

## Szakmai Zárójelentés

### Baktériumok és glikoprotein antennák mannózt tartalmazó oligoszacharidjainak szintézise

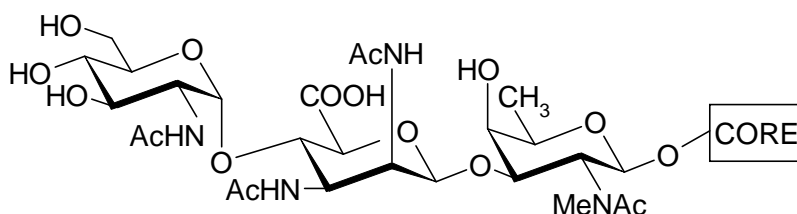
1.  $\beta$ -Mannozidos kötést tartalmazó bakteriális oligoszacharidok szintézise
  - 1.1. Egy, a *Bordetella pertussis* sejt falában lévő különleges építőelem szintézise
  - 1.2. Salmonella baktériumokban előforduló oligoszacharidok előállítása
  - 1.3. Neoglikoproteinek preparálása
2. Oligo-mannóz típusú *N*-glikoprotein antennák komponenseinek előállítása
  - 2.1.  $\beta$ -Mannozidok előállítása
  - 2.2. A core pentaszacharid szintézise glikozil-azid formájában
  - 2.3. Mannozilezési reakciók vizsgálata

#### 1. $\beta$ -Mannozidos kötést tartalmazó bakteriális oligoszacharidok szintézise

##### 1.1. Egy, a *Bordetella pertussis* sejt falában lévő különleges építőelem szintézise

A *Bordetella pertussis* sejt falában lévő terminális triszacharid szerkezete

A bakteriális oligoszacharidok, neoglikoproteinek (mesterséges bakteriális antigének) előállítása már több évtizedes múltra tekint vissza a szénhidrátkémiában. Az ilyen jellegű munkák végcélja a vakcinálás, fertőző betegségek megelőzése. A vakcinálással kapcsolatos kutatásokat az életminőség javítása céljából a világ egyre nagyobb részén kiemelten kezelik. A Gram-negatív baktériumok sejt falának külső membránjához a lipopoliszacharid kapcsolódik, mely a lipid A-t és egy poliszacharid komponenst tartalmaz. Utóbbi a „core” régióból és az O-specifikus oldallánc ismétlődő oligoszacharid egységeiből áll. A *Bordetella pertussis* (a szamárköhögés kórokozója) ismétlődő egységei helyett egyetlen, az **1. ábrán** látható, különleges szerkezetű triszacharid áll.

