

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS

D- és L-hexózekből felépülő oligoszacharidok szintézise és biológiai jellemzése

Dr. Herczeg Mihály



DEBRECENI EGYETEM

Gyógyszerésztudományi kar

Gyógyszerészi Kémia Tanszék

2025.

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés	3
2. Irodalmi áttekintés	4
2.1. A szénhidrátok biológiai szerepe	4
2.2. A szénhidrátok kémiai szemszögből nézve	5
2.3. Szénhidrátok a gyógyászatban	6
2.4. Az L-hexózek szerkezete és jelentőségük	7
2.5. Az L-hexózek és 6-dezoxi-L-hexózek előfordulása	9
2.6. A véralvadás mechanizmusa	11
2.7. A heparin bioszintézise és szerkezete	12
2.8. A heparin és a heparán szulfát	14
2.9. Heparin-analóg pentaszacharidok	15
2.10. Az idraparinux első szintézise	19
2.11. Az idraparinux újabb szintézise	21
2.12. L-hexózek és 6-dezoxi-L-hexózek szintézise	24
2.12.1. Különféle exociklusos alkének hidrobórlása	25
2.12.2. Lopatkiewicz és Mlynarski módszere L-időz szintézisére	26
2.12.3. 6-Dezoxi-L-talopiranozid származék előállítása I.	27
2.12.4. 6-Dezoxi-L-talopiranozid származék előállítása II.	28
2.13. A szulfatált maltooligomerek és biológiai hatásuk	29
2.14. Korábbi eredményeink	30
3. Heparin-analóg oligoszacharidok előállítása és biológia vizsgálatai – Saját Eredmények ...	31
3.1. Kisebb tagszámú heparin-analóg oligoszacharidok szintézise és biológiai vizsgálata	31
3.1.1. Idraparinux és fondaparinux analóg triszacharidok előállítása és biológiai vizsgálata ...	31
3.1.2. Szulfonsav tartalmú maltooligomerek szintézise	40
3.2. Az idraparinux szintézise	48
3.2.1. Az idraparinux szintézisének optimalizálása I.	48
3.2.2. Az idraparinux szintézisének optimalizálása II.	51
3.2.3. Az idraparinux szintézisének optimalizálása III.	54
3.3. 6-Dezoxi-L-talóztartalmú idraparinux analóg pentaszacharidok szintézise	59
3.4. Új szintetikus úttal kidolgozása L-hexózt tioglikozid donorok gazdaságos előállítására	64
3.4.1. D-mannózból kiinduló szintézisek I. Az L- <i>gulo</i> és L- <i>allo</i> konfigurációjú tioglikozid donorok szintézise	65

3.4.2. D-mannózból kiinduló szintézisek II. Az L- <i>glüko</i> és L- <i>galakto</i> konfigurációjú tioglikozid donorok szintézise D-altrózon keresztül.....	68
3.4.3. D-glükózból kiinduló szintézisek I. Az L- <i>ido</i> és L- <i>altro</i> konfigurációjú tioglikozid donorok szintézise.....	70
3.4.4. D-glükózból kiinduló szintézisek II. Az L- <i>talo</i> és L- <i>manno</i> konfigurációjú tioglikozid donorok szintézise D-allózon keresztül.....	74
3.4.5. A DBU-t tartalmazó kvaterner imínium sók vizsgálata.....	77
3.5. Az első L-guluronsav tartalmú véralvadásgátló pentaszacharid szintézise.....	83
4. A lektinek és az L-ramnóz tartalmú oligoszacharidok kapcsolata - Irodalmi háttér	87
4.1. A lektinek általános jellemzése.....	87
4.2. A törzfarkú rák.....	88
4.3. A törzfarkú rák plazma lektin (nHPL) és rekombináns változata (rHPL).....	89
5. L-Ramnóz tartalmú oligoszacharidok szintézise és biológiai vizsgálata - Saját eredmények	92
5.1. Multivalens ramnobiozid származékok szintézise és lektin-kötő tulajdonsága.....	92
5.2. Diramnolipidek szintézise és biológia vizsgálata	95
5.3. A Psl pentaszacharid szintézise és az rHPL lektinnel való kölcsönhatása	99
6. Az eredmények hasznosíthatósága	102
7. Összefoglalás.....	103
8. Irodalomjegyzék.....	106
9. Köszönetnyilvánítás	122

1. Bevezetés

Mindennapi életünk szerves részét képezik a „cukrok”, de a szénhidrátok nemcsak a hétköznapijaink meghatározó vegyületei, hanem a tudomány színpadán is fontos szerepet játszanak. Az 1970-es évekig a „cukroknak” többnyire szerkezeti szerepet tulajdonítottak (pl.: vázanyagok), illetve az anyagcsere folyamatok szubsztrátumainak tekintették őket. A biokémia és a molekuláris biológia intenzív fejlődése során a szénhidrátok biológiai szerepe jelentősen ártértékelődött. Felismerték, hogy különböző szénhidrátszármazékok a sejtek felületén elhelyezkedő glikokonjugátumok részeként biztosítják a sejt-sejt, sejt-külvilág, sejt-vírus közötti kommunikációs folyamatokat. A szemléletváltást a szerkezetvizsgálati módszerek lendületes fejlődése is elősegítette. A szintetikus szénhidrátkémia egyik alapfeladata lett a feltételezett szerkezetű, jelentős biológiai aktivitással bíró szénhidrát alapú vegyületek szintézise, illetve analógjaik előállítása.

Kutatómunkámat a DE TTK Szerves Kémiai Tanszékén működött MTA-DE Szénhidrátkémiai Kutatócsoportjában kezdtem Prof. Dr. Lipták András és később Prof. Dr. Antus Sándor, valamint Prof. Dr. Borbás Anikó vezetésével (A csoport a DE TTK Biokémiai Tanszékén alakult 1996-ban Prof. Dr. Lipták András vezetésével, majd 2005-ben Prof. Dr. Antus Sándor irányítása alatt a Szerves Kémiai Tanszékhez csatlakozott.), majd a DE GYTK Gyógyszerészeti Kémia Tanszékén folytattam tovább 2025-ig, Prof. Dr. Borbás Anikó irányításával. Oktató és kutató munkámat jelenleg az Eszterházy Károly Katolikus Egyetem Kémia Tanszékén kamatoztatom.

Akadémiai doktori értekezésemben a PhD fokozat megszerzése óta folytatott kutatásaim legfontosabb eredményeit foglaltam össze. Eddigi kutatásaim a PhD fokozat megszerzését követően is alapvetően, országosan egyedülálló módon, a biológiailag aktív oligoszacharidok szintézisére fókuszáltak. Ezeket az eredményeket a D- és L-hexóz tartalmú, biológiailag aktív oligoszacharidok szintézisének területén, ezen belül heparin analóg oligoszacharidok szintézisének és L-ramnóz tartalmú oligo-mimetikumok előállításának területén értem el.

2. Irodalmi áttekintés

2.1.A szénhidrátok biológiai szerepe

A szénhidrátok a mindennapjaink fontos részét képező szerves vegyületek. Az élő szervezetek szintjén, számos élettani folyamatban töltenek be nélkülözhetetlen szerepet. Egyik legfőbb sajátosságuk, hogy az anyagcserefolyamatokban részt vesznek, mint energiatárolók.¹ Emellett vázanyagokként betöltött szerepük is van: részt vesznek a növényi és baktériumsejtek sejtfalának felépítésében, valamint a plazmamembrán alkotóelemei is. Befolyásolják a sejtek térbeli elhelyezkedését, viselkedését, és néhány membránfehérje szubsztráttal való kapcsolódását is.² Továbbá a szignáltranszdukció, valamint a molekuláris felismerési folyamatok elengedhetetlen résztvevői.³

A sejtadhéziós folyamatokat szintén membrán-glikánok közvetítik. Ezek az adhéziós folyamatok fontos szerepet játszanak a tumorsejtek proliferációjában, korlátlan növekedésében, valamint a metasztázisok kialakulásában.² Kimutatták továbbá azt is, hogy a tumorsejtek osztódásához valamint terjedéséhez nagymértékben hozzájárul a glikogén mobilizáció is. A glikogén a glükóz polimer módosulata és egyben raktározódási formája, amely biztosítja az energiát az emberi és állati szervezetek számára. Hipoxiás állapotokban, stresszes körülmények között megnő a glikogén szintézis, ez biztosítja a daganatos sejtek számára a túlélést. A glikogén mobilizáció, a tumorsejtek mellett a dendritikus sejtek érésében és aktivitásában is kulcsszerepet játszik.¹ Látható tehát, hogy a glikogén nem csak az egészséges sejtek számára fontos energiaforrás, hanem a malignus elváltozást szenvedett sejtek számára is.

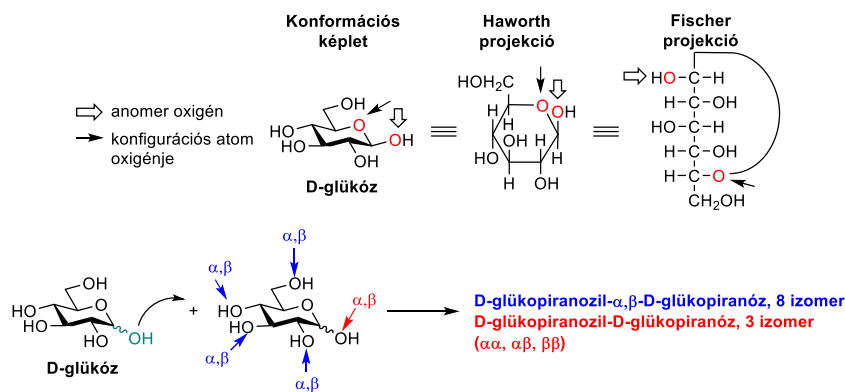
A sejt-sejt, sejt-külvilág közötti kommunikáció megvalósulásában is fontos szerep jut a szénhidrátoknak és származékainak, a sejtek felszínén elhelyezkedő glikokonjugátumok révén. A glikánok, amelyek az extracelluláris mátrix molekuláit kötik, a szöveti szerkezetek és a szöveti integritás meghatározó tényezői. Az eukarióta sejtek membránját borító, főként szénhidrátokból felépülő glikokálix pedig védő funkcióval rendelkezik.⁴

A szénhidrátoknak immunológiai szempontból is komoly jelentőség van, ugyanis önmagukban vagy konjugált formában adaptív immunválaszokat váltanak/válthatnak ki vagy módosítják azokat. Korábban az immunitás szempontjából semleges molekulákként tekintettek a szénhidrátokra, mára azonban bebizonyosodott, hogy fontos szerepet játszanak az immunfelismerési folyamatokban is. A T-sejtek felismerhetik őket közvetlenül, vagy részt vehetnek a T-sejt-epitópok összetevőjeként a T-sejt stimulációban. A szénhidrát típusú antigének T-sejtek általi felismerése a fő hisztokompatibilitási komplex útvonalakon keresztül történik az antigénprezentáló sejtek közreműködésével. Szénhidrát típusú molekulák megtalálhatóak az

eukarióta, prokarióta sejtek, valamint a vírusok felszínén is, így látható, hogy az adaptív immunválasz általi felismerésük az idegen valamint saját antigéneken igen jelentős.^{5,6} A szénhidrátok a placenta szintjén is elengedhetetlenek az anyai szervezet megfelelő immunitásának kialakulásában a magzati antigénnel szemben, valamint a megfelelő vaszkularizáció és a placentáris fejlődés kulcsfontosságú tényezői.⁴ Fontos megemlíteni továbbá, hogy a DNS- és RNS-molekulák szerkezeti felépítésében öt-szénatomos monoszacharid egységek, a D-ribóz és a 2-dezoxi-D-ribóz, vesznek részt.⁷

2.2 A szénhidrátok kémiai szemszögből nézve

A szénhidrátok olyan szerves vegyületek, melyek molekulái C, H és O atomokból épülnek fel. Korábban úgy gondolták, hogy a szén vízzel alkotott vegyületei, azaz a szén hidrátjaiként értelmezték őket, innen ered az elnevezésük is (**1. ábra**). Szerkezeti szempontból feloszthatjuk őket egyszerű és összetett szénhidrátokra: az egyszerű cukrok a monoszacharidok, melyek kapcsolódásával alakulnak ki a több monoszacharid egységet tartalmazó oligo-, valamint poliszacharidok, amelyeket glikánoknak is nevezünk.² Jelentős különbség van azonban a két utóbbi csoport között a lánc felépítésben résztvevő egyszerű cukormolekulák számában. Az oligoszacharidokat 3-18 monoszacharid egység a poliszacharidokat pedig 18-nál több egység építi fel. A monoszacharidokat az különbözteti meg az oligo- és poliszacharidoktól, hogy savas hidrolízissel tovább már nem bonthatók kisebb egységekre.⁸



1. ábra: A szénhidrátok szerkezete és a glikozidos kötés

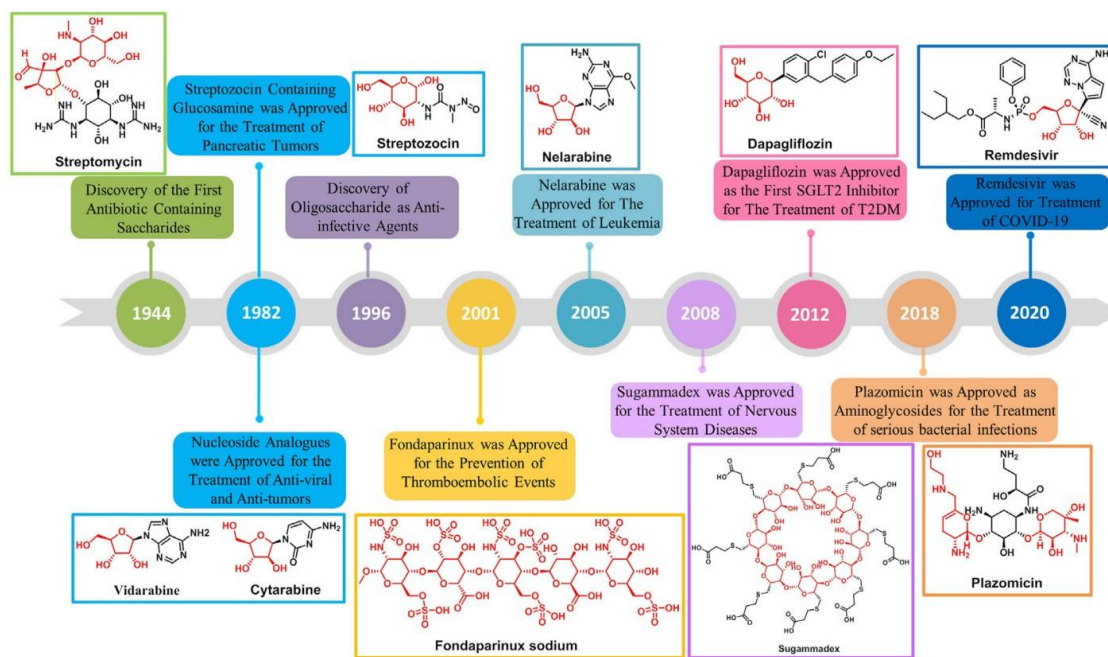
A cukormolekulák közötti kapcsolódások, a glikozidos kötések, lehetnek α vagy β térállásúak és különböző pozíciókban jöhetnek létre. Az egyszerű cukor alegységek is szenvedhetnek átalakulásokat: a hidroxil csoportokat helyettesíthetik amino csoportok, hordozhatnak negatív töltéseket, vagy épp hiányozhatnak is a molekuláról.² Ezen tulajdonságaik biztosítják a természetben előforduló szénhidrát származékok sokszínűségét. Az élő szervezetekben enzimatisz folyamatok révén valósul meg a szénhidrátok átalakítása. Gyakran konjugált formában vannak

jelen: a glikánok kapcsolódhatnak fehérje- vagy lipidmolekulákkal, például glikoproteineket, proteoglikánokat valamint glikolipideket alkotva.^{2,8}

2.3 Szénhidrátok a gyógyászatban

A szénhidrátok terápiás szempontból nézve is igen nagy jelentőségű vegyületek, az elmúlt 80 évben a diagnosztikus valamint terápiás céllal alkalmazott szénhidrát tartalmú gyógyszeres hatóanyagok egyre jobban a figyelem középpontjába kerültek, ezért gyógyszerfejlesztési szempontból is számos kiaknázatlan lehetőség rejlik még bennük. Egyelőre a terápiás gyakorlatban használt gyógyszerek igen kis százalékát teszik csak ki a szénhidrát tartalmú hatóanyagok, ám ez az arány nem korrelál az élő szervezetben betöltött szerepük fontosságával.³

Bevezetésük a gyógyszeres terápiába már az 1940-es évek közepétől elkezdődött (2. ábra). 1944-ben, a diszacharid egységet tartalmazó sztreptomocint a *Mycobacterium tuberculosis* okozta fertőzések kezelésére kezdték alkalmazni.⁹ 1982-ben vezették be a klinikai használatba az antivirális és tumorellenes terápia részeként a nukleozid analógokat.^{3,10,11} 1983-ban szintetizálták először és 2001 óta használják a klinikumban a véralvadásgátló hatású pentaszacharidot, a fondaparinuxot.¹² A Sugammadex¹³ gyógyászati bevezetése (2008) a rokurónium vagy vekurónium okozta neuromuszkuláris blokádnak felfüggesztésének terápiajában. 2012-ben előrelépést jelentett az antidiabetikus terápiában az új típusú hatásmechanizmussal rendelkező, 2-es típusú nátrium-glükóz kotranszporter (SGLT2) gátlók bevezetése, amely vegyületek molekuláikban glükóz részt tartalmaznak.^{3,7} Végül, de nem utolsónak sorban 2020-ban jóváhagyta az FDA a COVID-19 világjárványt okozó SARS-CoV-2 vírus okozta légúti infekciók kezelésére a remdesivirt.¹⁴



2. ábra: A szénhidrát alapú hatóanyagok megjelenése időrendi sorrendben³

2015 és 2020 között több mint 200 kis molekulájú gyógyszeres hatóanyag került forgalomba az FDA jóváhagyásával, amelyek közül 9 tartalmazott szénhidrát építőelemet a szerkezetében.¹⁵ 2000 és 2021 között összesen 54 szénhidrát alapú hatóanyagot tartalmazó gyógyszeres készítmény került forgalomba.⁷ Ezeket többnyire a fertőzőes megbetegedések (bakteriális vagy vírus), daganatos betegségek, 2-es típusú diabétesz, kardiovaszkuláris valamint idegrendszeri betegségek kezelésében használják. Bár gyógyszerkincsünk igen kis hányadát teszik ki a szénhidrát tartalmú hatóanyagok, belátható, hogy szerepük és kutatásuk igencsak nélkülözhetetlen a klinikai gyógyászatban.

A szénhidrátok azonban nem csak farmakológiai, hanem gyógyszer technológiai szempontból is igen jelentős vegyületek. Az oligoszacharidok csoportjába tartozó ciklodextrinek például kiváló hordozómolekulák, amelyek számos formulázási problémára szolgáltattak megoldást a gyógyszer technológusok számára. Gyűrűs szerkezetű vegyületek, melyek belseje hidrofób, külseje pedig hidofil jellegű, így számos, elsősorban lipofil tulajdonságú hatóanyagot képesek "kapszulázni", növelve ezzel vízoldhatóságukat.⁸ Nem csak a hatóanyagok farmakokinetikai illetve biofarmáciai sajátosságait javítják, mint az alacsony oldhatóság, nem megfelelő stabilitás, és a rossz disszolúciós ráta, hanem segítségükkel megvalósítható a célzott terápiás rendszerek kialakítása, amelyek egy hatékonyabb terápiát és a mellékhatások csökkenését eredményezhetik. Mindemellett költséghatékonyak, biztonságos az alkalmazásuk és alacsony az immunogenitásuk is.^{16,17}

A ciklodextrineket alkalmazzák a parenterális készítmények formulázásánál jó vízoldhatóságuk, hatékony leadó rendszerük és alkalmazhatóságuk biztonságossága miatt, olyan hatóanyagok esetében, amelyeknél az orális készítmények formulázása nem megoldható (például fehérje típusú hatóanyagok a cukorbetegség kezelésében), vagy az antitumorális szerek formulázásánál, ahol szükség van a célzott terápiás rendszer kialakítására.¹⁸

Látható tehát, hogy a szénhidrátok igen jelentős szerepet töltenek be mind farmakológiai, mind gyógyszer technológiai szempontból. Annak ellenére, hogy a monoszacharidok viszonylag egyszerű szerkezetű vegyületek, részvételük a gyógyászatban napjainkra nélkülözhetlenné vált.

2.4 Az L-hexózek szerkezete és jelentőségük

A ritka, de biológiailag széles körben elterjedt L-hexózek, valamint 6-dezoxi párjaik fontos szerepet töltenek be a természetben.¹⁹ Habár az L-hexózek nem annyira elterjedtek, mint az enantiomerjei a D-hexózek, mégis számos nagyon fontos biomolekula részét képezik. Az L-hexózek iránti érdeklődés az évek során jelentősen megváltozott. Kezdetben szintézisüket a cukrok szerkezetének és sztereokémiai viszonyaiknak a megismerése céljából végezték. Később azonban előtérbe került a módszerfejlesztés és napjainkban az érdeklődés kiterjed a természetes vegyületek szintézisére is, ahol az L-hexózek jóval fontosabb szereppel bírnak, mint azt eredetileg gondolták

volna. Az L-cukrok kereskedelmi úton ugyan elérhetőek, viszont többségük nagyon drága (**1. táblázat**), ezért kiemelkedő jelentőségű ezen származékok gazdaságos előállításának kutatása, amely a szénhidrátkémia története során mindig nagy kihívást jelentett a kémikusok számára.

Az irodalomból jónéhány módszer ismert az L-cukrok előállítására D-cukrokból, viszont ezen megközelítést alapul véve gyakran roppant bonyolult védőcsoport-manipulációkat kell végrehajtani, ami sokszor nagyon hosszú és roppant bonyolult reakció útvonalakhoz vezet.

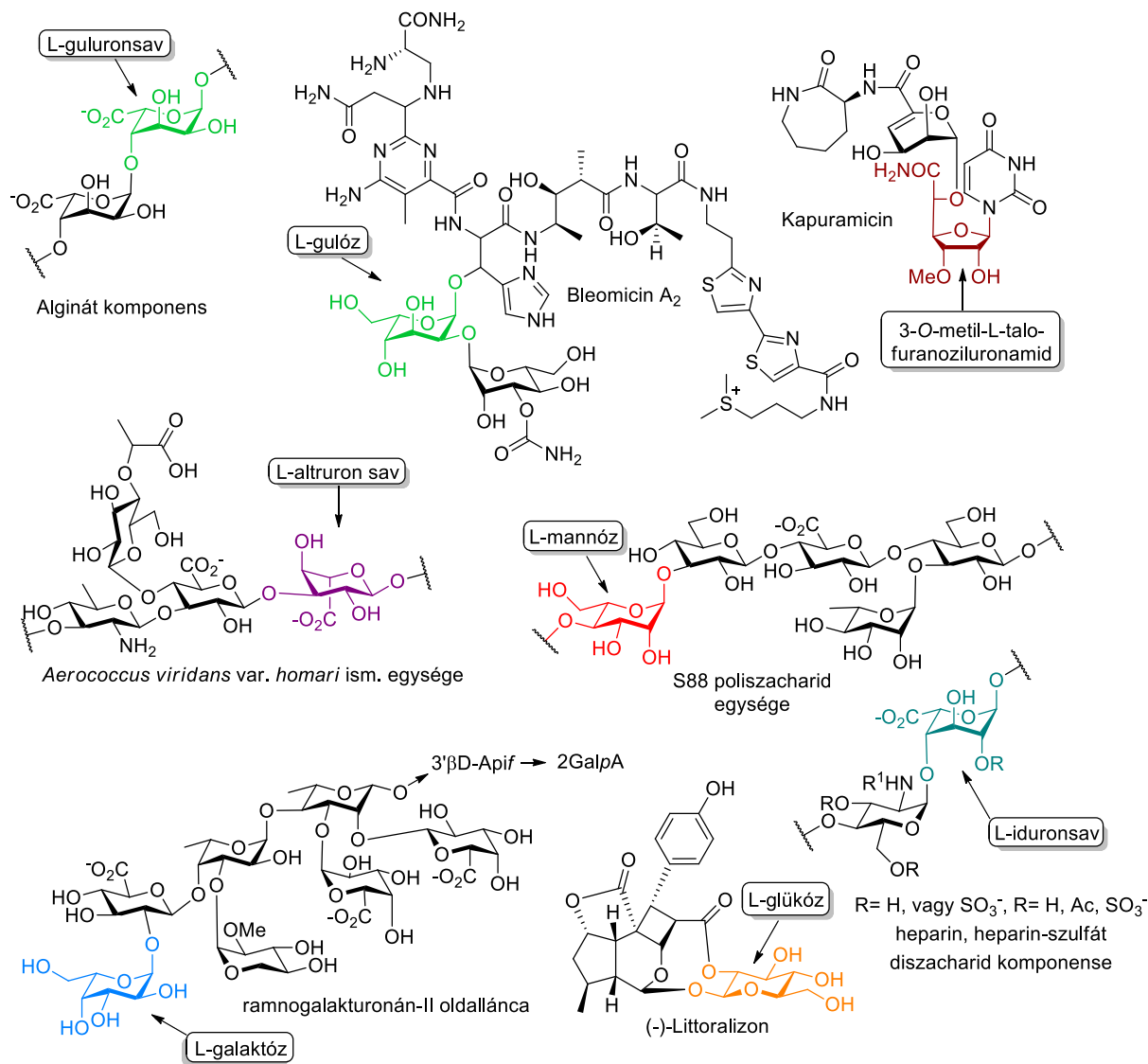
L-cukor	Szerkezet	Ár/1g (EUR)	L-cukor	Szerkezet	Ár/1g (EUR)
L-idóz	$ \begin{array}{c} \text{H} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array} $	1390	L-galaktóz	$ \begin{array}{c} \text{H} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array} $	260
L-altróz	$ \begin{array}{c} \text{H} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array} $	1210	L-mannóz	$ \begin{array}{c} \text{H} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array} $	53
L-talóz	$ \begin{array}{c} \text{H} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array} $	1060	L-glükóz	$ \begin{array}{c} \text{H} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array} $	49
L-allóz	$ \begin{array}{c} \text{H} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array} $	840	L-gulóz	$ \begin{array}{c} \text{H} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array} $	40

1. táblázat: Az L-cukrok szerkezete és kereskedelmi árai²⁰

Oligoszacharidok szintézise során a legtöbb esetben egy ortogonális védőcsoport vagy védőcsoportok korai bevitele nagy előnyt jelenthet a tervezett glikozilezési reakciónál, mivel hosszú távon időt, energiát és anyagot spórolhatunk meg vele. Az L-cukrok szintézisét azonban a legtöbb esetben anélkül végzik, hogy bármilyen aktiválható funkciós részt kialakítanának a molekula anomer helyzetében, emiatt ezek a módszerek kevésbé vonzóak oligoszacharid szintézisek esetén, mivel még további átalakításokat feltételeznek a donorként való használhatóság felé. A legkülönbözőbb szintézis útvonalakat vizsgálva találhatunk olyan eljárásokra is példát, ahol egyetlen kémiai szintézis stratégia alkalmazásával mind a nyolc L-hexóz előállítása megvalósítható, azonban ezek a módszerek gyakran szabad L-cukrokat eredményeznek, így itt is további átalakításokra van szükség, hogy a funkcionizálatlan L-cukrot a megfelelő ortogonálisan védett donorokká alakítsuk.²⁰

2.5 Az L-hexózek és 6-dezoxi-L-hexózek előfordulása

Az L-cukrok számos, biológiailag is jelentős, természetes vegyületben megtalálhatóak, ilyenek például az alginátok (**3. ábra**),²¹ melyek polianionos poliszacharidok (β -D-mannuronsav és α -L-guluronsav 1 $\rightarrow$ 4 glikozidos kötéssel összekapcsolódó monomerjeiből épül fel), amik alkotóelemei a barnamoszatok sejtfalának, illetve néhány baktérium törzsnek is. Az alginátokban a karbonsav funkciós csoportok képesek megkötni fémeket, ezáltal gélek képződhetnek, melyeket többféle területen fel lehet használni, például az egészségügyben sebgelekhez, illetve az élelmiszeriparban sörhab képzéséhez.



3. ábra: A természetben előforduló L-hexóz tartalmú biológiailag aktív vegyületek

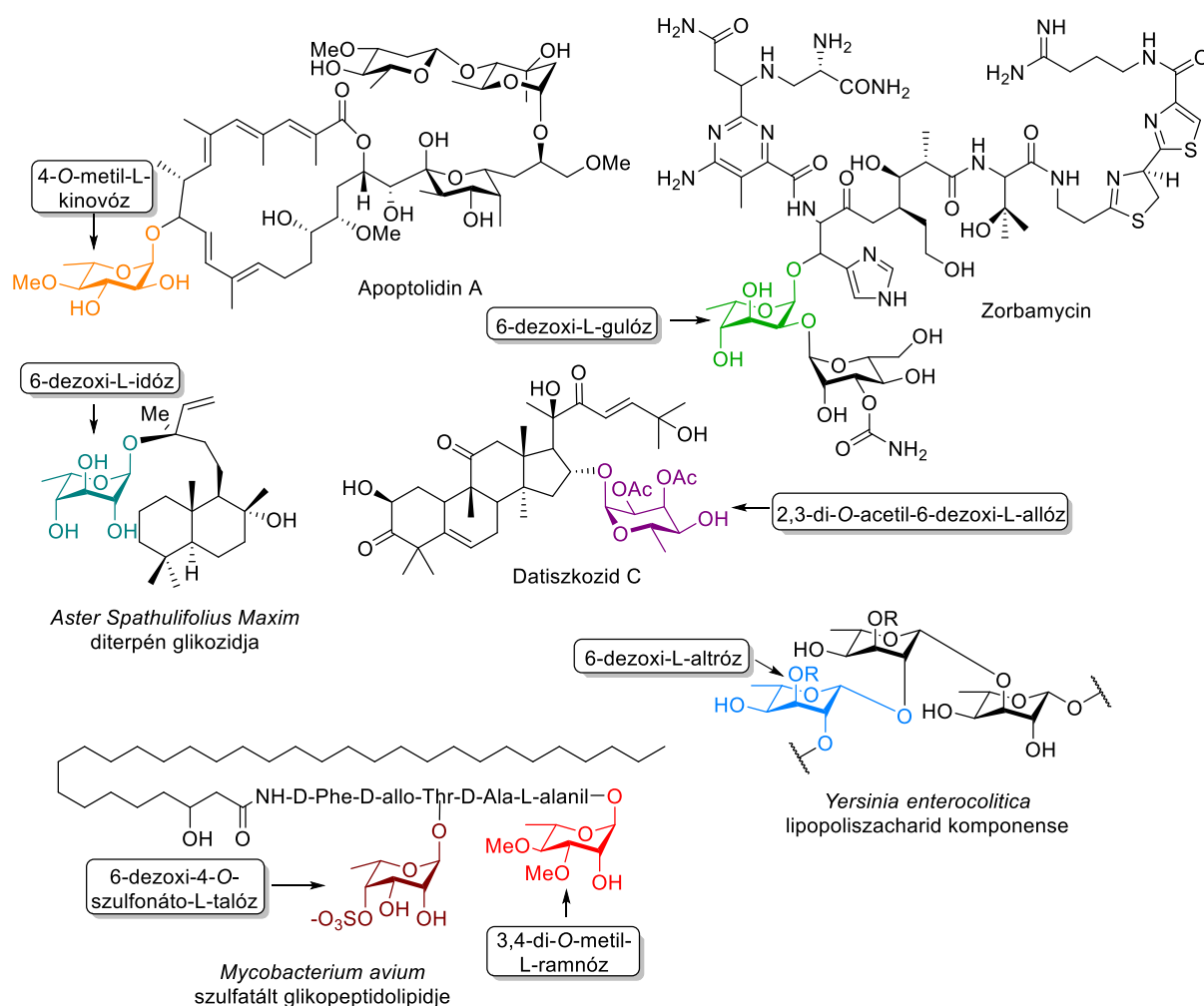
Egy másik fontos példa az egyik jól ismert tumorellenes antibiotikum a Bleomicin A₂, amit a *Streptomyces verticillus* termel.^{22–25} Ez a vegyület L-gulóz egységet tartalmaz, melynek rendkívül fontos szerepe van a molekula biológiai aktivitásában. Egy másik antibiotikum, az Adenomicin, ami a *Mycobacterium smegmatis* ellen hatásos, szintén L-gulózt tartalmaz,²⁶ valamint az L-gulóz jelen

van a termofil archeobaktériumok, (pl.: *Thermoplasma acidophilum* és *A. volcanium*) poláros lipid részében is.²⁷ A természetben előforduló kapuramicin nevű antibiotikum L-talofuranozil amid nukleozidot tartalmaz.²⁸⁻³⁰ Ugyancsak kimutatták, hogy az anaerob baktérium *Butyrivibrio fibrisolvens* CF3 törzsének extracelluláris poliszacharidja L-altrózt tartalmaz.³¹ Továbbá L-altruronsav található a Gram-pozitív *Aerococcus viridans* var. *homari* nevű baktériumban, illetve a Gram-negatív *Proteus mirabilis* O10-ben, ami egy húgyúti fertőzéseket okozó humán opportunistá patogén.³² A ritka L-mannóz különféle baktériumok sejtfal-poliszacharidjában megtalálható. A *Sphingomonas* S-88 és S-130 kapszula poliszacharidjai, melyeket gélesítő szerként használnak az iparban is, szintén L-mannózt tartalmaznak.³³ Az L-galaktóz alkotóeleme a főként citrusfélékből kivont pektinekben található ramnogalakturonán-II A oldalláncának.³⁴ A *Verbena littoralis*ből izolált Littoralizon L-glükózt tartalmaz, melyet hagyományosan a népi gyógyászatban alkalmazznak.³⁵ Az L-iduronsav, fő komponense több állati eredetű glikozaminoglikán ismétlődő egységének (GAG), ilyen például a heparin, a heparán-szulfát és a dermatán-szulfát.^{36,37} Ezen kívül az aminoglikozid típusú antibiotikum, a neomicin B, ami úgy fejti ki antibakteriális hatását, hogy specifikus RNS szekvenciákhoz kötődik, 2,6-diamino-2,6-dideoxi-L-idóz egységet tartalmaz.³⁸

A biológiailag szintén fontos szerepet játszó L-cukrok egy másik nagy csoportja a 6-dezoxi-L-hexózek (**4. ábra**). Ide tartozik a természetben előforduló glikomakrolid Apoptolidin A, mely apoptózist képes indukálni számos rákos sejtvonalban, L-kinovóz, másnéven 6-dezoxi-L-glükóz részt tartalmaz.³⁹ Hasonlóképpen a Gram-negatív patogén baktérium, a *Yersinia pseudotuberculosis* lipopoliszacharidja is L-kinovózt tartalmaz, melyet fő virulencia faktorként azonosítottak.⁴⁰ A Gram-negatív baktérium *Actinobacillus actinomycetemcomitans* C szerotípusának lipopoliszacharidjai 6-dezoxi-L-talózt tartalmazó ismétlődő diszacharidokból épülnek fel.^{41,42} A tumorelleses hatású glikopeptid antibiotikum a Zorbamicin 6-dezoxi-L-gulóz egységet tartalmaz.⁴³ A *Mycobacterium avium* opportunistá kórokozóból származó szulfatált glikopeptidolipid 6-dezoxi-4-O-szulfonáto-L-talozidot és 3,4-di-O-metil-L-ramnozidot is tartalmaz.⁴⁴

A 6-dezoxi-L-altróz a *Yersinia* nemzetségbe tartozó baktériumok különböző lipopoliszacharidjaiban található. Például a *Yersinia enterocolitica* O: 1.2a, 3 és O: 2a, 2b, 3 szerotípusok olyan ismétlődő triszacharid egységgel rendelkeznek, amelyek csak 6-dezoxi-L-altrózt tartalmaznak.^{45,46} A *Datisca glomerata* növényből izolált tetraciklusos triterpén, a Datiszkozid C 6-dezoxi-L-allozidot tartalmaz,⁴⁷ valamint az *Aster spathulifolius* Maxim.-ből izolált diterpén-glikozidban az igen ritka 6-dezoxi-L-idóz található meg.⁴⁸

Az eddig említett 6-dezoxi-L-cukrokkal ellentétben az L-ramnóz (6-dezoxi-L-mannóz), illetve az L-fukóz (6-dezoxi-L-galaktóz) a természetben széles körben előforduló L-cukrok. Az L-fukóz például a szialil Lewis-X egyik komponense, az L-ramnóz pedig a pektinben fordul elő D-galakturonsavval együtt ismétlődő diszacharid egységet alkotva.³⁴



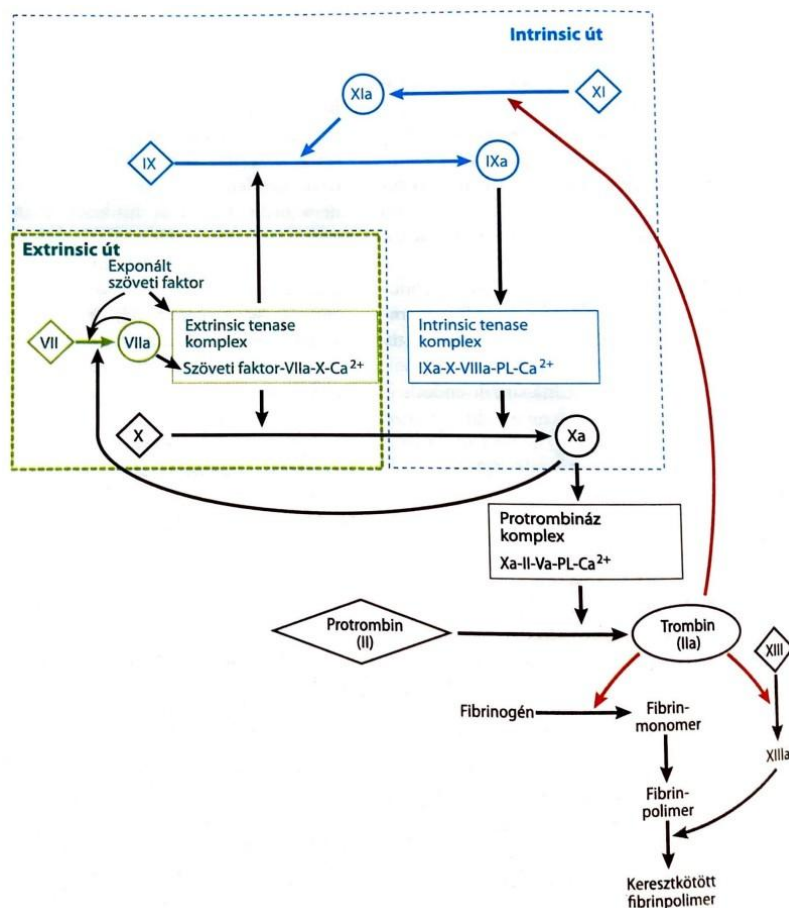
4. ábra: A természetben előforduló 6-dezoxi-L-hexózat tartalmazó biológiailag aktív vegyületek

Kutatási munkám fő irányvonala az L-hexóz tartalmú származékok közül a véralvadásgátló L-iduronsav és D-glükuronsav tartalmú heparin és heparán szulfát analóg molekulák szintézise, valamint ezen molekulák lehetséges egyéb biológiai aktivitásának vizsgálata volt. A továbbiakban erre a területre fókuszálva foglalom össze az irodalmi hátteret.

2.6. A véralvadás mechanizmusa

Régóta ismeretes, hogy a szervezetből kikerülő vér rövid idő elteltével megalvad.⁴⁹ Az alvadék polimer fehérjehálózatból (fibrinháló) és a fibrinszálak közötti véresejtekből áll. A fibrinháló megjelenése egy többlépcsős folyamat eredménye, melynek során az egyes lépésekben egy-egy proenzim alakul át aktív enzimmé. Ezt az egyre gyorsuló folyamatot nevezzük „alvadási kaszkádnak”. Maga az alvadási folyamat pedig pozitív visszacsatolással rendelkezik. A véralvadás folyamata megindul seb keletkezése után a sérült szövetekben egy úgynevezett külső („extrinsic”) úton. Ez a rövidebb és a gyorsabb út, ami a III faktor aktiválódásával indul. Érfal sérülése esetén

viszont a XII faktor aktiválódásával indul a belső („intrinsic”) út, ami több faktor aktiválásához kötött, hosszabb folyamat (5. ábra). A két folyamat csak a kezdeti lépésekben különbözik egymástól, induláskor más faktorok aktiválódnak, de a folyamat további lépései már megegyeznek. Az alvadás kulcslépése a protrombin átalakulása trombinná, melyet a Xa faktor iniciál. A kialakuló komplexben a Xa az aktív enzim, a protrombin pedig a szubsztrátum. Az V faktor aktív formája egy regulátorfehérje, mely a komponensek megfelelő térbeli elhelyezkedését biztosítja. Az aktív komplex lipid felületen alakul ki Ca^{2+} (IV faktor) jelenlétében. Az így aktiválódott trombin elősegíti a fibrinogén-fibrin átalakulást. A fiziológias alvadásszabályozás fontos eleme, hogy a trombin csak addig fejtsse ki hatását, amíg szükséges. Az inaktiválást a vérplazma egyik fehérjéje, az antitrombin III (AT) végzi, mely a trombin enzimátikus hatását irreverzibilisen felfüggeszti.⁵⁰ Az AT affinitása a trombin molekulához önmagában ugyan kicsi, de heparin jelenlétében a folyamat jelentősen felgyorsul (kb. 3000-szeresére). Tehát a heparin a trombin inaktiválásának elősegítésével gátolja a fibrin kialakulását és ebből következően a véralvadást.



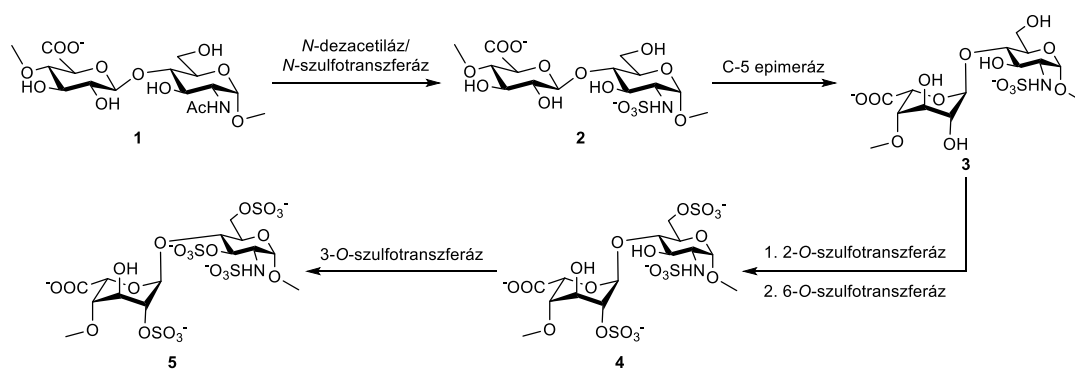
5. ábra: A véralvadás mechanizmusának sematikus ábrázolása

2.7. A heparin bioszintézise és szerkezete

A heparin molekula glükózamin és hexuronsav egységekből felépülő polianionos lineáris poliszacharid, a sejtek felületén és az extracelluláris mátrixban fordul elő proteoglikánok

formájában. Sokféle biológiai aktivitással rendelkezik,⁵¹ a szervezetben jelen lévő számos fehérjéhez kötődve képes szabályozni ezen proteinek biológiai működését.⁵² A kötődésben kiemelkedően fontos szerepe van a poliszacharid anionos csoportjai (szulfátészter- és karboxilcsoportok) és az aminosavak között kialakuló erős ionos kölcsönhatásoknak. A heparin a vér bazofil granulocitaiban és a szöveti hízósejtekben keletkezik proteoglikánként, és ezen sejtek degranulációja során válik szabaddá. A vázprotein, ami nagyszámú szerin és glicin aminosavat tartalmaz, az endoplazmatikus retikulumban, az oligoszacharid rész pedig a Golgi-hálózatban képződik. A glikózaminoglikán rész β -D-GlcpA-(1 $\rightarrow$ 3)- β -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 3)- β -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 4)- β -D-Xylp-(1 $\rightarrow$ Ser)^{51,52} szerkezetű tetraszacharid részen keresztül kapcsolódik a szerinhez. Ez a tetraszacharid kötőrégió valamennyi proteoglikánban azonos. Ehhez a tetraszacharid kötő-részhez, a bioszintézis folytatása során, kapcsolódik egy aminocukor. Amennyiben ez az aminocukor D-glükózamin, akkor glükózaminoglikán (heparin, heparán-szulfát) szintetizálódik, ha D-galaktózamin, akkor galaktózaminoglikán (kondroitin-szulfát, dermatán-szulfát) keletkezik.

A heparin bioszintézisének lépései már jórészt felderítették. Ismert, hogy az első D-glükózamin rész után váltakozva épülnek be a D-glükuronsav és D-glükózamin egységek. A monoszacharid egységek a megfelelő UDP-cukorról kerülnek a poliszacharid lánc nem-redukáló végére. A glikozilezést egy enzimfehérje katalizálja, mely kétféle glikozil transzferáz aktivitással rendelkezik (Glc pA-transzferáz és Glc pNAc-transzferáz). A szénhidrátlánc szintézise kb. 300 monoszacharid egység beépülése után ér véget. A lánchosszabbítással párhuzamosan folyik a már beépült egységek módosítása (6. ábra).



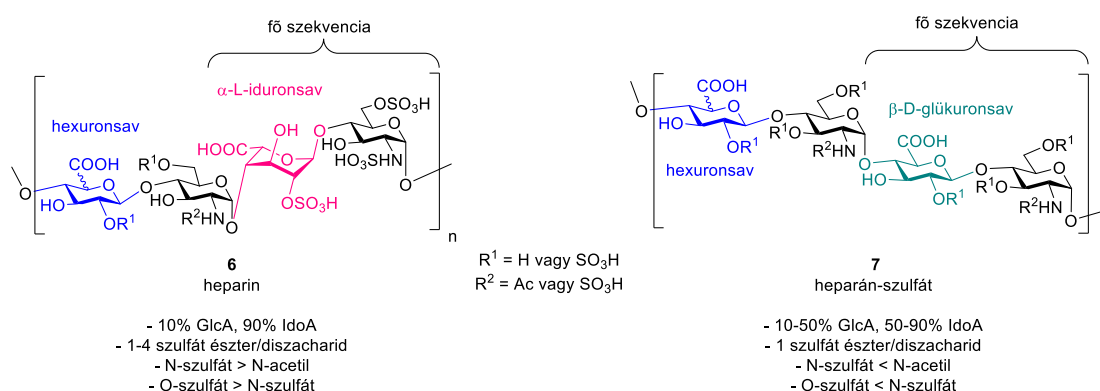
6. ábra: A heparin bioszintézise

Itt először az *N*-acetyl csoportok jelentős része *N*-szulfátra cserélődik, amit egy *N*-deacetylase/*N*-szulfotranszferáz enzim hajt végre, majd ezután a C-5 epimeráz enzim a D-glükuronsav egységek nagy hányadát átalakítja L-iduronsavvá. Ezt követően szulfatálódnak az uronsavak O-2, majd a glükózaminok O-6 és O-3 pozíciói a megfelelő szulfotranszferáz enzim segítségével. Ezekben a reakciókban szulfátdonorként 3'-foszfoadenozin-5'-foszfoszulfát szerepel. A heparin bioszintézisére jellemző egyfajta „tökéletlenség”, ugyanis a fenti lépések nem mennek

végbe teljes mértékben. Ez vezet a heparin nagymértékű heterogenitásához. Ez a „tökéletlenség” azonban korántsem véletlenszerű, a szerkezeti diverzitás a bioszintézis során igen jelentős mértékben ellenőrzött.^{53,54}

2.8. A heparin és a heparán szulfát

A heparán-szulfát és a heparin hasonlóan szulfatált és nem szulfatált monoszacharid egységekből épül fel, és ezek az egyetlen olyan emlősökben megtalálható poliszacharidok, amely *N*-szulfoglükózamint (GlcNSO₃-) tartalmaznak (7. ábra).⁵⁵ Mindkét makromolekula bioszintézisének kiindulási vegyülete egy olyan, nem szulfatált polimer, amely glükuronsav (GlcA) és *N*-acetilglükózamin (GlcNAc) váltakozó szekvenciáiból épül fel, ezt „heparánnak” vagy *N*-acetilheparozánnak nevezzük. Ez az prekursor származék ezután enzimatikusan alakul át a szulfatált vegyületekké. A módosítási útvonal lépéseit főként Lindahl és munkatársai derítették fel.^{56,57} A heparán átalakulásának kulcslépése a GlcNAc átalakulása egy egyedi *N*-szulfatált köztitermékké. A további módosítások ezt követően elsősorban a GlcNSO₃- egység közelében fognak megtörténni. A GlcA egység iduronsavvá (IdA) alakulhat, és mind az újonnan képződött iduronát származék, mind a GlcNSO₃- rész (O)-szulfatálódhat a C-2-es, illetve a C-6-os pozícióban. Bizonyos esetekben a GlcNSO₃-UA-GlcNAc szekvenciákban található GlcNAc egység is szulfatálódhat a C-6-os helyzetben.⁵⁸ A teljes polimer-szintű módosítás végterméke egy ismétlődő triszulfatált diszacharid egységből álló makromolekula. A legtöbb emlős eredetű heparinban ezek a szerkezeti változások nagyon kiterjedtek, a hexóзамин részek több mint 80%-a *N*-szulfatált formában jelenik meg, az érett poliszacharid-lánc nagy részét pedig triszulfatált diszacharidok szekvenciái alkotják.^{59,60}



7. ábra: A heparin és a heparán-szulfát szerkezete

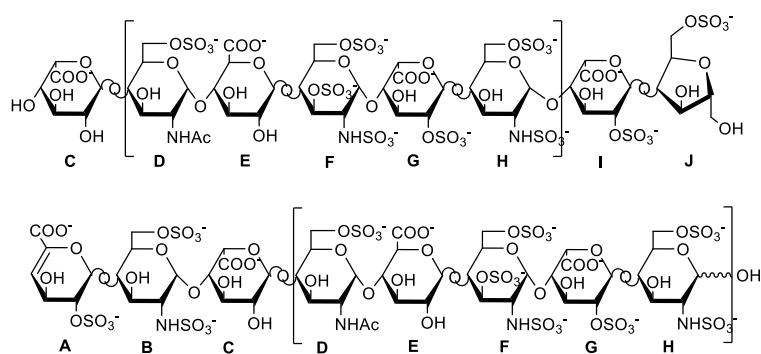
A heparán-szulfát bioszintézise során hasonló, de korlátozottabb módosulások mennek végbe,⁶¹ amelyek olyan termékekben csúcsosodnak ki, amelyek általában kevesebb *N*- és *O*-szulfát-csoportot, valamint kevesebb triszulfatált diszacharidot tartalmaznak, mint a heparin, viszont

megtalálható bennük a módosítatlan *N*-acetilezett egység.⁶²⁻⁶⁴ Azonban nincsenek elfogadott szerkezeti kritériumok a heparán-szulfát és a heparin megkülönböztetésére. A „heparán-szulfát” kifejezést hagyományosan a heparin állati szövetekből, például szarvasmarha-tüdőből vagy sertésnyálkahártyából történő ipari előállításának heparin-szerű melléktermékeinek leírására használják.^{65,66} Az ezekben a melléktermékekben található heparán-szulfátok csekély vagy semmilyen antikoaguláns aktivitást nem mutatnak, és jelentős heterogenitást figyeltek meg a molekulatömegben és a szulfát-tartalomban. A polimer szulfatációjának mértéke 0,25 és 2,0 között változik/diszacharid egység, ezen spektrum szulfátban gazdag vége összeolvadt a tipikus heparin szulfatációjának mértékével, amely 2,0-2,5 tartományban van.⁶⁰ Bár felmerült annak lehetősége, hogy a heparán-szulfátot és a heparint különálló entitásokként kezeljék, a kémiai adatok ahhoz a széles körben elterjedt vélekedéshez vezettek, hogy ez a két poliszacharid rokon poliszacharidok folyamatos sorozatát alkotja, amelyek között nincsenek egyértelmű megkülönböztető jellemzők.^{67,68}

Általánosságban elmondhatjuk azonban, hogy a heparinban az uronsavak aránya 10% GlcA, 90% IdoA, diszacharid egységenként általában 1-4 szulfát észter csoportot tartalmaz, az *N*-szulfát csoport jelenléte nagyobb, mint az *N*-acetil csoporté és az *O*-szulfátok száma szintén nagyobb, mint az *N*-szulfátoké. Ezzel ellentétben a heparán-szulfátban az uronsavak aránya 10-50% GlcA, 50-90% IdoA érték között változik, általában 1 szulfát észter csoportot tartalmaz diszacharidonként, az *N*-szulfátok száma kisebb, mint az *N*-acetilek száma és az *O*-szulfátok száma is kisebb, mint az *N*-szulfátok mennyisége.

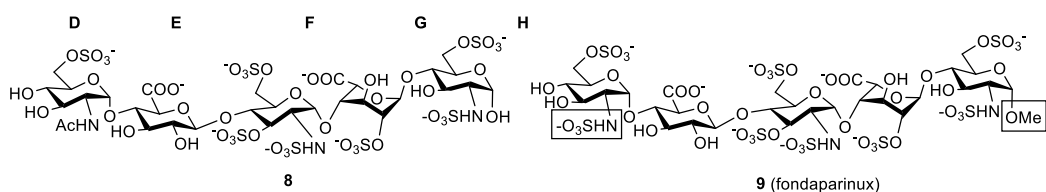
2.9. Heparin-analóg pentaszacharidok

A heparint az 1940-es évek óta alkalmazzák a gyógyászatban, mint antitrombotikus készítményt. A nagy molekulású heparint kezdetben sertésbélből vonták ki és tisztították, de a nagy felületi töltése miatt az izolátum gyakran fehérje szennyezőket tartalmazott. Ezek a fehérjemaradékok pedig sejtes immunválaszra készíthették a befogadó szervezetet, ami komoly allergiás reakciókat okozhatott. A nehézkes tisztítási eljárás és a véralvadásgátló hatás javításának céljából több gyógyszergyártó cég komoly kutatásokba kezdett, melynek eredményeként az 1980-as években azonosították a heparin azon minimális egységét, amely az antitrombin III fehérje aktiválása révén képes véralvadásgátló hatást kifejteni.⁶⁹ A nagy molekulású heparint különböző irányított fragmentációs eljárásoknak vetették alá (salétromsavas hidrolízis, ill. enzimatis lebontás *Flavobacterium heparinum*-ból izolált heparinázzal), és vizsgálták az így kapott kisebb tömegű részek aktivitását.⁶⁹ Megfigyelték, hogy azon egységek, amelyeknek megmaradt a véralvadásgátló hatása, mindig tartalmaztak egy bizonyos pentaszacharid részt (**DEFGH** pentaszacharid, **8. ábra**).



8. ábra: A heparin fragmentumai

A kutatás folytatásaként szintetizálták ezt az aktív pentaszacharidot (8) kb. 60 lépéses szintézissel, de csak alacsony hozamot sikerült elérniük és a kapott termék sem volt kellően tiszta (9. ábra).^{70–73}



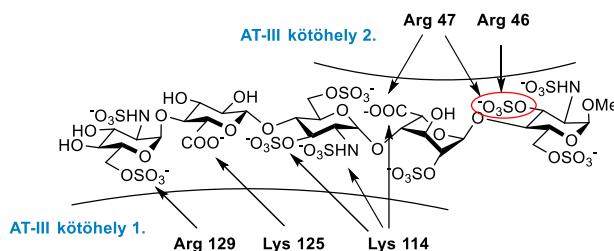
9. ábra: A heparin antitrombin-kötő pentaszacharid egysége (8) és szintetikus analógja (9, fondaparinux)

Ezután kiterjedt kutatásokba kezdtek annak felderítése érdekében, hogy melyek azok a csoportok a pentaszacharidon belül, melyek meglete feltétlenül szükséges a biológiai aktivitáshoz, és melyek azok a csoportok, amelyek megváltoztathatók, vagy a szintézis egyszerűsítése végett elhagyhatók.

Az első és egyben legnagyobb jelentőséggel bíró változtatás az volt, hogy a redukáló végi egységet α-metil-glikoziddá alakították, elkerülve ezzel az anomerizációt. Ezzel a módosítással sikeresen kiküszöbölték továbbá azt is, hogy a szintézis során alkalmazott hidrogénezés körülményei között könnyen képződő amino-csoportok reagáljanak a redukáló végi aldehidformával, így meggátolták a dimerek és trimerek képződését.⁶⁹ További fontos egyszerűsítés volt, hogy a D egységen található N-acetil-csoportot N-szulfátra cserélték. A heparin AT kötő pentaszacharid-egységének e két módosítást tartalmazó analogonját (9) francia és holland kutatók 55 lépéses kémiai szintézissel állították elő.⁷⁴ A vegyület gyógyszerre fejlesztése a Sanofi és az Organon gyógyszergyárak együttműködésével valósult meg, és a molekula 2001-ben került forgalomba Arixtra néven. A klinikai vizsgálatok folyamán fény derült arra is, hogy a szintézis során alkalmazott változtatások kedvezően befolyásolták a molekula biológiai aktivitását. A molekula felezési ideje emberben 17 órának bizonyult. Ez azt jelentette, hogy napi 2.5 mg hatóanyag bevitel elég volt a véralvadás gátlásához (Nem frakcionált heparinnál a felezési idő 30-

120 perc, kis moltömegű heparinnál pedig 3-5 óra.). A klinikai vizsgálatok során az is kiderült, hogy a heparinnal ellentétben az aktív pentaszacharid rész (8) és különböző származékai (pl.: 9) a trombint nem tudják gátolni. A pentaszacharid származékok indirekt módon, az antitrombin aktiválásával gátolják a Xa faktort, tehát szelektív Xa gátlók,⁵⁰ mivel a gátolt Xa faktor nem tudja katalizálni a protrombin trombinná alakulását.

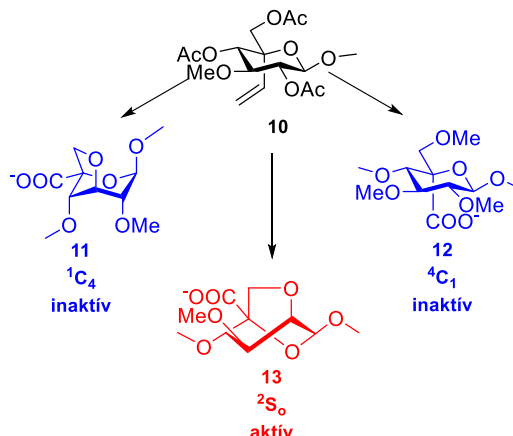
Röntgendiffrakciós vizsgálatokkal az is igazolták, hogy a szénhidrát rész és a fehérje közötti kapcsolat milyen kötésekön keresztül jön létre, és megállapították, hogy a pentaszacharid negatív töltésű csoportjai ionos kötéssel kapcsolódnak az AT faktor lizin és arginin egységeinek protonált amino csoportjaihoz.⁷⁵ A kutatások során felfedezték továbbá, hogy a redukáló végi glükózamin egység 3-as hidroxiljának közelében az antitrombin második kötőhelyén két arginin egység is található (Arg 46, Arg 47), amelyek képesek lehetnek további sóhíd kialakítására, ami feltételezhetően stabilabb pentaszacharid-antitrombin komplexet eredményezne. Előállították a fondaparinux (9) 3-O-szulfatált származékát és röntgendiffrakciós mérésekkel bebizonyították, hogy az új SO₃⁻-csoport valóban sóhidat képez a 46. arginin amino csoportjával, ami jelentősen megnövelte a kötése erősséget (10. ábra).^{76,77}



10. ábra: A 3-O-szulfátcsoporttal módosított pentaszacharid kapcsolódása az AT-hoz

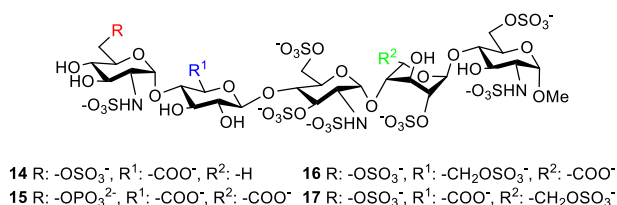
Vizsgálatokkal igazolták, hogy a heparin származékokban az iduronsav egység háromféle konformációban fordulhat elő a leggyakrabban, és a különböző konformációban rögzített származékok (11. ábra) beépítésével sikerült meghatározniuk, hogy a biológia aktivitáshoz a ²So konformáció szükséges.^{69,78-81} A különböző mértékben szulfatált oligoszacharidok NMR vizsgálata alapján megállapították továbbá azt is, hogy az iduronsavhoz kapcsolódó H és F glükózamin egységek szulfatációs foka nagymértékben befolyásolja az iduronsav téralkatát.^{82,83} Az eddigi eredmények tükrében vizsgálták továbbá, hogy milyen változtatásokkal lehetne tovább növelni a szelektív Xa gátlást és a molekulák felezési idejét, és egyúttal egyszerűsíteni a szintézisüket. Különböző szerkezetű származékokat szintetizáltak,⁶⁹ melyeket megvizsgálva arra a következtetésre jutottak, hogy a 3-O-szulfátészter-csoport az F egységen és a 6-O-szulfátészter-csoport a H egységen nélkülözhetetlen az aktivitáshoz,⁸⁴⁻⁸⁸ a G egység 2-O-szulfát-csoportja pedig elhagyható.⁸⁹ A karboxil-csoportok (14)⁹⁰ vagy az N-szulfát-csoportok⁹¹ elhagyása pedig a gátló hatás elvesztéséhez vezetett, kiderült viszont, hogy a D egység N-acetil-csoportja elhagyható

anélkül, hogy jelentősen megváltozna a molekula aktivitása.



