

XXXI. Országos Tudományos Diákköri Konferencia

———— Kémiai és Vegyipari Szekció ————

GŐZ VIKTÓRIA

Vegyész MSc, II. évfolyam

**Amino-piranozil-karbonsav prekurzorok szintézise
gyűrűs és nyíltláncú monoszacharidokon keresztül**

Témavezetők:

Dr. Pintér István

kutatóprofesszor; ELTE, Szerves Kémiai Tanszék

Szerkezeti Kémiai és Biológiai Laboratórium

Zsoldosné Dr. Mády Virág

tudományos főmunkatárs; ELTE-MTA Fehérjemodellező Kutatócsoport

ELTE, TTK Kémiai Intézet, Szerves Kémiai Tanszék

2012



E ö t v ö s L o r á n d
Tudományegyetem
Természettudományi Kar

Tartalomjegyzék

1. BEVEZETÉS.....	3
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	4
2.1. FOLDAMEREK	4
2.2. EXENDIN-4 FEHÉRJE.....	4
2.3. FOLDAMER MONOMEREK	6
2.3.1. Cukoraminosavak	6
2.3.2. Amino-piranozil-karbonsavak előállítása	7
2.3.2.1. D-Mannózamin származékok szintézise	8
3. CÉLKITŰZÉSEK	11
4. SAJÁT MUNKA BEMUTATÁSA	12
4.1. D-MANNÓZAMIN-HIDROKLORID.....	12
4.1.1. A szintézis	12
4.1.1.1. Nefreakció	13
4.2. ALTERNATÍVÁK KERESÉSE	14
4.2.1. Monoszacharidok 4-nitro-fenilhidrazon származékai.....	14
4.2.2. Reakciók benzil-aminnal	16
4.2.3. Reakciókörülmények módosításának vizsgálata	17
4.3. TOVÁBBI CÉLOK	20
4.3.1. Szerkezetazonosítás.....	20
4.3.2. Továbbalakítás	21
5. KÍSÉRLETI RÉSZ.....	23
5.1. D-MANNÓZAMIN-HIDROKLORID ELŐÁLLÍTÁSA.....	23
5.2. ALDÓZ-4-NITRO-FENILHIDRAZONOK ELŐÁLLÍTÁSA	26
5.3. ALDÓZ-4-NITRO-FENILHIDRAZONOK ACETILEZÉSE	27
5.4. N-BENZIL-3,4,5,6-TETRA-O-ACETIL-2-AMINO-2-DEZOXI-4-NITRO-FENILHIDRAZONOK	27
6. EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA, KITEKINTÉS	30
7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	32
8. IRODALOMJEGYZÉK.....	33
FÜGGELÉK	34

1. Bevezetés

A világ legelterjedtebb anyagcsere-betegsége a cukorbetegség. Az I. típusú a veleszületett, mely az autoimmun betegségek körébe tartozik. A II. típus esetén a túl sok cukor bevitelét követően inzulinrezisztencia alakul ki, mely tartósan magas vércukorszintet eredményez. Ez okozza a betegséggel járó tünetek nagy részét.

Szervezetünkben a szénhidrát anyagcserét a glükagon-szerű peptidek (GLP) szabályozzák. A természetes rezisztens analógja e fehérjének az Exendin-4 nevű fehérje, melynek térszerkezetét és funkcióját 2001-ben határozták meg [1]. E fehérjét, mint peptid alapú gyógyszert Magyarországon és Amerikában is alkalmazzák a II. típusú cukorbetegség kezelésére. Azonban adagolását megnehezíti a szervezetből való gyors kiürülése. Az Exendin-4 fehérje adott szakaszának módosítása lehetőséget nyújt tulajdonságainak befolyásolására. A beépítendő peptid szakaszok analóg szerkezettel kell, hogy rendelkezzenek, ezáltal tudják ugyanazt a feladatot elvégezni, mint az eredeti fehérje.

Léteznek ún. foldamer mimetikumok [2], melyek másodlagos szerkezet kialakítására képesek, de építőelemeik nem feltétlenül α -aminosavak. Manapság egyre nagyobb az érdeklődés a szénhidrátok élő szervezetben betöltött szerepe iránt. Az elmúlt évtizedben terjedt el az oligo- és poliszacharidokhoz hasonló monoszacharid egységekből felépülő foldamerek szintézise [3], melyekben a monomerek nem glikozidos, hanem savamid kötéssel kapcsolódnak egymáshoz. Ezek a polimerek ötvözik a fehérjék és a szénhidrátok előnyös tulajdonságait. A monomerek ún. cukoraminosavak (SAA, "Sugar Amino Acids"), melyek lehetnek furanozil- vagy piranozilgyűrűs monoszacharidok.

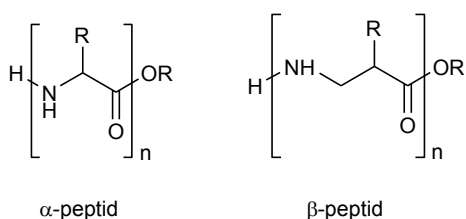
Munkám során a 2-amino-2-dezoxi-mannopiranozil-karbonsav (AMC) cukoraminosav előállításával foglalkozom, azon belül is a kiindulási D-mannózamin-hidroklorid szintézisével. A kész monomerből különböző hosszúságú oligomerek építhetők fel és megvizsgálhatók e foldamerek által felvett térszerkezetek.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. Foldamerek

Az 1990-es évek végén S. H. Gellman definiálta a foldamereket [2], mint új mimetikumokat. Eszerint minden olyan polimer, mely képes önszerveződően másodlagos szerkezet kialakítására foldamernek tekinthető. A meghatározás kiindulási pontjául a fehérjék szolgáltak, melyek térbeli, harmadlagos szerkezet felvételére képesek. A peptidek harmadlagos szerkezete másodlagos elemekből (α -hélix, β -redő, kanyar) épül fel. E szerkezeti egységek felelnek meg a foldamerek meghatározásában szereplő másodlagos szerveződésnek.

A szintetikus foldamerek az α -peptidekkel analóg szerkezetet képesek kialakítani. Az elmúlt évtizedben több monomert és belőlük felépülő homooligomert szintetizáltak [3], például β -peptideket, melyek β -aminosavakból állnak. A monomeregységeket savamid kötés kapcsolja össze. Kiderült, hogy az így felépített oligomerek esetenként stabil helikális szerkezetet vesznek fel, így képesek a természetes fehérjék helyettesítésére.



1. ábra: α - és β -peptidek

A foldamerek építőelemei nem csak aminosavak lehetnek. Új mimetikumok előállítását jelentette a monoszacharid egységekből felépülő foldamerek szintézise, melyekben a monomerek savamid kötéssel kapcsolódnak egymáshoz. Az így felépített foldamerek képesek analóg másodlagos szerkezetet kialakítani, így ugyanazt a biológiai funkciót ellátni, mint az eredeti peptid vagy poliszacharid.

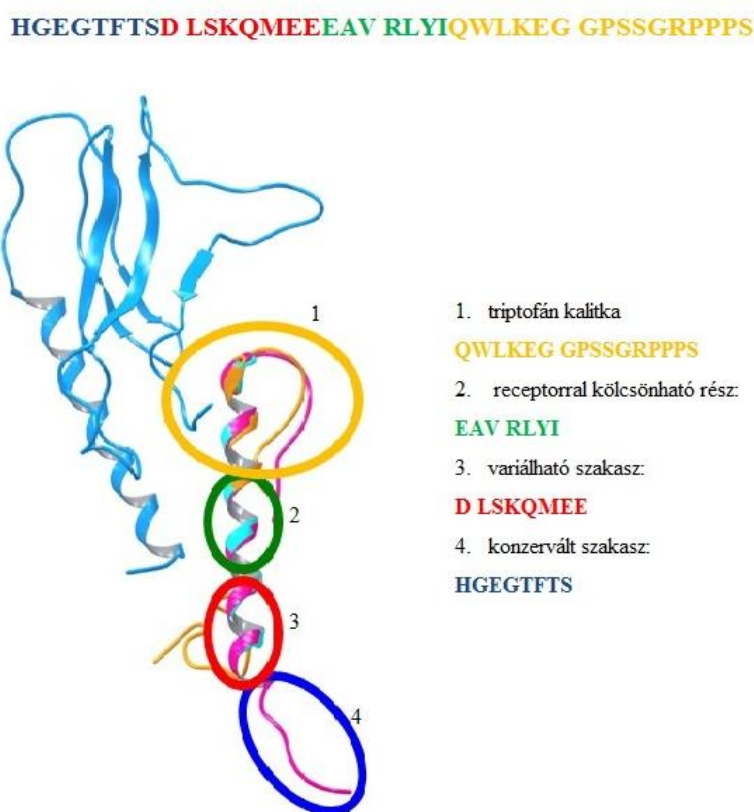
2.2. Exendin-4 fehérje

Az ELTE-MTA Fehérjemodellező Kutatócsoport széleskörű vizsgálatokat végez az Exendin-4 fehérje kémiai szerkezete és biológiai viselkedése közötti összefüggések feltárására.

A szervezetben a szénhidrát-anyagcsere szabályozói a GLP-1, 30 aminosavas peptidek. Feladatuk a hasnyálmirigyben az inzulin szekréció serkentése, a vérben a glükóz szint csökkentése, a májban a glükóz termelése és az agyban az éhségérzet szabályozása. Rövid

tartózkodási idejét a dipeptidil-dipeptidáz-IV nevű enzim (DPP-IV) okozza, mely hasítja, ezáltal dezaktiválja a fehérjét. A természetes DPP-IV rezisztens analógja az Exendin-4 fehérje, mely megközelítőleg 50%-os szekvencia azonosságot mutat a GLP-1 peptiddel.

Az Exendin-4 peptid 39 aminosavból áll, szekvenciáját és térszerkezetét 2001-ben J. W. Neidigh és munkatársai határozták meg NMR spektroszkópia alkalmazásával oldat és szilárd fázisban egyaránt [1].

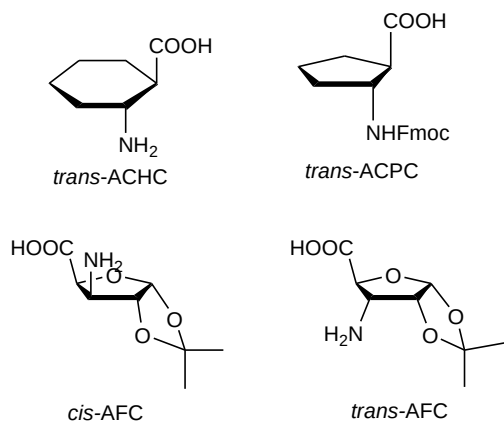


2. ábra: Az Exendin-4 fehérje és részei

A fehérje térszerkezetét, azaz a harmadlagos szerkezetét hidrofób magja, a Trp-kalitka tartja egyben. A szekvenciában ezt követi a receptorral kölcsönható rész, ahova a GLP-1 receptor kötődik. A peptid C terminálisához közel található a konzervált szakasz, mely a homológ fehérjékben is ugyanezen aminosavakból áll. A vizsgálatok alapján a variálható szakasz az, amit módosíthatunk anélkül, hogy megváltoztatnánk a fehérje szerkezetét és funkcióját. E szakasz helyére beépíthetők foldamer molekulák, melyek várhatóan analóg szerkezet vesznek fel, mint az eredeti szekvencia által kialakított. Ezáltal növelhető lenne a fehérje stabilitása és élettideje a szervezetbe juttatást követően. Ez a módosítás megoldaná a gyógyszer adagolásánál felmerülő problémákat, mely a kutatás fontosságát hangsúlyozza.

2.3. Foldamer monomerek

A beépítendő foldamer monomerek lehetnek különböző aminosavak (1. ábra) vagy cukoraminosavak is. A lehetséges építőelemek közül várhatóan az öt- és hattagú gyűrűs monomerek alkalmasak az Exendin-4 fehérje variálható szakaszának helyettesítésére.

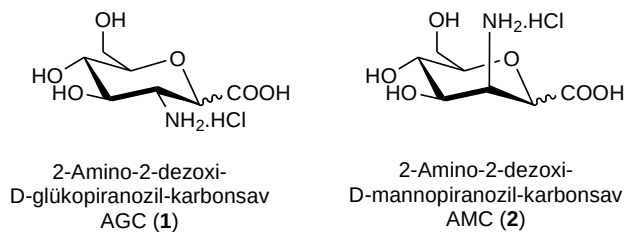


3. ábra: Foldamer monomerek

A legelső monomerek ciklohexán és ciklopentán származékok: [4] amino-ciklohexil-karbonsav (ACHC); amino-ciklopentil-karbonsav (ACPC), amino-furanozil-karbonsav (AFC) típusúak voltak. E vegyületek homooligomerjei nem oldódnak vízben, mely tulajdonság nem előnyös gyógyszerként való alkalmazásuk során. Amennyiben csak egy ilyen monomert építünk be az oligomerekbe, el lehet érni vízben való oldhatóságuk növekedését. Ezek a szintetizált foldamerek 12-helikális szerkezetet vesznek fel. A természetes α -enzimek bontják a monomerek közötti savamid kötéseket, így e foldamereknek a szervezetben való életideje rövid.

2.3.1. Cukoraminosavak

Amennyiben a cukormolekulában egy adott hidroxil-csoportot karboxilra cserélünk és hozzá képest a 2-, 3-, 4-, vagy 6-os helyzetbe amino-csoportot viszünk be, akkor ún. cukoraminosavakat állítunk elő (4. ábra). A szintetizált SAA monomerek között savamid kötéssel oligomereket hozhatunk létre, így az eredeti fehérjéhez hasonló másodlagos szerkezetet alakíthat ki a foldamer molekula.