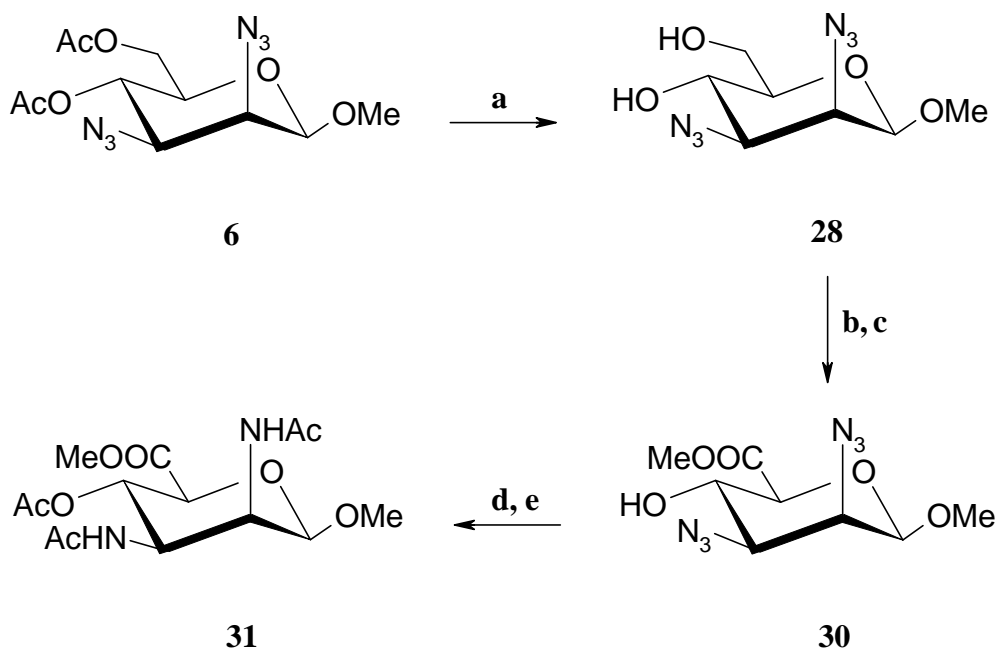


**1. ábra** A *Bordetella pertussis* lipopoliszacharidjának terminális triszacharid egysége

E triszacharid két különleges építőelemet is tartalmaz. A redukáló végen lévő fukóz származékot francia kollégák már előállították. Feladatunk volt a másik ritka bakteriális építőelem, a 2,3-diacetamido-2,3-didezoxi-D-mannuronsav preparálása  $\beta$ -glikozid formájában. Ez utóbbi még manapság is a szénhidrátkémia legnehezebb feladatai közé tartozik.

Mannuronsav származékok előállítása:

A célvegyületet retroszintetikus terv alapján kívántuk előállítani. A mannuronsavak szintézisét a 2,3-diazido-2,3-didezoxi- $\beta$ -D-mannopiranozidokból szeretnénk volna megvalósítani. Ez utóbbiakat korábbi pályázatok támogatásával sikeresen preparáltuk (*Organic Letters*, **2**, 2000, 1839-1842.) A diazido vegyületekből kiindulva a mannuronsavak előállítására két út kínálkozott: 1) Először kialakítjuk a karboxil csoportot, majd az azido funkciók redukciója és *N*-acetilezése következik; 2) Az acetamido csoportok kialakítása után oxidáljuk a primer alkoholos OH csoportot. Először az 1) pontban leírt változatot kíséreltük meg.



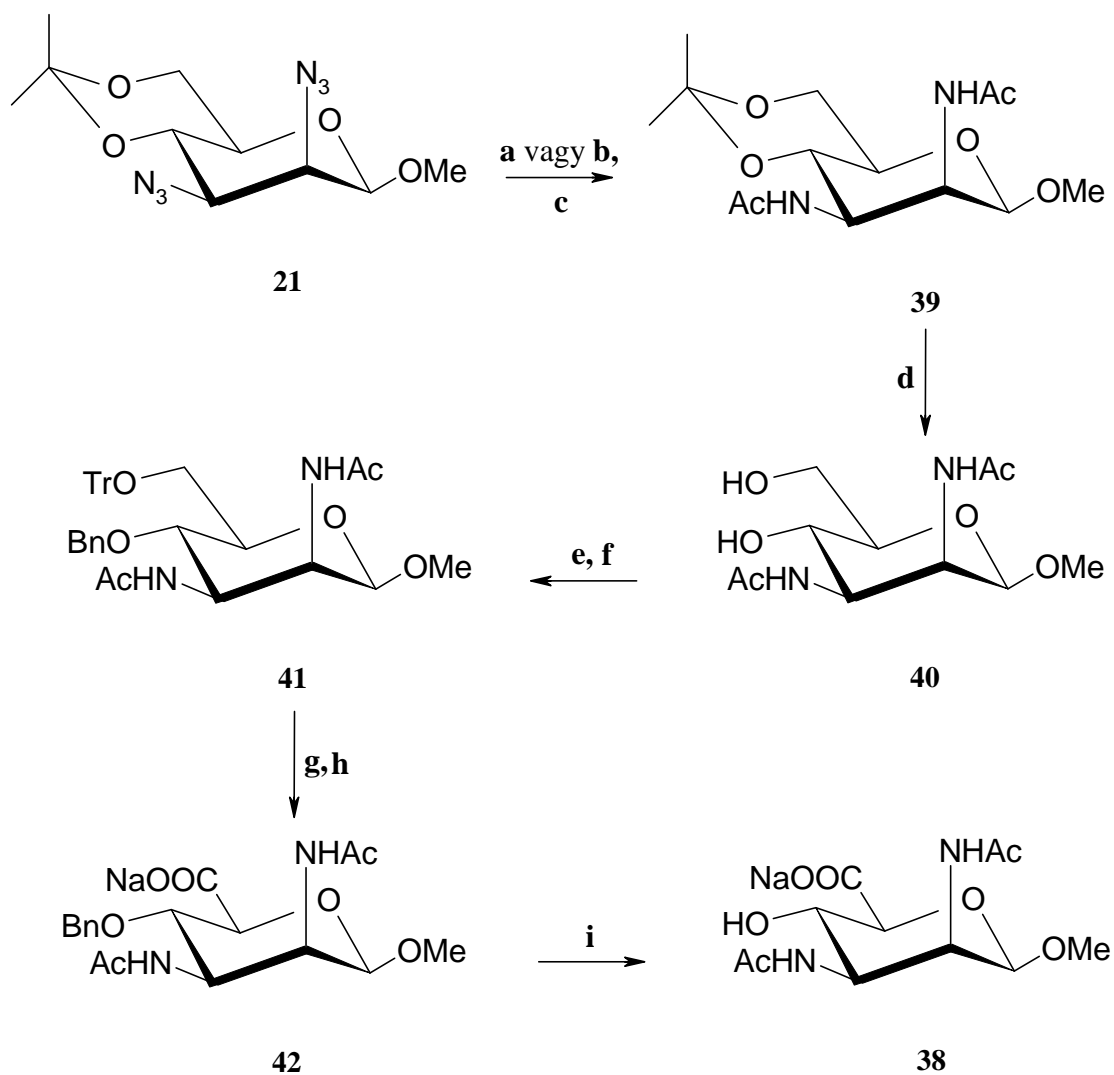
a) NaOMe, MeOH; b) TEMPO, NaOCl; c) Bu<sub>4</sub>NBr, MeI, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O;