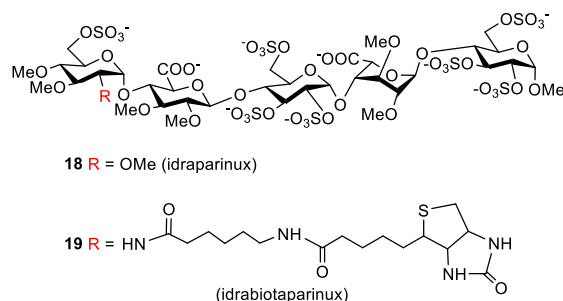
11. ábra: Az iduronsav egység rögzített konformációjú származékai

Vizsgálták továbbá, hogy a karboxil- és szulfátészter-csoportok helyettesíthetők-e más anionos csoportokkal. Végrehajtottak szulfát-foszfát cserét a **D** egység 6-os pozíciójában (**15**),⁹² de ez a módosítás az aktivitás elvesztéséhez vezetett csakúgy, mint a karboxil csoport helyettesítése szulfátészterrel ($\text{COO}^- \rightarrow \text{CH}_2\text{OSO}_3^-$ csere, **16**, **17**)⁹³ (**12. ábra**). Kiderült viszont, hogy az *N*-szulfát-csoportokat lehet helyettesíteni *O*-szulfát-csoportokkal.^{94,95} Megfigyelték továbbá azt is, hogy a szabad hidroxil csoportok részleges vagy teljes metilezése sem rontja le a biológiai aktivitást.



12. ábra: A módosított fondaparinux analóg pentaszacharidok szerkezete

Ezen tapasztalatokat felhasználva a kutatás a nem-glikózaminoglikán típusú molekulák felé fordult, és a szelektív Xa gátló pentaszacharidok egy új generációját eredményezte (**13. ábra**).



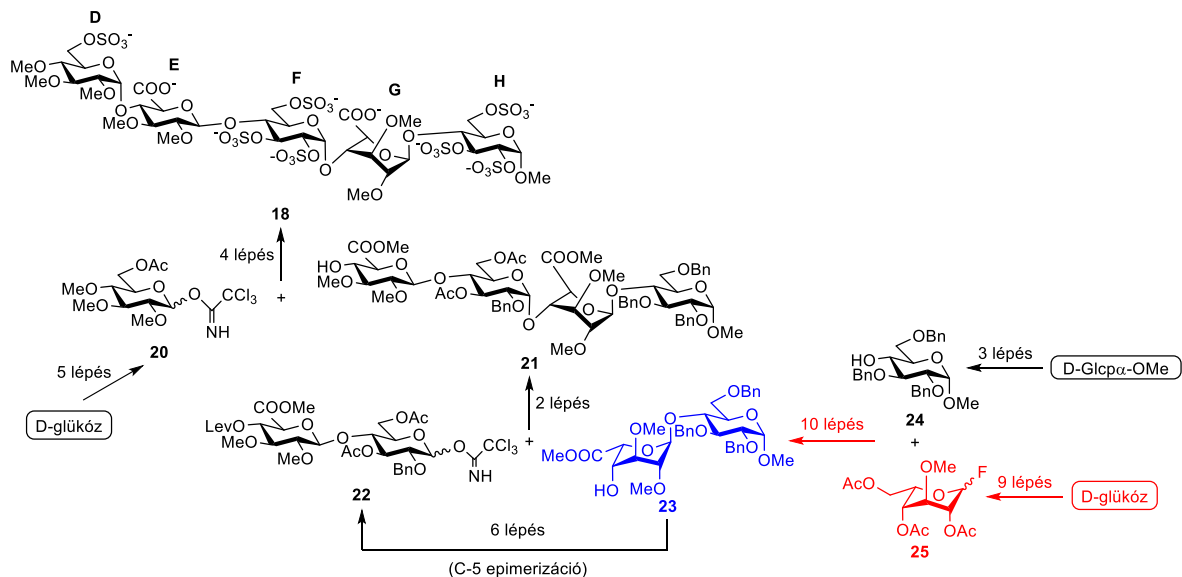
13. ábra: A nem-glikózaminoglikán idraparinux (18) és az idrabiotaparinux (19) szerkezete

A második generációs nem-glikózaminoglikán típusú antitrombotikumok vezérmolekulájának tekinthető az idraparinux **(18)**⁹⁶ és származéka az idrabiotaparinux **(19)**, amely nagyobb

antikoaguláns aktivitással és hosszabb felezési idővel rendelkezik, mint a fondaparinux. Az idraparinux fejlesztését 2009-ben, a klinikai vizsgálatok III. fázisában leállították, mivel rendkívül hosszú felezési ideje miatt az esetenként fellépő vérzékenységet nem tudták kezelni. Ezt a problémát egy módosított származéka, az idrabiotaparinux (**19**) szintézisével tervezték megszüntetni.^{97,98} Az idrabiotaparinux az idraparinux-szal azonos véralvadásgátló hatást mutatott, és elődjéhez képest nagy előnye, hogy létezik ellenszere. A specifikus ellenszer (antidotum) az avidin nevű fehérje, amely gyorsan kiürülő komplexet képez az idrabiotaparinux-szal. Így az esetlegesen, mellékhatásként fellépő vérzékenység avidin beadásával azonnal megszüntethető.

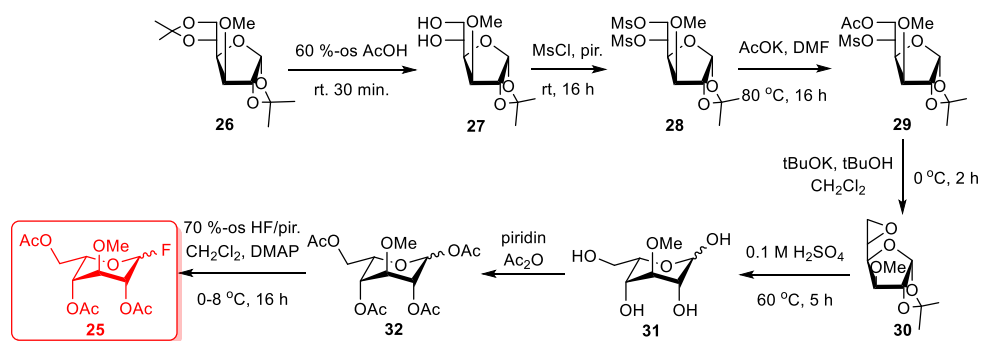
2.10. Az idraparinux első szintézise

Az idraparinux szintézisét már több eltérő úton is megvalósították. A molekula előállítását elsőként van Boeckel és munkatársai írták le 1994-ben.⁹⁶ A fondaparinuxhoz képest több változtatást is végrehajtottak a molekulán: szulfatálták a redukáló végi egység 3-as pozíciójú –OH-ját, megnövelve ezzel az ionos kölcsönhatások kialakulásának lehetőségét, az *N*-szulfát csoportokat *O*-szulfátra cserélték, ami jelentősen megkönnyítette a szintézist, valamint a szabad hidroxil csoportokat metilezték. Ez utóbbi változtatással egyrészt sikerült fokozniuk a pentaszacharid lipidoldékonyságát, másrészt tovább egyszerűsödött a szintézis. A molekula előállítását az alábbi szintetikus terv alapján valósították meg (**14. ábra**).



14. ábra: Az idraparinux szintézise van Boeckel és munkatársai munkája alapján

A pentaszacharid szintézisét az L-idozid donor előállításával kezdték (**15. ábra**).⁹⁹ Ehhez D-glükózból kiindulva diaceton-glükózon át előállították az 1,2:5,6-di-*O*-izopropilidén-3-*O*-metil- α -D-glükofuranózt (**25**), majd savas hidrolízissel szelektíven eltávolították az 5,6-*O*-izopropilidén csoportot (**26**).



15. ábra: Az L-idopiranozil-fluorid szintézise

Az így kapott szabad hidroxil csoportokat metánszulfonsav-kloriddal mezilezték (**28**), majd DMF-ban káliumacetáttal reagáltatva lecserélték a 6-os helyzetű mezil-csoportot acetil csoportra (**29**), végül lúgos körülmények között kialakították az 5,6-epoxi-származékot (**30**). Az *L-ido*-származék epoxid gyűrűjét savas körülmények között nyitották, és a képződő 3-*O*-metil-*L*-idopiranozból (**31**) ecetsavanhidriddel piridinben nyerték a **32**-es vegyületet. Ebből a származékból pedig HF-dal állították elő a **25**-ös idopiranozil-fluorid származékot.

Ezt követően az irodalomból már jól ismert akceptor molekulát (**24**) állították elő metil- α -D-glükopiranozidból kiindulva 3 lépésben.¹⁰⁰ Az így kapott **24**-es akceptort glikozilezték a **25**-ös idozid-fluoriddal 0 °C-on, $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ promoter jelenlétében és jó hozammal nyerték a védett diszacharidot, melyet további 9 lépésben alakítottak tovább az iduronsav tartalmú akceptorra (**23**).

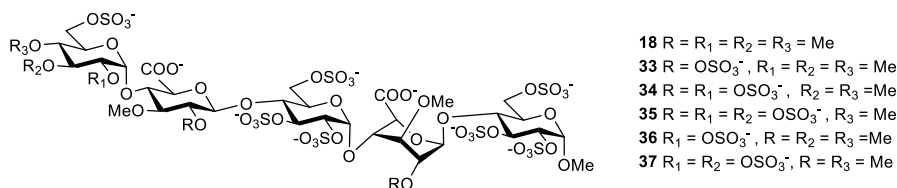
A szintézis egyik kulcslépése ennek a **23**-as diszacharid *L*-iduronsav-metilészter egységének az átalakítása D-glükuronsav tartalmú egységgé. A reakció hajtóereje az, hogy a *glüko*-konfigurációjú termék alacsonyabb energiaszintet képvisel, mint az *ido*-származék. Az átalakítást, mely első lépése a C-5 epimerizáció volt, 6 lépésben valósították meg. Az izomerizáció során kulcsfontosságú volt, hogy az uronsav 4-OH csoportja szabad legyen, így elkerülhető volt a β -elimináció, ami az uronsavak jellemző mellékreakciója lúgos közegben. Végül az így kapott, védett glükuronsav tartalmú diszacharidot triklóracetimidát donorrá alakították (**22**).¹⁰¹

Ezt követően a **23**-as iduronsav tartalmú akceptor molekulát glikozilezték a **22**-es glükuronsav tartalmú donor molekulával, előállítva a védett tetraszacharidot, majd a levulinoil-csoport szelektív eltávolításával sikeresen szintetizálták az **EFGH** tetraszacharid akceptort (**21**).

A **D** donor egységet (**20**) D-glükózból kiindulva állították elő 5 lépésben, majd ezzel a triklóracetimidát donorral trimetilszilil-trifluorometánszulfonát (TMSOTf) promoter jelenlétében glikozilezték a **21**-es tetraszacharid akceptort. A reakcióból jó hozammal izolálták a védett pentaszacharidot, majd további 3 lépésben kialakították a végleges védőcsoportokat. Ezen a reakcióúton az idraparinux (**18**) szintézise 42 lépést igényelt.

Az itt bemutatott molekula mellett a szerzők még további 5 hasonló szerkezetű pentaszacharid

(33-37) előállítását is írták le ebben a közleményben.⁹⁶ A hozamokat azonban nem minden esetben adták meg, ezért erre az idraparinux szintézisre összhozam nem számolható. A szintetizált molekulák (16. ábra) adott pozícióban további szulfátészter-csoportokat tartalmaztak.



16. ábra: A van Boeckel és munkatársai által előállított pentaszacharidok szerkezete

A biológiai vizsgálatok során meghatározták az előállított pentaszacharidok anti-Xa aktivitását, felezési idejét és kötődési hajlamukat az AT faktorhoz. Az általuk közölt értékeket a 2. táblázatban foglaltam össze. A vizsgálatok alapján az idraparinux bizonyult a leghatékonyabb nem-glükózaminoglikán típusú véralvadásgátló pentaszacharidnak.

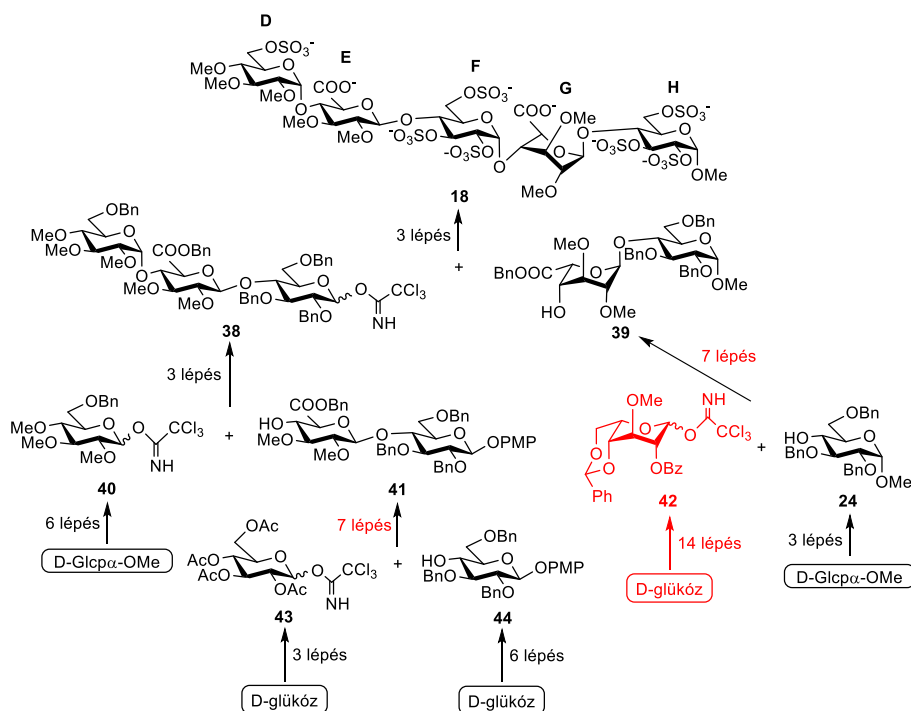
Pentaszacharid	Anti-Xa aktivitás (U/mg)	Kötődési hajlam (Kd) (nM)	Eliminációs T _{1/2} (h)
9	700	754	0.7
18	1611	13	10.9
33	1217	36	5.1
34	1159	53	2.2
35	1184	75	1.6
36	1318	36	7.8
37	1404	30	5.7

2. táblázat: A van Boeckel és munkatársai által előállított pentaszacharidok (9, 18, 33-37) biológiai aktivitása

2.11. Az idraparinux újabb szintézise

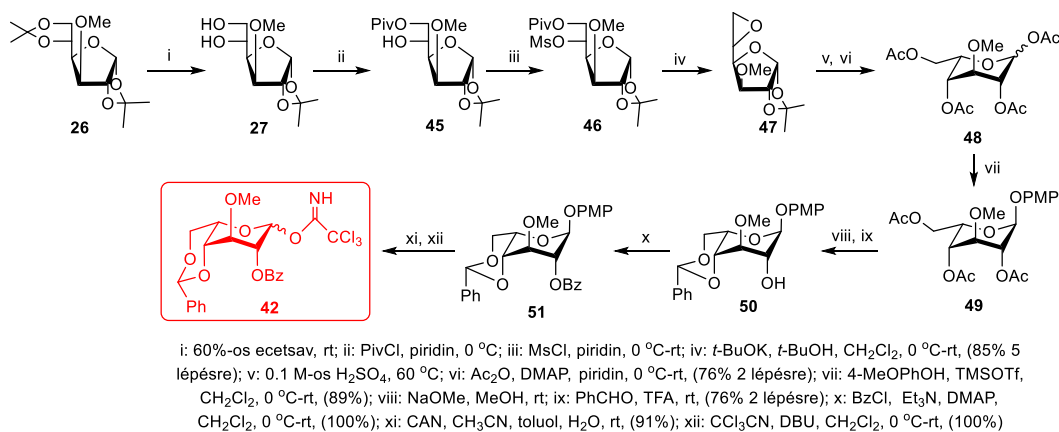
2009-ben kínai kutatók publikáltak egy újabb és általuk hatékonyabbnak mondott szintézisutat az idraparinux előállítására, melyet az alábbi szintetikus út alapján valósítottak meg (17. ábra).¹⁰² A szintézist a **D** és **H** monoszacharid építőelemek előállításával kezdték, amelyek közös kiindulási vegyülete a metil- α -D-glükopiranozid volt. A **40**-es vegyületet Pinilla és munkatársai leírása alapján¹⁰³ szintetizálták 6 lépésben, **24**-es akceptort pedig 3 lépésben állították elő.^{104,105} Az **F** egységet (**44**) D-glükózból kiindulva állították elő, Meijer és munkatársai leiratát

felhasználva, 6 lépésben.¹⁰⁶ Az **E** egységet (43) szintén D-glükózból kiindulva szintetizálták Schmidt és munkatársai nyomán, 3 lépésben.¹⁰⁷



17. ábra: Az idraparinux szintézise Chen és munkatársai munkája alapján

Az L-időz építőelem szintézise a **27**-es vegyületig megegyezett van Boeckel-ék munkájával (**18. ábra**). Ezután a primer hidroxil csoportot szelektíven védtek pivaloil-csoporttal (**45**), majd a szabad hidroxil csoportot mezilezték (**46**).¹⁰⁸



18. ábra: A védett L-időz (42, G egység) szintézise

Kálium-*t*-butiláttal *t*-BuOH-CH₂Cl₂ elegyében állították elő a **47**-es epoxi-származékot,¹⁰⁹ majd a gyűrű savas nyitását követően a szabad hidroxil csoportokat acetilezték piridinben ecetsavanhidriddel (**48**), és a termékből 4-metoxifenil glikozidot képeztek TMSOTf promoter jelenlétében (**49**). Az acetyl csoportokat Zemplén-körülmények között eltávolították, majd benzaldehidben trifluorecetsav alkalmazásával kialakították a 4,6-*O*-benzilidén-csoportot (**50**) és a

szabad hidroxil csoportot benzoil-csoporttal védtek (**51**). Oxidatív körülmények között eltávolították az anomer 4-metoxifenil-csoportot, majd DBU és triklóracetonitril reagensek alkalmazásával a hemiacetált átalakították imidáttá (**42**). A védett L-idozid donor szintézise így 14 lépést vett igénybe.

Ezt követően előállították a glükuronsav egységet tartalmazó diszacharidot a **45**-ös monoszacharid akceptor és a **44**-es monoszacharid donor reakciójával száraz CH₂Cl₂-ban TMSOTf promoter jelenlétében, majd az így kapott diszacharidot további 6 lépésben alakították át a tervezett, uronsav tartalmú akceptorra (**41**). Ezt követően a **40**-es nem redukáló végi monoszacharid donorral glikozilezték a **41**-es diszacharid akceptort TMSOTf promoter alkalmazásával, majd az így kapott védett **DEF** triszacharidot további két lépésben alakították át triklóracetimidát donorrá (**38**).

A **GH** diszacharid egység szintézisének első lépéseként a **42**-es L-idozid donorral glikozilezték a **43**-as monoszacharid akceptort TMSOTf aktivátor jelenlétében, és az így kapott védett diszacharidot további 6 lépésben alakították át a tervezett uronsav tartalmú akceptorra (**39**).

A **38**-as triszacharid donor és a **39**-es diszacharid akceptor kapcsolásával, közepes hozammal, állították elő a védett pentaszacharidot, TMSOTf promoter felhasználásával, majd a benzil-étereket és uronsav-észtereket katalitikus hidrogénezéssel távolították el, végül DMF-ban SO₃·Et₃N komplex-szel végzett szulfatálással nyerték az idraparinuxot (**18**).

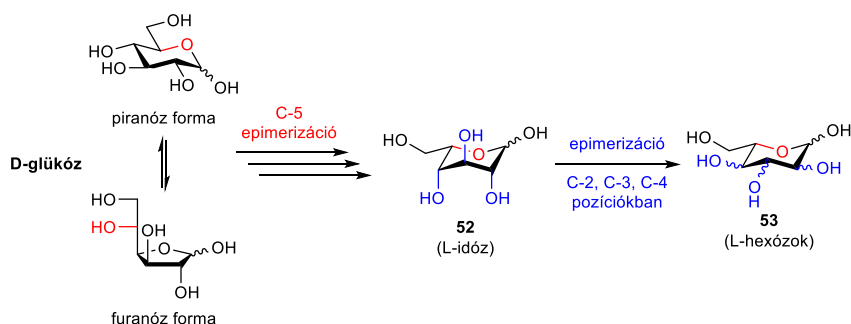
A molekula teljes szintézis 51 lépés volt D-glükózból és metil- α -D-glükopiranozidból kiindulva, amelyre a szerzők 4%-os összhozamot adtak meg.

A két szintézist összehasonlítva elmondható, hogy az L-idóz előállítása hasonlóképpen történt, a molekula 2-es helyzetében résztvevő csoportot alkalmaztak annak érdekében, hogy biztosítsák a glikozilezési reakció sztereoszelektivitását, és az így előállított L-idozid származékot donorként alkalmazva kapták a **GH** diszacharidot. Az uronsav funkciós csoport kialakítását mindkét kutatócsoport diszacharid szinten végezte el, ez a stratégia azonban megnövelte a védőcsoport-manipulációk számát, mivel a későbbi uronsav egység 4,6-diolját átmenetileg védeni kellett. Van Boeckel és munkatársai az iduronsav tartalmú **GH** diszacharidból epimerizációval jutottak el az **EF** diszacharidhoz, ami jelentősen lerövidítette a szintézisutat, míg a kínai kutatók a glükuronsavat tartalmazó diszacharid egységet két külön szintetizált monoszacharid egységből állították elő. Chen és munkatársai által a karbonsav védelmére alkalmazott benzil-észter nagy előnye, hogy a szintézis végén az eltávolítása nem igényelt külön reakciót, szemben a van Boeckel-ék által alkalmazott metil-észterrel. A továbbiakban mindkét csoport akceptorként használta az uronsav tartalmú diszacharidokat, mely kedvezően befolyásolta a glikozilezések sztereoszelektivitását. A kínai kutatók szintézise hosszabb, de leírásuk alapján jobb lett az előállítás összhozama, amit azonban a két cikk alapján nem tudunk megfelelően összehasonlítani, mivel a holland kutatók nem minden lépésre adták meg a kitermelést.

2.12. L-hexózek és 6-dezoxi-L-hexózek szintézise

Az előzőekben bemutatott reakcióutakból jól látható, hogy a heparin analógok előállításának egyik legnehezebb része az L-idóz egység szintézise. Ez a bonyolult előállítási lehetőség általánosságban elmondható az L-hexózekről. Természetes forrásból izolálni őket nagy mennyiségben nem mindig lehetséges, kereskedelmi forgalomban kaphatóak ugyan, de általában nagyon drágák, szintézisük pedig roppant összetett és költséges. Az évek során számos szintézisútvonalat kifejlesztettek már D-cukrokból kiindulva a megfelelő L-izomerek előállítására. Azonban ezeket a módszereket használva általában további védőcsoport-manipulációkra van szükség, mivel legtöbbször szabad L-cukrokat eredményeznek, melyek nem használhatók fel közvetlenül oligoszacharidok és/vagy glikokonjugátumok szintézisére.

Az irodalomban leírtak már olyan eljárásokat is, melyekkel egyetlen kémiai szintézisstratégiát követve előállítható mind a nyolc L-hexóz. Sajnos általában ezekkel a módszerekkel is csak szabad L-cukrok állíthatók elő, melyeket a további szintézisekhez a megfelelő, ortogonálisan védett molekulákká kell átalakítani. Ezen kívül számos hatékony epimerizáción alapuló szintézismódszert is kifejlesztettek már L-cukrok D-cukrokból történő előállítására.^{20,110} Klasszikus módszernek tekinthető a furanozid származékok közvetlen C-5 epimerizációs reakciója, ami az egyik legkorábbi eljárás L-cukrok szintézisére. Szintén ismert, hogy C-5 epimerizációs reakciók megvalósíthatók feszült szerkezetű pentózekből kiindulva, Mitsunobu körülmények között, valamint oxidációt követő sztereoszelektív redukción keresztül. Ezen kívül ismert módszer még az uronsavak báziskatalizált C-5 epimerizációja, a gyökös C-5 epimerizáció, 5,6-anhidroszármazékok C-5 epimerizációja és exo- vagy endociklusos kettőskötéssel rendelkező telítetlen cukrok hidroborálást követő oxidációs reakciója is. Továbbá, L-cukrok előállíthatók C-5 aldehidek nukleofil addíciójával, fej-láb inverzióval, valamint közönséges laktonokból kiindulva is.²⁰

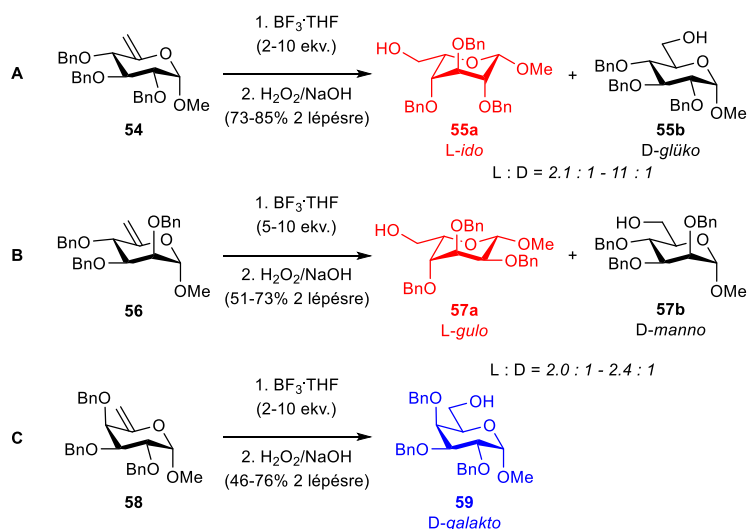


19. ábra: A D-cukrok regioszelektív epimerizációs reakciói

A számos lehetséges módszer közül itt csak a kutatási témához közvetlenül kapcsolódó módszerek rövid bemutatására térnek ki

2.12.1. Különféle exociklusos alkének hidroborálása

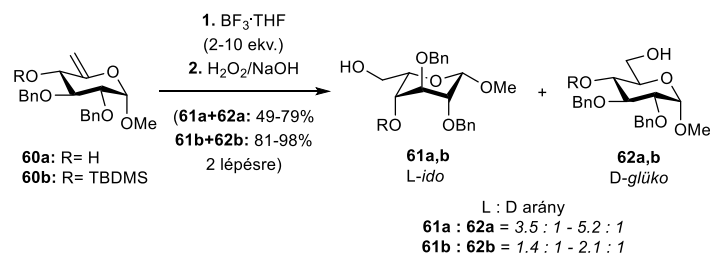
Ikegami és munkatársai tanulmányozták néhány 5,6-telítetlen- α -metil-glikozid hidroborálást követő oxidációs reakcióit, melynek során metil-5-enoglükozidot, metil-5-enogalaktozidot, valamint metil-5-enomannozidot használtak kiindulási anyagként (**20. ábra**). Vizsgálták továbbá, hogy az alkalmazott borán reagens mennyisége milyen hatással van a sztereoszelektivitásra.¹¹¹ Elsőként a metil- α -5-enoglükozidot (**54**) reagáltatták 2 ekv. $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ komplexszel, majd oxidálták, melynek eredményeként a reakcióban 2,1:1 arányban keletkezett az L-ido és D-glüko konfigurációjú származék 73%-os összhozammal.



20. ábra: A vizsgált exociklusos alkének hidroborálási és oxidációs reakciója

Annak érdekében, hogy növelni tudják a hozamot fokozatosan emelték a borán reagens mennyiségét. Ennek köszönhetően azonban a reakciók során a hozam növekedésén kívül számottevően jobb sztereoszelektivitással képződött az L-ido konfigurációjú termék (**55a**). A C-5 epimerizációs reakciót 5-enomannozidon (**56**) és 5-enogalaktozidon (**58**) kipróbálták. Az 5-enomannozid (**56**) hidroborálási és oxidációs reakciója már 5 ekv. $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ használata mellett is főtermékként az L-gulozidot (**57a**) adta jó hozammal. Az 5,6-telítetlen galaktóz származék (**58**) esetében azonban kizárólag csak a D-galaktóz származék (**59**) képződött, és ebben az esetben a $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ mennyiségének növelése sem hozott változást. A kutatók ezt azzal magyarázták, hogy a C-4-helyzetű axiális térállású benziloxi-csoport a galaktóz származékokban valószínűleg leárnyékolja a kettőskötés β -oldalát, emiatt a borán reagens csak az α -oldalról tud támadni, így szelektíven csak a D-galaktó konfigurációjú származék tud keletkezni. Ezt követően megvizsgálták a C-4 helyzetű védőcsoport méretének hatását is a sztereoszelektivitásra (**21. ábra**). Ennek során olyan glükóz származékokon tesztelték a C-5 epimerizációs reakciót, melyek C-4-es helyzetében vagy szabad hidroxil csoport, vagy nagy térkitöltésű *tert*-butil-dimetil-szilil csoport volt. A szabad hidroxil csoportot hordozó molekulával (**60a**) elvégezve a reakciókat a borán reagens

menyiségének növelésére az L-idóz (**61a**) nagyobb arányban képződött, azonban a 4-O-szilil származék (**60b**) reakciói során a diasztereoselektivitás nem változott számottevően.



21. ábra: A C-4 helyzetben eltérő csoportokat tartalmazó glükózidok hidroborálási és oxidációs reakciója

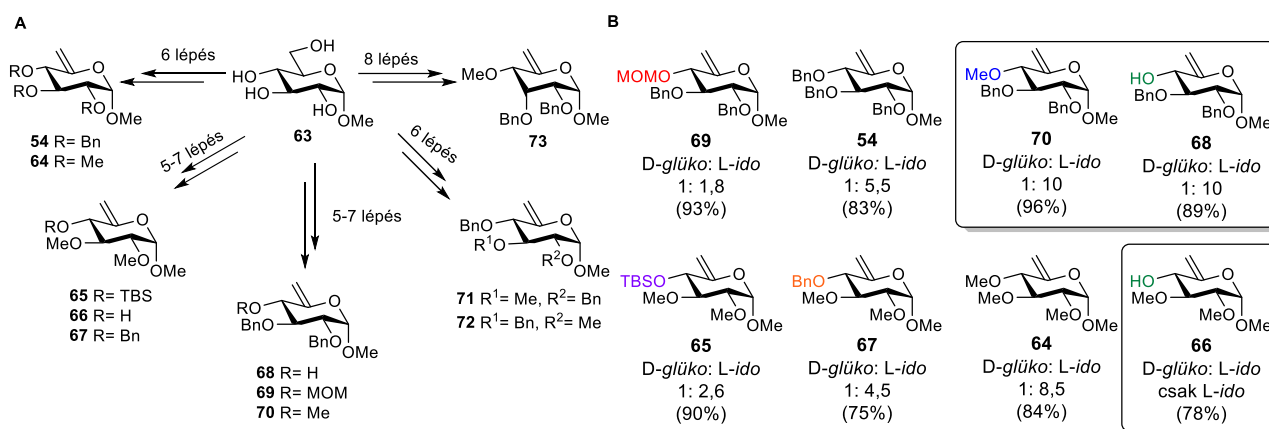
A kapott eredmények alapján arra a következtetésre jutottak, hogy ez a módszer alkalmas L-idozid és L-gulozid származékok előállítására, továbbá megállapították azt is, hogy ha a glükóz kisméretű szubsztituenszt tartalmaz a C-4 helyzetben, akkor a diasztereoselektivitás erősen függ az alkalmazott reagens mennyiségétől. Mivel az α -5-enoglükózid (**54**) 10 ekv. borán felesleggel kiváló diasztereoselektivitással eredményezte a várt L-ido konfigurációjú terméket, ezt a módszert később L-iduronav előállítására használták.

2.12.2. Lopatkiewicz és Mlynarski módszere L-idóz szintézisére

Ezen korábbi eredményekből kiindulva Lopatkiewicz és munkatársai vizsgálták változatos védőcsoportokkal ellátott 6-dezoxi- α - és β -D-xilo-hex-5-enopiranozidok, valamint egy 5,6-telítetlen allóz származék hidroborálási/oxidációs reakcióit, továbbá ezen belül vizsgálták még a szubsztituensek méretének hatását a reakciók sztereoselektivitására (**22. ábra**).¹¹² Ehhez először metil- α -D-glükopiranozidból (**63**) kiindulva előállították a megfelelően védett glükóz származékokat, valamint a védett metil- α -D-allopiranozidot, majd a megfelelő 6-jód származékokból eliminációs reakcióval nyerték a tervezett 5,6-telítetlen cukrokat (**54**, **64-73**, **22. ábra**, **A**). Az így előállított telítetlen vegyületekkel pedig elvégezték a hidroborálási/oxidációs reakciókat. Az **56**-os és **64**-es vegyületekkel végzett reakciók esetében, alacsony hőmérsékleten, borán felesleggel, a D-glüko és L-ido izomerek keverékét kapták. A metilezett enopiranozid (**64**) esetén sztereoselektív módon az L-ido konfigurációjú termék képződött (D-glüko/L-ido 1 : 8,5), míg a tribenzil származék (**54**) esetén a hidroborálás kevésbé volt szelektív.

Ikegami és munkatársai munkáját alapul véve¹¹¹ a következőkben a jobb L-ido sztereoselektivitás elérése érdekében tízszeres feleslegben használták a borán komplexet. Az optimalizált körülményeket használva tanulmányozták a többi metil-6-dezoxi- α -D-xilo-hex-5-enopiranozid származék (**64-73**) C-5 epimerizációs reakcióit is. Ennek eredményeképpen megállapították, hogy az α -anomer konfigurációjú, C-4 helyzetben különbözően szubsztituált hex-

5-enopiranozidok esetén a sztereoszelektivitás nagymértékben függ a C-4 helyzetben lévő védőcsoport méretétől. Míg a kisebb metil szubsztituens elősegítette a tervezett L-ido konfigurációjú termék képződését, addig nagy térkitöltésű védőcsoport alkalmazásával romlott a sztereoszelektivitás (22. ábra, B).



22. ábra: A metil- α -5-enopiranozid származékok szintézise és C-5 epimerizációja

A legjobb eredményt a C-4 helyzetben szabad hidroxil csoportot tartalmazó dimetil-enopiranozid (**66**) hidroborálásával érték el, itt kizárólag csak az L-ido származék képződött. Ez után olyan vegyületek reakcióit is vizsgálták, melyek C-2 (**72**), C-3 (**71**) és C-4 (**70**) helyzetben kisméretű, metil csoportot tartalmaztak. A kapott eredmények alapján megállapították, hogy kizárólag a C-4 helyzetű védőcsoport játszik szerepet a reakció sztereoszelektivitásában 5,6-telítetlen glükózidok esetén. Az 5,6-telítetlen D-allóz származék (**73**) hidroborálását, majd oxidációját elvégezve a reakcióban kizárólag az L-talo konfigurációjú termék képződött. Az anomer konfiguráció hatását is megvizsgálták a reakciók kimenetelére nézve, azonban β -glükózidokból kiindulva és elvégezve a C-5 epimerizációs reakciót erősen romlott a sztereoszelektivitás. Ezt azzal magyarázták, hogy az anomer helyzetben lévő szubsztituens leárnyékolja a kettős kötést, így az elektrofil reagens nehezebben tudja azt β -oldalról támadni.

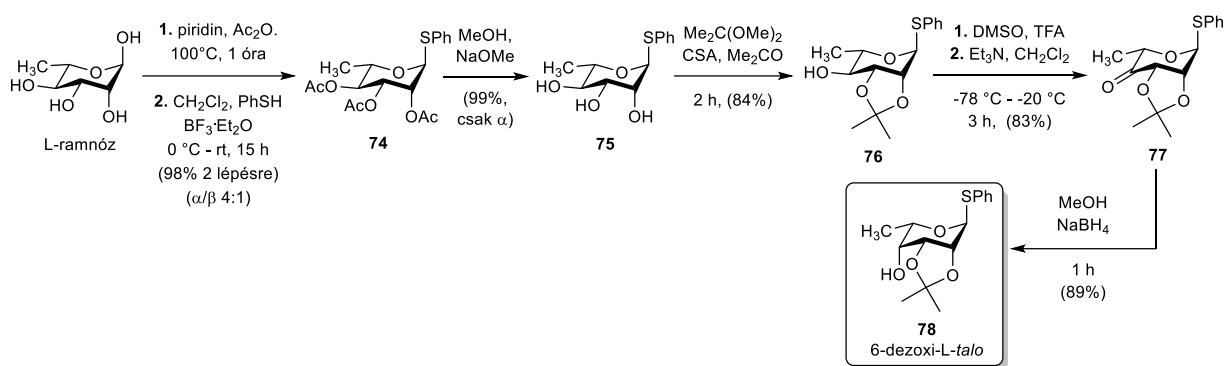
Összehasonlítva az α - és β -hex-5-enopiranozid származékok esetén kapott eredményeket, egyértelműen beigazolódott, hogy az anomer konfigurációnak komoly szerepe van a reakció sztereokémiai kimenetelében. Látható azonban az is, hogy az előállított vegyületek többsége anomer helyzetben -OMe csoportot tartalmaz, ami közvetlenül nem aktiválható, így ezek a vegyületek oligoszacharid szintézisre közvetlenül nem alkalmasak.

2.12.3. 6-Dezoxi-L-talopiranozid származék előállítása I.

A ritka, 6-dezoxi-L-cukrok az L-cukrokhoz hasonlóan fontos szerepet játszanak a természetben, hiszen szintén számos biomolekula alkotóelemei. Emiatt előállításukra többféle módszert is kidolgoztak, melyek közül a legtöbb esetben a kiindulási anyag valamelyik közönséges

cukor, azonban számos *de novo* reakciút is leírtak már szintézisükre.¹¹³ Ezek közül a kutatási munkához kapcsolódó 6-dezoxi-L-talopiranozid szintézisét mutatom csak be részletesebben (23. ábra).

Bols és munkatársai a 6-dezoxi-L-talopiranozid származék (78) előállítását feniltio-ramnozidból valósították meg, melyet két lépésben állítottak elő L-ramnózból kiindulva.^{110,113} A tiszta α -feniltio származékról (melyet kristályosítással nyertek ki az anomer keverékből) (74) Zemplén-körülmények között eltávolították az acetil csoportokat (75), majd izopropilidéneztek a keletkező triol 2-es és 3-as helyzetű hidroxil csoportjait (76). A reakcióban képződött 2,3-di-O-acetált (76), Swern-oxidációval (77) és azt követően NaBH₄-tal végzett sztereoszelektív redukcióval alakították át a tervezett 6-dezoxi-L-taló származékká (55, 20. ábra). Ezen kutatás folyamán előállították a többi 6-dezoxi-L-hexózt is különféle epimerizációs módszereket alkalmazva.

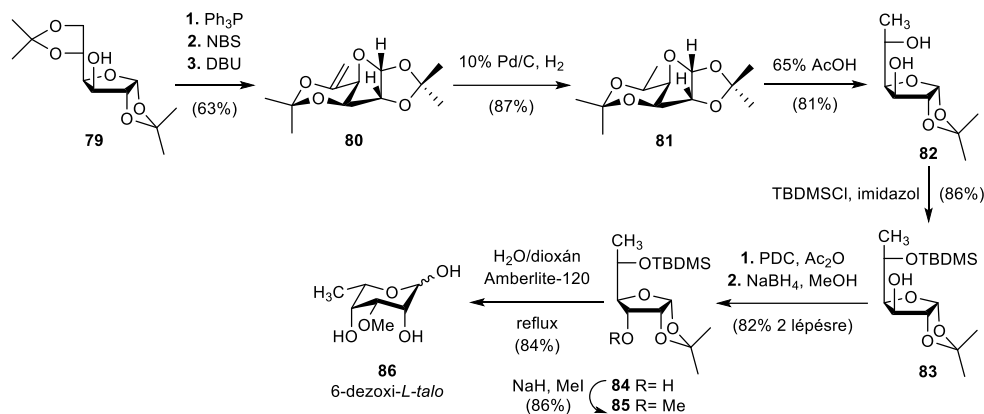


23. ábra: A 6-dezoxi-L-talopiranozid származék szintézise L-ramnózból Bols és munkatársai alapján

2.12.4. 6-Dezoxi-L-talopiranozid származék előállítása II.

Exociklusos alkének sztereoszelektív redukciójával is előállíthatók 6-dezoxi-L-hexózek. Hung és munkatársai leírták különféle 6-dezoxi-L-hexózek és L-hexózek szintézisét, melyhez feszült szerkezetű exociklusos alkénekből indultak ki (24. ábra).¹¹⁴ A 3-O-metil-6-dezoxi-L-taló (L-akovenóz) szintézisét az olcsó, kereskedelmi forgalomban is kapható diaceton-D-glükózból (79) kiindulva valósították meg, melyből a 80-as enolétert 3 lépésben állították elő, egy "egy-tál" reakcióban végrehajtva az izopropilidén-átrendezést, a regioszelektív C-6 helyzetű brómozást és β -eliminációt (80). Ezt követően az enoléter (80) sztereoszelektív redukcióját palládium-szén katalizátor alkalmazásával végezték el. A reakcióban jó hozammal képződött a 6-dezoxi-L-ido konfigurációjú származék (81), melyből ecetsavas hidrolízissel nyerték a 82-es diolt. Az C-5-ös helyzetű -OH-t regioszelektíven szililéterrel védtek, majd a C-3 epimerizációt oxidációval és sztereoszelektív redukcióval elvégezve jó hozammal kapták a 6-dezoxi- β -L-talofuranozil származékhoz (84). A 84-es molekula szabad C-3 helyzetű hidroxil csoportját metilezték, majd az így kapott 85-ös vegyületet Amberlite-120 gyantával kezelve jó hozammal állították elő a tervezett

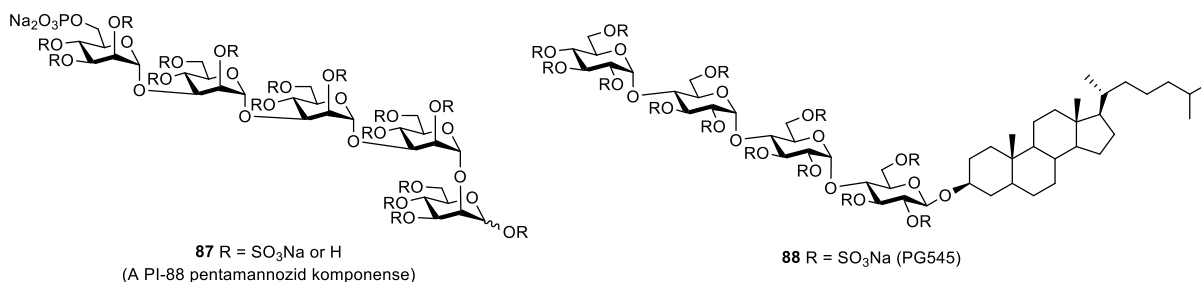
célvegyületet, az L-akovenózt (**86**).



24. ábra: A kiindulási exociklusos alkén szintézise

2.13. A szulfatált maltooligomerek és biológiai hatásuk

A szulfatált maltooligomerek több területen is hasonló aktivitást mutatnak, mint a heparinoidok. Antivirális, antimetasztatikus, gyulladásgátló és angiogenezist gátló hatásuk már bizonyított.¹¹⁵ Előnyük, hogy szerkezetük jóval egyszerűbb, mint a heparinoidoké, D-glükózból épülnek fel α -(1 $\rightarrow$ 4) glikozidos kötéssel. A maltooligomerek nyílt láncú vegyületek. Az egyszerű glükóz építőelemek és a homológ szerkezet miatt a maltooligomerek szintézise jóval egyszerűbb, mint a heparinoidoké, az 1,2-cisz interglikozidos kötés kialakítása, és a parciális szubsztitúció megvalósítása azonban itt is nehéz szintetikus feladat.



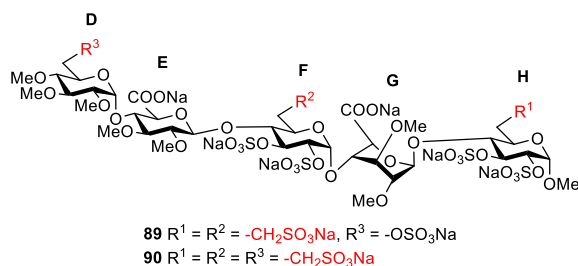
25. ábra: A szulfatált foszfomannopentaóz **87** (a PI-88 fő komponense) és a teljesen szulfatált maltotetraóz származék PG545 (**88**) szerkezete

A félszintetikus PI-88 (muporfostat) egy heparán-szulfát analóg mimetikum, amely erősen szulfatált, monofoszforilált mannóz-oligoszacharidok keverékéből áll, egészen a hexaszacharidig. Egyik fő összetevője a **87**-es pentaszacharid (~60%), jelentős figyelmet kapott kiemelkedő antiangiogén, sejtnövekedés-gátló és antimetasztatikus aktivitása miatt (**87**, **25. ábra**).^{116,117} A PI-88-at egy diploid élesztő, a *Pichia holstii* exopoliszacharidjából állítják elő savkatalizált hidrolízissel, majd perszulfatálással, analógjai ígéretes tumorellenes gyógyszerjelölteknek számítanak.¹¹⁸

Szintén szerkezetileg egyszerűsített heparán-szulfát mimetikum a PG545 (pixatimod), mely egy teljesen szulfatált szintetikus maltotetraóz származék, ami egy kolesztanol-aglikonhoz kapcsolódik (**88**, **25. ábra**), és erős *in vivo* aktivitást mutatott angiogenezis, tumor növekedés-gátló és metasztázis-gátló modellekben.^{118,119}

2.14. Korábbi eredményeink

A heparin-analóg oligoszacharidok szintézisének területén folytatott kutatásaim során, a doktori képzés ideje alatt, sikeresen szintetizáltam szulfonsav-tartalmú és szulfonsav csoportot nem tartalmazó idraparinux-analóg diszacharidokat,¹²⁰ valamint két pentaszacharid-szulfonsavat (**26. ábra**).¹²¹ A két szintetizált pentaszacharid csak egy szulfonsav-csoportban különbözött egymástól, mégis merőben eltérő volt a biológiai aktivitásuk. A pentaszacharid-diszulfonsav (**89**) jobb véralvadásgátló hatással rendelkezett, mint a referenciának választott idraparinux (**18**), a pentaszacharid-triszulfonsav (**90**) viszont csak jóval gyengébb hatással bírt.



26. ábra: A szintetizált szulfonsav tartalmú pentaszacharidok (**89**, **90**) szerkezete

	Anti-Xa aktivitás (U/mg)
fondaparinux (9)	1031
idraparinux (18)	1733
pentaszacharid-diszulfonsav (89)	2003
pentaszacharid-triszulfonsav (90)	485

3. táblázat: A pentaszacharid-szulfonsavak (**87**, **88**) anti-Xa aktivitása

A kapott eredményekből jól látható, hogy a szulfátészter-csoportok helyettesíthetők bioizoszter szulfonsav csoportokkal, mivel mindkét szulfonátometil-csoportot tartalmazó pentaszacharid rendelkezik Xa gátlóhatással. A vizsgálatok alapján az is kiderült, hogy az aktivitás mértékének szempontjából befolyásoló tényező a lecserélt csoportok száma, valamint pozíciója.

3. Heparin-analóg oligoszacharidok előállítása és biológia vizsgálatai – Saját

Eredmények

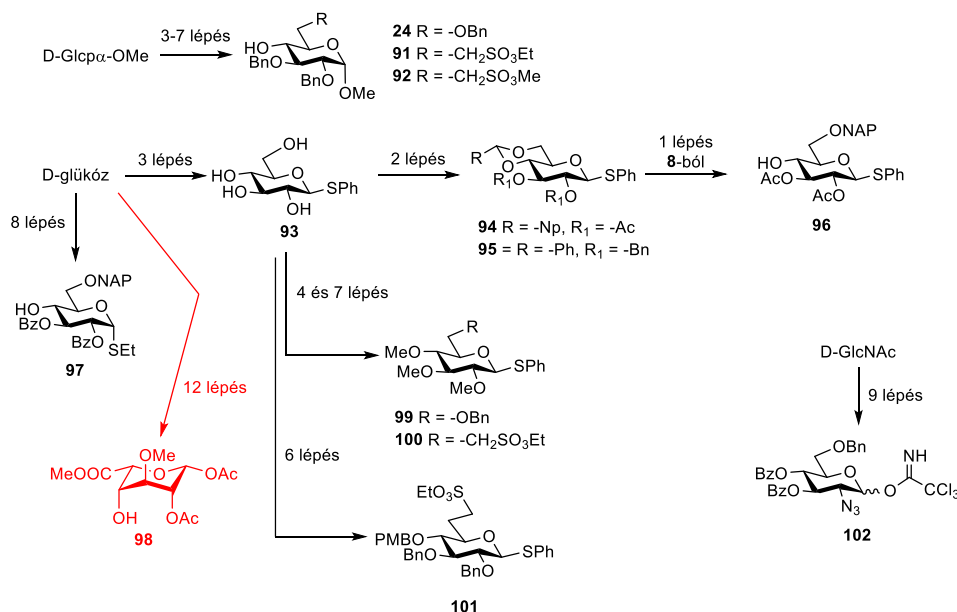
Kutatócsoportunk, jelenleg országosan egyedülálló módon, biológiailag aktív oligoszacharidok szintézisével foglalkozik, ezen belül több éve vizsgáljuk, új, szintetikus véralvadásgátló pentaszacharidok előállításának, valamint gyulladás-csökkentő és sejtnövekedésgátló származékok szintézisének lehetőségét. E kutatások keretében szintetizáltunk már számos heparin-analóg oligoszacharidot (di-, tri- és pentaszacharidokat). Ezen származékaink alapját képezik jó néhány nemzetközi és hazai együttműködésnek. Dolgozatomban elsőként a heparin-analóg oligoszacharidok szintézisének és biológiai vizsgálatának területén elért eredményeimet mutatom be.

3.1. Kisebb tagszámú heparin-analóg oligoszacharidok szintézise és biológiai vizsgálata

3.1.1. *Idraparinux és fondaparinux analóg triszacharidok előállítása és biológiai vizsgálata*

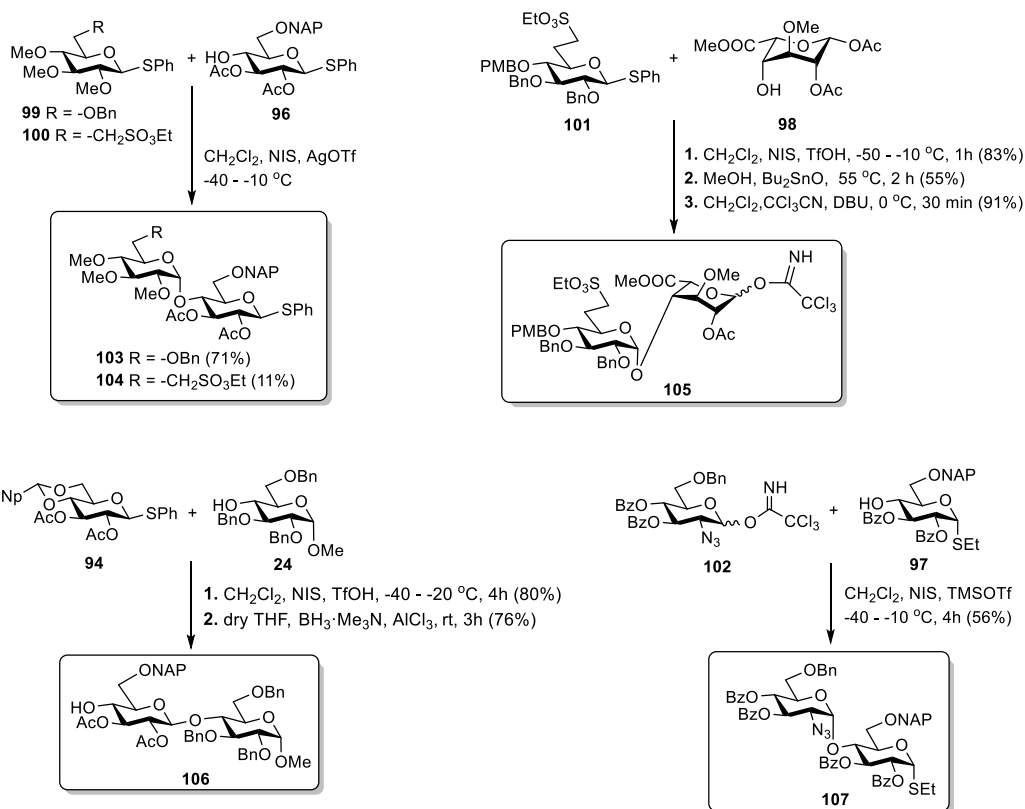
Annak érdekében, hogy jobban megérthessük a két szulfonsav tartalmú pentaszacharid (89, 90) aktivitásbeli különbségét további heparin-analóg oligoszacharidok előállítását tűztük ki célul antitrombinnal való kölcsönhatásuk NMR- és ITC-módszerekkel történő vizsgálatához. Terveztük továbbá vizsgálni a kisebb tagszámú heparin-analóg oligoszacharidok egyéb biológiai hatásait is (sejtnövekedésgátló, gyulladás-csökkentő, antioxidáns, vírus és baktérium ellenes hatás). Elsőként a véralvadásgátló hatással biztosan nem rendelkező, idraparinux analóg triszacharid származékok szintézisét valósítottuk meg.^{122,123} A tervezett, idraparinux fragmens triszacharidok felépítéséhez a már korábban, a doktori munkám során is használt, szulfonsav-tartalmú és szulfonsav nélküli monoszacharid építőelemeket szintetizáltuk nagyobb mennyiségben és használtuk fel (27. ábra) a triszacharidok előállítása során. Ezek egy részének szintézisét metil- α -D-glükopiranozidból kiindulva valósítottuk meg, és 3-7 lépésben jutottunk el a láncindító, akceptorként használt szulfonsav csoport nélküli (24) és a szulfonsav-észtereket tartalmazó (91, 92) monoszacharid származékokig. Az anomer centrumot így metil-glikozidként tudtuk rögzíteni, mely stabil csoport lévén a szintézisek során ellenállt az összes reakciókörülménynek, ebből kifolyólag az így felépített származékainknak a kezdő egysége mindig tisztán α -anomer maradt, megkönnyítve így mind az előállításokat, mind a vegyületek karakterizálását. A lánchosszabbító építőelemek túlnyomó többségét D-glükózból kiindulva állítottuk elő. A monoszacharid építőelemek szintézise során kialakítottuk a megfelelő védőcsoportokat, észter (acetil vagy benzoil) csoportokat építettünk ki azon származékokon (94, 96, 97, 98), ahol a C-2 helyzetben résztvevő csoportokra volt szükség a képződő glikozidos kötés sztereokémiájának irányítására. Ezen esetekben tisztán β -glikozidos kötés

kialakítására nyílt lehetőségünk. Az észter csoportok másik előnye volt, hogy a tervezett oligoszacharidokról a végső csoportok kialakítása során szelektíven eltávolíthatóak voltak, így lehetőségünk volt szabad -OH csoportok kiépítésére a végtermékekben. Amennyiben erre nem volt szükség, az idraparinuxhoz hasonlóan, az -OH-kat metil-éter csoporttal védtük (**99**, **100**). Ezeket a funkciókat már monoszacharid szinten bevittük a molekulákra, megkönnyítve így a végső átalakításokat. Azokat a hidroxil csoportokat pedig, ahol a célvegyületekben szulfátésztereket terveztünk kiépíteni, benzil-éterként maszkíroztuk (**91**, **92**, **95**, **99**, **101**, **102**). Továbbá a szulfonátometil részeket is minden esetben monoszacharid szinten alakítottuk ki és észter formában védtük. Ezen származékok szintéziséhez 6-10 lépés kivitelezésre volt szükségünk. A megfelelően védett D-glükózamin építőelemet (**102**) *N*-acetil-D-glükózaminból kiindulva szintetizáltuk 9 lépésben. Vegyületeink kulcs egységét, az L-iduronsav monoszacharid egységet (**98**), szintén D-glükózból kiindulva állítottuk elő, elsőként egy 12 lépéses szintézis úton.



27. ábra: Az idraparinux-analóg triszacharidok szintéziséhez használt monoszacharid építőelemek szintézise

Majd az így kapott monoszacharid építőelemekből felépítettük a szükséges diszacharid donorokat (**28. ábra**). A D-glükuronsav és L-iduronsav tartalmú triszacharidok előállítását úgy valósítottuk meg, hogy vagy a D-glükuronsav prekursorokat (**94**, **96**, **97**,) vagy az L-iduronsav egységet (**98**) kapcsoltuk a megfelelően védett akceptorhoz (**24**) vagy sztereo- és kemoselektíven glikozileztük a megfelelő monoszacharid akceptorral (**99**, **100**, **101**, **102**). A glikozilezési reakciókban általában jó hozammal és kiváló sztereoselektivitással képződtek a várt védett diszacharidok, melyeket vagy közvetve (**105**) vagy közvetlenül donorként (**103**, **104**, **107**) tudunk használni a további szintézisek során, vagy tovább alakítottuk lehetséges akceptorrá (**106**).

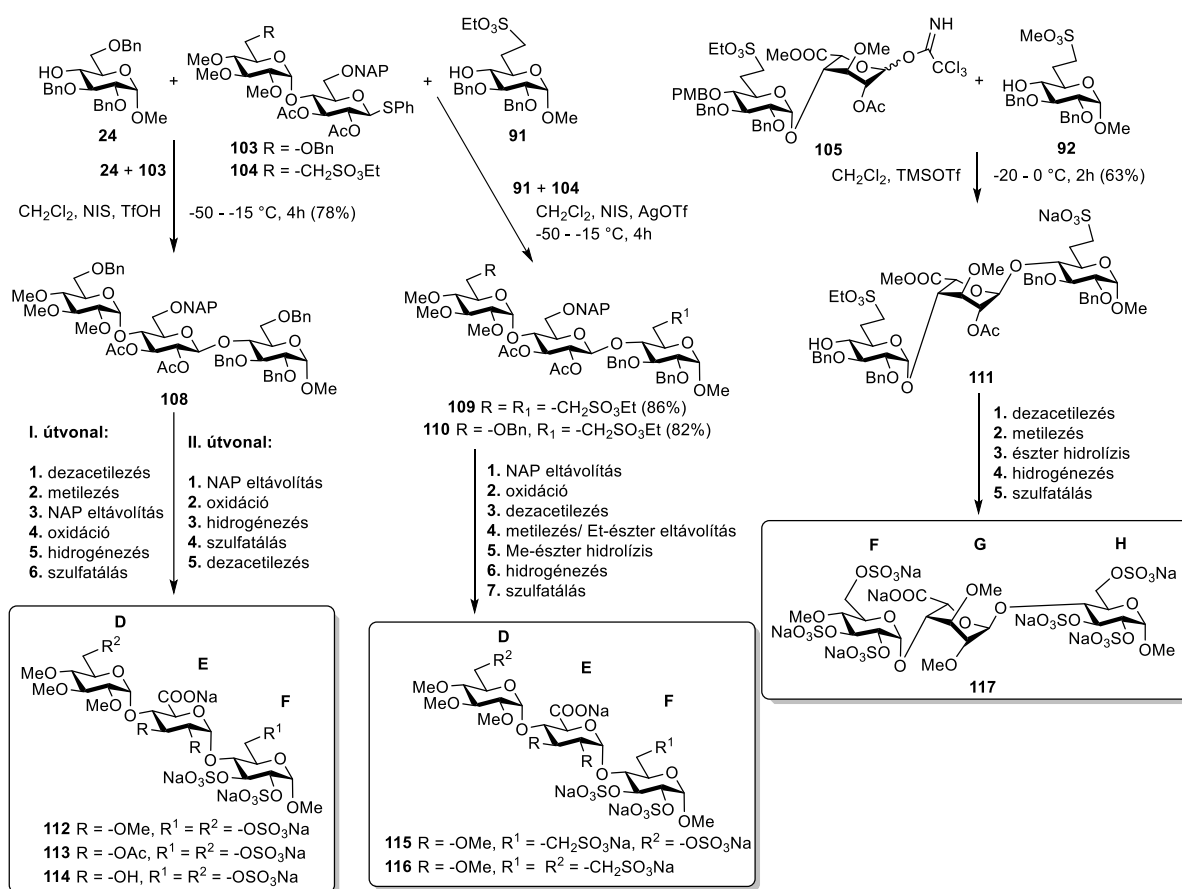


28. ábra: A triszacharidok szintézishez használt diszacharid építőelemek előállítása

A szintézist a védett, glükuronsav prekursor egységet tartalmazó triszacharidok (**112-116**) előállításával folytattuk (**29. ábra**). A **103**-as és **104**-es diszacharid donorokkal glikozileztük vagy a **24**-es vagy a **91**-es monoszacharid akceptorokat NIS/TfOH illetve NIS/AgOTf promoter rendszerek használatával száraz CH_2Cl_2 -ban, a reakciókban a várt védett triszacharidok (**108**, **109**, **110**) exkluzív β -szelektivitással és jó hozammal képződtek. Az L-iduronsavat tartalmazó triszacharid szintéziséhez a C-6-szulfonátometil-részt hordozó **92**-es monoszacharid akceptort a **105**-ös diszacharid imidáttal glikozileztük TMSOTf aktiválással. A reakció különlegessége volt, hogy a glikozilezés savas körülményei között a nem-redukáló végi egység C-4-O-PMB csoportja is lehasadt az új glikozidos kötés kialakulása után, valamint a lúgos feldolgozási eljárással a szulfonsav-metil-észtert a megfelelő nátrium-szulfonáttá tudtuk alakítani. Ezzel az egyedényes, háromlépéses transzformációval 63%-os kitermeléssel kaptuk az L-iduronátot tartalmazó, részben védett **111**-es triszacharidot.

