

Lipták András

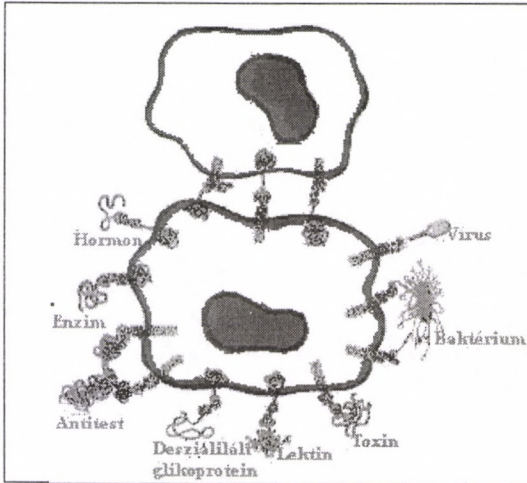
az MTA rendes tagja

FEHÉRJE-SZÉNHIDRÁT KÖLCSÖNHATÁSOK

Elhangzott 1998. szeptember 20-án

Az élővilág örökletes tulajdonságainak átadása, a sejtekben folyó anyagcsere-folyamatok történései, így pl. a DNS-DNS, DNS-RNS, RNS-fehérje és fehérje-szubsztrát (ligand) molekulák felismerési eseményei szinte kizárólagosan „másodlagos” kötések (hidrogénhidás, koordinatív, apoláros-apoláros, esetleg ionos) révén valósulnak meg. Kovalens kötések létrejötte szinte ismeretlen ezen folyamatokban. Egészen az 1970-es évek közepéig a szénhidrátoknak ezen folyamatokban legfeljebb szerkezeti szerepet (D-ribóz, 2-dezoxi-D-ribóz) tulajdonítottak, vagy mint az anyagcsere-folyamatok fontos szubsztrátjait (glükóz, glükogén, keményítő) tartották számon. Vázanyagként szereplő poliszacharidoknak (cellulóz, xilánok, kitinek) és a baktériumok exopoliszacharidjainak strukturális és védő feladatokat tulajdonítottak.

A jelentős szemléletváltásra akkor került sor, amikor részben az emlős-sejtek, részben a baktériumok felszínén lévő molekulák szerkezetvizsgálatára is sor kerülhetett. E vizsgálatok során tisztázódott, hogy pl. az emberi vércsoportokat¹ a vörösvértestek felületén lévő glikolipidek és glikoproteinek szénhidrátkomponensei határozzák meg.² Ma általánosan elfogadott nézet, hogy a sejtek felületén lévő szénhidráttartalmú vegyületek (glikolipidek, glikoproteinek, lipopoliszacharidok), az ún. *glikokonjugátumok*, a sejt és a környezete közötti információcsere antennái, amelyek biztosítják a sejt-sejt, sejt-vírus, sejt-toxin, sejt-hormon, sejt-gyógyszer, sejt-baktérium és sejt-szubsztrát(ok) kapcsolatokat.³⁻⁵



1. ábra. A sejtek felületén lévő szénhidrátok kölcsönhatása a környezetünkben lévő anyagokkal

Vajon mi a magyarázata annak, hogy a törzsfajlás során a különböző szénhidrát-származékok ennyire sokoldalú biológiai szerephez jutottak? A válasz csak a szénhidrátokat (oligo- és polimereket) felépítő monomerek polifunkcionalitásával, a cikloféléta- szerkezet során kialakuló gyűrűszerkezetben (piranóz, furanóz), az új királis centrum, az anomer szénatom α - és β -konfigurációjával, a gyűrűszerkezetek konformáció-átmeneteivel és a polimerek elágazó szerkezetével ad-

ható meg. E néhány szerkezeti sajátosság is kitüntetett teszi a szénhidrátokat a bifunkciós aminosavakkal vagy nukleotidokkal szemben.⁶

1. táblázat. Lehetséges izomerek száma peptidek és oligoszacharidok esetében

Megnevezés	Összetétel	Peptid	Oligoszacharid
Monomer	Z	1	1
Dimer	Z ₂	1	11
Trimer	Z ₃	1	120
Tetramer	Z ₄	1	1424
Pentamer	Z ₅	1	17 872
Monomer	Z	1	1
Dimer	YZ	2	20
Trimer	XYZ	6	720
Tetramer	WXYZ	24	34 560
Pentamer	VWXYZ	120	2 144 640

Ezek mellett további szerkezeti változatosságra ad lehetőséget az a kísérleti tény is, hogy szemben a négy nukleotiddal, a húsz aminosavval, a természetes szénhidrát oligo- és polimerek felépítésében rendkívül nagyszámú, eltérő szerkezetű monoszacharid építőelem vehet részt, s ezek esetenként mindkét enantiomer (D és L) formában részt is vesznek.

Az elválasztástechnikai módszerek finomodása, a műszeres vizsgálati módszerek nanomólos mennyiségek izolálására és szerkezetmeghatározására adnak lehetőséget. Biológiai vizsgálatokhoz azonban ezek az anyagmennyiségek nem elegendők. Jóllehet az élő természet leleményessége, a szintetikus kémikust naponta megszégyenítő egyszerűsége és eleganciája könnyűszerrel produkálja e vegyületeket, jelenleg a tényleges forrást legalább mg-os szinten csak a szintetikus preparatív kémia biztosítja. E vegyületek metabolizmusát rendkívül specifikus, legtöbbször sejtorganellumok membránjaihoz kötött glikoziltranszferázok, ill. hidrolázok valósítják meg. Ezek közül ma még csak néhányat ismerjük a szerkezetét, s a transzferázok nukleozid-cukor szubsztrátokkal működnek, amelyek szintézise vagy bioszintézise ugyancsak részben tekinthető megoldottnak.

A széhidrátkémia jóllehet ma már igen gazdag eszköztárral rendelkezik, általánosan alkalmazható módszerek azonban csak részben állnak rendelkezésünkre, így minden egyes oligoszacharid szintézisét unikális feladatnak tekinthetjük, ahol a kémikus kreativitására, manualitására és nem utolsósorban szerencséjére is szükség van.

A székfoglaló anyaga a biológiai motiváció alapján négy részre tagolható:

- az α -amiláz kromogén szubsztrátjainak előállítására ciklodextrin alapon, a szubsztrát felismerés, a kötőhely és a katalitikushely feltérképezése,
- adhéziós proteinek ligandjai, szialil-LewisX analógok szintézise,
- „oligoszacharinok” szintézise, új védőcsoport-stratégia kialakítása,
- mesterséges antigének előállítására oltóanyag-termeléshez, ill. diagnosztikai célra.

A felsorolt, biológiai szempontból eltérő hatású anyagoknál az oligoszacharid szerkezet közös, bár meglehetősen eltérő szintetikus módszerek kidolgozása vált szükségessé. Nehezen válaszolható meg azonban az a kérdés, hogy a biológiai szerep vagy a kémiai szintézis kihívásai domináltak-e az egyes témák kiválasztásánál. Nagyon reméljük, hogy biológiai fontosság mellé sikerült szellemes, kémiai is új megoldásokat felsorakoztatni.

Az α -amiláz kromogén szubsztrátjainak előállítása ciklodextrin alapon

Az α -amiláz endo- α -(1 \rightarrow 4)-glükozil-hidroláz, amely az exogén eredetű keményítőt és glükogént maltodextrinné bontja le. A humán α -amiláznak két, a nyál- és a hasnyálmirigy által termelt formája ismert. Az utóbbi a fontosabb. Testfolyadékokban előforduló koncentrációja a hasnyálmirigy működésére vonatkozóan diagnosztikai jelentőségű.⁷ A klinikai gyakorlatban évenként

közel 100 millió α -amiláz-meghatározást végeznek, a reprodukálhatóság és a megbízhatóság érdekében a maltoheptaóz kromofór glikozidjait használják szubsztrátként, és segédenzimekkel történő kezelés után a minta 4-nitrofenol ill. 2-klór-4-nitrofenol tartalmát spektrofotometriásan mérik.^{8,9}

A glikozilhidrolázok hatásmechanizmusának tanulmányozásánál három kérdésre kell feleletet adni: a szubsztrát felismerése, kötődése az aktív helyen és a glikozidos kötés hasadása. Az α -amilázzal kapcsolatos vizsgálatoknál alkalmas szubsztrátok megválasztásával a fenti kérdésekre adekvát válaszokat adhattunk. Ahogyan az a bevezetőben említésre került, a klinikai gyakorlatban ma szinte kizárólagosan 4-nitrofenil α - vagy β -maltoheptaozidot használnak. Ezek előállítására enzim transzferszintézisekkel történik, rendkívül alacsony hozammal, igen fáradságos tisztítással nyerik a kívánt vegyületeket, s az ár rendkívül magas. Ezen szubsztrátok nyeréséhez a mi munkahipotézisünk abból a tényből indult ki, hogy a természet olcsón kínálja a keményítőből ipari méretekben nyerhető α -, β - és γ -ciklodextrineket, amelyek 6, 7, ill. 8 α -(1 \rightarrow 4) kötésű glükózegységből felépülő ciklikus molekulák, s hidrolízisüknek elvileg maltohexaózt, heptaózt ill. oktaózt kellene eredményezni. Másoknak is eszükbe jutott ez a lehetőség, de valamennyi kémiai vagy biokémiai próbálkozás alacsonyabb tagszámú keverékhez vezetett. A magyarázatot kinetikai mérések szolgáltatták, amelyekből kiderült, hogy az egész folyamat leglassúbb s így sebesség-meghatározó lépése, a makrociklus felnyílása, azaz a lineáris dextrinek sokkal gyorsabban hidrolizálnak, mint a ciklodextrinek.

Különböző ciklodextrin-származékok szintézise során megfigyeltük, hogy ezek savakkal szemben általában érzékenyebbek mint a szubsztituátlan párjaik, és ez a savlabilitás általában a szubsztituensek térkitöltésének növekedésével fokozódik, azaz a molekula zsúfoltságával a glikozidos kötés reaktivitása növekszik. Ezt a megfigyelést gyümölcsöztettük a peracetilezett ciklodextrinek acetolízise során, amikor is kiváló hozammal, egyszerű kristályosítással nyertük a peracetilezett α -CD-ből (1) a teljesen acetilezett maltohexaózt (7), míg a β -CD-ből (2) a maltoheptaózt (8) és a γ -izomerből (3) a maltooktaóz acetátot (9). Sikerült a reakciókat úgy irányítani, hogy a szabad ciklodextrineket különböző Lewis-sav típusú katalizátorok jelenlétében szobahőmérsékleten acetileztük, majd a reakcióelegy hőmérsékletének emelésével acetolizáltuk a makrociklust.¹⁰

A β -CD magasabb hőmérsékleten és hosszabb reakcióidővel kromatográfiásan jól elválasztható peracetilezett glükóz \rightarrow maltoheptaóz keveréket adott, így rendelkezésünkre állt a teljes maltooligomer sorozat ($G_3\rightarrow G_8$) (4-9), amelyeket konvencionális módszerrel acetobrom származékokká (10-15) alakítottuk, ezeket 4-nitrofenollal, ill. 2-klór-4-nitrofenollal Königs-Knorr típusú reakcióban β -glikozidok peracetátjaivá (16-21 és 22-27), majd Zemplén szerinti elszappano-

sítással kromofor aglikont tartalmazó β -glikozidokká (28–33 és 34–39) alakítottuk. A 4-nitrofenil-glikozidokból (28–33) a nem redukáló végen ugyancsak kromofort hordozó 4,6-O-benzilidén származékokat (40–45) preparáltunk, így ezek esetében „kettős” kromofor jelölést sikerült elérnünk.

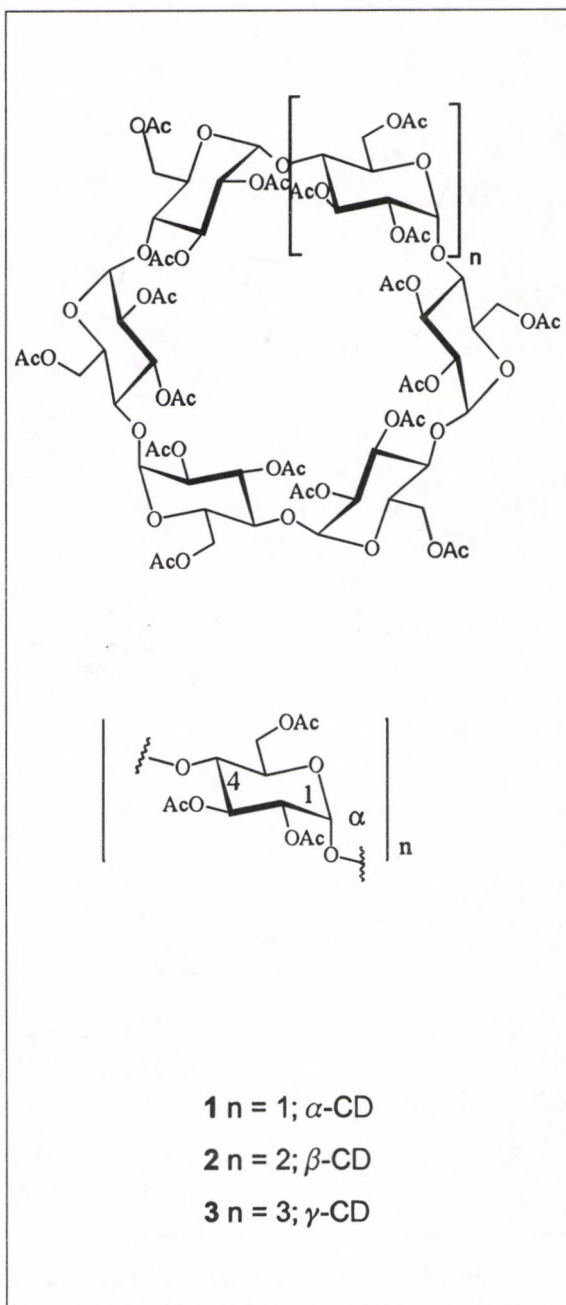
A 3. ábrán látható vegyületeket (28–45) szubsztrátokként használva, a reakciókinetikai paraméterek (K_M , V_{max}) és hasítási termékek analízise alapján a következő megállapításra jutottunk:¹¹

– az enzim felületén feltehetően egy minimálisan öt kötőhelyet tartalmazó mélyedés valósítható,

