



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Synthesis of mycobacterial phenolic glycolipids

Dijk, J.H.M. van

Citation

Dijk, J. H. M. van. (2022, October 13). *Synthesis of mycobacterial phenolic glycolipids*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3480227>

Version: Publisher's Version

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

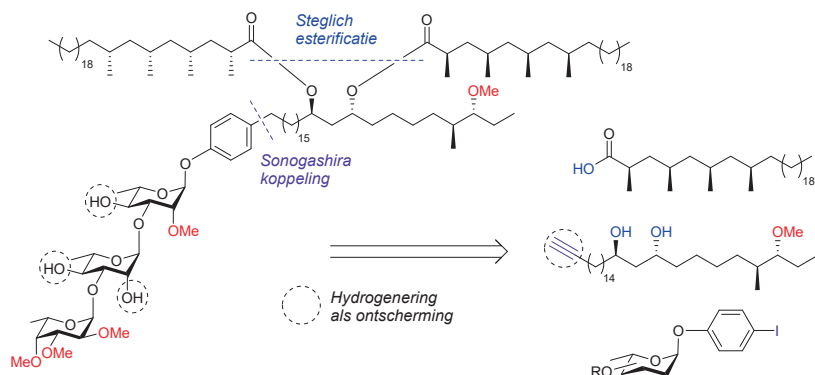
Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/3480227>

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

Nederlandse Samenvatting

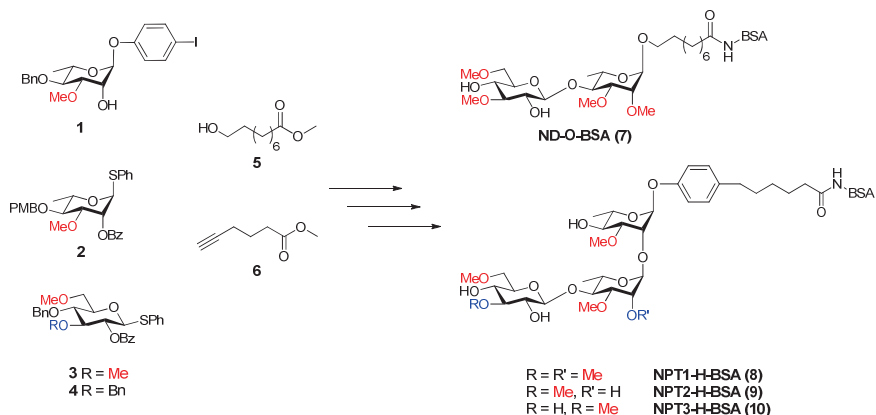
Mycobacteriën, zoals *Mycobacterium tuberculosis* en *M. leprae*, hebben een zeer lipofiel, dik buitenmembraan, het mycomembraan genoemd. Deze beschermde barrière bevat vele (glyco)lipiden waarvan wordt verondersteld dat die de bacterie ondersteunen bij het ontwijken en manipuleren van het menselijk immuunsysteem. Eén groep van glycolipiden, die voorkomt bij vele mycobacteriën is de fenolische glycolipiden (PGL). Dit zijn gedeeltelijk *O*-gemethyleerde oligosachariden, die veelal rhamnose bevatten en die aan het reducerend einde gebonden zijn aan phenolphthiocerol, waarvan de hydroxylen veresterd zijn met mycocerose zuren. De chemische synthese van volledige PGLs zou kunnen bijdragen aan het verschaffen van inzicht in de exacte interactie van deze moleculen met het menselijk immuunsysteem, alsmede hun rol in de pathogeniciteit van de bijbehorende mycobacteriën. Derhalve beschrijft dit proefschrift de synthese van de PGLs die afkomstig zijn van het *M. tuberculosis* complex (MTBC), *M. leprae*, *M. haemophilum*, *M. kansasii* en *M. gastri*. De verkregen moleculen zijn geschikt voor immunologisch onderzoek wat vervolgens kan resulteren in de ontdekking van een therapeutisch doelwit dan wel vaccin.

Hoofdstuk 1 geeft een overzicht van de huidige kennis over de interacties van PGLs op moleculair niveau. Er wordt een samenvatting gegeven van gepubliceerde syntheses van PGL fragmenten en hun toepassingen. Tot dusver is in de literatuur slechts één synthese van een volledige PGL beschreven waarvan de globale strategie het uitgangspunt vormt voor de in dit proefschrift besproken syntheses. De totale synthese van PGL-tb1, afgebeeld in Figuur 1, werd bereikt door een jodofenol bevattend trisacharide te koppelen aan een phthiocerol-alkyn derivaat door middel van een Sonogashira reactie. Daarna kon het verkregen diol onder Steglich condities worden veresterd met twee mycocerose zuren. Hydrogenering verwijderde tenslotte alle beschermgroepen en reduceerde tegelijkertijd het interne alkyn dat gevormd was tijdens de Sonogashira koppeling.