Ezt követően elvégeztük az előzőekben előállított védett triszacharidokon a végleges csoport (uronsav funkció, metil-éter és szulfátészter funkciós csoportok) kialakítását. A **108**-as vegyületből kiindulva három triszacharidot (**112**, **113**, **1114**) állítottunk elő (**3. ábra**). Ehhez elsőként, a **II. útvonalon**, C-6-O-NAP csoportot szelektíven eltávolítottuk a glükuronsav prekursor egységről oxidatív körülmények között DDQ segítségével, majd az így felszabaduló hidroxil csoportot TEMPO/BAIB reagens kombinációval karbonsavvá oxidáltuk. A benzil csoportokat katalitikus

hidrogénezéssel távolítottuk el a molekuláról, majd az így felszabaduló hidroxil csoportokat 50 °C-on szulfatáltuk $\text{SO}_3\cdot\text{Et}_3\text{N}$ komplex alkalmazásával száraz DMF-ban, előállítva így a **113**-as triszacharidot, amely két acetyl csoportot tartalmaz a glükuronsav-részen. Ezen két acetyl csoport lúgos hidrolízise a szulfátészterek jelenlétében 92%-os hozammal eredményezte a részlegesen metilezett tetra-O-szulfatált triszacharidot (**114**). Az uronsav egységen metil étereket tartalmazó származékot (**112**) hasonló reakció úton állítottuk elő (**I. útvonal**), annyi különbséggel, hogy elsőként eltávolítottuk az uronsav prekursor egység C-2-es és C-3-as helyzetű hidroxil csoportjairól az acetyl védőcsoportokat Zemplén-körülmények között, majd a felszabadult -OH-kat lúgos körülmények között metileztük. A további reakciók pedig megegyeztek a korábban bemutatott útvonallal.



29. ábra: A antitrombin-kötő heparin szekvencia triszacharid fragmenseinek szintézise I.

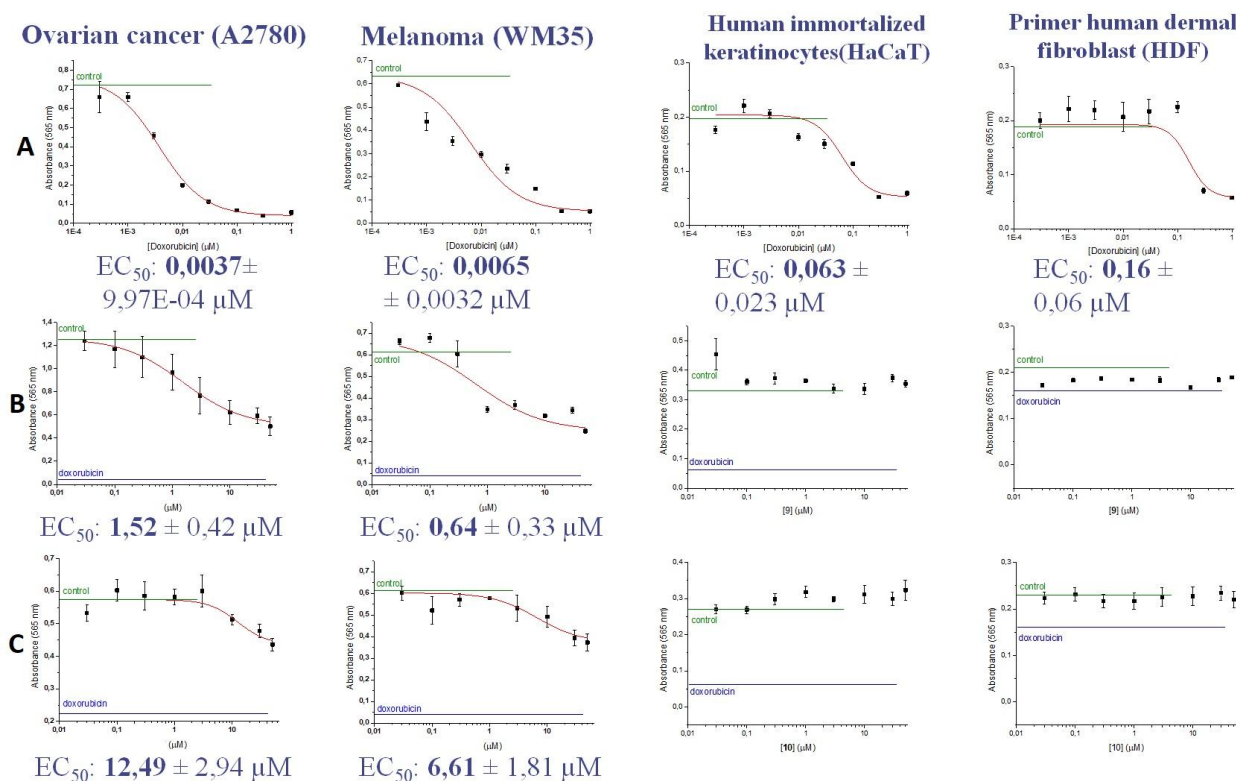
A permetilezett triszacharid mono- illetve diszulfonsav származékok előállításához a védett származékok (**109**, **110**) középső egységének C-6-O-NAP-éterét szelektíven eltávolítottuk. Az így felszabaduló primer hidroxil csoportot mindkét molekulán karbonsavvá oxidálták. Ezt követően az acetyl csoportokat Zemplén-körülmények között lehasították, valamint a metilén-szulfonát észter védőcsoportjait nukleofil reakcióban, NaI reagens használatával eltávolítottuk. Ezután, a glükuronsav egység szabad C-2- és C-3-OH csoportjait NaH és MeI reagens alkalmazásával

metileztük száraz DMF-ban. Ekkor azonban a hidroxil csoportok mellett a karboxil csoport is metileződött a reakcióban. Ezt a metil-észtert lúgos körülmények között hidrolizáltuk, majd a benzil csoportokat itt is katalitikus hidrogénezéssel távolítottuk el. Végül a felszabaduló hidroxil csoportokat $\text{SO}_3\cdot\text{Et}_3\text{N}$ komplex alkalmazásával szulfatáltuk, eljutva így az egy illetve két metilén-szulfonsav-csoportot tartalmaz triszacharidokhoz (**115**, **116**).

Az L-iduronsav egységet tartalmazó **117**-es triszacharid szintézisét az előzőekhez hasonlóan valósítottuk meg, a **111**-es védett triszacharidot elsőként dezacetileztük, majd a szabad hidroxil csoportokat metileztük (**29. ábra**). Az O-metilezéssel párhuzamosan az etil-szulfonát-észter nátrium-szulfonáttá történő átalakulása is megtörtént, és a reakcióban a vegyület dinátriumsója keletkezett. Az uronsav-észtert ezután lúgos körülmények között uronát sóvá alakítottuk. Végül a benzil csoportokat katalitikus hidrogénezéssel eltávolítottuk, és a felszabaduló hidroxil csoportok O-szulfatálását a korábban leírt körülmények között végeztük el. Ennek eredményeként sikerült előállítanunk az L-iduronsav egységet tartalmazó triszacharid-diszulfonsavat (**117**). Így 22-25 lépésben sikeresen előállítottunk 6 idraparinux-analóg triszacharidot (**112-117**).

Az így előállított triszacharidokkal Dr. Kövér Katalin[†] professzor asszony kutatócsoportjában végeztek NMR, ITC és molekula-modellezési vizsgálatokat. NMR mérésekkel igazoltuk a molekulák pontos szerkezetét, valamint elvégezték a vegyületek antitrombinnal való kapcsolódásának vizsgálatait, illetve ITC módszerrel meghatározták a szénhidrát-fehérje kötődési erősségeket. A mérési eredmények egyértelműen igazolták, hogy az előállított triszacharidoknak, a kötődési erősségek alapján, nincs véralvadásgátló hatása. Ezen kutatási eredményekből két doktori dolgozat összeállítása van folyamatban az említett NMR kutatócsoportban.

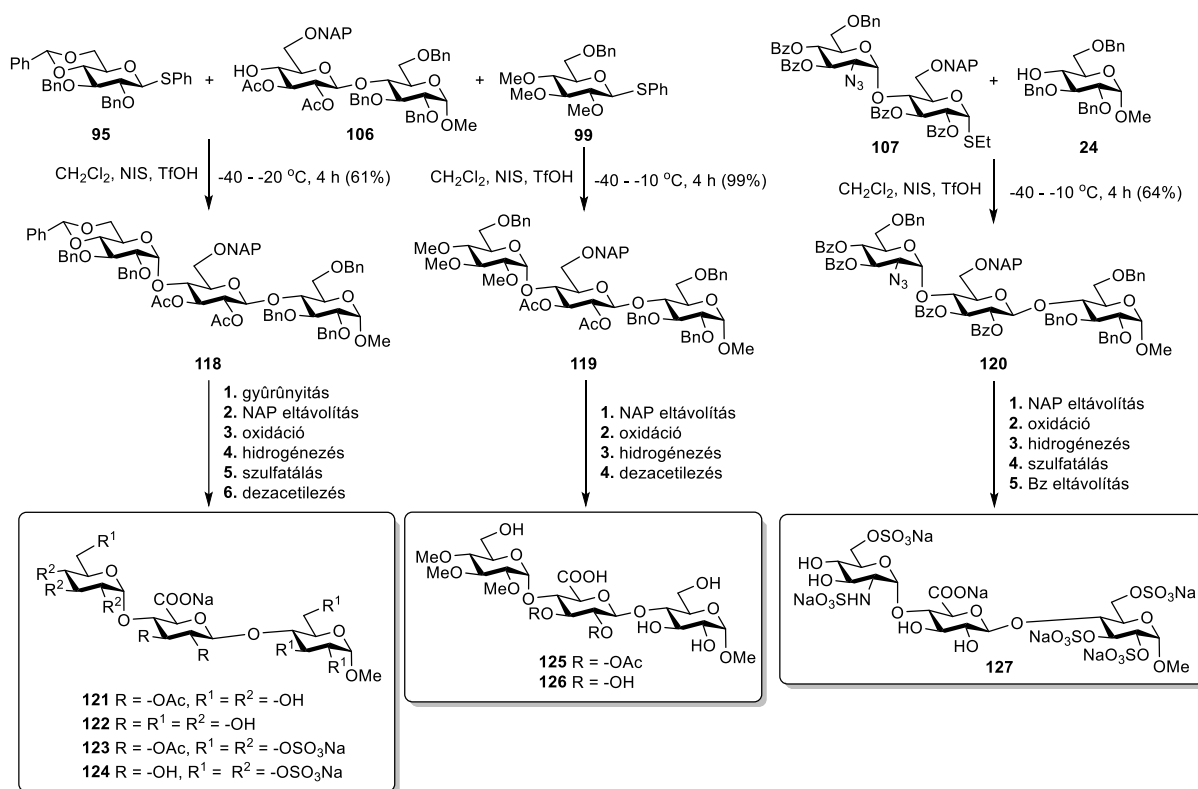
Irodalmi példák alapján jól ismert, hogy a heparin és származékai rendelkeznek gyulladáscsökkentő, kardiovaszkuláris- és szövetvédő, vese- és idegszövet védő és javító, angiogenezis-gátló, metasztázis-gátló, növekedési faktor-gátló, protozoa- és vírus-ellenes aktivitással is.¹²⁴⁻¹³² Az is közismert, hogy a véralvadásgátló hatás meglétéhez egy legalább öt cukoregységből álló oligoszacharid rész szükséges. A heparin polimerből kiragadott ezen egyedi pentaszacharid rész (**DEFGH**) speciálisan Xa faktor gátló hatással rendelkezik.⁹⁵ Az ettől kisebb fragmensek (di-, tri-, tetraszacharidok) viszont már nem rendelkeznek véralvadásgátló hatással. Ennek tükrében mi is vizsgáltuk vegyületeink sejtnövekedésre gyakorolt hatását egészséges és tumoros sejtvonalakon. Két vegyületről (**113**, **114**) sikeresen kimutattuk, hogy dózis-függő módon gátolták a humán tumoros sejtvonalak proliferációját (**30. ábra**, **113**: ovárium karcinóma: EC_{50} : $1,52 \pm 0,42 \mu\text{M}$, melanóma: EC_{50} : $0,64 \pm 0,33 \mu\text{M}$; **114**: ovárium karcinóma: EC_{50} : $12,49 \pm 2,94 \mu\text{M}$, melanóma: EC_{50} : $6,61 \pm 1,81 \mu\text{M}$). Az egészséges sejteken viszont citotoxikus hatás nem volt kimutatható, vagyis a vizsgálatok alapján a vegyületek kiváló szelektivitással rendelkeznek.¹²²



30. ábra: A triszacharidok sejtproliferáció gátló hatása; **A:** a doxorubicin hatása, **B:** a **113**-as triszacharid hatása, **C:** a **114**-es triszacharid hatása tumoros és egészséges sejtek osztódására

Ezen eredményeket alapul véve előállítottunk még további hét heparin és heparán-szulfát analóg triszacharidot (**31. ábra**). A nem-glükózaminoglikán-triszacharidok szintéziséhez használt monoszacharid építőelemeket (**18**¹³³ és **20**¹⁰⁰) már korábbi munkánk során szintetizáltuk. A védőcsoport-stratégiát ezekben az esetekben úgy alakítottuk ki, hogy az uronsav funkció oligoszacharid szinten legyen kialakítható, ehhez a prekursor glükóz származék primer -OH-ját itt is -ONAP étercsoporttal (NAP = (2-naftil)metil) védtük, amely a többi használt csoport jelenlétében szelektíven eltávolítható. A végtermékben -OH-t vagy -OSO₃Na-t tartalmazó pozíciókat benzil csoportokkal védtük. A D-glükuronsavat tartalmazó triszacharidokat az uronsav prekursor tartalmazó diszacharid akceptor (**106**) és monoszacharid donorok (**95**, **99**) felhasználásával állítottuk elő. A szintézist a nem-glükózaminoglikán-triszacharidok előállításához szükséges, megfelelően védett prekursor diszacharid akceptor (**106**) előállításával kezdtük, a már korábban bemutatott módon. Ezután az így kapott diszacharid akceptort (**106**) először a 2,3,4-tri-OMe tartalmú monoszacharid donorral (**99**) glikozileztük. A reakcióban jó hozammal és sztereoszelektivitással keletkezett a várt védett triszacharid (**119**), melyet már előző munkánk során is szintetizáltunk. Egy másik reakcióban a **106**-os diszacharid akceptort szintén glikozileztük a **95**-ös monoszacharid donorral. A reakcióban jó hozammal és sztereoszelektivitással képződött a várt

védett triszacharid (**118**). A nem-redukáló végi glükóz egységen metil csoportokat tartalmazó **119**-es triszacharidot 3 lépésben alakítottuk tovább, a már korábban is alkalmazott reakció úton, a szabad -OH-kat és acetil csoportokat tartalmazó **125**-ös triszachariddá (**31. ábra**), majd erről a származékról Zemplén-körülmények között eltávolítottuk az uronsav egység acetil csoportjait, eljutva így a szabad -OH és -OMe csoportokat tartalmazó származékhoz (**126**). Ugyan korábbi vizsgálataink során ezeket a származékokat (**125**, **126**) már egyszer szintetizáltuk, azonban biológiai aktivitásukat még nem vizsgáltuk, ezért a jelen biológiai vizsgálatokhoz újra előállítottuk őket.



31. ábra: A antitrombin-kötő heparin szekvencia triszacharid fragmenseinek szintézise II.

Ezt követően megkezdtük a védett **118**-as triszacharid átalakítását is. Ehhez elsőként $\text{Et}_3\text{SiH}/\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ reagenskombinációval használatával felnyitottuk a benzilidén-acetál védőcsoportot, így kaptuk a C-6-O-Bn-tartalmú származékot. Ezután vizes CH_2Cl_2 -ban a középső cukor-egység NAP-csoportját oxidatív körülmények között eltávolítottuk DDQ reagens alkalmazásával, felszabadítva így a primer hidroxil csoportot, amit TEMPO/BAIB reagens kombinációval vizes acetonitrilben karboxillá oxidáltunk. A benzil védőcsoportok katalitikus hidrogénezéssel történő eltávolításával az uronsav egységen acetyl csoportokat tartalmazó **121**-es származékot kaptunk, melyről Zemplén-körülmények között távolítottuk el az észtereket, eljutva így a **122**-es szabad -OH-kat tartalmazó származékhoz.

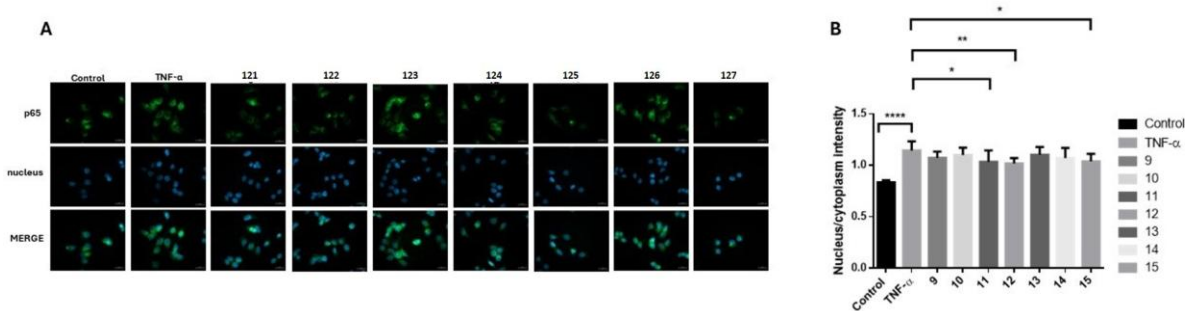
A szulfatált célvegyületeket a **121**-es származékból kiindulva állítottuk elő. Ehhez ezt a származékot száraz DMF-ban O-szulfatáltuk $\text{SO}_3 \cdot \text{Et}_3\text{N}$ komplex alkalmazásával, így jó

kitermeléssel állítottuk elő a **123**-as perszulfatált/acetilezett származékot. Végül az uronsav egység acetil csoportjait lúgos körülmények között szelektíven eltávolítottuk és így kaptuk a **124**-es szulfát/-OH tartalmú származékot. Ezzel hat, változatos (metil, hidroxil, acetil, szulfát) funkciós csoport mintázatú nem-glükózaminoglikán típusú heparin analóg triszacharidot sikerült előállítanunk.

Ezen kutatás további részében egy glükózaminoglikán analógot is előállítottunk annak vizsgálatára, hogy az -NH csoport jelenléte hogyan befolyásolja a biológiai aktivitást (**31. ábra**). Ehhez az **24**-es monoszacharid akceptort glikozileztük a **107**-es diszacharid donorral, amely a nem redukáló végén egy 2-azido-glükóz egységet tartalmazott. A reakció során a várt védett triszacharid (**120**) jó hozammal és sztereoszelektivitással képződik. Ezt követően a NAP védőcsoportot eltávolítottuk a glükuronsav prekursor egység C-6 pozíciójából oxidatív körülmények között, ezzel felszabadítva a primer hidroxil csoportot. A karboxil funkciót itt is oligoszacharid szinten alakítottuk ki a korábbi oxidatív körülmények között. A reakcióban jó hozammal (73%) keletkezett az uronsav tartalmú molekula, amelyről katalitikus hidrogénezéssel eltávolították a benzil-éter-csoportokat és ezzel egyidejűleg az azido-csoportot -NH₂-ná redukálták. A végső funkcionizálási folyamat további két lépést vett igénybe. Elsőként a szabad -OH-kat és az -NH₂-t SO₃·Et₃N komplexszel szulfatáltuk, majd a benzoil-észter védőcsoportokat lúgos körülmények között eltávolítottuk, felszabadítva így a molekulán négy hidroxil csoportot (**127**).

A sikeres szintézis után a kapott hét triszacharidnak vizsgáltuk a sejtnövekedést gátló, gyulladáscsökkentő és antioxidáns hatását.

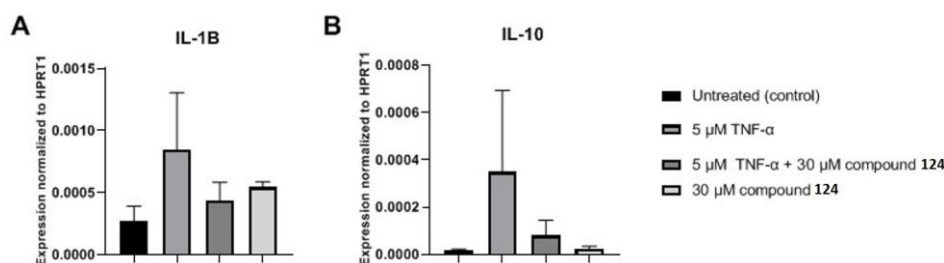
Elsőként egy gyulladásos modell segítségével vizsgáltuk a triszacharid származékok (**121-127**) NF-κB útvonal aktivációt gátló hatását MCF-7 sejtekben (**32. ábra**).



32. ábra: Az NF-κB gyulladásos útvonal gátlása MCF-7 sejteken a vegyületekkel történő 24 órás előkezeléssel

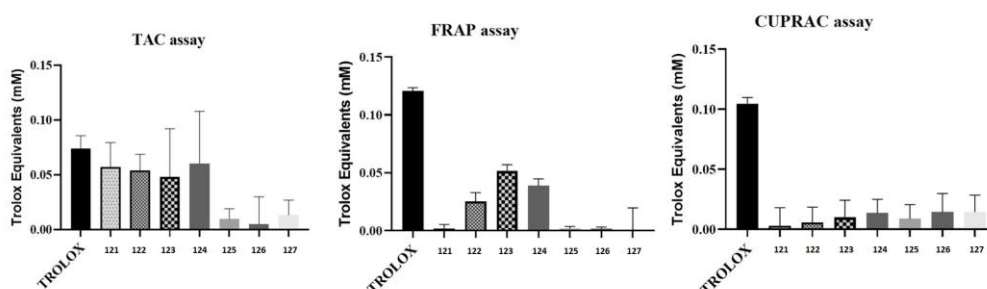
A sejtek 24 órás előkezelését követően a molekulákkal látható, hogy három molekula (**123**, **124** és **127**) 30 μM koncentrációban szignifikánsan ($p < 0,05$, $p < 0,01$, illetve $p < 0,05$)

csökkentette az NF- κ B p65 alegység sejtmagba történő gyulladásos transzlokációját, amelyet az NF-ből a plazmába való belépés okoz. A legjobb gátló hatást mutató triszacharid származék (**124**) lehetséges gyulladáscsökkentő hatását tovább elemezve, RT-qPCR segítségével vizsgáltuk az interleukin (IL)-1B és IL-10 gyulladásos markerek kifejeződését MCF-7 sejteken. Az emlőráksejtek kezelése önmagában TNF- α -val serkentette az IL-1B és IL-10 szint felszabadulását. Azonban az IL-1B és IL-10 szintje csökkent a triszacharid származék (**124**) és TNF- α kombinációjával végzett kezelést követően (**33. ábra**) Ennek eredményeként elmondhatjuk, hogy a vizsgált triszacharid (**124**) kifejezetten jó gyulladáscsökkentő hatást fejtett ki a vizsgált sejtvonalon. Továbbá az elvégzett citotoxicitási vizsgálatok kimutatták, hogy a vizsgált triszacharidok nem gátolták sem az egészséges (WM35) sem a daganatos sejtek (MCF-7, A2780, *HaCaT*) növekedését, tehát nem rendelkeznek citotoxikus hatással.



33. ábra: IL-1B (A) és IL-10 (B) gének expressziós szintje a **124**-es vegyülettel és TNF- α -val végzett kezelés után

Végül megvizsgáltuk az előállított triszacharidok antioxidáns hatását is. Ahogy az a **34. ábrán** is látható, a molekulák korlátozott redukáló erejét (SET) sikerült kimutatni CUPRAC assay-vel semleges pH-n. Ezenkívül a FRAP-assay-ben alkalmazott savas pH-n három vegyület (**122**, **123**, **124**) mutatott jobb antioxidáns hatást a többi molekulához képest. A TAC-assay (SET és HAT) eredményei is azt mutatták, hogy egyes vegyületek (**121**, **122**, **123**, **124**) antioxidáns hatással rendelkeznek. Azonban egyik vegyület sem volt aktív az ORAC vizsgálatban, ami azt jelzi, hogy a molekulák nem fejtenek ki közvetlen peroxil- és hidroxilgyök-fogó hatást.



34. ábra: A triszacharid származékok antioxidáns hatása

Összefoglalva, mérési eredményeink alapján az antioxidáns hatás szempontjából előnyös, ha a vizsgált vegyület nem tartalmaz szulfátészter-csoportokat, bár hatásuk a vizsgálati módszer mechanizmusától függ. A TAC vizsgálat alapján az -OMe csoportokat és szabad -OH-kat tartalmazó származékok (**121, 122, 123, 124**) bizonyultak aktívak. Ezen módszer alapján az -OAc csoportok jelenléte nem befolyásolta szignifikánsan az antioxidáns hatást. A FRAP vizsgálat alapján azonban az -OMe csoportot nem tartalmazó vegyületek (**123, 124**) mutatták a legjobb aktivitást.

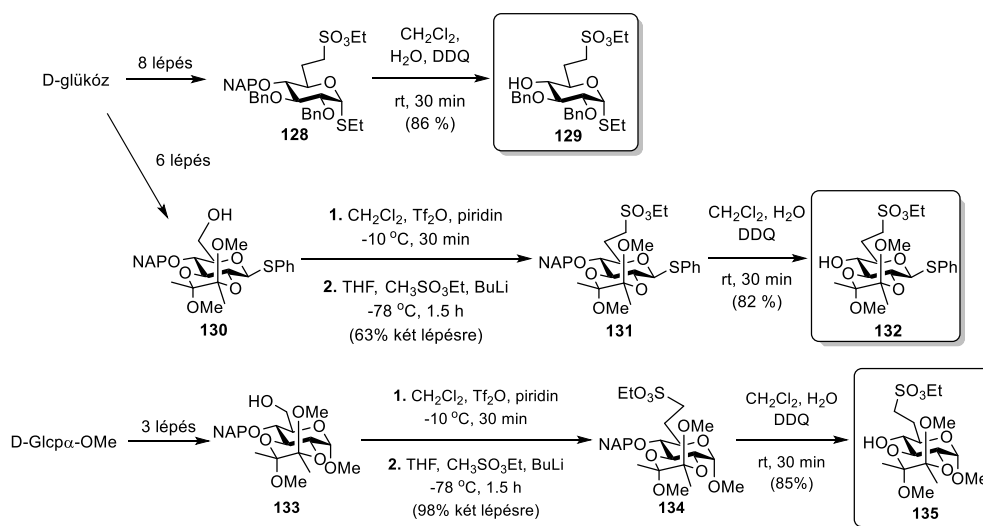
3.1.2. Szulfonsav tartalmú maltooligomerek szintézise

A heparin-analóg oligoszacharidok előállítására tett erőfeszítéseink részeként számos nem-glükózaminoglikán heparinoid oligoszacharidot^{120,121,134} és malto-oligomert¹³⁵ szintetizáltunk már a kutatócsoportban, amelyek a glükóz egységek különböző pozícióiban szulfonátometil-csoportokat tartalmaznak. A szulfonsavakról tudni kell, hogy ellenállnak az észterázok általi hasításnak, ezért *in vivo* stabilabbak, mint szulfatált társaik, és erősebb kötődési affinitást mutathatnak a célfehérjékhez. Ezt a kutatási irányt folytatva olyan maltooligomer származékok szintetizálását tűztük ki célul, amelyek mindegyik glükózegységének C-6-os pozíciójában szulfonátometil-csoportot tartalmaznak, és hidroxil csoportjaik szulfatáltak, így erős ionos kölcsönhatások kialakítására képesek. A tervezett származékokat megkíséreltük oligomerizációs, blokk- és lépésenkénti-szintézissel is előállítani, vizsgálva így a leghatékonyabb és legegyszerűbb előállítási lehetőségeket.

A tervezett C-6-szulfonáto-metil-tartalmú maltooligomerek előállításához megfelelően védett monoszacharid építőelemekre volt szükségünk, amelyek segítségével teljes regio- és sztereoszelektivitással kialakítható volt a kívánt α -(1-4)-glikozidos kötés. A kulcsfontosságú monoszacharidot, a 6-dezoxi-6-szulfonátometil-tartalmú tioglükózidot (**128, 35. ábra**), D-glükózból kiindulva, a benzil- és NAP-védett primer triflát-származék litiált etil-metánszulfonáttal való reakciójában állítottuk elő korábbi munkáink alapján.^{136,137} Ennek a vegyületnek a védőcsoport mintázata lehetővé tette, hogy a C-4-ONAP szelektív eltávolításával az -OH felszabadítható volt, így a molekulát donorként tudtuk használni a glikozilezési reakciókban. A nem-résztvevő benzil csoport jelenléte a C-2 pozícióban, valamint a β -oldali robosztus szulfonsav-etilészter csoport árnyékoló hatása biztosította számunkra a kapcsolási reakció teljes α -szelektivitását.^{136,138} Továbbá a benzilezett glikozil donorok, úgynevezett „armed” (aktivált, megnövelt reakciókészségű) tulajdonságának köszönhetően, növelhető volt a glikozilezési lépések hatékonysága.^{139,140}

Azonban a benzil védőcsoportok eltávolítása során tapasztalt nehézségek miatt a védőcsoport stratégián menet közben változtatnunk kellett, a tervezett szabad malto-oligomer szulfonsavak hatékony előállítása érdekében. A monomerek védelmére végül a bután-diacetál-csoportot (BDA, 2,3-dimetoxibután-2,3-diil)^{141,142} választottuk, mert i) savas körülmények között könnyen

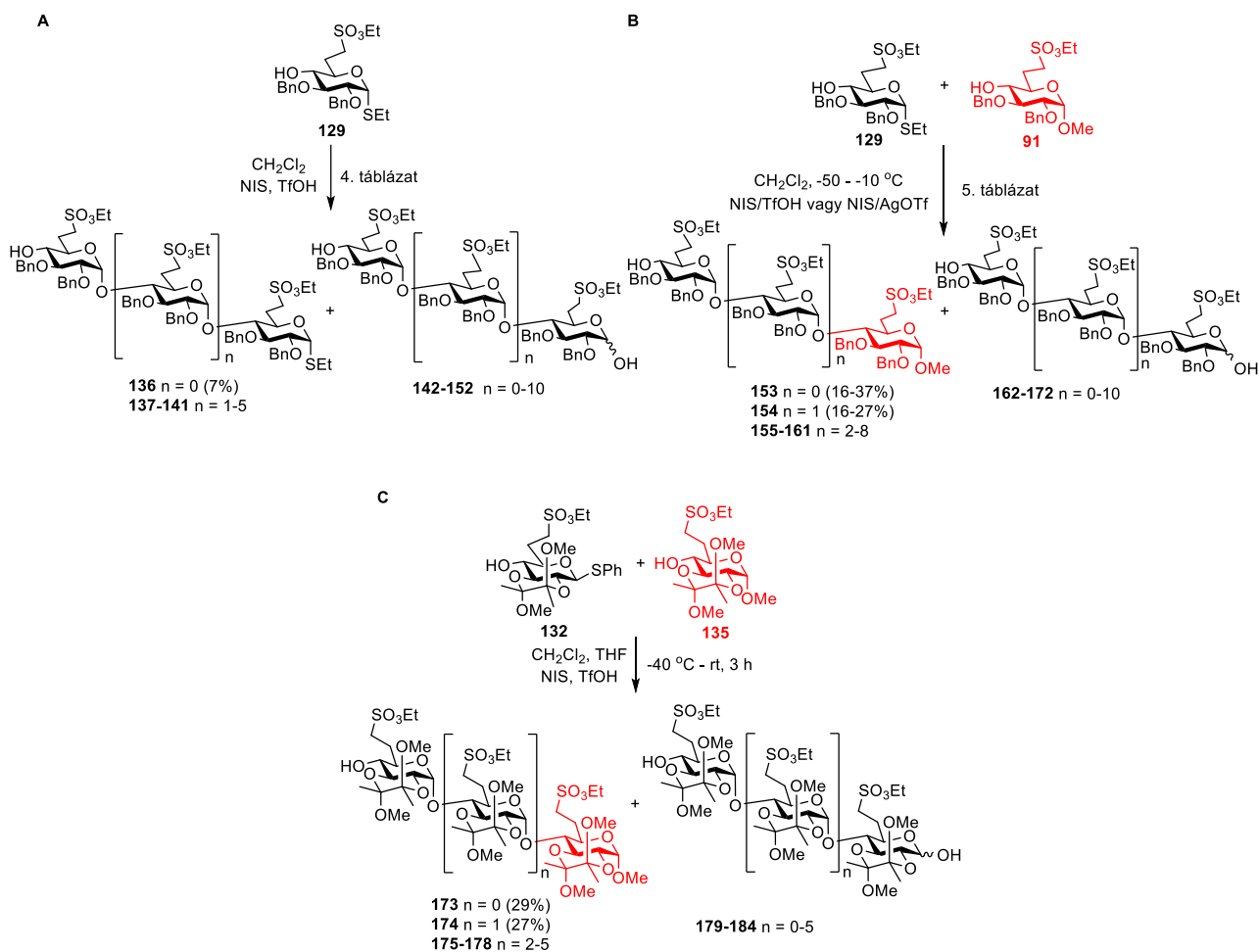
eltávolítható, ii) a glikozilezési reakciókban nem vesz részt, így lehetővé teszi a kívánt α -1,2-glikozidos kötés kialakítását,¹⁴³ továbbá a BDA-védett donorok „semi-disarmed” molekuláknak tekinthetők (reaktívabbak, mint az acilezett vegyületek), így hatékony glikozilezőszerként funkcionálnak.¹⁴⁴ A teljesen védett 2,3-O-BDA-tioglikozid (**131**) szintézisét, D-glükózból kiindulva, 8 lépésben, már korábban megvalósítottuk.¹³⁷ Ezt követően a **131**-es vegyület C-4-ONAP csoportjának DDQ-val történő eltávolításával felszabadítottuk a C-4-es hidroxil csoportot, így az oligomerizációra alkalmas **132**-s glikozil-donort kaptuk (**35. ábra**). A **135**-ös metil-glikozid (láncindító) építőelemet a **133**-as vegyületből állítottuk elő.¹⁴⁵ Először a szulfonsav-etilészter részt vittük be a primer pozícióba egy kétlépéses reakcióban (triflát képzés, majd lánchosszabbítás lítium-etil-metánszulfonáttal, **134**). Végül a kapott **134**-es vegyület C-4-es helyzetét felszabadítottuk a NAP-csoport oxidatív eltávolításával, eljutva így a **135**-ös akceptor építőelemhez.¹⁴⁶



35. ábra: A szulfonsav tartalmú monoszacharid egységek előállítása

A monoszacharid építőelemek szintézisét követően vizsgáltuk ezen elemek polimerizációs lehetőségeit. Elsőként a 4-OH tartalmú etil-tioglikozid (**129**) monoszacharid blokk polimerizációs reakcióival foglalkoztunk, amelyben az említett molekula egyszerre glikozil donorként és glikozil akceptorként is funkcionált. A **129**-es monomert NIS/TfOH promoter kombinációt használva poliglikozilezésnek vetettük alá, és megvizsgáltuk a reakció hatékonyságát/alkalmazhatóságát malto-oligoszacharidok előállítására (**36. ábra**, „A” reakció, **4. táblázat**). A reakciókat különböző mennyiségű promoterrel hajtottuk végre, amint azt a **4. táblázatban** összefoglaltuk, majd a feldolgozás után a nyers reakcióelegy összetételét MALDI-TOF tömegspektrometriával elemeztük. A standard glikozilezési reakció (1.2 ekv. NIS használata) lineáris oligoszacharidok sorozatát eredményezett dekamerig (**142-152**), hemiacetálok formájában (**4. táblázat**, **1. reakció**). A sorozatnak megfelelő tioglikozid oligomerek kis mértékben szintén jelen voltak a reakcióelegyben,

de meglepő módon ciklusos oligomerek képződését nem tapasztaltuk. Annak érdekében, hogy a termékkeverék összetételét a nehezen izolálható hemiacetál sorozatról a könnyebben izolálható tioglikozidok felé toljuk el, a poliglikozilezést szubsztóchiometrikus mennyiségű promoterrel is elvégeztük (0.6 ekv. NIS). A polimerizáció 1.5 óra alatt hexamerig ment végbe, a di- és triszacharid tioglikozidok főtermékként való képződés mellett, és az oligoszacharid-hemiacetálok képződése jelentősen visszaszorult (**4. táblázat, 2. reakció**). A továbbiakban az oligomerizáció mértékének növelése érdekében a **129**-es vegyületet újabb poliglikozilezési reakcióba vittük, 0.6 ekv. NIS jelenlétében, növelve a reakcióidőt 24 órára (**4. táblázat, 3. reakció**), majd a feldolgozás után a kapott nyers reakcióelegyet ismét MALDI-TOF MS-sel tanulmányoztuk. Ezen mérések eredményéből megállapítható volt, hogy két, csökkenő MALDI-TOF MS intenzitással rendelkező oligomer sorozat keletkezett heptamer elemig (anomer -SEt és -OH sorozat). Ezen reakcióelegy oszlopkromatográfiás tisztítása után a **136**-os diszacharidot 7%-os hozammal tudtuk izolálni teljesen tiszta formában. Végül a **129**-es vegyületet újból polimerizációs reakcióba vittük 1.5 ekv. NIS alkalmazásával (**4. táblázat, 4. reakció**). A reakció a várt oligomerek sorozatát eredményezett egészen dodekamer tagszámgig ($n = 10$), de túlnyomórészt hemiacetálok formájában, melyeket sajnos nem sikerül tisztán izolálni a reakcióelegyből.



36. ábra: A szulfonsav tartalmú malto-oligomerek szintézise polimerizációval

“A” reakció	Promoter (ekv.)	Idő (h)	Hőmérséklet (°C)	Termék ^[a]
1	NIS/TfOH (1.2/0.3)	24	-50 - 10	142-148
2	NIS/TfOH (0.6/0.18)	1.5	-50 - -10	136, 137- 141 142-145
3	NIS/TfOH (0.6/0.18)	24	-50 - 10	136 (7%)^[b] 137-141 142-147
4	NIS/TfOH (1.5/0.3)	48	-50 - 10	142-152

^[a]MALDI-TOF méréssel detektált származék. ^[b]Izolált hozam.

4. táblázat: A **129**-es monomer poliglikozilezési reakciójának optimalizálása I.

A könnyebben izolálható és a további szintetikus lépésekben is felhasználható oligomerek mennyiségének növelése és az anomer keverékként képződő, nehezen izolálható hemiacetál oligoszacharidok mennyiségének visszaszorítása érdekében változtattunk a polimerizációs stratégiánkon, és a **129**-es tioglikozid monomert olyan poliglikozilezési reakciónak vetettük alá, melyben láncindító elemként az anomer centrumán nem aktiválható csoporttal rendelkező, rögzített anomer konfigurációjú glikozil akceptor molekulához (**91**) próbáltuk kapcsolni (36. ábra, „B” reakció).

Abban bízunk, hogy a **91**-es metil- α -glikozid¹³⁶ láncindító egységként funkcionálhat a redukáló végén, biztosítva az oligomer sorozat hatékony kialakulását, anomer tiszta, metil-glikozid formában. Elsőként egy úgynevezett előaktiválási módszert^{147,148} alkalmaztuk, vagyis a **129**-es tioglikozidot NIS/TfOH promoter rendszerrel aktiváltuk, majd a **91**-es akceptort csak 2 órával később adtuk a reakcióelegyhez (5. táblázat, 1. reakció). Sajnálatos módon a várt kapcsolódás a **129**-es és a **91**-es molekulák között nem következett be, a **91**-es metil-glikozid egység nem épült be az oligomerekbe. A reakcióból csak a **162-167**-es hemiacetál oligomereket tudtuk kimutatni MALDI-TOF MS analízist követően. Ezért az előaktiválási módszerről áttértünk a standard glikozilezési körülményekre. Elsőként 2.2:1 donor : akceptor arányt vizsgálva, a **129**-es tioglikozidot két részletben adtuk a reakcióelegyhez, és NIS/TfOH promoter rendszert alkalmaztunk

az aktiválásra. A reakcióban a várt metil-glikozid kezdő egységgel ellátott oligoszacharid sorozat képződött (**5. táblázat, 2. reakció**). A reakcióelegyből sikeresen izoláltuk a **153**-as diszacharidot és a **154**-es triszacharidot 37%-os, illetve 16%-os hozammal és MALDI-TOF MS-sel további oligoszacharidokat mutattunk ki egészen oktamer egységig, mind metil-glikozid, mind hemiacetál formában. Ezt követően, NIS-AgOTf promoter rendszert és hosszabb reakcióidőt alkalmazva (**5. táblázat, 3. reakció**), de a donort továbbra is két részletben adagolva a reakcióelegyhez, a termékarányt sikerült kissé eltolni a magasabb oligomerek irányába. Így a **153**-as diszacharidot 16%-os termeléssel, míg a **154**-es triszacharidot 20%-os hozammal tudtuk izolálni, valamint a MALDI tömegspektrumban sikerült magasabb oligomereket is azonosítani egészen oktaszacharidokig. A legjobb eredményt akkor értük el, amikor az oligomerizáció során 3 ekvivalens tioglikozid-felesleggel (a **129** és **91** aránya 3:1 volt a reakció indításától) és NIS/TfOH promoter rendszer alkalmazásával (**5. táblázat, 4. reakció**) poliglikozileztük a két monomert.

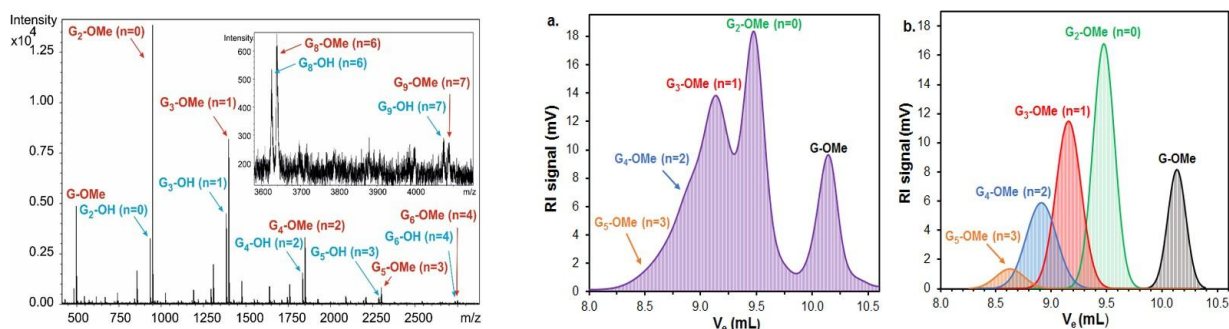
“B” reakció	129:91 arány	Promoter (ekv.)	Idő (h)	Hőmérséklet (°C)	Termék ^[a]
1	1.7:1	NIS/TfOH (1.2/0.12)	3.5	–50 – –10	162-167
		2 x			153 (37%)^[b]
2	2.2:1	NIS/TfOH (1.2/0.12)	8	-50 - 10	154 (16%)^[b] 155-159, 162-169
		2 x			153 (16%)^[b]
3	3.3:1	NIS/AgOTf (1.2/0.24)	32	-50 - 10	154 (20%)^[b] 155-159, 162-168
					153 (33%)^[b]
4	3:1	NIS/TfOH (1.2/0.12)	12.5	-50 - -10	154 (25%)^[b] 155-160, 162-169
5	10:1	NIS/TfOH (1.5/0.3)	48	-50 - 10	155-161, 162-172

^[a]MALDI-TOF méréssel detektált származék. ^[b]Izolált hozam.

5. táblázat: A 129-es monomer poliglikozilezési reakciójának optimalizálása II.

A reakcióelegyből mind a di-, mind a triszacharidot jó hozammal tudtuk izolálni (33% a **153**-ra és

25% a **154-re**), és további oligoszacharidokat detektáltunk egészen dekamer tagszámig MALDI MS-méréssel. Végül a polimerizációt kipróbáltuk jóval nagyobb (10:1 **129** és **91**) donor arányt alkalmazva is (**5. táblázat, 5. reakció**). Ebben az esetben az oligomerizáció mértéke egészen dodekamer tagszámig növekedett ($n=10$), de sajnos a termékarány jelentősen eltolódott a hemiacetátok irányába. A tömeg-analízis alapján a trimernél nagyobb oligoszacharidok túlnyomórészt hemiacetátként voltak jelen a reakcióelegyben. A 3:1 arányú **129-es** és **91-es** vegyület glikozilezési reakciójának reakcióelegy összetételét (**5. táblázat, 4. reakció**) MALDI MS-sel részletesebben is megvizsgáltuk (**37. ábra**). Amint az a **37. ábrán** látható, a **91-es** akceptorral (-OMe végcsoport) indított oligomerek sorozata $n = 0$ és $n = 8$ tagszám között képződik, valamint látható egy -OH végcsoportot tartalmazó oligomer sorozat is, amely az aktivált, de el nem reagált -SC₂H₅ láncvégek vízzel való reakciójából jött létre a reakcióelegy feldolgozása során. Érdekes módon a MALDI-TOF MS spektrumban megfigyelhető volt az el nem reagált kiindulási akceptor (**91, G-OMe**) is, azonban a **129-es** kiindulási tioglikozid monomer hidrolizált terméke nem volt azonosítható.

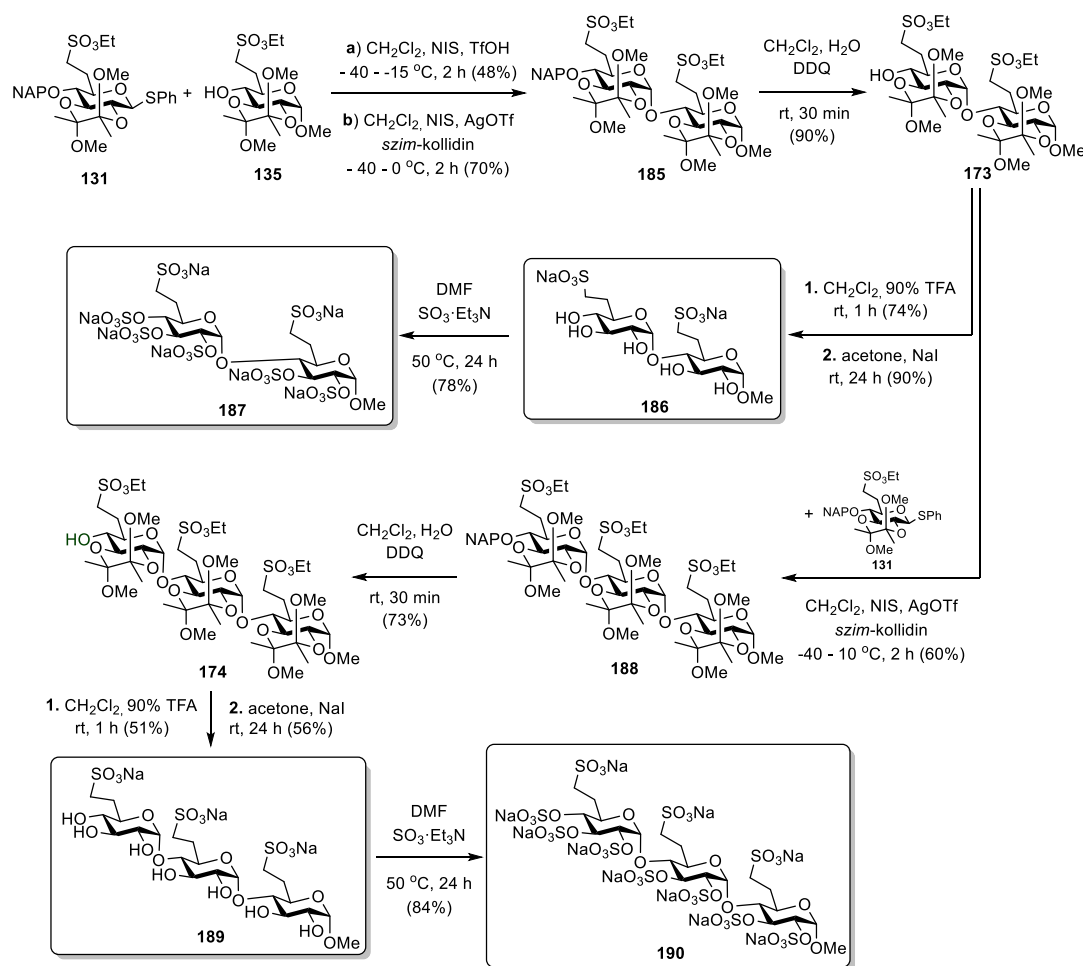


37. ábra: A „B” oligomerizációs reakció termékeinek azonosítása MALDI-TOF spektroszkópiával és SEC kromatográfiával

Ezt követően vizsgáltuk a BDA-acetált tartalmazó monomerek oligomerizációs reakcióját is. A polimerizációs reakciót 3:1 arányú **132-es** és **135-ös** monomerekkel végrehajtva és NIS/TfOH promoter rendszert használva (**36. ábra, „C” reakció**) a reakció nyers termékét MALDI-TOF MS analízisnek vetettük alá. A reakcióból sikeresen azonosítottuk az oligoszacharidok sorozatát mind metil-glikozid, mind a hemiacetál formában egészen heptamer tagszámig, és a metil-glikozid di- és triszacharidokat egészen jó hozammal tudtuk tisztán izolálni (29% a **173-as** és 27% a **174-es** származék). Várakozásainknak megfelelően a glikozilezési reakciók minden esetben (természetesen ahol volt izolált termék) teljes sztereoselektivitással mentek végbe, β -interglikozidos kötással rendelkező diasztereoizomerek egyik esetben sem voltak megfigyelhetők.

Az oligomerizációs reakciókkal párhuzamosan lépésenkénti szintézissel is előállítottuk a di- és triszacharid származékokat (**38. ábra**). Ehhez elsőként az **135-ös** akceptort glikozileztük a teljesen védett **131-es** donorral, NIS/TfOH promoter rendszert használva száraz CH₂Cl₂-ben. A

reakcióban a várt védett diszacharid (**185**) kiváló sztereoselektivitással, de csak mérsékelt kitermeléssel (48%) keletkezett, a savérzékeny BDA-acetál védőcsoportnak a glikozilezés során történő részleges lehasadása miatt. A hozam növelése érdekében a reakciót *szim*-kollidin jelenlétében is megismételtük, hogy megakadályozzuk a savérzékeny BDA-acetál hasadását, továbbá a TfOH savat is lecseréltük a kevésbé agresszív AgOTf-ra. Ebben az esetben a **185**-ös diszacharidot magas, 70%-os hozammal állítottuk elő. A nem-redukáló végi C-4-es pozícióban lévő NAP-csoport DDQ-val történő eltávolítása eredményezte a **173**-as származékot, amelynek egy részét akceptorként használtuk a triszacharid származékok szintéziséhez. A **173**-as vegyület védőcsoportjainak átalakítása magában foglalta a BDA-csoportok trifluor-ecetsavval (TFA) történő hidrolízisét és a szulfonsav-csoportok etil-észter-csoportjának NaI-dal történő hasítását. Végül az **186**-os származék szabad hidroxil csoportjait $\text{SO}_3 \cdot \text{Et}_3\text{N}$ reagenssel szulfatáltuk száraz DMF-ban, így jutottunk el a teljesen szulfatált **187**-es diszacharid származékhoz.

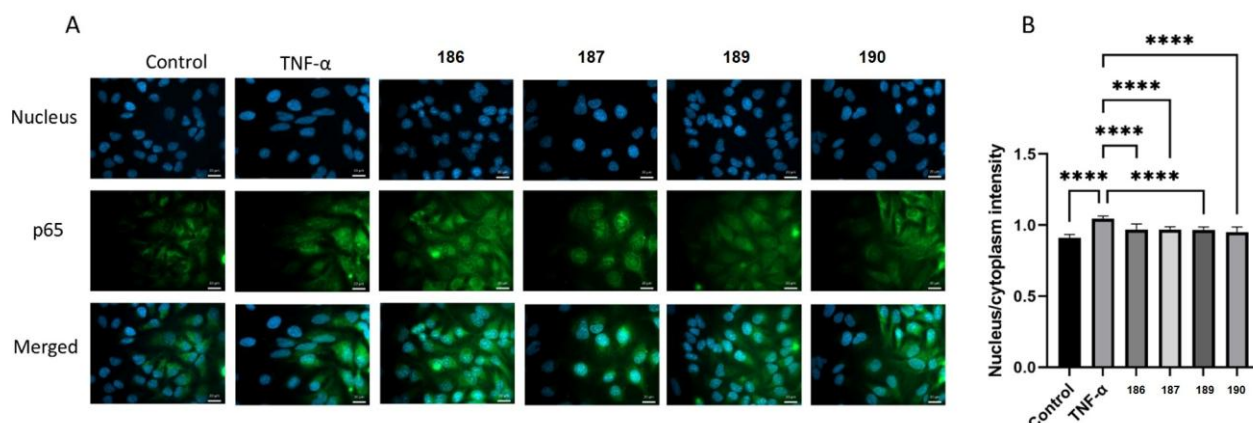


38. ábra: A szulfonsav tartalmú maltooligomerek lépésenkénti szintézise

A **188**-as triszacharidot a védett diszacharid szintézisével analóg módon állítottuk elő az **131**-es és a **173**-as származékok kapcsolásával NIS/AgOTf aktiválása mellett *szim*-kollidin jelenlétében. A továbbiakban a védőcsoportokat három lépésben távolítottuk el. Elsőként a NAP-védőcsoport-

eltávolítását (**174**), majd a BDA-acetátok savas hidrolízisét végül a szulfonsav-észterek eltávolítását valósítottuk meg (**189**). A **189**-es vegyület $\text{SO}_3\cdot\text{Et}_3\text{N}$ -nel való szulfatálása jó hozammal eredményezte a **190**-es perszulfatált triszacharid szulfonsavat.

Az így előállított di- és triszacharid szulfonsav-származékoknak, mind a szabad hidroxil csoportokat (**186** és **189**) tartalmazó molekuláknak, mind a perszulfatált vegyületeknek (**187** és **190**) vizsgáltuk a lehetséges biológiai aktivitásait. Vizsgáltuk a molekulák sejtnövekedés-gátló, gyulladáscsökkentő és vírusellenes hatását. Korábban már kimutatták, hogy a heparin és a heparán-szulfát származékok képesek megakadályozni a SARS-CoV-2 kötődését az emberi sejtekhez, és gátolják a különböző SARS-CoV-2 törzsek sejtekbe való bejutását.^{149–151} Ebből kiindulva feltételeztük, hogy a mi szulfatált-maltooligomereink is hatékonyak lehetnek ezen vírusok ellen. A vegyületek SARS-CoV-2 elleni hatását Vero E6 sejtekben teszteltük, sajnos azonban egyik oligoszacharid sem mutatott aktivitást a vizsgált törzzsel szemben. Emellett a molekulák dóziszfüggő citotoxicitást mutattak a hCMEC/D3, Caco-2, HeLa, H9c2 és MCF-7 sejteken, azonban az IC_{50} értékek minden esetben magasabbak voltak, mint $50\text{ }\mu\text{M}$.



39. ábra: Az NF- κ B gyulladásos út gátlása HeLa sejtekben **186**, **187**, **189** és **190** vegyület 30 perces előkezelésével $5\text{ }\mu\text{M}$ végső koncentrációban. (A) Az NF- κ B p65 alegységét monoklonális antitesttel (zöld) jelöltük. A p65 alegység a kontroll sejtekben a citoplazmában lokalizálódik, azonban a TNF- α gyulladásos stimulációja után a sejtmagba (kék) transzlokálódik. (B) A **186**-os, **187**-es, **189**-es és **190**-es vegyületek szignifikánsan csökkentették ($p<0,0001$) a p65 alegység transzlokációját a sejtmagba, ami potenciális gyulladáscsökkentő hatást jelez a pozitív kontroll TNF- α -val kezelt sejtekhez képest, de nem érték el a kontroll stimulálatlan szintjét. Átlag $\pm$ S.D. értékeket mutatunk be, $n=10$ sejtet elemeztünk/csoport. **** $p<0,0001$.

Tovább vizsgálva vegyületeinket, kiderült, hogy potenciális gyulladásgátló hatást mutatnak HeLa sejteken (**39. ábra**). A HeLa sejtek 30 perces előkezelése származékainkkal $5\text{ }\mu\text{M}$ végső koncentrációban szignifikánsan csökkentette ($p<0,0001$) az NF- κ B p65 alegységének

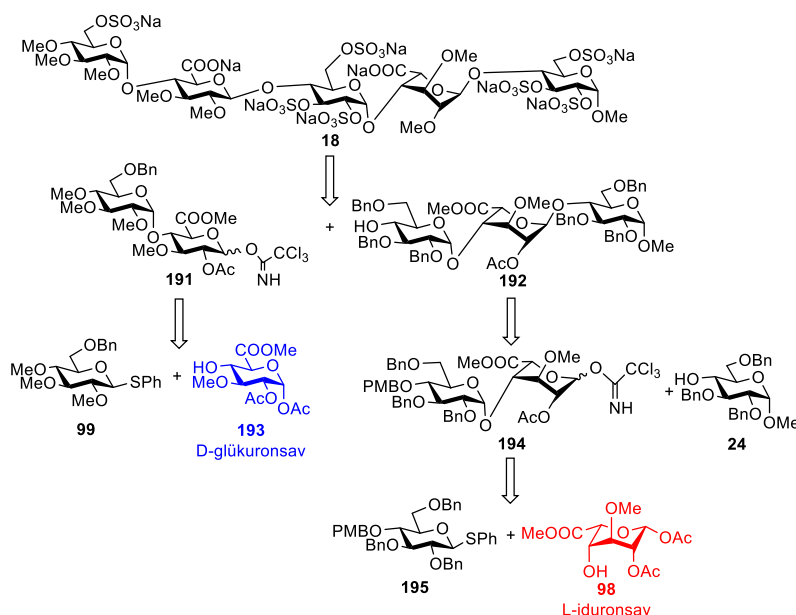
tumornekrózis faktor alfa-indukált (TNF- α) transzlokációját a citoplazmából a sejtmagban, gátolva ennek a fő gyulladásos útnak az aktiválódását.

3.2. Az idraparinux szintézise

3.2.1. Az idraparinux szintézisének optimalizálása I.

A heparin-analóg oligoszacharidok szintézisének területén végzett kutatásaink során komoly fejtörést okozott számunkra, hogy melyik molekulát válasszuk referenciának, mivel ezeket a származékokat nem olyan egyszerű a szükséges mennyiségben beszerezni, és a szintézisük is roppant bonyolult. Választásunk a „legegyszerűbben előállítható” idraparinuxra esett. Ezért ezen vegyület néhány száz mg-os mennyiségben történő előállítására az évek során, több reakcióutat is kidolgoztunk. A szintézisek legsarkalatosabb pontja az uronsavakkal (D-glükuronsav, L-iduronsav) való munka volt.

Az idraparinux O-szulfatált és O-metilezett glükóz és teljesen O-metilezett uronsavak egységekből épül fel, amelyek váltakozó 1,2-cisz és 1,2-transz glikozidos kötésekkel kapcsolódnak egymáshoz. Az első reakcióúton (**40. ábra**), amit kidolgoztunk, már monoszacharid szinten kialakítottuk mindkét vegyület (**98**, **193**) karboxil részét.¹⁵²

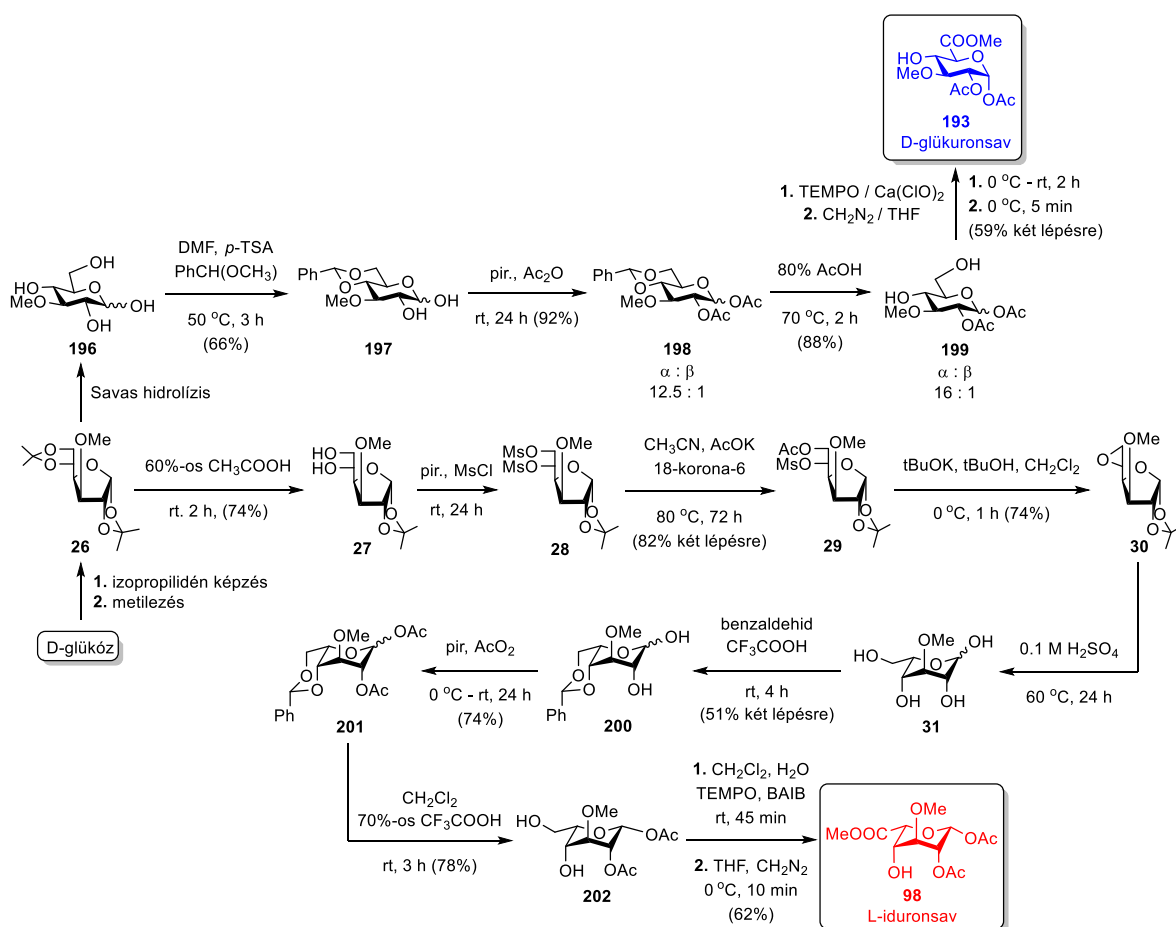


40. ábra: Az idraparinux első szintézisének retroszintetikus terve (PMB = 4-metoxibenzil)

A végtermékben metil csoportokat hordozó hidroxilokat acetátok formájában védtük, és benzil csoportokkal maszkíroztuk a szulfatálni kívánt -OH-kat. Bízunk abban, hogy ez a védőcsoport-stratégia biztosítani fogja számunkra a megfelelő sztereokontrollt a glikozilezési lépésekben. A **40. ábrán** látható retroszintetikus terv szerint a védett pentaszacharidot a **191**-es diszacharid donor és a **192**-es triszacharid akceptor kapcsolásával terveztük előállítani. Ehhez a

védett diszacharid donort a **193**-as uronsav akceptornak a **99**-es monoszacharid donorral való glikozilezésével terveztük szintetizálni irodalmi példák alapján. Az L-iduronsav tartalmú triszacharid előállítását, az **F** és **G** egységek közötti nagyobb kihívást jelentő 1,2-cisz kötés kialakításával terveztük kezdeni. Ehhez szükségünk volt a **195**-ös védett tioglikozid donorra és a **98**-as iduronsav akceptorra. A legnagyobb kihívást jelentő **98**-as származék szintéziséhez részben követtük az irodalmi példákat, részben pedig próbáltunk újításokat bevezetni.

