



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Unravelling glycosylation reaction mechanisms

Vrande, K.N.A. van de

Citation

Vrande, K. N. A. van de. (2025, October 9). *Unravelling glycosylation reaction mechanisms*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4266985>

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/1887/4266985>

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

Nederlandse Samenvatting

Ontrafelen van Glycosylatie Reactiemechanismen

Een essentiële stap in de synthese van koolhydraten is het maken van de glycosidische binding. De stereoselectieve vorming van deze binding verschilt echter sterk in moeilijkheidsgraad: 1,2-*trans* glycosidische bindingen zijn relatief makkelijk te synthetiseren door gebruik te maken van de participatie van de groep op de C-2 positie. Voor 1,2-*cis* glycosidische bindingen, aan de andere kant, bestaat nog geen algemene methodologie. Daarbij komt ook nog dat deze bindingen niet via een eenvoudig, enkel reactiemechanisme gevormd worden. In plaats daarvan ligt het mechanisme op een spectrum tussen de welbekende S_N1 en S_N2 reactiemechanismen, met verschillende reactieve tussenproducten, zowel covalent als ionogeen. Het doel van dit proefschrift is het verder bestuderen van deze reactiemechanismen door systematisch gebruik te maken van fysisch organisch chemische technieken, waarbij isotoop labels veelal een rol spelen.

In **Hoofdstuk 1** wordt een overzicht gegeven van de verschillende wijzen waarop isotoop labels gebruikt zijn in de suikerchemie. Hierin worden voorbeelden beschreven van technieken om de moleculaire structuur op te helderen, te bepalen welke producten er na een bepaalde reactie gevormd worden en methoden om reactiemechanismen te onderzoeken. Deze technieken variëren van relatief eenvoudig, het labelen van een bepaald atoom om erachter te komen waar deze in het eindproduct terecht komt, tot gecompliceerde onderzoeken naar reactieve tussenproducten via NMR-spectroscopie en het kinetisch isotoop effect (KIE).

Hoofdstuk 2 beschrijft een reeks ^{13}C en ^{15}N uitwisseling experimenten om het mechanisme achter de omlegging van glycosyl trichloroacetimidaat donoren naar trichloroacetamides te onderzoeken. Deze transformatie kan plaatsvinden via twee mogelijke reactiemechanismen: intramoleculaire omlegging of intermoleculaire aglycon overdracht. Om te onderzoeken welke van deze twee mechanismen plaats vindt zijn uitwisselingsexperimenten uitgevoerd waarbij de helft van de beginstof een ^{13}C label op de anomere positie heeft, en de andere helft een ^{15}N label in de imidaat groep. In geval van intramoleculaire omlegging zouden de producten dan alleen hun initiële label behouden, terwijl een intermoleculaire uitwisseling ook de isotoop labels uitwisselt. Door een reeks van ^1H , ^{13}C en ^{15}N NMR-experimenten werd uiteindelijk het aglycon uitwisselingsmechanisme bevestigd. In dit mechanisme wordt de geactiveerde donor aangevallen door de NH-groep van een ander donormolecuul, dat op zijn beurt dan weer geactiveerd wordt.

Het mechanisme van de glycosyleringsreactie van een benzylideen glucose donor werd onderzocht in **Hoofdstuk 3** door gebruik te maken van KIEs. Een combinatie van primaire ^{13}C en secundaire ^2H KIEs is gebruikt, waarbij de donor werd gekoppeld met verschillende acceptoren. Deze acceptoren waren geselecteerd vanwege hun geleidelijke afname in reactiviteit en sterische effecten. Ook werd er een koolstofnucleofiel gebruikt, omdat dit type acceptoren bekend staat om via een S_N1 mechanisme te reageren, en dus een goede maatstaf voor de S_N1 kant van het spectrum vormt. De resultaten van de KIE-experimenten toonden aan dat de β -producten altijd via een S_N2 mechanisme gevormd worden. Voor de

α -producten werd een geleidelijke overgang van S_N2 naar S_N1 gevonden met afnemende acceptor reactiviteit.