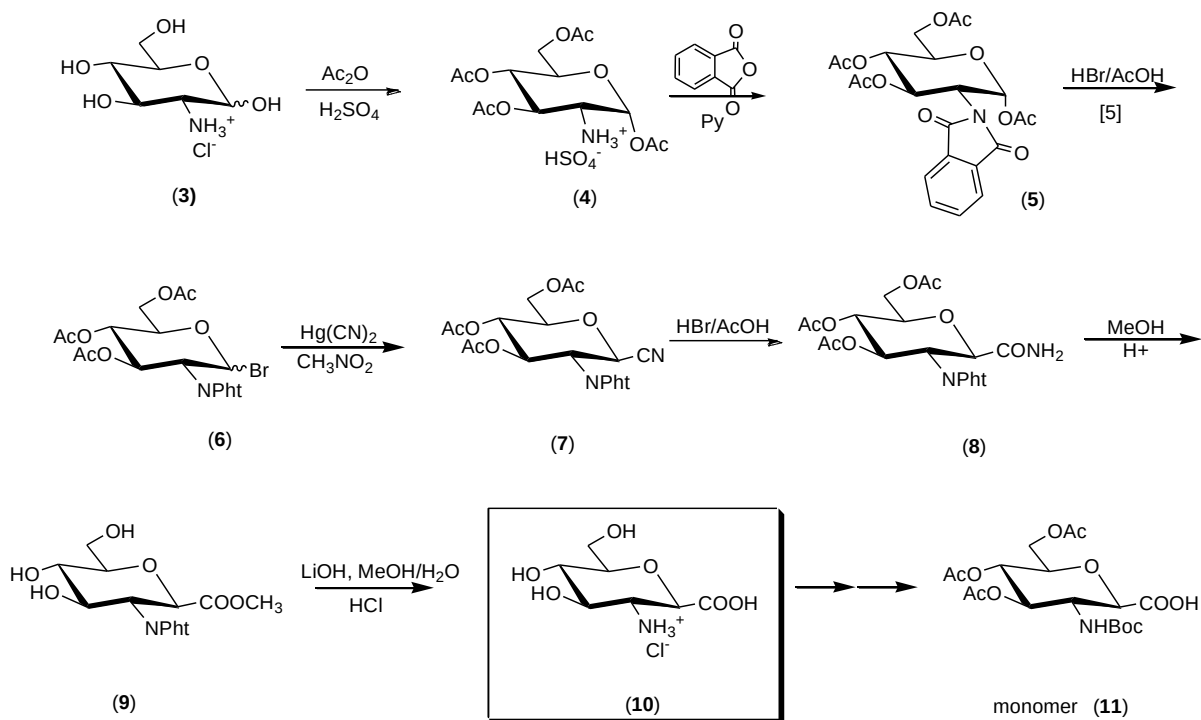
4. ábra: Hattagú, gyűrűs monomerek

A kutatás szempontjából fontosak a cukoraminosavak, ugyanis a szabad hidroxil-csoportok hidrofil jelleget adnak mind a monomereknek, mind a belőlük képzett homooligomereknek. Ezáltal növelhető a foldamerek vízben való oldhatósága, ráadásul a β -savamid kötésnek köszönhetően metabolikus stabilitásuk is növekszik.

2.3.2. Amino-piranozil-karbonsavak előállítása

A hattagú gyűrűs monomerek közül 2002-ben és 2006-ban megjelent cikkeikben Y. Suhara és munkatársai [5a, b] írták le a 2-amino-2-dezoxi- β -D-glükopiranozil-karbonsav (AGC, (1)) teljes szintézisét D-glükózamin-hidrokloridból kiindulva. Munkájuk során olyan cukoraminosavakat szintetizáltak, melyeknek anomer szénatomján volt a karboxil-csoport, és az amino-csoportot az egyik hidroxil helyére építették be. Az amino-csoport átmeneti védelmére ftálimid védőcsoportot alkalmaztak, míg a C-1 atomon a karboxil-csoportot cianidon keresztül alakították ki.

Első lépésben a ftálimiddel átmenetileg védett származékot állították elő (5). Ezt követően a glikozidos-OH-t szelektív szubsztitúcióval először brómra (6) majd $\text{Hg}(\text{CN})_2$ sóval reagáltatva ciano-csoportra cserélték (7). E csoportot HBr/AcOH elegyével átalakították CONH_2 formába (8). A savamidot elhidrolizálták, majd a védőcsoportokat LiOH és HCl jelenlétében távolították el (10). Ebből a származékból állították elő az általuk alkalmazott monomert (11).



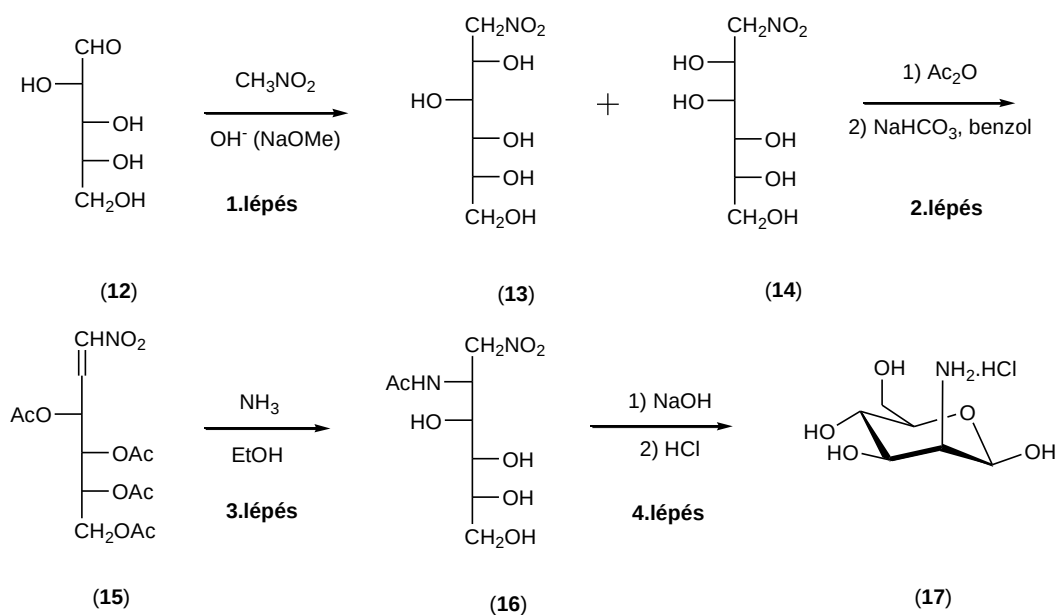
5. ábra: AGC totálszintézise D-glükózamin.HCl-ből

A monomerekből homooligomereket (dimer, trimer és tetramer) állítottak elő és vizsgálták e vegyületek által felvett másodlagos szerkezeteket. ECD (elektronikus cirkuláris dikroizmus) és NMR vizsgálatok alapján megállapították, hogy csak a $\beta(1\rightarrow2)$ kapcsolt oligomerek alakítanak ki másodlagos struktúrákat, jelen esetben 14-helikális szerkezetet. Ezen oligomer biológiai vizsgálataik alapján HIV inhibitorként viselkedik.

Az említett cukoraminosavban a savamid kötésben résztvevő csoportok *transz* helyzetben vannak. Lehetőség van olyan cukor-monomer előállítására, melyben *cisz* konfiguráció alakul ki, ilyen a 2-amino-2-dezoxi- β -D-mannopiranozil-karbonsav (AMC (2)), mely a fenti SAA-nak a C-2 epimer párja.

2.3.2.1. D-Mannózamin származékok szintézise

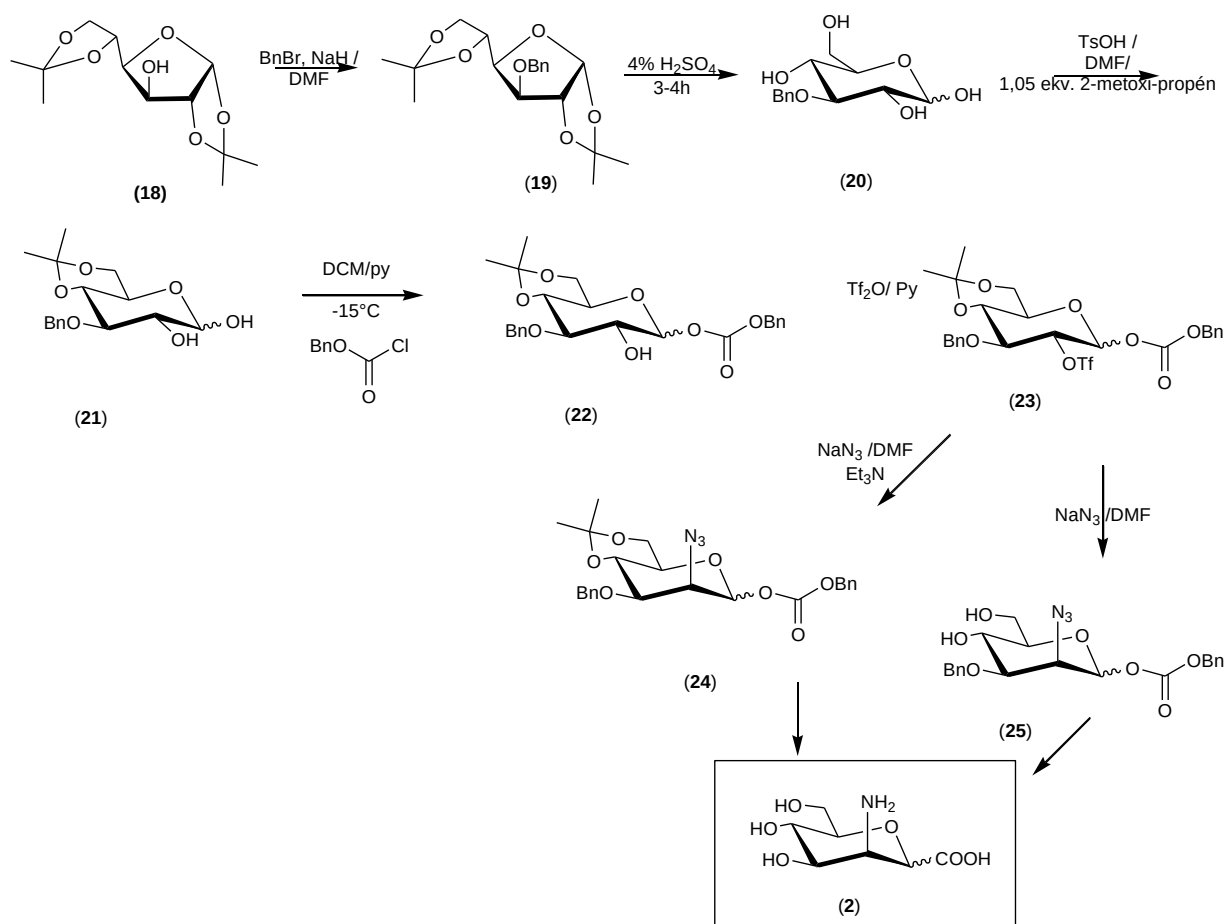
Az AGC előállításához hasonlóan ebben az esetben a D-mannózaminból (17) kiinduló szintézis vezethet el a kulcsmolekulához. A D-mannózamin szintézisét az 1960-as években C. Sowden és munkatársai írták le, az irodalomban addig megtalálható előállítási lépések összegzésével [6].



6. ábra: D-mannózamin.HCl szintézise

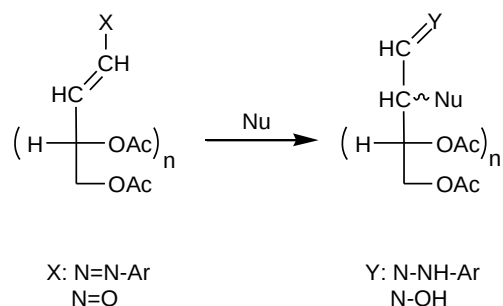
A kiindulási D-arabinózból **(12)** nitrometános lánchosszabbítással képződő 1-dezoxi-1-nitro-glücitól **(13)** és 1-dezoxi-1-nitro-mannitol **(14)** epimer keverékből az acetilezést követő lúgos hidrolízis során egy telítetlen vegyület **(15)** keletkezett. Ennek oldatát ammónia gázzal telítve a manno-epimer képződésének irányába eltolható egyensúlyi reakcióval 2-acetamido-1,2-dideoxi-1-nitro-mannitolt **(16)** állítottak elő. A kapott származék lúgos hidrolízisével, majd az elegyet sósav gázzal telítve izolálták a D-mannózamin-hidroklorid sóját **(17)**, (lásd. 12. o., 1. táblázat).

Egy másik lehetőség AMC előállítására egy di-izopropilidén-glükózból **(18)** kiinduló szintézis, melyet J. Zhang és munkatársai 2007-ben írtak le [7a, b]. Munkájuk során 2-azido-mannopiranozil származékokat **(24, 25)** állítottak elő. A piranozil-gyűrűt a 3-benzil-di-izopropilidén-glükózból **(19)** kénsavas hidrolízissel kapták. Ezt követően különböző védőcsoportokkal védték a hidroxil-csoportokat **(23)**, a C-2 atom kivételével, ahol triflát-csoporton keresztül azido-csoportot vittek be. E vegyületekből **(24, 25)** a C-1 atomon karboxil-csoport kialakításával és az azido-csoport redukálásával megkapható az AMC monomer.



7. ábra: Di-izopropilidén-glükózból kiinduló szintézis

D-Mannózamin-hidroklorid előállítására elméletileg lehetőséget nyújt egyéb az irodalomból ismert 1,2 telítetlen nyítláncú aldóz származékok [8, 9] reakciója ammóniával vagy különböző aminosavakkal. A leírt eljárásokban alkalmazott nukleofilek (H^- , N_3^-) analógiájára várhatóan ammóniával vagy aminosavakkal is 2-amino-2-dezoxi-származékok képződnek.