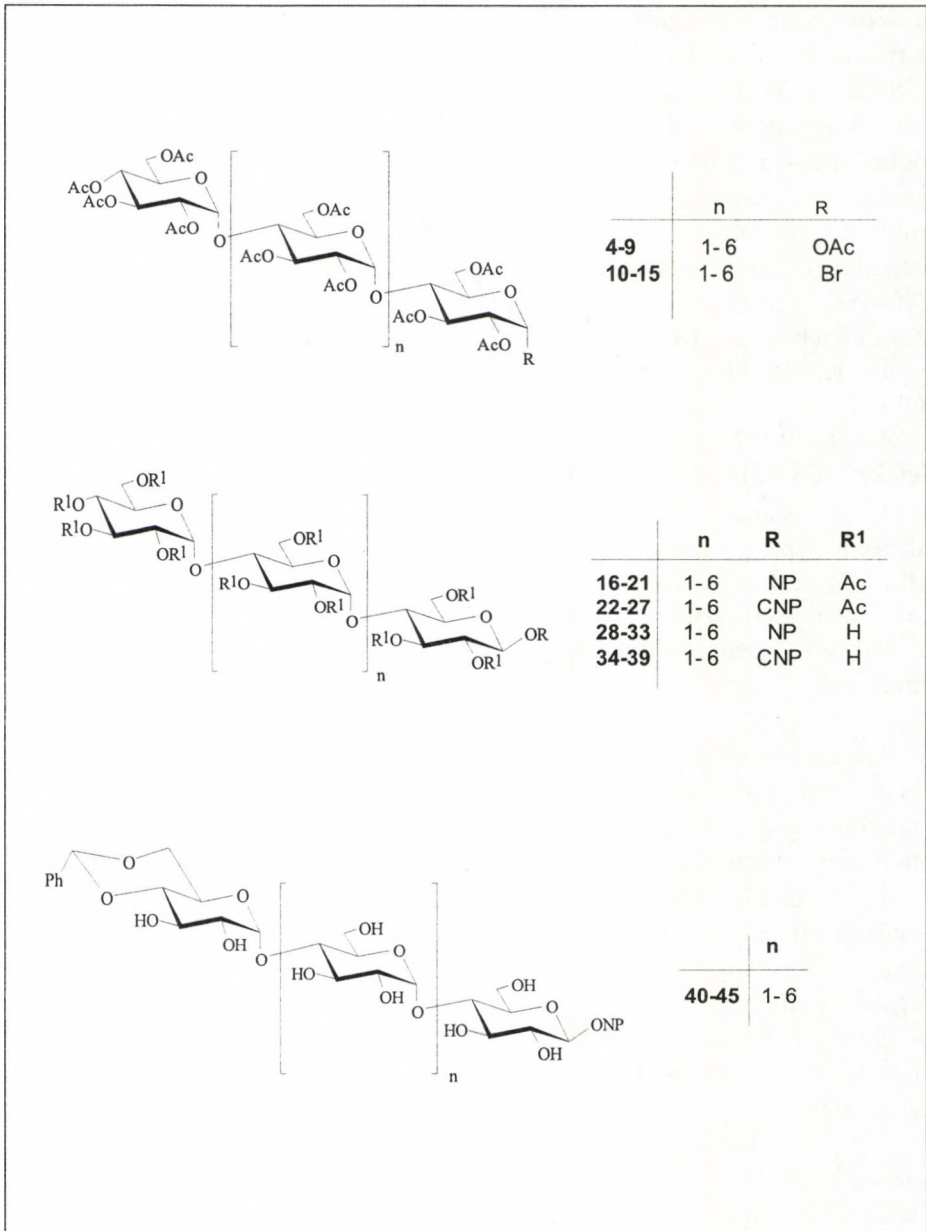
– az enzim α -(1 \rightarrow 4) kötéssel felépülő glükóz oligomereket ismer fel, s ez legalább pentamer legyen, s a glükóz-egységeket aromás gyűrűk részben helyettesíthetik,

– a katalitikus hely a második és a harmadik „mélyedés” között található.

A bontási képet és a hasítási frekvenciákat a 4. ábra szemlélteti.



2. ábra. Peracetylizett ciklodextrinek szerkezete



3. ábra. Ciklodextrinek acetilázissal nyert acetilezett maltooligomerek (4-9), acetobróm maltooligomerek (10-15), acetilezett glikozidok (16-27), glikozidok (28-39) és kettős kromofort tartalmazó glikozidok (40-45) szerkezete

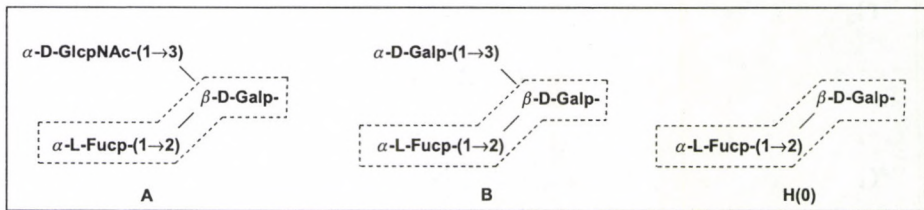
Maltooligomer-származékok illeszkedése az α -amiláz aktív centrumához

	<u>-3</u>	<u>-2</u>	<u>-1</u>	<u>+1</u>	<u>+2</u>		%
G₄		Bnl—G—G—	G—G—	G—G—	NP		95
	Bnl—	G—G—G—	G—G—	G—NP			5
			G—G—	G—G—	NP		64
		G—G—G—	G—NP				36
G₅		Bnl—G—	G—G—G—	G—G—	NP		37
	Bnl—	G—G—G—	G—G—	G—G—	NP		28
		Bnl—G—G—	G—G—G—	G—G—	G—NP		35
		G—G—G—	G—G—	G—G—	NP		100
G₆		Bnl—G—	G—G—G—	G—G—	G—NP		100
		G—G—G—	G—G—	G—G—	NP		54
		G—G—G—	G—G—	G—G—	G—NP		46
G₇		Bnl—G—	G—G—G—	G—G—	G—G—	NP	80
	Bnl—	G—G—G—	G—G—	G—G—	G—NP		20
		G—G—G—	G—G—	G—G—	G—NP		41
		G—G—G—	G—G—	G—G—	G—NP		33
	G—G—G—	G—G—	G—G—	G—G—	NP	26	
G₈		Bnl—G—	G—G—G—	G—G—	G—G—	NP	73
	Bnl—	G—G—G—	G—G—	G—G—	G—NP		9
	Bnl—	G—G—G—	G—G—	G—G—	NP		18
		G—G—G—	G—G—	G—G—	G—NP		28
		G—G—G—	G—G—	G—G—	G—NP		37
		G—G—G—	G—G—	G—G—	G—G—	NP	24
	G—G—G—	G—G—	G—G—	G—G—	NP	11	

4. ábra. Az α -amiláz öt mélyedést tartalmazó kötőhelyéhez a szubsztrátok illeszkedése és a -1; +1 katalitikus helyen a glikozidos kötések hasadásának gyakorisága

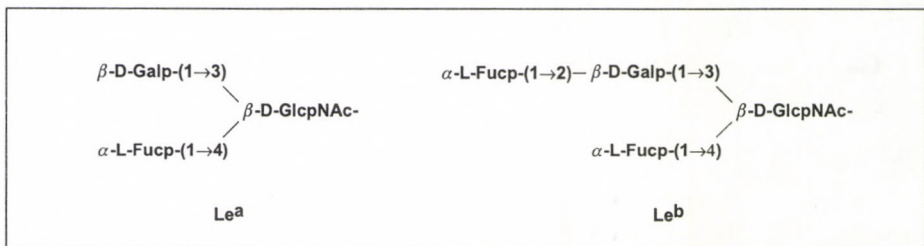
Adhéziós proteinek ligandjai, szialil-LewisX analógok szintézise

A vércsoportok létezését még a század elején Landsteiner¹ ismerte fel, de csak az 1970-es években vált elfogadottá, hogy a csoportspecifitást a vörösvérsejtek felületén lévő oligoszacharidok határozzák meg. A leggyakrabban előforduló ABO-rendszerben ezek az oligoszacharidok a következő szerkezettel írhatók le:



5. ábra. Az ABH(O) vércsoportokhoz tartozó vörösvértetek felületi antigénjeinek szerkezete

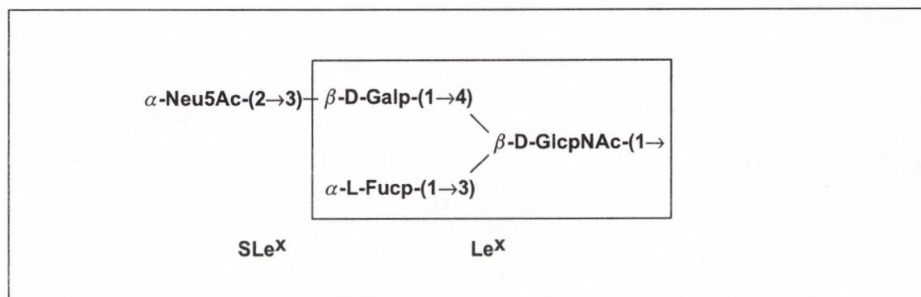
A lényegesen alacsonyabb gyakorisággal előforduló Le^a ill. Le^b vércsoportok komponensei azonosak, csak a kötéstípusban és az anomerkonfigurációban különböznek egymástól és az ABO-rendszerétől.



6. ábra. A Lewis^a és Lewis^b vércsoportokhoz tartozó vörösvértetek felületi antigénjeinek szerkezete

A vércsoportanyagoknak a vérátömlesztésnél van rendkívüli szerepük. A fehérvérsejtek és a vérelemezkek felületén néhány évvel ezelőtt egy új tetraszacharidot figyeltek meg, amely egy igen ritka vércsoport triszacharid, a LewisX (Le^x)^{12,13} szialinsavval glikozilezett formája, így szialil-LewisX-nek¹⁴⁻¹⁷ nevezték el, s szerkezete a 7. ábrán látható.

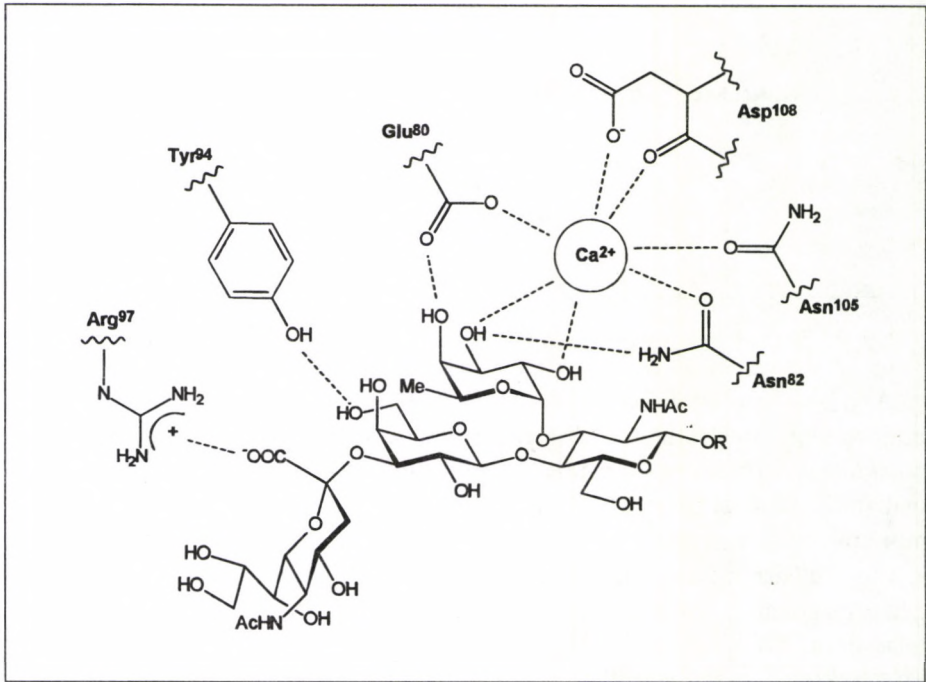
A bekeretezett triszacharid a Le^x, s ez a szerkezet a Le^a-tól csak a D-galaktóz és az L-fukóz kötéstípus felcserélődésében különbözik.



7. ábra. A LewisX és a szialil-LewisX tri-, ill. tetraszacharid szerkezete

A szialil-LewisX felismert biológiai szerepe, nevezetesen, hogy az érfal endotel sejtjeinek felületén elhelyezkedő adhéziós proteinek egyik tagjának, a *szelektinnek* természetes ligandja, szinte új fejezetet nyitott meg a glikobiológiában. Korábról is ismert jelenség, hogy mechanikai sérülés esetén, testidegen anyagoknak szövetekbe kerülésénél, a sérült szövetrészben a leukociták kijutnak az érrendszerből, és egy gyulladási folyamatban eltávolítják a testidegen anyagokat. A folyamat első szakaszában a leukociták mozgása az erekben lelassul, az érfalhoz közeledve azon gördülnek, majd kijutnak a szomszédos szövetekbe.^{4,18-20} Ez normál jelenség, az immunvédekezési mechanizmus folyamata. Számos esetben, így citokinek, endotoxinok jelenlétében, vagy autoimmun kórképekben hasonló, nemkívánatos gyulladási folyamatok játszódhatnak le. A legfontosabb megfigyelés azonban az volt, hogy a malignus, transzformált sejtek felületén is megjelennek SLe^x molekulák, a keringésből a környező szövetekbe az előbbieken leírt módon kijutnak, és áttételeket, azaz metasztázist eredményeznek. Ezek a felismerések különösen a gyógyszergyárak részéről igen élénk kutatási tevékenységet váltottak ki, a szialil-LewisX analógok ezrei, talán tízezrei kerültek előállításra, ill. biológiai vizsgálatra. E vizsgálatok célja olyan ligand keresése, amely a keringésbe bejuttatható, specifikus aktivitása révén az endotel sejtek felületén lévő szelektinek kötőhelyeit lefedi és megakadályozza alkalmasint a leukociták, ill. a transzformált sejtek kötődését és a keringésből történő kijutását.

