979).
- [122] R. B. Woodward, E. Logusch, K. P. Nambiar, K. Sakan, D. E. Ward, B. W. Auyeung, P. Balaram, L. J. Browne, P. J. Card, C. H. Chen, R. B. Chenevert, A. Fliri, K. Frobel, H. J. Gais, D. G. Garratt, K. Hayakawa, W. Heggie, D. P. Hesson, D. Hoppe, I. Hoppe,

J. A. Hyatt, D. Ikeda, P. A. Jacobi, K. S. Kim, Y. Kobuke, K. Kojima, K. Krowicki, Lee VJ, Leutert T, Malchenko S, Martens J, R. S. Matthews, Ong BS, Press JB, Babu TVR, Rousseau G, Sauter HM, M. Suzuki, Tatsuta K, Tolbert LM, Truesdale EA, Uchida I, Ueda Y, T. Uyehara, Vasella AT, Vladuchick WC, Wade PA, Williams RM, Wong HNC. *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, (1981), 3215.

[123] P. G. M. Wutts, S. S. Bigelow. *J. Org. Chem*, **48**, (1983), 3489.

[124] S. Sato, M. Mori, Y. Ito. *J. Carbohydr. Chem.*, **155**, (1986), C6.

[125] Y. Ito, T. Ogawa. *Tetrahedron Lett.*, **29**, (1988), 1061.

[126] Y. Ito, T. Ogawa. *Carbohydr. Res.*, **202**, (1990), 165.

[127] J. O. Kihlberg, D. A. Leigh, D. R. Bundle. *J. Org. Chem.*, **55**, (1990), 2860.

[128] R. U. Lemieux, A. R. Morgan. *Can. J. Chem.*, **43**, (1965), 2190.

[129] K. P. R. Kartha, M. Aloui, R. A. Field. *Tetrahedron Lett.*, **37**, (1996), 5175.

[130] K. Fukase, A. Hasuoka, I. Kinoshita, S. Kusumoto. *Tetrahedron Lett.*, **33**, (1992), 7165.

[131] V. Pozsgay, H. J. Jennings. *J. Org. Chem.*, **52**, (1987), 4635.

[132] V. Pozsgay, H. J. Jennings. *J. Org. Chem.*, **53**, (1988), 4042.

[133] G. V. Reddy, V. R. Kulkarni, H. B. Mereyala. *Tetrahedron Lett*, **30**, (1989), 4283.

[134] F. Dasgupta, P. J. Garegg. *Carbohydr. Res.*, **177**, (1988), C13.

[135] K. Tsuboyama, K. Takeda, K. Torri, M. Ebihara, J. Shimizu, A. Suzuki, N. Sato, K. Furuhashi, H. Ohura. *Chem. Pharm. Bull*, **38**, (1990), 636.

[136] A. Marra, J. M. Mallet, C. Amatore, P. Sinaÿ. *Synlett*, 572, (1990).

[137] R. R. Schmidt, J. Michel. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl*, **19**, (1980), 731.

[138] R. R. Schmidt, G. Grundler. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **22**, (1983), 776.

[139] R. Hoos, J. Huixin, A. Vasella, P. Weiss. *Helv. Chim. Acta*, **79**, (1996), 1757.

[140] V. J. Patil. *Tetrahedron Lett.*, **37**, (1996), 1481.

[141] S. P. Douglas, D. M. Whitfield, J. J. Kerpinsky. *J. Carbohydr. Chem.*, **12**, (1993), 131.

- [142] H. Waldmann, G. Boehm, U. Schmid, H. Roettele. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **33**, (1994), 1994.
- [143] A. Lubineau, B. J. Drouillat. *J. Carbohydr. Chem.*, **16**, (1997), 1179.
- [144] J. Kovensky, Ph. Duchaussoy, M. Petitou, P. Sinay. *Tetrahedron, Assymetry*, **7**, (1996), 3119.
- [145] W. Kinzy, R. R. Schmidt. *Carbohydr. Res.*, **164**, (1987), 265.
- [146] W. Kinzy, R. R. Schmidt. *Carbohydr. Res.*, **193**, (1989), 33.
- [147] W. Kinzy, R. R. Schmidt. *Liebigs Ann. Chem.*, 407, (1987).
- [148] R. R. Schmidt, G. Grundler. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **21**, (1982), 775.
- [149] T. Nakano, Y. Ito, T. Ogawa. *Carbohydr. Res.*, **243**, (1993), 43.
- [150] J. L. Maloisel, A. Vasella, B. M. Trost, D. L. van Wranken. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1099, (1991).
- [151] R. R. Schmidt, M. Faas, K. H. Jung. *Liebigs Ann. Chem.*, 1546, (1985).
- [152] B. A. Silwanis, R. I. El-Sokkary, M. A. Nashed, H. Paulsen. *J. Carbohydr. Chem.*, **10**, (1991), 1067.
- [153] D. N. Taylor, A. C. Trofa, J. Sadoff, C. Chu, D. Bryla, J. Shiloach, D. Cohen, S. Ashkenazi, Y. Lerman, W. Egan, R. Schneerson, J. B. Robbins. *Infect. Immun.*, **61**, (1993), 3678.
- [154] D. Cohen, S. Ashkenazi, M. S. Green, M. Gdalevich, G. Robin, R. Slepon, M. Yavzori, N. Orr, C. Block, I. Ashkenazi, J. Shemer, D. N. Taylor, T.L. Hale, J. C. Sadoff, D. Pavliakova, R. Schneerson, J. B. Robbins. *Lancet*, **349**, (1997), 155.
- [155] J. B. Robbins, C. Chu, R. Schneerson. *Clin. Inf. Dis.*, **15**, (1992), 346.
- [156] J. H. Passwell, E. Harlev, S. Ashkenazi, C. Y. Chu, D. Miron, R. Ramon, N. Farzan, J. Shiloach, D. A. Bryla, F. Majadly, R. Roberson, J. B. Robbins, R. Schneerson. *Infect. Immun.*, **69**, (2001), 1351.
- [157] V. Pozsgay, C. Chu, L. Pannell, J. Wolf, J. B. Robbins, R. Schneerson. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, (1999), 5194.

