



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Glycosyl cations in glycosylation reactions

Hansen, T.

Citation

Hansen, T. (2020, November 25). *Glycosyl cations in glycosylation reactions*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/138249>

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/1887/138249>

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

Glycosyl Kationen in Glycosyleringsreacties

Koolhydraten, ook wel suikers genoemd, en glycoconjugaten zijn een zeer diverse klasse van biomoleculen, die voorkomt in alle rijken van het leven. Ze zijn betrokken bij een significant aantal pathologieën, waaronder bacteriële infecties, kanker en ontstekingsziekten. Ze vervullen een onmisbare rol als structurele component, in biologische energieopslag en als signaalmoleculen. De studie naar koolhydraten en de ontwikkeling van op koolhydraat-gebaseerde medicatie (antibacteriële geneesmiddelen, antikankermiddelen en vaccines) is een enorme uitdaging omdat deze moleculen vaak in de natuur als mengsel voorkomen, wat de isolatie vanuit deze bronnen bemoeilijkt.

Synthetische chemie is één van de belangrijkste leveranciers van goed gedefinieerde en zuivere koolhydraten en glycoconjugaten. Meerdere synthetische analogen hebben hun weg gevonden naar de kliniek, waaronder het antistollingsmiddel Fondaparinux (Arixtra®) en het antivirale middel Oseltamivir (Tamiflu®). Ondanks deze successen, blijft de synthese van complexe koolhydraten en glycoconjugaten een uitzonderlijk ingewikkelde onderneming, omdat er geen algemene oplossing is voor het introduceren van de gewenste glycosidische bindingen. Een glycosidische binding verbindt simpele suikers of monosacchariden met elkaar waardoor het vormen van langere biopolymeren of polysacchariden mogelijk is.

Deze binding wordt geïntroduceerd met behulp van een glycosyleringsreactie, de centrale reactie in de synthetische koolhydraatchemie. In deze reactie reageert een acceptor molecuul (het nucleofiel, vaak een alcohol in een suiker bouwsteen) met een geactiveerde donor suiker (het elektrofiel), waardoor een glycosidische binding wordt gevormd tussen beide reactiepartners. Hierbij kan een 1,2-*cis* band, een 1,2-*trans* band of een mengsel daarvan ontstaan, terwijl slechts één van de twee glycosidische bindingen gewenst is. Het vormen van de juiste glycosidische binding (de stereochemie) is erg complex en om de koolhydraatchemie verder te brengen is meer inzicht nodig over hoe glycosidische bindingen precies tot stand komen. De studie beschreven in dit proefschrift heeft als doel om meer inzicht te krijgen in de mechanismen van de glycosyleringsreactie en de reactieve intermediairen die hierbij een rol spelen.

De bestaande kennis van het mechanisme alsmede de belangrijkste reactieve intermediairen worden in Hoofdstuk 1 beschreven. De studie in Hoofdstuk 2 is gericht op het ontwikkelen van een computationele methode om het mogelijk te maken om glycosyl kationen (ook wel oxocarbenium ionen genoemd) te bestuderen. Deze kationen zijn hoogerenergetische intermediairen en worden verwacht aanwezig te zijn in de reactie, maar kunnen onder die omstandigheden lastig bestudeerd worden. Ook wordt gespeculeerd dat deze deeltjes een belangrijke rol spelen bij de stereoselectiviteit waarmee de reactieproducten gevormd worden. De ontwikkelde computationele aanpak op basis van DFT (dichtheidsfunctionaaltheorie) berekeningen maakt het mogelijk om de stabiliteit, reactiviteit en flexibiliteit van deze glycosyl kationen te onderzoeken. Vervolgens zijn meer dan 30 verschillende glycosyl kationen met verschillende substitutiepatronen geanalyseerd. Uit deze studie tezamen met de uitkomsten van bijbehorende experimentele glycosyleringsreacties bleek dat de conformatie (3D-vorm) van deze deeltjes sterk bepalend is voor de uitkomst van de reactie met een typisch S_N1 -nucleofiel triethylsilane-*d* (TES-*d*). Direct bewijs voor de berekende conformationele voorkeur van deze ionen, werd verkregen door deze te genereren in een superzuur medium (HF/SbF₅). In dit medium zijn deze hoogerenergetische deeltjes voor een korte tijd stabiel en kunnen spectroscopisch geanalyseerd worden. De structuren van de experimenteel gevonden glycosyl kationen kwamen goed overeen met de berekende structuren. Waar voorheen gedacht werd dat deze deeltjes, door hun intrinsiek hoge energie, vaak leiden tot de vorming van mengsels van 1,2-*cis* en 1,2-*trans* reactieproducten, werd in dit hoofdstuk bewezen dat deze kationen uiterst selectief kunnen reageren. Voor kationen afkomstig van L-fucose, L-rhamnose, D-glucose, D-mannose en D-galactose donoren, kan een zeer selectieve glycosyleringsreactie via een S_N1 mechanisme verwacht worden op basis van de berekende eigenschappen van deze deeltjes.