A szintetikus vizsgálatok mellett fény derült arra is, hogy a SLe^x szelektinekhez történő kötődéshez nem szükséges a teljes tetraszacharid, elegendő az $\alpha\text{-L-fukóz}$ három hidroxilcsoportja, a $\beta\text{-D-galaktopiranozil}$ rész OH-4,6 hidroxiljai, továbbá egy, a Galp-egység 3-as pozícióján egy negatív töltést hordozó csoport (COO^- , O-SO_3^-). A $\beta\text{-D-GlcpNAc}$ rész csak a hídmolekula szerepét tölti be, a neuraminsavat pedig egy $\text{CH}_2\text{-COO}^-$, vagy egy 3-O-SO_3^- csoport is helyettesítheti. Időközben az is kiderült, hogy a Le^x $3\text{-OSO}_3\text{H}$ -ja



8. ábra. A SLe^x kalcium közvetített kötődése az L-szelektinhez

természetes ligandja az L-szelektinnek. Az L-szelektinen a SLe^x kötődését a 8. ábra szemlélteti.

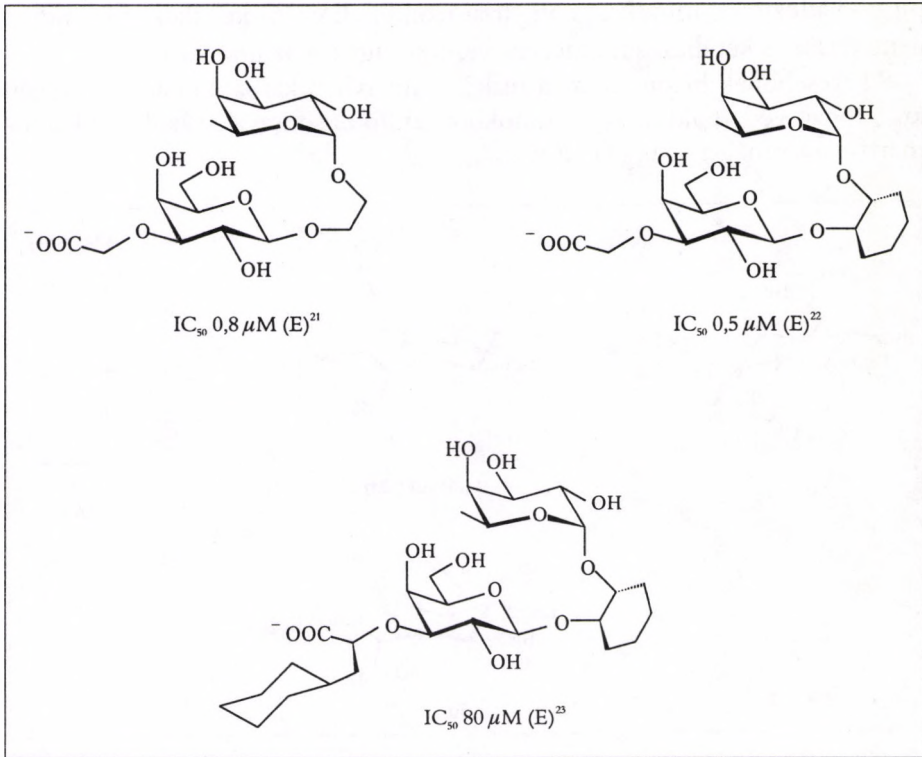
Az eddig szintetizált szelektin analógok közül a legaktívabbnak a 9. ábrán látható vegyületek bizonyultak.

A természetes ligandok és általában a szintetikus analógok rendelkeznek néhány olyan szerkezeti vonással, amelyek gyógyszer formában történő felhasználásukat nehezítik. Így pl. a természetes oligoszacharidok a testfolyadékokban lévő glikozilhidrolázok hatására relative könnyen hidrolizálnak, a szulfátészterek pedig az észterázok hatására ugyancsak bomlanak.

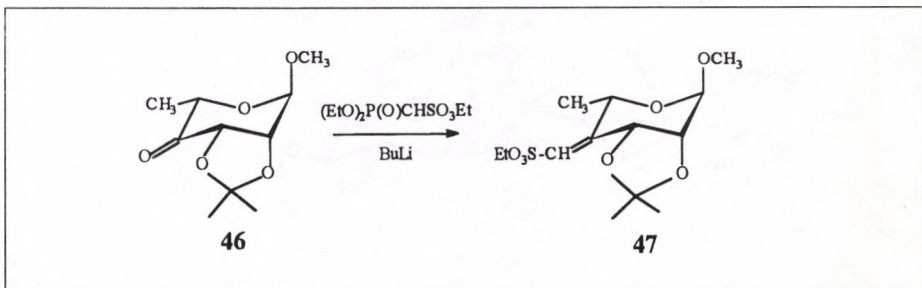
Mi az utóbbi oldalról közelítettük a természetes ligandumok érzékenységét, amikor is cukoralkilszulfonát típusú vegyületek szintézisét valósítottuk meg. Cukorszulfonsavak természeti előfordulásáról egyetlen adatunk van, valamennyi fotoszintetizáló növény kloroplasztnembránjában egy 6-dezoxi-6-szulfó-D-glukóz glikolipid formájában fordul elő, amelynek bioszintézise is ismert. Ez a természetben előforduló legerősebb savak közé tartozik.

Előállításukat két úton kíséreltük meg, egyrészt Wadsworth–Horner–Emmons²⁵-reakcióban (10. ábra).

Fehérje-szénhidrát kölcsönhatások



9. ábra: Szintetikus szelektin ligand analógok (IC_{50} = 50%-os telítési koncentráció)

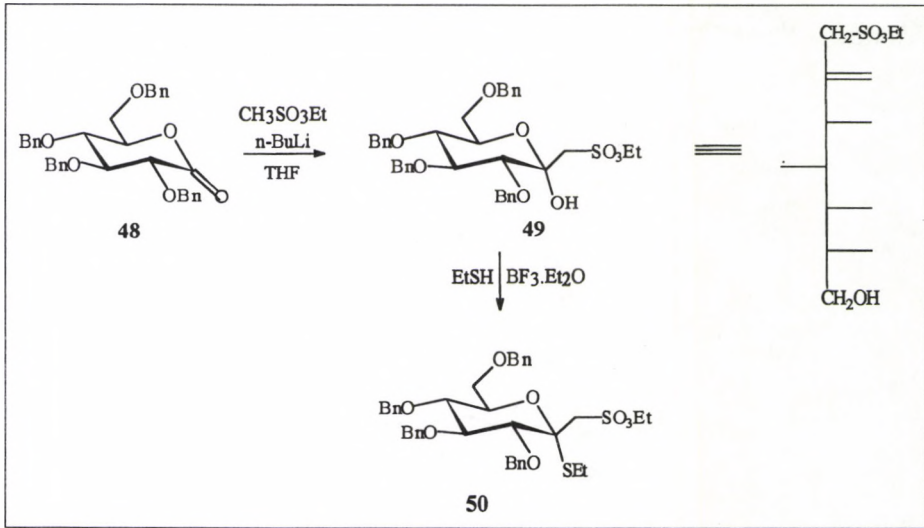


10. ábra. Ulozid reakciója Wadsworth–Horner–Emmons-reagenssel

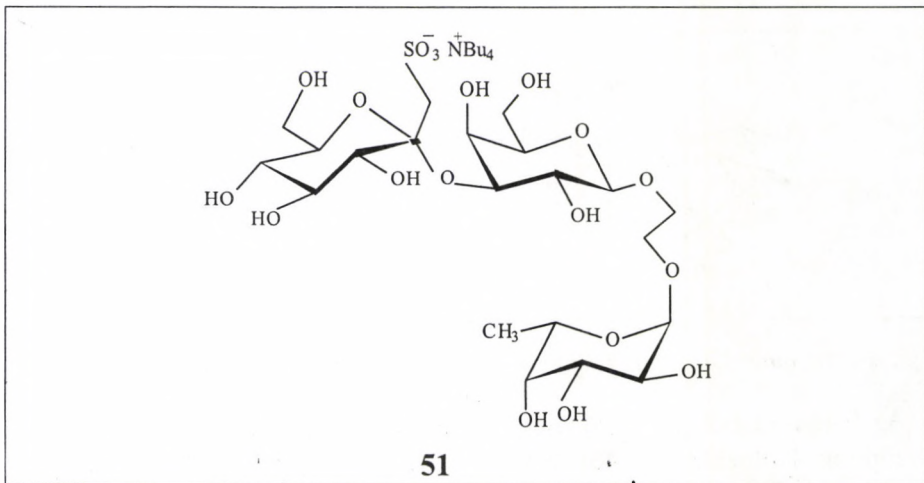
Az L-ramnózból nyerhető metil 6-dezoxi-2,3-O-izopropiliden- α -L-lyxo-hexopiran-4-ulozidból²⁴ (46) egyetlen etilénszármazékot nyertünk (47), hidrogenolízise azonban két diasztereomer származékhoz vezetett, amelyeket nem sikerült elválasztanunk. A benzil 2,6-di-O-benzil- β -D-arabino-hexo-

piran-3-ulozidból mindkét geometriai izomer (**E** és **Z**) keletkezett és hidrogenolízisük is két diasztereomerhez vezetett. Így ezt az utat feladtuk.

Sikeresebbnek bizonyult az a reakció, amelyben karbanion addíció révén különböző védett aldonsav-laktonokból szulfoulozonsavakat izoláltunk anormertiszta formában. Pl.: (11. ábra).



11. ábra. Aldonsav-laktonok reakciója metánszulfonsav-etilészterrel

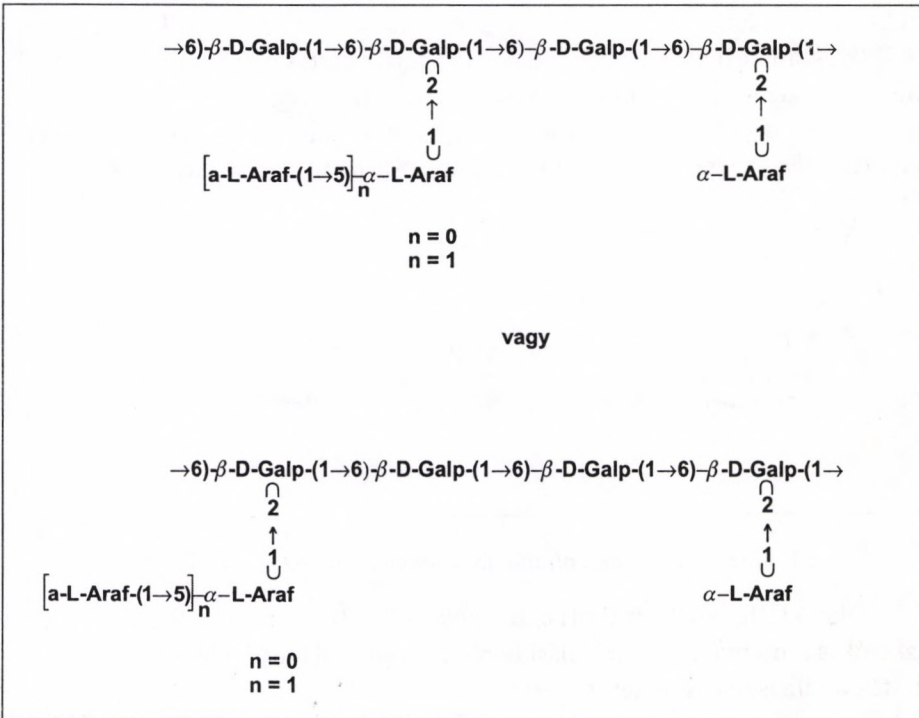


12. ábra. Új típusú szelektin ligand szerkezete

A félacetál (49) igen jó hozammal etil tio-glikoziddá (50) alakítható, amely tiofil reagenssel (NIS-TfOH) glikozilezésre használható. A részletek mellőzésével csak az ún. pszeudo-tetraszacharid (51) szerkezetét adjuk meg (12. ábra).

Oligoszacharinok szintézise

Ha a növényi sejteket vírus- vagy baktériumtámadás vagy akár a sejteket mechanikai sérülés éri, úgy a növény fitoalexinek termelésével egy kvázi immunvédekezési mechanizmust indít el. A vizsgálatok azt mutatják, hogy a fitoalexinek nem proteinek, tehát nem elsődleges géntermékek, de szintézisük természetesen olyan nyugvó, represszált gének működésbe lépésével történik, amelyek révén a fitoalexinek szintéziséhez szükséges enzimek egész sora szintetizálódik. Közel másfél évtizedes vizsgálat sorozat valószínűsíti, hogy a növényeket érő támadás során néhány sejt mintegy „feláldozza” magát, és sejtfalából hidrolitikus enzimek közreműködésével 7–9 monoszacharidból álló oligoszacharidokat szabadít fel, amely oligoszacharidok rendkívül alacsony

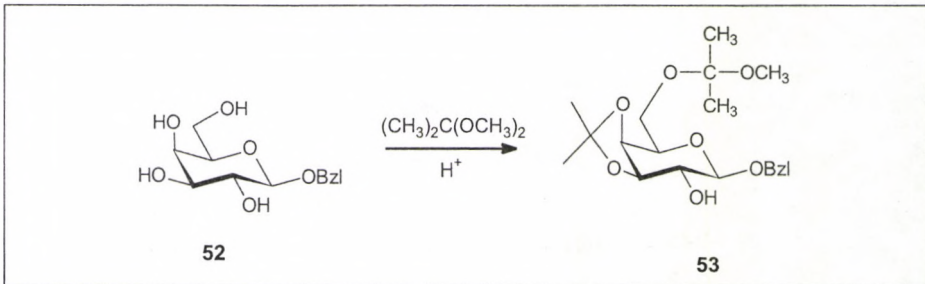


13. ábra. Arabinogalaktánok ismétlődő oligoszacharid-egységei

koncentráció mellett aktiválják a nyugvó, a fitoalexinek szintézisében részt vevő enzimek génjeit, s beindul egy kaszkádrendszerű védekezési folyamat. Ezeket a sejtfallebontási termékeket összefoglaló néven *oligoszacharinoknak*²⁶ nevezik, de a szakirodalom *fitoalexin-elicitor*-okként is említi. Tekintve, hogy ezek az anyagok a növényvédelem szempontjából rendkívül fontosak lehetnek, több kiváló laboratórium foglalkozik az oligoszacharinok szintézisével és vizsgálatával.

Mi e vegyülettípus szintézisével közvetve kerültünk kapcsolatba. A Münchener Egyetemen Wagner professzor csoportja az *Echinacea purpurea* poliszacharidjai között az immunrendszert stimuláló makromolekulá(ka)t talált. E felfedezés ipari hasznosítása is megtörtént, sejtenyésztékből nyerik az aktív anyagot. 1996-ban a poliszacharid-keverékből egy különösen aktív komponenst izoláltak, amely *arabinogalaktánnak* bizonyult, s vizsgálataik a 13. ábra szerinti szerkezetet valószínűsítették.