d) Pd-hidroxid, H<sub>2</sub>; e) MeOH, Ac<sub>2</sub>O

**2. ábra** Mannuronsav vegyületek előállítása



Kieselgel oszlopon tisztítottuk (**3. ábra**). Az NMR felvételek igazolták, hogy sikerült a (**38**) célvegyületet előállítani.



**a)** PdC, H<sub>2</sub>; **b)** 1,3-Propán-ditiol; **c)** Piridin, Ac<sub>2</sub>O; **d)** 60% AcOH; **e)** Piridin, TrCl;  
**f)** BaO, Ba(OH)<sub>2</sub>, BnBr; **g)** CrO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Aceton; **h)** NaOH; **i)** PdC, H<sub>2</sub>

**4. ábra** A célvegyület szintézise egy másik úton

Ezután megpróbáltunk a másik reakcióúton is a **38** uronsavhoz eljutni (**4. ábra**). A **21** diazido származékot PdC jelenlétében hidrogénezéssel és 1,3-propán-ditiollal is sikeresen redukáltuk, majd piridin ecetsav-anhidriddel 2,3-diacetamido vegyületté (**39**) alakítottuk. A szerkezetigazolásban az NMR spektrumok újra nagyon informatívak voltak. A **39** vegyület acetál védőcsoportját enyhe savas hidrolízissel távolítottuk el és nyertük a metil-2,3-diacetamido-2,3-didezoxi- $\beta$ -D-mannopiranozidot (**40**). Sajnos, TEMPO oxidációval nem sikerült célhoz érni, ezért megint a *Jones* oxidációt terveztük. Tritilezést követően a 4-OH-t benzil csoporttal védjük ( $\rightarrow$ **41**). A körülmények megválasztásával ügyelni kellett arra, hogy lehetőleg *N*-benzilezés ne történjen. A **41** NMR spektrumai ezt igazolták is, különösen az  $^1\text{H}$  felvétel, ahol az NH dublettek jól láthatók. *Jones* oxidáció után a nyersterméket nátrium-uronáttá alakítottuk és Kieselgél oszlopon tisztítottuk. A spektrális adatok jó egyezésben voltak a remélt szerkezettel. A **42** 4-benzil éter katalitikus hidrogénezése után az uronátot oszlopon tisztítottuk. A végtermék ( $\rightarrow$ **38**) fizikai állandói és spektrumai megegyeztek az előző úton előállított anyagéval.

A kidolgozott reakcióutak reményt adnak arra nézve, hogy a 2,3-diacetamido-2,3-didezoxi-D-mannuronsavat oligoszacharidokba építve is elő tudjuk állítani  $\beta$ -glikozidok formájában.