Figuur 1. Algemene strategie van de in dit proefschrift beschreven syntheses.

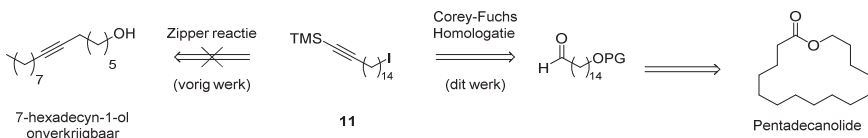
Hoofdstuk 2 is gewijd aan de synthese van glycoconjugaten bestaande uit oligosachariden afkomstig van *M. leprae*, die gebruikt kunnen worden om anti-PGL-I antilichamen te detecteren in serum om daarmee lepra infecties te diagnosticeren (zie Figuur 2). Als aanvulling op het standaard disacharide conjugaat (het zogenoemde ND-O-BSA) zijn er tevens drie trisacharide conjugaten gesynthetiseerd.



Figuur 2. Synthese van glycoconjugaten van *M. leprae* PGL-suikers zoals beschreven in Hoofdstuk 2.

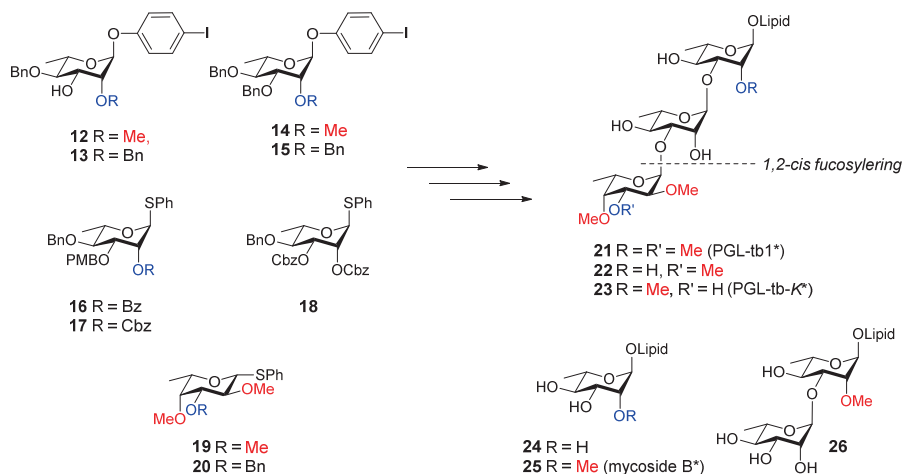
Hoewel deze trisacharide conjugaten op een schaal van meer dan een gram konden worden verkregen en geschikt bleken om de diagnose van lepra infecties vast te stellen, was een verbetering in vergelijking met het disacharide conjugaat niet aantoonbaar. Desalniettemin hebben de verkregen immunologische resultaten met de trisacharide conjugaten herbevestigd dat de C-3 methyl van de terminale glucose van PGL-I in grote mate de binding met antilichamen bepaalt.

Hoofdstuk 3 heeft de synthese van het phthiocerol-alkyn derivaat, dat nodig is voor de synthese van volledige PGLs, als onderwerp. De synthese van dit molecuul is eerder gepubliceerd, maar één van de startmaterialen, 7-hexadecyn-1-ol (zie Figuur 3) was niet langer commercieel verkrijgbaar. Dit hoofdstuk beschrijft een nieuwe route naar jodide **11**, waarbij gebruik gemaakt werd van een Corey-Fuchs homologatie van een aldehyde dat uit pentadecanolide te verkrijgen was. Met deze vondst kon de synthese van het phthiocerol-alkyn derivaat op gemakkelijke wijze opgeschaald worden en was het mogelijk om alle PGLs van de komende hoofdstukken toegankelijk te maken.



Figuur 3. Retro-synthetische analyse van de jodide bouwsteen **11** uit Hoofdstuk 3.