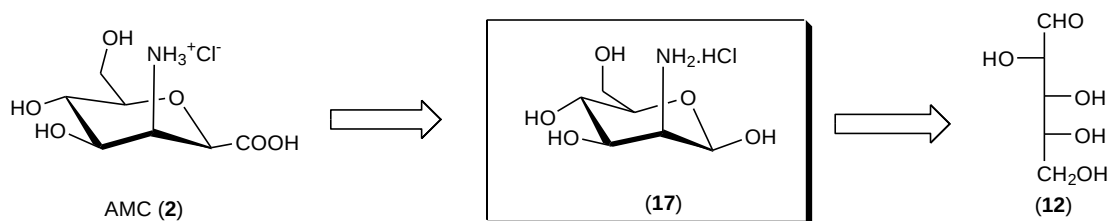
8. ábra: 1,2 telítetlen aldóz származékok reakciója nukleofilekkel

3. Célkitűzések

A cukoraminosavak hidrofil jellegük miatt alkalmasak újfajta foldamerek szintézisére, ezért az elmúlt évtizedben sokan foglalkoztak e monomerek előállításával [3] és a belőlük képezhető foldamer mimetikumok kémiai és biológiai vizsgálatával. A kutatások során a furanozil- és piranozilgyűrűs monoszacharidok kerültek előtérbe. Az egyik legfontosabb ilyen vegyület az AGC, melynek szintézisét a 2000-es években leírták [5a, b].

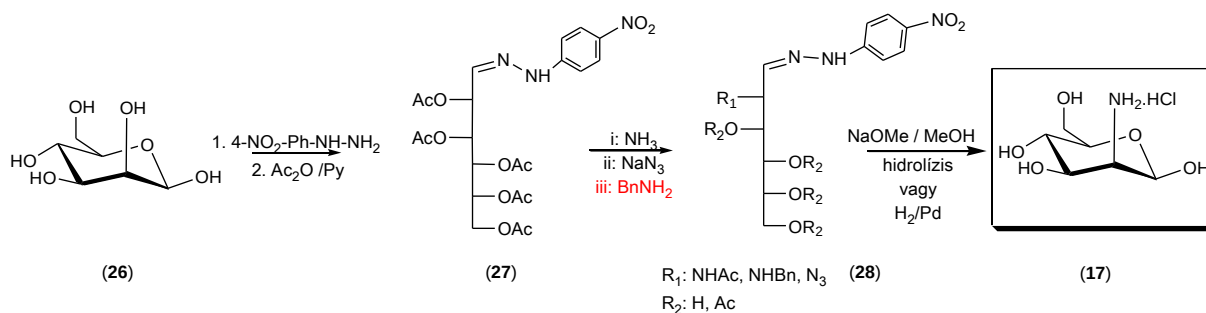
D-Mannóz alapú foldamer monomer előállítása is lehetséges az AGC szintézisét alapul véve.

Munkám során először célul tűztem ki a 2-amino-2-dezoxi-mannopiranozil-karbonsav (AMC) célmolekula kiindulási anyagának, a D-mannózamin-hidroklorid-nak (17) az előállítását az irodalmi leírások reprodukciójával [6], ill. esetenként azok módosításával.



9. ábra: AMC szintézis főbb állomásai

Továbbá célom volt e vegyület előállítására egy alternatív, új szintézisút kidolgozása, mellyel más módon vihetek be NH_2 csoportot a C-2 atomra. A kiindulási vegyület kiválasztásánál figyelembe vettem, hogy a monoszacharidok (26) nyíltláncú 4-nitro-fenilhidrazon származékainál (27) az aromás gyűrű *p*-helyzetű erős elektronszívó nitro-csoportja kellően aktiválja a C-2 atomot ahhoz, hogy gyengébb nukleofilekkel is történjen reakció.



10. ábra: Alternatív útvonal

4. Saját munka bemutatása

4.1. D-Mannózamin-hidroklorid

A cukoraminosav monomerekhez vezető szintézis utak közül az én munkám a 2-amino-2-dezoxi-mannopiranozil-karbonsav (AMC) előállítása. Az irodalomban közölték az AGC totálszintézisét [5a, b], ezért ezzel analóg útvonalon indultam el.

A kiindulási D-mannózamin-hidrokloridból (17) a kellő mennyiségű monomer előállításához szükséges 50 g a kereskedelemben nem kapható ilyen kiszerezésben. Jelenleg 1,0 g (17) vegyület 67000 Ft, azaz a teljes kiindulási anyag megvétele majdnem 3,5 millió Ft-ba kerülne. Ezért első feladatomban e vegyület szintetizálása volt Sowden és munkatársai által leírt módon D-arabinóz lánchosszabbításán keresztül [6], a reakciólépések módosításával a termelés növelése érdekében.

E szintézisút (6. ábra) várható költségeinek összevetése a kereskedelemben kapható D-mannózamin-hidroklorid árával az alábbi táblázatban látható:

1. táblázat

Lépések	Anyagok	Mennyiség	Költségek
1.	D-Arabinóz, CH_3NO_2 , absz. MeOH, Na, EtOH, ioncserélő gyanta	100 g, 360 ml, 1 l, 21 g, 0,5 l, 500 g	126609 Ft
2.	Ac_2O , benzol, H_2SO_4 , NaHCO_3 , DCM	800 ml, 2,5 l, 1 ml, 200 g, 8 l,	29228 Ft
3.	absz. MeOH, NH_3 (palack), EtOH	1 l, 0,5 l	5320 Ft
4.	NaOH, cc HCl, HCl gáz, MeOH, aceton, celit, aktív szén	170 ml, 143 ml, 110 ml, 250 ml	12080 Ft
Termék	D-Mannózamin-hidroklorid	56 g (irodalmi termelés)	173273 Ft
Kereskedelmi ár, 56 g-ra:			3752000 Ft

4.1.1. A szintézis

A D-mannózamin-hidroklorid (17) előállítását a Sowden szintézis reprodukciójával kezdtem 10 g D-arabinózból (12). A nitrometánnal történő lánchosszabbítás feldolgozása során nagy mennyiségű vizes reakcióelegy koncentrálására van szükség az ioncserélő gyantán

való átengedést követően. A hozam növelése érdekében a víz eltávolítására liofilizálást is alkalmaztam, így tisztább terméket kaptam, bár jelentős termelés növekedést nem tapasztaltam. Ezt a termékelegyet (**13+14**) tisztítás nélkül vittem tovább. Az acetilezés ecetsavanhidriddel kénsav katalizátor jelenlétében történt. A per-O-acetilezett reakcióelegyet NaHCO_3 -tal semlegesítettem, majd DCM-mel extrahálva kinyertem a terméket. A kapott olajos anyagot benzolban oldva NaHCO_3 jelenlétében történt a telítetlen vegyület (**15**) előállítása. A méretnövelést követően szükséges nagy mennyiségű (min. 2,5 l) benzol kiváltása céljából alternatív oldószerekben is megvizsgáltam e reakciólépést: metil-*terc*-butil-éter (MTBE), izo-propil-alkohol (IPA), etanol, etil-acetát, 1,2-dimetoxi-etán (DME) és toluol. Egyetlen esetben kaptam a kívánt terméket, toluol oldószerben, azonban a termelés közel felére csökkent (54%-ról 33%-ra). Ez alapján megállapítható, hogy az oldószer cseréje nem javított az eljárásán.

A 2-acetamido-1-nitro-mannitol származék (**16**) előállításánál a Sowden módszeren kívül, mely szerint a MeOH-ban feloldott (**15**) vegyület oldatát ammónia gázzal, 0 °C-on telítettem, alkalmaztam egy másikat is [10]. Az ammónia gázzal telített MeOH-ba adagoltam a nitro-hexén (**15**) származékot. Az eredmények azt mutatták, hogy ez esetben megkétszerezhető a termelés (33%-ról 78%-ra). Ez a módszer alkalmasabb a méretnövelésnél.

4.1.1.1. Nef reakció

A D-mannózamin-hidroklorid előállításának utolsó lépése a Nef reakció. Elsőként 2N NaOH hozzáadásával a nitrometilén-molekularész átalakítása történik, majd cc HCl hozzáadásával és HCl gázzal való telítéssel a D-mannózamin hidroklorid sója (**17**) kristályosodik az oldatból.

Az irodalmi leírás alapján végrehajtva a reakciót nem sikerült D-mannóزامint előállítanom. Egy módosítás alkalmazásával [11] sikerült 2 % termeléssel izolálnom a célvegyületet oly módon, hogy az aktívszenes tisztítási lépést felcseréltem celit-aktívszén rétegen történő szűrésre.

További változtatásom a cc HCl helyett cc H_2SO_4 adagolása, mely a Nef reakció egy másik változata és feldolgozása is eltérő [12]. Ebben az esetben $\text{Ba}(\text{OH})_2$ oldat adagolásával a pH-t 5 körülire állítottam be. A kivált nagy mennyiségű és nehezen szűrhető BaSO_4 csapadék megnehezítette a feldolgozást, emellett a vizes reakcióelegy mennyisége is növekedett főleg a deionizálási lépés után, emiatt a bepárlás során a termék bomlott. Ezzel a módszerrel sem sikerült izolálnom a D-mannóزامint. Ezt követően több $\text{Ba}(\text{OH})_2$ oldattal semlegesítettem a

reakcióelegyet (pH~7), így nem volt szükség a deionizálási lépésre. A csapadék szűrése után bepároltam, majd többször etanolt pároltam le róla. A kapott fehér, szilárd anyag gyorsan folyósodott és barnult, emiatt az izolálás nélküli továbblépés mellett döntöttem. Mivel az N-acetil-mannózamin-per-O-acetát származék (**29**) jól definiált vegyület, ezért ecetsavanhidrid és piridin elegyével acetileztem a terméket és N,O-per-acetilezett vegyület keletkezésére számítottam, azonban a kapott termék több komponensű, halványsárga olaj lett, melyet nem tisztítottam tovább.

A semlegesítést a következő reakció során Na_2CO_3 adagolásával végeztem el, a pH-t 3-ra állítottam be. A kivált Na_2SO_4 szűrése után az elegyet bepároltam és fehér olajat kaptam. A VRK vizsgálatok alapján legalább 3 komponensű és D-mannózamint is tartalmaz, ennek ellenére nem tisztítottam tovább az anyagot. E módszer sem vált be a vegyület előállítására.

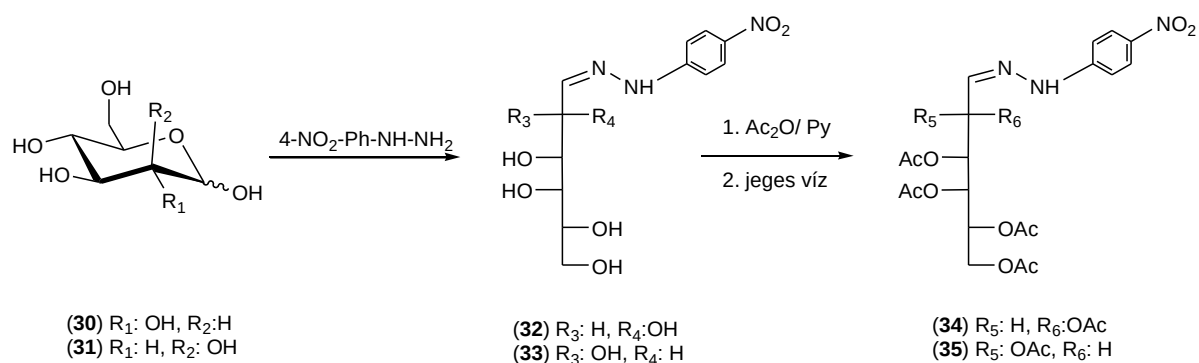
4.2. Alternatívák keresése

A reakciók sikertelensége miatt új útvonalat kerestem a kiindulási anyag (**17**) előállítására. A J. Zhang és munkatársai által leírt szintézis [7] a triflát-védőcsoport alkalmazása miatt drága, ezért egy egészen új eljárást kellett keresni, mely szintén kevés lépésből áll és a kívánt D-mannózaminhoz (**17**) vagy annak valamely származékához vezet. A feladatom a C-2 atomra valamilyen N-t tartalmazó csoport bevitele, ami kevés reakciólépéssel átalakítható amino-csoporttá. Jó példa erre az azido-csoport, melyet katalitikus hidrogénezéssel redukálhatunk [9]. Emellett e molekuláris védőcsoportként is funkcionál a C-1 atom további módosítása során.

4.2.1. Monoszacharidok 4-nitro-fenilhidrazon származékai

Aldózok 4-nitro-fenilhidrazinnal forró alkoholos közegben kondenzációs reakcióba lépnek és a megfelelő nyítláncú aldóz-4-nitro-fenilhidrazonok keletkeznek [13, 14] jó termeléssel (11. ábra). E származékok ecetsavanhidrid-piridin hűtött elegyében könnyen acetilezhetők, és egységes terméket adnak.

Előállítottam a D-glükóz és D-mannóz 4-nitro-fenilhidrazonját (**32**, **33**) mindkét esetben jó termeléssel (77 ill. 91 %) majd e vegyületeket ecetsavanhidrid-piridin elegyében acetileztem szintén 90% feletti hozamokkal; a D-galaktóz 4-nitro-fenilhidrazonjának acetilezett származéka rendelkezésemre állt.

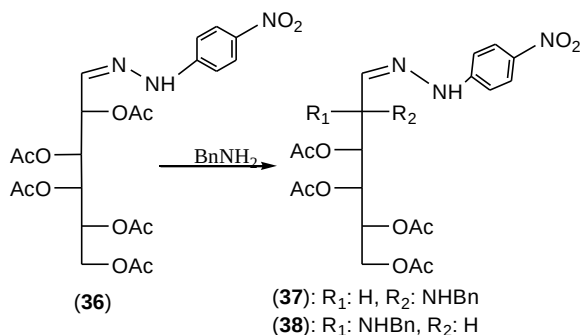


11. ábra: D-glükóz és D-mannóz 4-nitro-fenilhidrazon származékai

A per-O-acetilezett aldóz-4-nitro-fenilhidrazonok (34, 35) nukleofilekkel történő reakcióját eddig kevesen vizsgálták. Az acetilezett nyíltláncú cukorformázánok nukleofil reakciójának analógiájára korábban sikerült a 4-nitro-fenilhidrazon származékok esetében is azido-csoportot bevinni a C-2 atomra [9a, b].