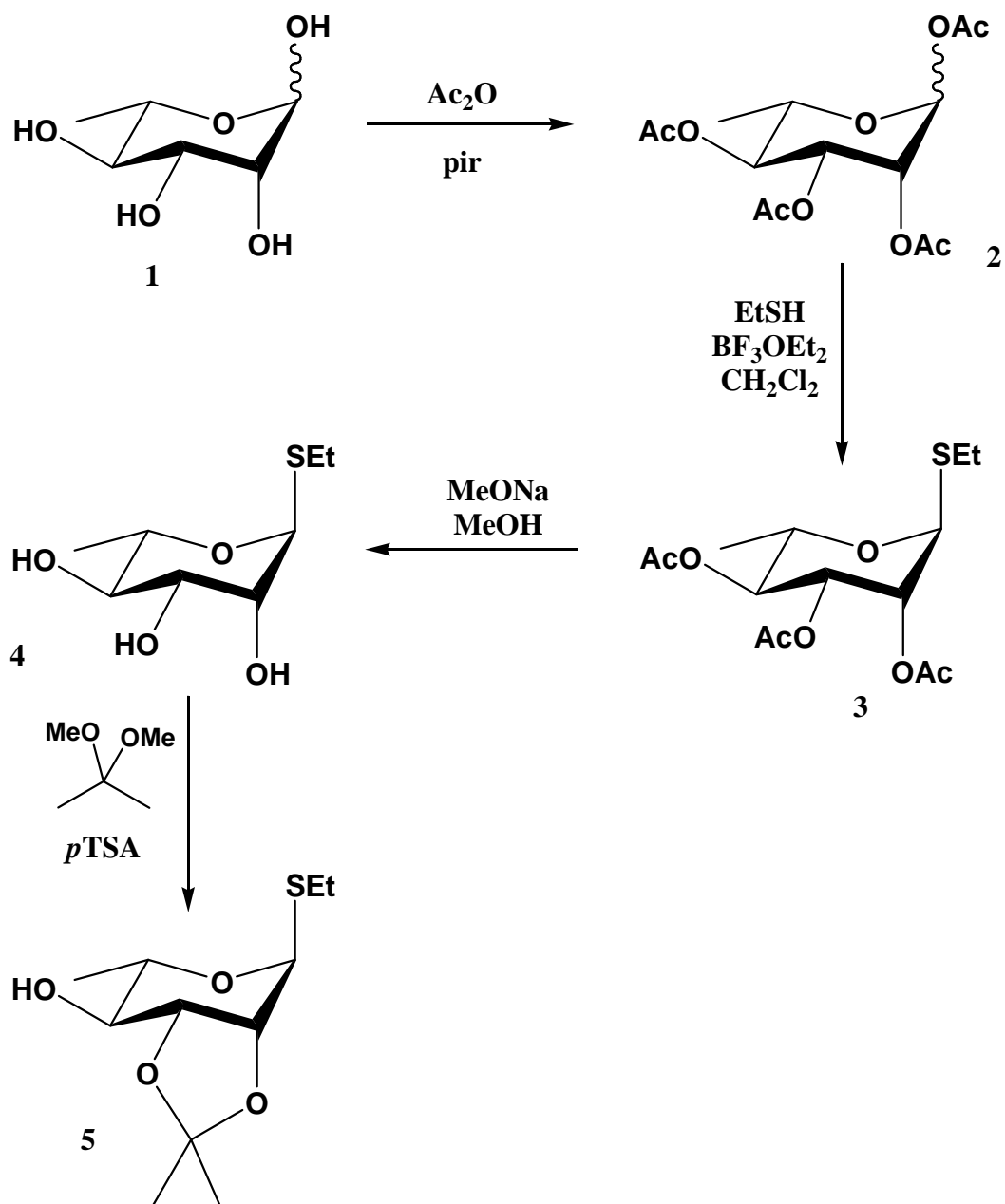
## 1.2. Salmonella baktériumokban előforduló oligoszacharidok előállítása

A Gram-negatív baktériumok közé tartozó Salmonellák szerotípusai abban térnek el egymástól, hogy a lipopoliszacharidjukban lévő O-specifikus oldallánc ismétlődő oligoszacharid egységei különböznek. A legtöbb species tartalmazza a következő lineáris szakaszt:



A mannóz és ramnóz  $\alpha$  és  $\beta$  anomerkonfigurációjú lehet, továbbá a mannóz és galaktóz egységen legtöbbször elágazásokat találunk. A hetvenes években számos ilyen oligoszacharidot szintetizáltunk. A szintetikus oligoszacharidokból készíthető diagnosztikumok, vakcinák manapság világszerte újra más elbírálás alá esnek, ezért modern szintézismódszerek bevetésével ismételten előállítottunk néhány építőelemet, melyek alkalmasak hídmolekulával ellátott "Salmonellás" oligoszacharid, majd neoglikoprotein előállítására.