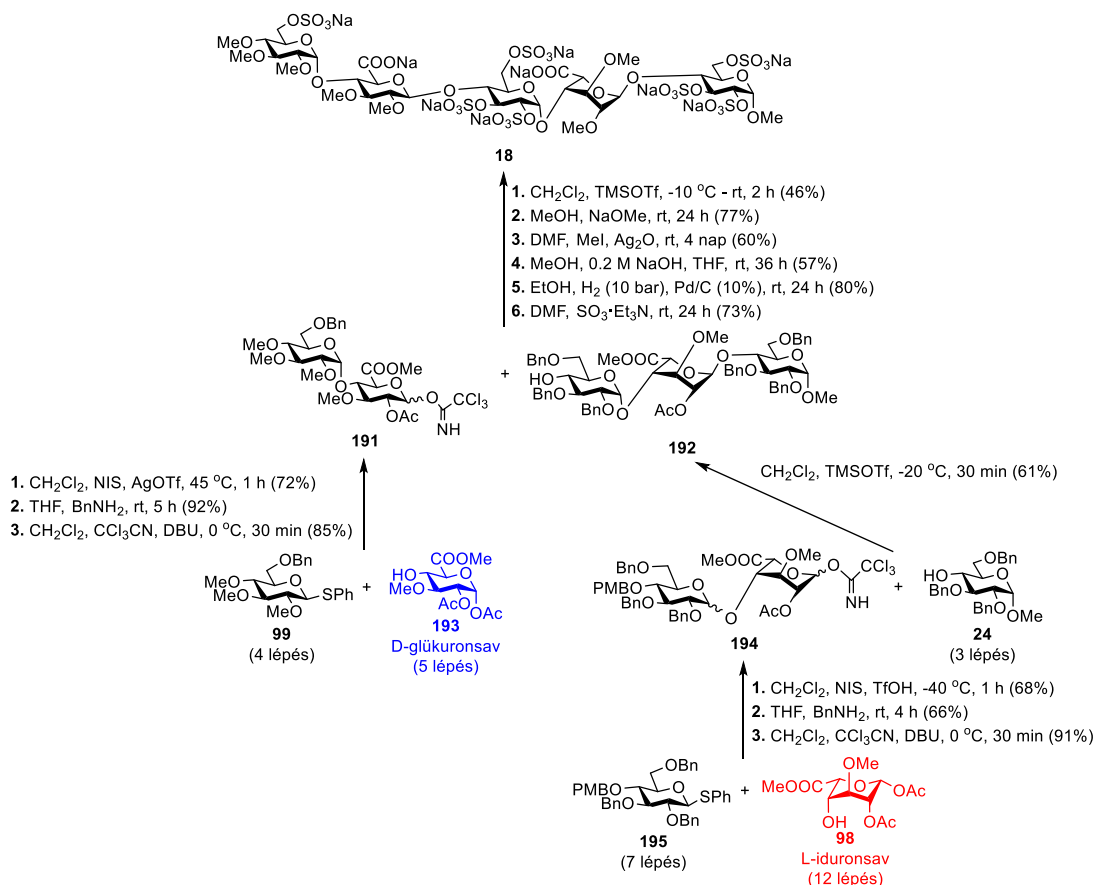
A monoszacharid egységek szintézisét metil- α -D-glükopiranozidból és D-glükózból kiindulva valósítottuk meg. A legproblematicusabb és egyben legrosszabb hozamú része az előállításnak a **98**-as iduronsav akceptor szintézise volt (**41. ábra**, 12 lépés, összhozam kevesebb, mint 20%).



41. ábra: Az uronsav építőelemek szintézise

Az így előállított származékokból történő glikozilezés során a C-2-helyzetben nem-résztvevő csoportot hordozó D-glükopiranozid donor (**195**) és az L-iduronsav akceptor (**98**) kondenzációja jó sztereoszelektivitással ment végbe, és nagyobb részt a várt α -kapcsolt diszacharidot eredményezte, a reakcióban a diszacharid $\alpha : \beta = 3 : 1$ arányú keverékként képződött (**42. ábra**). Azonban a képződött diasztereomereket sajnos nem sikerült elválasztani egymástól. Abban a reményben, hogy a két izomer triszacharid szinten szétválasztható lesz, a következő átalakításokat a α/β -anomer keverékkel hajtottuk végre. Az anomer pozíció szelektív dezacetilezése benzil-aminnal, majd az

imidát kialakítása triklór-acetonitrillel 1,8-diazabiciklo[5.4.0]undec-7-én (DBU) jelenlétében zökkenőmentesen zajlott. Az anomer keverék donor (**194**) és a **24**-es glükozid akceptor TMSOTf jelenlétében sztereoszelektív módon szolgáltatva a várt α -glikozidos kötést a **G** és **H** egységek között. Szerencsére a korábbi anomer keverék oszlopkromatográfiásan szétválasztható volt, a kívánt **FGH** α,α -kötést tartalmazó triszacharidot jó hozammal tudtuk izolálni a reakcióelegyből. Továbbá a glikozilezés során alkalmazott enyhén savas körülmények között bekövetkező *p*-metoxi-benzil-védőcsoport hasadásának kedvező mellékreakciója miatt a **192**-es vegyületet közvetlenül, további glikozilezésre alkalmas, akceptorként tudtuk izolálni a kapcsolási reakcióból.



42. ábra: Az idraparin I. szintézise uronsav építőelemek alkalmazásával (PMB = 4-metoxibenzil)

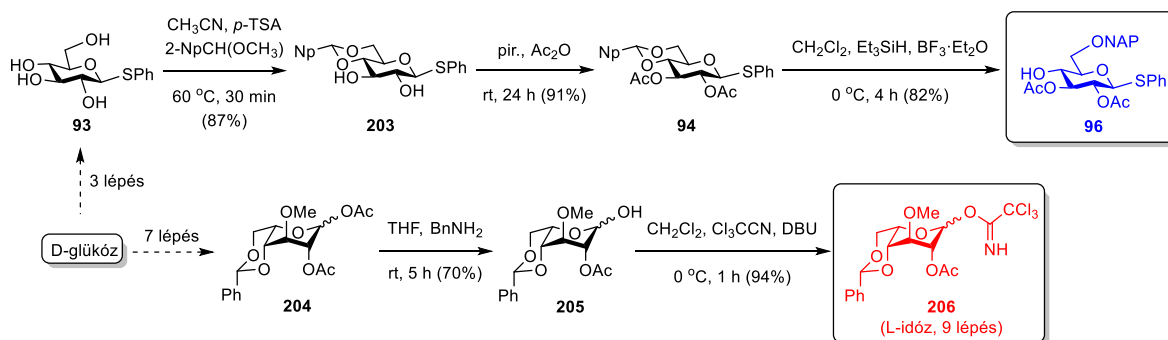
Sajnos azonban az uronsav-metil észtert tartalmazó **191**-es donor és a **192**-es triszacharid akceptor kapcsolása TMSOTf aktiválás mellett csak 46%-os kitermeléssel eredményezte a kívánt védett pentaszacharidot. Ezt követően ezt a teljesen védett származékot Zemplén-dezacetilezésnek vetettük alá, hogy felszabadítsuk a metilezendő hidroxilokat. Az így felszabadított -OH-kat pedig metileztük, az uronsavak 4,5-eliminációját elkerülendő, enyhe körülmények között, Ag_2O és MeI reagensek jelenlétében. A karbonsav-észter-funkciók metil-észter védőcsoportjainak elszappanosítással történő eltávolítása a pentaszacharid dinátriumsóját eredményezte, majd katalitikus hidrogénezéssel eltávolítottuk szulfatálendő hidroxil csoportokról a benzil védőcsoportokat. A felszabadult hét pozícióban egyidejű O-szulfatálást hajtottunk végre egy

lépésben a már korábban is látott $\text{SO}_3 \cdot \text{Et}_3\text{N}$ reagens alkalmazásával, végül Dowex Na^+ ioncserélő gyantával végzett kezelés után sikeresen előállítottuk a **18**-as célvegyületet, sajnos azonban csak alacsony összhozammal.

A szintézis során problémát jelentett az uronsav-metilészterek használata a glikozilezési reakciókban a csökkent reaktivitásuk miatt, továbbá a metilezési reakcióban, az uronsavak lehetséges C-5 eliminációja miatt. A teljes szintézis végül ugyan, nem csekély, 44 lépést vett igénybe, de sikeresen szintetizáltuk az idraparinuxot, hogy referencia vegyületként tudjuk használni a biológiai és a szénhidrát-antitrombin kölcsönhatás-vizsgálatok során.¹⁵²

3.2.2. Az idraparinux szintézisének optimalizálása II.

Mivel azonban a felmerülő nehézségek miatt ezen az úton csak csekély mennyiségben sikerült szintetizálnunk a várt pentaszacharidot, kidolgoztunk egy újabb és rövidebb reakciútat. Igyekeztünk kiküszöbölni az előző szintézis kritikus lépéseit, így a védett di- és triszacharidokat uronsav prekursor egységek (**96**, **206**) használatával állítottuk elő. Mindkét prekuzort irodalmi példák alapján építettük fel (**43. ábra**).^{121,133,136}

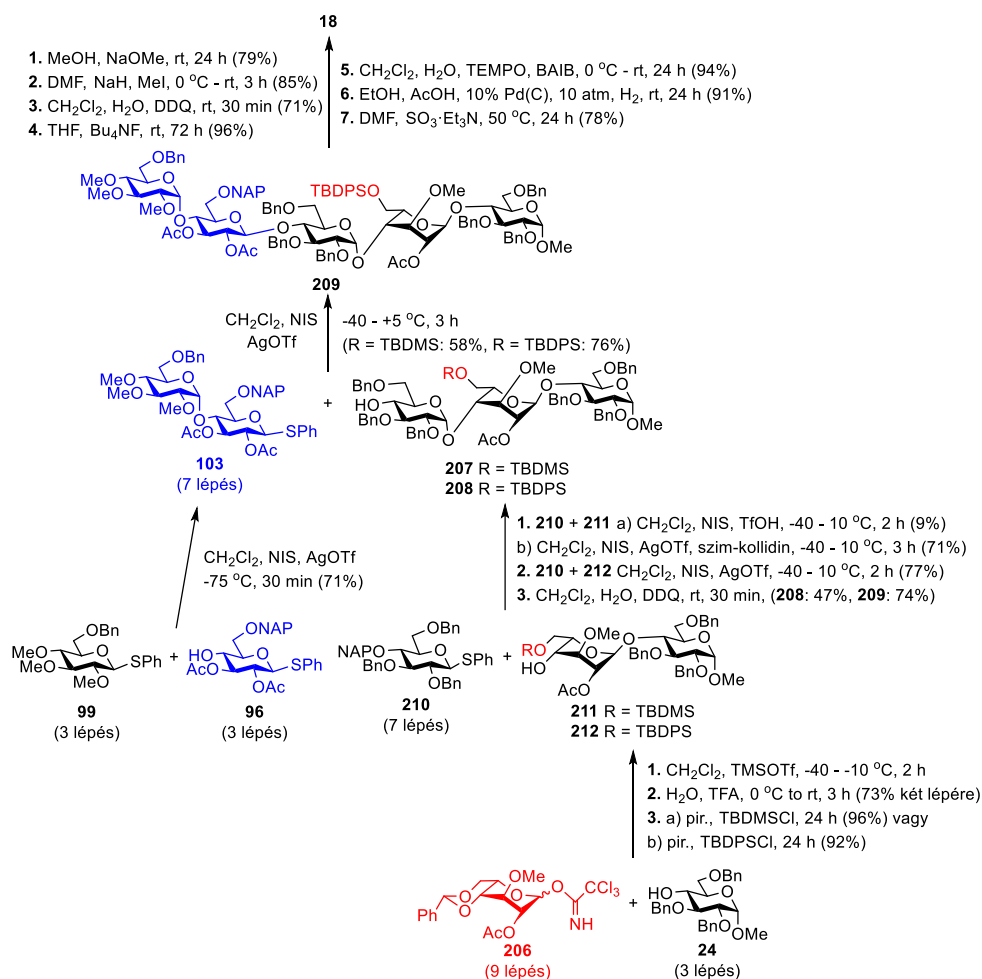


43. ábra: Az új uronsav prekursor építőelemek szintézise

Ebben az esetben tehát az idraparinux (**18**) előállításához szükséges védett pentaszacharid [2+3]-as blokk szintézisét az L-iduronsav nem oxidált prekuzorát (**206**) tartalmazó **FGH** triszacharid akceptor (**29**) és a D-glükuronsav nem oxidált prekuzorát (**96**) tartalmazó **DE** diszacharid donor (**30**) kapcsolásával terveztük megvalósítani. Továbbá az **FGH** triszacharidot is más kapcsolási sorrenddel terveztük felépíteni. Az alkalmazott védőcsoport-stratégia, mely biztosította számunkra a szükséges sztereokontrollt a glikozilezési lépésekben, az előző szintézis során is használt mintát követte.

Az **FGH** triszacharid egység szintéziséhez használt L-idopiranozil donort (**206**) irodalmi példák alapján állítottuk elő (**44. ábra**).^{121,136} A **24**-es akceptor **206**-os donorral történő glikozilezése TMSOTf promotor jelenlétében, majd a benzilidén-acetál savas hidrolízise jó kitermeléssel (73% két lépésre) szolgáltatva a várt diszacharid-diolt. Az L-idóz rész, pentaszacharid

szinten, oxidálni kívánt primer hidroxil csoportjának védelmére egy szilil-étert választottunk, mert ortogonálisan eltávolítható mind az acetil-, mind a benzil-védőcsoportok mellől.¹⁵³ Ehhez a primer pozícióba *tert*-butil-dimetil-szilil-csoportot (TBDMS) alakítottunk ki, kiváló, 96%-os hozammal (211).



44. ábra: Az idraparinuric szintézise uronsav-prekurzorok pentaszacharid-szinten végzett oxidációjával (NAP = 2-naftilmetil)

A teljesen védett **210**-es tioglükozidot, amely glikozil-donorként szolgált az **FGH** triszacharid akceptor szintéziséhez, 7 lépésben szintetizáltuk D-glükózból kiindulva. Meglepő módon a TBDMS csoportot tartalmazó akceptor (**211**) glikozilezése a **210**-es donorral NIS/TfOH promoter együttes jelenlétében (**44. ábra**, 1. a) reakció) rengeteg melléktermék képződését eredményezte. A várt védett triszacharidot csak 9%-os hozammal tudtuk izolálni a kapcsolási reakcióból. A glikozilezési reakció mellett az L-idóz egység TBDMS csoportjának hasadása és további mellékreakciók is lejátszódtak. A kapcsolási reakció savas katalizátora által közvetített TBDMS-csoport elvesztésének elkerülése érdekében ezt a glikozilezést ismét elvégeztük *szim*-kollidin jelenlétében is (**44. ábra**, 1. b) reakció). A gátolt bázis pufferhatása miatt a mellékreakciók visszaszorultak, és a glikozilezési reakció 71%-os hozammal szolgáltatta a teljesen védett triszacharidot. A fentebb említett

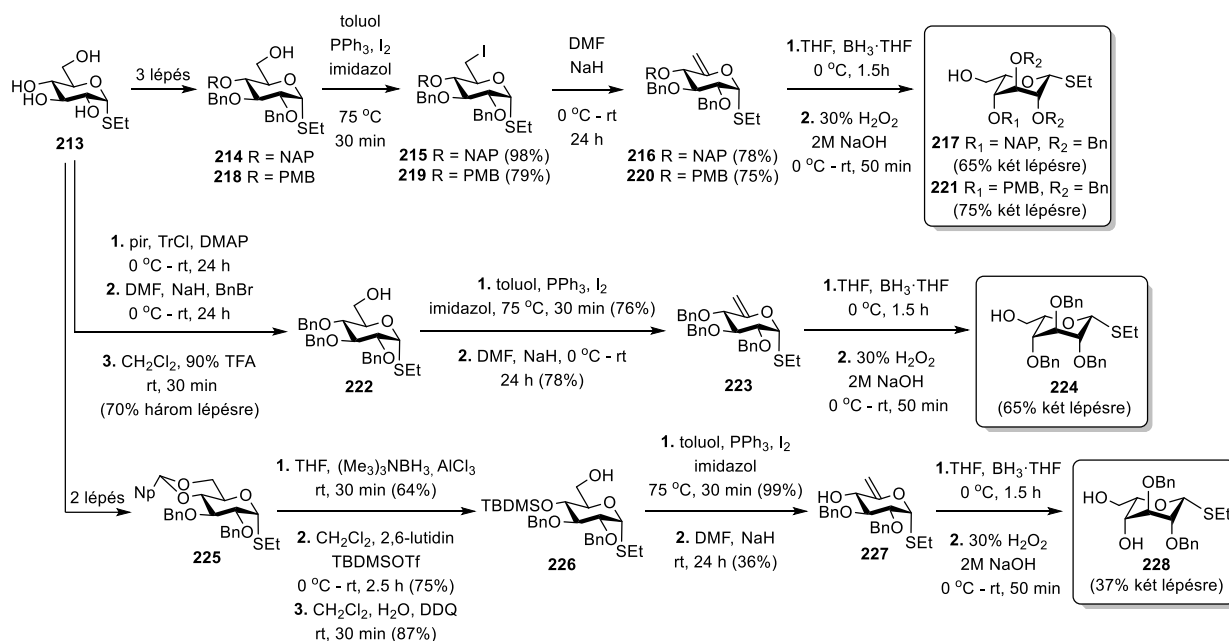
glikozilezési reakció sikere ellenére úgy döntöttünk, hogy az **FGH** triszacharid építőelem szintézisét úgy is végrehajtjuk, hogy a TBDMS részt *terc*-butil-difenilszilil (TBDPS) védőcsoportra cseréljük. A TBDPS két nagyságrenddel nagyobb stabilitású savas körülmények között, mint a TBDMS,¹⁵³ így arra számítottunk, hogy ez a nagyobb stabilitás magasabb glikozilezési hatékonyságot eredményezhet a szintézise során. Ehhez a már korábban előállított diszacharid-diolt piridinben TBDPS-kloriddal kezeltük, előállítva így a **212**-es akceptort TBDPS csoporttal védve. Ezt az akceptort használva a glikozilezés során a várt védett triszacharid 77%-os kitermeléssel képződött (**44. ábra**, 2. reakció). Ezt követően a védett triszacharidokról oxidatív körülmények között eltávolítva a NAP étert alakítottuk glikozilezésre alkalmas akceptorokká (**207**, **208**). Ezután a csoportunkban már korábban előállított **103**-as¹³³ tioglükózid diszacharid donorról glikozileztük a **207**-es és a **208**-es triszacharid akceptorokat NIS/AgOTf aktiválás mellett. Ahogyan azt vártuk, szignifikánsan magasabb hozamot értünk el a TBDPS-védett **208**-es triszachariddal (76%), mint a **207**-as TBDMS-védett származékkal (58%).

Az idraparinux további szintézisét a TBDPS védett pentaszachariddal folytattuk (**209**), mivel ebből a származékból volt elegendő mennyiségben a kezünkben a hátralévő átalakulásokhoz. Először Zemplén-dezacetilezéssel eltávolítottuk az acetyl védőcsoportokat az uronsav-prekurzor egységekről, előállítva így egy triolt. Az így felszabaduló hidroxil csoportok metilezését már a standard alkilezési körülmények között tudtuk elvégezni MeI és NaH reagens alkalmazásával, a reakcióban 85%-os hozammal képződött a várt metilezett származék. Érdekes megemlíteni, hogy az idraparinux korábban bemutatott szintézisében a pentaszacharid szinten történő metilezési lépést uronsavak jelenlétében hajtottuk végre és ebben az esetben a bázisérzékeny uronsavak jelenléte miatt ezüst(I)-oxiddal segített metilezést végeztünk, amely hosszú, két napos reakcióidőt igényelt, és közepes hatékonysággal, csak 51%-os hozammal tudtuk előállítani a kívánt terméket. Ehhez képest, ezen az új útvonalon, az uronsav prekurzorokat tartalmazó pentaszacharid esetében a reakció jóval gyorsabb (24 óra) és sokkal jobb hozamú volt. Ezt követően az oxidálandó primer hidroxil csoportokat két lépésben szabadítottuk fel, elsőként a NAP-étert távolítottuk el oxidatív körülmények között DDQ-val, majd a TBDPS-étert hasítottuk tetrabutyl-ammonium-fluorid (TBAF) reagens használatával. Mindkét védőcsoport-eltávolítási reakció jó szelektivitást mutatott, így a várt diolt 68%-os összhozammal tudtuk előállítani. A két karboxil csoportot (2,2,6,6-tetrametil-piperidin-1-il)oxil (TEMPO)-alapú oxidációval alakítottuk ki [bisz(acetoxi)jód]-benzol (BAIB) kooxidánst^{154,155} használva, eljutva így a dinátriumsóhoz. A szulfatálni kívánt hét hidroxil csoport benzil védőcsoportjait katalitikus hidrogénezéssel távolítottuk el. Ezt követően a felszabaduló hidroxil csoportokat a már korábban bemutatott körülmények között szulfatáltuk, végül az így kapott molekula Dowex Na⁺ ioncserélő gyantával végzett kezelésével jutottunk el az idraparinuxig.¹⁵⁶

Ezen stratégiának köszönhetően sikerült aktívabb donorokkal kiviteleznünk a glikozilezési reakciókat, hatékonyabbá téve az oligoszacharidok előállítását. A [2+3]-as blokk szintézis stratégiát ebben az esetben is nagyon jól lehetett alkalmazni. Az uronsav prekursorok további előnye volt, hogy a metilezési lépést az uronsav funkció kiépítése előtt végrehajtva el tudtuk kerülni a nem kívánt C-5 eliminációt. Végül pentaszacharid szinten kialakítva az uronsav részeket 39 lépésben sikeresen szintetizáltuk az idraparinuxot 100 mg-os tételben.

3.2.3. Az idraparinux szintézisének optimalizálása III.

Az eddigi eredményekből kitűnt számunkra, hogy az L-idóz egység szintézise jelenti a legnagyobb kihívást az építőelemek közül. Ezt orvosolandó sikeresen továbbfejlesztettünk egy irodalomban már régebben leírt C-5 epimerizációs módszert (5,6-telítetlen O-glikozidok hidrobórálása/oxidációja),^{111,112} melyet elsőként mi alkalmaztunk tioglükozidokon. A módszer lényege, hogy α -D-glükózidból kell indítani a szintézist, mert csak ebben az esetben biztosított a hidrobórálási lépésben a jó L-ido szelektivitás. A mi újításunk az volt, hogy α -tioglükózid származékokat használtunk kiindulási vegyületként (**45. ábra**, **214**, **218**, **222**, **226**) és így a háromlépéses (elimináció-hidrobórálás-oxidáció) C-5 epimerizáció eredményeként közvetlenül megkaptuk az aktiválható anomer csoporttal rendelkező (vagyis glikozil donorként alkalmazható) L-idóz származékokat (**217**, **221**, **224**, **228**).



45. ábra: Az L-idóz tioglükozidok új szintézise

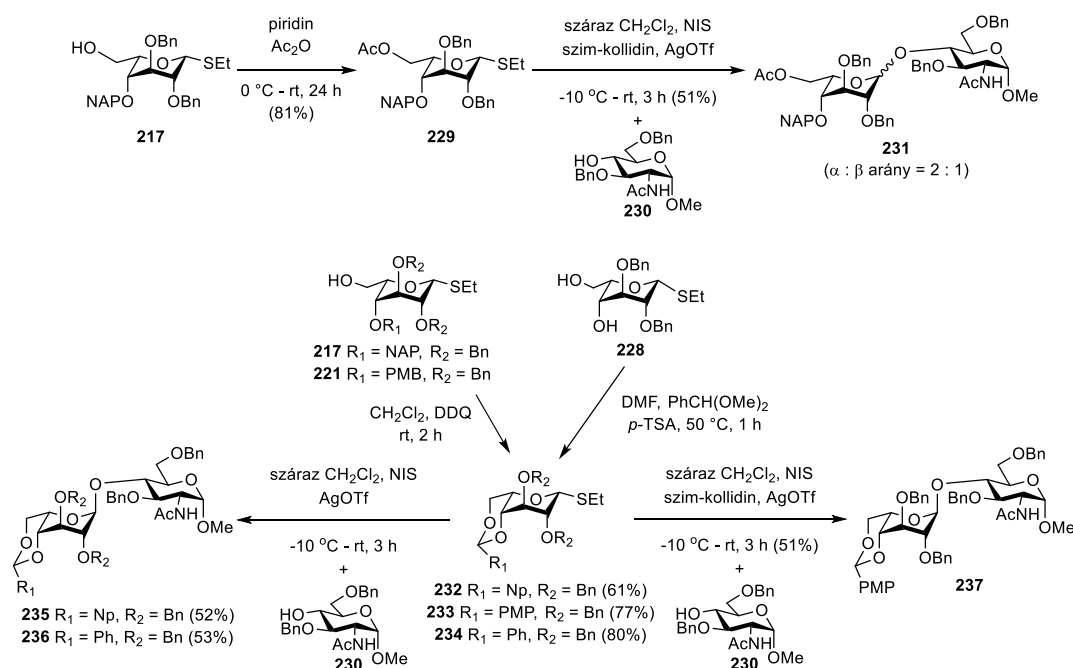
Vizsgálatainkat a benzil védett α -tioglükózidokkal kezdtük (**45. ábra**). Ehhez a **213**-as etil-1-tioglükózidot kizárólagos α -szelektivitással állítottuk elő a peracetilezett 2-hidroxi-glikál fotoindukált hidrotiolálásával,¹⁵⁷ amint azt már korábban publikáltuk. Ezt követően **213**-as vegyület

szelektív 6-*O*-tritilezésével, majd benzilezésével és ezt követő detritilezésével jutottunk el a **222**-es vegyülethez. Ezt a származékot primer helyzetben jódoztuk, hogy a hidroxil csoportot jó távozó jodiddá alakítsuk, lehetővé téve így az eliminációs reakció kivitelezését. A reakcióút egyik kulcs lépését, az 5,6-telítetlen származék előállítását a 6-*I* származékból NaH reagens használatával hajtottuk végre, átalakítva a molekulát 5-enopiranoziddá (**223**). Szintézisünk másik kulcs reakciója a C-5 epimerizációs lépés volt. Ehhez a **223**-as vegyületet egy két-lépéses, de „egy-edény” hidroborálási/oxidációs reakcióban vittük. A reakcióban jó hozammal (65%) kapta a kívánt L-idóz konfigurációjú származékot (**224**). Érdekes módon az oxidációs reakció nem bizonyult olyan tisztának, mint amilyennek vártuk, néhány poláris bomlásterméket és kis mennyiségű apoláris melléktermékeket is azonosítottunk a reakcióelegyből.

Ezután az ortogonálisan védett, glikozilezésre is alkalmazható, idozil-tioglikozidok szintézisére összpontosítottunk (**45. ábra**). Ehhez szintetizáltuk a C-4-helyzetben 2-naftil-metil-csoportot tartalmazó **214**-es¹³⁷ vegyületet, amit a **215**-ös 6-*I* származékon át a **216**-os enopiranoziddá alakítottuk NaH kiváltotta eliminációval. A **216**-os vegyület kétlépcsős C-5 izomerizációja jó hozammal (65%) adta a várt L-idóz-tioglikozidot (**217**). A C-6 jódozási (**219**) és az azt követő eliminációs reakciót (**220**) a 4-*O*-*p*-metoxi-benzil-étert védőcsoportot tartalmazó **218**-as¹³⁶ vegyülettel is elvégeztük. Örömmel tapasztaltuk, hogy a kapott **220**-as enopiranóz hidroborálási/oxidációs reakciója, jó, 75%-os kitermeléssel eredményezte a kívánt **221**-es L-idóz konfigurációjú származékot. Vizsgáltuk továbbá, hogy a C-5 epimerizációs reakció hozama javítható-e 4-OH származék alkalmazásával a hidroborálási lépésben (**45. ábra**). Ehhez a **225**-ös¹³⁷ vegyületet a **226**-os származékká alakítottuk 3 lépésben. Elsőként a 4,6-*O*-acetálgűrű redukzív nyitásával felszabadítottuk a C-4-es -OH csoportot,^{158,159} majd a felszabaduló hidroxilt átmenetileg szilil csoporttal védjük. Az így kapott származék C-6-*O*-NAP-éter védőcsoportját oxidatív hasítással eltávolítottuk, átalakítva a molekulát a **226**-os 6-OH származékká. A **226**-os vegyület jódozása, majd NaH kiváltotta I-eliminációja azonban csak alacsony, 36%-os hozammal adta a **227**-es 5,6-telítetlen deszililezett terméket. Sajnos a C-4-helyzetben szabad hidroxil csoportot tartalmazó **227**-es vegyület C-5 epimerizációs reakciója csak csekély hatékonysággal ment végbe, így a kívánt L-idóz származékot csak 37%-os hozammal tudtuk izolálni. Ebből is látható, hogy a C-4-es pozíció megfelelő védelmével jelentősen tudjuk befolyásolni az epimerizációs reakció kimenetelét.

Az előzőekben előállított **217**-es, **221**-es és **228**-as L-idozil-tioglikozidok felhasználásával megkíséreltük heparinoid diszacharidok sztereoszelektív szintézisét kivitelezni (**46. ábra**). Ehhez elsőként a **217**-es vegyületet acetileztük, és a kapott **229**-es, teljesen védett származékkal glikozileztük a **41**-es¹⁶⁰ amino-glikozid akceptort. Sajnos a kapcsolási reakció csak alacsony α -sztereoszelektivitással ment végbe, ami az α - és β -glikozidos kötésű diszacharid (**231**) kromatográfiásan elválaszthatatlan, 2:1 arányú keverékét eredményezte közepes (51%) hozammal.

A kapcsolás mérsékelt hozama az *N*-acetil-glükózamin C-4-OH csoportjának alacsony reaktivitásával volt magyarázható. Tovább vizsgálva a glikozilezési reakciókat, megpróbáltuk befolyásolni a kialakuló glikozidos kötés sztereokémiáját. Crich és munkatársai munkáiból jól ismert, hogy a donor 4,6-benzilidén-acetálja a glikozilezési reakciókban irányító hatást fejthet ki, amely lehetővé teszi a sztereoszelektív 1,2-*cisz*- β -glikozidos kötések kialakulását mannopiranoz származékoknál^{161,162} és 1,2-*cisz*- α -glikozidos kötések kialakulását glüko- és galaktopiranoz származékok esetében.^{163–166} Legjobb tudomásunk szerint azonban a 4,6-*O*-acetálcsoport irányító hatását eddig még nem használták ki sztereoszelektív 1,2-*transz*- α -glikozilezésre C-2 résztvevő csoport hiányában. Mivel az általunk előállított vegyületek a C-4 helyzetben aril-éter védőcsoportokat (NAP, PMB) tartalmaztak, kézenfekvő volt, hogy alakítsuk vissza ezeket 4,6-*O*-acetál csoporttá, védve így egyszerre mindkét hidroxilt. Ehhez a **217**-es vegyületet a megfelelő 4,6-*O*-(2-naftil)metilén-származékká alakítottuk át DDQ-val végzett oxidatív gyűrűzárási reakcióval^{167,168} (**46. ábra**), majd az így kapott teljesen védett származékkal (**232**) glikozileztük a már korábban is alkalmazott glükózamin akceptort (**230**). Nagy örömünkre a **230**-as vegyület reakciója a **232**-es donorral a **235**-ös diszacharid képződését eredményezte kizárólagos a várt α -interglikozidos kötéssel.

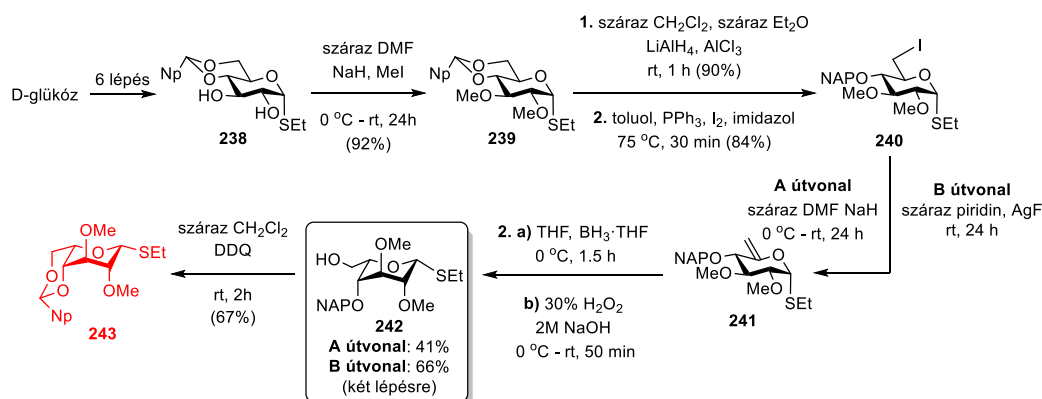


46. ábra: Az L-idóz tioglikozid donorok előállítása és a glikozilezési próbareakciók

Hasonló glikozilezési stratégiát követtünk a **221**-es és a **228**-as idozil-tioglikozidok esetében is. A **221**-es vegyület oxidatív ciklizálásával jutottunk el a **233**-as vegyülethez. A **230**-as akceptornak a **233**-as donorral való glikozilezése szintén teljes α -sztereoszelektivitást mutatott, így a **236**-os heparinoid-diszacharidot elfogadható hozammal tudtuk előállítani. Végül pedig a **228**-as

diolt benzilidéneztek, és a kapott **234**-es 4,6-*O*-acetál-származékot a **230**-as vegyülettel kapcsoltuk, a kívánt **237**-es diszacharidot ebben az esetben is kizárólagos α -sztereoszelektivitással tudtuk izolálni a reakcióelegyből.¹⁶⁹

Az új metódus hatékonyságát bizonyítandó, a továbbfejlesztett módszerrel előállítottunk egy új tioidozid donort (**243**, **47. ábra**), majd ennek felhasználásával sikeresen szintetizáltuk, az eddigi legrövidebb úton, az idraparinuxot (**18**).¹⁷⁰ Ehhez az előzőekben bemutatott útvonalat követve, a **243**-as származék előállítását D-glükózból kiindulva valósítottuk meg. A **238**-as α -tioglükozidot 6 lépésben állítottuk elő korábbi munkáink alapján,^{137,157,171} ezt követően pedig kialakítottuk a végtermék metil-éter funkciós csoportjait is a szintézis eme korai szakaszában a C-2-es és C-3-as pozíciókban, így kiváló, 92%-os hozammal kaptuk a **239**-es vegyületet. Ezt követően a 4,6-*O*-(2-naftil)-metilidén-acetál regiszelektív gyűrűnyitása LiAlH₄/AlCl₃ reagens kombinációval¹⁷² eredményezte a C-6-OH származékot kiváló, 90%-os kitermeléssel, majd a C-6-OH csoportot ezt követő jódra cseréltük egy nukleofil reakcióban (**240**), felkészítve így a molekulát az eliminációs reakcióra. Érdeemes megemlíteni, hogy az eddig bemutatott reakciósornak minden vegyületét kristályos formában tudtuk előállítani (**47. ábra**).

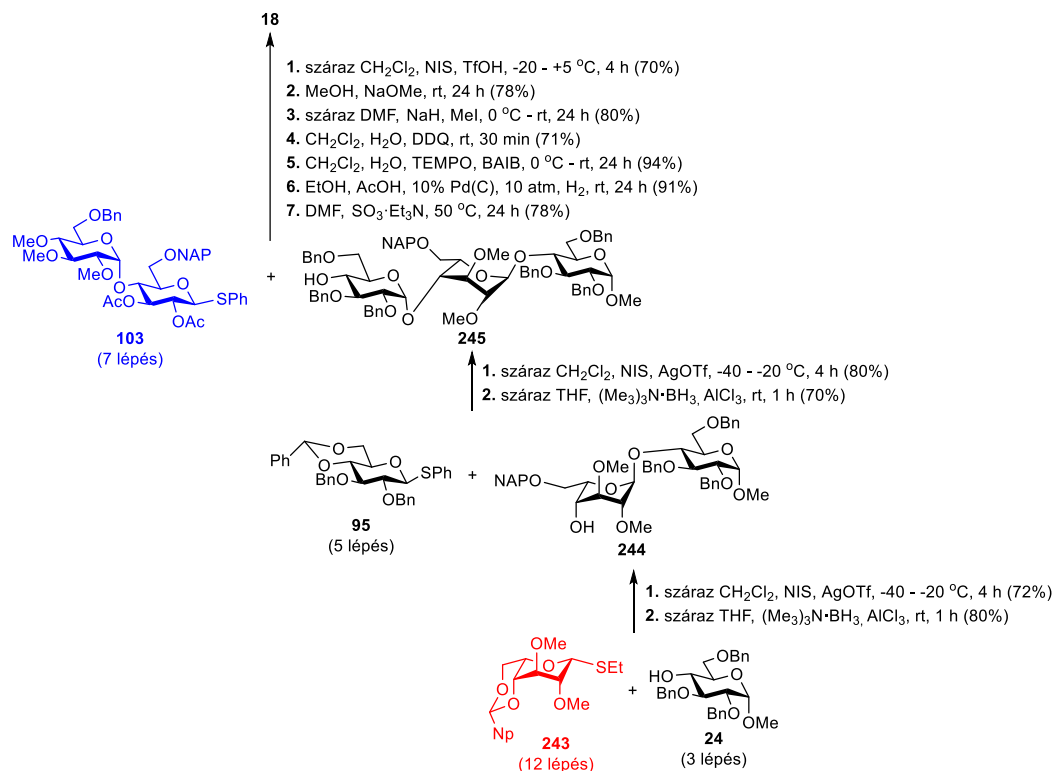


47. ábra: Az új L-idóz donor (**243**) szintézise az idraparinux előállításához

A **241**-es vegyület **242**-es L-idozid származékká történő átalakítását a már jól bevált C-5-epimerizációs módszerrel végeztük el, melyhez elsőként a NaH-kiváltotta eliminációs reakciót hajtottuk végre (**47. ábra**, **A reakcióút**). Míg ez a reakció a korábban bemutatott 2,3-di-*O*-benzil- α -tioglükozidokból kiindulva mind kiváló hozammal, mind kiváló sztereoszelektivitással ment végbe, a 2,3-di-*O*-metilezett származék NaH-del történő dehidrohalogénezése során számos melléktermék képződését figyeltük meg, ami a hidroborálási/oxidációs reakció lejátszódása után a várt L-idozid származék alacsony (41%) kitermelését okozta. Így az 5,6-telítetlen származékot (**241**) egy másik módszerrel, ezüst-fluoriddal, száraz piridinben is megpróbáltuk előállítani (**47. ábra**, **B reakcióút**). Nagy meglepetésünkre az AgF által kiváltott elimináció sokkal tisztábban szolgáltatva a 6-dezoxi- α -D-xilo-hex-5-enopiranozidot (**241**), amelyet közvetlenül hidroborálási/oxidációs reakcióba vittünk

és a várt L-idóz származékot (**242**) jó, 66%-os hozammal tudtuk előállítani. Ezután a **242**-es vegyületet a megfelelő 4,6-O-(2-naftil)-metilidén-acetál származékká alakítottuk át oxidatív gyűrűzárással DDQ reagens használatával.

Az L-tioidozid donor (**243**) előállítását követően következett a szintézis kulcslépése, a **24**-es monoszacharid akceptor glikozilezése az új, C-2-es helyzetben nem-résztevő csoportot (-OMe) tartalmazó új L-tioidozil donorral (**48. ábra**). Korábban már bizonyítottuk, hogy a 2,3-di-O-benzilidozid származékokkal glikozilezve egy GlcNAc akceptort (**230**) a kapcsolás ugyan csak közepes hozammal ment végbe, de teljes α -szelektivitást mutatott.¹⁶⁹



48. ábra: Az idraparinus (**18**) legrövidebb szintézise új, α -szelektív L-idóz glikozil donor alkalmazásával

Azonban kérdéses volt, hogy az újonnan előállított **243**-as donor képes lesz-e teljes sztereoszelektivitást biztosítani, amikor egy amino-cukornál jóval nagyobb reaktivitású akceptorral reagál. Nagy örömről számoltunk, hogy a **24**-es akceptor és a **243**-as donor kapcsolása jodóniumion-aktiválással a kívánt α -kapcsolt **GH**-diszacharidot eredményezte teljes sztereoszelektivitással és kiváló hozammal (72%), további meglepetéssel töltött el minket, hogy a képződő származékot kristályos formában tudtuk izolálni. A teljesen védett diszacharid akceptorra történő átalakítását regioszelektív gyűrűnyitási reakcióval valósítottuk meg $\text{Me}_3\text{N} \cdot \text{BH}_3/\text{AlCl}_3$ reagens kombináció használatával száraz THF-ban, így a várt 4'-OH/6'-O-éter származékot (**244**) kiváló, 80%-os kitermeléssel állítottuk elő.

A **244**-es diszacharid glikozilezése a **65-ös**¹⁷³ tioglikozid donorral NIS/AgOTf aktiválás

mellett 80%-os kitermeléssel szolgáltatva a várt α -interglikozidos kötést tartalmazó **FGH** triszacharidot, melyet a **245**-ös akceptorra alakítottuk egy újabb regioszelektív gyűrűnyitási reakcióban, szintén $\text{Me}_3\text{N}\cdot\text{BH}_3/\text{AlCl}_3$ reagens kombináció használatával. A következő lépés a [2+3]-as kapcsolási reakció volt, melyben a védett pentaszacharidot állítottuk elő a **103**-as diszacharid donor és a **245**-ös triszacharid akceptor kapcsolásával NIS/TfOH aktiválást alkalmazva. A [2+3] kapcsolási reakció jó hozammal ment végbe, a várt védett pentaszacharidot teljes β -sztereoszelektivitással, 70%-os hozammal tudtuk izolálni a reakcióelegyből. A szintézist a védett pentaszacharid átalakításával folytattuk, mely még további 7 lépést vett igénybe. Elsőként Zemplén-féle dezacetilezéssel előállítottuk a diolt. A kívánt metil-étereket a felszabaduló hidroxil csoportokra a már korábban is alkalmazott standard alkilezési módszerrel vittük be MeI és NaH reagensok használatával. Ezután az **E** és a **G** egységekben oxidálendő primer hidroxil csoportokat egy lépésben, a NAP-csoportok DDQ-nal végzett oxidatív hasításával¹⁷⁴ felszabadítottuk és az -OH-kat TEMPO/BAIB reagens együttes által kiváltott oxidációs reakcióban karboxil funkcióvá alakítottuk, a benzil-éterek katalitikus hidrogénezéssel történő eltávolítását és az O-szulfatálást a már korábban is alkalmazott módszerekkel végeztük el,¹⁵⁶ előállítva így, az eddigi legrövidebb ismert úton, 38 lépésben az idraparinuxot.¹⁷⁰

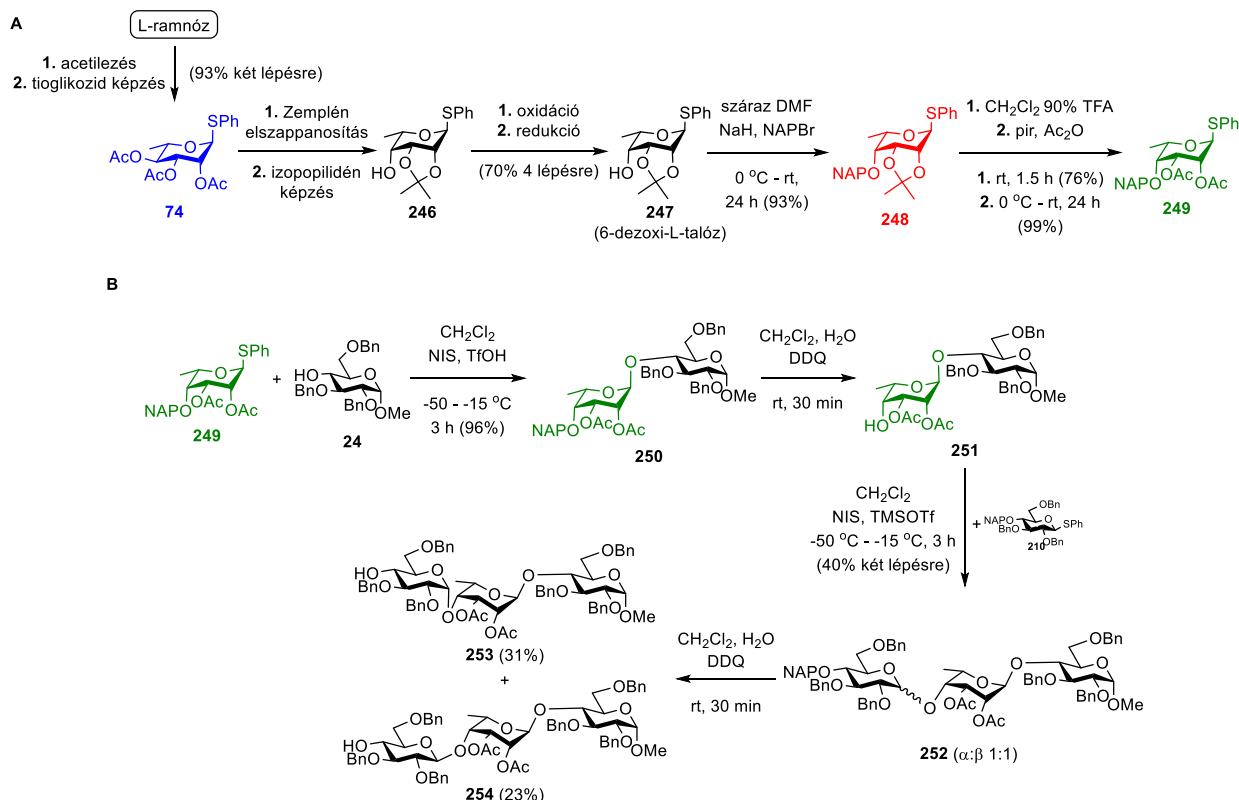
3.3. 6-Dezoxi-L-talóz tartalmú idraparinux analóg pentaszacharidok szintézise

A heparin származékok szintézisének legproblematikusabb része az L-iduronsav egység, ugyanis ez a különleges cukor szabad állapotban nem fordul elő, előállítása hosszadalmas, több mint 10 lépést igényel és általában elég alacsony a reakcióutak összhozama. Ezért ennek a szerkezeti elemnek az egyszerűsítésével igazi áttörést lehetne elérni a szintetikus véralvadásgátlók szintézisének területén. Feltételezésünk szerint az L-iduronsav helyettesítése 6-dezoxi-L-talopiranoziddal, amely rendelkezik az iduronsavra jellemző, és a biológiai hatáshoz nélkülözhetetlen szerkezeti flexibilitással, és szintézise egyszerű és hatékony, megoldhatja ezt a problémát. Ezért célul tűztük ki három (permetilezett, acetyl csoportokat vagy szabad -OH-kat tartalmazó) 6-dezoxi-L-talopiranozid tartalmú pentaszacharid előállítását, hogy vizsgálni tudjuk, hogy az L-iduronsav rész helyettesíthető-e ilyen szerkezeti elemmel.

Ehhez a már korábban is alkalmazott monoszacharid építőelemeket használtuk fel (**49. ábra, 24, 210**), valamint követtük az eddig alkalmazott szintézisstratégiák legjobb elemeit. Az első 6-dezoxi-L-talopiranozid donort (**248**) 7 lépésben fel tudtuk építeni, ami valóban jóval egyszerűbbnek és jobb hozamúnak mutatkozott, mint az L-idóz egység előállítása.

Az ortogonálisan védett 6-dezoxi-L-talopiranozil-glikozil donor (**249**) előállítását a kereskedelmi forgalomban is kapható és olcsó 6-dezoxi-L-hexózból, L-ramnózból kiindulva

végeztük (**49. ábra, A**). A kiindulási L-ramnóz peracetilezése és tioglikozilezése után kaptuk a **74**-es származékot, melyet további két lépésben alakítottunk tovább a **246**-os C-4-OH származékká. Ezt a vegyületet a jól bevált C-4 epimerizációs módszerrel, oxidációval, majd a megfelelő 2,3-O-acetál-ramnóz származék sztereoszelektív redukciójával alakítottunk át az L-*talo*-konfigurációjú **247**-es vegyületté.^{113,175,176} Ezt követően a C-4-OH-t (2-naftil)metil-éter csoporttal védjük (**248**). Végül az izopropilidén védőcsoport savas hidrolízisével, majd a szabad -OH-k acetilezésével jutottunk el a tervezett 6-dezoxi-L-talopiranozil donorhoz (**249**), amelynek C-2-es pozíciójú részt vevő csoportja képes biztosítani a kívánt 1,2-*transz*-szelektivitást a glikozilezés során.

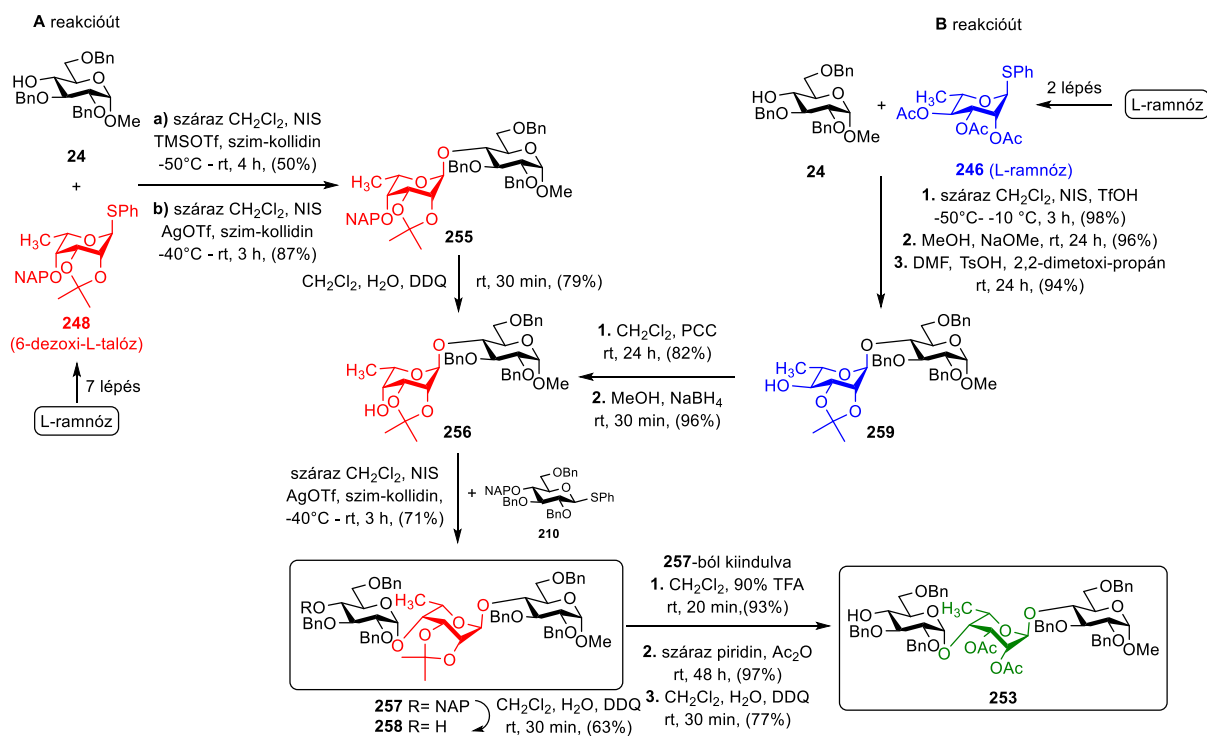


49. ábra: A 6-dezoxi-L-talóz és az L-ramnóz építőelemek előállítása (**A**) és az első FHG triszacharid akceptor első szintézise (**B**)

Ezt követően, a már korábban is használt **24**-es akceptor glikozilezése a **249**-es donorral NIS/TfOH promoter együttes használatával a várt 1,2-*transz*-α-kötésű **250**-es diszacharid képződéséhez vezetett 96%-os hozammal (**49. ábra, B**). A C-4'-O-(2-naftil)metil-(NAP)-csoport oxidatív hasítása DDQ alkalmazásával a **251**-es C-4'-OH tartalmú diszacharid akceptort eredményezte. Ezt a diszacharidot azonban csak kis mennyiségű 2',4'-di-O-acetil melléktermékkel együtt tudtuk izolálni, mivel az oszlopkromatográfiás tisztítás során nemkívánatos acetil-vándorlás történt a két pozíció között, így a továbbiakban ezzel a keverékkel dolgoztunk tovább (a **49. ábrán** csak a főterméket tüntettem fel). A **251**-es akceptor NIS/TMSOTf jelenlétében történő kapcsolása a **210**-es¹⁵⁶ donorral azonban csak mérsékelt hozammal eredményezte a várt származékot, mivel a

252-es triszacharid α - és β -kötésű 1:1 arányú keverékként képződött, melyeket sajnos nem tudtunk elválasztani egymástól. A kapcsolási reakció sztereoszelektivitásának teljes hiánya meglepő volt, mivel a **210-es** donor analóg reakciói, korábbi munkáink során, mind L-idóz,¹⁵⁶ mind L-iduronát¹³⁸ akceptorral kizárólagos α -szelektivitással mentek végbe. Az elválasztás sikerességének hiányában a következő reakciót a keverékből kiindulva hajtottuk végre. A **252-es** származék ideiglenes NAP-védőcsoportjának DDQ-val történő oxidatív hasítása után a kívánt **253-as** triszacharid akceptort végül sikeresen izoláltuk, tiszta formában, bár csak alacsony hozammal.

A mellékreakciók elkerülése és a hozam növelése érdekében az **FGH** triszacharid szintézisét az izopropilidénezett 6-dezoxi-L-talopiranozid-származék (**248**) donorként való alkalmazásával is megvalósítottuk (**50. ábra, A reakcióút**). Örömről szolgál, hogy a C-2-es pozícióban nem résztvevő csoporttal ellátott **248-as** donorral történő glikozilezés is kizárólag 1,2-*transz*-szelektivitással ment végbe, így a reakcióban a várt α -kötésű diszacharid (**255**) képződött egyetlen termékként.



50. ábra: Az **FGH** triszacharid akceptor szintézisének optimalizálása

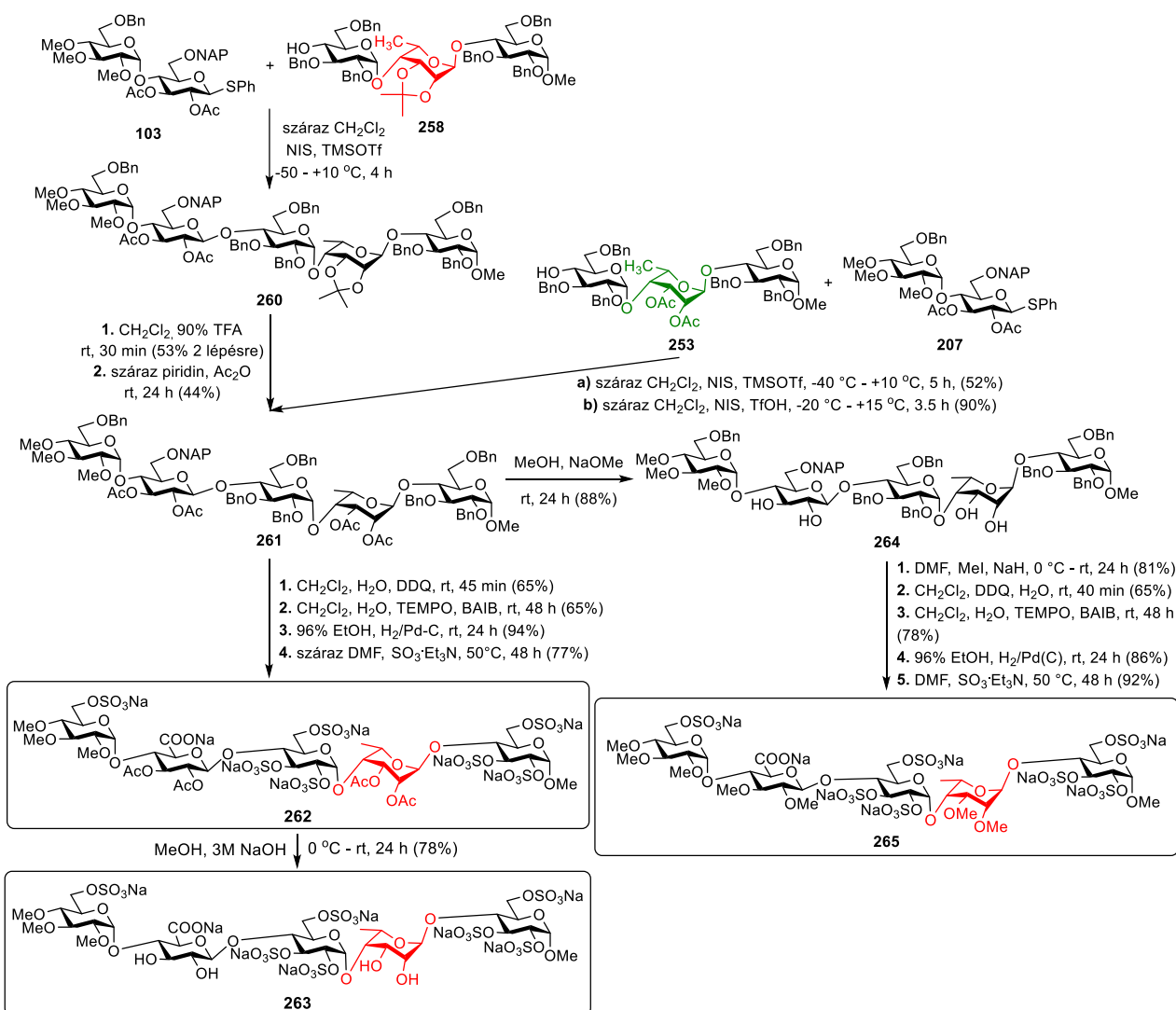
Az első reakcióban, NIS/TMSOTf promotor rendszer használatával, a **255-ös** származék hozama csak mérsékelt volt, azonban jelentősen megnőtt, ha a promotor rendszerben a Lewis-savat ezüst-triflátra (AgOTf) cseréltük. A gátolt bázis, szim-kollidin szerepe a kapcsolási reakciókban a savérzékeny izopropilidén csoport védelme volt a glikozilezés savas körülményei miatt. Ezt követően, a **255-ös** vegyület C-4'-OH-ját felszabadítottuk a NAP-csoport DDQ-val történő oxidatív hasításával és a kapott **256-os** diszacharid akceptort NIS/AgOTf promotor rendszer használatával

glikozileztük a **210**-es monoszacharid donorral. Örömteli módon a kapcsolási reakció itt már teljes α -szelektivitással ment végbe, így a várt **257**-es **FGH** triszacharidot jó hozammal tudtuk kinyerni a reakcióelegyből. Végül a C-4''-O-NAP-éter eltávolítása a terminális glükózegységről jó hozammal eredményezte a **258**-as **FGH** triszacharid akzeptort.