In **Hoofdstuk 4** werd voortgebouwd op de resultaten uit Hoofdstuk 3, door een benzylideen mannose donor te onderwerpen aan dezelfde systematische KIE-experimenten. Deze donor wordt gebruikt in de Crich β -mannosylering reactie, die een doorbraak heeft betekend voor het maken van 1,2-*cis* mannose bindingen. Dezelfde reeks acceptoren met geleidelijke afname in reactiviteit als in het vorige hoofdstuk werden gebruikt, met daarbij twee model suikeracceptoren. In tegenstelling tot de resultaten voor de glucose donor werd er voor mannose geen relatie tussen de KIE en gebruikte acceptor gevonden. In plaats daarvan werd een reeks KIE-waarden gevonden die dichtbij elkaar lagen. Deze waarden lagen ook niet duidelijk in het bereik geassocieerd met het S_N1 of S_N2 mechanisme, maar hadden een waarde tussen beide mechanismen in. Deze resultaten leidden tot de conclusie dat de reactie plaats vindt via een 'opgeblazen' overgangstoestand. Dit is een S_N2 -achtige reactie, maar vanwege de grote nucleofiel-koolstof en koolstof-vertrekkende groep afstanden heeft het ook een significante ladingsopbouw, en dus S_N1 karakter. Een mogelijke verklaring voor waarom de KIEs niet veranderden met verschillende acceptoren is de vorming van een waterstofbrug tussen de inkomende acceptor en de beschermde alcohol-groep op de C-2 positie. Deze waterstofbrug neemt toe in sterkte wanneer de acceptor in reactiviteit afneemt, en compenseert dus voor de verloren reactiviteit.

In **Hoofdstuk 5** worden een reeks competitie experimenten beschreven tussen verschillende acceptoren, om de relatieve reactiviteit van deze acceptoren te bepalen. Hiervoor werden een β -selectieve en een α -selectieve galactose donor gebruikt. Van de β -selectieve donor is bekend dat deze via een S_N2 mechanisme reageert, terwijl er van de α -selectieve donor wordt gezegd dat deze via een S_N1 mechanisme gaat. Dit maakte het mogelijk om de relatieve reactiviteit van acceptoren te bepalen onder verschillende reactiecondities. De resultaten van de β -donor kwamen overeen met de relatie tussen acceptor structuur en reactiviteit die eerder in de literatuur vastgesteld was, waarbij de elektronenrijkste acceptor het snelst reageert. De α -donor, aan de andere kant, reageerde sneller met minder elektronenrijke acceptor, wanneer deze met TMSOTf werd geactiveerd. Om dit verder te onderzoeken werden er ook competitie experimenten gedaan waarbij deze donor werd geactiveerd met AgBAR^F, een activator met een niet-nucleofiel tegenion dat niet of nauwelijks coördineert aan het anomere centrum van de geactiveerde donor. Onder deze condities reageerde de meest elektronenrijke acceptor als snelste reactiepartner. Sinds het BAR^F anion bekend staat als een niet-coördinerend anion, werd verondersteld dat onder deze condities een volledig S_N2 mechanisme voorkomt. En omdat de resultaten van de donor met AgBAR^F verschillen van die met TMSOTf, moet er voor de TMSOTf dus een ander mechanisme een rol spelen. Hiervoor wordt een S_N2 aanval aan de voorkant voorgesteld. In dit mechanisme komt het nucleofiel binnen vanaf dezelfde kant als waar de vertrekkende groep vertrekt. In de overgangstoestand wordt dan een waterstofbrug gevormd tussen het inkomende alcohol en de vertrekkende triflaat groep. Sinds de minder elektronenrijke acceptoren vaak zuurder zijn dan de elektronenrijkere acceptoren, is deze waterstofbrug

sterker voor de minst elektronenrijke acceptor, en reageert deze dus sneller onder deze omstandigheden.

Tot slot wordt er in **Hoofdstuk 6** een samenvatting gegeven van de eerdere hoofdstukken in dit proefschrift. Deze wordt aangevuld met suggesties voor vervolgonderzoek.