A Salmonellákban a  $\beta$ -D-Manp-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -L-Rhap és az  $\alpha$ -D-Manp-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -L-Rhap diszacharid építőelemek is előfordulnak. Ezek preparálásához előállítottuk az etil-2,3-*O*-izopropilidén-1-tio- $\alpha$ -L-ramnopiranozidot (ld. **5. ábra**), mely ideális glikozil akceptor mannozilezési reakciókban. A megfelelő ortoészteren keresztül preparáltuk a 2-*O*-acetyl-3,4,6-tri-*O*-benzil- $\alpha$ -D-glükopiranozil-bromidot, mely kapcsolat után az "oxidáció-redukció" módszerrel  $\beta$ -mannozidot adott. A ramnóz egység acetyl csoportját észterre cserélve biztosítottuk a diszacharid blokkal történő glikozilezés tökéletes  $\alpha$  szelektivitását. A hídmolekulával (spacer-rel) ellátott, szelektíven védett galaktopiranozidot az általunk már korábban kidolgozott reakcióúton preparáltuk, majd a diszacharid tio-glikozidokkal reagáltatva nyertük a triszacharid ismétlődő egységet. A másik diszacharid blokkot szelektíven védett glükóz hatos helyzetéhez kapcsoltuk. A védőcsoportok eltávolítása után a glükóz szolgál majd spacerként a redukív aminálás módszer segítségével. A szénhidráttartalom meghatározását MALDI-TOF tömegspektrometriával végezzük el (ld. a következő fejezetben).



**5. ábra** Az etil-2,3-*O*-izopropilidén-1-tio- $\alpha$ -L-ramnopiranozid szintézise

L-Ramnózt acetileztünk, majd a peracetátot Lewis-sav ( $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$ ) katalizálta reakcióban etántiollal reagáltattuk száraz diklór-metánban argon atmoszférában. Ezután az acetil csoportokat Zemplén dezacilezéssel távolítottuk el. Aceton-dimetilacetállal *p*-toluolszulfonsav katalizátor jelenlétében izopropilidén csoportot alakítottunk ki. Oszlopkromatográfia segítségével izoláltuk az etil-2,3-*O*-izopropilidén-1-tio- $\alpha$ -L-ramnopiranozidot (**5**), mely a további szintézisek kulcsvegyülete volt.

### 1. 3. Neoglikoproteinek preparálása

A Debreceni Egyetem TTK Biokémiai Tanszékén az elmúlt harminc évben számos bakteriális oligoszacharid szintézisét valósították meg. Ezek előállításának akkor van igazán értelme, ha az időigényes, komoly szakértelmet kívánó szintetikus munka után a terméket biológiai vizsgálatokhoz is felhasználják. Immunológiai szempontból az oligoszacharidok haptének, de makromolekuláris hordozóhoz kapcsolva antigénként funkcionálnak. A szintetikus oligoszacharidokból neoglikoproteinek, azaz "mesterséges bakteriális antigének" preparálhatók. Célunk az volt, hogy az irodalomból ismert módszerek áttekintése után olyan hídmolekulákat alkalmazzunk, melyek a Tanszéken rendelkezésre álló eszközökkel előállíthatók, valamint a neoglikoprotein szénhidráttartalma gyorsan és pontosan meghatározható legyen.

A neoglikoproteinek (neoantigének) előállításának nehézségét az adja, hogy a szénhidrát és a hordozó közé hídmolekulát (spacer-t) kell beiktatni. Az oligoszacharidok kémiai szintézise még manapság is bonyolult feladat, ráadásul már a szintézis tervezésekor gondolni kell a megfelelő hídmolekula kiválasztására, mely segítségével enyhe reakciókörülmények között, az oligoszacharid és a hordozó bomlása nélkül lehet a neoglikoproteinhez jutni. A neoglikoproteinek preparálása szempontjából célszerű egyszerű, olcsó modellvegyületeken kidolgozni azokat az eljárásokat, melyeket a sokkal drágább szintetikus oligoszacharidokon is alkalmazni fogunk.

Munkánk során modellvegyületeket használtunk, illetve néhány esetben a Tanszék szintetikus csoportja által már előállított oligoszacharidot is hordozóhoz kötöttünk. Hordozóként kizárólag borjú szérum albumint (BSA) használtunk, melynek szabad aminos csoportjait "céloztuk meg" a hídmolekula végén lévő funkciós csoporttal. A szénhidrátot minden esetben stabilis glikozidként hordozta a hídmolekula. A kísérleteinkben felhasznált glikozidokat a spacer végén lévő reaktív csoport minősége szerint három osztályba sorolhatjuk:

1) Karboxil-csoport, mely savamid kötést létesít az aminokkal. 2) Izotio-cianát, mely az aminokkal szubsztituált tio-karbamid származékot ad. 3) Aldehid, mely Schiff-bázist ad vizes közegben az aminokkal. Redukció után alkilezett aminhoz jutunk.

Valamennyi esetben a szénhidrát és a hordozó között a hídmolekula segítségével stabilis kovalens kötést alakítottunk ki, így nem kell attól tartani, hogy a biológiai kísérletek során az előállított neoglikoprotein szerkezete megváltozna.