Bár az **FGH** triszacharid akceptor első előállításának legtöbb nehézségét a második úton a 6-dezoxi-L-talopiranozil építőelem cseréjével sikerült leküzdeni, az utóbbi eljárás összhozamával nem voltunk teljesen elégedettek. Ezért egy harmadik útvonalat is kidolgoztunk a **FGH** triszacharid előállítására, amelyben a feniltio- α -L-ramnopiranozid származékot (**246**) használtuk talóz-prekurzor építőelemként, és ennek az egységnek a C-4 epimerizációját diszacharid szinten valósítottuk meg (**50. ábra, B reakcióút**). Az L-ramnóz donor (**246**) és a már korábban is alkalmazott akceptor (**24**) kapcsolása a várt α -kötésű diszacharid kizárólagos képződésével ment végbe kiváló (98%-os) hozammal. A Zemplén-dezacetilezés és az azt követő izopropilidénezés (**259**) után a kétlépéses C-4 epimerizáció, amely piridinium-klórkromáttal (PCC) történő oxidációt, majd NaBH₄-del történő sztereoszelektív redukciót foglalt magában, kiváló hatékonysággal ment végbe, így a 6-dezoxi-L-talózt tartalmazó **256**-os diszacharidot kiváló, 71%-os összhozammal kaptuk a **259**-es vegyületből kiindulva. Ezt követően a **256**-os diszacharidot a **210**-es monoszacharid donorral glikozileztük az előző útvonalon leírtak szerint. Végül a **257**-es vegyület 2',3'-O-izopropilidén-acetál részét észter csoportokká alakítottuk, ehhez elsőként savas hidrolízissel eltávolítottuk az acetál védőcsoport, majd a kapott szabad -OH-kat acetileztük. Az így kapott származékról pedig a C-4''-O-NAP-éter oxidatív eltávolítása eredményezte a kívánt **253**-as **FGH** triszacharid akzeptort.

A védett pentaszacharidok szintézisét a **258**-as és a **253**-as triszacharid akceptorok és a nem-glükuronid típusú **DE** diszacharid donor (**103**)¹³³ kapcsolásával végeztük (**51. ábra**), ugyanis a korábban kidolgozott stratégiánk szerint a glükóz prekurzor (**E**-egység) oxidációját D-glükuronsavvá itt is pentaszacharid szinten terveztük megvalósítani. Az izopropilidén csoportot tartalmazó triszacharid akceptor (**258**) és a diszacharid donor (**103**) kapcsolása NIS/TMSOTf aktiválás mellett szolgáltatta a tervezett **260**-as védett pentaszacharidot. Ezt követően eltávolítottuk a **260**-os származék izopropilidén csoportját és az így kapott diolt acetileztünk, eljutva így az acetyl/benzil védett **261**-es pentaszacharidhoz. Ennek a védőcsoport-mintázatnak az volt az előnye, hogy a végtermékekben metilezendő vagy felszabadítandó összes hidroxil csoportot ugyanazon acetát-észter-csoportok maszkírozták, míg a szulfatálendő hidroxil csoportokat benzil-éterek formájában védtük. A 2',3'-di-O-acetilezett triszacharid akceptor (**253**) és a **DE** diszacharid donor (**103**) kondenzációja közvetlenül adta a **261**-es megfelelően védett pentaszacharidot. Míg az első kapcsolás csak mérsékelt hatékonyságot mutatott NIS/TMSOTf aktiváló rendszer használata mellett, a promoter rendszert NIS/TfOH-ra cserélve kiváló, 90%-os izolált hozammal kaptuk a **261**-es származékot.

A **262**-es és **263**-as pentaszacharid szintézisét közös útvonalon valósítottuk meg. Ehhez az első lépés az **E**-egység ideiglenes NAP-csoportjának eltávolítása volt, majd az így kapott szabad primer -OH-t oxidáltuk TEMPO/BAIB oxidáló reagensek felhasználásával^{154,155} karbonsavig, eljutva így a glükuronsav egységet tartalmazó pentaszacharidhoz (**51. ábra**). Ezután katalitikus hidrogénezéssel eltávolítottuk a benzil-éter csoportokat, majd a felszabadult hidroxilokat szulfatáltuk feleslegben vett $\text{SO}_3 \cdot \text{Et}_3\text{N}$ komplex alkalmazásával DMF-ben, végül Dowex Na^+ ioncserélő gyantával történő kezelés után a részlegesen acetilezett idraparinux-analóg végterméket (**262**) oktanátriumsó formában tudtuk izolálni. Azt követően, az acetyl csoportok 3 M vizes NaOH-oldattal történő hasítása eredményezte a második (**263**), 6-dezoxi-L-talopizanozid tartalmú, idraparinux-analóg származékot, amely szabad hidroxil csoportokat tartalmaz az **E**- és **G**-egységeken.



51. ábra: A 6-dezoxi-L-talopiranozid tartalmú védett pentaszacharidok szintézise és átalakítása

A **261**-es vegyület teljesen *O*-metilezett és *O*-szulfatált végtermékké történő átalakítását egy eltérő útvonalon valósítottuk meg (**51. ábra**). Az irodalomból és korábbi munkáinkból ismert volt,

hogy az uronsav-egységek hajlamosak a β -eliminációra az éteresítési reakció bázikus körülményei között.^{133,177} Ebből kifolyólag a glükuronsav rész oxidatív kialakítása előtt a **261**-es vegyületet Zemplén-körülmények között dezacetileztük, és a kapott tetraolt (**264**) metil-jodid és nátrium-hidrid jelenlétében metileztük. Ezt követte a NAP-védőcsoport-eltávolításával, majd az **E**-egységen felszabadult hidroxil csoport TEMPO/BAIB kiváltotta oxidációjával, kialakítottuk a molekula glükuronsav egységét. A szulfatálendő hidroxil csoportokat katalitikus hidrogénezéssel debenzileztük, végül a hét szabaddá vált hidroxil csoport egyidejű *O*-szulfatálását valósítottuk meg $\text{SO}_3 \cdot \text{Et}_3\text{N}$ alkalmazásával, majd a tisztítás és Dowex Na^+ ioncserélő gyantával történő kezelés után kaptuk a **265**-ös, *O*-metilezett és *O*-szulfatált pentaszacharidot.

A végleges csoportok kialakításával végül sikeresen előállítottuk mind a három tervezett 6-dezoxi-L-talopiranozid tartalmú pentaszacharidot 32-34 lépésben.¹⁷⁸ Elvégezve a vérárvadásgátlási vizsgálatokat sajnos azonban kiderült, hogy az általunk eszközölt változtatások a gátló hatás szinte teljes elvesztéséhez vezettek (**6. táblázat**). Ez valószínűleg a kötődéshez esszenciális karboxil csoport hiányával magyarázható a **G**-egységen, valamint azzal hogy a bioaktív $^2\text{S}_\text{O}$ konformer, méréseink alapján, kisebb arányban van jelen a konformációs egyensúlyban, vélhetően az L-talóz rész kevésbé flexibilis, mint az eredeti L-iduronsav egység.¹⁷⁸

	Anti-Xa aktivitás (U/mg)
Heparin (6)	1
Idraparinux (18)	1911
Permetilezett pentaszacharid (262)	0.3
Részlegesen acetilezett pentaszacharid (263)	0.3
Részlegesen metilezett pentasaccharide (265)	0.5

6. táblázat: A heparin, a referencia vegyület idraparinux (**18**) és az előállított 6-dezoxi-L-talopiranozid tartalmú pentaszacharidok (**262**, **263** és **265**) Xa faktor gátló aktivitása

3.4. Új szintetikus út kidolgozása L-hexóz tioglikozid donorok gazdaságos előállításra

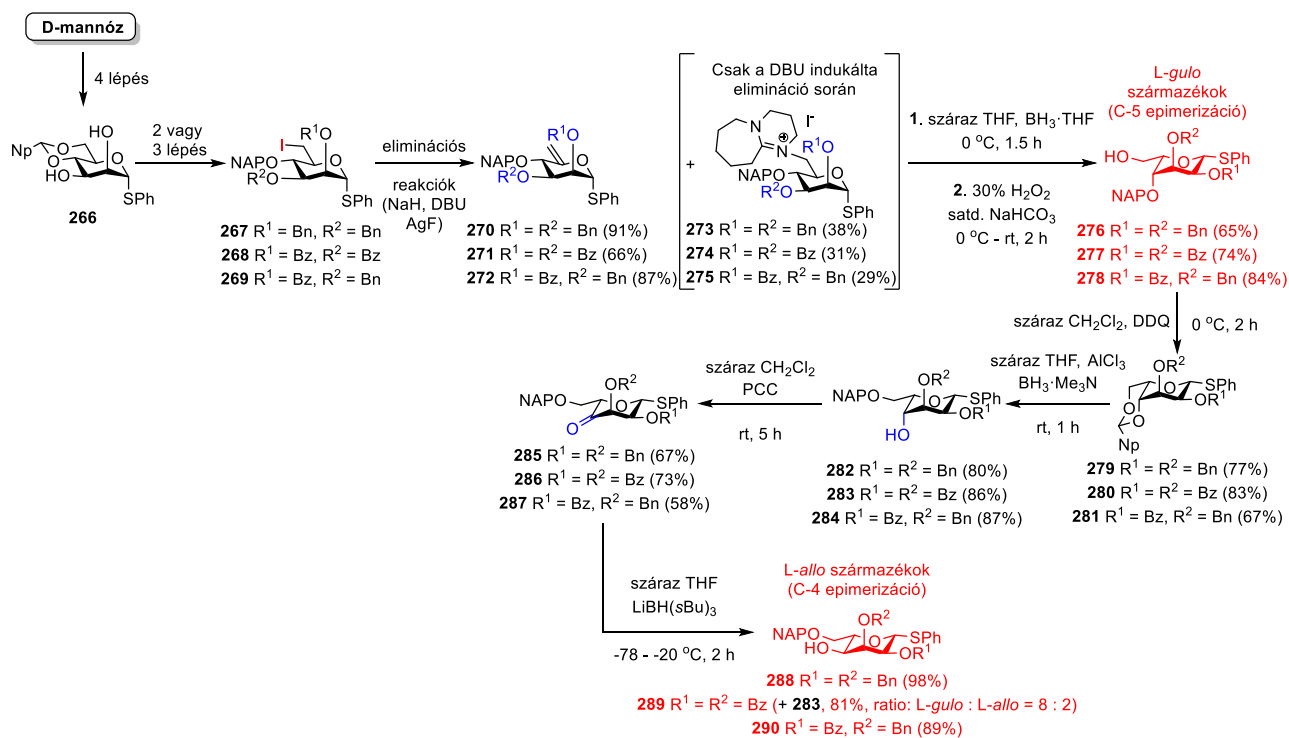
Az eddigi eredményeinkből jól látható, hogy a meglehetősen ritka, de ennek ellenére biológiailag igen széles körben elterjedt L-hexózek, valamint ezeknek megfelelő 6-dezoxi párjai fontos szerepet töltenek be a biológiailag aktív molekulák felépítésében. Az L-cukrok egy része ugyan megtalálható számos természetes forrásban, de közvetlenül nem, vagy csak nagyon költségesen izolálhatók. Szinte mindegyik típusa kereskedelmi úton elérhető, viszont a legtöbbjük

nagyon drága. Ezért kiemelkedő jelentőségű ezen származékok gazdaságos előállításának kutatása, amely a szénhidrátkémia története során mindig nagy kihívást jelentett a kémikusok számára.

Kutatásaim ezen részének célja az volt, hogy kidolgozzunk és optimalizáljunk egy új, az eddigieknél hatékonyabb reakciútut mind a 8 L-hexóz előállítására. Terveink szerint a teljes szintézis megvalósítható két kereskedelmileg könnyen hozzáférhető és olcsó D-cukorból, D-glükózból és D-mannózból kiindulva.

3.4.1. D-mannózból kiinduló szintézisek I. Az L-gulo és L-allo konfigurációjú tioglikozid donorok szintézise

Ezen kutatáson belül, vizsgáltuk az éter- és észter-védőcsoportoknak az L-hexózek előállítására gyakorolt hatását is, ennek érdekében három különböző szubsztitúciós mintázatot építettünk ki a fenil-1-tio- α -D-mannopiranozidon. Ehhez mindegyik esetben (2-naftil)metil-éttert (NAP) vittünk be a C-4 pozícióba. A C-2-, és 3-as hidroxil csoportokat ezzel szemben különböző módon maszkíroztuk, előállítottunk di-O-benzil-, di-O-benzoil- és 2-O-benzoil-3-O-benzil-védőcsoporttal ellátott származékokat (52. ábra) is.



52. ábra: Az L-gulo és L-allo konfigurációjú származékok szintézise D-mannózból kiindulva

Ehhez elsőként a fenil-1-tio- α -D-mannozid^{179,180} 4,6-O-(2-naftil)metilén-származékát (266) állítottuk elő D-mannózból kiindulva, négy lépésben, irodalmi példák alapján. A 266-os vegyület további funkcionálisálásával építettük ki a kiválasztott védőcsoportokat (benzil és benzoil), majd az acetál-gyűrűt nyitva szabadítottuk fel a primer hidroxil csoportokat. Ezt követően a primer alkoholokat trifenilfoszfín, jód és imidazol reagensek használatával alakítottuk át a tervezett 6-jód

származékokká (**267**, **268**, **269**). A szintézis egyik kulcs lépése az 5,6-telítetlen származékok előállítása volt. Ezen vegyületek előállításának optimalizálására a munka során vizsgálni kívántuk az eliminációs reakciókat a három leggyakoribb dehidrohalogénező reagenssel, NaH-del, DBU-nel és AgF-dal.

A teljesen éterrel védett **267**-es mannozid származék NaH által indukált eliminációja hozta a legjobb eredményt, a reakcióban a várt 5,6-telítetlen **270**-es vegyület kiváló, 91%-os hozammal képződött. A **267**-es vegyület DBU-val történő kezelése a kívánt **270**-es alkén-származék és a **273**-as 6-amidinium melléktermék egyidejű képződéséhez vezetett, közel 1:1 arányban. Az AgF-dal végzett HI elimináció is nagy hatékonysággal eredményezte az exociklusos alkén-származékot, azonban kis mennyiségű 6-dezoxi-6-fluor-származékot is kaptunk a **267**-es vegyületen lejátszódó egyidejű nukleofil szubsztitúciós reakció miatt.

A következő tesztelt vegyület a 2,3-di-O-benzoil-származék (**268**). A NaH-közvetítette reakcióban a teljesen védett exociklusos alkén (**271**) helyett a telítetlen 2,3-diol képződött, mivel az észter csoportok a felhasznált erősen bázikus körülmények között lehasadtak. Sajnos azonban ezen származék hozama is mindösszesen csak 17% volt, és a 3,6-anhidro származék képződött fő termékként. Ez vélhetően azzal magyarázható, hogy az észter hasítása megelőzi az eliminációs reakciót, és a képződött 6-jód-2,3-diol köztitermék inkább intramolekuláris nukleofil szubsztitúciót szenvedett el a 3-OH által, mint E2 eliminációs reakciót a NaH által. A DBU által kiváltott eliminációs reakció a várt 5,6-telítetlen **271**-es vegyületet eredményezte jó hozammal (66%). Ebben az esetben is megfigyeltük a DBU által kiváltott nukleofil szubsztitúciós reakciót, bár valamivel kisebb mértékben, mint a teljesen éterrel védett származék esetében, így a kvaterner amidinium só (**274**) csak 31%-os hozammal tudtuk izolálni. Az AgF-fel történő dehidrojódózás a várt **271**-es vegyületet eredményezte mérsékelt, 55%-os hozammal, és melléktermékként egy kétszeresen eliminált származékot is izoláltunk.

A 2-O-benzoil-3-O-benzil-védett (**269**) vegyület esetében a NaH-es elimináció során csak egy 2,6-anhidro származék keletkezett, viszont az kiváló hozammal (99%). DBU eliminációs ágens alkalmazásával a várt telítetlen vegyületet (**272**) csak mérsékelt hozammal tudtuk izolálni, azonban az amidinium melléktermék (**275**) itt is képződött egy kompetitív nukleofil szubsztitúciós reakcióban. Ennél a származéknál (**269**) az AgF által kiváltott eliminációs reakció adta a legjobb eredményt, a várt **272**-es exociklusos alként 87%-os hozammal kaptuk, és ebben az esetben egyéb melléktermék-képződést nem figyeltünk meg.

Az 5,6-telítetlen származékok sikeres előállítása után mindhárom D-mannóz származékból származó exociklusos alkénen elvégeztük a C-5 epimerizációs reakciókat (**52. ábra**). Az epimerizációs folyamat első lépése a hidrobórlás, melyet $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ komplexszel hajtottunk végre száraz THF-ben, majd ezt követte a 30%-os H_2O_2 -dal kiváltott oxidáció, végül az így kapott bórsav-

észter hidrolízisét lúgos körülmények között telített NaHCO_3 -oldattal oldottuk meg. Az L-konfigurációjú vegyületekké (**276**, **277**, **278**) történő átalakítás kiváló sztereoszelektivitással ment végbe, így a fenil-1-tio-L-gulopiranozidok jó vagy kiváló hozamokkal képződtek a reakcióban. Az alkalmazott védőcsoport-mintázatok észrevehetően befolyásolták mind a C-5 epimerizáció hozamát, mind a sztereoszelektivitását. Míg a teljesen éterrel védett **270**-es vegyülettel csak 5,4 : 1 L-*gulo* : D-*manno* arányt kaptunk, a **270**-es vegyület 2,3-benzil-csoportjainak benzoil-csoportokká történő cseréjével az L-*gulo* arány 9,3 : 1-re nőtt. A legnagyobb hozamot és a legjobb L-*gulo* szelektivitást a C-2 helyzetben benzoil csoportot tartalmazó **272**-es vegyülettel értük el. Ennek oka vélhetően a C-2 észter csoportjának a karbonil csoportjához történő borán koordináció lehet, melyen keresztül juthat a borán a molekula felső felületre, és ez segítheti elő a hidrid donációt a felső oldalról a C-5 szénatomra. A kis mennyiségben képződő, megfelelő D-*manno*-származékokat szintén izoláltuk a reakcióelegyekből, ezek ugyanis újrahasonosíthatók és három lépésben (jódozás, elimináció, C-5 epimerizáció) L-*gulo* konfigurációjú terméké alakíthatók.

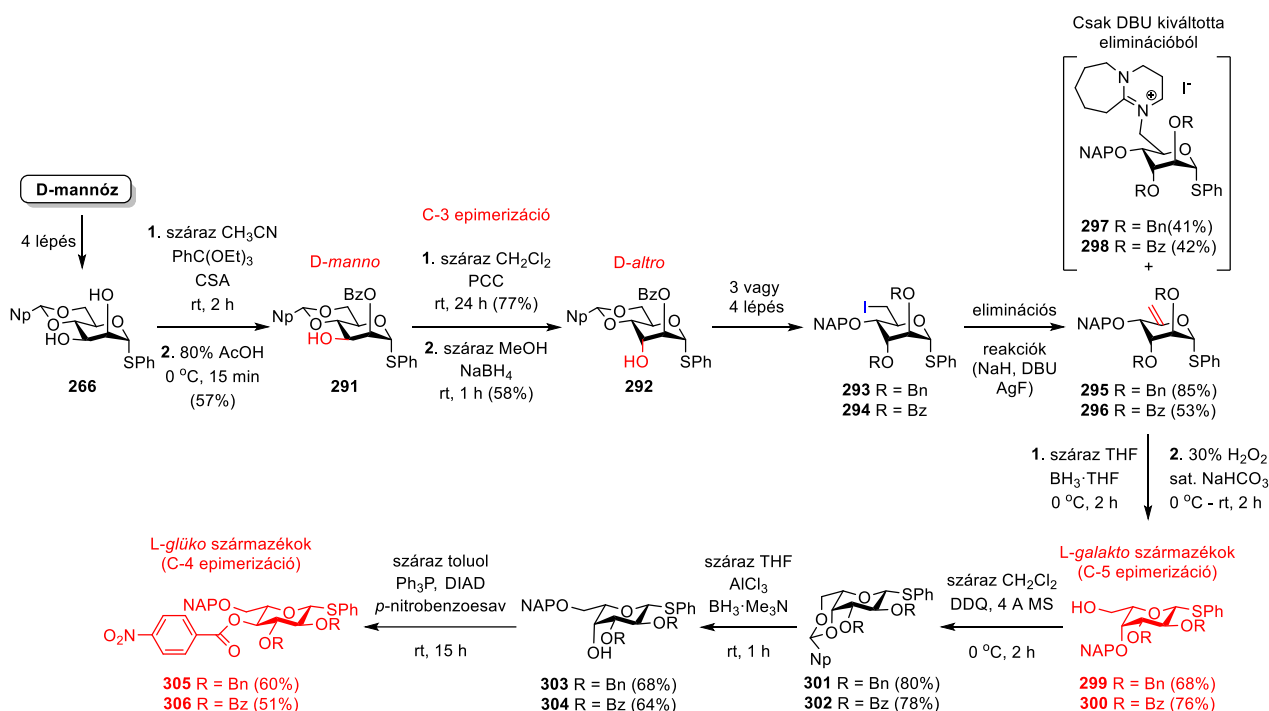
A továbbiakban az L-*gulo*-származékokat (**276**, **277**, **278**) egy oxidációs/redukciós reakció kombinációval (C-4 epimerizáció) alakítottuk át a megfelelő L-allopiranozidokká (**52. ábra**). Ehhez először a (2-naftil)metil-csoportot a C-4-es pozícióból a C-6-os pozícióba helyeztük át, melyhez elsőként DDQ-val kiváltott oxidatív acetál gyűrűzárással kialakítottuk a 4,6-O-acetál csoportot (**279**, **280**, **281**), majd redukív gyűrű-nyitást végeztünk $\text{BH}_3 \cdot \text{Me}_3\text{N}/\text{AlCl}_3$ reagens kombinációval, eljutva így a C-4-OH tartalmú vegyületekhez (**282**, **283**, **284**). A szabad hidroxil csoportok piridinium-klór-kromáttal (PCC) történő oxidációja száraz CH_2Cl_2 -ban jó hozammal eredményezte a várt 4-*keto*-származékokat (**285**, **286**, **287**). A végső redukív átalakítást L-szelektriddel végeztük el, ugyanis irodalmi példák alapján az ulozidok L-szelektriddel¹⁸¹ történő redukciója alacsony hőmérsékleten nagy szelektivitással eredményezi a *cis*z vicinális diolokat.^{113,182} A **285**-ös és **287**-es vegyületek L-szelektriddel történő redukciója valóban nagy sztereoszelektivitást mutatott, a várt ekvatoriális C-4-OH tartalmú L-allopiranozidok (**288** és **290**) kiváló hozammal képződtek a reakcióban. Azonban a 2,3-di-O-benzoil-származék (**286**) redukciója az L-*gulo* (**283**) és L-*allo* (**289**) konfigurációjú termékek elválaszthatatlan 4:1 arányú keverékét eredményezte.¹⁸³ Az epimer arányt az ^1H NMR spektrum alapján tudtuk meghatározni. A **285**-ös és **287**-es vegyületek redukációjában tapasztalt magas *allo*-szelektivitás a Cram-féle kelátmodellel magyarázható.¹⁸⁴ Jelen esetben az L-szelektridben található Li^+ koordinálódik a cukormolekula C-4-es karboniljához és a C-3-as oxigénhez, megakadályozva így a reagens támadását a molekula felső oldaláról, így a hidrid csak az alsó felületről tud támadni, szelektíven *allo*-epimereket eredményezve. A **286**-os vegyület redukációjában megfigyelt alacsony és ellentétes sztereoszelektivitás azonban meglepő volt, de az irodalmi áttekintés hasonló példákat tárt fel, amikor a szomszédos észter csoport jelenlétében végzett redukció során nem figyelték meg az előbb említett kelát képződését.^{113,185,186} A

legvalószínűbb ok az lehetett, hogy az észter csoporttal védett C-3-as oxigén nem rendelkezik kelátképző képességgel az észter csoport elektronszívó tulajdonságai miatt. Viszont ebben az esetben létrejöhet a fém C-6-O-hoz való koordinációja, ami viszont csak a molekula alsó oldalán lehetséges, lehetővé téve a hidrid támadását a felső oldalról.

3.4.2. *D-mannózból kiinduló szintézisek II. Az L-glükó és L-galakto konfigurációjú tioglikozid donorok szintézise D-altrózon keresztül*

Miután a változatosan funkcionalizált D-mannozidokat sikeresen átalakítottuk L-gulopiranozil- és L-allopiranozil-donorokká, figyelmünk az L-galakto- és L-glükó-származékok szintézise felé fordult.¹⁸³ Ezt az átalakítást D-mannózból kiindulva D-altrózon keresztül lehetséges megcsinálni. Ehhez elsőként a **266**-os mannozid származékot átalakítottuk a benzil- és benzoil funkcionáliszt **293**-as és **294**-es 6-jód-D-altróz-tioglikozidokká, amelyek már készen állnak az eliminációs próba reakciók kivitelezésére (**53. ábra**). Ehhez a **266**-os diol C-2 hidroxil csoportját szelektíven védtük egy benzoil csoporttal. A C-3-as epimerizációhoz oxidációs/sztereoselektív redukciós reakció kombinációt alkalmaztunk, kihasználva a C-2 benzoil csoport kelátképzési hiányát, ezáltal elősegítve a hidrid támadást a sztérikusán kevésbé zsúfolt β -oldalról, és biztosítva a szükséges *transz*-diolt. A **291**-es származék szabad hidroxil csoportjának PCC-vel történő oxidációja, majd a *keto* származék NaBH_4 -del történő redukciója valóban túlnyomórészt invertálta a C-3-as csoport konfigurációját, így 58%-os hozammal kaptuk a szükséges D-*altro* konfigurációjú terméket (**292**). Ezt a vegyületet két lépésben alakítottuk át a 2,3-di-O-benzilezett származékká. A **292**-es vegyületből egy dibenzoilezett származékot is előállítottunk BzCl -lal történő észteresítéssel száraz piridinben, így jó hozammal kaptuk a várt 2,3-di-O-benzoil származékot. Az így teljesen védett vegyületek C-6-OH csoportját regioszelektív redukzív gyűrűnyitási reakciókkal szabadítottuk fel és a kapott vegyületek primer hidroxil csoportját jól távozó-csoporttá alakítottuk, így kiváló hozammal kaptuk a **293**-as és **294**-es C-6-jodid származékokat.

A mannozidokhoz hasonlóan az altropiranozidok (**293** és **294**) dehidrojódózását is megvizsgáltuk három különböző reagenssel: NaH , DBU és AgF (**53. ábra**). A teljesen éterrel védett **293**-as származék NaH -dal történő eliminációs reakciójában a várt 5,6-telítetlen vegyület (**295**) kiváló hozammal képződött. Ezt az exociklusos alként kaptuk, elfogadható hozammal, a DBU-val indukált reakcióban is, azonban a DBU-val konjugált **297**-es amidiniumsót szintén izoláltuk a reakcióelegyből 41%-os hozammal. A molekula AgF -dal történő dehidrohalogénezése sokkal lassabban ment végbe, mint a D-*manno* konfigurációjú molekula esetében. Még 48 órás reakcióidő után is a telítetlen **295**-ös vegyületet csak mérsékelt 52%-os hozammal tudtuk kinyerni a reakcióból.

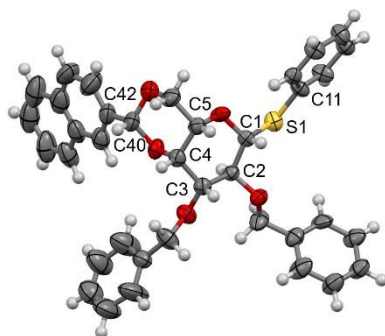


53. ábra: Az L-galakto és L-gluko konfigurációjú származékok szintézise D-altroz származékokon keresztül D-mannózból kiindulva

A 2,3-di-O-benzoilezett **294**-es származék NaH-dal történő kezelése – hasonlóan a D-mannóz esetében tapasztaltakhoz – dezacilezést, majd hidrogénjodid eliminációt és ezzel egyidejűleg egy 2,6-anhidro-altrozid képződését eredményezte a 6-jodid intramolekuláris helyettesítésével. A DBU által kiváltott reakcióban a várt **296**-os alkén képződését (50%), az előző reakciókhoz hasonlóan, egy nukleofil szubsztitúciós reakció is kísérte, amely a **298**-as kvaterner amidínium só képződéséhez vezetett. A legjobb hozamú reakció az AgF által közvetített elimináció volt, de a várt 5,6-telítetlen **296**-os vegyület így is csak mérsékelt hozammal (53%) képződött.

Az 5,6-telítetlen **295**-ös és **296**-os származékok sikeres szintézise után mindkét származékon C-5 epimerizációt végeztünk a korábban leírt hidrobórlási/oxidációs reakcióval (**53. ábra**). A várt L-galakto konfigurációjú termékek (**299**, **300**) jó hozammal képződtek a reakciókban és a megfelelő D-altro epimereket nem detektálták a reakcióelegyekben. A D-mannozid alkénekhez hasonlóan a C-5 epimerizációs reakció hatékonyabb volt az észter-védett vegyületek esetében. A korábban az L-gulozid származékokra kidolgozott epimerizációs sémát követve a kapott L-galakto származékokat (**299**, **300**) három lépésben a megfelelő L-gluko epimerekké (**305**, **306**) alakítottuk át (**53. ábra**).

Először is, mint korábban, egy DDQ-közvetített oxidatív acetál ciklizáció (**301**, **302**) és egy regioszelektív redukzív gyűrűnyitás kombinációjában a C-4-es pozícióban lévő NAP-csoportot a C-6-os pozícióba helyeztük át, felszabadítva így a C-4-OH csoportot (**303**, **304**). A 4,6-O-acetál csoportot tartalmazó, benzil védett, L-galakto származék (**301**) kristályos formában keletkezett, szerkezetét röntgendiffrakciós vizsgálattal is igazoltuk (**54. ábra**).



54. ábra: A **301**-es vegyület ORTEP nézete 40%-os valószínűségi szinten

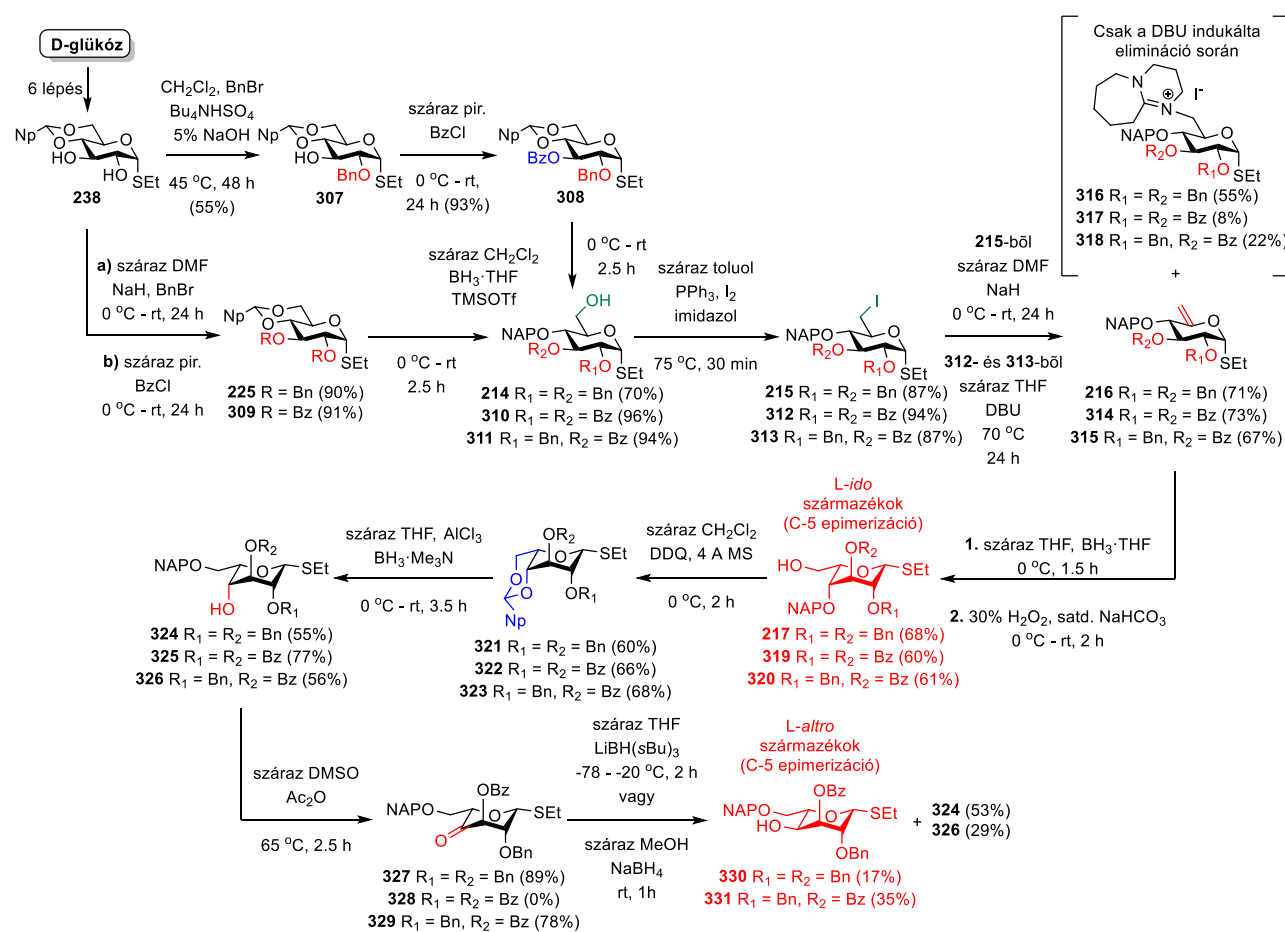
A **303**-as származék oxidációja során keletkező C-4-es *keto* csoport, a szomszédos C-3-O-benzil-csoport jelenlétében, ami kelátképző tulajdonságú, redukciója a *galakto*-epimer újra képződését eredményezné. Ebből kifolyólag az L-szelektridet nem tudtuk volna hatékonyan használni a redukció során. Ezért figyelmünk a Mitsunobu-izomerizációra, mint megfelelő módszerre irányult a kívánt *transz*-diol szerkezeti rész kialakítására.¹¹³ A C-4-OH Mitsunobu epimerizációját *p*-nitrobenzoesavval, trifenilfoszfinnal (Ph₃P) és diizopropil-azodikarboxiláttal (DIAD) végeztük el száraz toluolban. Az éterrel védett származék (**303**) esetében jó hozammal kaptuk a kívánt L-*glüko* konfigurációjú, teljesen védett származékot (**305**). A 2,3-O-benzoil-tartalmú vegyületet (**304**) azonban csak mérsékelt, 51%-os hozammal tudtuk a várt L-*glüko* konfigurációjú terméké (**306**) alakítani. Ennek oka, hogy a Mitsunobu-reakcióval párhuzamosan egy eliminációs reakció is lezajlott, melléktermékként a 4-dezoxi-4,5-telítetlen származékot eredményezve.

Ezen fejlesztésének köszönhetően, sikeresen kidolgoztunk egy hatékony szintetikus utat négy ritka L-hexóz (L-gulóz, L-galaktóz, L-allóz és L-glükóz) előállítására ortogonálisan védett tioglikozidok formájában, az olcsó D-mannózból kiindulva, a legkönnyebben elérhető vegyszereket és a lehető legköltséghatékonyabb átalakításokat alkalmazva.

3.4.3. D-glükózból kiinduló szintézisek I. Az L-ido és L-altro konfigurációjú tioglikozid donorok szintézise

A D-mannózból kiinduló szintézisekkel párhuzamosan a D-glükózból előállítható L-hexózok szintézisének lehetőségét is megvizsgáltuk.¹⁸⁷ Elméletileg D-glükózból is négy L-hexóz (L-idóz, L-altróz, L-talóz és L-mannóz) állítható elő az előzőekben már bemutatott, C-3, C-4 és C-5 epimerizációs reakciókat tartalmazó útvonalon. Elsőként a közvetlenül a glükózból előállítható epimereknek, az L-ido és az L-altro konfigurációjú tioglikozidoknak a szintézisével foglalkoztunk. Anomer védőcsoportként az α -SEt csoportot választottunk, mivel könnyen aktiválható, ami elengedhetetlen az oligoszacharid szintéziséhez és korábban már kidolgoztunk egy hatékony

szintézist tisztán az α -anomer szintézisére.¹⁵⁷ A 4,6-O-Np acetállal védett α -etilthio-glükozidot (**238**) irodalmi példák alapján 6 lépésben állították elő D-glükózból kiindulva.^{137,170} Ezt követően, mint ahogyan a D-mannóz származékok esetében is, három különböző védőcsoport-mintázatot alakítottunk ki a C-2-es és C-3-as pozícióban (55. ábra). Ehhez a **238**-as acetál származékot először BnBr-dal reagáltattuk fázistranszfer reakcióban lúgos körülmények között. Így a C-2-OH-t szelektíven tudtuk benzilezni, majd az így kapott származékot (**307**) BzCl-lal benzoileztük száraz piridinben, kialakítva így a C-3-as pozícióban egy észter csoportot. Ezt követően a védett származék (**308**) C-6-OH-ját egy szelektív gyűrűnyitási reakcióban felszabadítottuk $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}/\text{TMSOTf}$ reagens kombinációt alkalmazva (**311**). A teljesen éterrel védett származék (**214**) szintézisét a **225**-ös vegyületen keresztül már ismertettük korábbi munkánkban.¹⁶⁹



55. ábra: Az L-ido és L-altro konfigurációjú származékok szintézise D-glükózból kiindulva

Az észter-védett származék előállításához a **238**-as diol szabad hidroxiljait BzCl-dal benzoileztük (**309**), melyet egy regioszelektív redukív gyűrűnyitási reakcióval felszabadítottunk a molekula primer -OH-ját (**310**). Végül a kapott primer alkoholokat nukleofil szubsztitúciós reakciókkal kiváló hozammal 6-jód-származékokká (**215**, **312**, **313**) alakítottuk. Az eliminációs reakciókat itt is szisztematikusan vizsgáltuk minden származékon, mindhárom, már korábban is bemutatott (NaH, DBU, AgF), reagens felhasználásával. Vizsgálatainkat elsőként a 2,3-di-*O*-benzoi-származékkal

(310) végeztük el. A NaH-közvetítette eliminációs reakcióban 3,6-anhidro-származékok keveréke képződött, a várt terméket (314) nem sikerült izolálni a reakcióelegyből. A DBU indukálta eliminációs reakció optimalizálása során azt tapasztaltuk, hogy a reagens mennyiségének csökkentésével a várt 5,6-telítetlen termék (314) hozama nőtt, és a legjobb hozamot 2,5 ekvivalens DBU alkalmazásával érték el (73%). A már korábban is megjelenő, kvaterner amidínium só mellékterméket (317) minden reakcióból tudtuk izolálni. Ezután az eliminációt AgF-dal is végre hajtottuk, a reakcióban a várt 5,6-telítetlen származék (317) csak mérsékelt hozammal képződött. Az eredményekből jól látható, hogy a 2,3-di-O-benzoil-származék (312) esetében a DBU a leghatékonyabb reagens a HI eliminációjának kiváltásában. Az ortogonálisan védett 6-jódszármazék (311) esetében a várt 5,6-telítetlen vegyület (315) szintén nem keletkezett a NaH reagenssel kiváltott eliminációs reakcióból. A DBU-val iniciálta eliminációs reakció esetében itt is a 2,5 ekv. DBU alkalmazása THF-ben bizonyult a leghatékonyabbnak az 5,6-telítetlen származék (315) szintézisére, akárcsak az előbbi esetben. Továbbá a DBU-val konjugált kvaterner amidínium só (318) is tudtuk izolálni ezekből a reakciókból. Az AgF által kiváltott reakcióban a várt 5,6-telítetlen származékot (315) csak mérsékelt hozammal tudtuk izolálni. A teljesen éterrel védett származék (214) esetében a NaH-del és AgF-fel kiváltott eliminációs reakciók kiváló hozammal eredményezték a várt 5,6-telítetlen származékot (216), és melléktermékek képződését nem figyeltük meg. Érdekes módon azonban a DBU-közvetítette eliminációs reakció csak alacsony hozammal eredményezte a várt telítetlen vegyületet (216), és a DBU-val konjugált kvaterner amidínium só (316) jelent meg főtermékként 55%-os hozammal. Ez feltehetően a benzil csoportok aktiváló hatásának volt köszönhető.

Az 5,6-telítetlen származékok (216, 314, 315) kulcsfontosságú C-5 epimerizációját a kettős kötés hidrobórlásával és az azt követő oxidációs reakcióval végeztük el.^{111,112,169} Mindhárom vegyület esetében a hidrobórlás és az azt követő oxidáció jó hozammal és sztereoszelektivitással eredményezte a várt L-ido származékokat (217, 319 és 320), és csak nagyon kis mennyiségű D-glüko izomer képződött a reakciókban. A legjobb hozamot a teljesen éterrel védett vegyület esetében (217) figyeltük meg, míg az észter-védőcsoportok jelenléte kismértékben csökkentette a reakció hatékonyságát. Érdemes megjegyezni, hogy a képződött D-glüko származékok újrahaznosíthatók, és ismét alávethetők a jódozás/elimináció/hidrobórlás/oxidáció reakció sorozatnak az L-ido származékok előállítása céljából.

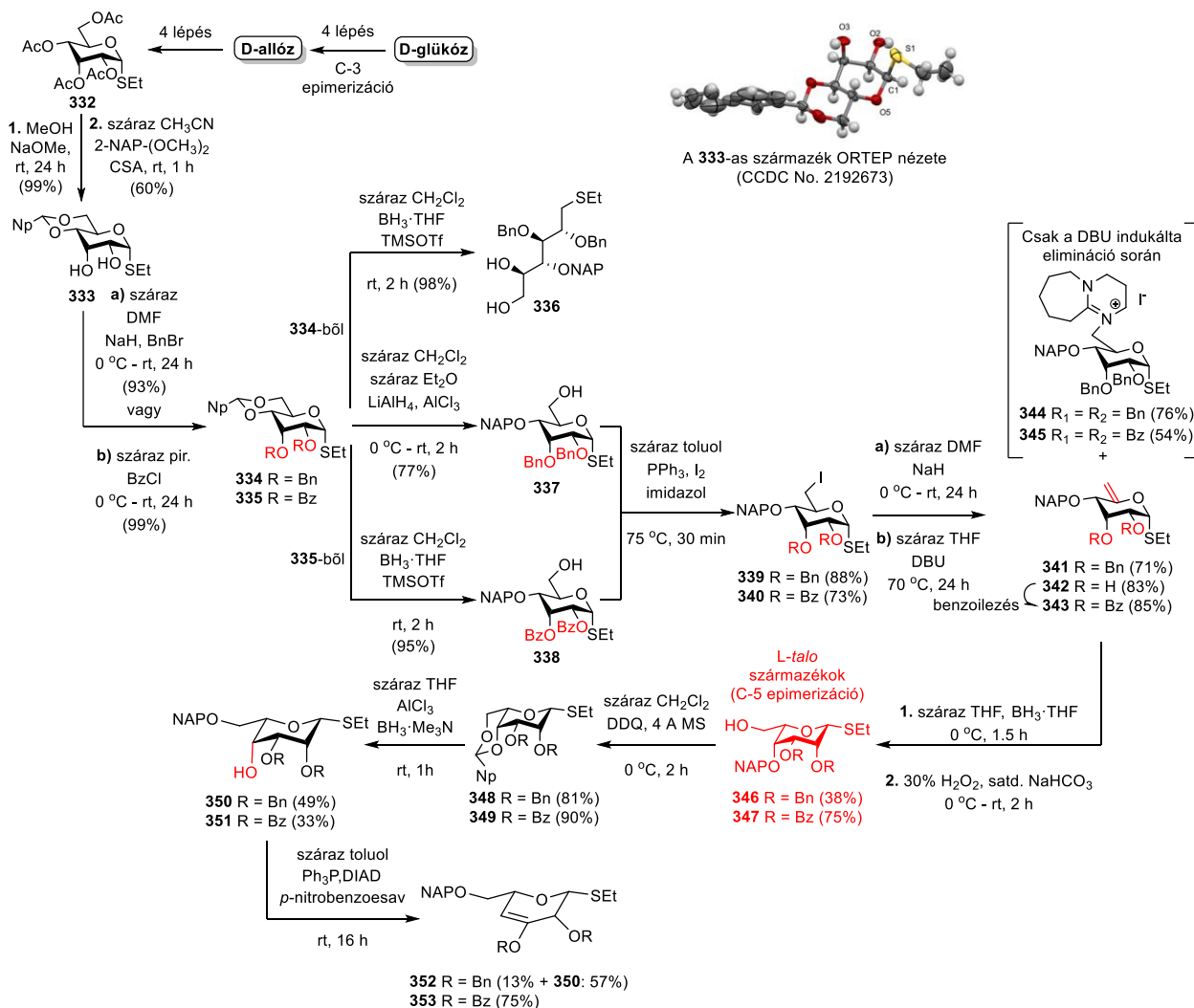
Annak érdekében, hogy az így előállított L-idopiranozidok (217, 319 és 320) alkalmasak legyenek oligoszacharidok szintézisére, valamint a további átalakításokhoz (L-ido → L-altro konverzió), a szabad 6-OH csoportot védeni kellett. Esetünkben a legkézenfekvőbb megoldás itt is a 4-ONAP éter csoport oxidatív körülmények között történő 4,6-O-acetállá történő átalakítása volt. Ezt, a korábbiakhoz hasonlóan DDQ reagenssel száraz CH₂Cl₂-ban végzett gyűrűzárási reakcióval

oldottuk meg. A reakciókban a teljesen védett tioglikozid-származékok (**321**, **322** és **323**) jó hozammal képződtek. Ezt követően az így képződött 4,6-O-acetál gyűrűt regioszelektíven felnyitottuk egy redukzív gyűrűnyitási reakcióban $\text{BH}_3 \cdot \text{Me}_3\text{N}/\text{AlCl}_3$ reagens kombináció használatával száraz THF-ben, felszabadítva így a C-4-OH csoportot. A gyűrűnyitási reakciók jó hozammal mentek végbe, és a kapott származékok (**324**, **325** és **326**) így már alkalmasak voltak L-*altro* származékok szintézisére C-4 epimerizációs reakcióval.

A C-4 epimerizációt (L-*ido* $\rightarrow$ L-*altro* átalakítás) egymást követő oxidációs/redukciós lépésekkel terveztük végrehajtani. Elsőként a csak éter-védőcsoportokat tartalmazó (**324**) vegyület oxidációját hajtottuk végre DMSO/ Ac_2O oxidáló ágens felhasználásával,¹⁸⁸ és a reakcióban a várt 4-ulóz (**327**) képződött kiváló hozammal (89%). A 2,3-di-O-benzoilezett származék (**325**) esetén azonban sem a DMSO/ Ac_2O reagenssel, sem a PCC-vel végzett oxidáció nem eredményezte a várt terméket, csak egy 3-O-eliminált ketont sikerült izolálni a reakcióelegyből. Az ortogonálisan védett származék (**326**) PCC-kiváltott oxidációja komplex reakcióelegyet eredményezett. Ebben az esetben a várt 4-keto terméket (**329**), csak nagyon alacsony hozammal tudtuk izolálni. A **326**-os származék oxidációja, az enyhébb, DMSO/ Ac_2O reagens kombinációval már sokkal hatékonyabban ment végbe, és jó hozammal (78%) eredményezte a várt 4-oxo származékot (**329**). A sikeresen előállított 4-keto származékokat (**327** és **329**) ezután redukciós lépésnek vetettük alá. A reakciókban kétféle reagenst is kipróbáltunk, NaBH_4 -et és L-szelektridet, így vizsgálva a redukálószer hatását a redukció sztereokémiai kimenetelére. Irodalmi példák^{113,181,182,189} alapján nagyobb szelektivitást vártunk az L-szelektrid alkalmazása során, de emellett az olcsó és elterjedt NaBH_4 redukálószer is leteszteltük. Feltételezésünk szerint a nagy térkitöltésű L-szelektrid várhatóan a karbonil C-atomot, előnyösen a piranózgyűrű alsó felülete felől fogja tudni megtámadni, mivel a felső részen lévő axiális C-3-as védőcsoportnak gátló hatása van. Várakozásunknak megfelelően az ortogonálisan védett származék (**329**) L-szelektriddel történő redukciója a várt L-*altro* származékot (**331**) eredményezte fő termékként, bár a sztereoszelektivitás meglepően alacsony volt, mivel jelentős mennyiségű L-*ido* származék (**326**) is keletkezett a reakcióban. A NaBH_4 -del végzett reakcióban csak a kiindulási L-idóz származékot nyertük vissza közepes hozammal, és más terméket nem tudtunk izolálni a reakcióelegyből. A teljesen éterrel védett molekula (**327**) esetében azonban a redukciók, meglepő módon, ellentétes eredményre vezettek. Ezt a származékot (**327**) L-szelektriddel kezelve kizárólag a kiindulási L-idóz származékot kaptuk vissza jó hozammal. A kis térkitöltésű NaBH_4 reagenssel végzett reakció a várt L-*altro* konfigurációjú származékot (**330**) eredményezte, de sajnos csak alacsony (17%) hozammal, és a fő termék itt is az L-*ido* származék (**324**) volt. Így végül sikerült előállítani mindkét L-hexóz-tioglikozid származékot, ugyan csak alacsony hozammal, de meg kell jegyezni, hogy a visszanyert L-*ido* származékok (**324** és **326**) újrahasznosíthatók és két lépésben ismét átalakíthatók a kívánt L-*altro* konfigurációjú termékekké.

3.4.4. D-glükózból kiinduló szintézisek II. Az L-talo és L-manno konfigurációjú tioglikozid donorok szintézise D-allózon keresztül

A maradék két L-hexóz, az L-talóz és az L-mannóz szintézisét D-allózból kiindulva terveztük megvalósítani (56. ábra). Ehhez a D-allózt D-glükózból kiindulva állítottuk elő négy lépésben, irodalmi példák alapján. A D-glükózt először izopropilidéneztek,¹⁹⁰ majd az 1,2-5,6-diizopropilidén- α -D-glükofuranóz C-3-as epimerizációját oxidációs/redukciós reakció kombinációval¹⁹¹ végeztük el, végül az izopropilidén védőcsoportokat savas körülmények között eltávolítottuk. A így kapott szabad allopiranózt¹⁹² további négy lépésben (acetilezés,¹⁹³ bromózás,¹⁹⁴ elimináció és gyökös tiol addíció¹⁵⁷) a szükséges α -etiltio-alloziddá (332) alakítottuk át.



56. ábra: Az L-talo és L-manno konfigurációjú származékok szintézise D-allózzal kezdve keresztül D-glükózból kiindulva

Ezt követően a 332-es vegyület acetyl csoportjait Zemplén-körülmények között eltávolítottuk, és a kapott vegyület 4-es és 6-os pozíciójában lévő hidroxil csoportjait 2-naftilmetilidén-acetál csoporttal védtük. A kapott kristályos vegyület (333) szerkezetét röntgenkristallográfiával

igazoltuk. A diol (**333**) szabad -OH csoportjait száraz DMF-ban NaH és benzil-bromid reagensek segítségével benzileztük, így kaptuk a teljesen éterrel védett (**334**) vegyületet. A 2,3-di-O-észter származékot (**335**) pedig a **333**-as vegyület benzoilezésével állítottuk elő. A 4,6-O-acetál gyűrű regioszelektív felnyitása, hasonlóan a D-glükóz származékokhoz, $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}/\text{TMSOTf}$ reagens kombinációval történt. Az éterrel védett vegyület (**334**) reakciója azonban váratlan terméket eredményezett. Az alkalmazott körülmények között a cukorgyűrű felnyílt, és a reakcióban kiváló hozammal (98%) képződött a nyílt szénláncú cukoralkohol (**336**). A piranozid gyűrű ilyen endociklusos hasítása nagyon ritka, korábban csak α -allozid¹⁹⁵ és o-halobenzilidénezett α -glükozid¹⁹⁶ származékokon, valamint konformáció-gátolt piranozidokon figyelték meg.¹⁹⁷ Ebben az esetben a glikozidos centrum hidrogenolízise feltehetően az aktiváló hatású éter csoportok jelenlétéhez kapcsolódik. A gyűrűnyitási reakció kivitelezése enyhébb körülmények között, $\text{LiAlH}_4/\text{AlCl}_3$ reagens kombinációval végrehajtva a várt C-6-OH származékot (**337**) eredményezte kiváló hozammal (77%). A 2,3-di-O-benzoil-származék (**335**) esetében $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}/\text{TMSOTf}$ reagentákat használva az acetál-nyitáshoz, a tervezett 6-hidroxi-cukor (**338**) keletkezett, kiváló hozammal (95%). A kapott két primer alkoholt (**337**, **338**) ezután nukleofil reakcióban, a korábban leírt körülmények között 6-jód-származékokká (**339**, **340**) alakítottuk, így előkészítve a molekulákat az eliminációs reakciókra.

A teljesen éterrel védett vegyület (**339**) eliminációs reakcióinak kimenetelét itt is vizsgáltuk a leggyakoribb reagensekkel, NaH-del, DBU-nal és AgF-dal. A NaH-indukálta reakcióban a tervezett 5,6-telítetlen származék (**341**) jó hozammal (71%) keletkezett. A DBU-közvetítette eliminációs reakció során azonban a várt termék (**341**) csak nagyon alacsony hozammal (10%) keletkezett, mivel a reakció túlnyomórészt a DBU-konjugált amidínium só (**344**, 76%) képződéséhez vezetett. A DBU konjugátum meglepően magas aránya a C-1 és C-3 szubsztituensek kombinált szterikus árnyékoló hatásával magyarázható. Ezen szubsztituensek miatt a piranozgyűrű alsó felületén a nagy térkitöltésű DBU nem fér hozzá az alsó felületen axiálisan elhelyezkedő C-5 hidrogénhez, így nem tudja elindítani az eliminációs reakciót. Az elimináció helyett (mint a D-glüko-származékok esetében) így egy versengő nukleofil támadás történik, ami a DBU-konjugált vegyület (**344**) képződéséhez vezet. Az AgF-dal végzett eliminációs reakció komplex reakcióelegyet eredményezett, amelyből a várt telítetlen vegyületet (**341**) mindössze 6%-os hozammal sikerült izolálni. Izoláltuk azonban a 6-fluor származékot, és kis mennyiségű kiindulási anyagot (**339**) is visszanyertünk, de a reakció főként bomlástermékeket tartalmazott, amelyeket nem sikerült azonosítani. Az eredményekből jól látható, ebben az esetben a NaH-del végzett eliminációs reakció bizonyult a legjobbnak.

A 2,3-di-O-benzoil-származék eliminációs reakcióját is először NaH reagenssel próbáltuk ki. A D-glükóznál korábban megfigyelt mellékreakciók (benzoil-hasadás, anhidro származékok vagy

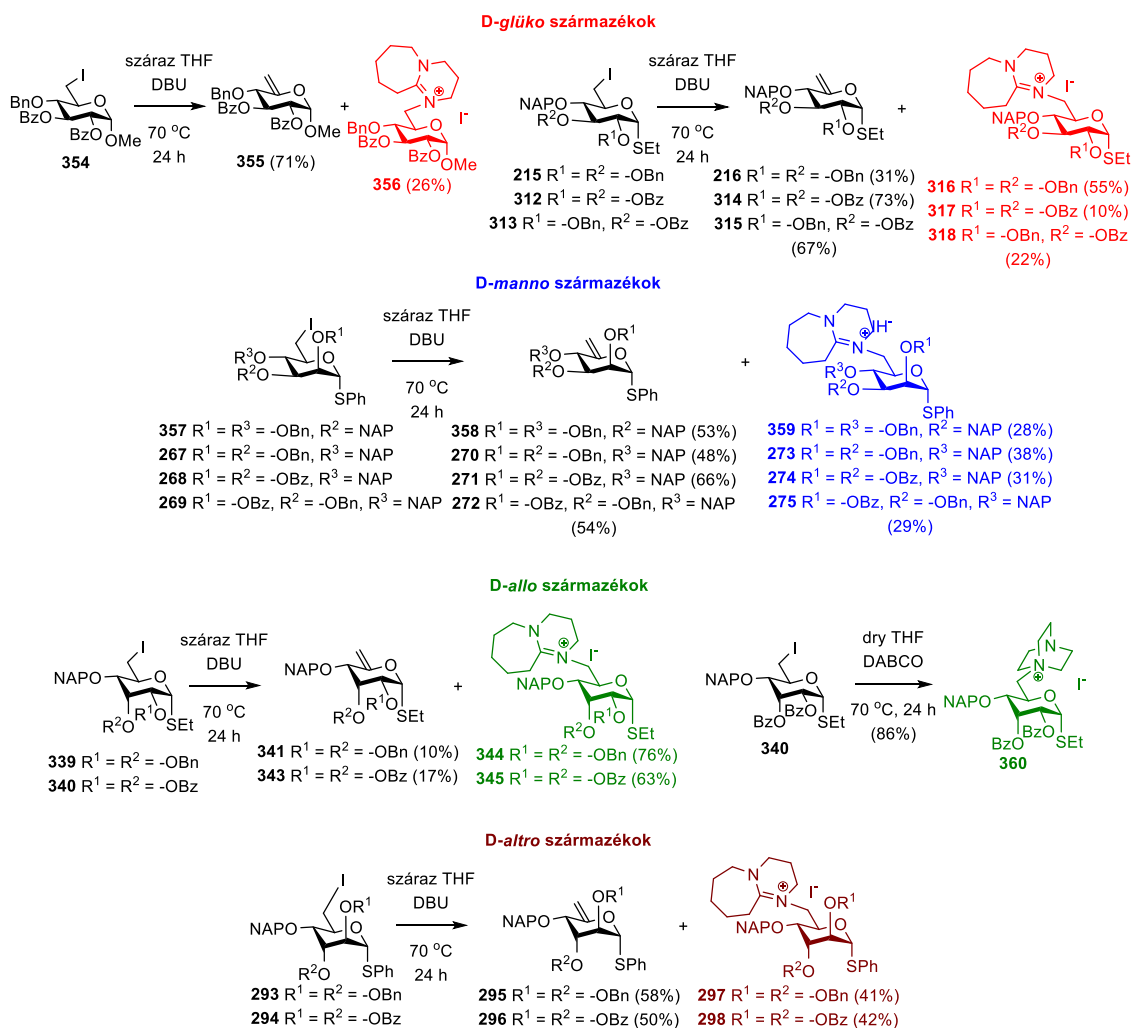
kettős eliminációs termékek képződése) elkerülése érdekében a NaH feleslegét csökkentettük. Bár a benzoil-csoportok ugyanúgy lehasadtak, mint korábban, sem anhidro származék képződése, sem kettős elimináció nem történt. Az alkalmazott körülmények között az 5,6-telítetlen diolt (**342**) közepes hozammal (48%) tudtuk előállítani. A NaH mennyiségének növelésével növelni tudtuk a telítetlen diol (**342**) hozamát (83%), majd a szükséges, védett származékot (**343**) sikeresen előállítottuk a szabad hidroxilok BzCl-lal történő benzoilezésével száraz piridinben. A DBU-val indukált reakcióban, a korábban is alkalmazott körülmények között, a várt terméket (**343**) csak alacsony hozammal (26%) tudtuk előállítani, és a korábbiakhoz hasonlóan a kvaterner amidínium só (**345**) képződött főtermékként. Sajnos sem a DBU mennyiségének növelése, sem az oldószer megváltoztatása nem növelte szignifikánsan a várt termék (**343**) kitermelését. A DBU-nel történő eliminációs reakciók alacsony hatékonysága feltehetően szterikus hatásoknak (D-*allo* konfiguráció) tudható be. Az AgF által kiváltott eliminációs reakcióban a kétszeresen eliminált származék képződése szintén szterikus hatásoknak volt köszönhető, mivel a 3-OBz csoport axiális helyzete elősegíti a molekulából való eliminációt. A kétszeresen eliminált vegyület mellett csak a 6-dezoxi-6-fluor származékot izoláltuk, és a várt terméket (**343**) nem tudtuk kimutatni a komplex reakcióelegyben.

A D-*allo* származékok (**341** és **343**) C-5 epimerizációját hidroborálási/oxidációs reakció kombinációval végeztük el a korábbiakban leírtaknak megfelelően. A 2,3-di-O-benzilezett származék (**341**) esetében az előző reakciókkal ellentétben a várt L-*talo*-tioglikozid (**346**) csak alacsony hozammal (38%) keletkezett, és az -SEt csoport oxidációja miatt egy szulfoxid mellékterméket is tudtunk izolálni a reakcióelegyből, ez feltehetően a molekula konfigurációjával és az -OBn csoportok aktiváló hatásával hozható összefüggésbe. Szerencsére a hidroborálási reakció sztereoszelektivitása teljes volt, ugyanis a reakcióelegyben nem találtunk D-*allo* izomert. A 2,3-di-O-Bz származék esetében a várt L-*talo* konfigurációjú vegyület (**347**) kiváló hozammal (75%) és sztereoszelektivitással képződött. A korábbiakhoz hasonlóan, itt is elvégeztük a 4-ONAP csoport oxidatív gyűrűzárását egy 4,6-O-acetállá, teljesen védetté téve így a molekulát. Ezt mindkét vegyülettel (**346** és **347**) száraz CH₂Cl₂-ben DDQ-val végeztük el, eljutva így a várt, teljesen védett 4,6-O-acetál származékokhoz (**348** és **349**), melyek már alkalmasak lehetnek glikozilezési reakciók kivitelezésére. Ezt követően, egy regioszelektív redukzív gyűrűnyitási reakcióban nyitottuk a 4,6-O-acetál csoportot, felszabadítva így a molekulák C-4-es -OH-ját (**350**, **351**). A reakciók azonban csak közepes és alacsony hozammal eredményezték a várt származékokat. A C-4 epimerizációt, mely az L-*manno* konfigurációt eredményezte volna, az L-*galakto* származékokhoz hasonlóan Mitsunobu-reakcióval próbáltuk megoldani. A **350**-es és **351**-es vegyületek C-4-OH-jának Mitsunobu epimerizációját *p*-nitrobenzoesavval, Ph₃P és DIAD reagensek használatával végeztük el száraz toluolban. Sajnos azonban a várt L-*manno* konfigurációjú termékek egyik esetben sem keletkeztek a

reakciók során. Mindkét reakcióból csak a 4-dezoxi-4,5-telítetlen származékot tudtuk izolálni (**352** és **353**). Az észter védett származék esetén főtermékként (**353**: 75%), a benzil védett származék esetében csak alacsonyabb 13%-os (**352**) hozammal képződött a telítetlen származék. Ennek oka feltételezhetően az, hogy a Mitsunobu-reakcióval párhuzamosan egy eliminációs reakció is lezajlott, mely esetünkben a molekulák konfigurációja miatt előtérbe kerül az epimerizációval szemben, melléktermékként a 4-dezoxi-4,5-telítetlen származékokat eredményezve. Így sajnos az *L-manno* származékokat nem sikerült előállítanunk ezen az útvonalon.