Amíg az acetilezett cukorformázánok esetén az ammóniával sikeresen lehetett a nukleofil eliminációs-addíciós reakciót végrehajtani [15], addig az acetilezett 4-nitro-fenilhidrazonoknál a dezacetilezés gyorsabban megy végbe, mint a nukleofil elimináció [16]. Ezért nukleofilként a benzil-amint választottam, amely kellően gyenge bázis ahhoz, hogy ne dezacetileződjön a per-O-acetil-aldóz-4-nitro-fenilhidrazon (34, 35, 36). Ugyanakkor elég erős nukleofil ahhoz, hogy beépüljön a 2-es helyzetbe a 4-nitro-fenilhidrazon molekularész aktiváló hatásának köszönhetően. Az így keletkező 2-benzilamino származékról a benzil-védőcsoport eltávolítható katalitikus hidrogénezéssel vagy savas hidrolízissel. A 2-benzilamino származék (40) dezacetilezése, majd a 4-nitro-fenilhidrazon molekularész eltávolítása után N-benzil-mannózamin (41) állítható elő (22.o.).

Kiindulásként vizsgáltam a per-O-acetil-D-galaktóz-4-nitro-fenilhidrazon (36) reakcióját benzil-aminnal metoxi-etanolban. Az előállított terméket oszlopkromatográfiával tisztítottam meg a szennyező komponensektől. Az egyesített frakciókból izolált termék két komponensből állt, melyeket többszöri oszlopkromatográfiás tisztítással sem tudtam szétválasztani. Az IR spektrumok a benzilamino-csoport beépülését támasztották alá. A keletkezett két komponens a per-O-acetil-2-benzilamino-2-dezoxi-D-galaktóz-4-nitro-fenilhidrazon (37) és feltehetően C-2 epimer párja, a talo-származék (38) (12. ábra).



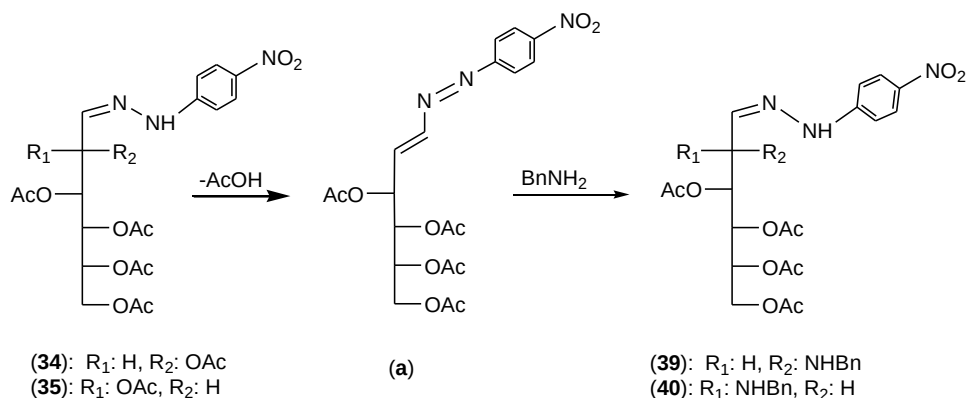
12. ábra: D-galaktóz-4-nitro-fenilhidrazon-acetát reakciója benzil-ammal

A reakció feltehetően egy 4-nitro-fenilazo-hexén intermedieren (a) keresztül megy, így a nukleofil reagens - benzil-amin - a trigonális C-2 atom mindkét oldaláról támadhat az acetoxi-csoport eliminációja után. Ebből adódóan a megfelelő 2-benzilamino-C-2-epimer pár keletkezhet a reakció során. Szintetikus és elméleti szempontból is érdekes, hogy a trigonális C atomra történő nukleofil addíciót a cukorlánc további részeinek sztereokémiai kontrollja hogyan befolyásolja. Ez nemcsak a cukorlánc konfigurációjától függ, hanem a konformációjától is, amit a reakciókörülmények változtatásával befolyásolni lehet. Ennek alapján a képződő epimer pár arányának kedvező irányítására van lehetőség.

4.2.2. Reakciók benzil-ammal

A 4-nitro-fenilhidrazon molekularész kellően aktiválja a C-2 atomot ahhoz, hogy gyengébb nukleofilekkel is képes legyen reagálni.

A két per-O-acetilezett 4-nitro-fenilhidrazon származékot (34, 35) metoxi-etanolos közegben benzil-ammal reagáltattam. Az előzőekben leírt per-O-acetil-D-galaktóz-4-nitro-fenilhidrazonnal végzett reakció alapján a két lehetséges C-2 epimer közel azonos arányú keletkezésére számítottam.



13. ábra: Reakció benzil-ammal

A reakciókat a per-O-acetil-D-mannóz-4-nitro-fenilhidrazonból (35) kiindulva szobahőmérsékleten vizsgáltam 2, 2,5 és 3 ekv. benzil-amin jelenlétében, az átalakulást vékonyrétegkromatográfiával követve. A lehetséges C-2 epimerek azonos arányban keletkeztek. Ahogy haladt előre a reakció a termékek százalékos összetétele nem változott, de 3 és 6 nap elteltével a reakcióelegy még mindig tartalmazott kiindulási per-O-acetilezett származékot (35). Az előkísérletek alapján 2,5 ekv. benzil-amin a megfelelő mennyiség a kellően gyors reakcióhoz és minél kevesebb bomlástermék megjelenéséhez. A kiindulási anyagot és a keletkezett két C-2 epimert egymástól oszlopkromatográfiás módszerrel választottam el. Sikerült kromatográfiásan egységes 2-benzilamino-származékot (39+40) előállítanom, azonban 5% alatti termeléssel. Az IR vizsgálat igazolta a benzil-amin beépülését, az ^1H -NMR spektrumból pedig megállapítható az anyag közel 80%-os tisztasága.

A nyílt láncú cukormolekulák C-2 konfigurációját nem lehet egyértelműen megállapítani ^1H -, ill. ^{13}C -NMR mérések alapján. Az epimer azonosítása referencia anyag nélkül, melyről biztosan tudott, hogy az adott epimer, spektroszkópai módszerekkel nem lehetséges.

4.2.3. Reakciókörülmények módosításának vizsgálata

Munkám első szakaszában a D-galaktóz-4-nitro-fenilhidrazon-acetát reakcióját benzil-ammal csak metoxi-etanolban, szobahőmérsékleten vizsgáltam. Ezért felmerült az oldószer minőségének és a hőmérsékletnek a módosítása a keletkezett epimerek százalékos arányának változtatása érdekében. Az alkalmazott oldószerek és a vizsgált reakciókörülmények a 2. és 3. táblázatban olvashatók.

A metoxi-etanol helyettesítettem különböző oldószerekkel, melyek között volt protikus: izopropil-alkohol (IPA), de főleg aprotikus oldószerek, mint a dimetoxi-etán, nitrometán, acetonitril (ACN), dimetil-formamid (DMF). Vizsgáltam a kiindulási anyag stabilitását az adott oldószerben.

A per-O-acetil-4-nitro-fenilhidrazon származékok dimetoxi-etán, metoxi-etanol és DMF oldószerekben mutattak jelentős stabilitást, 3-6 nap után is maximum 20% bomlástermék volt észlelhető, ezzel szemben acetonitril és nitrometán alkalmazásánál már pár óra elteltével jelentős (20-30%) bomlás mutatkozott. Az IPA esetében nem a kívánt 2-benzil-amino-származékot mutattam ki.

2. táblázat: Stabilitásvizsgálat különböző oldószerekben

Oldószer (s)	DIEA ekv.	Bomlástermékek aránya (%)*			
		1 óra	3 óra	3 nap	6 nap
metoxi-etanol	1,5	0	0	0	20
	-	0	0	5	10
dimetoxi-etán	1,5	0	0	0	10
	-	0	0	5	15
nitrometán	1,5	10	30	60	-
	-	5	20	60	
acetonitril	1,5	10	20	-	-
dimetil-formamid	-	0	0	0	5
	1,5	0	0	0	10

* vékonyréteg alapján valószínűsíthető

A reakció során a benzil-amin nukleofilként van jelen, de mellette gyenge bázis is. Azért hogy kizárjam a benzil-amin bázikus hatását a reakcióban, az erős tercier amin bázis DIEA (diizopropil-etil-amin) jelenlétében is lefolytattam a reakciót. A bázis jelenléte nem befolyásolta a kiindulási anyag bomlásának mértékét.

Vizsgáltam a hőmérséklet hatását is a reakció lefutására. Szobahőmérsékleten illetve 50 és 70°C-on metoxi-etanolos közegben indítottam el a reakciókat. A két megemelt hőmérsékleten lényegesen gyorsabban játszódtak le a folyamatok, a kiindulási per-O-acetilezett származékok 3-6 óra eltelte után már nem voltak jelen a rendszerben. Ezen kívül sikerült elérnem, hogy a két epimer képződése közül az egyik irányába tolódjon el az egyensúly. Az izolált termék ennek ellenére kétkomponensű, melyeket nem sikerült elválasztanom. A készült IR és ¹H-NMR vizsgálatok azt mutatják, hogy a benzilamino-csoport beépült a molekulába. Az ¹H-NMR spektrumban látható a benzil metilén-csoportja, és az aromás gyűrű hidrogénjei.

3. táblázat: Körülmények vizsgálata

Oldószer (s)	Benzil-amin ekv.	Körülmény	Epimer termékarány (%)*				
			1 óra	18 óra	21 óra	3 nap	6 nap
metoxi-etanol	3	szh**	5	40 (1:1)	60 (1:1)	q***	
	2	50°C	10	80 (3:2)	90 (4:1)	q	
	2,5	szh	5	40 (1:1)	60 (1:1)	60 (1:2)	q
		szh, (34) anyag	5	-		80	q
		50°C	3 óra, 80				
		70°C					
		dimetoxi-etán	szh	0			15 q
	nitrometán	10, q					
	ACN	20, q					
	IPA	más termék					
DMF	20	90		95	100	-	
benzil-amin	0						

* vékonyréteg alapján valószínűsíthető

** szh: szobahőmérséklet T=25°C;

***q: bomlás

A metoxi-etanolos reakcióval szemben dimetil-formamidban, szobahőmérsékleten a reakció már 24 óra alatt teljessé vált és VRK szerint egységes terméket szolgáltatott. Tehát várakozásomnak megfelelően az oldószer kedvezően befolyásolta a sztereokémiai kontrollt. A feldolgozást követően sikerült egy tiszta, egykomponensű, szilárd anyagot izolálnom a reakcióelegyből. Az IR spektrumban megtalálható a két N-H vegyértékrezgése, az ¹H-NMR spektrumban pedig az előzőekkel összhangban a benzil metilén csoportja, az aromás tartományban a két fenil-gyűrű hidrogénjei és az acetilek metil-csoportjai is megjelennek. Az MS spektrumban azonosítható a molekulaion 573,3 tömeg/töltés értékkel (függelék, 36.o.).

Ugyanezen reakciókat vizsgáltam a per-O-acetil-D-glükóz-4-nitro-fenilhidrazon (34) kiindulási anyagból is. A módosított körülmények között lassabban játszódtott le a folyamat, és nem vezetett egyértelmű termékhez. A főkomponens az adott reakcióban megegyezik az általam előzőekben bemutatott módon izolált 2-benzilamino származékkal, mely bizonyítja

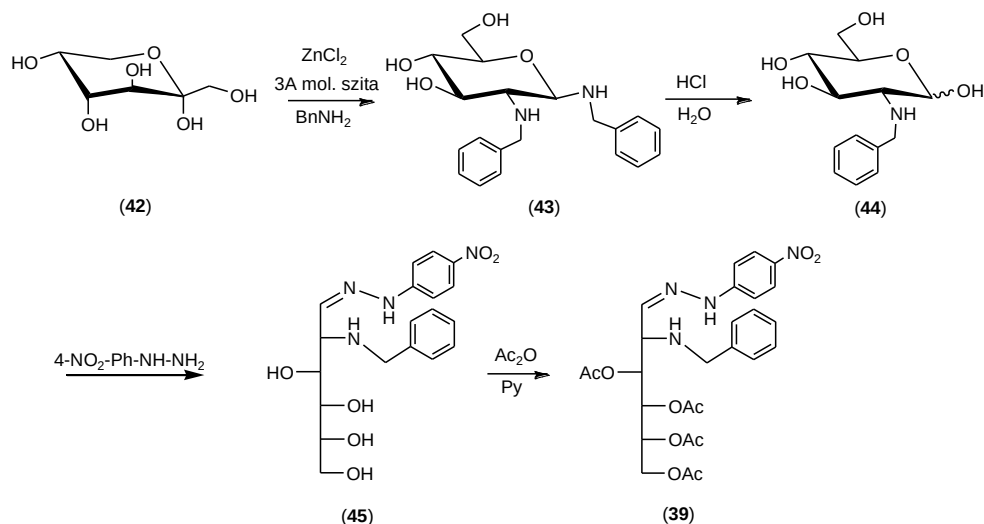
azt, hogy a benzil-amin mindkét oldalról beléphet, így vezet a C-2-epimerek keverékéhez a reakció.

4.3. További célok

4.3.1. Szerkezetazonosítás

A benzil-amin C-2-es helyzetbe való támadása azonos eséllyel történik mindkét oldalról a fenilazo-hexén intermedierre (13. ábra), ezért a reakció során a megfelelő tetra-O-acetil-2-benzilamino-2-dezoxi-D-glükóz-4-nitro-fenilhidrazon (39) és tetra-O-acetil-2-benzilamino-2-dezoxi-D-mannóz-4-nitro-fenilhidrazon (40) C-2 epimerek keletkeznek. A körülmények változtatásával sikerült eltolni az egyensúlyt az egyik epimer képződésének irányába. Nyíltláncú cukormolekulák esetében a C-2 atom konfigurációját ^1H -NMR mérések alapján nem lehet egyértelműen meghatározni. Ezért a két termék egyértelmű szerkezetének hozzárendeléséhez szükség van egy referencia anyag előállítására, melyben biztosan ismert a C-2 atom konfigurációja. A szerkezetazonosítás céljából az izolált termékről ECD felvétel már készült. Miután a referencia anyagot szintetizáltam az abból felvett ECD spektrum alapján azonosítható lesz, hogy melyik epimer keletkezett a reakció során.

Referencia anyagnak az irodalomban leírt N-benzil-glükózaminnak a per-O-acetilezett 4-nitro-fenilhidrazonját (39) választottam [17].