### ***Savamid kötés kialakítása***

A hídmolekulából és a szénhidrátból kialakított glikozid a spacer végén szabad karboxil-csoportot, metoxi-karbonil-csoportot (tehát karbonsav metil-észtert), vagy aminos csoportot tartalmaz. Korábban számos ilyen típusú vegyületet állítottunk elő a Tanszéken és néhányat neoglikoproteinné alakítottunk. Ezek közül két glikozidot vizsgáltunk MALDI-TOF tömegspektrometriával. A szénhidrát-tartalom (8.1% és 0.7%) igen jó egyezésben volt a korábban a fenol-kénsavas módszerrel meghatározott értékekkel.

Sajnos, a DMF-ban készült konjugátumok vízben rosszul oldódtak, így hasonló módszerrel végrehajtott kísérleteket a továbbiakban nem tervezünk.

### ***Tiokarbamid kötés kialakítása***

A neoglikoproteinek előállításának igen gyakran alkalmazott módja a tiokarbamid kötés kialakítása. A szénhidrát *p*-nitro-fenil-glikozidját redukálják, a keletkező aminot izotiocianáttá alakítják, ezt pedig vizes közegben a fehérje szabad aminos csoportjaival reagáltatják. Ilyenkor diszubsztituált tiokarbamid vegyületek keletkeznek.

A Biokémiai Tanszék szintetikus csoportja korábban előállított néhány, a *Mycobacterium avium* 8-as szerovariáns sejtfalában található oligoszacharidot *p*-nitro-fenil-glikozidként. Izotiocianáttá alakítás után az anyagokat híg nátrium-hidroxid oldatban (pH 8.0) kapcsoltuk a BSA-hoz. A reakcióelegyből a kis molekulatömegű szennyezéseket dialízissel távolítottuk el, majd liofilezéssel fehér habszerű anyagokhoz jutottunk. A mintákat MALDI-TOF tömegspektrometriával vizsgáltuk. Ilyen körülmények között tíznél több szénhidrát egység vihető fel a fehérjére. A reakcióidő növelésével (2 nap→10 nap) pedig jelentősen emelhető a cukortartalom.

A tiokarbamid kötéssel rendelkező neoglikoproteinekkal igen jó eredményeket értünk el, szinte tetszőleges mennyiségű szénhidrát vihető fel a hordozóra, azonban a hídmolekula aromás csoportja erősen immunogén.

### ***Reduktív alkilezés***

A neoglikoproteinek előállításának egyik legkíméletesebb módja a reduktív alkilezés. Ehhez olyan hídmolekulára van szükség, mely karbonil-csoportot tartalmaz a lánc végén. A megfelelő aldehidek előállítása azonban sokszor problematikus. Kivéve, ha egy oligoszacharidban "feláldozzuk" a redukáló véget.

Cellobióz felhasználásával glükózt vittünk fel BSA-ra. Az adott körülmények között tehát a redukáló diszacharid egyik glükóz egységéből alakul ki a hídmolekula. A BSA-t és cellobiózt borát-pufferben oldottuk. Több részletben nátrium-ciano-borohidridet adtunk hozzá. 8 nap után dializáltuk 3-4 órán át. A dializált oldatot liofilizáltuk és egy laza habszerű

anyagot kaptunk, melynek szénhidrát-tartalmát MALDI-TOF tömegspektrometriával határoztuk meg. Kipróbáltuk, hogy a cellobióz és a nátrium-ciano-borohidrid mennyiségét növelve tudjuk-e növelni a BSA-ra felkötődött szénhidrát mennyiségét. A cellobióz mennyiségének növelésével sikerült a glükóz tartalmat növelni. Nagyon nagy szénhidrát felesleggel azért nem kísérleteztünk, mert drága szintetikus oligoszacharidok esetében ezt úgysem alkalmazzák. Immunológiai szempontból a nagyon nagy szénhidrát-tartalom amúgy sem kívánatos.