Így, az *L-mannó* származékok kivételével, a három legdrágább *L-hexó*zt sikerült előállítottuk, glikozilezésre alkalmas, tioglikozidok formájában, amelyek használhatók oligoszacharid szintézisre, 11-16 lépéses útvonalon (*L-idóz*: 11-12 lépés, *L-altróz*: 15-16 lépés és *L-talóz*: 15 lépés).¹⁸⁷

3.4.5. A DBU-t tartalmazó kvaterner imínium sók vizsgálata



57. ábra: A DBU-val (**356**, **316-318**, **359**, **273-275**, **344**, **345**, **297**, **298**) és a DABCO-val konjugált (**360**) származékok szintézise.

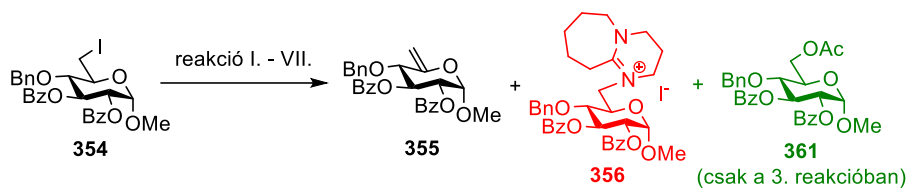
A D-hexózek C-5 epimerizációján ($D \rightarrow L$ átalakítás) alapuló L-hexóz szintézisünk során 5,6-telítetlen hexopiranozidokat használtunk kulcs-intermedierekként.^{183,187} Ezeket az 5,6-telítetlen származékokat a 6-jód-hexopiranozid-származékokból állítottuk elő különböző bázisok (NaH, DBU, AgF) felhasználásával. Amikor a DBU amidin bázist használtuk reagensként (**57. ábra**), a kívánt eliminációs reakció mellett/helyett a DBU nukleofil viselkedése miatt bizonyos mértékig nukleofil szubsztitúciós reakció is lezajlott.^{198–200}

A változatosan védett szénhidrátok, köztük D-glüko, D-manno, D-allo és D-altro konfigurációjú származékok DBU által közvetített eliminációs reakcióit vizsgálva azt tapasztaltuk, hogy az elimináció/szubsztitúció arány erősen függött a cukor konfigurációjától, valamint a D-glüko származékok esetében a védőcsoport mintázatától is. A D-manno és D-altro konfigurációjú származékok esetében az amidínium sók mérsékelt hozammal képződtek (**359, 273, 274, 275; 297, 298**, 28-42%), míg a D-allo konfigurációjú vegyületek esetében a nukleofil szubsztitúciós termékeket (**344, 345**) különösen magas (63-76%) hozammal kaptuk. A benzoil csoportokat tartalmazó D-allo származék (**340**) esetében, 1,4-diazabicyclo[2.2.2]oktán (DABCO) reagens alkalmazásával is kipróbáltuk a reakciót. Itt kizárólag csak a kvaterner ammóniumsó (**360**) képződött (86%-os hozam), ami a DABCO DBU-hoz képest nagyobb nukleofilitásával magyarázható.

A teljesen éter csoportokkal védett **215**-ös D-glükózid származék elfogadható hozammal adta a DBU-val konjugált molekulát, de észter-védőcsoportok (**354, 312, 313**) jelenlétében az amidínium sók hozama nagyon alacsony volt. Ezért megpróbáltuk növelni a **356**-os DBU-cukor konjugátum hozamát az észterrel védett **354**-es¹⁸⁷ származék DBU-közvetített reakciójának a nukleofil szubsztitúció felé történő eltolásával (**7. táblázat**). Korábbi munkánkban a reakciókat THF-ban végeztük, amely az eliminációhoz előnyös oldószer.¹⁸⁷ Az optimalizálás első lépéseként a THF-et acetonitrilre cseréltük, amely az irodalom szerint a nukleofil szubsztitúciónak sokkal kedvező oldószer.^{201,202} A reakciót szobahőmérsékleten, 1 ekv. DBU jelenlétében végezve (**2. reakció**), a reakció nagyon lassú volt, a reakcióelegy még két hét elteltével is nyomokban tartalmazta a kiindulási anyagot (9%). A fő termék azonban az 5,6-telítetlen származék volt (**355**,¹⁸⁷ 63%), és a várt amidínium só **356** csak nagyon alacsony hozammal (11%) képződött. A DBU mennyiségének növelésével (1,5 ekv., **3. reakció**) a reakcióidő ugyan 4 napra csökkent, azonban a várt termék hozama csak kismértékben nőtt (**356**, 14%). Ezt követően a DBU bázikusságát jégecet vagy p-toluolszulfonsav (p-TSA) hozzáadásával próbáltuk csökkenteni, 3 ekv. DBU és 3 ekv. jégecet (**4. reakció**) alkalmazásával a reakció meglepő eredménnyel zárult. A **361**-es 6-OAc-származékot különösen jó hozammal (87%) izoláltuk a reakcióból, az 5,6-telítetlen vegyület (**355**) azonban csak alacsony hozammal (10%) képződött, és a várt DBU-konjugált származék kialakulását nem figyeltük meg. Ehhez képest p-TSA alkalmazásával nem figyeltünk meg semmilyen mellékreakciót

(**5. reakció**), de a várt termék itt sem képződött, a kiindulási anyag pedig gyakorlatilag nem reagált el a reakcióban. Ezután a DBU mennyiségét 6 ekv.-re növelve (**6. reakció**) és elhagyva a savat, az 5,6-telítetlen származékot (**355**) izoláltuk főtermékként a reakcióelegyből, a várt termék (**356**) csak 18%-os hozammal képződött. A DBU-t oldószerként alkalmazva (**7. reakció**) számos bomlási melléktermék képződött, amiket nem tudtunk azonosítani, a várt vegyületet (**356**) pedig csak alacsony hozammal nyertük ki a reakcióelegyből. A legjobb eredményt végül magas hőmérsékleten, DMF-ben, 3 ekv. DBU felhasználásával érték el (**8. reakció**), de a várt termék még ekkor is csak 33%-os hozammal képződött.

7. táblázat: A DBU-val konjugált D-glüko konfigurációjú származék szintézisének optimalizálása.



Reakció	Oldószer	Reagens	Hőmérséklet (°C)	Idő	Hozam
1. ¹	THF	DBU (2.5 ekv.)	70	24	355: 71% 356: 26%
2.	CH ₃ CN	DBU (1.0 ekv.)	rt	16 nap	354: 9% 355: 63% 356: 11%
3.	CH ₃ CN	DBU (1.5 ekv.)	rt	4 nap	355: 72% 356: 14%
4.	CH ₃ CN	DBU (3.0 ekv.) + Jégecet (3.0 ekv.)	rt	3 nap	355: 10% 356: 0% 361: 87%
5.	CH ₃ CN	DBU (6.0 ekv.) + p-TSA (6.0 ekv.)	rt - 85 °C	21 h rt, 5 h 85°C	354: 84%
6.	CH ₃ CN	DBU (6.0 ekv.)	rt	6 nap	355: 70% 356: 18%
7.	-	DBU (31.25 ekv.)	rt	24 h	355: 32% 356: 11% ²
8.	DMF	DBU (3.0 ekv.)	145	45 min	354: 2% 355: 58% 356: 33%

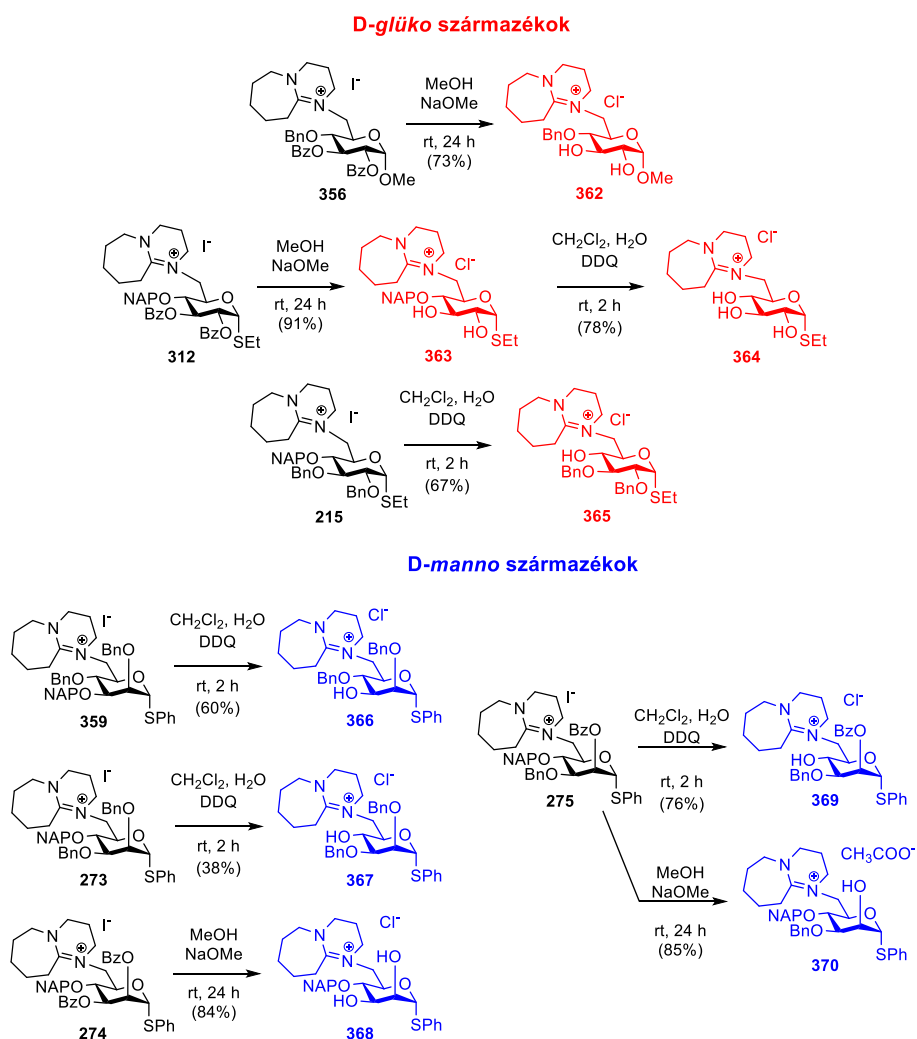
¹ Az 57. ábrában szereplő eredeti reakciókörülmények, lásd a 190-es hivatkozásban.

² Más, nem izolált bomlástermékek is képződtek.

Az első körös biológiai vizsgálatokban a D-glüko és D-manno származékok tűntek aktívnak. Ezek alapján bizonyos védőcsoportokat eltávolítottunk az ígéretesnek tűnő védett származékokról, hogy ilyen módon növelni tudjuk vegyületeink vízzoldhatóságát, és vizsgálhassuk az egyes csoportok hatását a biológiai aktivitásra.

Ehhez elsőként a D-glüko konfigurációjú vegyületeket alakítottunk át (58. ábra). A 356-os és

312-es vegyületekből Zemplén-körülmények között eltávolítottuk a benzoil-csoportokat, felszabadítva így a 2-es és 3-as helyzetben lévő hidroxil csoportokat (362, 363). A 215-ös és 363-as származékokról pedig a 4-O-NAP csoportot hasítottuk le DDQ reagens használatával, eljutva így a 364-es és 365-ös vegyületekhez. A D-manno származékokat hasonló módon módosítottuk (58. ábra), a 359-es, 273-as és 275-ös származékokról a 2-NAP-csoportot oxidatív körülmények között távolítottuk el (366, 367, 369). Továbbá a 274-es és 275-ös vegyületekről pedig a benzoil csoportok eltávolításával, jutottunk el az 368-es és 370-es származékokhoz.



58. ábra: Védőcsoportok eltávolítása a D-glüko és D-manno konfigurációjú származékokról

Ezt követően megvizsgálták a szintetizált származékok gombaellenes és antibakteriális aktivitását, valamint meghatároztuk az egyes vegyületek citotoxicitását is. Az előállított huszonegy kationos hexopiranozid-amidínium só (356, 316, 317, 318, 359, 273, 274, 275, 344, 345, 360, 297, 298, 362, 363, 364, 365, 366, 367, 368, 369 és 370) antimikrobiális aktivitását elsőként érzékenységi tesztekben hasonlítottuk össze (8. táblázat). A vegyületek hatékonyságát *Staphylococcus aureus ssp. aureus* (ATCC 6538), *Escherichia coli* (ATCC 8739) és *Candida albicans* (ATCC 10231) törzseken teszteltük és az aktivitást 6,25-100 µg/ml

koncentrációtartományban vizsgáltuk. A vizsgálatok alapján a **316-os**, **318-as** és a **273-as** vegyületek erős növekedésgátló hatást mutattak a Gram-pozitív *Staphylococcus aureus ssp. aureus* baktériummal szemben, ezen vegyületek MIC-értékeik kisebbek voltak, mint 6,25 µg/ml (**8. táblázat**). A **356-os**, **359-es**, **275-ös**, **344-es**, **345-ös**, **360-as**, **297-es**, **365-ös**, **367-es**, **368-as** és a **370-es** vegyületek szintén aktivitást mutattak a *S. aureus* törzsszel szemben, 6,25-50 µg/ml MIC-értékekkel. Ugyanakkor a **317-es**, **274-es**, **298-as**, **362-es**, **363-as**, **364-es**, **366-os** és az **369-es** vegyületek még 100 µg/ml koncentrációban sem mutattak Gram-pozitív baktériumok elleni hatást. A **316-os**, **273-as** és a **344-es** vegyületek gátló hatást fejtettek ki az élesztőgombára, a *Candida albicansra*, a MIC-értékek 6,25 µg/ml alatt voltak (**8. táblázat**). A **356-os**, **318-as**, **359-es**, **275-ös**, **345-ös**, **365-ös**, **367-es**, **368-as** és a **370-es** vegyületek MIC-értékei 6,25-50 µg/ml között voltak *Candida albicansra* nézve, míg a **317-es**, **274-es**, **360-as**, **297-es**, **298-as**, **362-es**, **363-as**, **364-es**, **366-os** és a **369-es** vegyületek 100 µg/ml-nél nagyobb koncentrációban voltak csak hatékonyak. A vizsgált Gram-negatív baktérium, az *Escherichia coli*, kevésbé volt érzékeny ezekre a kationos szénhidrát-származékokra. A vizsgált vegyületek egyike sem befolyásolta az *Escherichia coli* növekedését a legmagasabb alkalmazott koncentrációban, 100 µg/mL-ben sem.

Vegyület	MIC (µg/mL)			clogP
	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 8739)	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538)	<i>Candida albicans</i> (ATCC 10231)	
356	>100	≥6,25	≥50	7.413
316	≥100	6.25	≤6.25	9.672
317	>100	>100	>100	9.542
318	>100	6.25	≥50	9.547
359	>100	≥6,25	≥50	10.683
273	≥100	6.25	≤6.25	10.683
274	≥100	≥100	≥100	10.618
275	≥100	≥6,25	≥50	10.635
344	>100	<12,5	<6,25	9.673
345	≥100	≥25	≥25	9.542
360	≥100	≥6,25	≥100	6.373
297	>100	≥50	>100	10.683
298	>100	>100	>100	10.618
362	>100	>100	>100	2.661
363	>100	>100	>100	4.790
364	>100	>100	>100	1.826
365	>100	≥25	≥50	6.052
366	>100	>100	>100	7.070
367	>100	≥50	≥25	7.715
368	>100	≥12,5	≥50	5.800
369	≥100	≥100	>100	7.667
370	>100	≥6,25	≥6,25	8.240

8. táblázat: A szintetizált vegyületek antibakteriális és gombaellenes aktivitása.

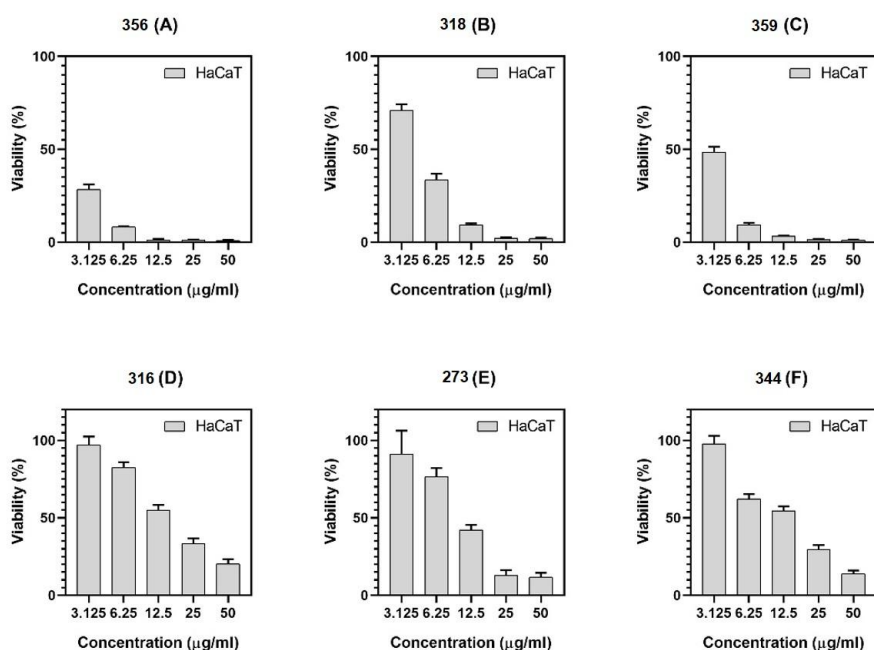
(MIC-értékek µg/mL-ben megadva, > nagyobb, < kisebb, mint)

A három leghatékonyabb gombaellenes vegyület aktivitását alacsonyabb koncentrációkban (10-szeres hígításban) is meghatároztuk (**9. táblázat**). A vegyületek *C. albicans* elleni aktivitását 0,625-10,0 µg/ml koncentrációtartományban tesztelve azt találtuk, hogy a **273**-as és a **344**-es vegyületek kiváló gombaellenes aktivitással rendelkeznek, 2,5 µg/ml MIC értékekkel, a **316**-os származék pedig 5 µg/ml koncentrációban már hatékony.

Vegyület	MIC (µg/mL)
	<i>Candida albicans</i> (ATCC 10231)
316	5.0
273	2.5
344	2.5

9. táblázat: A **316**-os, **273**-as és a **344**-es vegyületek gombaellenes aktivitása alacsonyabb koncentrációkban

Ezt követően hat kiválasztott, ígéretes antimikrobiális aktivitású vegyület (**356**, **316**, **318**, **359**, **273** és **344**) citotoxikus hatását is megvizsgáltuk *HaCaT* (humán keratinocita) sejtvonalon. MTT-teszttel meghatároztuk a sejtek életképességét (**59. ábra**), a vegyületek IC₅₀ értékeit a **10. táblázatban** foglaltuk össze. A tesztek időtartama 24 óra volt; a vizsgált koncentrációk: 50-25-12,5-6,25-3,125 µg/mL. A tesztelt DBU-cukor konjugátumok közül a **356**-os vegyület mutatta a legerősebb citotoxikus hatást *HaCaT* sejtvonalon (**59. ábra, A**), az IC₅₀ értéke mindössze 0,13 µg/mL volt. A **318**-as és **359**-es vegyület is jelentős toxikus hatást mutatott (**59. ábra, B és C**), IC₅₀ értékük 4,26, illetve 1,02 µg/mL volt.



59. ábra: A **356**-os, **316**-os, **318**-as, **359**-es, **273**-as és **344**-es vegyületek hatása a *HaCaT* sejtvonal életképességére.

A **316-os**, **273-as** és **344-es** vegyületek csak enyhe citotoxicitást mutattak (**59. ábra, D-F**). IC₅₀ értékeik is egy nagyságrenddel magasabbak voltak, mint a **318-as** és **359-es** vegyületeké, és két nagyságrenddel magasabbak, mint a **356-as** vegyületé. A legfontosabb, hogy a **316-os** és **273-as** vegyületek antibakteriális és gombaellenes hatású koncentrációikban, ≤6,25 µg/mL-nél alig befolyásolták a sejtek életképességét (**59. ábra, D és E**).²⁰³

Vegyület	<i>HaCaT</i> IC ₅₀ (µg/mL)
356	0.13±0.06
316	15.3±0.78
318	4.26±0.16
359	1.02±0.06
273	10.3±0.41
344	11.9±0.25

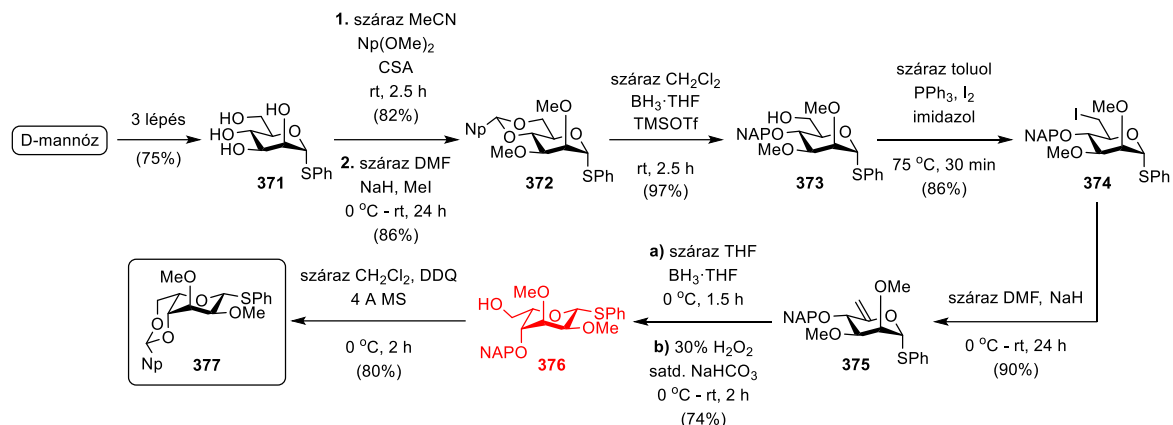
10. táblázat: A **356-os**, **316-os**, **318-as**, **359-es**, **273-as** és **344-es** vegyületek IC₅₀ értékei

3.5. Az első L-guluronsav tartalmú véralvadásgátló pentaszacharid szintézise

Az L-iduronsav a heparin és a heparán-szulfát poliszacharidok kulcsfontosságú alkotóeleme, egyedi konformációs plaszticitása miatt, amely elősegíti a poliszacharidok fehérjékhez való könnyebb kötődését. Ugyanakkor ez a heparinoid oligoszacharidok szintetikus legnagyobb kihívást jelentő egysége is, ezért nagy lenne az igény a könnyebben hozzáférhető cukor-egységgel való helyettesítésére. Mint korábban is láttuk, az idraparinux jó modellvegyület lehet egy iduronsav → olcsóbb építőelem csere kipróbálásra. Amint már korábban láthattuk, az olcsó D-mannózból kiindulva egy megfelelően funkcionizált feniltio-mannozidon keresztül C-5 epimerizációval, 10 lépésben, kiváló hozammal állítottunk elő L-gulóz donorokat. Ezek egyikének a felhasználásával pedig előállítottunk egy olyan pentaszacharidot, melyben az L-iduronsav egységet a hasonlóan flexibilis L-guluronsavra cseréltük le.²⁰⁴

A célmolekula felépítéséhez az L-guluronsav egységet (**G** egység) úgy terveztük, hogy a pentaszacharidba nem oxidált prekuzorként építsük be, hasonlóan a korábbi idraparinux szintéziseinkhez.^{156,170} Az oligoszacharid szintézisnek és a későbbi funkcionalizálásnak megfelelő védett L-gulopiranozid donort (**377**), a könnyen hozzáférhető és relative olcsó D-mannózból kiindulva szintetizáltunk a **60. ábrán** látható módon. Ehhez elsőként a **371-es** α-feniltio-származékot állítottuk elő három lépésben, irodalmi példák alapján D-mannózból.²⁰⁵ A **371-es** vegyület tio-aglikon csoportja alkalmassá teszi a molekulát a glikozilezésre, továbbá, mint korábban már láttuk, az α-anomer konfiguráció kulcsfontosságú az L-szelektivitás biztosításához a C-5 epimerizációs reakcióban.^{23,111,112,169} Ezt követően, a **371-es** vegyületet a megfelelő 4,6-O-(2-naftil)metilidén-acetállá alakítottuk,²⁰⁶ majd a C-2-es és C-3-as pozícióba a metil-éter funkciós csoportokat vittünk be eljutva így a **372-es** származékhoz. A **372-es** vegyület primer hidroxil

csoportját teljes regioszelektivitással szabadítottuk fel egy redukzív gyűrűnyitási reakcióban $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}/\text{TMSOTf}$ reagensek használatával.²⁰⁷ Az így kapott **373**-as származékot jóddal és trifenilfoszfínnal kezeltük (**374**), átalakítva a C-6-OH-t egy jól távozó csoporttá.



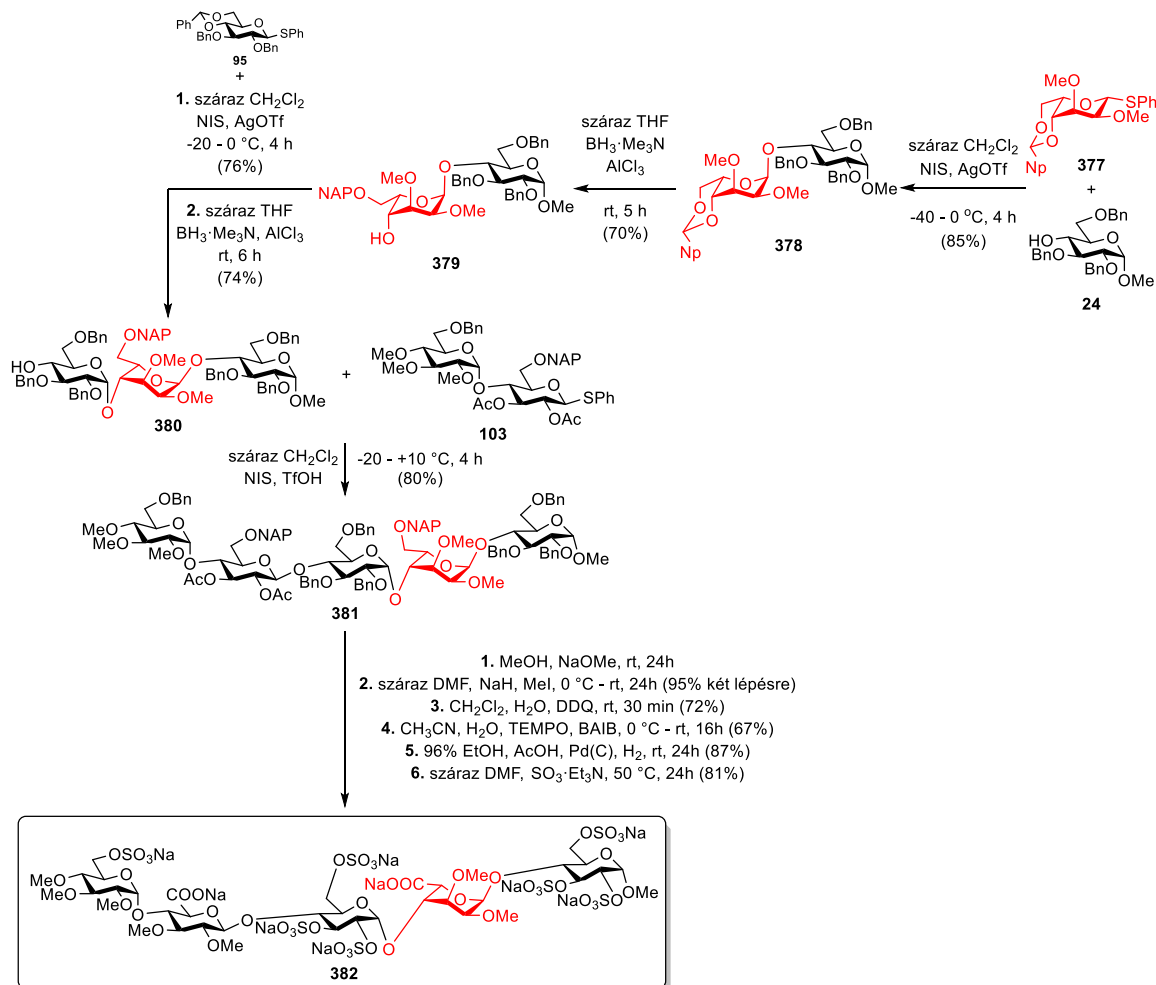
60. ábra: Az L-gulóz építőelem szintézise az új módszer alapján

Az eliminációs reakciót NaH-del történő kezeléssel iniciáltuk, így kiváló hozammal jutottunk el az 5,6-telítetlen **375**-ös származékhoz.²⁰⁸ A kulcsfontosságú C-5 epimerizációs lépést itt is $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ komplex alkalmazásával végzett hidroborálással és azt követő H_2O_2 -del történő oxidációval hajtottuk végre, így a várt L-*gulo* konfigurációjú **376**-os vegyületet jó hozammal tudtuk előállítani.¹⁶⁹ Az L-gulopiranozil-származék C-6-OH csoportját egy oxidatív gyűrűzárasi reakcióban kialakított 4,6-O-(2-naftil)metilén-acetállal védtük (**377**), kialakítva így a teljesen védett donorunkat. Ezen L-gulozid donor (**377**) szintézise D-mannózból kiindulva 10 lépést vett igénybe, a reakciósor összhozama 25% volt. Összehasonlítás képpen, egy azonos szubsztitúciós mintázatú L-idozid donor szintézise D-glükózból, amit korábban már előállítottunk, 12 lépést igényelt 14%-os összhozammal.¹⁷⁰

A **377**-es L-gulozid donor sikeres előállítása után elkezdtük a védett pentaszacharid felépítését a **378**-as védett **GH** diszacharid szintézisével (**61. ábra**). Ehhez, a már korábbi munkáink során is használt, **24**-es akceptort¹⁵⁹ glikozileztük a **377**-es tiogulozid donorral. A kapcsolást NIS/AgOTf promoter együttes használatával hajtottuk végre, és a reakcióban kiváló α -sztereoselektivitással képződött a kívánt 1,2-cisz- α -kötésű **GH** diszacharid (**378**), kiváló 85%-os hozammal. A **378**-as vegyületet redukzív gyűrűnyitási reakciónak vetettük alá $\text{BH}_3 \cdot \text{Me}_3\text{N}/\text{AlCl}_3$ reagens kombinációval száraz THF-ben, hogy felszabadítsuk a C-4'-OH csoportot (**379**). Az így kapott **379**-es diszacharid akceptort NIS/AgOTf promoter kombináció használatával glikozileztük a már jól bevált **95**-ös monoszacharid donorral, eljutva így a védett, α -interglikozidos kötésű, L-gulopiranozil-tartalmú **FGH** triszacharidhoz, melyet szintén gyűrűnyitási reakcióval alakítottunk tovább a **380**-as triszacharid akceptorra.

A védett pentaszacharid vázat az **FGH** triszacharid akceptor (**380**) glikozilezésével állítottuk

elő a **DE** diszacharid donorral (**103**)¹⁵⁶ való kapcsolása során, melyet NIS/TfOH aktivátor rendszer segítségével száraz CH₂Cl₂-ben hajtottunk végre. A [2+3] blokk szintézis kiváló hozammal és teljes sztereoselektivitással eredményezte a védett pentaszacharidot (**381**).



61. ábra: Az L-guluronsav tartalmú védett pentaszacharid szintézise és átalakítása

A védett pentaszacharid sikeres előállítás után megkezdjük a végleges csoportok kialakítását, mely még további hat lépést vett igénybe. Ehhez először az acetyl védőcsoportokat távolítottuk el az **E** egység C-2-es és C-3-as pozíciójából Zemplén-körülmények között, majd a felszabadult hidroxil csoportokat NaH és MeI reagensekkel metileztük. Ezt követően a C-6-O-NAP csoportokat oxidatív körülmények között hasítottuk DDQ-val, felszabadítva így az **E** és **G** egységek primer hidroxil csoportjait. Ezen prekursor egységek uronsavakká történő TEMPO/BAIB-közvetített oxidációját polárisabb közegben, acetonitril és víz 3:1 arányú elegyében végeztük el, és mindkét hidroxil csoportot sikeresen karboxil csoporttá alakítottuk egyetlen lépésben. Végül a benzil csoportokat katalitikus hidrogénezéssel eltávolítottuk, és az így kapott heptaol hidroxil csoportjait száraz DMF-ban 50 °C-on SO₃·Et₃N komplex alkalmazásával szulfatáltuk, eljutva így a tervezett idraparinux analóg pentaszacharidhoz (**382**), amely L-iduronsav helyett L-guluronsavat tartalmaz.

Az L-guluronsavat tartalmazó **382**-es származék és a **18**-as referencia vegyület (idraparinux)

Xa faktor gátló aktivitását *in vitro* funkcionális kromogén anti-Xa assay-vel határoztuk meg, fondaparinuxra történő kalibrálás mellett, normál humán plazma felhasználásával (**11. táblázat**).¹²¹

	Anti-Xa aktivitás (µg/mL)
fondaparinux (9)	1
idraparinux (18)	1.36
L-guluronsav tartalmú pentaszacharid (382)	0.67

11. táblázat. A fondaparinux, az idraparinux és az L-guluronsav tartalmú pentaszacharid anti-Xa aktivitása

Az adatok azt mutatták, hogy az új pentaszacharid (**382**) az idraparinux Xa faktor gátló aktivitásának 50%-át megtartja, ami arra utal, hogy a **382**-es vegyület kiváló antikoaguláns hatással rendelkezik, amely közel megegyezik a forgalomban lévő fondaparinux (**9**) antikoaguláns gyógyszer hatásával. Továbbá annak érdekében, hogy kiderítsük, vajon az L-IdoA L-GulA csere megváltoztatja-e a pentaszacharid toxicitási profilját, és hogy megállapítsuk a GulA-tartalmú származék biokompatibilitását, a **18**-as és **382**-es vegyületek potenciális citotoxikus hatását *HaCaT* keratinocita sejtvonalon és WM35 melanóma sejteken teszteltük MTT assay segítségével. 100 µM-ig alkalmazva egyik vegyület sem csökkentette a sejtvonalak életképességét 72 órán belül, ami azt jelzi számunkra, hogy a vegyületek nem toxikusok a vizsgált sejtvonalakra nézve.

Ezen molekula szintézise volt az első bizonyíték arra nézve, hogy az L-iduronsav nem feltétlenül pótolhatatlan szerkezeti eleme a heparinoid antikoagulánsoknak, mivel az antitrombin hatékonyan aktiválható egy olyan pentaszachariddal is, amely egy másik, konformációjában flexibilis piranuronsavat tartalmaz **G** egységként.²⁰⁴ Ugyanakkor a **382**-es vegyület idraparinuxhoz képest csökkent aktivitása rávilágít arra, hogy a konformációs plaszticitás mellett más tényezők is fontos szerepet játszanak a biológiai hatásban.

4. A lektinek és az L-ramnóz tartalmú oligoszacharidok kapcsolata - Irodalmi háttér

A *Pseudomonas aeruginosa* egy olyan opportunista Gram-negatív baktérium, mely a kórházi társult fertőzések egyik vezető kiváltó oka pl.: a krónikus tüdőkárosodás, vagy cisztás fibrózis esetében. A gyakran vizsgált bakteriális kórokozók közül a *P. aeruginosa*-nak van a legnagyobb genomkódolási kapacitása és szabályozási hálózat sűrűsége, ez lehetővé teszi a kórokozó számára, hogy igen változatos környezeti körülmények között is fenn tudjon maradni. Ezen tényezők egésze és az utóbbi évek igen agresszív antibiotikum-használata komoly gyógyszer-rezisztencia kialakulásához vezetett a vizsgált baktérium esetében. Ebből kifolyólag csak korlátozott lehetőségek állnak rendelkezésünkre a *P. aeruginosa* fertőzések kezelésére. Ennek folyományaként időszerű új megközelítéseket keresni/alkalmazni ezen fertőzések megelőzésére és/vagy kezelésére. Tajvani kutatók megfigyelték, hogy a vizsgálatuk középpontjában álló törzfarkú rák rekombináns plazma lektinje (rHPL, ramnóz kötő lektin) gátolni képes ezt a baktériumot a védekezésre használt biofilm réteg kiépítésében, abból kifolyólag, hogy ennek a kialakuló biofilmnek több oligoszacharid komponense is tartalmaz ramnóz egységeket (pl.: lipopoliszacharidok, diramnolipidek vagy Psl poliszacharid).²⁰⁹ Kutatásaim ezen részében, ezzel a tajvani orvos-biológus kutatócsoporttal együttműködve, ezen lektin működésének pontosabb feltérképezéséhez szintetizáltunk multivalens ramnobiozid származékokat, diramnolipid származékokat és egy L-ramnóz tartalmú pentaszacharidot is. Értekezésem következő részében ezen a területen elért eredményeimet mutatom be.

4.1. A lektinek általános jellemzése

Olyan típusú fehérjék, amelyek nemkovalens kölcsönhatásba lépnek/léphetnek az élő szervezetekben található szénhidrátokkal, széles körben előfordulnak a természetben. Kiemelkedő példák ezekre a makromolekulákra a szénhidrát-specifikus enzimek és antitestek. Ezen felül, az elmúlt évtizedekben e fehérjéknek egy további nagy csoportja is felfedezésre került. A lektinek olyan speciális szénhidrát-kötő fehérjék, amelyek specifikus glikán egységeket képesek felismerni. Ezen a vegyületek mono- és oligoszacharidokhoz is tudnak kötődni reverzibilisen és igen nagy affinitással, ezzel szemben azonban nincs katalitikus aktivitásuk és az antitestekkel ellentétben nem váltanak ki immunválaszt sem. Ezek a molekulák jellemzően kettő vagy több szénhidrátkötő részt tartalmaznak, így ezeket di- vagy polivalenseknek tekinthetjük. Ennek a tulajdonságuknak köszönhetően, amikor kölcsönhatásba lépnek a sejtekkel, például az eritrocitákkal, nemcsak a felszínükön levő szénhidrátokkal hoznak létre kapcsolatot, hanem a sejtek között is képesek

kialakítani összeköttetést. Ez a jelenség nagy mértékben hasonlít az agglutinációhoz.²¹⁰ A lektinek már oldatban is képesek keresztkötéseket kialakítani poliszacharidokkal vagy glikoproteinekkel, így precipitációt okoznak. Azonban, mind az agglutináció, mind a precipitáció meggátolható azokkal a szénhidrát ligandumokkal, amelyekre az adott lektin specifikus. A szénhidrát-felismerő domének strukturális és szekvencia azonosságát alapul véve az állati lektineket különböző családokba sorolhatjuk, így megkülönböztetünk M-, P- C-, I- és S-típusú lektindoméneket. Ezek a molekulák különböző szerepet játszanak a fiziológiai folyamatokban, sejtfelszíni receptorként funkcionálhatnak, interakciót mediálhatnak sejtek között a fejlődés és differenciáció alatt, illetve különböző idegen molekulákat képesek felismerni. Fontos szerepük van a behatoló patogének felismerésében, immobilizálásában és eliminációjában is.

A patogének elleni védelemben létezik veleszületett és szerzett immunitás. Míg a magasabb rendű, gerinces élőlényekben mindkettő megtalálható, addig az alacsonyabb rendű, gerincteleneknek csak veleszületett immunitása van. A természetes immunrendszer fehérjéi a különböző patogének azonos részleteit ismerik fel, így azok szénhidrát és lipid molekuláinak molekuláris mintázata (Pathogen Associated Molecular Pattern – PAMP) az adott patogénre jellemző. Fontos megemlíteni, hogy ezek a molekuláris mintázatok nem fordulnak elő a magasabb rendűek szervezetében, de a patogén túléléséhez nélkülözhetetlenek, ezért szigorúan megőrződtek az evolúció során. Ilyen jellegzetes, megkülönböztető mintázat pl. a Gram-negatív baktériumok falában jelenlevő lipopoliszacharidok (LPS), vagy a Gram-negatív és a Gram-pozitív baktériumokra egyaránt jellemző teikolsav.

4.2. A törfarkú rák

A törfarkú rák egy ősi (reliktum) tengeri ízeltlábú, vagyis csak veleszületett immunrendszerrel rendelkezik. Rendszertani felosztásukat tekintve a családba 3 ma is élő nem tartozik 4 fajjal.

- Carinoscorpius nem, 1 faj
 - mangrove törfarkú rák (*Carinoscorpius rotundicauda*), Délkelet-Ázsiában
- Limulus nem, 1 faj
 - atlanti törfarkú rák (*Limulus polyphemus*), az Atlanti-óceán északnyugati partvidékén és a Mexikói-öböl partvidékén
- Tachypleus nem, 2 faj
 - parti törfarkú rák (*Tachypleus gigas*), Dél- és Délkelet-Ázsia partvidékén
 - japán törfarkú rák (*Tachypleus tridentatus*, **62. ábra**), Kelet-Ázsia partjainál. (A tajvani partnereink ezzel a fajjal foglalkoznak.)



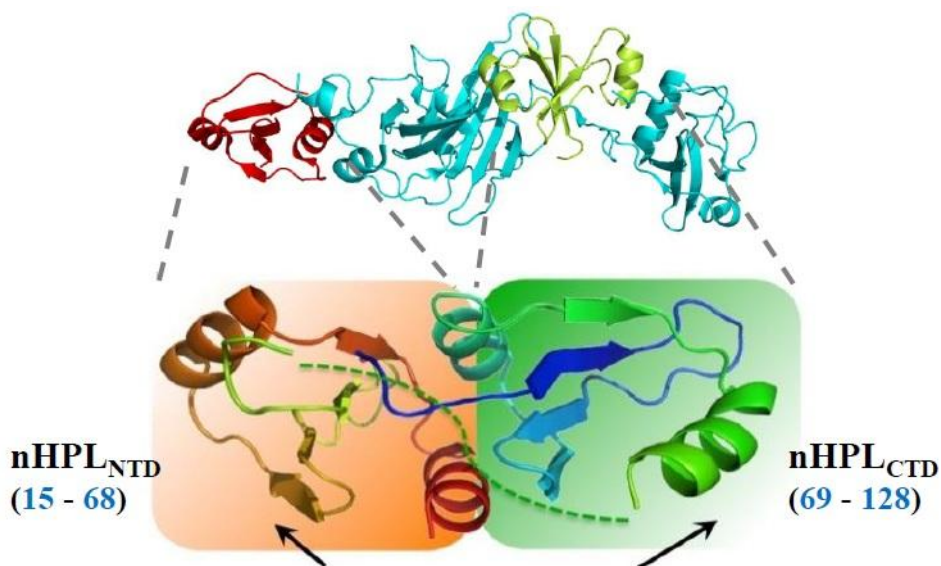
62. ábra: A *Tachypleus tridentatus* (Japán törfarkú rák)

A törfarkú rák vérplazmája számos vízdékony molekulát tartalmaz, mint pl. hemocianin, C-reaktív protein, α_2 -makroglobulin és a lektinek, melyek védelmi szerepet töltenek be.²¹¹ A hemocianin oxigénszállító proteinként funkcionál. A C-reaktív protein egy akut fázis fehérje, ami a májban termelődik. Elhalt vagy sérült sejtek membránjához, foszfolipid vagy glikán egységekhez vagy egyéb sejtalkotókhoz tud kapcsolódni, ezáltal aktiválja a szervezet nem specifikus immunrendszerét. Az α_2 -makroglobulin pedig proteáz inhibitorként funkcionál. Mindezek mellett más egyéb lektineket is meghatároztak, melyek széles specifitással rendelkeznek. Ezen lektinek feladata, hogy megvédjék a törfarkú rákokat a kórokozó patogénektől. A japán törfarkú rák vérplazmájában 6 fajta lektin található. Ezek: Tachylectin-1 (TL-1), TL-2, TL-3, TL-4, amik a vér sejt komponenseiből származnak, TL-5A és TL-5B pedig a vérplazmából. A tajvani kutatóknak a törfarkú rákból a *Tachypleus* plazma lektin 1-et (TPL-1) és a *Tachypleus* plazma lektin 2-t (TPL-2) is sikerült izolálni és karakterizálni, mint újszerű vérnyirok proteint, ami a plazmába szekretálódik.

4.3. A törfarkú rák plazma lektin (nHPL) és rekombináns változata (rHPL)

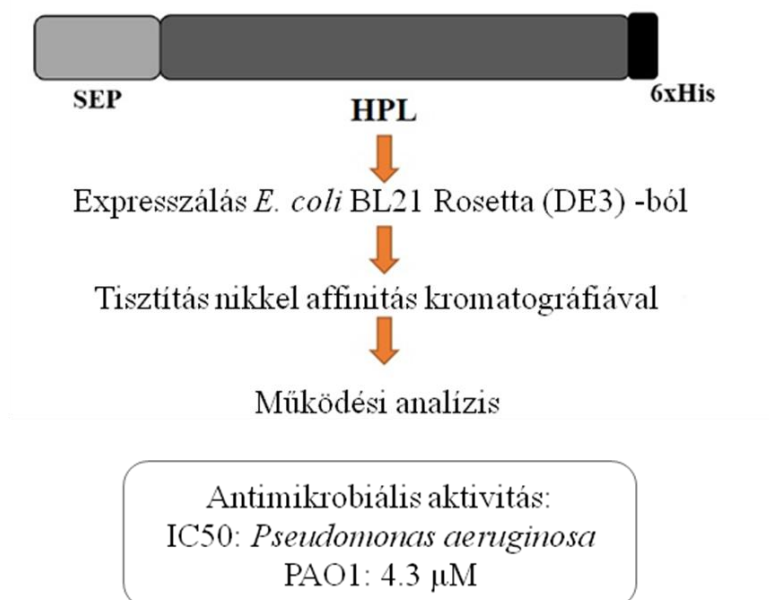
A tajvani kutatók által vizsgált törfarkú rák plazma lektin (nHPL) 128 aminosavból épül fel, szekvenciája 80%-ban megegyezik a TL-3 lektinnel. Glikozil-rész nélkül 14 kDa, míg glikozil-résszel 17 kDa tömegű lipopoliszacharid-kötő fehérje. A pontos 3D szerkezete még nem volt ismert (**63. ábra**). Ez a lektin három fajta baktériumhoz is tud kötődni, még hozzá dóziszfüggő módon: 1. *Streptococcus pneumoniae* R36A (Gram-pozitív), *Vibrio parahaemolyticus* (Gram-negatív) és *Escheria coli* Bos-12 (Gram-negatív).²⁰⁹ Ennek a tulajdonságának köszönhetően azonosítani képes a baktérium-sejtfal szénhidrát komponenseit, ez pedig egy alternatív módot jelent a szervezetbe bekerülő patogének detektálására, gátlására valamint szelektív eltávolítására. További jelentősége, hogy a PAMP alapján felismeri az *Escherichia coli* fajt. Ezt alapul véve a tajvani kutatócsoportnak

sikerült egy vízoldható és aktív rekombináns törfarkú rák plazma lektint (rHPL, recombinant horseshoe crab plasma lectin) expresszáltatni *Escherichia coli* tenyészetekkel (64. ábra).



63. ábra: Az nHPL feltételezett szerkezete

Ezt követően pedig kimutatták, hogy ez a rHPL lektin szelektíven kötődni képes klinikai törzsekből izolált *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* és *Streptococcus pneumonia* szerotípusokhoz a baktériumok felszínén lévő molekuláris mintázat ramnobióz alegységével kialakuló specifikus molekuláris kölcsönhatás révén. Megfigyelték továbbá, hogy ez a rekombináns lektin koncentrációtól függő módon képes volt gátolni a *P. aeruginosa* PAO1 növekedését is.



64. ábra: A rekombináns törfarkú rák plazma lektin előállítása

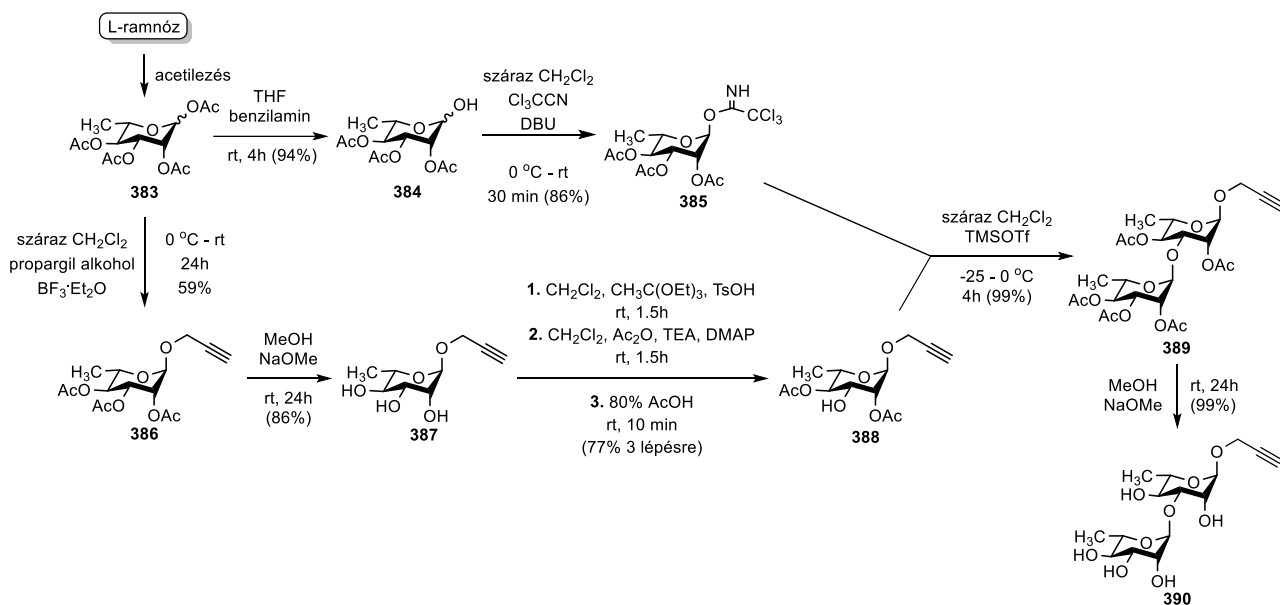
Az rHPL és a patogén baktériumok közötti ezen kölcsönhatás diagnosztikai és terápiás célokra is hasznosítható lehet. Ezért volt nagy jelentőségű az rHPL lektin glikán-kötődési

specifitásának pontosabb jellemzése. Előzetes gátló ELISA vizsgálatokban α -(1,2)- és α -(1,3)-glikozidos kötésű ramnobiozidokkal és magasabb rendű ramno-oligoszacharidokkal azt állapították meg, hogy az α -(1,3)-kötésű ramnobiozid volt képes a legnagyobb hatékonysággal gátolni az rHPL és a baktériumok közötti kölcsönhatás kialakulását. Ezért mi is ezt az α -(1,3)-kötésű diszacharid egységet választottuk a többértékű (multivalens) származékok és a diramnolipidek szintéziséhez. Ismert ugyanis, hogy a multivalencia növeli a szénhidrát-ligandumok affinitását a lektinek felé egy ún. klaszterhatáson keresztül,^{212,213} ehhez a hatékony többértékű kölcsönhatás létrehozásához azonban a monovalens ligandumok megfelelő távolságára és orientációjára is szükség van. Számos paraméter, beleértve a vegyérték, a többértékű váz szerkezete, valamint a linkerkar mérete és jellege is befolyásolhatja a kötődési folyamatot.^{214,215}

5. L-Ramnóz tartalmú oligoszacharidok szintézise és biológiai vizsgálata - Saját eredmények

5.1. Multivalens ramnobiozid származékok szintézise és lektin-kötő tulajdonsága

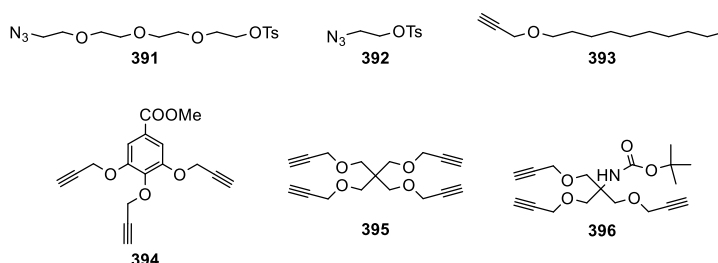
A tervezett lektin-kötő vizsgálatokhoz elsőként multivalens ramnobiozid származékokat állítottunk elő. A tajvani kutatók által elvégzett előzetes biológiai vizsgálatok alapján már tudtuk azt, hogy a lektinnek az α -(1,3)-kötésű diramnozidhoz van a legnagyobb affinitása, ezért ezt a származékot állítottuk elő nagyobb mennyiségben a multivalens származékok szintéziséhez. Ehhez a **65. ábrán** látható úton szintetizáltuk a monoszacharid építőelemeket. A hordozóhoz való kapcsolást klikk-reakcióval terveztük kivitelezni, ezért az akceptort propargil aglikonnal láttuk el (**388**). A könnyű eltávolíthatóságot és a sztereokémiai irányító hatását szem előtt tartva acetil védőcsoportokat alkalmaztunk a szintézis során. A donor és az akceptor építőelemek szintézisét *tetra-O*-acetyl-L-ramnópiranózból (**383**)²¹⁶ kiindulva valósítottuk meg (**65. ábra**).



65. ábra: A monoszacharid építőelemek, a védett α -(1-3)-kötésű diramnozid (**389**) és a referenciaként használt vegyület (**390**) szintézise

A **383**-as származék anomer dezacetilezése benzil-aminnal a **384**-es hemiacetált eredményezte, amelyet két lépésben alakítottak tovább a **385**-ös²¹⁷ triklór-acetimidát donorrá. Ezzel párhuzamosan, a **383**-as vegyületet propargil-alkoholhoz kapcsolták $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ jelenlétében, majd a **386**-os²¹⁸ terméket Zemplén-körülmények között dezacetileztük, így megkapva a **387**-es²¹⁹ triolt. A **387**-es származék szabad hidroxil csoportjainak differenciálása három lépésben történt, beleértve a ciklikus ortoacetát képzését a 2,3-*cis*-diolon, a 4-OH csoport acetilezését és az ortoészter regioszelektív felnyitását enyhe savas hidrolízissel, eljutva így a **388**-as akceptorhoz, amely már

csak egy szabad hidroxil csoportot tartalmazott a C-3 pozícióban. A **385**-ös donor és a **388**-as akceptor közötti kondenzáció trimetilszilil-triflát iniciáció mellett teljes konverzióval és sztereoszelektivitással ment végbe, így 99%-os hozammal keletkezett az α -kötésű **389**-es diszacharid. A glikozilezés szükséges α -szelektivitását a donor C-2 helyzetű acetyl csoportja biztosította. A **389**-es vegyület bioaktív építőegységként szolgált a többértékű származékok szintéziséhez. A **389**-es vegyületet Zemplén-féle dezacetilezéssel katalitikus mennyiségű NaOMe-tal metanolban a **390**-es ramnobiliziddá alakítottuk, amelyet a lektin-kötési vizsgálatokban referencia molekulaként használtunk fel. Majd az így kapott diszacharid származékot klikkreakcióval négy, geometriailag eltérő típusú hordozóhoz (**393**, **394**, **395**, **396**) kötöttük két eltérő hosszúságú linker (etilénglikol, **392** és tetraetilénglikol, **391**) felhasználásával (**66. ábra**). Ezzel tudtuk vizsgálni a kialakuló multivalens vegyületek térbeli elrendeződésének és a linker hosszának hatását a lektinhez való kötődésben.

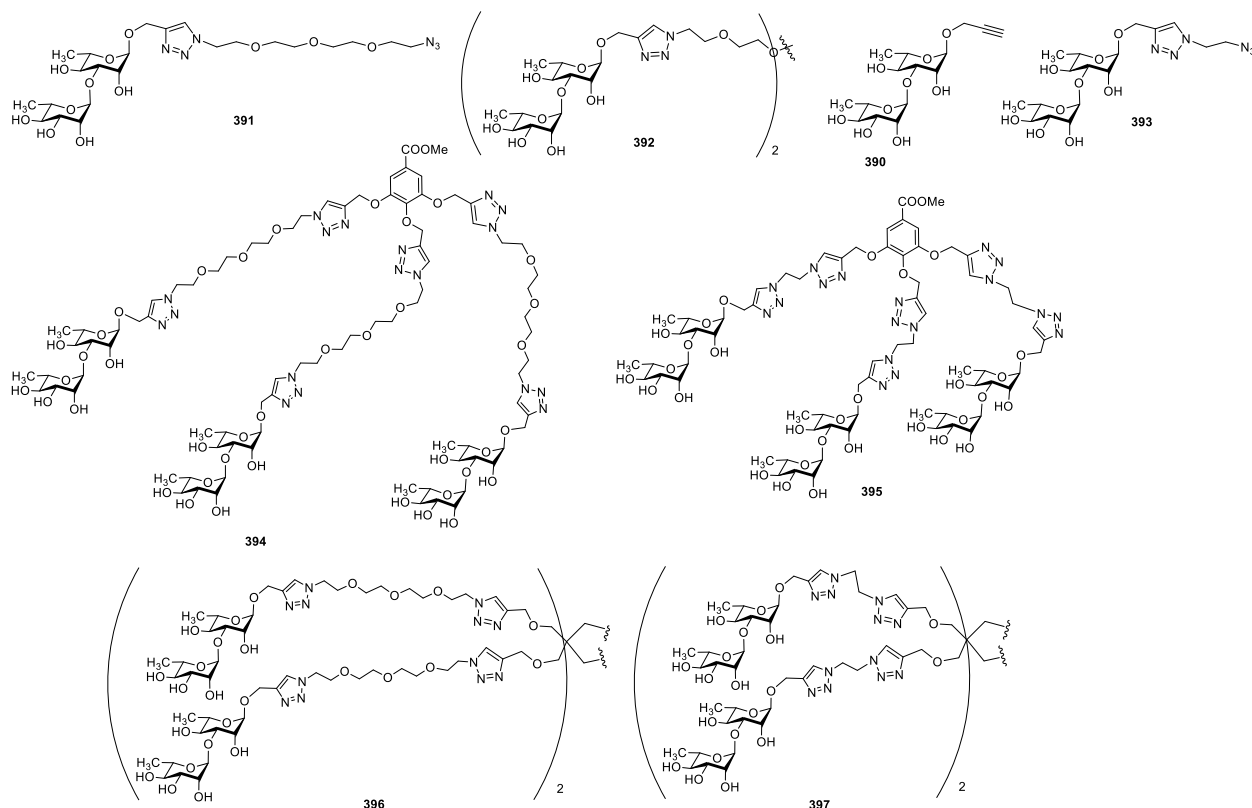


66. ábra: A felhasznált linkerek (**391**, **392**) és hordozók szerkezete (**393**, **394**, **395**, **396**)

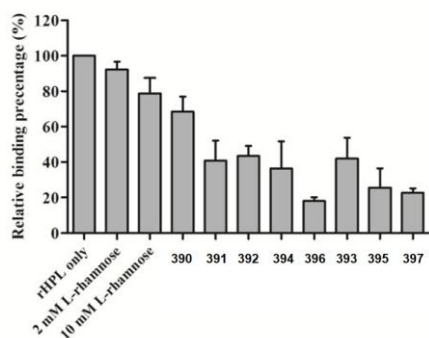
Mind az etilénglikolt, mind a tetraetilénglikol linkert Cu(I)-katalizált azid-alkin cikloaddíciós reakcióval^{220,221} kapcsoltuk a cukor építőphoz, majd ezeket a származékokat a különböző hordozókhoz is. A reakciókban réz(I)-jodidot használtunk Cu(I) forrásként, trietil-amin bázis jelenlétében. Az irodalomból ugyanis jól ismert, hogy a CuI és a CuBr reagensek legalább egy amin bázist igényelnek a Cu-acetilid komplexek kialakításához. Ugyanis ezek a részök kezdetben stabil klasztereket képeznek, és bizonyos koncentrációjú acetilid anionra van szükségük a reaktív komplex kialakulásához.^{221,222} Hasonlóan korábbi kísérleteinkhez,^{223,224} itt is azt tapasztaltuk, hogy a trietil-amin (TEA) hatékonyan alkalmazható az azid-alkin klikk reakciókban. Ezt követően, az acetyl védőcsoportok Zemplén-körülmények közötti eltávolításával sikeresen állítottunk elő monovalens (**391**, **393**), bivalens (**392**), trivalens (**394**, **395**) és tetravalens (**396**, **397**) származékokat a rövid és a hosszú linker felhasználásával is (**67. ábra**), majd a tajvani partnereink elvégezték a lektinhez való kötődési vizsgálatokat (**68. ábra**).²²⁵

A rekombináns törfarkú rák plazma lektinről korábban kimutatták, hogy felismeri a *P. aeruginosa* PAO1 baktériumot, és ez a kölcsönhatás gátolható az L-ramnóz jelenlétével, ami azt jelzi, hogy az rHPL a baktériumok felszínén található L-ramnóz rész révén ismeri fel a baktériumokat.²⁰⁹ A vizsgálatok során az előállított, különböző ramnóz tartalmú, multivalens

ramnobiozidokat alkalmazták 2 és 4 mM-os koncentrációban 0,5 μ M koncentrációjú rHPL és *P. aeruginosa* PAO1 közötti kötődés gátlására, az L-ramnóz-monoszacharid, mint standard használatával összehasonlítva (68. ábra).



67. ábra: Néhány multivalens ramnobioid és a monovalens referencia vegyületek szerkezete



68. ábra: A multivalens ramnobioidok gátló hatása az rHPL-baktérium kölcsönhatására.

