



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Synthesis and application of glycans unique to *S. mansoni*

Harvey, M.R.

Citation

Harvey, M. R. (2020, December 1). *Synthesis and application of glycans unique to S. mansoni*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/138246>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/138246>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/138246> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Harvey, M.R.

Title: Synthesis and application of glycans unique to *S. mansoni*

Issue date: 2020-12-01

Samenvatting

1 **Hoofdstuk 1** introduceert de ziekte schistosomiasis; Wat het is, waardoor het wordt veroorzaakt, de huidige diagnostische middelen om de ziekte vast te stellen en welke geneesmiddelen ervoor handen zijn om de ziekte te bestrijden. Daaropvolgend worden alle synthese methoden van schistosoom gerelateerde suikers, die in de literatuur gerapporteerd zijn behandeld.

2 In **Hoofdstuk 2** wordt de synthese beschreven van twee unieke schistosoom suikermotieven, Fuc- α -(1-2)-Fuc- α -(1-3)-GlcNAc en Fuc- α -(1-2)-Fuc- α -(1-3)-GalNAc. Gedurende de synthese van deze twee suikers werd een opmerkelijk verschil waargenomen bij de introductie van de tweede fucosyl groep. DFT berekeningen werden uitgevoerd om te achterhalen waar dit verschil vandaan zou kunnen komen. Deze berekeningen wezen op sterische hindering bij de Fuc-GlcNAc acceptor, die niet aanwezig was bij de Fuc-GalNAc acceptor. De NMR spectra van de twee gesynthetiseerde trimeren toonden een opvallend verschijnsel dat wees op een stabiele conformatie voor het GalNAc trisaccharide, welke niet werd gevonden voor het GlcNAc trisaccharide. Gedurende de ontscherming van de trimeren bleek de labiele Fuc- α -(1-2)-Fuc glycosidische band gemakkelijk te breken door het zuur, dat vrijkwam bij de reductie van de TCA beschermgroep. Om dit te vermijden werd de hydrogenering uitgevoerd in aanwezigheid van NaHCO₃. Vervolgens werden goud nanodeeltjes (5nm) gefunctionaliseerd met de gesynthetiseerde trisacchariden en gescreend met ELISA technieken. De goud nanodeeltjes werden gekarakteriseerd met behulp van monoklonale antilichamen en konden gebruikt worden voor het screenen sera om de aanwezigheid van anti-schistosoom antilichamen aan te tonen bij personen lijdend aan schistosomiasis. De verkregen resultaten tonen aan dat deze gefunctionaliseerde goud nanodeeltjes gebruikt zouden kunnen worden voor de diagnose van schistosomiasis.

3 De synthese van α -(1-2)-oligofucosides is beschreven in **Hoofdstuk 3**. Twee syntheseroutes werden gevolgd: Route A, waarbij de verlenging van de fucose keten startte vanaf het reducerende eind en Route B, waarbij de synthese startte vanaf het niet-reducerende eind. Middels Route A werd een dimeer in goede opbrengst en stereoselectiviteit verkregen, maar verlenging tot een tri- and tetrameer resulteerde in lage opbrengsten. Analyse van de NMR spectra wees op sterische hindering van de benzoyl groepen op de C3-O en C4-O van de fucose residuen. Ontscherming van het verkregen di-, tri en tetrameer verliep zonder problemen. Route B bleek een beter alternatief te zijn voor de verlenging van de fucose ketens, zowel het di-, tri- en tetrameer werd verkregen in hoge opbrengst en stereoselectiviteit. De ontscherming door middel van een katalytische hydrogenering verliep met een relatief lage opbrengst. De verkregen fucose ketens werden covalent gekoppeld aan goud nanodeeltjes (5 nm) en gebruikt in ELISA experimenten. Aanvankelijk werden de goud nanodeeltjes gescreend tegen monoklonale antilichamen en vervolgens tegen sera van

geïnficeerde individuen. In beide gevallen werden de fucose ketens selectief herkend en bleken de langere fucose ketens beter in staat om schistosoom specifieke antilichamen te binden. Op basis van deze data werd geconcludeerd dat deze gefunctionaliseerde goud nanodeeltjes, gebruikt kunnen worden als diagnostisch hulpmiddel voor schistosomiasis.

4

Hoofdstuk 4 beschrijft de synthese van gefucosyleerde *N*-acetylgalactosamine- β -(1-4)-*N*-acetylglucosamine dimer (LacdiNAc ook wel LDN genoemd) fragmenten. De doelmoleculen van dit hoofdstuk waren drie mono- gefucosyleerde (F-LDN, F-LDN-F en LDN-F) en drie di-gefucosyleerde (F2-LDN, F2-LDN-F2 en LDN-F2) LDN-fragmenten. Het LDN-dimeer werd gesynthetiseerd met passend beschermde glucosamine en galactosamine bouwstenen. Hierbij werden diverse orthogonale beschermgroepen op de C3-O van zowel de glucosamine als de galactosamine bouwsteen getest, waaronder de volgende combinaties; TBS/Nap, Nap/Bz, Nap/Lev en Nap/Ac. Het laatste beschermgroepen paar bleek het meest succesvol. Na verwijdering van de orthogonale beschermgroep(en) en fucosylering werden de (F)-LDN-(F) fragmenten in hoge opbrengsten verkregen. Introductie van de di-fucose ketens resulteerde echter in lage opbrengsten, optimalisatie van deze reactie heeft helaas geen vruchten afgeworpen.

5

Twee nieuwe syntheseroutes (A en B) voor oligomeren van het Circulating Anodic Antigen (CAA) staan beschreven in **Hoofdstuk 5**. Route A is een flexibele route waarbij de dimeer, waaruit CAA is opgebouwd, gesynthetiseerd werd met behulp van D-glucose en D-glucuronzuur donoren en een variatie van D-galactosamine acceptoren. Van de geteste donoren bleek de glucuronzuur donor de beste te zijn en van de geteste acceptoren gaf de galactosamine bouwsteen beschermd met een 4,6-silylideen ketaal de hoogste opbrengst. Ondanks dat het repeterende dimeer in hoge opbrengst verkregen werd, kon het CAA tetrameer helaas niet verkregen worden middels een [2+2] glycosylering. Route B is gebaseerd op de isolatie van de repeterende dimeer van CAA uit chondroïtine A door middel van zuur gekatalyseerde hydrolyse. Bescherming van de verkregen dimeer en een koppeling tussen twee beschermde dimeren resulteerde in een CAA tetrameer.