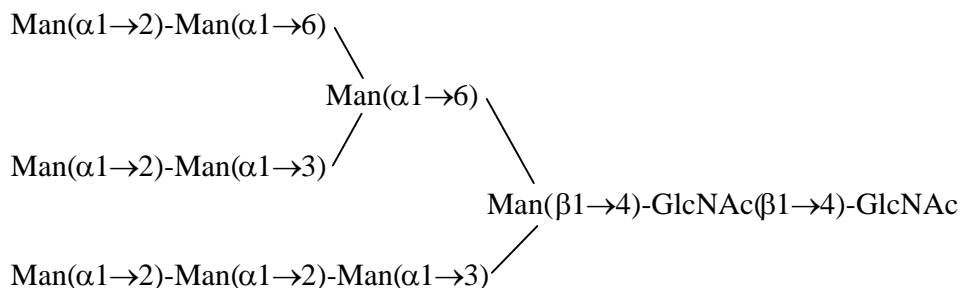
Eredményeink alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy érdemes a drága, munkaigényes szintetikus oligoszacharidokat glükózhoz kapcsolni, majd az egyébként "értéktelen" glükóz redukáló végét "áldozzuk fel" a neoglikoprotein előállításában. A glükóz primer OH csoportja (az OH-6) a legalkalmasabb a szintetikus oligoszachariddal történő glikozilezésre, mert ez a legreaktívabb, ráadásul ekkor lesz a hídmolekula a lehető leghosszabb. Így a fehérje nem fedi el az oligoszacharid haptént. Céljaink megvalósításához ily módon  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 6) kötést tartalmazó gentiobiózzal is megismételtük a cellobiózzal leírt kísérleteket és hasonló jó eredményeket kaptunk.

A MALDI-TOF tömegspektrometriát igen alkalmasnak találtuk a neoglikoproteinek szénhidrát-tartalmának meghatározására. Ez a módszer gyorsabb és kevesebb anyagot igényel, mint a fotometriás eljárások. Szinte a minta-előkészítés a leghosszabb, de egyben a legfontosabb művelet. A tömegspektrometriás adatok igen jó egyezést mutattak a néhány esetben fotometriás eljárással kapott cukortartalmakkal.

Benzil-2,3,4-tri-*O*-benzil- $\beta$ -D-glükopiranozidot preparáltunk (mely a továbbiakban spacer-ként szolgál) és elkezdtük a szintetikus oligoszacharidok glükózhoz kapcsolását.

## 2. Oligo-mannóz típusú *N*-glikoprotein antennák komponenseinek előállítása

Az oligo-mannóz típusú *N*-glikoprotein antennák közül a **6. ábrán** látható kiemelkedő fontosságú, hiszen valamennyi *N*-glikoprotein bioszintézisének közti terméke.



**6. ábra** Egy oligo-mannóz típusú *N*-glikoprotein glikánjának szerkezete

Az *N*-glikoprotein oligoszacharidok előállítása igen fontos feladat, mert természetes mintából megfelelő tisztaságú és mennyiségű anyagot izolálni nem lehet. A szintetikus anyag segítségével további biológiai vizsgálatok, konformációs analízisek végezhetők. A **6. ábrán** látható undekaszacharid szintézisekor számos nehézséget kell legyőzni: 1) parciálisan szubsztituált mannóz vegyületek előállítása 2) a  $\beta$ -mannozidos kötés kialakítása 3) megfelelő oligoszacharid szintézisblokkok preparálása 4) a szintézisblokkok összeillesztése

## 2. 1. $\beta$ -Mannozidok előállítása

A  $\beta$ -mannozidos kötés az "oxidáció-redukció", az "ulozil bromidos" és a glikálokból kiinduló módszerrel történő kialakításának is a  $\beta$ -D-glikozid-2-ulózok a központi intermedierjei. Mindhárom eljárás sarkalatos pontja a karbonil funkció redukciójának sztereoszelektivitása, ami nagymértékben meghatározza a módszerek hatékonyságát. Célul tűztük ki, előző OTKA pályázatunkban végzett kutatások folytatásaként, a  $\beta$ -D-glikozid-2-ulózok, a nátrium- és tetrabutillammónium-borohidridnél nagyobb térkitöltésű tetrabutillammónium-mono- és tetrabutillammónium-triacetoxi-borohidridekkel történő redukcióinak vizsgálatát. Ezen kutatások a keto-funkció redukciója sztereoszelektivitásának további növelését, illetve a redukció mechanizmusának jobb megértését célozták.

*Az eredményeinket összefoglalva a következő megállapításokat tehetjük.*

1. A monoacetoxi-borohidrid és a borohidrid alkalmazása változatos körülmények között is közel azonos sztereokémiai lefutású reakciókhoz vezet.
2. A triacetoxi-borohidriddel végzett karbonil redukciók 4,6-*O*-acetált tartalmazó diszacharid-ulózok esetében jó sztereoszelektivitással, míg 4,6-*O*-acetált nem tartalmazó diszacharid-ulóz esetében kiváló sztereoszelektivitással a nem várt *glüko*-epimert szolgáltatja.
3. A diszacharid-ulózok esetében rendelkezésünkre áll olyan módszer, amely kiváló *manno*- és olyan, amely kiváló *glüko*-szelektivitást eredményez.