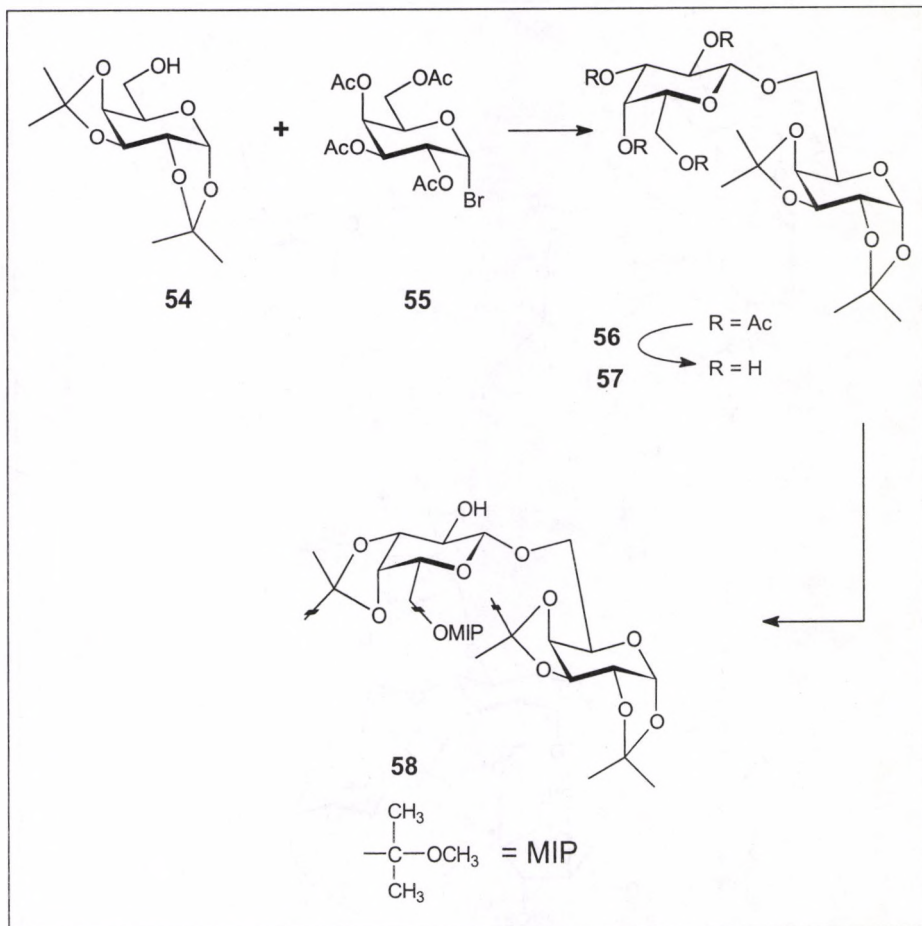
Megkeresés érkezett csoportunkhoz, hogy gyűjteményünkben van-e ilyen típusú oligoszacharid, amely(ek) alkalmasak lennének monoklonális antitestek termeltetésére, amelyek a későbbiek során analitikai reagensként szolgálhatnának. Korábban ilyen vegyületek szintézisével nem foglalkoztunk, így 1997 tavaszán kezdtük el a feladattal való foglalkozást, s egy korábban általunk felismert reakciónak az adaptálásával. Megfigyeltük, hogy pl. a benzil β -D-galaktopiranozid (52) dimetoxipropánnal egy sav katalizálta reakcióban a következő (14. ábra), egyetlen szabad OH csoportot tartalmazó származékot (53) adja.²⁷



14. ábra. β -D-galaktopiranozidok reakciója dimetoxipropánnal

A reakció felhasználásával olasz szerzők²⁸ később részletesen foglalkoztak, s reakciókörülmények és az izolálási feltételek optimalizálásával jelentősen kiszélesítették a felhasználási lehetőségeket.

Az egyetlen lépésben nyerhető 1,2:3,4-di-O-izopropilidén- α -D-galaktopiranozt (54) kiváló hozammal glikozileztük β -(1 \rightarrow 6)-kötésű diszachariddá

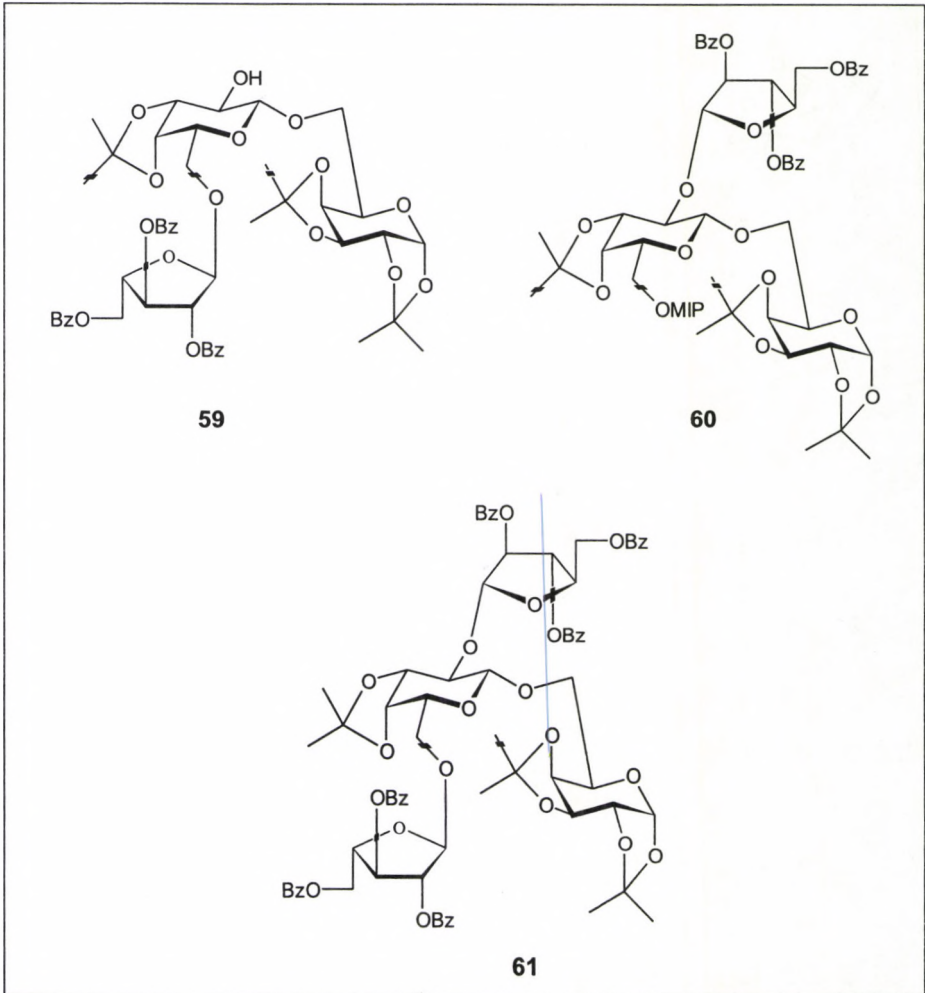


15. ábra. 2'-OH tartalmú β -(1 \rightarrow 6)-digalaktóz-származék egyszerű előállítás

(56), amelyet Zemplén szerint elszappanosítva nyertük a (57)-et, amelynek dimetoxipropános kezelésével izoláltuk azt a diszacharid-származékot (58), amely az OH-2' csoportot tartalmazta (15. ábra).

A dimetilmetoximetil (MIP)-csoport savérzékenységét ismertük, mégis meglepetésnek tűnt az az észlelet, hogy az 58 arabinózilezése brómcukorral három terméket adott. Ezek kromatográfiai elválasztása után a vegyületek szerkezete a 16. ábra szerint adódott.

A három termék közül a 60 a célvegyület, a másik kettő (59 és 61) keletkezését a MIP hidrolízisével értelmezhetjük a reakció során a promotorból keletkező Lewis-sav-karakterű vegyületek révén. Az 59-61 vegyületekből a ben-



16. ábra. Az 58-as vegyület 2,3,5-tri-O-benzoil- α -L-arabinofurazonil-bromiddal történő glikozilezése során keletkező vegyületek szerkezete

zoil-csoportokat elszappanosítással, az izopropilidén-csoportokat pedig savas hidrolízissel távolítottuk el és nyertük a két tri- és a tetraszacharidot.

A MIP-et kémlelendő, igyekeztünk közel bázikus reakciófeltételeket előállítani porított molekulaszita és trimetilpiridin alkalmazásával, $\text{Hg}(\text{CN})_2$ -ot használva promotorként. A reakció során két termék képződését detektáltuk, az egyik a 60-as célvegyület, míg a másik (62) a képződött MIP-tartalmú triszacharid dimerizációjával jött létre (17. ábra).

A vegyület szimmetrikus szerkezettel rendelkezik, ez egyértelműen adódott a ^{13}C -NMR spektrumból, a ^1H -NMR spektrum integrált protonszáma bizonyította az $-\text{O}-\text{C}(\text{CH}_3)_2-\text{O}-$ szerkezeti egység jelenlétét. A MALDI-TOF-MS a molekulatömeg révén megerősítette a feltételezett struktúrát.

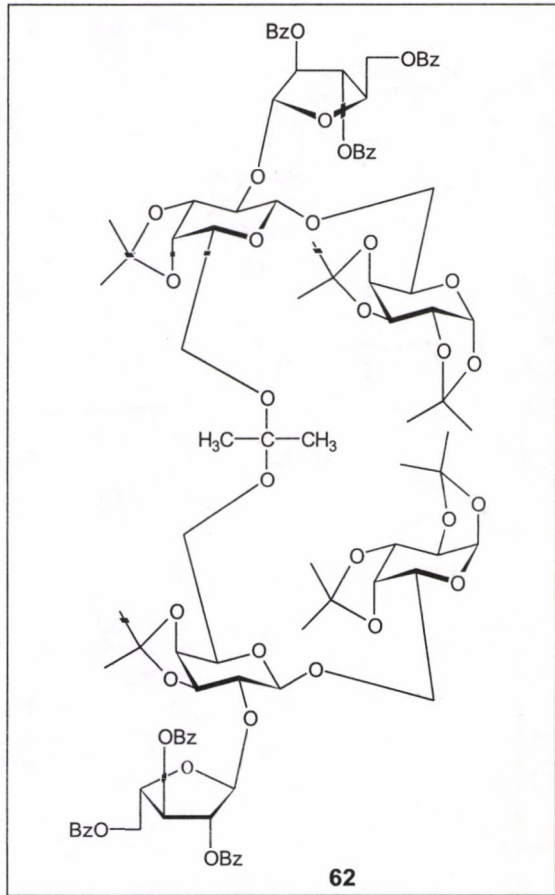
A két vegyület elszappanosítását követő enyhe savas hidrolízis ugyanazt a triszacharidot szolgáltatva, jelezve, hogy a dimetilmetilén acetáldhíd híg savakkal hidrolizálható az interglikozidos kötések sérülése nélkül.

A mono-MIP digalaktózid-származék (58) kiváló hozammal benzilezhető (63), s a MIP savas hidrolízisével nyert 6'-OH vegyület az ugyancsak 63-ból nyerhető diszacharid donorral (65) a 66-os tetraszacharid nyerhető. Ez utóbbi vegyületből a benzil-csoportok eltávolításával egy két arabinózil-egységet tartalmazó hexaszacharid szintetizálható.

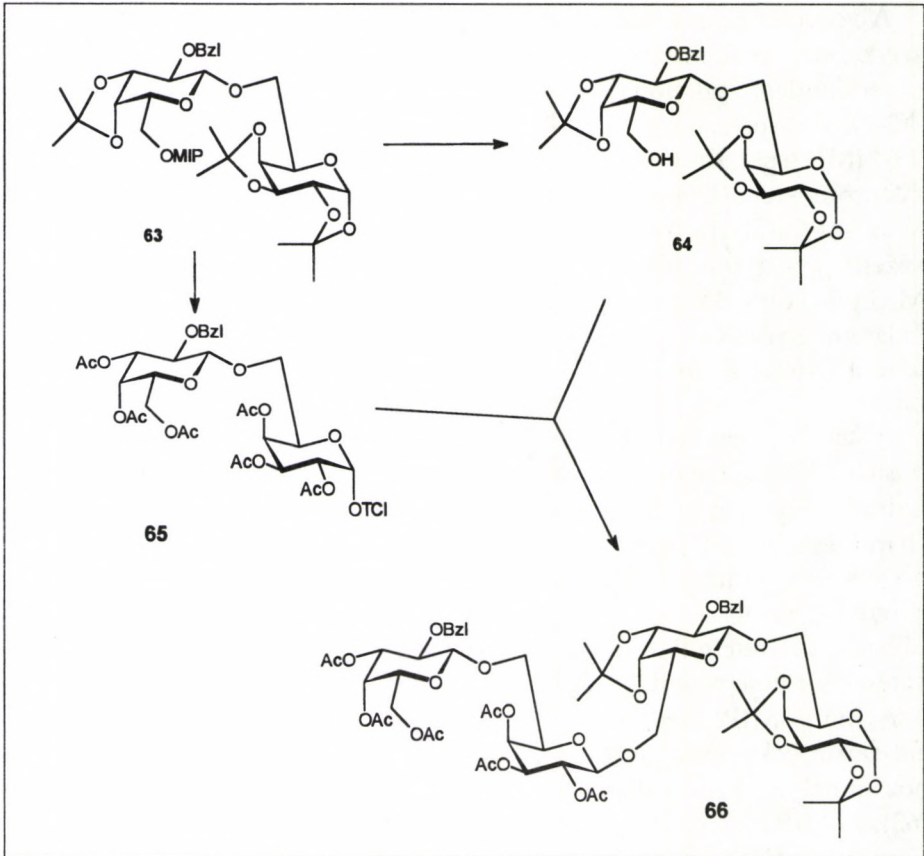
Az arabinogalaktánok fitoalexin-elicitor-hatását vizsgálándó, számos igen hasznos szintetikus intermediert állítottunk elő, amelyekből gyakorlatilag bármilyen kívánt végtermék nyerhető (18. ábra).