- [158] V. Pozsgay, B. Coxon, C. P. J. Glaudemans, R. Schneerson, J. B. Robbins. *Synlett*, 743, (2003).
- [159] V. Pozsgay. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **37**, (1998), 138.
- [160] T. Kontrohr. *Carbohydr. Res.*, **58**, (1977), 498.
- [161] L. Kenne, B. Lindberg, K. Petersson, E. Katzenellenbogen, E. Romanowska. *Carbohydr. Res.*, **78**, (1980), 119.
- [162] Gy. Batta, A. Lipták, R. Scheerson, V. Pozsgay. *Carbohydr. Res.*, **305**, (1998), 93.
- [163] A. Gamian, E. Romanowska. *Eur. J. Biochem.*, **129**, (1982), 105.
- [164] P. J. Garegg, M. Haraldsson. *Tetrahedron*, **46**, (1990), 13.
- [165] H. Lönn, J. Lönngren. *Carbohydr. Res.*, **132**, (1984), 39.
- [166] P. Smid, W. P. A. Jörning, A. M. G. van Duuren, G. J. P. H. Boons, G. A. van der Marel, J. H. van Boom. *J. Carbohydr. Chem.*, **11**, (1992), 849.
- [167] N. M. Spijker, C. A. A. van Boeckel. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **30**, (1991), 180.
- [168] N. M. Spijker, P. Westerduin, C. A. A. van Boeckel. *Tetrahedron*, **48**, (1992), 6297.
- [169] J. E. Christensen, L. Goodman. *Carbohydr. Res.*, **7**, (1968), 510.
- [170] J. W. H. Oldham, J. K. Rutherford. *J. Am. Chem. Soc.*, **54**, (1932), 366.
- [171] H. P. Wessel, M. Trumtel, R. Minder. *J. Carbohydr. Chem.*, **15**, (1996), 523.
- [172] H. Paulsen, J. P. Lorentzen. *Carbohydr. Res.*, **140**, (1985), 155.
- [173] H. Arita, K. Fukukawa, Z. Matsushima. *Bull. Chem. Soc. Jpn*, **45**, (1972), 3614.
- [174] A. Medgyes, E. Farkas, A. Lipták, V. Pozsgay. *Tetrahedron*, **53**, (1997), 4159.
- [175] V. Pozsgay, H. J. Jennings. *Tetrahedron Lett.*, **28**, (1987), 1375.
- [176] M. Ito, K. Koyakumar, T. Ohta, H. Takaya. *Synthesis*, 376, (1995).
- [177] J. C. Michalski, J. Peter-Katalanic, H. Egge, J. Paz-Parente, J. Montreuil, G. Strecker. *Carbohydr. Res.*, **134**, (1984), 177.
- [178] R. R. Schmidt, J. Nichel, M. Roos. *Liebigs. Ann. Chem.*, , (1984), 1343.

- [179] T. Buskas, P. Konradsson. *J. Carbohydr. Chem.*, **19**, (2000), 25.
- [180] L. A. Mulard, C. Costachel, P. J. Sansonetti. *J. Carbohydr. Chem.*, **19**, (2000), 849.
- [181] P. Magnus, T. Gallagher. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 389, (1984).
- [182] P. J. Garegg, S. Oscarson, U. Tedebark. *J. Carbohydrate Chem.*, **17**, (1998), 587.
- [183] W. Steffan, C. Vogel, H. Kristen. *Carbohydr. Res.*, **204**, (1990), 109.
- [184] Z. Györgydeák, J. Thiem. *Carbohydr. Res.*, **268**, (1995), 85.
- [185] N. J. Davis, S. L. Flitsch. *Tetrahedron Lett.*, **34**, (1993), 1181.
- [186] C. L. Battistelli, C. De Csatro, A. Iadonisi, R. Lanzetta, L. Mangoni, M. Parrilli. *J. Carbohydr. Chem.*, **18**, (1999), 69.
- [187] A. Medgyes, I. Bajza, E. Farkas, V. Pozsgai, A. Lipták. *J. Carbohydr. Chem.*, **19(3)**, (2000), 285.
- [188] T. Kontrohr, K. Péterffy. *J. Immunol. Methods*, **13**, (1976), 271.
- [189] A. Tóth, A. Medgyes, I. Bajza, A. Lipták, Gy. Batta, T. Kontrohr, K. Péterffy, V. Pozsgay. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **10**, (2000), 19.

**A *Shigella sonnei* lipopoliszacharidja O-specifikus szénhidrátlánca ismétlődő
egységének szintézise**

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

a kémia tudományágban

Írta: Medgyes Adél okleveles vegyész

Készült a Debreceni Egyetem Kémiai tudományok doktori iskolája

(Szénhidráttartalmú természetes és mesterséges anyagok kémiája, biokémiája és
szerkezet-meghatározása programja) keretében

Témavezető: Dr. Lipták András

A doktori szigorlati bizottság:

Elnök: Dr.

Tagok: Dr.

Dr.

A doktori szigorlat időpontja: 2004

Az értekezés bírálói:

Dr.

Dr.

A bírálóbizottság:

Elnök: Dr.

Tagok: Dr.

Dr.

Dr.

Dr.

Az értekezés védésének időpontja: 2004