14. ábra: Referencia anyag készítése

D-Fruktózból (42) kiindulva elő lehet állítani az 1,2-dibenzil-1,2-didezoxi-D-glükózt (43), melyről sósavval szelektíven az anomer C atomról távolítható el a benzil-csoport. A (44) vegyületből 4-nitro-fenilhidrazon származék készíthető, majd ecetsavanhidrid-piridin

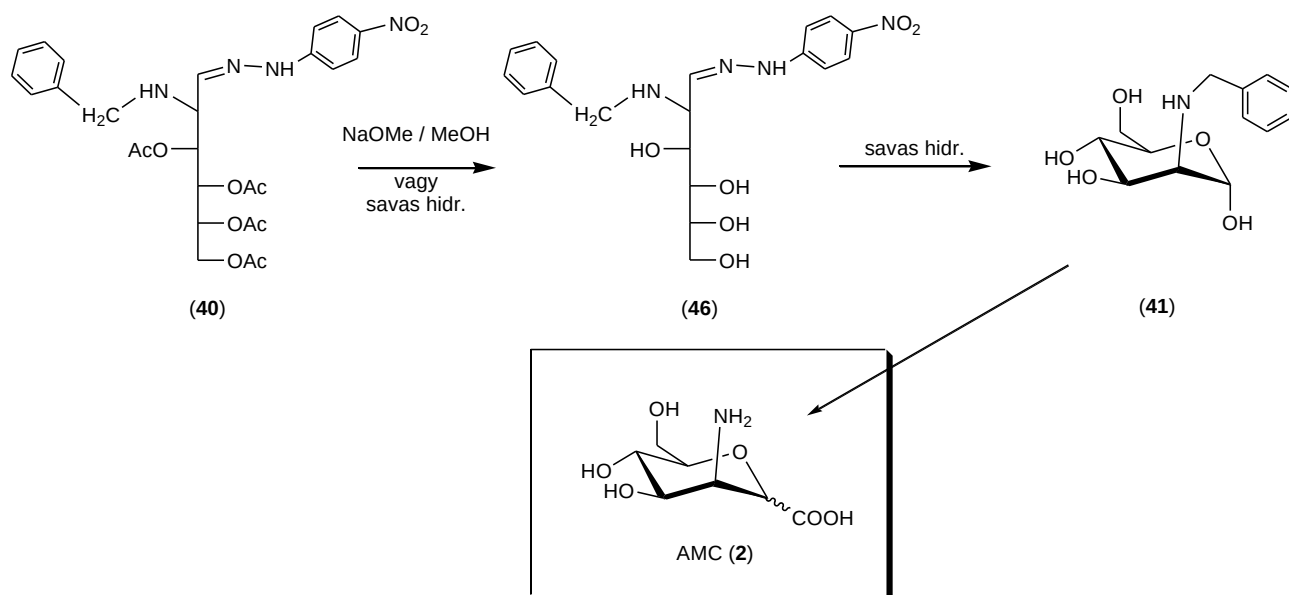
elegyében acetilezve megkapható a tetra-O-acetil-2-benzilamino-2-dezoxi-D-glükóz-4-nitro-fenilhidrazon (**39**), mely vegyületben biztosan ismert a C-2 atom konfigurációja.

4.3.2. Továbbalakítás

Amennyiben a benzil-aminnal történő reakcióban, a szerkezetazonosítást követően bizonyossá válik, hogy a két epimer közül a tetra-O-acetil-2-benzilamino-2-dezoxi-D-mannóz-4-nitro-fenilhidrazon (**40**) az izolált termék, akkor két lépés elvégzésével megkaphatom az N-benzil-D-mannóزامint (**41**). E vegyület megfelelő kiindulási anyag az AMC szintézisében.

A következő lépés a 2-benzilamino származék dezacetilezése. Az acetát-védőcsoportok eltávolítása történhet savas és lúgos közegben egyaránt. Az első esetben 50%-os trifluor-ecetsavval (TFA) hidrolizálhatok. Ekkor bekövetkezhet a 4-nitro-fenilhidrazon molekularész eltávolítása is, amihez szintén savas közeg szükséges, ez egy lépésben eredményezheti az N-benzil-D-mannóزامint. A lúgos hidrolízis, jelen esetben a Zemplén-féle dezacetilezés MeOH oldószerben katalitikus mennyiségű (0,1-0,2 mol) NaOMe jelenlétében történik. Mindkét reakciónál azt kell majd megvizsgálni, hogy a benzilamino-csoport rajta marad-e a molekulán és így a végtermék a 2-benzilamino-D-mannóz-4-nitro-fenilhidrazon (**45**) lesz.

Miután izoláltam a dezacetilezett terméket, a 4-nitro-fenilhidrazon molekularész eltávolítása következhet. Ez történhet savas hidrolízissel [8], vagy 4-nitro-benzaldehid közreműködésével [18]. A kapott termék a 2-benzilamino-2-dezoxi-D-mannóz (**41**) jó kiindulási vegyület lehet az AMC (**2**) célmolekula előállítása során.



15. ábra: N-Benzil-mannózamin előállításának további lépései

5. Kísérleti rész

A vékonyrétegkromatográfia Kieselgel 60 F₂₅₄ (E. Merck) szilikagél lapokon történt, majd a kromatogram előhívása 5%-os kénsavas oldattal hevítéses roncsolással. Az UV-felvételek BOECO S-26 egyutas spektrofotométerben készültek, 96%-os etanos oldatban. Az IR-felvételek BRUKER IFS 28 készüléssel lettek felvéve. Az NMR mérések Bruker DRX-250 spektrométeren történtek, CDCl₃ vagy D₂O oldószerben, szobahőmérsékleten. Az MS mérés egy Bruker Esquire 3000+ típusú tömegspektrométeren történt, elektropray ionizációval, pozitív módban; a minta víz-acetonitril 1:1 (+0,1% AcOH) elegyében volt oldva. Az ECD felvétel az ELTE, Kémiai Intézet Kiroptikai Szerkezetvizsgáló Laboratórium által üzemeltetett Jasco J-810 spektropolariméteren készült T=25°C-on, acetonitril oldószerben.

4. táblázat: ECD mérés körülményei

Sávszélesség	1 nm	2 nm
Válaszidő	2 sec	1 sec
Érzékenység	standard	standard
Mérési tartomány	260-185 nm	500-250 nm
Felbontás	0,2 nm	0,2 nm
Felvétel sebessége	50 nm/perc	50 nm/perc
Átlagolt spektrumok száma	5	5
Küvetta hossza	0,1 cm	1 cm
Koncentráció	1,745*10 ⁻⁴ mol/L	3,49*10 ⁻⁵ mol/L

5.1. D-mannózamin-hidroklorid előállítása

1-Dezoxi-1-nitro-glücitól és 1-dezoxi-1-nitro-mannitol (13+14)

a) Kétnyakú gömblombikba bemegettem 10 g (66 mmol) D-arabinózt (12) és 20 ml vízm. MeOH és 36 ml vízm. CH₃NO₂ hozzáadásával szuszpenziót készítettem. Toluol alatt bemegettem 2,1 g (0,091 mol) megtisztított Na-t, és 70 ml absz MeOH-ba adagoltam, hűtés mellett. A NaOMe oldatát a D-arabinóz szuszpenziójához csepegtettem és 21 órán át kevertettem. Szűrtem, MeOH-lal és benzollal mostam. A barnás port feloldottam 80 ml 0°C-os vízben és 80 ml vízzel készített IR120 (H⁺) ioncserélő oszlopon átengedve deionizáltam. A lecsöpögő oldatot bepároltam és 2x50 ml EtOH-t pároltam le róla, majd foszfor-pentoxid felett szárítottam. Az nyers keverék súlya 10,81 g.

b) Az előzőeket megismételtem 20 g (0,132 mol) D-arabinózból **(12)** kiindulva a deionizálási lépésig. Az elegyet kettéosztottam: az anyagnak egy részét (5%) liofilizáltam: 0,961 g. A maradékot bepároltam és 2x75 ml EtOH-t pároltam le róla majd foszfor-pentoxid felett szárítottam: a termék 20,05 g sötét narancssárga szirup.

3,4,5,6-Tetra-O-acetil-D-arabino-1-nitro-hex-1-én (15)

a) A fenti eljárással kapott 10,81 g **(13+14)** barnás szirupot feloldottam 79 ml ecetsavanhidridben 3-4 csepp cc H₂SO₄-t csepegtetve hozzá és 1 órán át refluxoltattam vízfürdőn. A kihűlt oldatot 400 ml jeges-vízre öntöttem. NaHCO₃-ot adagolva hozzá semlegesítettem. Az elegyet extraháltam 3x250 ml DCM-mel, az egyesített fázisokat 1x telített NaHCO₃ oldattal és vízzel is kiráztam, szárítottam (Na₂SO₄). Szűrtem és koncentráltam, majd foszfor-pentoxid felett szárítottam. Az anyagot 240 ml benzolban oldottam és 24 g NaHCO₃ hozzáadásával refluxoltattam 2,5 órán át. Szűrtem az elegyet, majd a szűrletből kivált kristályokat EtOH-ból átkristályosítottam. Halványsárga kristályokat kaptam. Termelés: 7,85 g (55%), op:115-116°C. Ir op: 115-116°C [6].

b) A liofilizált, 0,961 g anyagot azonos eljárással továbbalakítottam. Termelés: 0,593 g (54%), halványsárga kristály, op:115-116°C.

c) Sötét barnás szirupot (20.05 g) az a)-val azonos recept szerint alakítottam tovább a foszfor-pentoxid feletti szárításig. Az ekkor 23,52 g anyagot 240 ml toluolban 80°C-on kevertettem tovább, 23,040 g NaHCO₃-tal 2,5 órán át. Melegen szűrtem. Koncentráltam. Az olajat EtOH-ból átkristályosítottam, a termék fehéres kristály, termelés: 6,686 g (33%), op:116°C.

2-Acetamido-1,2-didezoxi-1-nitro-mannitol (16)

a) Egy kétnyakú gömblombikba bemértem 7,5 g (0,021 mol) előzőleg előállított **(15)** anyagot és hozzáadtam 75 ml MeOH-t. Jeges-vizes hűtés mellett NH₃ gázzal telítettem [melyet cc NH₃ oldat forralásából nyertem (NaOH és KOH szárítás)]. A homogén oldatot egy éjszakán át szobahőmérsékleten tartottam, majd levegőátszívással szárítottam. A kapott szirupot eldörzsöltem hideg EtOH-lal (3,54 g), majd átkristályosítottam EtOH-ból. Termelés: 2,658 g (50%), op: 172-173°C. Ir op: 172-173°C [6].

b) Azonos módszerrel 1,001 g (2,78 mmol) **(15)** vegyületből indultam ki (NH₃ palack, KOH szárítás). Termelés: 0,195 g (28%), op: 172-173°C.

c) b)-vel azonos eljárással 3,998 g (0,011 mol) **(15)** anyagból kiindulva a termelés: 0,929 g (33%), op: 172-173°C.

d) 108 ml absz MeOH-t telítettem NH_3 gázzal (palack), majd 0°C -on hozzáadagoltam a **(15)** anyagot, miután feloldódott hűtőbe tettem egy éjszakára. Ezt követően nuccson átszívattam az ammónia eltávolítása miatt, bepároltam az elegyet és narancssárga olajat kaptam, melyet átkristályosítottam EtOH-ból. Termelés 3,56 g (78%) halványsárga kristály, op: 172°C .

2-Acetamido-1,2-didezoxi-1-nitro-mannitol elbontása Nef reakcióval (17)

a) 2,5 g előzőekben előállított **(16)** anyag 6 ml 2N NaOH-dal készült oldatát erős keverés mellett 5,1 ml cc HCl oldatba csepegtettem. Az elegyet felforraltam, majd 0°C -ra hűtöttem és telítettem HCl gázzal (NaCl és H_2SO_4 reakciójából, cc H_2SO_4 mosó). A NaCl csapadékot szűrtem és 6 ml vízzel hígítottam a szűrletet. Ezt az oldatot csontszénnel derítettem háromszor, majd koncentráltam. A barna szirupot MeOH-ban pár csepp vízzel feloldottam és acetonnal kicsaptam a terméket. Termelés: 0,020 g (1%).

b) A **(16)** anyag 1,000 g-ját az előzőekkel azonos módon telítettem HCl gázzal szobahőmérsékleten (palack, cc H_2SO_4 cső). Az oldatot, melyből kivált a NaCl szűrtem, és 1 ekv vízzel (4 ml) hígítottam a szűrletet. Ennek 4 ml-t kétszer szűrtem át celit-aktívszén rétegen, halványabb sárga színű oldatot kapva, majd koncentráltam (0,775 g). Beoldottam MeOH-pár csepp víz elegyében és acetonnal kicsaptam. Az oldat tisztáját leöntöttem, beoltottam és kapargattam. Termelés 0,015g (2%), egy folt, beég. R_f : 0,76 (MeOH-AcOH 4:1), pH~6 (vizes oldat), Cl^- próba +.

c) A **(16)** anyag 0,19 g-ját (0,75 mmol) feloldottam 0,48 ml 2N NaOH oldatban, majd rögtön erős keverés közben hozzácsepegtettem a 0,24 ml cc H_2SO_4 és 0,24 ml víz szobahőmérsékletű oldatát. 1 órán át kevertettem. A reakcióelegy felét $\text{Ba}(\text{OH})_2$ oldattal semlegesítettem (pH 3,2-5,4). Ba-acetát oldattal leválasztottam az összes szulfát csapadékot, és szűrtem vatta oszlopon keresztül. A szűrletet deionizáltam (IR120 H^+ gyanta), majd koncentráltam és foszfor-pentoxid felett szárítottam. Pár csepp EtOH-ból kivált, fehér kristályt kaptam. Termelés: 0,028 g (13%). A másik felét acetileztem Ac_2O -Py elegyében, de nem kaptam egységes terméket.

d) A **(16)** anyag 0,600 g-ját (2,38 mmol) a c)-vel azonos eljárással dolgoztam fel. (pH~7). A szűrletet koncentráltam és 3x EtOH-t pároltam le róla, majd foszfor-pentoxid felett szárítottam. A kapott 1,0 g fehéres olajat nem izoláltam, hanem acetileztem tovább 6 ml Py és 7,5 ml Ac_2O 0°C -os elegyében kevertetve, 3 napig, majd 30 ml jeges vízre öntöttem. Ezt extraháltam 3x 30 ml kloroformmal, majd 2x telített NaHCO_3 ; 5x 2%-os CuSO_4 oldattal, 4x vízzel és Na_2SO_4 -on szárítottam, szűrtem, koncentráltam. A termék minimum 4 komponensű volt, nem izoláltam.

e) Az **(16)** vegyület 0,200 g-ját a c)-vel egyező módon dolgoztam fel, de Na₂CO₃-tal 3-ra állítom be a pH-t. Szűrés, mosás és bepárlás után 0,138 g fehér olajat kaptam, melyet nem tisztítottam tovább.