A szintetizálható építőelemek szellemesen kombinálhatóak, és biológiailag igen értékes, tetszőlegesen variálható szerkezetű modellvegyületekhez juthatunk.

Az itt bemutatott eredményeket 1997-ben a 10. Európai Szénhidrátkémiai Szimpóziumon²⁹ mutattuk be, ezt követően, 1998 februárjában az alábbi négy



17. ábra. A 60-as vegyület sav katalizálta dimerizációjával létrejött vegyület (62) szerkezete



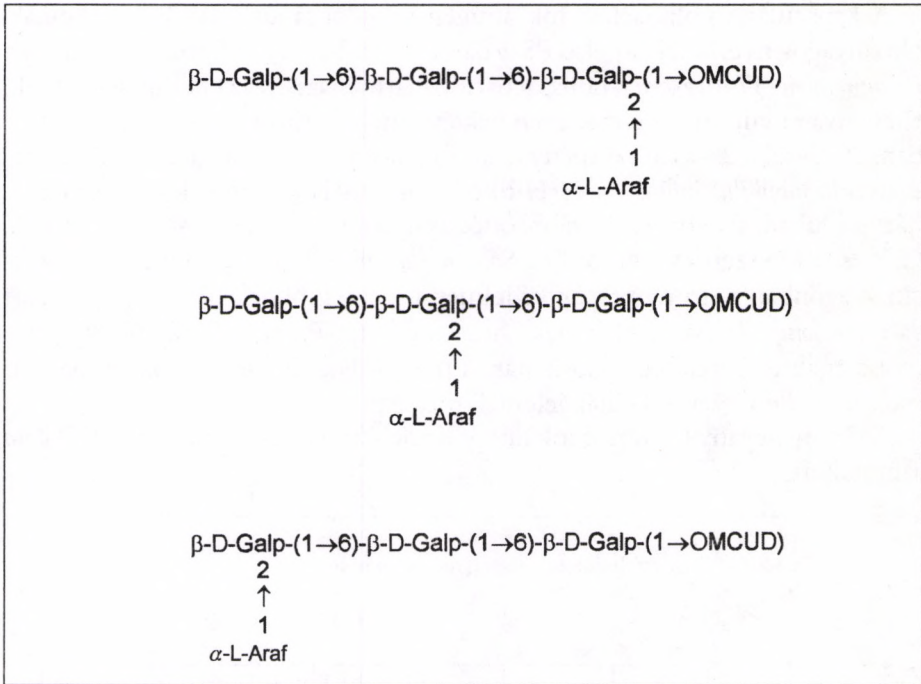
18. ábra. OH-2^{II} és OH-2^{III} származékok előállítására alkalmas védett tetraszacharid (**66**) szintézise

tetraszacharid szintéziséről számoltak be,³⁰ s a szintéziseket feltételezett fitoalexin-elicitor-hatás motiválta (19. ábra).

A holland szerzők az 1,2-anhidro-cukrok glikozildonátor készségét használták ki, bár e vegyületek szintézise számos lépést igényelt.

Mesterséges antigének előállítása oltóanyag-termeléshez, illetve diagnosztikai célra

Vírusok, baktériumok emlősszervezetekbe jutva ellenanyag-termelést váltanak ki. A képződő ellenanyagok a mikroorganizmusok felületén lévő építőpokra mint testidegen antigénekre nézve specifikusak. Ezek az ellenanyagok



19. ábra. Fitoalexin-elicitor hatású oligoszacharidok szerkezete

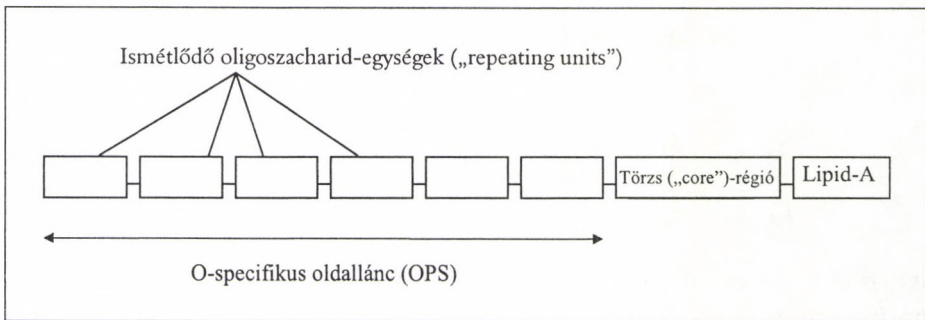
lehetnek protektív anyagok (általában IgG), amelyek az immunrendszer mozgósítása révén a testidegen anyagokat eltávolítják, vagy nem protektív ellenanyagok (általában IgM), amelyek a gazdaszervezetben a fertőzést követően magasabb koncentrációban jelennek meg a vérben, és így diagnosztikai jelentőséggel bírnak. Az IgG termelését kiváltó antigének elvileg oltóanyagként (vakcinaként) nyerhetnek alkalmazást.

Az említett epitópok a vírusok, ill. a baktériumok felületén lévő fehérje, ill. poliszacharid-molekulák meghatározott felületei, azaz molekula részletek.

A baktériumok esetében a poliszacharid-antigén igen gyakori, a Gram-pozitív baktériumoknál legtöbbször a baktérium poliszacharid-kapszulája³¹ (CP), a Gram-negatívoknál pedig a baktérium felületét beborító lipopoliszacharid (LPS)³² poliszacharid része (OPS). Mind a kapszuláris, mind a lipopoliszacharidokra az jellemző, hogy ismétlődő oligoszacharid-egységekből (repeating units) épülnek fel. Ezeknek az ismétlődő egységeknek a monoszacharid építőelemei, kötéstípusa és anomerkonfigurációja, esetleg járulékos szubsztituensei együttesen határozzák meg a baktériumok szerológiai tulajdonságait, azaz az ismétlődő egységek szerospecifikusak, és ezek szerodiagnózisra használhatóak.

A kapszuláris poliszacharidok antigén-tulajdonságúak, belőlük vakcinák, oltóanyagok nyerhetők, az első PS-vakcina 1978-ban nyert bevezetést, amely a *Pneumococcus* 17 törzsének poliszacharidját tartalmazta, s az ellenük termelődő ellenanyag nyújtott védelmet ezen baktériumok fertőzésével szemben. Újabban, 1983-tól a 23-as készítmény³³ van forgalomban. PS vakcina áll rendelkezésre *Haemophilus influenzae* b (Hib) ellen is, amely a gyerekek esetében agyhártyagyulladászt okozott. További oltóanyag érhető el a *Neisseria meningitidis* A, C, Y és W135 szerocsoportjai és a *Salmonella typhi* ellen. Ezek a tisztán PS vakcinák azonban nem nyújtanak védelmet a csecsemőknek (0,5–2,5 év), ezért vált igen fontossá az a megfigyelés, hogy a fehérje-PS antigének ennek a korcsoportnak is védelmet biztosítanak, s ma a *Vibrio cholera* és a *Streptococcus* B csoportja ellen ilyen vakcinák jelentek meg a piacon.

A Gram-negatív baktériumok lipopoliszacharidjainak szerkezetét a 20. ábra szemlélteti:



20. ábra. Gram-negatív baktériumok lipopoliszacharidjainak (LPS) szerkezete

A szerospecifitást az OPS rész határozza meg, de ezek nem immunogének, csak hapténként működnek. Ellenben az OPS-fehérje-konjugátumok az OPS-re specifikus IgG ellenanyag termelését indukálják, és bizonyos esetekben védelmet nyújtanak a bakteriális fertőzés ellen.

Az AIDS és az angliai szarvasmarha-szivacsos-agyvelőgyulladás kapcsán a tisztán biológiai eredetű mintákkal szemben is fenntartás van. Kedvező eredmények vannak arra vonatkozóan, hogy a bakteriális poliszacharidok „ismétlődő” oligoszacharid egységei alkalmasan választott makromolekulákhoz, elsősorban fehérjékhez kapcsolva olyan mesterséges glikoproteineket adnak, amelyek ellen a szénhidrátokra specifikus IgG antitestek termelődnek.

Ezek a körülmények is motiválták azon döntésünket, hogy a Gram-negatív baktériumok közül a *Shigella sonnei*³⁴ LPS-ének vizsgálatával és a diszacharid típusú ismétlődő egység szintézisével foglalkozzunk. A shigellosis sajnos igen

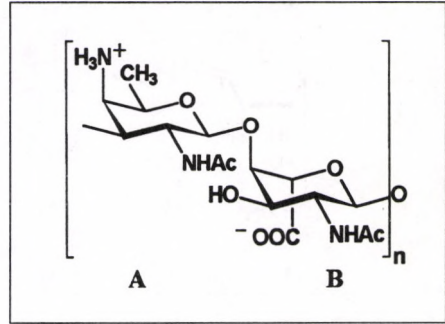
Fehérje-szénhidrát kölcsönhatások

gyakori, az emberi emésztőrendszerre kiterjedő betegség. Az évenkénti fertőzések száma mintegy 300 millió, a tragikus esetek száma is eléri a 600 ezret.

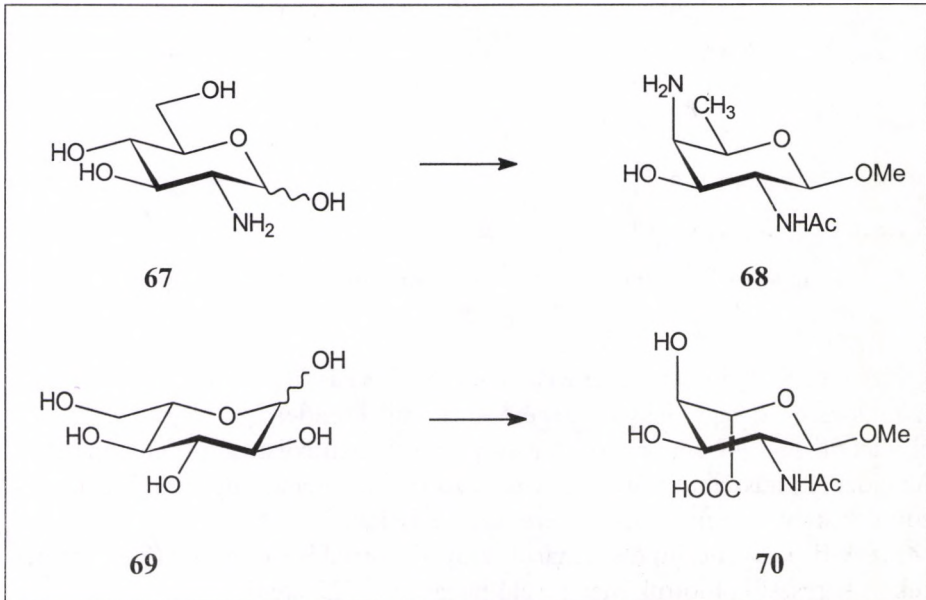
A *Sh. sonnei* ismétlődő diszacharid-egysége a 21. ábra szerinti szerkezettel írható le.

Ismereteink szerint az ismétlődő egység a legbonyolultabb szerkezetű diszacharid-molekula, amely szabad NH_2 - és COOH -csoportja révén zwitter ionos formában létezik, s a monoszacharid építőelemek szintézise sem ismert.³⁵

A két monoszacharid építőelem (68 és 70) szintézisét D-glükózaminból (67) és L-glükózból (69) kiindulva oldottuk meg, a részletek ismertetésétől eltekintünk.³⁶

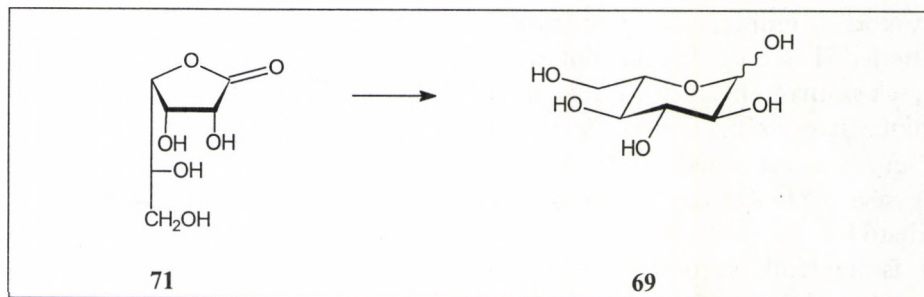


21. ábra. A *Shigella sonnei* Gram-negatív baktérium-OPS-nek ismétlődő, diszacharid egysége



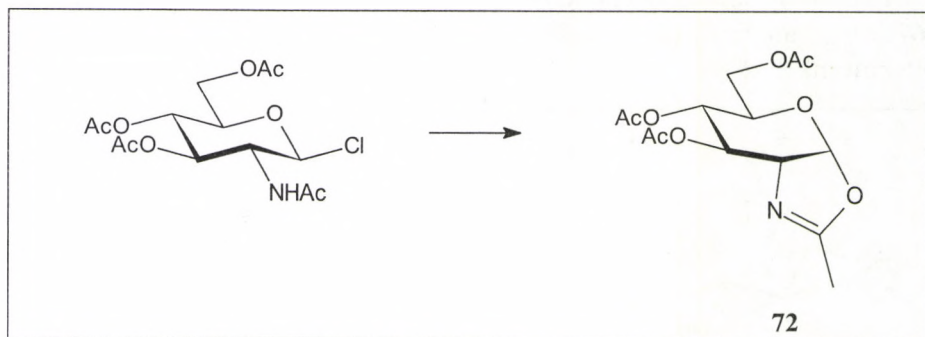
22. ábra. A *Shigella sonnei* OPS építőelemeinek szintézise

Az egyébként igen drága L-glükóz szintézisére is D-gulono- γ -laktonból (71) kiindulva új szintézist dolgoztunk ki (23. ábra).



23. ábra. Az L-glükóz szintézise

A 2-acetamido-2-dezoxi-glikozidok szintézisét az a körülmény is nehezíti, hogy az 1,2-oxazolin (72) képződésre való hajlam kifejezettebb a glikozid-képzésnél (24. ábra).