Hoofdstuk 3 bouwt voort op Hoofdstuk 2 en beschrijft een studie naar reacties tussen de kationen en twee verschillende typische S_N1 -nucleofielen. Allyltrimethylsilane en triethylsilane-*d* bleken in de meeste glycosyleringsreacties dezelfde reactie uitkomst te geven. In parallel lieten computationele studies zien dat de meeste kationen reageerden tot het product zonder enige energiebarrière. Voor deze reacties, kan de conformationele

voorkeur van de kationen gebruikt worden om de stereoselectiviteit te begrijpen van reacties waarbij deze kationen een rol spelen. Voor een aantal glycosyl kationen bleek de reactie voor de twee acceptoren echter verschillende resultaten te geven, en hieruit kon geconcludeerd worden dat voor deze reacties de aard van de acceptor ook van belang is. Voor deze gevallen kon met behulp van computationele technieken een overgangstoestand gevonden worden voor de reactie van de kationen met de twee acceptoren. De hoogte van de energiebarrières bleken afhankelijk van het type acceptor dat werd gebruikt. Met de DFT-berekeningen konden gedetailleerde kinetische scenario's worden geschetst, waarmee de gevonden stereoselectiviteit van de reacties verklaard kon worden. Met het gebruiken van het zogenaamde activatie-spanning model was het mogelijk om op een kwantitatieve manier te kijken naar de factoren die de reactiebarrières beïnvloedden. De verschillende reactie uitkomsten, die gevonden werden voor de twee typische S_N1 acceptoren allyltrimethylsilane en triethylsilane-*d*, konden worden teruggeleid tot een wisselwerking tussen de stabiliteit van het kation, de "timing" van de overgangstoestand en de sterische hindering tussen de acceptor en het kation.

Het onderwerp van hoofdstuk 4 behelst de vorming van dioxolenium kationen uit de corresponderende glycosyl kationen door "lange-afstandsparticipatie" van ver gelegen acylgroepen. Deze lange-afstandsparticipatie heeft de potentie om de uitkomst van de glycosyleringsreactie te sturen. Het bestuderen van deze hoogenenergetische dioxolenium kationen is, net als de studie van glycosyl kationen, een uitdagende exercitie. Er werd een drievoudige aanpak, bestaande uit infrarood ion spectroscopie, computationele berekeningen en model glycosyleringsreacties, gebruikt om dit effect te bestuderen. Eerst werd met DFT-berekeningen gekeken naar de relatieve stabiliteit van de glycosyl kationen en dioxolenium ionen en deze data lieten zien welke systemen vatbaar kunnen zijn voor lange-afstandsparticipatie. Om hier direct experimenteel bewijs voor te krijgen werden de kationen in de gasfase bestudeerd met behulp van infrarood ion spectroscopie. Om uiteindelijk te onderzoeken of deze deeltjes ook invloed hadden op de uitkomst van glycosyleringsreacties, werd een coherente serie modelexperimenten uitgevoerd. Tezamen bewezen deze studies dat lange-afstandsparticipatie een belangrijke rol kan spelen in het vormen van de reactieproducten. Een grote rol voor lange-afstandsparticipatie werd gevonden voor C-3 acyl mannosyl donoren en in mindere mate voor C-4 acyl galactosyl donoren. Acylgroepen aan de C-6 bleken nauwelijks deel te nemen aan lange-afstandsparticipatie. De mate van lange-afstandsparticipatie nam af in de volgende volgorde: 3-Ac-Man >> 4-Ac-Gal > 3-Ac-Glc ~ 3-Ac-Gal > 4-Ac-Glc > 4-Ac-Man ~ 6-Ac-Glc/Gal/Man.

Het onderzoek in hoofdstuk 5 implementeert de gevonden fundamentele inzichten uit de voorgaande hoofdstukken, zodat de synthese van een fragment van een biologisch relevant en complex mycobacteriëel glycolipide kon worden bewerkstelligd. Dit glycolipide (LOS-IV) is opgebouwd uit bijzondere en complexe monosacchariden, zoals bijvoorbeeld caryophyllose dat een tetragesubstitueerd koolstofstereocentrum bevat. Een geïntegreerde aanpak, bestaande uit systematische model glycosyleringsreacties in combinatie met de

detectie en karakterisatie van verschillende reactieve intermediären met behulp van lage-temperatuur NMR-spectroscopie en computationele berekeningen, werd gebruikt om reactiviteit-stereoselectiviteit relaties vast te stellen voor de complexe monosaccharide bouwstenen. Tijdens zogenoemde pre-activatie glycosyleringen van de gesynthetiseerde donoren bleek de beschermde zuurstof van de ethergroep in de C4-zijketen van caryophyllose (Car) en yersioniose (YerA), gemakkelijk aan te vallen op het geactiveerde anomere centrum, waarbij een gebrugde verbinding wordt gevormd, leidend tot onproductieve reacties. Dit gedrag kon verklaard worden aan de hand van de stabiliteit van de betrokken reactieve intermediären, bestudeerd door middel van computationele technieken. Preventie van de nucleofiele aanval door de zuurstof in de zijketen is een voorwaarde om effectieve donoren te creëren. Door het vastleggen van de C4-zijketen door middel van een cyclische beschermgroep werd de intra-moleculaire aanval effectief verhinderd. De aldus rationeel ontworpen monosaccharide bouwstenen maakte het mogelijk om effectief en stereoselectief het LOS-IV fragment te synthetiseren, dat het meest ingewikkelde deel omvat van het natuurlijk voorkomende glycolipide.

/ Concluderend, deze thesis beschrijft het gebruik van een combinatie van computationele en experimentele technieken om zo inzicht te verkrijgen in de glycosyleringsreactie en de reactieve intermediären die hierbij een rol spelen. Het onderzoek in deze thesis laat zien dat glycosyl kationen als reactieve intermediären kunnen optreden, en ook voor de stereoselectieve introductie van een glycosidische binding kunnen zorgen. De fundamentele kennis gepresenteerd in dit proefschrift kan worden gebruikt om de uitkomst van glycosyleringsreacties beter te begrijpen en nieuwe glycosylerings strategieën te ontwikkelen. Dit zal toekomstige syntheses vereenvoudigen om uiteindelijk sneller en efficiënter complexe koolhydraten op te leveren om glycobioologisch onderzoek mogelijk te maken. /