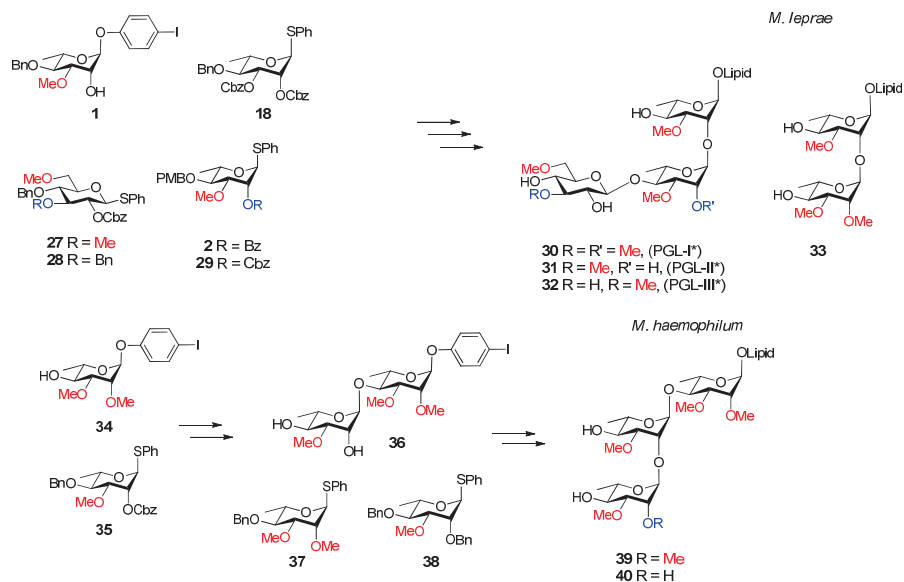
Hoofdstuk 4 behandelt de synthese van alle bekende, volledige PGLs afkomstig van het MTBC (zie Figuur 4). Door het toepassen van de carboxybenzyl (Cbz) als een participerende beschermgroep, die verwijderd kan worden met hydrogenering werd de efficiëntie van de syntheroute verhoogd, in vergelijking met een procedure met de benzoyl ester in plaats van de Cbz. Het gebruik van een op additieven gebaseerde methode van glycosylering verbeterde de selectiviteit van de 1,2-*cis* fucosylering en verminderde ook het aantal benodigde reactiestappen.



Figuur 4. Synthese van PGLs afkomstig van het MTBC zoals beschreven in Hoofdstuk 4.

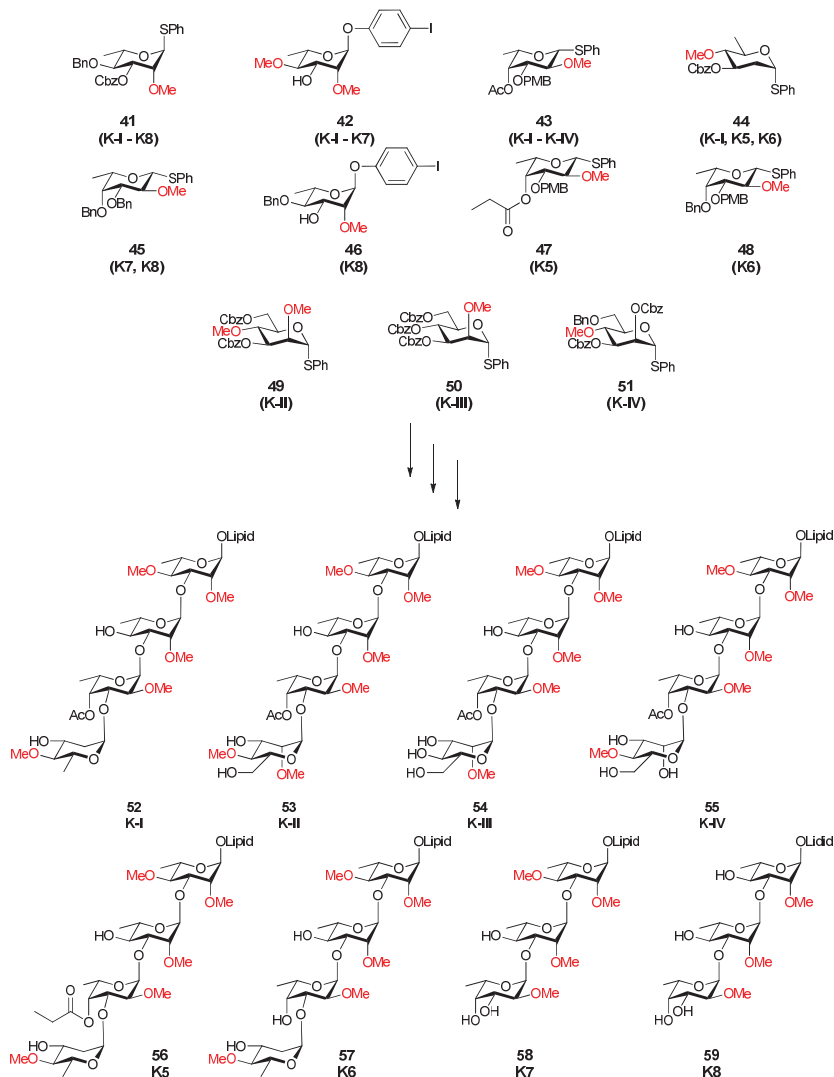
Een opmerkelijk vinding uit dit hoofdstuk is de verschillende invloed van een distale methyl of benzyl ether op de selectiviteit van koppelingen met disaccharide acceptoren, terwijl deze groepen normaliter worden geacht een vergelijkbaar resultaat te geven. Op eenzelfde wijze bleek het vervangen van een methyl door een benzyl ether op de C-3 positie van een fucose donor een grote invloed te hebben op de selectiviteit van de glycosylering.