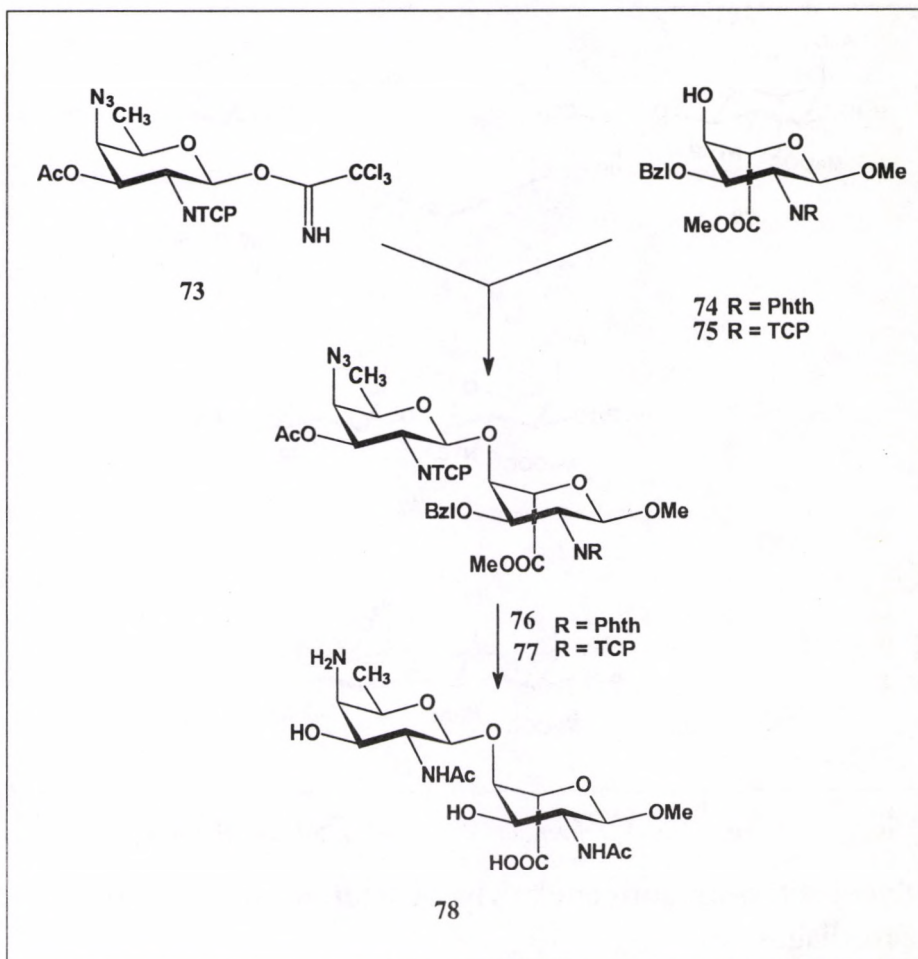


24. ábra. A 2-acetamido cukrok glikozil-donorjai készségesen képeznek 1,2-oxazolinokat

Ezt elkerülendő, az 1,2-**transz** glikozidok kialakítására imideket (ftaloil, tetraklórfaloil) vagy elektronszegény karbonillal rendelkező amidokat (N-triklóracetil, N-trikloretoxikarbonil, N-p-nitrobenziloxikarbonil) alkalmaznak. Az előzőek drasztikus körülmények közötti eltávolítása, míg az utóbbiak túlzott érzékenysége nehezíti a sikeres szintéziseket.

Az A-B szekvenciájú diszacharid szintézisét triklóracetimidát (73) származékon keresztül oldottuk meg kiváló hozammal (25. ábra).

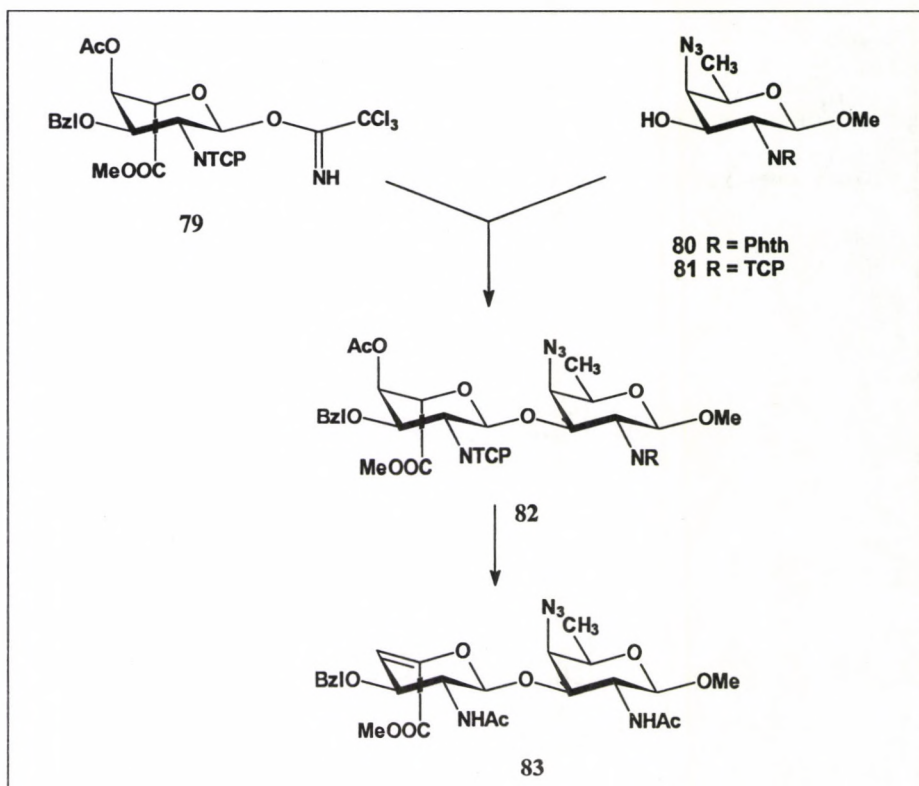
A védett származékok (76 és 77) 78-cá történő átalakítása rendkívül szigorú reakciószekvenciát igényelt (észterhidrolízis, deftalolezés, szelektív N-acetilzés és redukció). Lényegesen nehezebb feladatnak bizonyult a B-A szekvenciájú diszacharid előállítás. Egyrészt a glikozilezési reakciók hozama lényege-



25. ábra. Az A-B sorrendű diszacharid szintézisének lépései

sen kisebb volt, másrészt a védőcsoport eltávolításának előző szekvenciája eliminációs reakciót eredményezett. Ezt elkerülendő, az első lépés az *axiális* 4'-OAc savas feltételek melletti eltávolítása volt (26. ábra).

A ftaloil- (Phth) csoportok eltávolítása során észlelt nehézségek a magasabb tagszámú oligoszacharidok előállításánál, a tetraklórtaloil és a triklóracetil védőcsoportok kombinálását sugallták. Ezen csoportok alkalmazásával 1+2, ill. 2+3 blokszintézis révén előállítottunk egy tri-(84) és egy pentaszacharidot (85), ezekből a védőcsoportokat azonban ezideig nem sikerült eltávolítani (27. ábra).

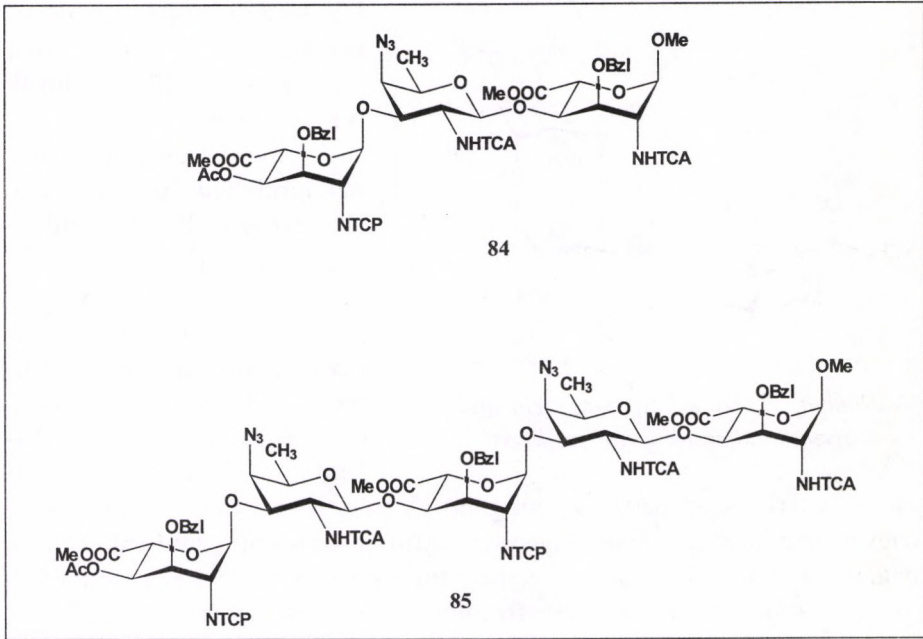


26. ábra. A B-A szekvenciájú diszacharid szintézisének lépései

Mycobacterium antigének. Mycobacteriális fertőzések szerodiagnózisa

A mycobacteriumok a Gram-pozitív mikroorganizmusokhoz tartoznak, kettő közülük közismert humánpatogén: a *M. tuberculosis* és a *M. leprae*. Az első a tbc-t, míg a második a leprát okozza. Az utóbbi 15 évben az irántuk megnövekvő érdeklődést az ún. opportunista mycobacteriumok által okozott megbetegedések váltották ki, amelyeknek szenvedő alanyai, sok esetben áldozatai a sérült immunrendszerrel rendelkező személyek, főleg AIDS-fertőzöttek, szervátültetésen átesett és immunszuppresszív anyagokkal gyógykezelt betegek.

Közismert a mycobacteriumok ellenálló képessége, amelyet a sejtfalukat körülvevő vastag lipidrétegnek köszönhetnek. A lipidréteg felületén, abba belemerülve, szerospecifitást meghatározó ún. *fenolos glikolipidek*, *glikopeptidolipidek* vagy *lipooligoszacharidok* találhatóak.^{37,38}

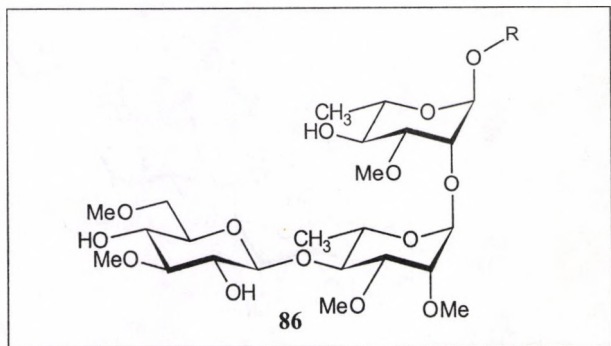


27. ábra. A B-A-B és a B-A-B-A-B tri-(84) és pentaszacharid (85) szerkezete védett formában

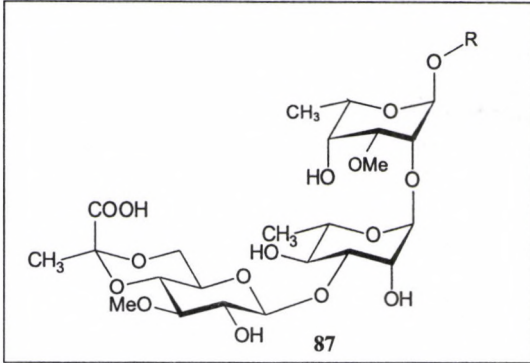
A baktériumfelszín antigének közül elsőként a *M. leprae* fenolos glikolipidjét izolálták³⁹ 1981-ben, ma azonban közel 40 szerovariáns antigénjének szerkezetét ismerjük.

A *M. leprae* esetében a WHO által támogatott program során a triszacharid típusú antigén szintézisére is sor került, amelyet proteinhez konjugálva főleg Bangladesben, Indiában és Etiópiában a *M. leprae* által okozott új fertőzések szűrésére használtak fel.

A viszonylag egyszerű szerkezetű triszacharid szintézisét 5 laboratóriumban végezték el,⁴⁰⁻⁴⁵ 35-37 szintetikus lépéssel nyerték az antigént. Mi egy, az általunk