5.2. *Aldóz-4-nitro-fenilhidrazonok előállítása*

D-Mannóz-4-nitro-fenilhidrazon (33)

a) Egy gömblombikban beoldottam 1,0 g D-mannózt **(31)** (5,5 mmol) forró EtOH – víz elegyében (6,25 ml–2,6 ml). Hozzáadagoltam 0,662 g (4,3 mmol) 4-nitro-fenilhidrazin forró, 1,34 ml EtOH-lal készült oldatát. Visszafolyós hűtővel szereltem fel és 20-25 percig forraltam (VRK: EtOAc-MeOH-AcOH 30:10:1). Hagytam lehűlni, majd egy éjszakán át hűtőben tartottam. A kivált terméket szűrtem, EtOH-víz 2:1 arányú hideg elegyével mostam. Sárgás kristályokat kaptam (1,23 g). EtOH-ból átkristályosítva a termelés 1,11 g (64%). $R_f = 0,56$ (EtOAc- MeOH-AcOH 6:1:1).

b) Ugyanezen eljárást megismételve a termelés: 1,24 g (71%). $R_f = 0,56$.

c) 2,000 g D-mannózból **(31)** kiindulva 1,72 g (55%) termék. $R_f = 0,55$.

d) Egy gömblombikba bemértem 0,360 g (1,98 mmol) D-mannózt **(31)** és 0,306 g (1,99 mmol) 4-nitro-fenilhidrazint és hozzáadtam 3,5 ml MeOH-t, forraltam két órán át (visszafolyós hűtő). Lehűtöttem és hűtőbe tettem. A kivált terméket szűrtem, hideg metanollal mostam. Termelés: 0,57 g (91%), op: 206°C. Ir op: 202-203°C [14]. $R_f = 0,56$.

D-Glükóz-4-nitro-fenilhidrazon (32)

a) Egy gömblombikban beoldottam 1,0 g D-glükózt **(30)** (5,5 mmol) forró EtOH – víz elegyében (6,25 ml – 2,6 ml). Hozzáadagoltam 0,66 g (4,3 mmol) 4-nitro-fenilhidrazin forró, 1,34 ml EtOH-lal készült oldatát. Majd 25 percig forraltam (VRK: EtOAc-MeOH-AcOH 30:10:1). Hagytam lehűlni, majd több éjszakán át hűtőben tartottam. A kivált terméket szűrtem, EtOH-víz 2:1 arányú hideg elegyével mostam. Termelés 0,48 g (28%).

b) Az a) módszert megismételve termelés: 0,51 g (30%).

c) Egy gömblombikba bemértem 0,36 g (1,98 mmol) D-glükózt **(30)** és 0,306 g (1,99 mmol) 4-nitro-fenilhidrazint, majd hozzáadtam 3,5 ml MeOH-t, és forraltam két órán át. A kivált citromsárga terméket szűrtem, hideg metanollal mostam. Termelés: 0,482 g (77%), op: 188°C. Ir op: 188°C [14].

5.3. *Aldóz-4-nitro-fenilhidrazonok acetilezése*

2,3,4,5,6-Penta-O-acetil-*al*-D-mannóz-4-nitro-fenilhidrazon (35):

a) A (33) anyag 0,114 g-ját 3,3 ml Ac₂O és 5,5 ml Py 0°C-ra hűtött elegyében adagoltam. Kevertettem, míg homogén nem lett, majd egy éjszakán át 0°C-on tartottam. Ezt követően egy órán át szobahőmérsékleten állt, majd 10-szeres mennyiségű jeges-vízre öntöttem. A kivált citromsárga kristályokat szűrtem, jeges-vízzel mostam. Termelés: 1,73 g (94%). $R_f = 0,80$ (EtOAc-cHex=4:1).

b) 1,24 g (33) vegyületből kiindulva a termék 1,96 g (96%). $R_f = 0,80$.

c) 1,72 g (33) anyagból, termék: 2,65 g (92%). $R_f = 0,79$, op: 124-125°C. Ir op: 126°C [14].

d) 0,57 g (33) anyagból, termelés: 0,87 g (93%), $R_f = 0,80$, op: 125-126°C.

2,3,4,5,6-Penta-O-acetil-*al*-D-glükóz-4-nitro-fenilhidrazon (34):

a) A (32) anyag 0,300 g-ját 0,9 ml Ac₂O és 1,5 ml Py 0°C-ra hűtött elegyében adagoltam és kevertettem, míg homogén nem lett, majd egy éjszakán át 0°C-on tartottam. Egy órásszobahőmérsékleten történt állás után 10-szeres mennyiségű jeges-vízre öntöttem. A kivált citromsárga szilárd anyagot szűrtem, jeges-vízzel mostam. Termelés 0,448 g (91%) $R_f = 0,73$ (EtOAc-cHex=4:1).

b) 0,51 g (32) vegyületből kiindulva a termelés 1,73 g (94%). $R_f = 0,73$.

c) 0,48 g (32) anyagból, termelés: 0,57 g (71%), $R_f = 0,72$; op: 76-78°C.

5.4. *N-Benzil-3,4,5,6-tetra-O-acetil-2-amino-2-dezoxi-4-nitro-fenilhidrazonok*

2,3,4,5,6-Penta-O-acetil-D-galaktóz-4-nitro-fenilhidrazon (36) reakciója benzil-aminnal (37+38):

Melegítés közben 2,0 g (36) anyagot feloldottam 30 cm³ metoxi-etanolban. Hűtés után hozzácepegtettem 0,64 ml ($\rho = 0,98$ g/cm³, $M = 107,2$ g/mol) benzil-amint. A reakció előrehaladását VRK-val követtem (EtOAc-cHex 4:1). Öt napig 0°C-on állt, VRK alapján még tartalmazott kiindulási anyagot, így 30 cm³ vizet hozzáadva a kivált kiindulási anyagot szűrtem (VRK-val ellenőriztem). A terméket tartalmazó szűrlethez vizet adtam, és narancssárga olajos anyagot kaptam (0,94 g), melyet a szennyező komponensektől oszlopkromatográfiával választottam el.

Szilikagél, EtOAc oldat. Eluensek: EtOAc, majd EtOAc-hexán 9:1, 95:5, 98:2; EtOAc; EtOAc-MeOH 9:1, 8:2, 7:3, 3:7 és MeOH. Az egyesített frakciókat petroléter-éter 1:1 arányú elegyből kristályosítottam.

I. termék: 0,114 g. R_f : 0,36; 0,48 (EtOAc-cHex 8:2). Op: 85-88°C. $\lambda_{\max}$: 282 nm. IR: 3277 (ν NH), 1741 (C=O), 1599 (aromás mag), 1503 (NO₂), 1219 cm⁻¹ (C(O)C).

II. termék: 0,154 g. R_f : 0,28; 0,36. Op: 83-86°C. $\lambda_{\max}$: 282 nm. IR: 3278 (ν NH), 1742 (C=O), 1593 (aromás mag), 1503 (NO₂), 1219 cm⁻¹ (C(O)C).

III. termék: 0,046 g. R_f : 0,20; 0,26. Op: 85-88°C. $\lambda_{\max}$: 283 nm, IR: 3277 (ν NH), 1740 (C=O), 1594 (aromás mag), 1503 (NO₂), 1220 cm⁻¹ (C(O)C). Termelés összesen 0,314 g (33%).

A II. termék 0,100 g-ját ismét tisztítottam oszlopkromatográfiával. Az eredeti kétkomponensű anyagot nem sikerült szétválasztani. A következő két terméket izoláltam DCM-ciklohexán elegyből kristályosítva:

I. termék 0,010 g. R_f : 0,36 (EtOAc-cHex 8:2), op: 83-85°C, $\lambda_{\max}$: 279 nm. IR: 3294 (ν NH), 1741 (C=O), 1594 (aromás mag), 1503 (NO₂), 1222 cm⁻¹ (C(O)C).

II. termék 0,060 g. R_f : 0,28; 0,36; op: 83-86°C. $\lambda_{\max}$: 283 nm, IR: 3273 (ν NH), 1742 (C=O), 1594 (aromás mag), 1504 (NO₂), 1220 cm⁻¹ (C(O)C). Termelés összesen 0,070 g (70%).

2,3,4,5,6-Penta-O-acetil- α -D-mannóz-4-nitro-fenilhidrazon (35) reakciója benzil-aminnal (39+40):

a) Egy gömblombikba bemértem 0,200 g előzőleg előállított (35) anyagot és melegítéssel beoldottam 3 ml metoxi-etanol-0,5 ml EtOAc elegyében, keverés mellett hozzáadtam 0,095 ml benzil-amint. Az oldat sötétedett. A reakciót VRK-val követtem (EtOAc-cHex 4:1). Éjszaka hűtőben állt, 24 óra után bepároltam, termelés: 0,333 g, nem egységes.

Szívatasos flash kromatográfiával tisztítottam. EtOAc-cHex 3:2 elegy. Egyesített frakciók: 9-18 fr., termelés: 0,054 g (25%). R_f =0,33, op: 175-177 °C.

b) Egy gömblombikba bemértem 0,200 g (35) előzőleg előállított vegyületet és melegítéssel beoldottam 3 ml metoxi-etanolban, majd keverés közben hozzáadtam 0,057 ml benzil-amint és 0,1 ml DIEA-t. Sötétedett az oldat. A reakciót VRK-val követtem (EtOAc-cHex 4:1). 24 óra eltelte után jeges-vízre öntöttem, a kivált anyagot szűrtem, 0,067 g.

Oszlopkromatográfiával tisztítottam, EtOAc-cHex 4:1 eluens. Egyesített frakciók: 10-12 fr., 0,064 g. R_f = 0,36. IR: 3442, 3251 (ν NH), 1713 (C=O), 1593 (Ar-NO₂), 1218 (C(O)C), 841 (diszubsztituált Ar), 695 cm⁻¹ (monoszubsztituált Ar).

c) Feloldottam 0,200 g (0,38 mmol) előzőleg előállított (35) anyagot 3 ml metoxi-etanolban, hozzácsepegtettem a 0,012 ml benzil-amint, és 50°C-on melegítettem 6 órán át, konverzió kb. 80 % (DCM-MTBE 3:1). Az elegyet 50 ml ciklohexánba csepegtettem erős keverés mellett. A citromsárga oldatot leöntöttem és újabb ciklohexánt öntöttem rá. A kivált narancssárgás olajat éterrel digeráltam és petroléterrel kicsaptam. Termelés 0,110 g (51%), két komponens.

Op: 175-178°C. IR: 3445, 3252 (ν NH), 1712 (C=O), 1595 (Ar-NO₂), 1251 (C(O)C), 841 (diszubsztituált Ar), 720 cm⁻¹ (monoszubsztituált Ar).

d) 0,100 g előzőleg előállított (35) anyagot (0,019 mol) feloldottam DMF-ben és hozzácsepegtettem 0,055 ml benzil-amint. 24 óra után az elegyet 30 ml vízbe csepegtettem. Ülepedés után leöntöttem a vizet és az anyagot feloldottam MTBE-ben, majd extraháltam 2x telített NaCl oldattal. Szárítottam (Na₂SO₄), szűrtem és azonos mennyiségű hexánba csepegtettem. A kapott oldatot bepároltam, majd 3x ciklohexánnal forraltam, majd MTBE-vel és végül leöntöttem a folyadékot. A narancssárga olajat IPA-ból átkristályosítottam. Termelés: 0,020 g. R_f = 0,37, op: 178-180°C. IR: 3445, 3252 (ν NH), 1712 (C=O), 1594 (Ar-NO₂), 1501 (NO₂), 1250 (C(O)C), 841 (diszubsztituált Ar), 721 cm⁻¹ (monoszubsztituált Ar).

e) A d) azonos módon 0,500 g (0,095 mol) (35) anyagból indultam ki. Az extrakció után bepároltam és IPA-t pároltam le róla. A narancssárga olajat IPA-ból átkristályosítva a termelés 0,117 g (22%). Ismételten átkristályosítottam IPA-ból, termelés: 0,065 g (12%), op: 176-178°C. IR: 3446, 3253 (ν NH), 1713 (C=O), 1594 (Ar-NO₂), 1250 (C(O)C), 840 (diszubsztituált Ar), 721 cm⁻¹ (monoszubsztituált Ar). Tömegspektrum (ESI) 573,3 m/z (M+1), számolt 572,76.

2,3,4,5,6-Penta-O-acetil- α -D-glükóz-4-nitro-fenilhidrazon (34) reakciója benzil-aminnal (39+40):

a) Feloldottam 0,200 g (0,38 mmol) előzőekben szintetizált (34) anyagot 3 ml metoxi-etanolban, hozzácsepegtettem a 0,012 ml benzil-amint, és 50°C-on melegítettem 8 órán át, majd egy éjszakán át hűtőben állt. Az elegyet 50 ml ciklohexánba csepegtettem erős keverés mellett. A citromsárga oldatot leöntöttem és a narancssárga olajat 6 ml MTBE-be feloldottam és 10x mennyiségű hexánba csepegtettem. Az oldatot leöntöttem a kivált anyagról és MTBE-vel többször kezeltem. Termelés 0,022 g (10%), egy fő komponens. Op: 84-87 °C.

b) Az előzőleg előállított (34) anyagból 0,200 g-ot (0,038 mol) feloldottam DMF-ben és hozzácsepegtettem 0,110 ml benzil-amint. 24 óra után az elegyet 60 ml vízbe csepegtettem. Ülepedés után leöntöttem a vizet és az anyagot feloldottam MTBE-ben, majd extraháltam 2x telített NaCl oldattal. Szárítottam (MgSO₄), szűrtem és bepároltam, majd IPA-t pároltam le róla. A nyers termék narancssárga olaj, 0,120 g. IPA-ból átkristályosítottam. VRK alapján nem egységes. Termelés: 0,020 g.