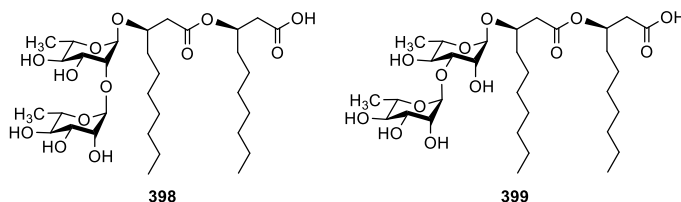
A várakozásainknak megfelelően 2 mM L-ramnóz hozzáadásakor az rHPL *P. aeruginosa* PAO1-hez való kötődési aktivitása csak 92,2±4,4%-ra, 10 mM L-ramnóz esetén pedig 78,7±8,8%-ra csökkentette. A referencia vegyület, a ramnobióz (390) esetében, ahol már két egymást követő terminális ramnóz egység is van, az rHPL-baktérium kölcsönhatás gátlása 68,4±8,5%-os volt, ami erősebb hatást jelez, mint a monoszacharid esetében. A triazol-tartalmú linkert hordozó 391-es és 393-as ramnobioid származékok még erősebb gátló hatást mutattak, ami az rHPL *P. aeruginosa*

PAO1-hez való kötődésének $40,8 \pm 11,3\%$ -át, illetve $42,0 \pm 11,8\%$ -át eredményezte. A tetraetilénglikol-linkert tartalmazó multivalens ramnobiozidok esetében a négy ramnóz egységet tartalmazó **392**-es, a hat ramnózt tartalmazó **394**-es és a nyolc ramnózt tartalmazó **396**-os vegyület az rHPL és a *P. aeruginosa* PAO1 közötti kötődést rendre $43,5 \pm 5,7\%$ -ra, $36,4 \pm 15,3\%$ -ra és $18,1 \pm 2,2\%$ -ra csökkenthette, ami egyértelműen arra utal, hogy több ramnóz-egység erősebb gátló hatást fejtett ki.

Az etilénglikol-linkert tartalmazó multivalens ramnobiozidok esetében a hat ramnóz egységet tartalmazó **395**-ös vegyület és a nyolc ramnózt tartalmazó **397**-es vegyület $25,6 \pm 11,0\%$ -ra, illetve $22,7 \pm 2,5\%$ -ra csökkenthette az rHPL és a PAO1 közötti kötődést. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy az összes szintetikus ramnobiozid-származékunk képes volt gátolni az rHPL PAO1-hez való kötődését, és a ramnozidokban található magasabb ramnóz-tartalom erősebb gátló hatást eredményezett az rHPL bakteriális felismerő aktivitására. A háromértékű ramnobiozidok mutatták a legerősebb gátló hatást az rHPL-baktérium kölcsönhatásra.²²⁵ Továbbá a tetraetilénglikol-, illetve etilénglikol-linkert tartalmazó ramnobiozid származékok erősebb gátló hatást mutattak, mint a **390**-es referenciavegyület, linker beépítése nélkül, ami arra utal, hogy a linker régió is befolyásolhatja az rHPL bakteriális felismerését, esetleg az rHPL-lel kialakított nem kovalens kölcsönhatások révén (valószínűleg hidrogénkötés révén).

5.2. Diramnolipidek szintézise és biológia vizsgálata

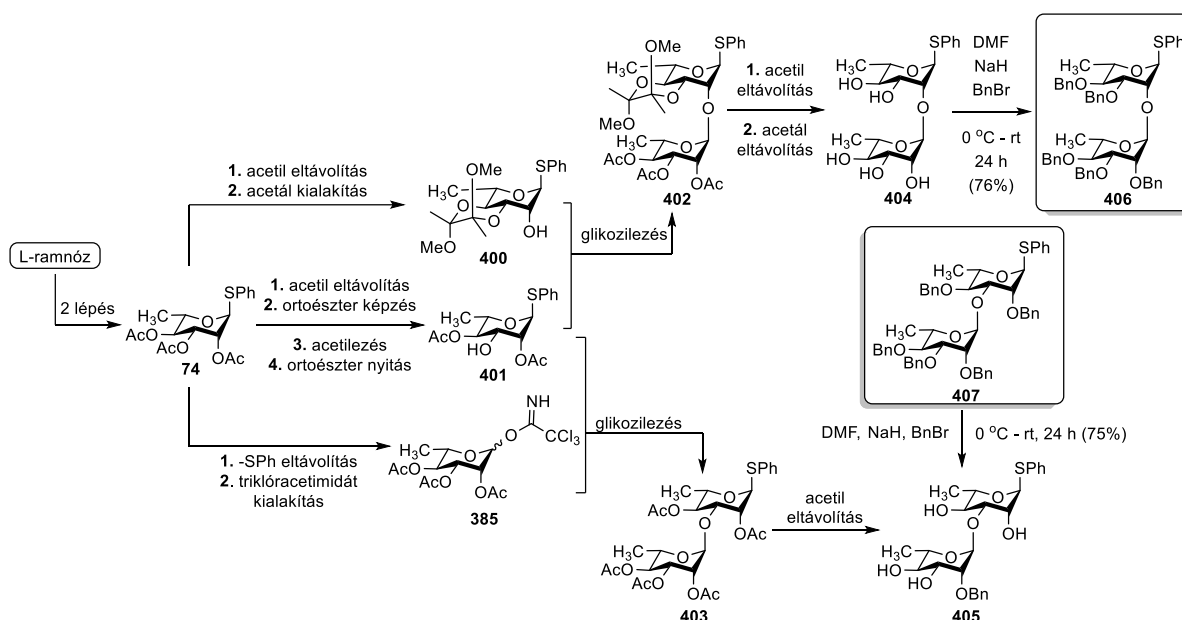
A tajvani kutatócsoporttal való együttműködés keretében, folytatva az L-ramnóz tartalmú vegyületek szintézisét előállítottunk egy α -(1,2)- és egy α -(1,3)- kötésű ramnolipid származékot is az rHPL lektin biofilm-képződés gátló hatásának pontosabb feltérképezéséhez, a hatásmechanizmus megismeréséhez. A kutatás ezen részében a mi feladatunk a kereskedelmi forgalomban nem kapható ramnolipidek (**69.ábra**, **398**, **399**) hatékony szintézisének megtervezése és megvalósítása volt. Az α -(1,2)-kötésű (**398**) származék szintézisére két példa található a szakirodalomban,^{226,227} de az α -(1,3)-kötésű diramnolipid (**399**) előállítását előttünk még nem közölték le.



69. ábra: A tervezett diramnolipidek (**398**, **399**) szerkezete

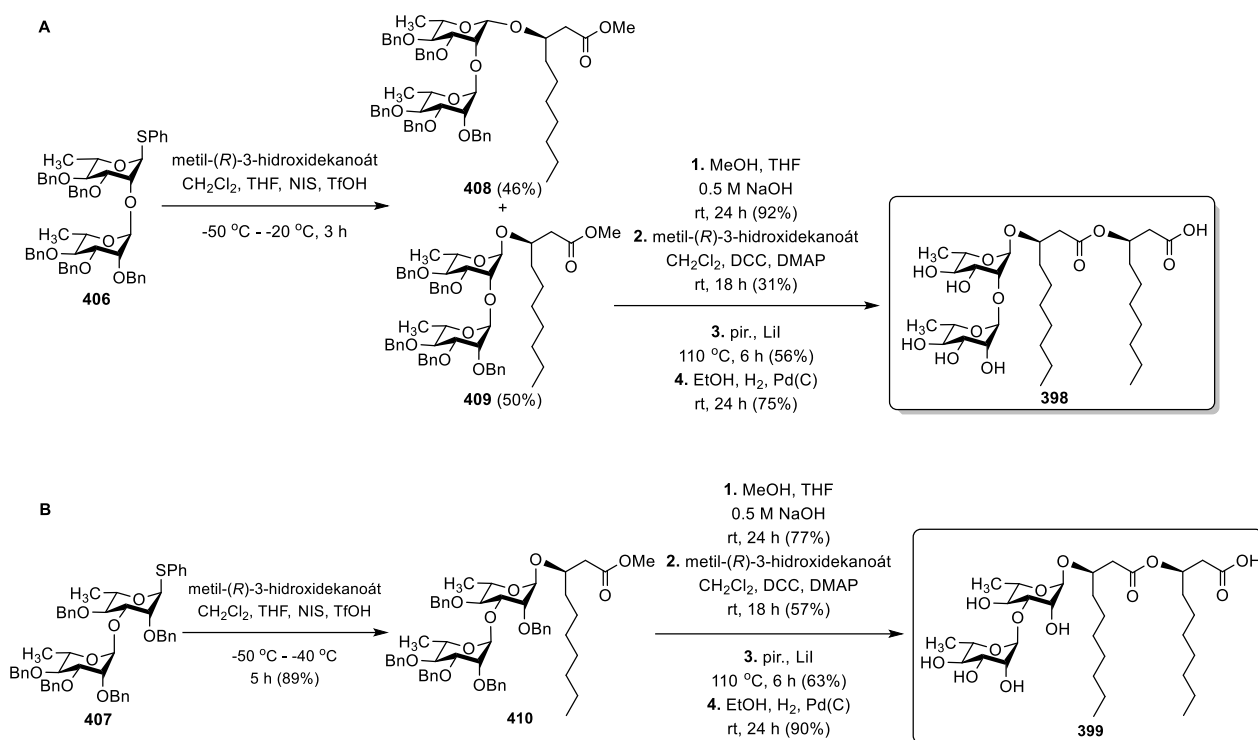
A tervezett végtermékek előállítását a lehető legegyszerű szintetikus úton terveztük kivitelezni. Ez ugyan eltért a szakirodalomban bemutatott módszerektől, de mindkét regioizomer

előállítására alkalmasnak bizonyult. A tervezett α -(1,2)- (398) és α -(1,3)-kötésű (399) diramnolipidek szintéziséhez használt szabad diszacharid donorok (404, 405) szintézisének optimalizálását egy korábbi publikációnkban már ismertettük.²²⁸ Ehhez elsőként a megfelelően védett monoszacharid egységeket szintetizáltuk (70. ábra), amihez fel tudtuk használni a multivalens származékok szintéziséhez használt építőelemeket is. Így a diramnozid egységeket elő tudtuk állítani három védett ramnóz származékból (385, 400, 401). A molekulák szintézisét a megfelelően védett, akceptorként használt, ramnóz egységek (400, 401) előállításával kezdtük. Szabad ramnopiranozból kiindulva ezeknek az egységnek a szintézise összesen 4-6 lépést vett igénybe. Majd a védett tioglikozidból (74) kiindulva előállítottuk a donorként használt triklóracetimidát származékot is két lépésben (385). Ezen három származék kombinálásával állítottuk elő a tervezett, α -(1,2)- (402) és α -(1,3)-kötésű (403) védett diramnozid származékokat.



70. ábra: A benzil-védett diszacharid építőelemek (406, 407) előállítása

A továbbiakban az így előállított diramnozid építőelemeket (402, 403) átalakítottuk, és ezáltal alkalmassá tettük őket a zsírsavláncok beépítésére. Az általunk tervezett leoptimalisabb útvonal alapján elsőként benzil csoportokra cseréltük a diszacharidok védőcsoportjait mind a 402-es, mind a 403-as származékokon, hogy szelektíven el tudjuk távolítani a zsírsavészterek mellől a szintézis végén. Ehhez elsőként lehasítottuk a 402-es származék BDA-acetál védőcsoportját savas körülmények között, majd Zemplén-körülmények között, mindkét vegyületről, eltávolítottuk az acetyl csoportokat, előállítva így a 404-es és a 405-ös szabad származékokat. Ezen vegyületek szabad -OH-csoportjait pedig lúgos körülmények között benzileztük, eljutva így az éter védett származékokhoz (406, 407). Ezekkel a vegyületekkel, egymással párhuzamosan, glikozileztük az R-3-hidroxidekánsv metil-észter származékát (71. ábra, A és B reakcióút).

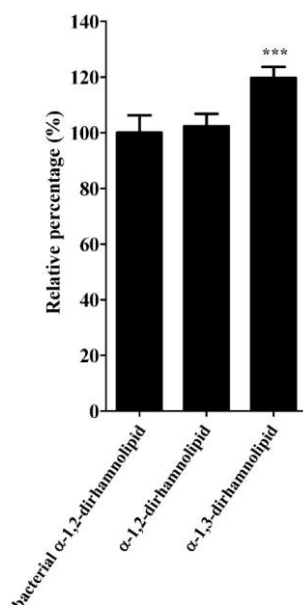


71. ábra: A zsírsavláncok beépítése és a védőcsoportok eltávolítása

Elsőként az α -(1,2)-kötésű származékot állítottuk elő (71. ábra, A). Ehhez a védett **406**-os származékkal glikozileztük metil-(*R*)-3-hidrohidekanoátot NIS/TfOH promoter rendszer segítségével. A kapcsolási reakcióból a várt α -kötésű **409**-es származék (50%) mellett a β -kötésű **408**-as sztereoizomert (46%) is izoláltuk. Ez feltehetően annak köszönhető, hogy a C-2 pozícióban lévő ramnozil-egység nem-résztevő csoportként működött, és nem fejtett ki árnyékoló hatást az α - vagy β -oldalakon. Ennek eredményeként a két anomer közel 1:1 arányban képződött. Szerencsére a két sztereoizomert sikeresen el tudtuk választani oszlopkromatográfiával egymástól, így a tiszta α -kötésű **409**-es diramnolipiddel tudtuk folytatni a szintézist. A teljesen védett diramno-dilipid előállításához először a **409**-es származék dekánsav részének metil-észter-csoportját lúgos hidrolízissel eltávolítottuk, majd az így kapott vegyület második lipid-részét észteresítési reakcióval vittük be, melyhez az aktív karbonsav-származékot *in situ* állítottuk elő *N,N'*-diciklohexil-karbodiimid (DCC) reagenssel 4-(dimetil-amino)piridin (DMAP) jelenlétében. A reakcióban csak alacsony hozammal kaptuk a várt védett diramno-dilipid származékot. Az α -(1,2)-kötésű célvegyületet (**398**) végül a metil-észter-csoport LiI reagenssel történő szelektív eltávolításával, majd a diszacharid rész benzil csoportjainak katalitikus hidrogénezéssel történő lehasításával kaptuk meg. Ezek a reakciók jó hozammal eredményezték a várt ramnobiozil-dilipidet (**398**).

Ezzel párhuzamosan a **407**-es diszacharidból előállítottuk az α -(1,3)-kötésű származékot (**399**) (71. ábra, B) is. Az α -(1,2)-kötésű származék előállításához hasonló úton, a benzil-védett származékot (**407**) kapcsoltuk a már korábban is alkalmazott dekánsav-metil észterrel, eljutva így a

várt α -kötésű **410**-es vegyülethez, melyet kiváló hozammal és sztereoszelektivitással tudtuk izolálni a reakcióelegyből. Ebben az esetben, vélhetően a 3-as pozícióban lévő nagy térkitöltésű ramnozil-egység kizárólag az első ramnóz-egység glikozidos centrumának β -oldalát (alsó oldalát) tudta leárnyékolni. Ez a szterikus gátlás, az anomer effektus és a nem-résztvevő benzil-csoport jelenléte a 2-es pozícióban együttesen biztosította a glikozilezési reakció kizárólagos α -szelektivitását. Ezt követően a dekánsav egység metil-észter-csoportját 0,5 M-os NaOH-oldattal eltávolítottuk, ami jó hozammal eredményezte a szabad karbonsav-származékot. Ennek a vegyületnek a második metil-(*R*)-3-hidroxidekanoáttal történő észteresítése a korábban leírt DCC/DMAP reagens kombinációval elfogadható hozammal eredményezte a védett diramno-dilipidet, majd a metil-észter csoport szelektív eltávolítása és a benzil csoportok katalitikus hidrogenolízise után jó hozammal kaptuk meg a szabad α -(1,3)-kötésű **399**-es végterméket is.

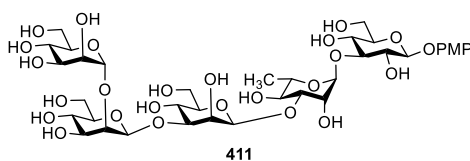


72. ábra: Az rHPL lektin kötődése a bakteriális és a szintetikus (**398**, **399**) diramnolipidekhez

Az rHPL lektin két szintetikus diramno-dilipid származékhoz (**398**, **399**) való kötődését baktériumokból kivont diramnolipidhez viszonyítva közvetlen ELISA-val határozták meg a tajvani partnereink (**72. ábra**). Az rHPL kötődése az α -(1,3)-kötésű diramnolipidhez (**399**) szignifikánsan erősebb volt, mint az α -(1,2)-kötésű diramnolipidhez (**398**) vagy a bakteriális α -(1,2)-kötésű diramnolipidhez, relatív kötődésük rendre $119,7 \pm 3,9\%$, $102,3 \pm 4,5\%$ és $100 \pm 6,3\%$ volt. Az rHPL A=590 nm értéke az α -(1,3)-kötésű diramnolipidhez, az α -(1,2)-kötésű diramnolipidhez és a bakteriális α -(1,2)-kötésű diramnolipidhez rendre $0,98 \pm 0,03$, $0,84 \pm 0,04$ és $0,82 \pm 0,05$ volt. Nem volt szignifikáns különbség az rHPL bakteriális és szintetikus α -(1,2)-kötésű diramnolipidhez való kötődésének erőssége között. Ez az eredmény megerősítette, hogy az rHPL az α -(1,3)-kötésű diramnozidot részesítette előnyben az α -(1,2)-kötésű diramnoziddal szemben (**72. ábra**).²²⁹

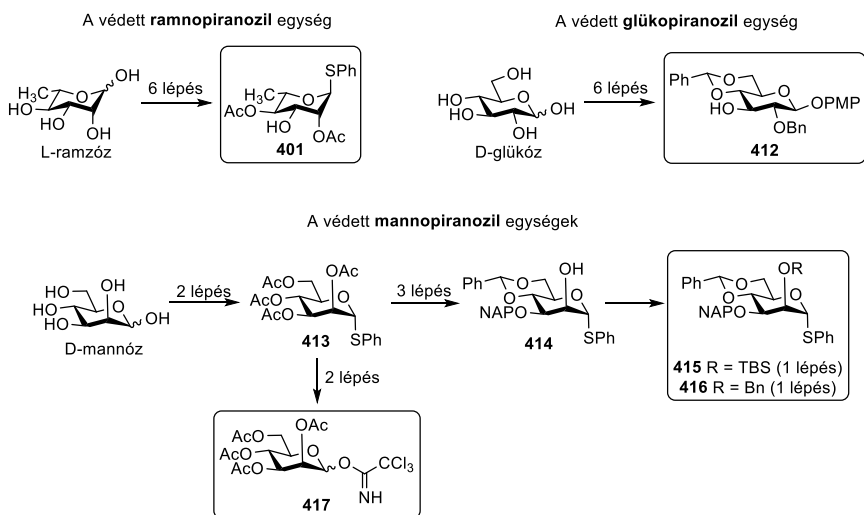
5.3. A Psl pentaszacharid szintézise és az rHPL lektinnel való kölcsönhatása

A munka folytatásaként a *Pseudomonas aeruginosa* Psl exopoliszacharid pentaszacharid részének az rHPL lektinnel való kölcsönhatásának pontosabb feltérképezéséhez a tajvani kutatókkal együttműködésben célul tűztük ki a Psl exopoliszacharid pentaszacharid egységének (**411**) hatékony szintézisét és biológiai vizsgálatát. Ezen belül a mi feladatunk a kereskedelmi forgalomban nem kapható pentaszacharid rész (**73. ábra, 411**) hatékony szintézisének megtervezése és megvalósítása volt.¹⁷⁹



73. ábra: A Psl exopoliszacharid anomer centrumán módosított pentaszacharid részének (**411**) szerkezete

A tervezett pentaszacharid (**411**) előállításához elsőként a megfelelően védett monoszacharid egységeket szintetizáltuk (**74. ábra**). Az oligomer öt egysége előállítható volt három kiindulási szénhidrátból (**L-ramnóz, D-glükóz, D-mannóz**).

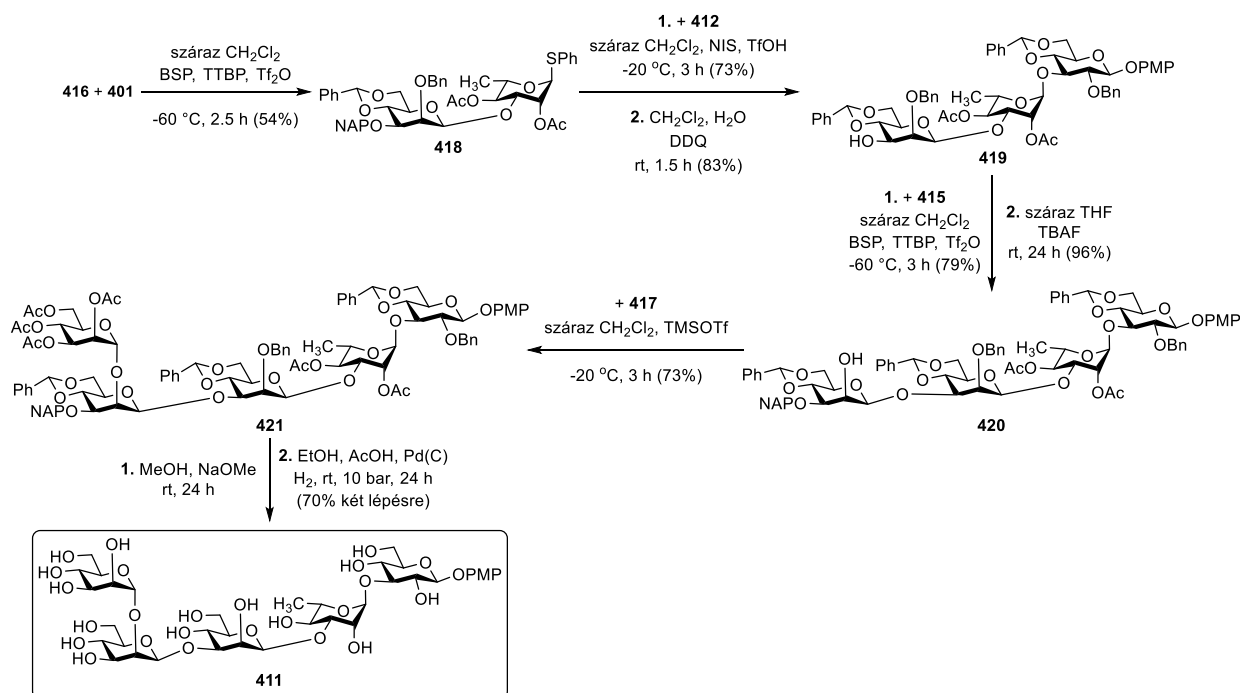


74. ábra: A védett monoszacharid egységek előállítása

A szintézist a megfelelően védett ramnóz egység (**401**) előállításával kezdtük, melyet először akceptorként tervezünk használni a kapcsolási reakciókban. Szabad L-ramnopiranozból kiindulva ennek az egységnek a szintézise 6 lépést vett igénybe,^{225,228,229} továbbá az akceptorként használt glükóz építőelemet (**412**) szintén 6 lépésben állítottuk elő, irodalmi példák alapján.^{230,231} Mivel ez az egység lett a pentaszacharid kezdő egysége, az anomer centrumot a szintézis egyszerűsítése

érdekében 4-metoxifenil csoporttal rögzítettük. Az α -mannozidos kötés kialakítását a peracetilezett triklóracetimidát donorral (**417**)²³² valósítottuk meg. Továbbá ezen molekula szintézisének köztitermékéből (**413**) elő tudtuk állítani a másik két, speciálisan védett mannóz részt is a β -mannozidos kötések kialakításához (**415**, **416**).^{233–235}

A továbbiakban, ezen egységek felhasználásával építettük fel a tervezett védett pentaszacharidot. A munka során kihívást jelentett a β -mannozidos kötés kialakítása, valamint a használt tioglikozidok szelektív aktiválása (75. ábra). A sztereoszelektív β -mannozilezést *in situ* triflát képzésen keresztül Crich és munkatársai fejlesztették ki.^{236,237}

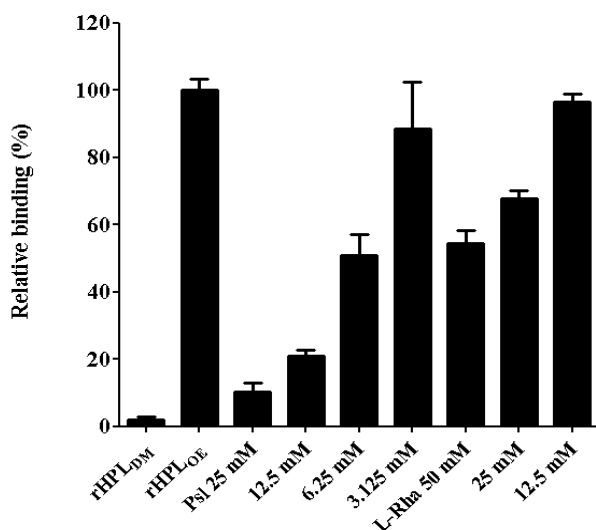


75. ábra: A védett pentaszacharid (**421**) szintézise és átalakítása

Ezen példát követve kapcsoltuk a **416**-os mannozil donort és a **401**-es ramnozil akceptort 1-benzolszulfonil-piperidin (BSP), 2,4,6-tri-*terc*-butilpirimidin (TTBP) és trifluormetánszulfonsav-anhidrid (TF_2O) használatával. A reakció optimalizálása után jó hozammal és sztereoszelektivitással nyertük a várt β -mannozidos kötésű terméket (**418**). Ezután a **418**-as diszacharid donorral glikozileztük a **412**-es glükózil akceptort NIS/TfOH promoter rendszer alkalmazásával. A reakcióban jó hozammal és sztereoszelektivitással képződött a várt védett triszacharid, melyet oxidatív úton (C-4'''-NAP-eltávolítás) alakítottunk akceptorra (**419**), majd kialakítottuk a második β -mannozidos kötet is, az előzőhöz hasonló körülmények között. A reakcióban a várt, védett tetraszacharid teljes sztereoszelektivitással és kiváló hozammal képződött, melyet a C-2''''-szilil csoport eltávolításával alakítottunk akceptorra (**420**). Ezt követően az így kapott tetraszacharid akceptort glikozileztük a mannozil imidát donorral (**417**) TMSOTf aktiválás mellett, a reakcióban kiváló hozammal képződött a várt, védett pentaszacharid (**421**), melyet további 2 lépésben

(dezacetilezés és katalitikus hidrogénezés) sikeresen alakítottunk át a biológia vizsgálatokra alkalmas szabad formává (**411**).¹⁷⁹

Elmondhatjuk, hogy az egyes monoszacharid építőelemek felhasználásával, jó hozammal sikerült előállítani a tervezett pentaszacharidot 26 lépésben, lineáris szintézis stratégiát követve. A tajvani partnereink elvégezték a biológiai vizsgálatokat, melyek alapján az általunk előállított pentaszacharid kiváló affinitást mutatott az rHPL lektin felé. Az eredményekből jól látható, hogy a Psl pentaszacharid 6,7-szer nagyobb gátló hatással rendelkezik, mint a referenciaként használt L-ramnóz (**76. ábra**).¹⁷⁹



76. ábra: A Psl pentaszacharid gátló hatása az rHPL_{OE} – biofilm kölcsönhatás kialakulására

6. Az eredmények hasznosíthatósága

Kutatási munkám során egyrészt új módszereket fejlesztettünk ki heparin-analóg oligoszacharidok és L-ramnóz tartalmú di- illetve pentaszacharid származékok előállítására, valamint kidolgoztunk egy új eljárást az L-idóz tioglikozid előállítására, amely kiterjeszthető más hexózekre, és általánosan alkalmazható ritka L-hexózek szintézisére. Másrészt az általunk szintetizált, biológiailag aktív szénhidrát-származékok felhasználásával alaposabban megismerhettük a kutatásinkhoz kapcsolódó fehérjék (pl.: antitrombin, rHPL lektin) szénhidrátokkal való kölcsönhatásának természetét. Mindezek mellett az előállított vegyületek szintézise során kidolgozott módszerek hozzájárultak a szénhidrátkémiai szintézismódszerek (glikozilezési reakciók, védőcsoport manipulációk, L-hexózek szintézise) fejlődéséhez. Az L-hexózek felhasználásával a későbbiekben készülhetnek biológiailag hatásos molekulák (pl. aminodezoxi-L-cukrok, aminoglikozid-antibiotikumok), melyek gyógyszerkémiailag fejlesztés alapját képezhetik.

7. Összefoglalás

Doktori értekezésemben D-glükuronsav és L-iduronsav tartalmú, nem-glükózaminoglikán típusú, heparin és heparán-szulfát analóg oligoszacharidok szintéziséről, valamint L-ramnóz tartalmú lektin kötő aktivitással rendelkező oligoszacharidok előállításáról, és ezen vegyületek biológiai vizsgálatainak eredményeiről számoltam be. Az elvégzett munka legfontosabb eredményeit az alábbiakban foglalom össze.

7.1. Nem-GAG típusú, heparin és heparán-szulfát analóg triszacharidok és szulfonsav tartalmú maltooligomer származékok szintézise és biológiai aktivitásuk vizsgálata

Szintetizáltunk 12 idraparinux és 1 fondaparinux fragmens triszacharidot, melyeket már a korábbi kutatásaink során is alkalmazott szulfonsav-tartalmú és szulfonsav nélküli monoszacharid építőelemekből építettünk fel. A 13 heparin-analóg triszacharid teljes szintézise egyenként 22-25 lépést vett igénybe. Vizsgáltuk vegyületeink sejtnövekedésre gyakorolt hatását egészséges és tumoros sejtvonalakon, valamint néhány származék esetén a gyulladás-csökkentő hatást is. Két vegyületről sikeresen kimutattuk, hogy dózis-függő módon gátolták a humán tumoros sejtvonalak proliferációját. Az egészséges sejteken viszont citotoxikus hatás nem volt kimutatható, vagyis a vizsgálatok alapján a vegyületek kiváló szelektivitással rendelkeznek. Néhány származékról kimutattuk, hogy ígéretes gyulladás-csökkentő aktivitással rendelkeznek.

Ezek mellett, a C-6 pozícióban metilénszulfonsav csoportot tartalmazó monoszacharid építőelemekből oligomereket szintetizáltunk, melyek közül a di- és triszacharid származékokat vizsgálható mennyiségben is előállítottuk. A szintézisek során elemeztük a lépésenkénti-, a blokk- és a polimerizációs reakciók kivitelezésének lehetőségeit. A preparált származékoknak vizsgáltattuk a sejtnövekedés-gátló és gyulladás-csökkentő hatását is. Ezek alapján elmondható, hogy a szulfatált származékok diszkrét gyulladás-csökkentő hatással rendelkeznek és nem citotoxikusak.

7.2. A véralvadásgátló idraparinux szintézisének optimalizálása

Az idraparinux pentaszacharid szintézisére több utat is kidolgoztunk. Az első reakcióúton már monoszacharid szinten kialakítottuk a karboxil funkciós csoportokat. A szintézis legproblematisabb része az iduronsav akceptor szintézise volt (D-glükózból kiindulva 12 lépés, összhozam kevesebb, mint 10%). Továbbá a végleges csoportok (metil és szulfátészter) kialakításánál ismét az uronsav egységekkel volt gond, így alternatív úton kellett kialakítanunk a tervezett metil csoportokat. Végül első körben sikeresen szintetizáltuk az idraparinuxot 44 lépésben.

A második reakcióúton igyekeztünk kiküszöbölni az előző szintézis kritikus lépéseit, így a védett di- és triszacharidokat uronsav prekursor egységek használatával építettük fel. Így,

pentaszacharid szinten kialakítva az uronsav részeket 39 lépésben sikeresen szintetizáltuk az idraparinuxot nagyobb tételben.

A korábbi szintézisekből kitűnt, hogy az L-idóz egység szintézise jelenti a legnagyobb kihívást az építőelemek közül. Ezt orvosolva sikeresen továbbfejlesztettünk egy irodalomban már régebben leírt C-5 epimerizációs módszert (5,6-telítetlen O-glikozidok hidroborálása/oxidációja), melyet elsőként mi alkalmaztunk tioglikozidokon. A mi újításunk az volt, hogy α -tioglükozidokat használtunk kiindulási vegyületekként, melyekből előállítottuk az 5,6-exometilén származékokat majd a hidroborálás és az azt követő oxidáció eredményeként közvetlenül megkaptuk az aktiválható anomer csoporttal rendelkező L-idóz származékokat. Ennek a tioidozid donornak a felhasználásával, a korábbiakban már bevált útvonalon (2+3-as blokk szintézis), pedig sikeresen szintetizáltuk az idraparinuxot az eddigi legrövidebb úton, 38 lépésben.

7.3. L-Hexóz tioglikozid donorok előállítása

Az L-idóz tioglikozidok szintézisére kidolgozott eliminációs-hidroborálási-oxidációs reakció kombináció felhasználását kiterjesztettük a többi L-hexóz előállítására is. A két legolcsóbb monoszacharidból, D-glükózból és D-mannózból, kiindulva szintetizáltuk a megfelelően védett L-hexóz származékokat. D-Glükózból kiindulva, a C-3, C-4 és C-5 epimerizációs reakciókat alkalmazva elő tudtuk állítani az L-*ido*, L-*altro* és L-*talo* konfigurációjú tioglikozid származékokat. Ezzel a módszerrel azonban sajnos az L-*manno* konfigurációjú származékok nem voltak előállíthatók. D-Mannózból kiindulva, az előzőekkel megegyező reakcióúton viszont elő tudtuk állítani mind a 4 hiányzó L-hexózt (L-*gulo*, L-*allo*, L-*galakto* és L-*glüko*) glikozilezésre alkalmas, védett tioglikozid formában. Az epimerizációs reakciók vizsgálata közben képződött, DBU-val konjugált kvaterner ammóniumsókról pedig kiderült, hogy kiváló gombaellenes hatással rendelkeznek.

7.4. L-Iduronsav egységében helyettesített heparin analóg pentaszacharidok szintézise és véralvadásgátló hatásuk vizsgálata

Előállítottunk három (permetilezett, acetil csoportokat vagy szabad –OH-kat tartalmazó) 6-dezoxi-L-talopiranozid tartalmú és egy L-guluronsavat tartalmazó pentaszacharidot, hogy vizsgálni tudjuk, hogy a legbonyolultabban szintetizálható, L-iduronsav rész helyettesíthető-e más, hasonlóan flexibilis, szerkezeti elemmel. Ehhez, a már korábban is alkalmazott mono- és diszacharid építőelemeket használtuk fel, valamint követtük az eddig alkalmazott szintézis-stratégiák legjobb elemeit. A három 6-dezoxi-L-talopiranozid tartalmú pentaszacharidot 32-34 lépésben, az L-guluronsavas molekulát pedig 36 lépésben állítottuk elő. Elvégezve a véralvadásgátlási vizsgálatokat sajnos kiderült, hogy az általunk eszközölt változtatások a gátló hatás szinte teljes

elvesztéséhez vezettek a 6-dezoxi-L-talopiranozid tartalmú pentaszacharidok esetében, azonban az L-guluronsavas származék megőrizte az anyamolekula véralvadásgátló hatásának ~50%-át.

7.5. L-Ramnóz tartalmú oligoszacharidok szintézise és lektin-kötő tulajdonságaik vizsgálata

Egy tajvani orvos-biológus kutatócsoporttal együttműködésben a törfarkú rák plazma lektin (rHPL) kötődési vizsgálataihoz előállítottunk több L-ramnóz tartalmú oligoszacharid származékot. Szintetizáltunk multivalens α -(1,3)-kötésű ramnobiozidokat, egy α -(1,2)- és egy α -(1,3)-kötésű ramnolipid származékot és megvalósítottuk a *Pseudomonas aeruginosa* Psl exopoliszacharid pentaszacharid részének hatékony előállítását. A tajvani partnereink által elvégzett biológiai vizsgálatok alapján kiderült, hogy a hosszabb linkert tartalmazó tetraavalens vegyület gátolta legnagyobb mértékben az rHPL-*P. aeruginosa* PAO1 kötődést, az α -(1,3)-kötésű diramnolipid szignifikánsan erősebben kötődött az rHPL lektinhez, mint akár a szintetikus, akár a bakteriális eredetű α -(1,2)-kötésű származék, a Psl pentaszacharid pedig 6,7-szer nagyobb affinitással kötődött a lektinhez, mint a referenciaként használt L-ramnóz. Ezen származékaink és az elvégzett vizsgálatok hozzájárultak a lektin kötőhelyeinek pontosabb felderítéséhez.

8. Irodalomjegyzék

- (1) Dauer, P.; Lengyel, E. New Roles for Glycogen in Tumor Progression. *Trends Cancer* **2019**, 5 (7), 396–399. <https://doi.org/10.1016/j.trecan.2019.05.003>.
- (2) Sprovieri, P.; Martino, G. The Role of the Carbohydrates in Plasmatic Membrane. *Physiol. Res.* **2018**, 67 (1), 1–11. <https://doi.org/10.33549/physiolres.933593>.
- (3) Jiang, H.; Qin, X.; Wang, Q.; Xu, Q.; Wang, J.; Wu, Y.; Chen, W.; Wang, C.; Zhang, T.; Xing, D.; Zhang, R. Application of Carbohydrates in Approved Small Molecule Drugs: A Review. *Eur. J. Med. Chem.* **2021**, 223, 113633. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.113633>.
- (4) Passaponti, S.; Pavone, V.; Cresti, L.; Ietta, F. The Expression and Role of Glycans at the Feto-Maternal Interface in Humans. *Tissue Cell* **2021**, 73, 101630. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2021.101630>.
- (5) Sun, L.; Middleton, D. R.; Wantuch, P. L.; Ozdilek, A.; Avci, F. Y. Carbohydrates as T-Cell Antigens with Implications in Health and Disease. *Glycobiology* **2016**, 26 (10), 1029–1040. <https://doi.org/10.1093/glycob/cww062>.
- (6) Cobb, B. A.; Kasper, D. L. Coming of Age: Carbohydrates and Immunity. *Eur. J. Immunol.* **2005**, 35 (2), 352–356. <https://doi.org/10.1002/eji.200425889>.
- (7) Cao, X.; Du, X.; Jiao, H.; An, Q.; Chen, R.; Fang, P.; Wang, J.; Yu, B. Carbohydrate-Based Drugs Launched during 2000–2021. *Acta Pharm. Sin. B* **2022**, 12 (10), 3783–3821. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2022.05.020>.
- (8) Antus S.; Mátyus P. Szerves kémia III.
- (9) Schatz, A.; Waksman, S. A. Effect of Streptomycin and Other Antibiotic Substances upon Mycobacterium Tuberculosis and Related Organisms. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **1944**, 57 (2), 244–248. <https://doi.org/10.3181/00379727-57-14769>.
- (10) Yates, M. K.; Seley-Radtke, K. L. The Evolution of Antiviral Nucleoside Analogues: A Review for Chemists and Non-Chemists. Part II: Complex Modifications to the Nucleoside Scaffold. *Antiviral Res.* **2019**, 162, 5–21. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2018.11.016>.
- (11) Diab, R.; Degobert, G.; Hamoudeh, M.; Dumontet, C.; Fessi, H. Nucleoside Analogue Delivery Systems in Cancer Therapy. *Expert Opin. Drug Deliv.* **2007**, 4 (5), 513–531. <https://doi.org/10.1517/17425247.4.5.513>.
- (12) Zhang, Y.; Zhang, M.; Tan, L.; Pan, N.; Zhang, L. The Clinical Use of Fondaparinux: A Synthetic Heparin Pentasaccharide. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* **2019**, 163, 41–53. <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2019.02.004>.
- (13) Hawkins, J.; Khanna, S.; Argaliou, M. Sugammadex for Reversal of Neuromuscular Blockade: Uses and Limitations. *Curr. Pharm. Des.* **2019**, 25 (19), 2140–2148. <https://doi.org/10.2174/1381612825666190704101145>.
- (14) Eastman, R. T.; Roth, J. S.; Brimacombe, K. R.; Simeonov, A.; Shen, M.; Patnaik, S.; Hall, M. D. Remdesivir: A Review of Its Discovery and Development Leading to Emergency Use Authorization for Treatment of COVID-19. *ACS Cent. Sci.* **2020**, 6 (5), 672–683. <https://doi.org/10.1021/acscentsci.0c00489>.
- (15) Bhutani, P.; Joshi, G.; Raja, N.; Bachhav, N.; Rajanna, P. K.; Bhutani, H.; Paul, A. T.; Kumar, R. U.S. FDA Approved Drugs from 2015–June 2020: A Perspective. *J. Med. Chem.* **2021**, 64 (5), 2339–2381. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01786>.
- (16) Sivakumar, P. M.; Peimanfard, S.; Zarrabi, A.; Khosravi, A.; Islami, M. Cyclodextrin-Based Nanosystems as Drug Carriers for Cancer Therapy. *Anticancer Agents Med. Chem.* **2020**, 20 (11), 1327–1339. <https://doi.org/10.2174/1871520619666190906160359>.
- (17) Allahyari, S.; Trotta, F.; Valizadeh, H.; Jelvehgari, M.; Zakeri-Milani, P. Cyclodextrin-Based Nanosponges as Promising Carriers for Active Agents. *Expert Opin. Drug Deliv.* **2019**, 16 (5), 467–479. <https://doi.org/10.1080/17425247.2019.1591365>.
- (18) Ferreira, L.; Campos, J.; Veiga, F.; Cardoso, C.; Paiva-Santos, A. C. Cyclodextrin-Based Delivery Systems in Parenteral Formulations: A Critical Update Review. *Eur. J. Pharm.*

- Biopharm. Off. J. Arbeitsgemeinschaft Pharm. Verfahrenstechnik EV* **2022**, 178, 35–52. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2022.07.007>.
- (19) de Leder Kremer, R. M.; Gallo-Rodriguez, C. Naturally Occurring Monosaccharides: Properties and Synthesis. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **2004**, 59, 9–67. [https://doi.org/10.1016/S0065-2318\(04\)59002-9](https://doi.org/10.1016/S0065-2318(04)59002-9).
 - (20) Frihed, T. G.; Bols, M.; Pedersen, C. M. Synthesis of L-Hexoses. *Chem. Rev.* **2015**, 115 (9), 3615–3676. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00104>.
 - (21) Draget, K. I.; Taylor, C. Chemical, Physical and Biological Properties of Alginates and Their Biomedical Implications. *Food Hydrocoll.* **2011**, 25 (2), 251–256. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.10.007>.
 - (22) Umezawa, H. Natural and Artificial Bleomycins: Chemistry and Antitumour Activities. *Pure Appl. Chem.* **1971**, 28 (4), 665–680. <https://doi.org/10.1351/pac197128040665>.
 - (23) Boger, D. L.; Honda, T. Total Synthesis of Bleomycin A2 and Related Agents. 4. Synthesis of the Disaccharide Subunit 2-O-(3-O-Carbamoyl- α -D-Mannopyranosyl)-L-Gulopyranose and Completion of the Total Synthesis of Bleomycin A2. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116 (13), 5647–5656. <https://doi.org/10.1021/ja00092a014>.
 - (24) Boger, D. L.; Teramoto, S.; Zhou, J. Key Synthetic Analogs of Bleomycin A2 That Directly Address the Effect and Role of the Disaccharide: Demannosylbleomycin A2 and α -D-Mannopyranosyldeglycobleomycin A2. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117 (28), 7344–7356. <https://doi.org/10.1021/ja00133a008>.
 - (25) Yu, Z.; Schmaltz, R. M.; Bozeman, T. C.; Paul, R.; Rishel, M. J.; Tsosie, K. S.; Hecht, S. M. Selective Tumor Cell Targeting by the Disaccharide Moiety of Bleomycin. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, 135 (8), 2883–2886. <https://doi.org/10.1021/ja311090e>.
 - (26) Ogita, T.; Ōtake, N.; Miyazaki, Y.; Yonehara, H.; Macfarlane, R. D.; McNeal, C. J. The Structure of Adenomycin (C19-97 Substance). *Tetrahedron Lett.* **1980**, 21 (33), 3203–3206. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)77445-4](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)77445-4).
 - (27) Swain, M.; Brisson, J. R.; Sprott, G. D.; Cooper, F. P.; Patel, G. B. Identification of Beta-L-Gulose as the Sugar Moiety of the Main Polar Lipid Thermoplasma Acidophilum. *Biochim. Biophys. Acta* **1997**, 1345 (1), 56–64. [https://doi.org/10.1016/s0005-2760\(96\)00163-4](https://doi.org/10.1016/s0005-2760(96)00163-4).
 - (28) Yamaguchi, H.; Sato, S.; Yoshida, S.; Takada, K.; Itoh, M.; Seto, H.; Otake, N. Capuramycin, a New Nucleoside Antibiotic. Taxonomy, Fermentation, Isolation and Characterization. *J. Antibiot. (Tokyo)* **1986**, 39 (8), 1047–1053. <https://doi.org/10.7164/antibiotics.39.1047>.
 - (29) Knapp, S.; Nandan, S. R. Synthesis of Capuramycin. *J. Org. Chem.* **1994**, 59 (2), 281–283. <https://doi.org/10.1021/jo00081a004>.
 - (30) Kurosu, M.; Li, K.; Crick, D. C. Concise Synthesis of Capuramycin. *Org. Lett.* **2009**, 11 (11), 2393–2396. <https://doi.org/10.1021/ol900458w>.
 - (31) Stack, R. J.; Ericsson, L. D. Methods for the Identification and Analysis of L-Altrose in Bacterial Polysaccharides. *FEMS Microbiol. Lett.* **1988**, 56 (1), 1–6.
 - (32) Hermansson, K.; Kenne, L.; Lindberg, B.; Arie, B.; Brown, R. G.; Stewart, J. E. Structural Studies of the Capsular Polysaccharide from *Aerococcus Viridans* Var. *Homari*. *Carbohydr. Res.* **1990**, 208, 145–152. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(90\)80094-J](https://doi.org/10.1016/0008-6215(90)80094-J).
 - (33) Yamazaki, M.; Thorne, L.; Mikolajczak, M.; Armentrout, R. W.; Pollock, T. J. Linkage of Genes Essential for Synthesis of a Polysaccharide Capsule in *Sphingomonas* Strain S88. *J. Bacteriol.* **1996**, 178 (9), 2676–2687. <https://doi.org/10.1128/jb.178.9.2676-2687.1996>.
 - (34) Ridley, B. L.; O'Neill, M. A.; Mohnen, D. Pectins: Structure, Biosynthesis, and Oligogalacturonide-Related Signaling. *Phytochemistry* **2001**, 57 (6), 929–967. [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(01\)00113-3](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(01)00113-3).
 - (35) Li, Y.-S.; Matsunaga, K.; Ishibashi, M.; Ohizumi, Y. Littoralisone, a Novel Neuritogenic Iridolactone Having an Unprecedented Heptacyclic Skeleton Including Four- and Nine-Membered Rings Consisting of Glucose from *Verbena Littoralis*. *J. Org. Chem.* **2001**, 66 (6), 2165–2167. <https://doi.org/10.1021/jo001460d>.

- (36) Turnbull, J.; Powell, A.; Guimond, S. Heparan Sulfate: Decoding a Dynamic Multifunctional Cell Regulator. *Trends Cell Biol.* **2001**, *11* (2), 75–82. [https://doi.org/10.1016/s0962-8924\(00\)01897-3](https://doi.org/10.1016/s0962-8924(00)01897-3).
- (37) Seeberger, P. H.; Werz, D. B. Synthesis and Medical Applications of Oligosaccharides. *Nature* **2007**, *446* (7139), 1046–1051. <https://doi.org/10.1038/nature05819>.
- (38) Alper, P. B.; Hendrix, M.; Sears, P.; Wong, C.-H. Probing the Specificity of Aminoglycoside–Ribosomal RNA Interactions with Designed Synthetic Analogs. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120* (9), 1965–1978. <https://doi.org/10.1021/ja972599h>.
- (39) Daniel, P. T.; Koert, U.; Schuppan, J. Apoptolidin: Induction of Apoptosis by a Natural Product. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2006**, *45* (6), 872–893. <https://doi.org/10.1002/anie.200502698>.
- (40) De Castro, C.; Kenyon, J. J.; Cunneen, M. M.; Molinaro, A.; Holst, O.; Skurnik, M.; Reeves, P. R. The O-Specific Polysaccharide Structure and Gene Cluster of Serotype O:12 of the *Yersinia Pseudotuberculosis* Complex, and the Identification of a Novel l-Quinovose Biosynthesis Gene. *Glycobiology* **2013**, *23* (3), 346–353. <https://doi.org/10.1093/glycob/cws145>.
- (41) Shibuya, N.; Amano, K.; Azuma, J.; Nishihara, T.; Kitamura, Y.; Noguchi, T.; Koga, T. 6-Deoxy-D-Talan and 6-Deoxy-L-Talan. Novel Serotype-Specific Polysaccharide Antigens from *Actinobacillus Actinomycetemcomitans*. *J. Biol. Chem.* **1991**, *266* (25), 16318–16323.
- (42) Perry, M. B.; MacLean, L. M.; Brisson, J. R.; Wilson, M. E. Structures of the Antigenic O-Polysaccharides of Lipopolysaccharides Produced by *Actinobacillus Actinomycetemcomitans* Serotypes a, c, d and e. *Eur. J. Biochem.* **1996**, *242* (3), 682–688. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1996.0682r.x>.
- (43) Wang, L.; Yun, B.-S.; George, N. P.; Wendt-Pienkowski, E.; Galm, U.; Oh, T.-J.; Coughlin, J. M.; Zhang, G.; Tao, M.; Shen, B. Glycopeptide Antitumor Antibiotic Zorbamycin from *Streptomyces Flavoviridis* ATCC 21892: Strain Improvement and Structure Elucidation. *J. Nat. Prod.* **2007**, *70* (3), 402–406. <https://doi.org/10.1021/np060592k>.
- (44) Williams, S. J.; Senaratne, R. H.; Mougous, J. D.; Riley, L. W.; Bertozzi, C. R. 5'-Adenosinephosphosulfate Lies at a Metabolic Branch Point in Mycobacteria. *J. Biol. Chem.* **2002**, *277* (36), 32606–32615. <https://doi.org/10.1074/jbc.M204613200>.
- (45) Ross, C. A.; Mathias, A. P.; Rabin, B. R. The Active Site and Mechanism of Action of Bovine Pancreatic Ribonuclease. 6. Kinetic and Spectrophotometric Investigation of the Interaction of the Enzyme with Inhibitors and p-Nitrophenyl Acetate. *Biochem. J.* **1962**, *85* (1), 145–151. <https://doi.org/10.1042/bj0850145>.
- (46) Gorshkova, R. P.; Kalmykova, E. N.; Isakov, V. V.; Ovodov, Y. S. Structural Studies on O-Specific Polysaccharides of Lipopolysaccharides from *Yersinia Enterocolitica* Serovars O:1,2a,3, O:2a,2b,3 and O:3. *Eur. J. Biochem.* **1985**, *150* (3), 527–531. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1985.tb09053.x>.
- (47) Sasamori, H.; Reddy, K. S.; Kirkup, M. P.; Shabanowitz, J.; Lynn, D. G.; Hecht, S. M.; Woode, K. A.; Bryan, R. F.; Campbell, J.; Lynn, W. S.; Egert, E.; Sheldrick, G. M. New Cytotoxic Principles from *Datisca Glomerata*. *J. Chem. Soc. Perkin 1* **1983**, No. 0, 1333–1347. <https://doi.org/10.1039/P19830001333>.
- (48) Uchio, Y.; Nagasaki, M.; Eguchi, S.; Matsuo, A.; Nakayama, M.; Hayashi, S. Labdane Diterpene Glycosides with 6-Deoxy-L-Idose from *Aster Spathulifolius* Maxim. *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21* (39), 3775–3778. [https://doi.org/10.1016/0040-4039\(80\)80175-4](https://doi.org/10.1016/0040-4039(80)80175-4).
- (49) DR - Fonyó Attila - Dr. Ligeti Erzsébet: Az Orvosi Élettan Tankönyve.
- (50) Petitou, M.; van Boeckel, C. A. A. A Synthetic Antithrombin III Binding Pentasaccharide Is Now a Drug! What Comes Next? *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43* (24), 3118–3133. <https://doi.org/10.1002/anie.200300640>.
- (51) Fugedi, P. The Potential of the Molecular Diversity of Heparin and Heparan Sulfate for Drug Development. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2003**, *3* (7), 659–667. <https://doi.org/10.2174/1389557033487755>.

- (52) Capila, I.; Linhardt, R. J. Heparin-Protein Interactions. *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* **2002**, *41* (3), 391–412. [https://doi.org/10.1002/1521-3773\(20020201\)41:3<390:aid-anie390>3.0.co;2-b](https://doi.org/10.1002/1521-3773(20020201)41:3<390:aid-anie390>3.0.co;2-b).
- (53) Lindahl, U.; Kusche-Gullberg, M.; Kjellén, L. Regulated Diversity of Heparan Sulfate. *J. Biol. Chem.* **1998**, *273* (39), 24979–24982. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.39.24979>.
- (54) Esko, J. D.; Lindahl, U. Molecular Diversity of Heparan Sulfate. *J. Clin. Invest.* **2001**, *108* (2), 169–173. <https://doi.org/10.1172/JCI13530>.
- (55) Gallagher, J. T.; Walker, A. Molecular Distinctions between Heparan Sulphate and Heparin. Analysis of Sulphation Patterns Indicates That Heparan Sulphate and Heparin Are Separate Families of N-Sulphated Polysaccharides. *Biochem. J.* **1985**, *230* (3), 665–674. <https://doi.org/10.1042/bj2300665>.
- (56) Lindahl, U.; Höök, M. Glycosaminoglycans and Their Binding to Biological Macromolecules. *Annu. Rev. Biochem.* **1978**, *47*, 385–417. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.47.070178.002125>.
- (57) Rodén, L. Structure and Metabolism of Connective Tissue Proteoglycans. In *The Biochemistry of Glycoproteins and Proteoglycans*; Lennarz, W. J., Ed.; Springer US: Boston, MA, 1980; pp 267–371. https://doi.org/10.1007/978-1-4684-1006-8_7.
- (58) Sanderson, P. N.; Huckerby, T. N.; Nieduszynski, I. A. Very-High-Field n.m.r. Studies of Bovine Lung Heparan Sulphate Tetrasaccharides Produced by Nitrous Acid Deaminative Cleavage. Determination of Saccharide Sequence, Uronate Composition and Degrees of Sulphation. *Biochem. J.* **1984**, *223* (2), 495–505. <https://doi.org/10.1042/bj2230495>.
- (59) Jacobsson, I.; Höök, M.; Pettersson, I.; Lindahl, U.; Larm, O.; Wirén, E.; von Figura, K. Identification of N-Sulphated Disaccharide Units in Heparin-like Polysaccharides. *Biochem. J.* **1979**, *179* (1), 77–87. <https://doi.org/10.1042/bj1790077>.
- (60) Delaney, S. R.; Conrad, H. E. Changes in Disaccharide Composition of Heparan Sulphate Fractions with Increasing Degrees of Sulphation. *Biochem. J.* **1983**, *209* (2), 315–322. <https://doi.org/10.1042/bj2090315>.
- (61) Riesenfeld, J.; Hözok, M.; Lindahl, U. Biosynthesis of Heparan Sulfate in Rat Liver. Characterization of Polysaccharides Obtained with Intact Cells and with a Cell-Free System. *J. Biol. Chem.* **1982**, *257* (12), 7050–7055. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)34536-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)34536-8).
- (62) Cifonelli, J. A.; King, J. A. Structural Characteristics of Heparan Sulfates with Varying Sulfate Contents. *Biochemistry* **1977**, *16* (10), 2137–2141. <https://doi.org/10.1021/bi00629a014>.
- (63) Winterbourne, D. J.; Mora, P. T. Cells Selected for High Tumorigenicity or Transformed by Simian Virus 40 Synthesize Heparan Sulfate with Reduced Degree of Sulfation. *J. Biol. Chem.* **1981**, *256* (9), 4310–4320. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)69435-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)69435-4).
- (64) Hampson, I. N.; Kumar, S.; Gallagher, J. T. Differences in the Distribution of O-Sulphate Groups of Cell-Surface and Secreted Heparan Sulphate Produced by Human Neuroblastoma Cells in Culture. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Res.* **1983**, *763* (2), 183–190. [https://doi.org/10.1016/0167-4889\(83\)90043-5](https://doi.org/10.1016/0167-4889(83)90043-5).
- (65) Jorpes, J. E.; Gardell, S. On Heparin Monosulfuric Acid. *J. Biol. Chem.* **1948**, *176* (1), 267–276.
- (66) Comper, W. D. *Heparin (and Related Polysaccharides): Structural and Functional Properties*; Polymer monographs; Gordon and Breach Science Publishers: New York, 1981.
- (67) Johnson, E. A. Heparan Sulphates from Porcine Intestinal Mucosa. Preparation and Physicochemical Properties. *Thromb. Res.* **1984**, *35* (5), 583–588. [https://doi.org/10.1016/0049-3848\(84\)90290-1](https://doi.org/10.1016/0049-3848(84)90290-1).
- (68) Kjellén, L.; Lindahl, U. Heparin and Heparan Sulfate—The Essence of Sequence. *Proteoglycan Res.* **2024**, *2* (4), e70006. <https://doi.org/10.1002/pgr2.70006>.
- (69) van Boeckel, C. A. A.; Petitou, M. The Unique Antithrombin III Binding Domain of Heparin: A Lead to New Synthetic Antithrombotics. *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* **1993**, *32* (12), 1671–1690. <https://doi.org/10.1002/anie.199316713>.
- (70) van Boeckel, C. A. A.; Beetz, T.; Vos, J. N.; de Jong, A. J. M.; Van Aelst, S. F.; van den Bosch, R. H.; Mertens, J. M. R.; van der Vlugt, F. A. Synthesis of a Pentasaccharide

- Corresponding to the Antithrombin III Binding Fragment of Heparin. *J. Carbohydr. Chem.* **1985**, 4 (3), 293–321. <https://doi.org/10.1080/07328308508070182>.
- (71) Sinaÿ, P.; Jacquinet, J.-C.; Petitou, M.; Duchaussoy, P.; Lederman, I.; Choay, J.; Torri, G. Total Synthesis of a Heparin Pentasaccharide Fragment Having High Affinity for Antithrombin III. *Carbohydr. Res.* **1984**, 132 (2), C5–C9. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(84\)85236-2](https://doi.org/10.1016/0008-6215(84)85236-2).
- (72) Petitou, M.; Duchaussoy, P.; Lederman, I.; Choay, J.; Sinaÿ, P.; Jacquinet, J.-C.; Torri, G. Synthesis of Heparin Fragments. A Chemical Synthesis of the Pentasaccharide O-(2-Deoxy-2-Sulfamido-6-O-Sulfo- α -D-Glucopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(β -D-Glucopyranosyluronic Acid)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(2-Deoxy-2-Sulfamido-3,6-Di-O-Sulfo- α -D-Glucopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(2-O-Sulfo- α -L-Idopyranosyluronic Acid)-(1 $\rightarrow$ 4)-2-Deoxy-2-Sulfamido-6-O-Sulfo-D-Glucopyranose Decasodium Salt, a Heparin Fragment Having High Affinity for Antithrombin III. *Carbohydr. Res.* **1986**, 147 (2), 221–236. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)90633-5](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)90633-5).
- (73) Ichikawa, Y.; Monden, R.; Kuzuhara, H. Synthesis of a Heparin Pentasaccharide Fragment with a High Affinity for Antithrombin III Employing Cellobiose as a Key Starting Material. *Tetrahedron Lett.* **1986**, 27 (5), 611–614. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)84054-X](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)84054-X).
- (74) Petitou, M.; Duchaussoy, P.; Lederman, I.; Choay, J.; Jacquinet, J.-C.; Sinaÿ, P.; Torri, G. Synthesis of Heparin Fragments: A Methyl α -Pentaoside with High Affinity for Antithrombin III. *Carbohydr. Res.* **1987**, 167, 67–75. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(87\)80268-9](https://doi.org/10.1016/0008-6215(87)80268-9).
- (75) Jin, L.; Abrahams, J. P.; Skinner, R.; Petitou, M.; Pike, R. N.; Carrell, R. W. The Anticoagulant Activation of Antithrombin by Heparin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1997**, 94 (26), 14683–14688. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.26.14683>.
- (76) van Boeckel, C. A. A.; Beetz, T.; van Aelst, S. F. Synthesis of a Potent Antithrombin Activating Pentasaccharide: A New Heparin-like Fragment Containing Two 3-O-Sulphated Glucosamines. *Tetrahedron Lett.* **1988**, 29 (7), 803–806. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)80214-2](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)80214-2).
- (77) Carrie, D.; Caranobe, C.; Saivin, S.; Houin, G.; Petitou, M.; Lormeau, J.; Van Boeckel, C.; Meuleman, D.; Boneu, B. Pharmacokinetic and Antithrombotic Properties of Two Pentasaccharides with High Affinity to Antithrombin III in the Rabbit: Comparison with CY216. *Blood* **1994**, 84 (8), 2571–2577. <https://doi.org/10.1182/blood.V84.8.2571.2571>.
- (78) Casu, B.; Naggi, A.; Torri, G. Re-Visiting the Structure of Heparin. *Carbohydr. Res.* **2015**, 403, 60–68. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2014.06.023>.
- (79) van Boom, J. H.; Sakairi, N.; van Der Marel, G. A.; Basten, J. E. M.; van Boeckel, C. A. A. Synthesis of a Conformationally Constrained Heparin-like Pentasaccharide. *Chem. – Eur. J.* **1996**, 2 (8), 1007–1013. <https://doi.org/10.1002/chem.19960020817>.
- (80) Das, S. K.; Mallet, J.-M.; Esnault, J.; Driguez, P.-A.; Duchaussoy, P.; Sizun, P.; Herault, J.-P.; Herbert, J.-M.; Petitou, M.; Sinaÿ, P. Synthesis of Conformationally Locked L-Iduronic Acid Derivatives: Direct Evidence for a Critical Role of the Skew-Boat 2S0 Conformer in the Activation of Antithrombin by Heparin. *Chem. – Eur. J.* **2001**, 7 (22), 4821–4834. [https://doi.org/10.1002/1521-3765\(20011119\)7:22<4821::AID-CHEM4821>3.0.CO;2-N](https://doi.org/10.1002/1521-3765(20011119)7:22<4821::AID-CHEM4821>3.0.CO;2-N).
- (81) Das, S. K.; Mallet, J.-M.; Esnault, J.; Driguez, P.-A.; Duchaussoy, P.; Sizun, P.; Herault, J.-P.; Herbert, J.-M.; Petitou, M.; Sinaÿ, P. Synthesis of Conformationally Locked Carbohydrates: A Skew-Boat Conformation of L-Iduronic Acid Governs the Antithrombotic Activity of Heparin. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40 (9), 1670–1673. [https://doi.org/10.1002/1521-3773\(20010504\)40:9<1670::AID-ANIE16700>3.0.CO;2-Q](https://doi.org/10.1002/1521-3773(20010504)40:9<1670::AID-ANIE16700>3.0.CO;2-Q).
- (82) Ferro, D. R.; Provasoli, A.; Ragazzi, M.; Casu, B.; Torri, G.; Bossennec, V.; Perly, B.; Sinaÿ, P.; Petitou, M.; Choay, J. Conformer Populations of L-Iduronic Acid Residues in Glycosaminoglycan Sequences. *Carbohydr. Res.* **1990**, 195 (2), 157–167. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(90\)84164-P](https://doi.org/10.1016/0008-6215(90)84164-P).
- (83) Hricovíni, M.; Guerrini, M.; Bisio, A.; Torri, G.; Petitou, M.; Casu, B. Conformation of Heparin Pentasaccharide Bound to Antithrombin III. *Biochem. J.* **2001**, 359 (2), 265–272. <https://doi.org/10.1042/bj3590265>.