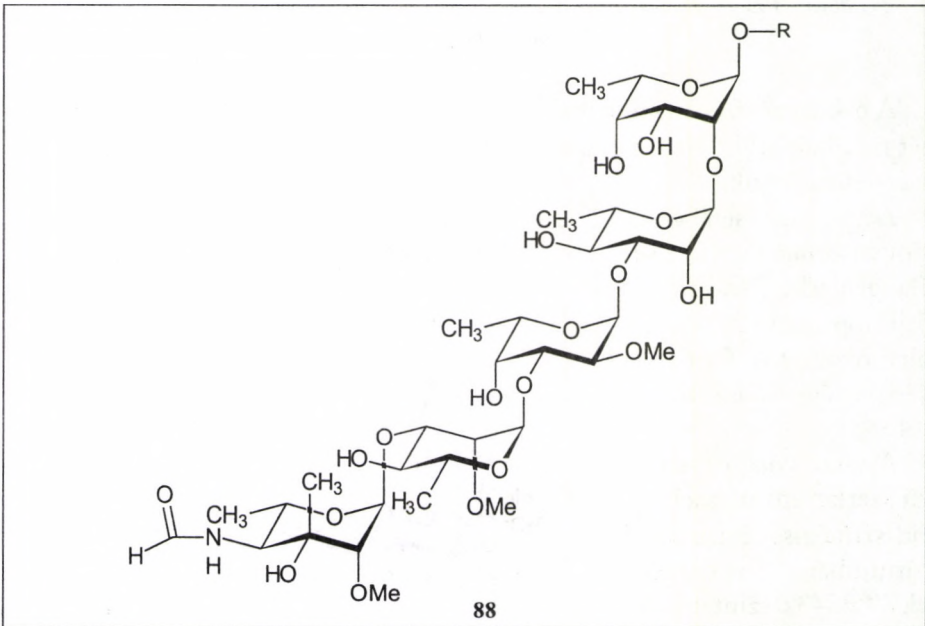


28. ábra. A *M. leprae* antigénjének szerkezete

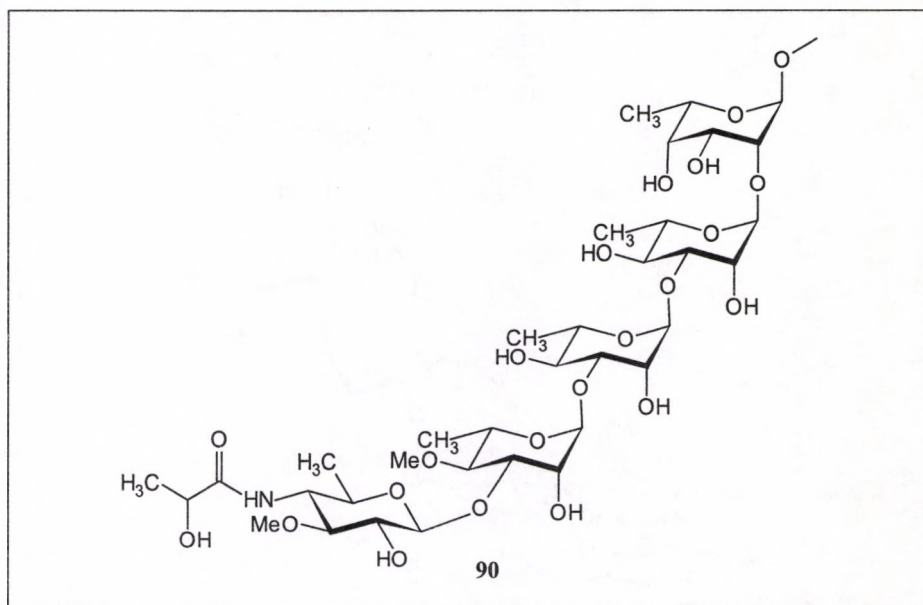


29. ábra. A *M. avium* δ -as szerovariáns triszacharid antigénjének szerkezete⁵⁰

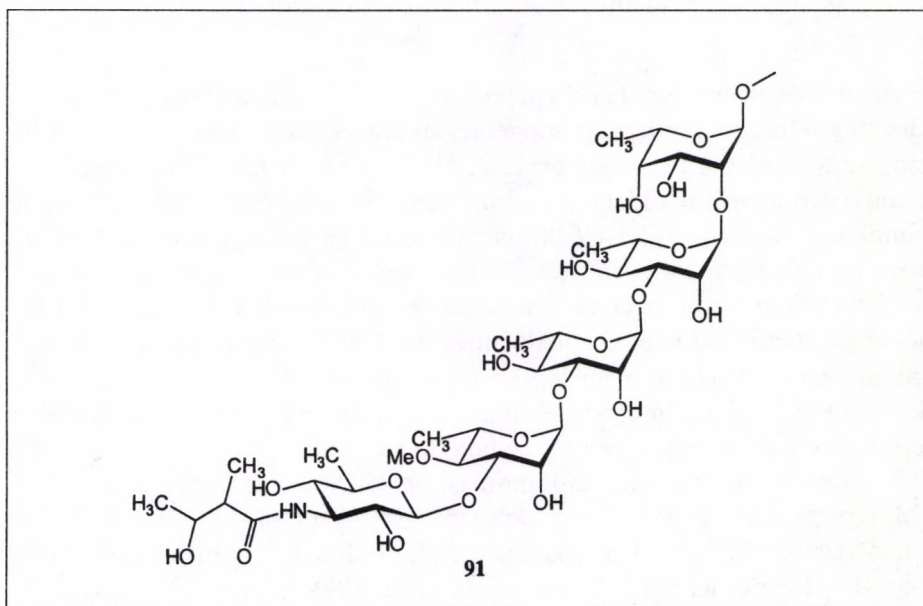
tást is háttérbe szoríthatja. A kémiai érdekességgel és a biológiai csábítással magyarázható, hogy számos mycobacterium antigén szintézisét valósítottuk meg, többet közülük elsőként. Ezen eredményeket csak képletek bemutatásával vonultatjuk fel a szerkezetek összetettségének illusztrálása céljából (29–32. ábra).



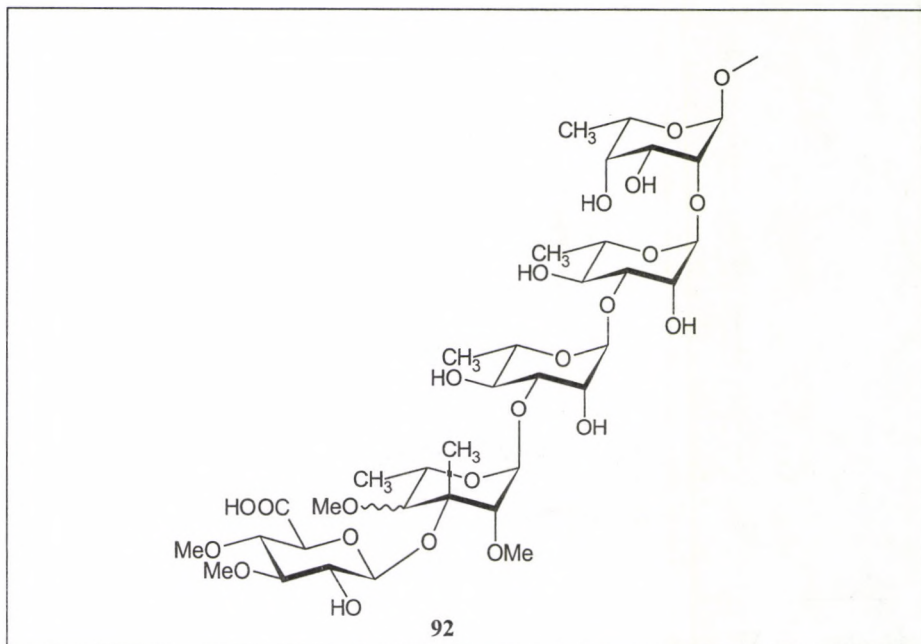
30. ábra. A *M. avium* 14-es szerovariáns pentaszacharid antigénjének szerkezete⁵¹



31. ábra. A *M. avium* 12-es szerovariáns pentaszacharid antigénjének szerkezete



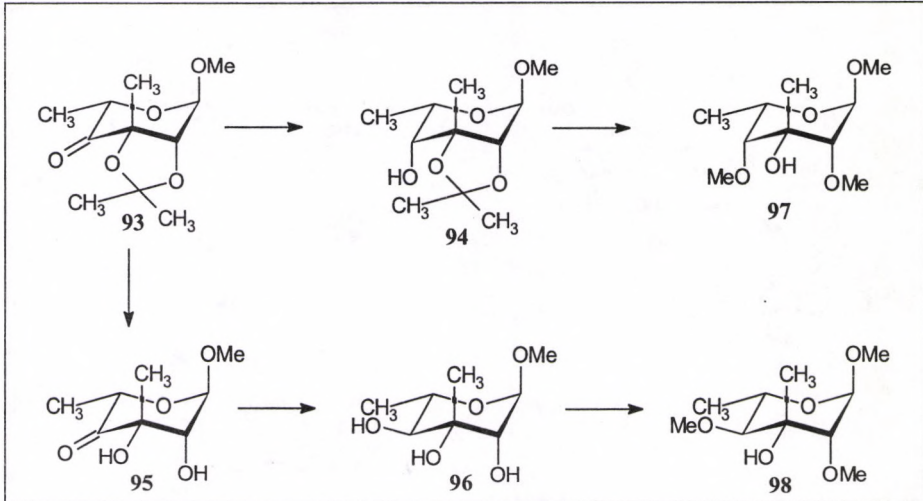
32. ábra. A *M. avium* 17-es szerovariáns pentaszacharid antigénjének szerkezete



33. ábra. A *M. avium* 19-es szerovariáns pentaszacharid antigénjének feltételezett szerkezete

Az utolsónak emítésre kerülő pentaszacharid a *M. avium* 19-es szerovariánsának⁵² különleges szerkezetű antigéne, amelynek szerkezetében a negyedik monoszacharid OCH_3 -4 csoportjának térállása bizonytalan. Szintézisével e bizonytalanságot is feloldani készültünk. Eredeti célkitűzésünk az volt, hogy mindkét pentaszacharidot előállítsuk, és szerológiai vizsgálattal döntjük el, hogy melyik azonos a természetes vegyülettel. Fontos megjegyezni, hogy a szerkezetfelderítéssel foglalkozó amerikai szerzők izolálták a pentaszacharidból levezethető alditot, és közölték ennek $^1\text{H-NMR}$ spektrumát, amelynek az anomer-tartományában megjelenő négy proton közül három csatolási állandója 1,5 Hz körül van, míg egynek 10,5 Hz az értéke, az utóbbi egyértelműen a terminális uronsav egységhez rendelhető (33. ábra).

Korábbi szintéziseinknél is kiindulási vegyületként szereplő 4-ulozidot²⁴ (93) terveztük a negyedik monoszacharid-egység két C-4 epimerjének előállítására felhasználni. A 93 redukciója a legkülönbözőbb redukálószerrel a 4-axiális izomerhez, az *L-talo*-vegyülethez (94) vezetett. A nagyfokú sztereoselektivitás a hidrid anionnak a legkevésbé gátolt α -L oldalról történő támadásával értelmezhető. Az *L-ramno* izomert (96) az ulóz (93) izopropilidén



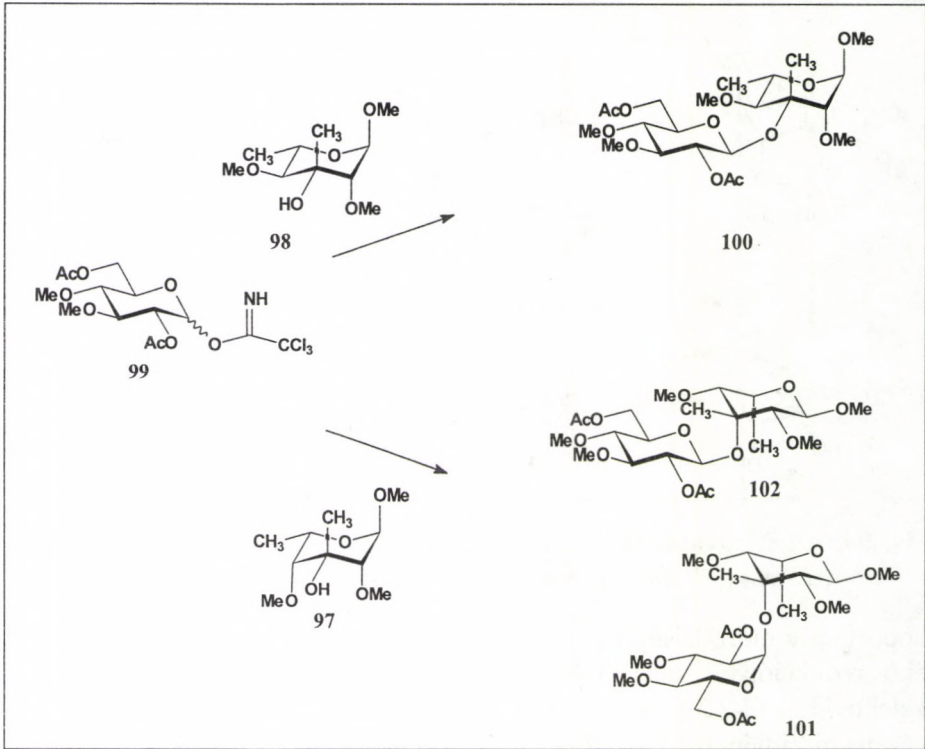
34. ábra. A *M. avium* 19-es szerovariáns pentaszacharid antigénjében feltételezett α -L-talo-(**97**), ill. α -L-ramno-(**98**) szerkezetű aglikonok szintézise

csoportjának hidrolízisével nyerhető vegyület (**95**) triacetoxibórhidriddel történő redukciójával sikerült kvantitatív hozammal nyerni. Ez a sztereoselektivitás a C-2,3 hidroxilcsoportjainak komplexképző tulajdonságával és a reagens hidridjének β -L oldalról való támadásával magyarázható.^{53,54}

A **94** és **96** vegyületeket hagyományos reakciósorokon keresztül alakítottuk 2,4-di-O-metil-éterekké (**97** és **98**) (34. ábra).

Mindkét 2,4-di-O-metil-éter (**97** és **98**) ${}^4C^1$ (L) konformációban létezik. Ezeket 2,6-di-O-acetil-3,4-di-O-metil- α , β -D-glükopiranozil triklóracetimidáttal (**99**) glikozileztük. Az L-ramno-izomer (**98**) glikozilezésénél csak egyetlen anomert (**100**) nyertünk, amely β -glükopiranozidnak bizonyult, s a ${}^3J_{1,2} = 1,5$ Hz csatolási állandója a redukáló vég változatlan ${}^4C^1$ (L) konfigurációját erősíti meg.

Teljesen ellentétes kép adódott a **97** és az imidát (**99**) kapcsolása esetén. Először is két termék képződött, ezek az interglikozidos kötés vonatkozásában α -(**101**), ill. β -anomereknek (**102**) bizonyultak. A meglepő észlelés azonban az volt, hogy az aglikonként szereplő talo-származék 4C_1 (L) konformációba ment át, s ez az átmenet igen kifejezetten tükröződött a termékek 1H -NMR spektrumaiban, ugyanis a ${}^3J_{1,2}$ 4 Hz csatolási állandóval jelentkezett, a kiindulási 1,5 Hz-es csatolási állandóval szemben, így a β -interglikozidos kötés ~ 8 Hz-es kapcsolási állandója mellett egy másik viszonylag nagy csatolási állandó jelentkezett. Ez a tény azt sugallta, hogy ezen utóbbi talo-komponens nem lehet a



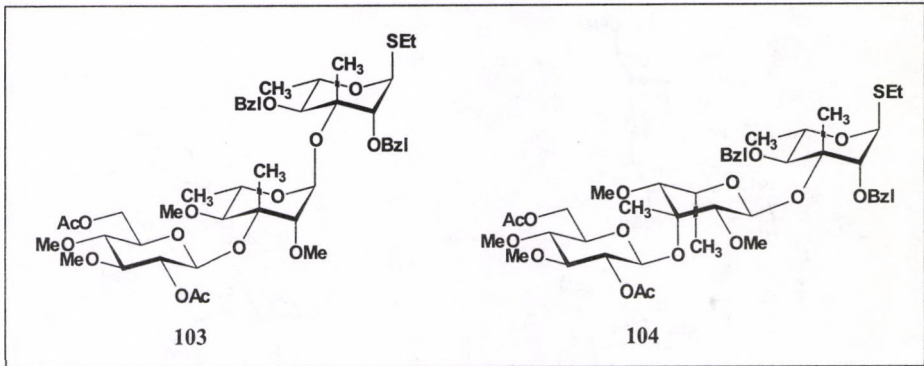
35. ábra. A *M. avium* 19-es szerovariáns pentaszacharid terminális diszacharidjainak (100 és 102) szintézise

természetes pentaszacharidban, ugyanis ott egyetlen nagy csatolási állandó szerepelt, s az a terminális glükuronid egységhez volt rendelhető.