Elméleti és gyakorlati szempontból is érdekes megvizsgálni az említett két teljesen eltérő sztereokémiai lefutást eredményező módszert a megfelelő  $\alpha$ -anomerek esetében is. Ezért célul tűztük ki, az  $\alpha$ -D-glikozid-2-ulózok borohidridekkel történő redukcióinak vizsgálatát. Elvégeztük az etil-(3,4,6-tri-*O*-benzil- $\alpha$ -D-*arabino*-hexopiranozil-2-ulóz)-(1 $\rightarrow$ 4)-3,6-di-*O*-benzil-2-dezoxi-2-ftálimido-1-tio- $\beta$ -D-glükopiranozid preparálását és borohidridekkel történő redukcióját. A redukciót a szénhidrátkémiában szokásos módszerekkel, illetve a Tanszéken

kidolgozott módon, "aktivált DMSO" jelenlétében hajtottuk végre. Valamennyi kísérletben a megfelelő *glüko*-epimert kaptuk főtermékként (*glüko/manno* arány 99:1→9:1). Megállapítottuk, hogy  $\alpha$ -D-glikozid-2-ulózok esetében érvényes az a törvény, hogy a glikozid-2-ulózok karbonil-redukciójának sztereoszelektivitását az anomer-szén konfigurációja szabja meg, azaz az  $\alpha$ -konfiguráció *glüko*-szelektivitást indukál. 1,2-*cisz*- $\alpha$ -Glikozidokat elsősorban az ún. *in situ* anomerizációs stratégiával alakítanak ki, azonban a glikozilezési reakciók (különösen nem reaktív akceptorok esetén) sztereoszelektivitása és hozama messze van a kívánatostól. Az ilyen esetekben eredményesen alkalmazható az általunk kidolgozott eljárás, melynek során a kettes helyzetű résztvevő csoport segítségével jó hozammal és kiváló szelektivitással  $\alpha$ -glikozidot állítottunk elő, majd a 2' helyzetben lévő védőcsoport szelektív eltávolítása után a szekunder alkoholt ulózzá oxidáltuk és a kapott ulózt megfelelő körülmények között  $\alpha$ -glükoziddá redukáltuk.

## 2.2. A core pentaszacharid szintézise glikozil-azid formájában

A core triszacharid (kitobióz és  $\beta$ -mannozid, ld. **6. ábra**) glikozil-azid szintézisét már korábban megvalósítottuk (J. Kerékgyártó és társai, *Tetrahedron Lett.*, 39, 1998, 7189). A pentaszacharid (kitobióz és három mannóz egység) előállítását hasonló szintézis stratégiával 43 lépésben sikerült megvalósítani. A monoszacharid egységek benzil csoportjai lehetővé teszik, hogy az azid aminná alakítása után glikopeptideket preparáljunk. Ezirányú kísérleteink már folyamatban vannak.

## 2.3. Mannozilezési reakciók vizsgálata

A magas mannóztartalmú *N*-glikoprotein antennák undekaszacharid glikán részének szintézisére törekedve a közelmúltban sütőélesztőből szemiszintetikus úton sikerült az undekaszacharid (1→2) kötéseket hordozó mannobióz és mannotrióz építőelemeit okta, illetve undeka-acetát formájában előállítani. (Z. Szurmai, L. Jánossy, Z. Szilágyi, K. Vékey, *J. Carbohydr. Chem.*, 17, 1998, 417.). Ezek az építőelemek igen értékesek, hiszen az elmélet szerint a mannóz donorok akkor is  $\alpha$ -mannozidot adnak glikozilezési reakciókban, ha a kettes pozícióban nemrésztvevő csoportot tartalmaznak (ilyen szempontból egy monoszacharid egység is nemrésztvevő). A valóságban ki kell kísérletezni azokat a reakciókörülményeket, melyek jó  $\alpha$  szelektivitást adnak. A metil-3-*O*-benzil-4,6-*O*-benzilidén- $\alpha$ -D-mannopiranozid

(A. Lipták, I. Czégény, J. Harangi, P. Nánási, *Carbohydr. Res.*, 73, 1979, 327.), akceptorral dolgoztunk. 3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-*O*-methyl- és 4,6-di-*O*-acetyl-3-*O*-benzyl-2-*O*-methyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyl-bromid donorokat használtunk. A szemisztetikus mannobiózt bromid, vagy imidát formájában alkalmaztuk. Az imidátot kivéve, valamennyi esetben  $\alpha$ -mannozidokat nyertünk.