- (84) Petitou, M. Synthetic Heparin Fragments: New and Efficient Tools for the Study of Heparin and Its Interactions. *Nouv. Rev. Fr. Hematol.* **1984**, 26 (4), 221–226.
- (85) Choay, J. Biologic Studies on Chemically Synthesized Pentasaccharide and Tetrasaccharide Fragments. *Semin. Thromb. Hemost.* **1985**, 11 (2), 81–85. <https://doi.org/10.1055/s-2007-1004362>.
- (86) Atha, D. H.; Lormeau, J. C.; Petitou, M.; Rosenberg, R. D.; Choay, J. Contribution of 3-O- and 6-O-Sulfated Glucosamine Residues in the Heparin-Induced Conformational Change in Antithrombin III. *Biochemistry* **1987**, 26 (20), 6454–6461. <https://doi.org/10.1021/bi00394a024>.
- (87) Petitou, M.; Duchaussoy, P.; Lederman, I.; Choay, J.; Sinaÿ, P. Binding of Heparin to Antithrombin III: A Chemical Proof of the Critical Role Played by a 3-Sulfated 2-Amino-2-Deoxy-d-Glucose Residue. *Carbohydr. Res.* **1988**, 179, 163–172. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(88\)84116-8](https://doi.org/10.1016/0008-6215(88)84116-8).
- (88) Beetz, T.; van Boeckel, C. A. A. Synthesis of an Antithrombin Binding Heparin-like Pentasaccharide Lacking 6-O Sulphate at Its Reducing End. *Tetrahedron Lett.* **1986**, 27 (48), 5889–5892. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)85356-3](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)85356-3).
- (89) Petitou, M.; Lormeau, J. C.; Choay, J. Interaction of Heparin and Antithrombin III. The Role of O-Sulfate Groups. *Eur. J. Biochem.* **1988**, 176 (3), 637–640. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1988.tb14324.x>.
- (90) van Boeckel, C. a. A.; Lucas, H.; van Aelst, S. F.; van den Nieuwenhof, M. W. P.; Wagenaars, G. N.; Mellema, J.-R. Synthesis and Conformational Analysis of an Analogue of the Antithrombin-Binding Region of Heparin: The Role of the Carboxylate Function of α -L-Idopyranuronate. *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1987**, 106 (11), 581–591. <https://doi.org/10.1002/recl.19871061107>.
- (91) Riesenfeld, J.; Thunberg, L.; Höök, M.; Lindahl, U. The Antithrombin-Binding Sequence of Heparin. Location of Essential N-Sulfate Groups. *J. Biol. Chem.* **1981**, 256 (5), 2389–2394.
- (92) Vos, Jan. N.; Westerduin, P.; van Boeckel, C. A. A. Synthesis of 6-O-Phosphorylated Analogue of the Antithrombin III Binding Sequence of Heparin: Replacement of One Essential Sulphate Group by a Phosphate Group Nullifies the Biological Activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1991**, 1 (3), 143–146. [https://doi.org/10.1016/S0960-894X\(01\)80786-1](https://doi.org/10.1016/S0960-894X(01)80786-1).
- (93) van Aelst, S. F.; van Boeckel, C. a. A. Synthesis of an Analogue of the Antithrombin Binding Region of Heparin Containing α -L-Idopyranose. *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1987**, 106 (11), 593–595. <https://doi.org/10.1002/recl.19871061108>.
- (94) Petitou, M.; Jaurand, G.; Derrien, M.; Duchaussoy, P.; Choay, J. A New, Highly Potent, Heparin-like Pentasaccharide Fragment Containing a Glucose Residue Instead of a Glucosamine. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1991**, 1 (2), 95–98. [https://doi.org/10.1016/S0960-894X\(00\)80238-3](https://doi.org/10.1016/S0960-894X(00)80238-3).
- (95) Petitou, M.; Lormeau, J. C.; Choay, J. A New Synthetic Pentasaccharide with Increased Anti-Factor Xa Activity: Possible Role for Anionic Clusters in the Interaction of Heparin and Antithrombin III. *Semin. Thromb. Hemost.* **1991**, 17 Suppl 2, 143–146.
- (96) Westerduin, P.; van Boeckel, C. A. A.; Basten, J. E. M.; Broekhoven, M. A.; Lucas, H.; Rood, A.; van der Heijden, H.; van Amsterdam, R. G. M.; van Dinther, T. G.; Meuleman, D. G.; Visser, A.; Vogel, G. M. T.; Damm, J. B. L.; Overklist, G. T. Feasible Synthesis and Biological Properties of Six ‘Non-Glycosamino’ Glycan Analogues of the Antithrombin III Binding Heparin Pentasaccharide. *Bioorg. Med. Chem.* **1994**, 2 (11), 1267–1280. [https://doi.org/10.1016/S0968-0896\(00\)82078-7](https://doi.org/10.1016/S0968-0896(00)82078-7).
- (97) Gomez-Outes, A.; Lecumberri, R.; Pozo, C.; Rocha, E. New Anticoagulants: Focus on Venous Thromboembolism. *Curr. Vasc. Pharmacol.* **2009**, 7 (3), 309–329. <https://doi.org/10.2174/157016109788340785>.
- (98) Savi, P.; Herault, J. P.; Duchaussoy, P.; Millet, L.; Schaeffer, P.; Petitou, M.; Bono, F.; Herbert, J. M. Reversible Biotinylated Oligosaccharides: A New Approach for a Better Management of Anticoagulant Therapy. *J. Thromb. Haemost.* **2008**, 6 (10), 1697–1706. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2008.03089.x>.

- (99) Jaurand, G.; Basten, J.; Lederman, I.; van Boeckel, C. A. A.; Petitou, M. Biologically Active Heparin-like Fragments with a “Non-Glycosamino”Glycan Structure. Part 1: A Pentasaccharide Containing a 3-O-Methyl Iduronic Acid Unit. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1992**, 2 (9), 897–900. [https://doi.org/10.1016/S0960-894X\(00\)80583-1](https://doi.org/10.1016/S0960-894X(00)80583-1).
- (100) Garegg, P. J.; Hultberg, H. A Novel, Reductive Ring-Opening of Carbohydrate Benzylidene Acetals, with Unusual Regioselectivity. *Carbohydr. Res.* **1981**, 93 (1), C10–C11. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)80766-1](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)80766-1).
- (101) Urban, F. J.; Moore, B. S.; Breitenbach, R. Synthesis of Tigogenyl β -O-Cellobioside Heptaacetate and Glycoside Tetraacetate via Schmidt’s Trichloroacetimidate Method; Some New Observations. *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31 (31), 4421–4424. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)97637-8](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)97637-8).
- (102) Chen, C.; Yu, B. Efficient Synthesis of Idraparinux, the Anticoagulant Pentasaccharide. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, 19 (14), 3875–3879. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2009.03.155>.
- (103) Pinilla, I. M.; Martínez, M. B.; Galbis, J. A. Synthesis of 2,3,4,5-Tetra-O-Methyl-d-Glucono-1,6-Lactone as a Monomer for the Preparation of Copolyesters. *Carbohydr. Res.* **2003**, 338 (6), 549–555. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(02\)00528-1](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(02)00528-1).
- (104) Elhalabi, J.; Rice, K. G. Thiosugar Nucleotide Analogues: Synthesis of Uridine 5'-(2,3,6-Tri-O-Acetyl-4-S-Acetyl-4-Thio- α -d-Galactopyranosyl Diphosphate). *Carbohydr. Res.* **2001**, 335 (3), 159–165. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(01\)00228-2](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(01)00228-2).
- (105) Debenham, S. D.; Toone, E. J. Regioselective Reduction of 4,6-O-Benzylidenes Using Triethylsilane and $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$. *Tetrahedron Asymmetry* **2000**, 11 (2), 385–387. [https://doi.org/10.1016/S0957-4166\(99\)00584-4](https://doi.org/10.1016/S0957-4166(99)00584-4).
- (106) Meijer, A.; Ellervik, U. Interhalogens (ICl/IBr) and AgOTf in Thioglycoside Activation; Synthesis of Bislactam Analogues of Ganglioside GD3. *J. Org. Chem.* **2004**, 69 (19), 6249–6256. <https://doi.org/10.1021/jo049184g>.
- (107) Schmidt, R. R.; Michel, J. Facile Synthesis of α - and β -O-Glycosyl Imidates; Preparation of Glycosides and Disaccharides. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1980**, 19 (9), 731–732. <https://doi.org/10.1002/anie.198007311>.
- (108) Lee, J.-C.; Lu, X.-A.; Kulkarni, S. S.; Wen, Y.-S.; Hung, S.-C. Synthesis of Heparin Oligosaccharides. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126 (2), 476–477. <https://doi.org/10.1021/ja038244h>.
- (109) van den Broek, L. a. G. M.; Vermaas, D. J.; Heskamp, B. M.; van Boeckel, C. a. A.; Tan, M. C. a. A.; Bolscher, J. G. M.; Ploegh, H. L.; van Kemenade, F. J.; de Goede, R. E. Y.; Miedema, F. Chemical Modification of Azasugars, Inhibitors of N-Glycoprotein-Processing Glycosidases and of HIV-I Infection: Review and Structure-Activity Relationships. *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1993**, 112 (2), 82–94. <https://doi.org/10.1002/recl.19931120204>.
- (110) Frihed, T. G.; Pedersen, C. M.; Bols, M. Synthesis of All Eight L-Glycopyranosyl Donors Using $\text{C}\equiv\text{H}$ Activation. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, 53 (50), 13889–13893. <https://doi.org/10.1002/anie.201408209>.
- (111) Takahashi, H.; Miyama, N.; Mitsuzuka, H.; Ikegami, S. Synthesis of L-Pyranosides from 5-Enopyranosides by Diastereoselective Hydroboration/Oxidation. *Synthesis* **2004**, No. 18, 2991–2994. <https://doi.org/10.1055/s-2004-834889>.
- (112) Łopatkiewicz, G.; Mlynarski, J. Synthesis of L-Pyranosides by Hydroboration of Hex-5-Enopyranosides Revisited. *J. Org. Chem.* **2016**, 81 (17), 7545–7556. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.6b01243>.
- (113) Frihed, T. G.; Pedersen, C. M.; Bols, M. Synthesis of All Eight Stereoisomeric 6-Deoxy-L-Hexopyranosyl Donors – Trends in Using Stereoselective Reductions or Mitsunobu Epimerizations. *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, 2014 (35), 7924–7939. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201403074>.

- (114) Kulkarni, S. S.; Chi, F.-C.; Hung, S.-C. Biologically Potent L-Hexoses and 6-Deoxy-L-Hexoses: Their Syntheses and Applications. *J. Chin. Chem. Soc.* **2004**, 51 (5B), 1193–1200. <https://doi.org/10.1002/jccs.200400175>.
- (115) Bláhová, M.; Štefuca, V.; Hronská, H.; Rosenberg, M. Maltooligosaccharides: Properties, Production and Applications. *Molecules* **2023**, 28 (7), 3281. <https://doi.org/10.3390/molecules28073281>.
- (116) Parish, C. R.; Freeman, C.; Brown, K. J.; Francis, D. J.; Cowden, W. B. Identification of Sulfated Oligosaccharide-Based Inhibitors of Tumor Growth and Metastasis Using Novel in Vitro Assays for Angiogenesis and Heparanase Activity1. *Cancer Res.* **1999**, 59 (14), 3433–3441.
- (117) Ferro, V.; Dredge, K.; Liu, L.; Hammond, E.; Bytheway, I.; Li, C.; Johnstone, K.; Karoli, T.; Davis, K.; Copeman, E.; Gautam, A. PI-88 and Novel Heparan Sulfate Mimetics Inhibit Angiogenesis. *Semin. Thromb. Hemost.* **2007**, 33 (5), 557–568. <https://doi.org/10.1055/s-2007-982088>.
- (118) Chhabra, M.; Doherty, G. G.; See, N. W.; Gandhi, N. S.; Ferro, V. From Cancer to COVID-19: A Perspective on Targeting Heparan Sulfate-Protein Interactions. *Chem. Rec. N. Y. N* **2021**, 21 (11), 3087–3101. <https://doi.org/10.1002/tcr.202100125>.
- (119) Ferro, V.; Liu, L.; Johnstone, K. D.; Wimmer, N.; Karoli, T.; Handley, P.; Rowley, J.; Dredge, K.; Li, C. P.; Hammond, E.; Davis, K.; Sarimaa, L.; Harenberg, J.; Bytheway, I. Discovery of PG545: A Highly Potent and Simultaneous Inhibitor of Angiogenesis, Tumor Growth, and Metastasis. *J. Med. Chem.* **2012**, 55 (8), 3804–3813. <https://doi.org/10.1021/jm201708h>.
- (120) Herczeg, M.; Lázár, L.; Borbás, A.; Lipták, A.; Antus, S. Toward Synthesis of the Isosteric Sulfonate Analogues of the AT-III Binding Domain of Heparin. *Org. Lett.* **2009**, 11 (12), 2619–2622. <https://doi.org/10.1021/ol900952d>.
- (121) Herczeg, M.; Lázár, L.; Bereczky, Z.; Kövér, K. E.; Timári, I.; Kappelmayer, J.; Lipták, A.; Antus, S.; Borbás, A. Synthesis and Anticoagulant Activity of Bioisosteric Sulfonic-Acid Analogues of the Antithrombin-Binding Pentasaccharide Domain of Heparin. *Chem. – Eur. J.* **2012**, 18 (34), 10643–10652. <https://doi.org/10.1002/chem.201201041>.
- (122) Lisztes, E.; Mező, E.; Demeter, F.; Horváth, L.; Bösze, S.; István Tóth, B.; Borbás, A.; Herczeg, M. Synthesis and Cell Growth Inhibitory Activity of Six Non-Glycosaminoglycan-Type Heparin-Analogue Trisaccharides. *ChemMedChem* **2021**, 16 (9), 1467–1476. <https://doi.org/10.1002/cmdc.202000917>.
- (123) Demeter, F.; Peleskei, Z.; Kútvölgyi, K.; Rusznyák, Á.; Fenyvesi, F.; Kajtár, R.; Sipos, É.; Lekli, I.; Molnár, P.; Szöllősi, A. G.; Lisztes, E.; Tóth, B. I.; Borbás, A.; Herczeg, M. Synthesis and Biological Profiling of Seven Heparin and Heparan Sulphate Analogue Trisaccharides. *Biomolecules* **2024**, 14 (9), 1052. <https://doi.org/10.3390/biom14091052>.
- (124) Hogwood, J.; Mulloy, B.; Lever, R.; Gray, E.; Page, P. C. Pharmacology of Heparin and Related Drugs: An Update. *Pharmacol. Rev.* **2023**, 75 (2). <https://doi.org/10.1124/pharmrev.122.000684>.
- (125) Mulloy, B.; Hogwood, J.; Gray, E.; Lever, R.; Page, P. C. Pharmacology of Heparin and Related Drugs. *Pharmacol. Rev.* **2016**, 68 (1). <https://doi.org/10.1124/pr.115.011247>.
- (126) Cassinelli, G.; Naggi, A. Old and New Applications of Non-Anticoagulant Heparin. *Int. J. Cardiol.* **2016**, 212, S14–S21. [https://doi.org/10.1016/S0167-5273\(16\)12004-2](https://doi.org/10.1016/S0167-5273(16)12004-2).
- (127) Glantz, M. J.; Burger, P. C.; Friedman, A. H.; Radtke, R. A.; Massey, E. W.; Schold, S. C. Treatment of Radiation-induced Nervous System Injury with Heparin and Warfarin. *Neurology* **1994**, 44 (11), 2020–2020. <https://doi.org/10.1212/WNL.44.11.2020>.
- (128) Casu, B.; Guerrini, M.; Guglieri, S.; Naggi, A.; Perez, M.; Torri, G.; Cassinelli, G.; Ribatti, D.; Carminati, P.; Giannini, G.; Penco, S.; Pisano, C.; Belleri, M.; Rusnati, M.; Presta, M. Undersulfated and Glycol-Split Heparins Endowed with Antiangiogenic Activity. *J. Med. Chem.* **2004**, 47 (4), 838–848. <https://doi.org/10.1021/jm030893g>.

- (129) Chiodelli, P.; Bugatti, A.; Urbinati, C.; Rusnati, M. Heparin/Heparan Sulfate Proteoglycans Glycomic Interactome in Angiogenesis: Biological Implications and Therapeutical Use. *Molecules* **2015**, *20* (4), 6342–6388. <https://doi.org/10.3390/molecules20046342>.
- (130) Zhou, H.; Roy, S.; Cochran, E.; Zouaoui, R.; Chu, C. L.; Duffner, J.; Zhao, G.; Smith, S.; Galcheva-Gargova, Z.; Karlgren, J.; Dussault, N.; Kwan, R. Y. Q.; Moy, E.; Barnes, M.; Long, A.; Honan, C.; Qi, Y. W.; Shriver, Z.; Ganguly, T.; Schultes, B.; Venkataraman, G.; Kishimoto, T. K. M402, a Novel Heparan Sulfate Mimetic, Targets Multiple Pathways Implicated in Tumor Progression and Metastasis. *PLOS ONE* **2011**, *6* (6), e21106. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021106>.
- (131) Kwon, P. S.; Oh, H.; Kwon, S.-J.; Jin, W.; Zhang, F.; Fraser, K.; Hong, J. J.; Linhardt, R. J.; Dordick, J. S. Sulfated Polysaccharides Effectively Inhibit SARS-CoV-2 in Vitro. *Cell Discov.* **2020**, *6* (1), 50. <https://doi.org/10.1038/s41421-020-00192-8>.
- (132) Kim, S. Y.; Jin, W.; Sood, A.; Montgomery, D. W.; Grant, O. C.; Fuster, M. M.; Fu, L.; Dordick, J. S.; Woods, R. J.; Zhang, F.; Linhardt, R. J. Characterization of Heparin and Severe Acute Respiratory Syndrome-Related Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Spike Glycoprotein Binding Interactions. *Antiviral Res.* **2020**, *181*, 104873. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2020.104873>.
- (133) Lázár, L.; Mező, E.; Herczeg, M.; Lipták, A.; Antus, S.; Borbás, A. Synthesis of the Non-Reducing End Trisaccharide of the Antithrombin-Binding Domain of Heparin and Its Bioisosteric Sulfonic Acid Analogues. *Tetrahedron* **2012**, *68* (36), 7386–7399. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2012.06.081>.
- (134) Lázár, L.; Herczeg, M.; Fekete, A.; Borbás, A.; Lipták, A.; Antus, S. Synthesis of Sulfonic Acid Analogues of the Non-Reducing End Trisaccharide of the Antithrombin Binding Domain of Heparin. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51* (51), 6711–6714. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2010.10.042>.
- (135) Májer, G.; Csávás, M.; Lázár, L.; Herczeg, M.; Bényei, A.; Antus, S.; Borbás, A. Synthesis of Sulfonic Acid-Containing Maltose-Type Keto-Oligosaccharides by an Iterative Approach. *Tetrahedron* **2012**, *68* (25), 4986–4994. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2012.04.067>.
- (136) Mező, E.; Herczeg, M.; Eszenyi, D.; Borbás, A. Large-Scale Synthesis of 6-Deoxy-6-Sulfonatomethyl Glycosides and Their Application for Novel Synthesis of a Heparinoid Pentasaccharide Trisulfonic Acid of Anticoagulant Activity. *Carbohydr. Res.* **2014**, *388*, 19–29. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2014.02.012>.
- (137) Herczeg, M.; Mező, E.; Eszenyi, D.; Lázár, L.; Csávás, M.; Bereczki, I.; Antus, S.; Borbás, A. Synthesis of 6-Sulfonatomethyl Thioglycosides by Nucleophilic Substitution: Methods to Prevent 1→6 Anomeric Group Migration of Thioglycoside 6-O-Triflates. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, *2013* (25), 5570–5573. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201300681>.
- (138) Mező, E.; Eszenyi, D.; Varga, E.; Herczeg, M.; Borbás, A. A Modular Synthetic Approach to Isosteric Sulfonic Acid Analogues of the Anticoagulant Pentasaccharide Idraparinux. *Molecules* **2016**, *21* (11), 1497. <https://doi.org/10.3390/molecules21111497>.
- (139) Fraser-Reid, B.; Wu, Z.; Udodong, U. E.; Ottosson, H. Armed/Disarmed Effects in Glycosyl Donors: Rationalization and Sidetracking. *J. Org. Chem.* **1990**, *55* (25), 6068–6070. <https://doi.org/10.1021/jo00312a004>.
- (140) Fraser-Reid, B.; López, J. C. Armed–Disarmed Effects in Carbohydrate Chemistry: History, Synthetic and Mechanistic Studies. In *Reactivity Tuning in Oligosaccharide Assembly*; Fraser-Reid, B., Cristóbal López, J., Eds.; Springer: Berlin, Heidelberg, 2011; pp 1–29. https://doi.org/10.1007/128_2010_105.
- (141) Montchamp, J.-L.; Tian, F.; Hart, M. E.; Frost, J. W. Butane 2,3-Bisacetal Protection of Vicinal Diequatorial Diols. *J. Org. Chem.* **1996**, *61* (11), 3897–3899. <https://doi.org/10.1021/jo960170n>.
- (142) Hense, A.; Ley, S. V.; Osborn, H. M. I.; Owen, D. R.; Poisson, J.-F.; Warriner, S. L.; Wesson, K. E. Direct Preparation of Diacetals from 1,2-Diketones and Their Use as 1,2-Diol

- Protecting Groups. *J. Chem. Soc. Perkin 1* **1997**, 0 (14), 2023–2032. <https://doi.org/10.1039/A702497E>.
- (143) Csávás, M.; Herczeg, M.; Bajza, I.; Borbás, A. 2.15 - Protecting Group Manipulations in Carbohydrate Synthesis. In *Comprehensive Glycoscience (Second Edition)*; Barchi, J. J., Ed.; Elsevier: Oxford, 2021; pp 464–524. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819475-1.00087-0>.
- (144) Ley, S. V.; Baeschlin, D. K.; Dixon, D. J.; Foster, A. C.; Ince, S. J.; Priepke, H. W. M.; Reynolds, D. J. 1,2-Diacetals: A New Opportunity for Organic Synthesis. *Chem. Rev.* **2001**, 101 (1), 53–80. <https://doi.org/10.1021/cr990101j>.
- (145) Herczeg, M.; Demeter, F.; Mező, E.; Pap, M.; Borbás, A. Simultaneous Application of Arylmethyl-ene Acetal and Butane Diacetal Groups for Protection of Hexopyranosides: Synthesis and Chemoselective Ring-Opening Reactions. *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, 2015 (26), 5730–5741. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201500732>.
- (146) Herczeg, M.; Demeter, F.; Nagy, T.; Rusznyák, Á.; Hodek, J.; Sipos, É.; Lekli, I.; Fenyvesi, F.; Weber, J.; Kéki, S.; Borbás, A. Block Synthesis and Step-Growth Polymerization of C-6-Sulfonatomethyl-Containing Sulfated Malto-Oligosaccharides and Their Biological Profiling. *Int. J. Mol. Sci.* **2024**, 25 (1), 677. <https://doi.org/10.3390/ijms25010677>.
- (147) Jin, H.; Chen, Q.; Zhang, Y.-Y.; Hao, K.-F.; Zhang, G.-Q.; Zhao, W. Preactivation-Based, Iterative One-Pot Synthesis of Anticoagulant Pentasaccharide Fondaparinux Sodium. *Org. Chem. Front.* **2019**, 6 (17), 3116–3120. <https://doi.org/10.1039/C9QO00480G>.
- (148) Shirsat, A. A.; Rai, D.; Ghotekar, B. K.; Kulkarni, S. S. Total Synthesis of Trisaccharide Repeating Unit of Staphylococcus Aureus Strain M. *Org. Lett.* **2023**, 25 (16), 2913–2917. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.3c00997>.
- (149) Tandon, R.; Sharp, J. S.; Zhang, F.; Pomin, V. H.; Ashpole, N. M.; Mitra, D.; McCandless, M. G.; Jin, W.; Liu, H.; Sharma, P.; Linhardt, R. J. Effective Inhibition of SARS-CoV-2 Entry by Heparin and Enoxaparin Derivatives. *J. Virol.* **2021**, 95 (3), e01987--.. <https://doi.org/10.1128/jvi.01987-20>.
- (150) Eilts, F.; Bauer, S.; Fraser, K.; Dordick, J. S.; Wolff, M. W.; Linhardt, R. J.; Zhang, F. The Diverse Role of Heparan Sulfate and Other GAGs in SARS-CoV-2 Infections and Therapeutics. *Carbohydr. Polym.* **2023**, 299, 120167. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.120167>.
- (151) Sun, L.; Chopra, P.; Tomris, I.; van der Woude, R.; Liu, L.; de Vries, R. P.; Boons, G.-J. Well-Defined Heparin Mimetics Can Inhibit Binding of the Trimeric Spike of SARS-CoV-2 in a Length-Dependent Manner. *JACS Au* **2023**, 3 (4), 1185–1195. <https://doi.org/10.1021/jacsau.3c00042>.
- (152) Herczeg, M.; Mező, E.; Lázár, L.; Fekete, A.; Kövér, K. E.; Antus, S.; Borbás, A. Novel Syntheses of Idraparinux, the Anticoagulant Pentasaccharide with Indirect Selective Factor Xa Inhibitory Activity. *Tetrahedron* **2013**, 69 (15), 3149–3158. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2013.02.076>.
- (153) Protecting Groups, 3rd Edition By P. J. Kocięński. Georg Thieme: Stuttgart. 2005. 679 Pp. ISBN 3-13-135603-0 (Paperback). *Org. Process Res. Dev.* **2005**, 9 (4), 520–520. <https://doi.org/10.1021/op050052e>.
- (154) De Mico, A.; Margarita, R.; Parlanti, L.; Vescovi, A.; Piancatelli, G. A Versatile and Highly Selective Hypervalent Iodine (III)/2,2,6,6-Tetramethyl-1-Piperidinyloxy-Mediated Oxidation of Alcohols to Carbonyl Compounds. *J. Org. Chem.* **1997**, 62 (20), 6974–6977. <https://doi.org/10.1021/jo971046m>.
- (155) Epp, J. B.; Widlanski, T. S. Facile Preparation of Nucleoside-5'-Carboxylic Acids. *J. Org. Chem.* **1999**, 64 (1), 293–295. <https://doi.org/10.1021/jo981316g>.
- (156) Herczeg, M.; Mező, E.; Eszenyi, D.; Antus, S.; Borbás, A. New Synthesis of Idraparinux, the Non-Glycosaminoglycan Analogue of the Antithrombin-Binding Domain of Heparin. *Tetrahedron* **2014**, 70 (18), 2919–2927. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2014.03.033>.
- (157) Lázár, L.; Csávás, M.; Herczeg, M.; Herczegh, P.; Borbás, A. Synthesis of S-Linked Glycoconjugates and S-Disaccharides by Thiol–Ene Coupling Reaction of Enoses. *Org. Lett.* **2012**, 14 (17), 4650–4653. <https://doi.org/10.1021/ol302098u>.

- (158) Borbás, A.; Szabó, Z. B.; Szilágyi, L.; Bényei, A.; Lipták, A. Dioxane-Type (2-Naphthyl)Methylene Acetals of Glycosides and Their Hydrogenolytic Transformation into 6-O- and 4-O-(2-Naphthyl)Methyl (NAP) Ethers. *Tetrahedron* **2002**, 58 (28), 5723–5732. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(02\)00515-X](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(02)00515-X).
- (159) Ek, M.; Garegg, P. J.; Hultberg, H.; Oscarson, S. Reductive Ring Openings of Carbohydrate Benzylidene Acetals Using Borane-Trimethylamine and Aluminium Chloride. Regioselectivity and Solvent Dependence. *J. Carbohydr. Chem.* **1983**, 2 (3), 305–311. <https://doi.org/10.1080/07328308308057876>.
- (160) Rana, S. S.; Barlow, J. J.; Matta, K. L. Synthesis of *p*-Nitrophenyl 2-Acetamido-2-Deoxy-4-O- β -D-Galactopyranosyl- β -D-Glucopyranoside, and *p*-Nitrophenyl 6-O-(2-Acetamido-2-Deoxy-3-O- and -4-O- β -D-Galactopyranosyl- β -D-Glucopyranosyl)- α -D-Mannopyranoside. *Carbohydr. Res.* **1983**, 113 (2), 257–271. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(83\)88241-X](https://doi.org/10.1016/0008-6215(83)88241-X).
- (161) Crich, D.; Sun, S. Formation of β -Mannopyranosides of Primary Alcohols Using the Sulfoxide Method. *J. Org. Chem.* **1996**, 61 (14), 4506–4507. <https://doi.org/10.1021/jo9606517>.
- (162) Crich, D.; Sun, S. Direct Synthesis of β -Mannopyranosides by the Sulfoxide Method. *J. Org. Chem.* **1997**, 62 (5), 1198–1199. <https://doi.org/10.1021/jo962345z>.
- (163) Crich, D.; Cai, W. Chemistry of 4,6-O-Benzylidene-d-Glycopyranosyl Triflates: Contrasting Behavior between the Gluco and Manno Series. *J. Org. Chem.* **1999**, 64 (13), 4926–4930. <https://doi.org/10.1021/jo990243d>.
- (164) Yu, H. N.; Furukawa, J.; Ikeda, T.; Wong, C.-H. Novel Efficient Routes to Heparin Monosaccharides and Disaccharides Achieved via Regio- and Stereoselective Glycosidation. *Org. Lett.* **2004**, 6 (5), 723–726. <https://doi.org/10.1021/ol036390m>.
- (165) Vibert, A.; Lopin-Bon, C.; Jacquinet, J.-C. From Polymer to Size-Defined Oligomers: A Step Economy Process for the Efficient and Stereocontrolled Construction of Chondroitin Oligosaccharides and Biotinylated Conjugates Thereof: Part 1. *Chem. – Eur. J.* **2009**, 15 (37), 9561–9578. <https://doi.org/10.1002/chem.200900740>.
- (166) Moumé-Pymbock, M.; Furukawa, T.; Mondal, S.; Crich, D. Probing the Influence of a 4,6-O-Acetal on the Reactivity of Galactopyranosyl Donors: Verification of the Disarming Influence of the Trans–Gauche Conformation of C5–C6 Bonds. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, 135 (38), 14249–14255. <https://doi.org/10.1021/ja405588x>.
- (167) Oikawa, Y.; Yoshioka, T.; Yonemitsu, O. Protection of Hydroxy Groups by Intramolecular Oxidative Formation of Methoxybenzylidene Acetals with DDQ. *Tetrahedron Lett.* **1982**, 23 (8), 889–892. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)86975-0](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)86975-0).
- (168) Kim, H.; Hoffmann, H. M. R. Synthesis of the C38–C44 Segment of Althohyrin A – With an Addendum on the Preparation of 8-Oxabicyclo[3.2.1]Oct-6-En-3-One. *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 2000 (12), 2195–2201. [https://doi.org/10.1002/1099-0690\(200006\)2000:12<2195::AID-EJOC2195>3.0.CO;2-C](https://doi.org/10.1002/1099-0690(200006)2000:12<2195::AID-EJOC2195>3.0.CO;2-C).
- (169) Herczeg, M.; Demeter, F.; Balogh, T.; Kelemen, V.; Borbás, A. Rapid Synthesis of L-Idosyl Glycosyl Donors from α -Thioglucosides for the Preparation of Heparin Disaccharides. *Eur. J. Org. Chem.* **2018**, 2018 (25), 3312–3316. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201800425>.
- (170) Demeter, F.; Veres, F.; Herczeg, M.; Borbás, A. Short Synthesis of Idraparinux by Applying a 2-O-Methyl-4,6-O-Arylmethylene Thioidoside as a 1,2-Trans- α -Selective Glycosyl Donor. *Eur. J. Org. Chem.* **2018**, 2018 (48), 6901–6912. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201801349>.
- (171) Eszenyi, D.; Kelemen, V.; Balogh, F.; Bege, M.; Csávás, M.; Herczegh, P.; Borbás, A. Promotion of a Reaction by Cooling: Stereoselective 1,2-Cis- α -Thioglycoconjugation by Thiol-Ene Coupling at -80°C . *Chem. – Eur. J.* **2018**, 24 (18), 4532–4536. <https://doi.org/10.1002/chem.201800668>.
- (172) Lipták, A.; Borbás, A.; Jánossy, L.; Szilágyi, L. Preparation of (2-Naphthyl)Methylene Acetals of Glycosides and Their Hydrogenolytic Transformation into 2-Naphthylmethyl (NAP) Ethers. *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41 (25), 4949–4953. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)00735-8](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)00735-8).

- (173) Dubois, E.; Beau, J.-M. Synthesis of C-Glycopyranosyl Compounds by a Palladium-Catalyzed Coupling Reaction of 1-Tributylstannyl-d-Glucals with Organic Halides. *Carbohydr. Res.* **1992**, 228 (1), 103–120. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)90552-4](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)90552-4).
- (174) Xia, J.; Abbas, S. A.; Locke, R. D.; Piskorz, C. F.; Alderfer, J. L.; Matta, K. L. Use of 1,2-Dichloro 4,5-Dicyanoquinone (DDQ) for Cleavage of the 2-Naphthylmethyl (NAP) Group. *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41 (2), 169–173. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(99\)02046-8](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(99)02046-8).
- (175) Groneberg, R. D.; Miyazaki, T.; Stylianides, N. A.; Schulze, T. J.; Stahl, W.; Schreiner, E. P.; Suzuki, T.; Iwabuchi, Y.; Smith, A. L.; Nicolaou, K. C. Total Synthesis of Calicheamicin .Gamma.II. 1. Synthesis of the Oligosaccharide Fragment. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115 (17), 7593–7611. <https://doi.org/10.1021/ja00070a004>.
- (176) Hajkó, J.; Borbás, A.; Lipták, A.; Kajtár-Peredy, M. Preparation of Dioxolane-Type Fluoren-9-Ylidene Acetals of Carbohydrates and Their Hydrogenolysis with AlClH₂ to Give Axial Fluoren-9-Yl Ethers. *Carbohydr. Res.* **1992**, 216, 413–420. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(92\)84177-T](https://doi.org/10.1016/0008-6215(92)84177-T).
- (177) Herczeg, M.; Lázár, L.; Mándi, A.; Borbás, A.; Komáromi, I.; Lipták, A.; Antus, S. Synthesis of Disaccharide Fragments of the AT-III Binding Domain of Heparin and Their Sulfonatomethyl Analogues. *Carbohydr. Res.* **2011**, 346 (13), 1827–1836. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2011.06.021>.
- (178) Demeter, F.; Gyöngyösi, T.; Bereczky, Z.; Kövér, K. E.; Herczeg, M.; Borbás, A. Replacement of the L-Iduronic Acid Unit of the Anticoagulant Pentasaccharide Idraparinux by a 6-Deoxy-L-Talopyranose – Synthesis and Conformational Analysis. *Sci. Rep.* **2018**, 8 (1), 13736. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-31854-z>.
- (179) Demeter, F.; Chang, M. D.-T.; Lee, Y.-C.; Borbás, A.; Herczeg, M. An Efficient Synthesis of the Pentasaccharide Repeating Unit of Pseudomonas Aeruginosa Psl Exopolysaccharide. *Synlett* **2019**, 31, 469–474. <https://doi.org/10.1055/s-0039-1690747>.
- (180) Wang, Z.; Chinoy, Z. S.; Ambre, S. G.; Peng, W.; McBride, R.; de Vries, R. P.; Glushka, J.; Paulson, J. C.; Boons, G.-J. A General Strategy for the Chemoenzymatic Synthesis of Asymmetrically Branched N-Glycans. *Science* **2013**, 341 (6144), 379–383. <https://doi.org/10.1126/science.1236231>.
- (181) Brown, H. C.; Krishnamurthy, S. Lithium Tri-Sec-Butylborohydride. New Reagent for the Reduction of Cyclic and Bicyclic Ketones with Super Stereoselectivity. Remarkably Simple and Practical Procedure for the Conversion of Ketones to Alcohols in Exceptionally High Stereochemical Purity. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, 94 (20), 7159–7161. <https://doi.org/10.1021/ja00775a053>.
- (182) Oshitari, T.; Shibasaki, M.; Yoshizawa, T.; Tomita, M.; Takao, K.; Kobayashi, S. Synthesis of 2-O-(3-O-Carbamoyl- α -D-Mannopyranosyl)-L-Gulopyranose: Sugar Moiety of Antitumor Antibiotic Bleomycin. *Tetrahedron* **1997**, 53 (32), 10993–11006. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(97\)00360-8](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(97)00360-8).
- (183) Demeter, F.; Bereczki, I.; Borbás, A.; Herczeg, M. Synthesis of Four Orthogonally Protected Rare L-Hexose Thioglycosides from d-Mannose by C-5 and C-4 Epimerization. *Molecules* **2022**, 27 (11), 3422. <https://doi.org/10.3390/molecules27113422>.
- (184) Cram, D. J.; Kopecky, K. R. Studies in Stereochemistry. XXX. Models for Steric Control of Asymmetric Induction1. *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, 81 (11), 2748–2755. <https://doi.org/10.1021/ja01520a036>.
- (185) Chang, C.-W. T.; Hui, Y.; Elchert, B. Studies of the Stereoselective Reduction of Ketosugar (Hexosulose). *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42 (40), 7019–7023. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(01\)01472-1](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(01)01472-1).
- (186) Lichtenthaler, F. W.; Schneider-Adams, T. 3,4,6-Tri-O-Benzyl-.Alpha.-D-Arabinohexopyranos-2-Ulosyl Bromide: A Versatile Glycosyl Donor for the Efficient Generation of .Beta.-D-Mannopyranosidic Linkages. *J. Org. Chem.* **1994**, 59 (22), 6728–6734. <https://doi.org/10.1021/jo00101a035>.

- (187) Demeter, F.; Bényei, A.; Borbás, A.; Herczeg, M. Synthesis of the Three Most Expensive L-Hexose Thioglycosides from D-Glucose. *Synthesis* **2022**, 55, 1087–1111. <https://doi.org/10.1055/s-0042-1751394>.
- (188) Simard, R. D.; Joyal, M.; Gillard, L.; Di Censo, G.; Maharsy, W.; Beauregard, J.; Colarusso, P.; Patel, K. D.; Prévost, M.; Nemer, M.; Guindon, Y. Synthesis of Sialyl LewisX Glycomimetics Bearing a Bicyclic 3-O,4-C-Fused Galactopyranoside Scaffold. *J. Org. Chem.* **2019**, 84 (11), 7372–7387. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.9b01075>.
- (189) Adinolfi, M.; Barone, G.; Lorenzo, F. D.; Iadonisi, A. Intramolecular Tishchenko Reactions of Protected Hexos-5-Uloses: A Novel and Efficient Synthesis of l-Idose and l-Altrose. *Synlett* **1999**, 1999, 336–338. <https://doi.org/10.1055/s-1999-3156>.
- (190) Singh, P. P.; Gharia, M. M.; Dasgupta, F.; Srivastava, H. C. Use of Ferric Chloride in Carbohydrate Chemistry. I. A Quick Method for the Preparation of O-Isopropylidene Derivatives of Carbohydrates. *Tetrahedron Lett.* **1977**, 18 (5), 439–440. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(01\)92659-0](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(01)92659-0).
- (191) Cruz-Gregorio, S.; Hernández, L.; Vargas, M.; Quintero, L.; Sartillo-Piscil, F. Highly Efficient Inversion of the C-3 Configuration in 1,2-O-Isopropylidene-furanose Derivatives by an Adapted Swern Oxidation/Sodium Borohydride Reduction Protocol in One Pot. *J. Mex. Chem. Soc.* **2005**, 49 (1), 20–23.
- (192) Baker, D. C.; Horton, D.; Tindall, C. G. Large-Scale Preparation of D-Allose: Observations on the Stereoselectivity of the Reduction of 1,2:5,6-Di-O-Isopropylidene- α -D-Ribo-Hexofuranos-3-Ulose Hydrate. *Carbohydr. Res.* **1972**, 24 (1), 192–197. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)82279-X](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)82279-X).
- (193) Haga, M.; Tejima, S. Synthesis of 3,4,6-Tri-O-Acetyl-1,5-Anhydro-2-Deoxy-D-Ribo-Hex-1-Enitol and 2,3,4,6-Tetra-O-Acetyl-1,5-Anhydro-D-Ribo-Hex-1-Enitol. *Carbohydr. Res.* **1974**, 34 (1), 214–218. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)80388-2](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)80388-2).
- (194) Shah, R. H.; Bahl, O. P. Reaction of Tetra-O-Acetyl- α -D-Hexopyranosyl Bromides with Sodium *p*-Nitrophenoxide in *N, N*-Dimethylformamide. Formation of *p*-Nitrophenyl 2,3,4,6-Tetra-O-Acetyl- β -D-Hexopyranosides versus 2,3,4,6-Tetra-O-Acetyl-1,5-Anhydro-D-Hex-1-Enitols. *Carbohydr. Res.* **1979**, 74 (1), 105–116. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)84768-0](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)84768-0).
- (195) Kojima, M.; Nakamura, Y.; Ito, Y.; Takeuchi, S. Ring Cleavage Reactions of Methyl α -D-Allopyranoside Derivatives with Phenylboron Dichloride and Triethylsilane. *Molecules* **2011**, 16 (12), 10303–10313. <https://doi.org/10.3390/molecules161210303>.
- (196) Mezö, E.; Herczeg, M.; Demeter, F.; Bereczki, I.; Csávás, M.; Borbás, A. Systematic Study of Regioselective Reductive Ring-Opening Reactions of 4,6-O-Halobenzyldene Acetals of Glucopyranosides. *J. Org. Chem.* **2021**, 86 (18), 12973–12987. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.1c01667>.
- (197) Manabe, S.; Ishii, K.; Hashizume, D.; Koshino, H.; Ito, Y. Evidence for Endocyclic Cleavage of Conformationally Restricted Glycopyranosides. *Chem. – Eur. J.* **2009**, 15 (28), 6894–6901. <https://doi.org/10.1002/chem.200900064>.
- (198) Baidya, M.; Mayr, H. Nucleophilicities and Carbon Basicities of DBU and DBN. *Chem. Commun.* **2008**, No. 15, 1792–1794. <https://doi.org/10.1039/B801811A>.
- (199) Maji, B.; Breugst, M.; Mayr, H. N-Heterocyclic Carbenes: Organocatalysts with Moderate Nucleophilicity but Extraordinarily High Lewis Basicity. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, 50 (30), 6915–6919. <https://doi.org/10.1002/anie.201102435>.
- (200) Li, Z.; Ji, P.; Cheng, J.-P. Brønsted Basicities and Nucleophilicities of N-Heterocyclic Olefins in Solution: N-Heterocyclic Carbene versus N-Heterocyclic Olefin. Which Is More Basic, and Which Is More Nucleophilic? *J. Org. Chem.* **2021**, 86 (3), 2974–2985. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.0c02838>.
- (201) Abel, T.; Cohen, J. I.; Engel, R.; Filshtinskaya, M.; Melkonian, A.; Melkonian, K. Preparation and Investigation of Antibacterial Carbohydrate-Based Surfaces. *Carbohydr. Res.* **2002**, 337 (24), 2495–2499. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(02\)00316-6](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(02)00316-6).

- (202) Engel, R.; Ghani, I.; Montenegro, D.; Thomas, M.; Klaritch-Vrana, B.; Castaño, A.; Friedman, L.; Leb, J.; Rothman, L.; Lee, H.; Capodiferro, C.; Ambinder, D.; Cere, E.; Awad, C.; Sheikh, F.; Rizzo, J.; Nisbett, L.-M.; Testani, E.; Melkonian, K. Polycationic Glycosides. *Molecules* **2011**, *16* (2), 1508–1518. <https://doi.org/10.3390/molecules16021508>.
- (203) Demeter, F.; Török, P.; Kiss, A.; Kovásznai-Oláh, R.; Szigeti, Z. M.; Baksa, V.; Kovács, F.; Balla, N.; Fenyvesi, F.; Váradi, J.; Borbás, A.; Herczeg, M. First Synthesis of DBU-Conjugated Cationic Carbohydrate Derivatives and Investigation of Their Antibacterial and Antifungal Activity. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24* (4), 3550. <https://doi.org/10.3390/ijms24043550>.
- (204) Herczeg, M.; Demeter, F.; Lisztes, E.; Racskó, M.; Tóth, B. I.; Timári, I.; Bereczky, Z.; Kövér, K. E.; Borbás, A. Synthesis of a Heparinoid Pentasaccharide Containing L-Guluronic Acid Instead of L-Iduronic Acid with Preserved Anticoagulant Activity. *J. Org. Chem.* **2022**, *87* (23), 15830–15836. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.2c01928>.
- (205) Phenyl 4,6-O-Benzylidene-1-Thio- α -D-Mannopyranoside. In *Carbohydrate Chemistry*; Marel, G. van der, Codee, J., Eds.; CRC Press, 2014.
- (206) Li, T.; Huang, M.; Liu, L.; Wang, S.; Moremen, K. W.; Boons, G.-J. Divergent Chemoenzymatic Synthesis of Asymmetrical-Core-Fucosylated and Core-Unmodified N-Glycans. *Chem. – Eur. J.* **2016**, *22* (52), 18742–18746. <https://doi.org/10.1002/chem.201604999>.
- (207) Daragics, K.; Fügedi, P. Regio- and Chemoselective Reductive Cleavage of 4,6-O-Benzylidene-Type Acetals of Hexopyranosides Using $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ –TMSOTf. *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50* (24), 2914–2916. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2009.03.194>.
- (208) Chrétien, F. A Convenient Preparation of Hex-5,6-Enopyranosides. *Synth. Commun.* **1989**, *19* (5–6), 1015–1024. <https://doi.org/10.1080/00397918908051023>.
- (209) Ng, S.-K.; Huang, Y.-T.; Lee, Y.-C.; Low, E.-L.; Chiu, C.-H.; Chen, S.-L.; Mao, L.-C.; Chang, M. D.-T. A Recombinant Horseshoe Crab Plasma Lectin Recognizes Specific Pathogen-Associated Molecular Patterns of Bacteria through Rhamnose. *PLOS ONE* **2014**, *9* (12), e115296. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0115296>.
- (210) Lis, H.; Sharon, N. Lectins: Carbohydrate-Specific Proteins That Mediate Cellular Recognition. *Chem. Rev.* **1998**, *98* (2), 637–674. <https://doi.org/10.1021/cr940413g>.
- (211) Chiou, S.-T.; Chen, Y.-W.; Chen, S.-C.; Chao, C.-F.; Liu, T.-Y. Isolation and Characterization of Proteins That Bind to Galactose, Lipopolysaccharide of Escherichia Coli, and Protein A of Staphylococcus Aureus from the Hemolymph of Tachypleus Tridentatus. *J. Biol. Chem.* **2000**, *275* (3), 1630–1634. <https://doi.org/10.1074/jbc.275.3.1630>.
- (212) Lundquist, J. J.; Toone, E. J. The Cluster Glycoside Effect. *Chem. Rev.* **2002**, *102* (2), 555–578. <https://doi.org/10.1021/cr000418f>.
- (213) Ohlsen, K.; Oelschlaeger, T. A.; Hacker, J.; Khan, A. S. Carbohydrate Receptors of Bacterial Adhesins: Implications and Reflections. *Top. Curr. Chem.* **2009**, *288*, 17–65. https://doi.org/10.1007/128_2008_10.
- (214) Bernardi, A.; Jiménez-Barbero, J.; Casnati, A.; Castro, C. D.; Darbre, T.; Fieschi, F.; Finne, J.; Funken, H.; Jaeger, K.-E.; Lahmann, M.; Lindhorst, T. K.; Marradi, M.; Messner, P.; Molinaro, A.; Murphy, P. V.; Nativi, C.; Oscarson, S.; Penadés, S.; Peri, F.; Pieters, R. J.; Renaudet, O.; Reymond, J.-L.; Richichi, B.; Rojo, J.; Sansone, F.; Schäffer, C.; Turnbull, W. B.; Velasco-Torrijos, T.; Vidal, S.; Vincent, S.; Wennekes, T.; Zuilhof, H.; Imberty, A. Multivalent Glycoconjugates as Anti-Pathogenic Agents. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42* (11), 4709–4727. <https://doi.org/10.1039/C2CS35408J>.
- (215) Cecioni, S.; Faure, S.; Darbost, U.; Bonnamour, I.; Parrot-Lopez, H.; Roy, O.; Taillefumier, C.; Wimmerová, M.; Praly, J.-P.; Imberty, A.; Vidal, S. Selectivity among Two Lectins: Probing the Effect of Topology, Multivalency and Flexibility of “Clicked” Multivalent Glycoclusters. *Chem. – Eur. J.* **2011**, *17* (7), 2146–2159. <https://doi.org/10.1002/chem.201002635>.

- (216) Bebault, G. M.; Dutton, G. G. S. Synthesis of 4-O- β -D-Mannopyranosyl-L-Rhamnopyranose. *Carbohydr. Res.* **1974**, 37 (2), 309–319. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)82920-1](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)82920-1).
- (217) van Steijn, A. M. P.; Kamerling, J. P.; Vliegthart, J. F. G. Synthesis of a Spacer-Containing Repeating Unit of the Capsular Polysaccharide of *Streptococcus Pneumoniae* Type 23F. *Carbohydr. Res.* **1991**, 211 (2), 261–277. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(91\)80096-6](https://doi.org/10.1016/0008-6215(91)80096-6).
- (218) Roy, B.; Mukhopadhyay, B. Sulfuric Acid Immobilized on Silica: An Excellent Catalyst for Fischer Type Glycosylation. *Tetrahedron Lett.* **2007**, 48 (22), 3783–3787. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2007.03.165>.
- (219) Guchhait, G.; Misra, A. K. Efficient Glycosylation of Unprotected Sugars Using Sulfamic Acid: A Mild Eco-Friendly Catalyst. *Catal. Commun.* **2011**, 14 (1), 52–57. <https://doi.org/10.1016/j.catcom.2011.07.016>.
- (220) Sha, C.-K.; Mohanakrishnan, A. K. Azides. In *Synthetic Applications of 1,3-Dipolar Cycloaddition Chemistry Toward Heterocycles and Natural Products*; John Wiley & Sons, Ltd, 2002; pp 623–679. <https://doi.org/10.1002/0471221902.ch9>.
- (221) Spiteri, C.; Moses, J. E. Copper-Catalyzed Azide–Alkyne Cycloaddition: Regioselective Synthesis of 1,4,5-Trisubstituted 1,2,3-Triazoles. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49 (1), 31–33. <https://doi.org/10.1002/anie.200905322>.
- (222) Bock, V. D.; Hiemstra, H.; van Maarseveen, J. H. CuI-Catalyzed Alkyne–Azide “Click” Cycloadditions from a Mechanistic and Synthetic Perspective. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 2006 (1), 51–68. <https://doi.org/10.1002/ejoc.200500483>.
- (223) Tollas, S.; Bereczki, I.; Borbás, A.; Batta, G.; Vanderlinden, E.; Naesens, L.; Herczegh, P. Synthesis of a Cluster-Forming Sialylthio-d-Galactose Fullerene Conjugate and Evaluation of Its Interaction with Influenza Virus Hemagglutinin and Neuraminidase. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, 24 (11), 2420–2423. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2014.04.032>.
- (224) Csávás, M.; Demeter, T.; Herczeg, M.; Timári, I.; Kövér, K. E.; Herczegh, P.; Borbás, A. Rapid Synthesis of Self-Assembling 1,2-Thiomannobioside Glycoconjugates as Potential Multivalent Ligands of Mannose-Binding Lectins. *Tetrahedron Lett.* **2014**, 55 (51), 6983–6986. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2014.10.104>.
- (225) Herczeg, M.; Mező, E.; Molnár, N.; Ng, S.-K.; Lee, Y.-C.; Dah-Tsyr Chang, M.; Borbás, A. Inhibitory Effect of Multivalent Rhamnobiosides on Recombinant Horseshoe Crab Plasma Lectin Interactions with *Pseudomonas Aeruginosa* PAO1. *Chem. – Asian J.* **2016**, 11 (23), 3398–3413. <https://doi.org/10.1002/asia.201601162>.
- (226) Duynstee, H. I.; van Vliet, M. J.; van der Marel, G. A.; van Boom, J. H. An Efficient Synthesis of (R)-3-(R)-3-[2-O-(α -L-Rhamnopyranosyl)- α -L-Rhamnopyranosyl] Oxydecanoyloxydecanoic Acid, a Rhamnolipid from *Pseudomonas Aeruginosa*. *Eur. J. Org. Chem.* **1998**, 1998 (2), 303–307. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-0690\(199802\)1998:2<303::AID-EJOC303>3.0.CO;2-U](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-0690(199802)1998:2<303::AID-EJOC303>3.0.CO;2-U).
- (227) Westerduin, P.; de Haan, P. E.; Dees, M. J.; van Boom, J. H. Synthesis of Methyl 3-[3-(2-O- α -L-Rhamnopyranosyl- α -L-Rhamnopyranosyloxy)Decanoyloxy]Decanoate, a Rhamnolipid from *Pseudomonas Aeruginosa*. *Carbohydr. Res.* **1988**, 180 (2), 195–205. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(88\)80077-6](https://doi.org/10.1016/0008-6215(88)80077-6).
- (228) Demeter, F.; Balogh, T.; Fu, T.-K.; Chang, M. D.-T.; Lee, Y.-C.; Borbás, A.; Herczeg, M. Preparation of α -L-Rhamnobiosides by Open and Conventional Glycosylations for Studies of the rHPL Lectin. *Synlett* **2019**, 30, 2185–2192. <https://doi.org/10.1055/s-0039-1690710>.
- (229) Demeter, F.; Dah-Tsyr Chang, M.; Lee, Y.-C.; Fu, T.-K.; Herczeg, M.; Borbás, A. Synthesis of α -1,2- and α -1,3-Linked Di-Rhamnolipids for Biological Studies. *Carbohydr. Res.* **2020**, 496, 108102. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2020.108102>.
- (230) Budhadev, D.; Mukhopadhyay, B. Synthesis of Two Trisaccharides Related to the Hepatoprotective Phenylethanoids Leonoside E and F Isolated from *Leonurus Japonicus* Houtt. *Carbohydr. Res.* **2014**, 384, 51–55. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2013.08.014>.

- (231) Komarova, B. S.; Orekhova, M. V.; Tsvetkov, Y. E.; Nifantiev, N. E. Is an Acyl Group at O-3 in Glucosyl Donors Able to Control α -Stereoselectivity of Glycosylation? The Role of Conformational Mobility and the Protecting Group at O-6. *Carbohydr. Res.* **2014**, *384*, 70–86. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2013.11.016>.
- (232) Kerékgyártó, J.; Kamerling, J. P.; Bouwstra, J. B.; Vliegthart, J. F. G.; Lipták, A. Synthesis of Four Structural Elements of Xylose-Containing Carbohydrate Chains from *N*-Glycoproteins. *Carbohydr. Res.* **1989**, *186* (1), 51–62. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(89\)84004-2](https://doi.org/10.1016/0008-6215(89)84004-2).
- (233) Li, H.; Mo, K.-F.; Wang, Q.; Stover, C. K.; DiGiandomenico, A.; Boons, G.-J. Epitope Mapping of Monoclonal Antibodies Using Synthetic Oligosaccharides Uncovers Novel Aspects of Immune Recognition of the Psl Exopolysaccharide of *Pseudomonas Aeruginosa*. *Chem. – Eur. J.* **2013**, *19* (51), 17425–17431. <https://doi.org/10.1002/chem.201302916>.
- (234) Crich, D.; Wu, B.; Jayalath, P. Convergent Synthesis of a β -(1 $\rightarrow$ 3)-Mannohexaose. *J. Org. Chem.* **2007**, *72* (18), 6806–6815. <https://doi.org/10.1021/jo071009n>.
- (235) Boltje, T. J.; Li, C.; Boons, G.-J. Versatile Set of Orthogonal Protecting Groups for the Preparation of Highly Branched Oligosaccharides. *Org. Lett.* **2010**, *12* (20), 4636–4639. <https://doi.org/10.1021/ol101951u>.
- (236) Crich, D.; Sun, S.; Brunckova, J. Chemistry of 1-Alkoxy-1-Glycosyl Radicals: The Manno- and Rhamnopyranosyl Series. Inversion of α - to β -Pyranosides and the Fragmentation of Anomeric Radicals. *J. Org. Chem.* **1996**, *61* (2), 605–615. <https://doi.org/10.1021/jo951194h>.
- (237) Crich, D.; Li, W.; Li, H. Direct Chemical Synthesis of the β -Mannans: Linear and Block Syntheses of the Alternating β -(1 $\rightarrow$ 3)- β -(1 $\rightarrow$ 4)-Mannan Common to *Rhodotorula Glutinis*, *Rhodotorula Mucilaginosa*, and *Leptospira Biflexa*. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126* (46), 15081–15086. <https://doi.org/10.1021/ja0471931>.

9. Köszönetnyilvánítás

Kutatóvá válásomért és kutatási szemléletem kialakulásáért, valamint kutatómunkám megvalósíthatóságáért őszinte hálával tartozom mentoraimnak: **Dr. Lipták András[†]** és **Dr. Antus Sándor[†]** professzor uraknak és legfőképpen **Dr. Borbás Anikó** professzor asszonynak, akiktől, a kutatómunka mellett, elsajátíthattam a tudományos munka iránti alázatot és szeretetet, és inspiráló személyiségükkel mindvégig tanítottak és támogattak. Kísérleti munkámhoz nyújtott elévülhetetlen segítségéért és baráti támogatásáért óriási köszönettel és hálával tartozom első PhD hallgatómnak: **dr. Demeter Fruzsínának**. Köszönettel tartozom továbbá közvetlen munkatársaimnak: **Prof. dr. Herczegh Pálnak, dr. Bakai-Bereczki Ilonának, dr. Csávás Magdolnának, Prof. dr. E. Kövér Katalinnak[†], Prof. dr. Kurtán Tibornak, Prof. dr. Batta Gyulának, dr. Mező Erikának, dr. Bege Miklósnak, Kútvölgyi Katalinnak, Peleskei Zsófiának, Varga Mariannak, Bodza Mártának, Róth Józsefné Erzsikének, Fekete Dórának, Jánossy Lórántnak** valamint **Molnár-Koszorús Zsuzsának** a kísérletes munkához nyújtott segítségükön túl a rengeteg baráti beszélgetésért, támogatásért, bátorításért. Köszönöm továbbá minden társszerzőm értékes szakmai hozzájárulását és segítségét. Köszönettel tartozom a MTA-DE Szénhidrátkémiai Kutatócsoportban, a DE TTK Szerves Kémiai Tanszékén, a DE GYTK Gyógyszerészi Kémiai Tanszékén és a DE Gyógyszerésztudományi Karán dolgozó volt kollégáimnak és barátaimnak, akik munkám megvalósításában segítséget nyújtottak.

Köszönettel tartozom barátaimnak: **Gábornak, Zolinak, Robinak, Attilának, Tibinek, Lórinak és Szabolcsnak**, akik mindig bátorítottak és kellően megszállottnak tartottak ahhoz, hogy ide eljuthassak, valamint családomnak, **Édesanyámnak és Testvéreimnek**, akik mindig támogattak.

Végül, de nem utolsó sorban szeretnék köszönetemet és hálámat kifejezni **Feleségemnek, Erikának és Gyermekeinknek, Csengének, Zalánnak és Jázminnak** a rengeteg önfeláldozó támogatásért és végtelen türelmükért és hogy végig hittek bennem.

Kutatásaim anyagi támogatásáért köszönettel tartozom az alábbi szervezeteknek: **OTKA** (PD 115645, FK 137924), **MTA** (Bolyai János Posztdoktori Ösztöndíj, Prémium Posztdoktori Kutatási Program, PPD 461038).