Ezen utóbbi glikozilezési reakcióban jelentkező α/β -anomerkeverék és az aglikon konformációváltása, csak a *talo*-származék sztérikus zsúfoltságával magyarázható (35. ábra).

Annak bizonyítására, hogy a 2,4-di-O-metil-*talo* származék abban az esetben is megtartja a ${}^4C_1-L$ konformációját, ha a pentaszacharid terminális triszacharid egységében foglal helyet, a két diszacharid-származékot (100 és 102) uroniddá történő transzformációja után glikozil donorrá alakítottuk és triszacharidokká kapcsoltuk etil 2,4-di-O-benzil-1-tio- α -L-ramnopiranozidot használva aglikonként.

A dimetil-*ramno*-egységet tartalmazó triszacharid (103) 1H -NMR spektrumában egy nagycsatolású anomer szignál mellett, két kiscsatolású anomer jelet találtunk, összhangban a természetes pentaszacharidból izolált alditol anomer



36. ábra. Terminális triszacharidok szerkezete

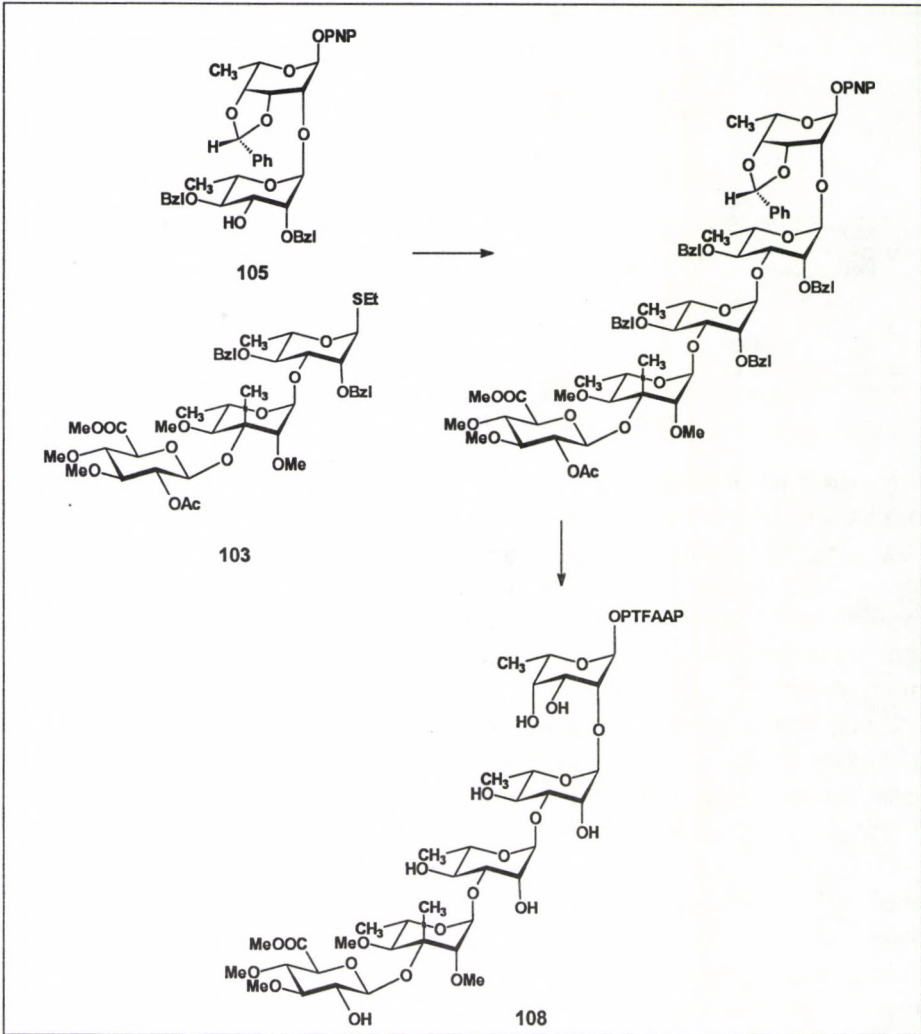
tartományának jelöszetével. Ezzel szemben a dimetil-*talo*-egységet tartalmazó triszacharid (**104**) $^1\text{H-NMR}$ spektruma anomertartományában mindössze egyetlen 1,5 Hz nagyságú szignált találtunk, ami a redukálóegység *ramno* egységéhez volt rendelhető. Azaz, amit már a diszacharidok szerkezetvizsgálattal valószínűsíthettünk, nevezetesen, hogy a természetes pentaszacharidban nem lehet 2,4-di-*O*-metil-*talo* építőelem, az triszacharid-szinten egyértelműen igazolódott (36. ábra).

E vizsgálatok alapján a **103**-as triszacharidot egy diszacharid aglikonnal⁵⁵ (**105**) kapcsoltuk, majd a védőcsoportok eltávolítása, ill. az aromás aglikon átalakítása után a hídmolekulával (spacer) ellátott pentaszacharid származékot (**108**) kaptuk (37. ábra).

Székfoglaló előadásom célja az volt, hogy részleteket villantson fel azokról a rendkívül sokrétű és részleteiben igen bonyolult biológiai felismerési folyamatokról, amelyekben a szénhidrátok szerepének felderítése napjainkban folyik. A szintetikus szénhidrátkémia igen gazdag szintetikus arsenáljának eszközeivel kíván hozzájárulni a különböző tudományágak képviselőinek együttes erőfeszítéséhez. Néhány szerény eredményünkkel talán nekünk is lehetőségünk nyílt arra, hogy a folyamatot felgyorsíthassuk, e tudományos kaland aktív résztvevői lehessünk.

Köszönetnyilvánítás

A kísérletes tudományok területén ma már csak harmonikusan együttműködő csoportok tudnak a siker reményében kutatásokat folytatni és eredményeket elérni. Így volt ez esetemben is. Megkülönböztetett tisztelettel köszönöm tanítómestereim, néhai dr. Bognár Rezső akadémikus úrnak és dr. Nánási Pál



37. ábra. A *M. avium* 19-es szerovariáns pentaszacharid antigénjének szerkezete

professzor úrnak önzetlen segítségét és támogatását. Ugyancsak hálásan köszönöm közvetlen munkatársaim lelkesedését és erőfeszítését, akiknek neve közleményeink szerzői között feltüntetésre került.

Az igen költséges kutatásokat támogatta a *Magyar Tudományos Akadémia*, az *OTKA*, az *MKM* és az *OMFB*. Külföldi támogatóim közül hálásan köszönöm a *Howard Hughes Medical Institute* (USA), a *Mizutani Alapítvány* (Japán) és a *Volkswagen Alapítvány* (Németország) anyagi segítségét.

Irodalom

1. Landsteiner, K.: *Zentr. Bakteriolog.*, 27 (1900) 357.
2. Pusztai, A., Morgan, T. J.: *Nature*, 182 (1958) 648.
3. Rademacher, T. W., Parekh, R. B. Dwek, R. A.: *Ann. Rev. Biochem.*, 57 (1998) 785.
4. Lasky, L. A.: *Science*, 258 (1992) 964.
5. Blithe, D. L.: *Trends in Glycoscience & Glycotechnol.*, 5 (1993) 81.
6. Schmidt, R. R.: *Angew. Chem.*, 98 (1986) 213.
7. Greenberger, N. J., Toskes, P. P.: Disorders of the Pancreas, *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 12th ed., Vol. 2, New York, McGraw-Hill, 1991 1369.
8. Kaufman, R. A., Dunka, L. J. Hall, L. M.: *Clin. Chem.*, 26 (1980) 1018.
9. Henkel, E., Morich, S Henkel, R.: *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, 22 (1984) 489.
10. Farkas, E., Jánosy, L., Harangi, J., Kandra, L., Lipták, A.: *Carbohydr. Res.*, 303 (1997) 407.
11. Kandra, L., Gyémánt, Gy., Farkas, E., Lipták, A.: *Carbohydr. Res.*, 298 (1997) 237.
12. Marr, A. M. S., Donald, A. S. R., Morgan, W. T. J.: *Biochem. J.*, 110 (1968) 789.
13. Yang, H., Hakomori, S.: *J. Biol. Chem.*, 246 (1971) 1192.
14. Rauvala, H.: *J. Biol. Chem.*, 251 (1976) 7517.
15. Hanisch, F., Uhlenbruck, G., Dienst, C.: *Eur. J. Biochem.*, 144 (1984) 467.
16. Fukuda, M.: *Biochem. Biophys. Acta*, 780 (1985) 119.
17. Holmes, E. H., Ostrander, G. K., Hakomori, S.: *J. Biol. Chem.*, 261 (1986) 3737.
18. Philips, M. L., Nudelman, E., Gaeta, F. C. A., Perez, M., Singhal, A. K., Hakomori, S., Paulson, J. C.: *Science*, 250 (1990) 1130.
19. Goelz, S. E.: *TIGG*, 4 (1992) 14.
20. Mulligan, M. S., Paulson, J. C., DeFrees, S., Zheng, Z. L., Lowe, J. B., Ward, P. A.: *Nature*, 364 (1993) 149.
21. Uchiyama, T., Woltering, T. J., Wong, W., Lin, C.C., Kajimoto, T., Takebayashi, M., Weitz-Schmidt, G., Asakura, T., Noda, M., Wong, C. H.: *Bioorg. Med. Chem.*, 4 (1996) 1149.
22. Prodder, J. C., Bamford, M. J., Bird, M. I., Gore, P. M., Holmes, D. S., Priest, R., Saez, V.: *Bioorg. Med. Chem.*, 4 (1996) 793.
23. Wong, C. H., Moris-Varas, F., Hung, S. C., Marron, J. G., Lin, C. C., Gong K.W., Weitz-Schmidt, G.: *J. Am. Chem. Soc.*, 119 (1997) 8152.
24. Klemer, A., Beermann, H.: *J. Carbohydr. Chem.*, 2 (1983) 457.
25. Wadsworth, W. S., Emmons, W. D.: *J. Am. Chem. Soc.*, 83 (1961) 1733.
26. Albersheim, P., Valent, B. S.: *Cell. Biol.*, 78 (1978) 627.
27. Lipták, A., Fügedi, P., Kerékgyártó, J., Nánási, P.: *Carbohydr. Res.*, 113 (1983) 225.
28. Barili, P. L., Berti, G., Catelani, G., Colonna, F., Marra, A.: *Tetrahedron Lett.*, 27 (1986) 2307.
29. Lipták, A., Jánosy, L.: Abstracts – *eurocarb*₉ – Utrecht (1997) A 62, 142.
30. Timmers, C. M., Wigchert, C. M., Leeuwenburgh, M. A., van der Marel, G. A., van Boom, J. H.: *Eur. J. Org. Chem.*, (1998) 91.
31. Jennings, H. J.: *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 150 (1990) 97.
32. Zähringer, U., Lindner, B. Rietschel, E. Th.: *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, 50 (1994) 211.
33. Mitchell, T. J., Andrew, P. W.: *Molecular and clinical aspects of bacterial vaccine development* (Eds.: Ala'alden, D. A. A., Hormaeche, C. E.) John Wiley & Sons, 1995. 93.

34. Kontrohr, T.: *Carbohydr. Res.*, 58 (1977) 498.
35. Batta, Gy., Lipták, A., Schneerson, R. Pozsgay, V.: *Carbohydr. Res.*, 305 (1998) 93.
36. Medgyes, A., Farkas, E., Lipták, A. Pozsgay, V.: *Tetrahedron*, 53 (1997) 4159.
37. Lipták A., Borbás, A., Bajza, I.: *Med. Res. Rev.*, 14 (1994) 307.
38. Aspinall, G. O., Chatterjee, D., Brennan, P. J.: *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, 61 (1995) 169.
39. Hunter, S. W., Brennan, P. J.: *J. Bacteriol.*, 147 (1981) 728.
40. Fujiwara, T., Hunter, S. W., Cho, S.-N., Aspinall, G. O., Brennan, P. J.: *Infect. Immun.*, 43 (1984) 245.
41. Gigg, J., Gigg, R., Payne, S., Conant, R.: *Chem. Phys. Lipids*, 35 (1985) 299.
42. Fujiwara, T., Aspinall, G. O., Hunter, S. W., Brennan, P. J.: *Carbohydr. Res.*, 163 (1987) 41.
43. Fujiwara, T., Izumi, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 51 (1987) 2539.
44. Chatterjee, D., Cho, S.-N., Stewart, C., Douglas, J. T., Fujiwara, T., Brennan, P. J.: *Carbohydr. Res.*, 183 (1988) 241.
45. Marino-Albernas, J., Verez-Bencomo, V., Gonzalez-Rodriguez, L., Perez-Martinez, C. S., Gonzalez-Abreu Castell, E Gonzalez-Segredo, A.: *Carbohydr. Res.* 183 (1988) 175.
46. Borbás, A., Lipták, A.: *Carbohydr. Res.*, 241 (1993) 99.
47. Hajkó, J., Borbás, A., Lipták, A., Kajtár-Peredy, M.: *Carbohydr. Res.*, 216 (1991) 413.
48. Borbás, A., Hajkó, J., Kajtár-Peredy, M., Lipták, A.: *J. Carbohydr. Chem.*, 12 (1993) 191.
49. Lipták, A.: *Magyar Kémikusok Lapja*, 48 (1993) 229.
50. Bajza, I., Kerékgyártó, J., Hajkó, J., Szilágyi, L., Lipták, A.: *Carbohydr. Res.*, 253 (1994) 111.
51. Bajza, I., Kövér, K. E., Lipták, A.: *Carbohydr. Res.*, 308 (1998) 247.
52. Chatterjee, D., Bozic, C., Aspinall, G. O., Brennan, P. J.: *J. Biol. Chem.*, 263 (1988) 4092.
53. Bajza, I., Borbás, A., Hajkó, J., Lagas, R., Szabovik, G., Varga, Zs., Lipták, A.: *Magyar Kémikusok Lapja*, 51 (1996) 464.
54. Gyergyói, K., Tóth, A., Bajza, I., Lipták, A.: *Synlett*, (1998) 127.
55. Kerékgyártó, J., Szurmai, Z., Lipták, A.: *Carbohydr. Res.*, 245 (1993) 65.