6. Eredmények összefoglalása, kitekintés

Munkám elsődleges célja a D-mannózamin szintézise nagyobb mennyiségben, hogy többlepéses továbbalakításával eljuthassak a foldamer monomerként alkalmazható 2-dezoxi-mannopiranozil-karbonsavhoz (AMC). A szintézis megvalósításához egyrészt az irodalmi leírásokat [6] alkalmaztam, másrészt új, alternatív szintézisutakat kerestem.

A D-mannózamin ilyen irányú felhasználásának vizsgálatához Suhara és munkatársainak munkája szolgált alapul [5]. Ebben a 2000-es évek elején leírták a 2-amino-2-dezoxi-glükopiranozil-karbonsav (AGC) D-glükózaminból kiinduló totálszintézisét.

A D-mannózamin előállítására azért volt szükség, mert a kereskedelembe nagyon drágán kapható. A megvalósítás során az irodalomban közölt recepteket részben módosítottam a jobb termelés elérésének érdekében. Az első lépésben a nitrometánnal történő lánchosszabbítás során liofilizálást alkalmaztam a reakcióelegy bepárlására, ezzel tisztább termékhez jutottam. Az acetilezést követő második lépésben a nagy mennyiségű benzol kiváltására több oldószert is kipróbáltam. Ezek közül egyedül a toluol bizonyult alkalmasnak a változtatásra, de ekkor a termelés felére csökkent le. Sikeres volt viszont a harmadik lépés során a Sowden módszer módosítására elvégzett kísérletem [10], amivel a 2-acetamido-1-nitro-mannitol (**16**) előállításánál sikerült megkétszereznem a termelést.

A D-arabinózból (**12**) kiinduló szintézis utolsó lépésénél, a Nef-reakció során ütköztem komoly problémákba. Kezdetben a leírt módszert alkalmazva nem sikerült D-mannózamint izolálnom, azonban módosítva a tisztítási lépést előállítottam a kívánt vegyületet, de csak 2% termeléssel. A továbbiakban a Nef-reakció különböző módosításait vizsgáltam. A hidrolízist nem cc HCl, hanem cc H₂SO₄ jelenlétében végeztem [12], és semlegesítésre Ba(OH)₂ oldatot vagy Na₂CO₃-ot használtam. Azonban e módszerekkel sem tudtam izolálni a D-mannózamint (**17**).

Miután a fenti reakcióút nem vált be, egy új szintézisút kidolgozását kezdtem el. Kutatásaim során az aldóz-fenilhidrazonok szubsztituált származékai kerültek előtérbe, közülük is a *p*-helyzetű nitro-csoportot tartalmazó vegyületek. Ugyanis e származékokban az erős elektronszívó nitro-csoport növeli a C-2 atom aktivitását nukleofilekkel szemben. Kiindulási vegyületnek a D-galaktóz, D-glükóz és D-mannóz 4-nitro-fenilhidrazonjának acetilezett származékait (**34**, **35**, **36**) választottam. Nukleofilként a benzil-amint alkalmaztam, mely gyenge bázisként nem dezacetilez a reakció során, és beépülve a C-2 atomra a képződő 2-benzilamino-származékban átmenetileg védett amino-csoportot eredményez.

A benzil-aminnal történő reakciókat különböző oldószerekben és hőmérsékleten vizsgáltam. A folyamatokban két főtermék keletkezését tapasztaltam, melyek a lehetséges C-2 epimerek, és közel azonos arányban voltak jelen az izolált termékben. Az IR és ^1H -NMR és MS vizsgálatok szerint a benzilamino-csoport beépült a molekulába így az előállított új vegyület a tetra-O-acetil-2-benzilamino-2-dezoxi-D-mannóz-4-nitro-fenilhidrazon (**40**) vagy annak C-2 epimerje, a megfelelő D-glüko-származék (**39**).

A nyíltláncú monoszacharid származékok C-2 atomjának konfigurációját az ^1H -, ill. ^{13}C -NMR spektrumból nem lehet egyértelműen meghatározni. Hogy kiderüljön, melyik epimernek felel meg az általam előállított vegyület, szükséges egy referencia anyag előállítása, melyben biztosan ismert a C-2 atom konfigurációja. E vegyületnek az ismert N-benzil-glükózamin eddig nem előállított 4-nitro-fenilhidrazonjának per-O-acetilezett származékát (**39**) választottam. A két vegyületről készült ECD felvételek összehasonlítása alapján meghatározható lesz az új epimer szerkezete.

Amennyiben a szerkezetvizsgálat alátámasztja a cukorlánc várt mannóz konfigurációját, a termék továbbalakítása elvezethet oda, hogy dezacetilezés és a 4-nitro-fenilhidrazon molekularész eltávolítása révén 2-benzilamino-2-dezoxi-D-mannózt (**41**) állíthassak elő, mely alkalmas kiindulási vegyület a 2-amino-2-dezoxi-mannopiranozil-karbonsav (**2**) szintéziséhez.

Az AMC előállítása után lehetőség nyílik hidrófil tulajdonságú foldamerek szintézisére, melyek beépíthetők az Exendin-4 fehérje variálható szakaszába, ezáltal növelve a fehérje stabilitását és – várhatóan – gyógyszerként való alkalmazhatóságát.

7. Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom a Szerves Kémia Tanszék volt és jelenlegi tanszékvezetőjének, Dr. Perczel András egyetemi tanárnak és Dr. Hudecz Ferenc egyetemi tanárnak, hogy Tudományos Diákköri munkám elkészítését lehetővé tették.

Ezúton is hálásan köszönöm témavezetőimnek Zsoldosné Dr. Mády Virágnak és Dr. Pintér Istvánnak, hogy munkámat figyelemmel kísérték és értékes tanácsaikkal segítették.

Köszönöm Dr. Farkas Viktor tudományos munkatársnak az ECD spektrum felvételénél, Szilvágyi Gábor doktorandusznak az MS mérésnél, és Csordás Barbara doktorandusznak az infravörös és NMR spektrumok felvételénél és értékelésénél nyújtott segítségét.

8. Irodalomjegyzék

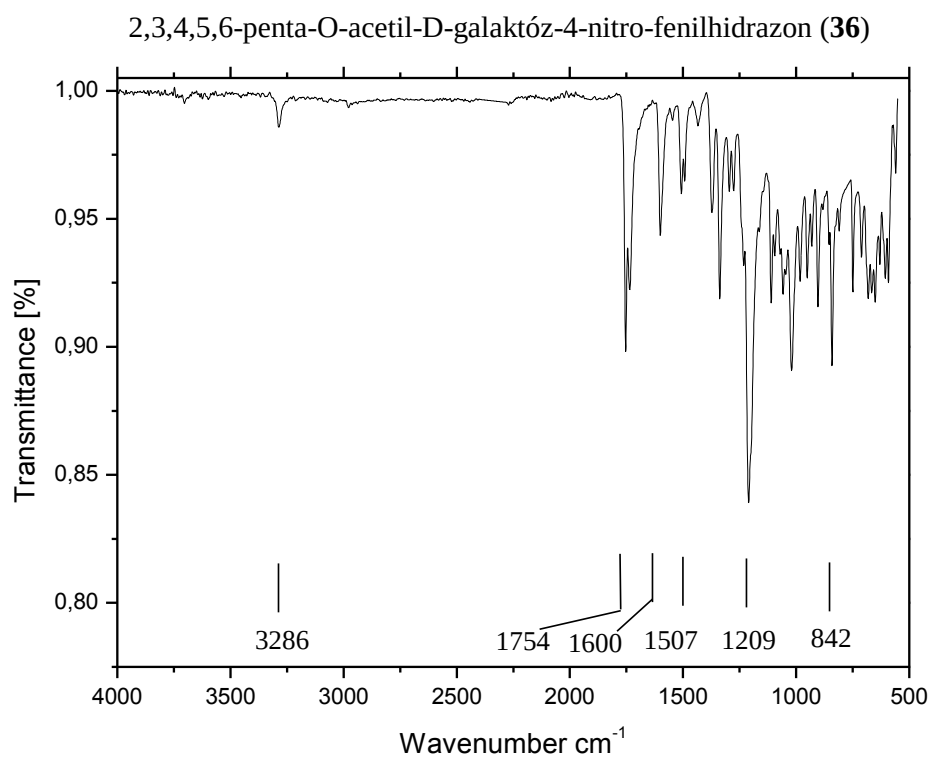
- [1] J. W. Neidigh; R. M. Fesinmeyer; K. S. Prickett; N. H. Andersen, *Biochemistry* 40 (2001) 13188
- [2] S. H. Gellman, *Acc. Chem. Res.* 31 (1998) 173
- [3] M. D. P. Risseuw; M. Overhand; G. W. J. Fleet; M. I. Simone, *Tetrahedron: Asymmetry* 18 (2007) 2001
- [4] D. H. Appella; L. A. Christianson; I. L. Karle; D. R. Powell; S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* 118 (1996) 13071
- [5] a) Y. Suhara et al., *Bioorg. Med. Chem.* 10 (2002) 1999
b) Y. Suhara et al., *Tetrahedron* 62 (2006) 8207
- [6] J. C Sowden; M. L. Oftedahl, *Methods Carbohydr. Chem.* (Ed. R. L. Whistler, M. L. Wolfrom) Vol. I. Acad. Press., New York (1962) 235
- [7] a) J. Zhang; X. Liang; D. Wang; F. Kong, *Carbohydr. Research* 342 (2007) 797
b) J. Zhang; S. Yan; X. Liang; et al., *Carbohydr. Research* 342 (2007) 2810
- [8] C. Pedersen; C. Jorgensen, *Carbohydr. Research* 299 (1997) 307
- [9] a) Gy. Argay, A. Kálmán, I. Pintér; V. Zsoldos-Mády, *Zeitschrift für Kristallographie-New Crystal Structures* 212, (1997) 189
b) Gy. Argay, A. Kálmán, I. Pintér; A. Messmer, *Zeitschrift für Kristallographie-New Crystal Structures* 212, (1997) 191
- [10] A. N. O'Neill, *Can. J. Chem.* 36 (1959) 1747
- [11] J. C. Sowden; M. L. Oftedahl, *J. Am. Chem. Soc.*, 82 (1960) 2303
- [12] J. C Sowden; *Methods Carbohydr. Chem.* (Ed. R. L. Whistler, M. L. Wolfrom) Vol. I. Acad. Press., New York (1962) 132
- [13] Reclaire: *Ber.*, 41, (1908) 3666
- [14] A. Gerecs; L. Somogyi; A. Fóti, *Acta Chim. Hung.* 34 (1962) 113
- [15] A. Messmer; I. Pintér, V. Zsoldos-Mády, A. Neszmélyi; J. Hegedűs-Vajda, *Acta. Chim. Acad. Sci. Hung.* 113 (1983) 393
- [16] Pintér István: Nitrogéntartalmú szénhidrát származékok új szintézismódszerei. Akadémiai Doktori Értekezés, Budapest, 1989
- [17] P. S. Piispanen; T. Norin, *J. Org. Chem.* 68 (2003) 628
- [18] S. Bayne, *Methods Carbohydr. Chem.* 2 (1963) 421

Függelék

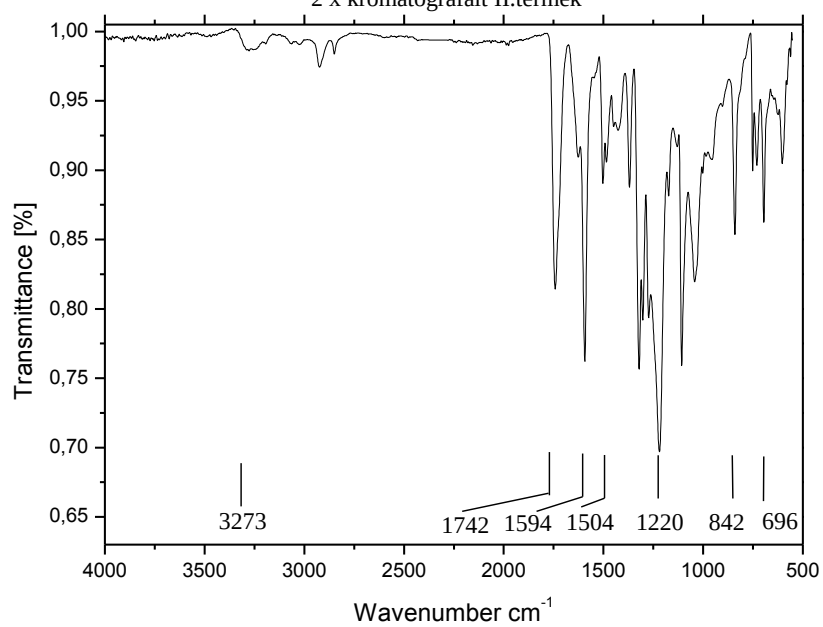
Rövidítések, képletek

4-NO₂-Ph-NH-NH₂	4-nitro-fenilhidrazin	HBr	hidrogén-bormid
Ac₂O	ecetsavanhidrid	HCl	sósav
ACN	acetonitril	Hg(CN)₂	higany-cianid
AcOH	ecetsav	IPA	izopropil-alkohol
AGC	amino-glükopiranozil-karbonsav	KOH	kálium-hidroxid
AMC	amino-mannopiranozil-karbonsav	LiOH	lítium-hidroxid
Ba(OH)₂	bárium-hidroxid	MeOH	metanol
BnBr	benzil-bromid	MTBE	metil- <i>terc</i> -butil-éter
BnNH₂	benzil-amin	Na₂CO₃	nátrium-karbonát
cc	tömény	Na₂SO₄	nátrium-szulfát
CDCl₃	deuterokloroform	NaCl	nátrium-klorid
cHex	ciklohexán	NaHCO₃	nátrium-hidrogén-karbonát
CH₃NO₂	nitrometán	NaN₃	nátrium-azid
CuSO₄	réz-szulfát	NaOH	nátrium-hidroxid
D₂O	deutérium-oxid	NaOMe	nátrium-metilát
DCM	diklórmétán	NH₃	ammónia
DIEA	di-izopropil-etil-amin	op	olvadáspont
DME	1,2-dimetoxi-etán	Py	piridin
DMF	dimetil-formamid	SAA	Sugar Amino Acids
DPP-IV	dipeptidil-dipeptidáz-IV	Tf₂O	trifluoro-metán-szulfonsav-anhidrid
ECD	elektronikus cirkuláris dikroizmus	TFA	trifluor-ecetsav
Et₃N	trietyl-amin	Trp	triptofán
EtOAc	etil-acetát	TsOH	<i>para</i> -toluol-szulfonsav
EtOH	etanol	VRK	vékonyrétegkromatográfia
GLP	glükagon-szerű peptid	ZnCl₂	cink-klorid
H₂SO₄	kénsav		