Hoofdstuk 5 bespreekt de synthese van alle bekende volledige PGLs afkomstig van *M. leprae*, een PGL van *M. haemophilum*, en een mogelijk bio-synthetisch intermediair. Zoals eerder beschreven in hoofdstuk 4 verbeterde het gebruik van de Cbz groep als een hydrogeneerbare participerende beschermgroep wederom de efficiëntie van de syntheseroute doordat de debenzoylering en de benzylering reacties in het trisaccharide stadium konden worden vermeden. Evenwel bleek het gebruik van een Cbz bevattende donor in combinatie met sterisch gehinderde acceptoren een verminderde opbrengst en selectiviteit op te leveren. Toen bijvoorbeeld *M. haemophilum* disaccharide acceptor **36** gekoppeld werd aan donor **35** met een C-2-*O*-Cbz werd voornamelijk het ongewenste 1,2-*cis* product gevormd (zie Figuur 5). Dit probleem werd omzeild door de glycosylering uit te voeren met peralkyleerde donoren en IDCP als activerend agens.



Figuur 5. Synthese van PGLs afkomstig van *M. leprae* en *M. haemophilum* zoals beschreven in Hoofdstuk 5.

Hoofdstuk 6 beschrijft de synthese van alle bekende volledige PGLs afkomstig van *M. kansasii* en *M. gastri* (Figuur 6). Ook bij deze syntheses werd de Cbz groep toegepast maar nu niet zozeer voor de bescherming van de C-2 als wel voor de C-3 positie, aangezien



Figuur 6. Synthese van PGLs afkomstig van *M. kansasii* en *M. gastri* zoals beschreven in Hoofdstuk 6.

de gewenste oligosachariden op vrijwel elke C-2 positie een methyl ether bezitten. Er werd gevonden dat de verder gelegen C-3-*O*-Cbz een effectieve participerende beschermgroep is die de glycosylering kan te sturen naar de selectieve vorming van het 1,3-*trans* product (zie Figuur 6). In het geval van 2-deoxy donor **44** was de C-3-*O*-Cbz ook in staat de selectiviteit van de koppeling te sturen, maar de effectiviteit was sterk afhankelijk van de reactiviteit van de acceptor. De glycosylering van deze donor vertoonde een uitstekende selectiviteit bij gebruik van een elektronrijke acceptor, die verminderde bij het gebruik van acceptoren voorzien van een dichtbijgelegen elektronen zuigende groep.

Hoofdstuk 7 behandelt de synthese van analoga van het aglycon van verschillende PGLs die gebruikt kunnen worden voor structuur-activiteit studies van het lipide gedeelte van PGLs in de interactie met het menselijk immuunsysteem. De meest voorkomende trisachariden van het MTBC en *M. leprae* (PGL-tb1 en PGL-I, resp.) zijn gekoppeld met vereenvoudigde versies van phthiocerol dan wel mycocerose zuur dan wel beide (Figuur **7A**). Aanvullend daarop zijn de suikers gekoppeld aan een alifatische C₁₈-staart of zijn ze direct gereduceerd om een fenolisch aglycon te vervaardigen. Op een soortgelijke wijze zijn er meerdere analoga van het PGL-III aglycon gesynthetiseerd, ditmaal voor het verkrijgen van een beter wateroplosbare versie van het betreffende glycolipide, dat gebruikt kan worden voor kristallisatiestudies met Mincle, een immuunreceptor die verschillende glycolipiden kan herkennen. (Figuur **7B**).