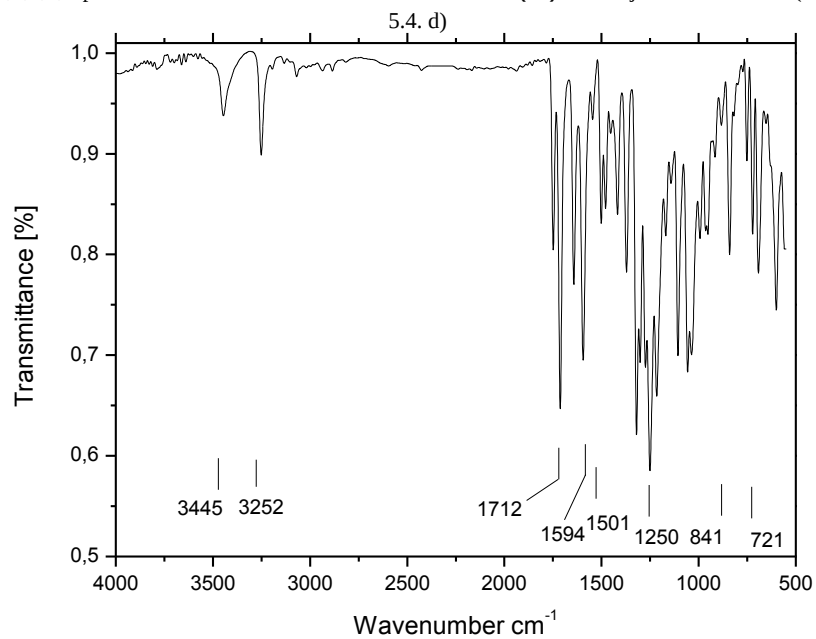
IR spektrumok:



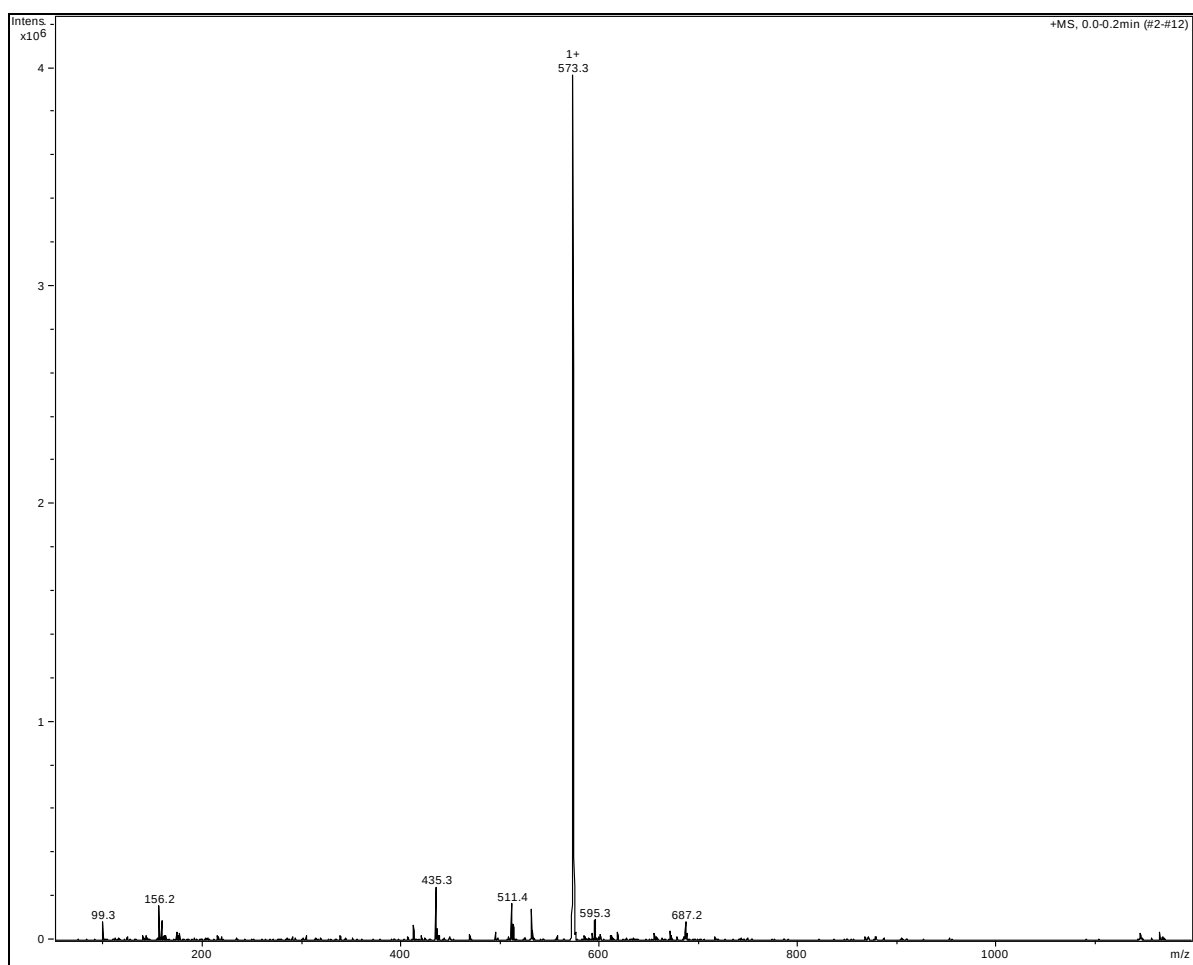
2,3,4,5,6-penta-O-acetil-D-galaktóz-4-nitro-fenilhidrazon (**36**) reakciója benzil-aminnal (**37+38**)
2 x kromatografált II.termék



2,3,4,5,6-penta-O-acetil-D-mannóz-4-nitro-fenilhidrazon (35) reakciója benzil-aminnal (39+40)

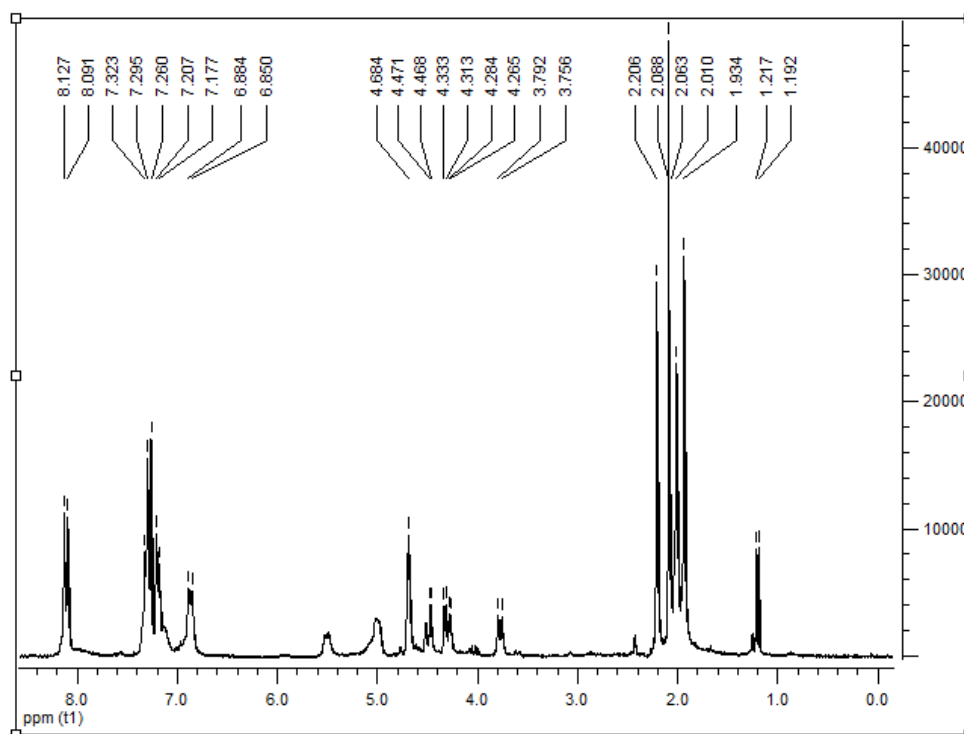


MS spektrum: 2,3,4,5,6-penta-O-acetil-D-mannóz-4-nitro-fenilhidrazon (35) reakciója benzil-aminnal (39+40)



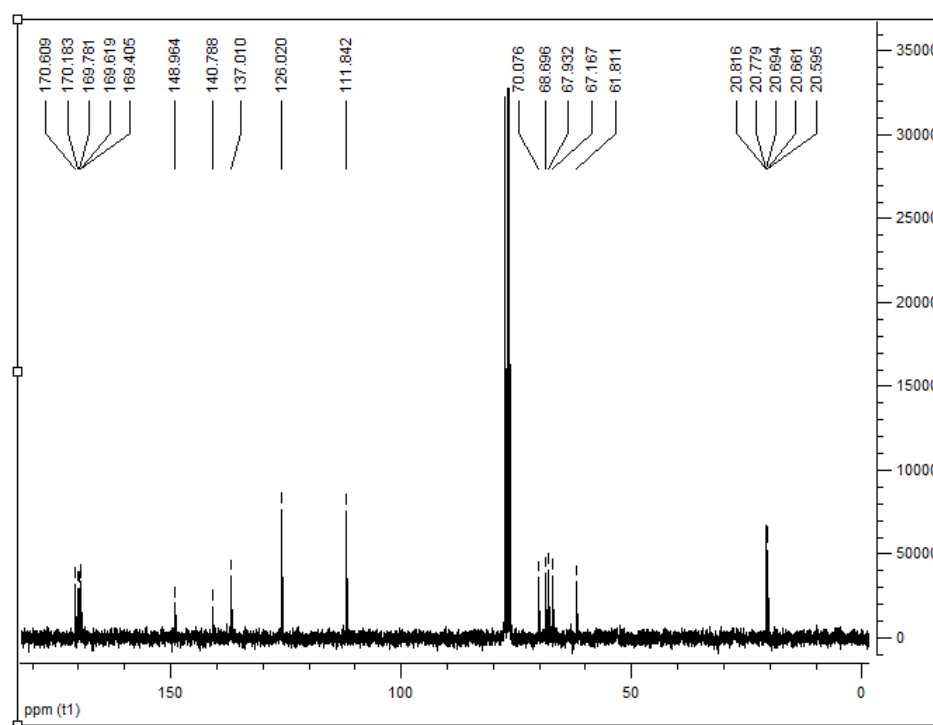
¹H-NMR spektrum

5.4. e) 2,3,4,5,6-penta-O-acetil-D-mannóz-4-nitro-fenilhidrazon (35) reakciója benzil-aminnal (39+40)



¹³C-NMR spektrum

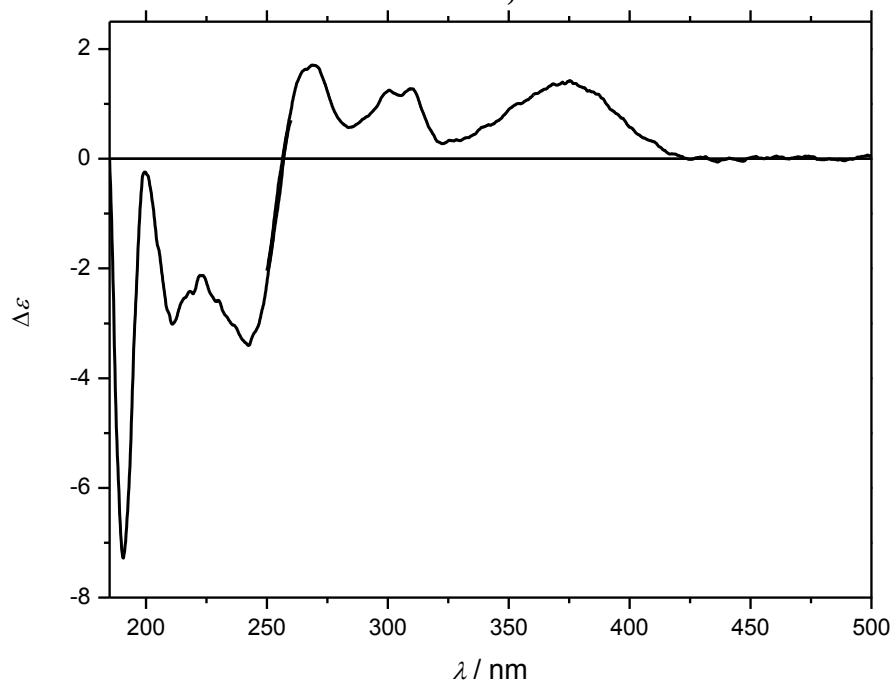
5.3. d) 2,3,4,5,6-penta-O-acetyl-D-mannóz-4-nitro-fenilhidrazon (35)



ECD spektrum

2,3,4,5,6-penta-O-acetil-D-mannóz-4-nitro-fenilhidrazon (35) reakciója benzil-aminnal (39+40)

5.4. e)



2,3,4,5,6-penta-O-acetil-D-mannóz-4-nitro-fenilhidrazon (35) reakciója benzil-aminnal (39+40)

5.4. e)

