

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/66126> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Vorm, S. van der

Title: Reactivity and selectivity in glycosylation reactions

Issue Date: 2018-10-11

Samenvatting in het Nederlands

Reactiviteit en selectiviteit in glycosyleringsreacties

Koolhydraten, sachariden en suikers zijn benamingen voor in de natuur voorkomende moleculen die wat structuur betreft enorm divers zijn. Bijvoorbeeld niet alleen de polymeren zetmeel en glycogeen zijn koolhydraten, maar ook kleinere structuren zoals de oligosachariden die kenmerkend zijn voor de menselijke bloedgroepen. Sachariden spelen een belangrijke rol bij een groot aantal essentiële biologische processen in alle vormen van leven en zijn daardoor van belang voor bestaande en nog te ontwikkelen medicijnen. Koolhydraten die van belang zijn voor het ophelderen en beïnvloeden van biologische processen kunnen echter vaak in onvoldoende mate in zuivere toestand uit de natuur worden geïsoleerd. De chemische synthese van deze specifieke koolhydraatverbindingen is daarom van groot belang. Koolhydraten bestaan uit lineaire of vertakte ketens van verschillende monosacchariden zoals glucose en mannose. Een van de grootste uitdagingen bij het synthetiseren van koolhydraten is het aanbrengen van de juiste binding tussen de monosacchariden onderling of tussen een monosaccharide en een groeiende koolhydraatketen. Deze glycosidische binding dient op één specifieke wijze te worden aangebracht. Deze selectiviteit betreft niet alleen de positie van de naburige suiker waaraan de suiker in kwestie vastgemaakt wordt (de zogenoemde *regiochemie*) maar ook de richting van de nieuw te vormen glycosidische binding (de zogenoemde *stereochemie*), die 1,2-*trans* of 1,2-*cis* kan zijn. De positie van de glycosidische binding en de introductie van 1,2-*trans*-bindingen kunnen veelal met beschermgroepen worden gestuurd. Voor het verkrijgen van 1,2-*cis*-glycosidische bindingen is geen degelijke algemene oplossing en de invoering verloopt vaak met vallen en opstaan. Een dergelijke procedure gaat gepaard met tijdrovende optimalisaties. Meer inzicht in hoe 1,2-*cis*-glycosidische bindingen tot stand komen is dus wenselijk. Dit proefschrift beschrijft systematische studies naar de invloed van de reactiviteit van de reactiepartners op de stereoselectiviteit van een chemische glycosylering. Deze reactiepartners zijn de elektrofile donor en de nucleofiele acceptor, die met elkaar reageren onder invloed van een activator. Met behulp van deze studies is er meer inzicht verkregen in het mechanisme van de glycosyleringsreactie en hoe deze te beïnvloeden is om 1,2-*cis*-selectieve koppelingen te geven.

De bestaande kennis over de reactiviteit van donoren en acceptoren alsmede de invloed daarvan op de selectiviteit van glycosyleringen wordt in **Hoofdstukken 1 en 2**

beschreven. Het eerste hoofdstuk behandelt de bestaande inzichten in het mechanisme van de glycosyleringsreactie en de invloed van de reactiviteit van de donor, het elektrofiel, in deze reactie. In het tweede hoofdstuk ligt de nadruk op het nucleofiel, de acceptor. De reactiviteit van zowel de donor als de acceptor kan worden beïnvloed door de wijze waarop de niet reagerende functies in de bouwstenen zijn beschermd met beschermgroepen. In het algemeen verminderen sterk elektronenzuigende acylbeschermgroepen de reactiviteit meer dan relatief minder sterk elektronenzuigende alkylbeschermgroepen. Waar de reactiviteit van glycosyldonoren goed onderzocht is en het algemeen geaccepteerd is dat verschillen in donorreactiviteit een verschuiving van een S_N2 -type naar een S_N1 -type mechanisme tot gevolg kan hebben, is de reactiviteit van glycosylacceptoren nauwelijks systematisch onderzocht en is de invloed hiervan op het reactiemechanisme niet in kaart gebracht. Hoofdstuk 2 geeft een overzicht met voorbeelden uit het recente en minder recente verleden die aantonen dat kleine veranderingen in de reactiviteit van de acceptor kunnen leiden tot grote verschuivingen in opbrengst, selectiviteit en reactiesnelheden van glycosyleringsreacties.

Hoofdstuk 3 beschrijft het eerste systematische onderzoek naar hoe de reactiviteit van een acceptor het mechanisme van glycosyleringsreacties beïnvloedt. Daartoe is een set modelacceptoren van verschillende nucleofiliciteit gebruikt. De modelacceptoren zijn gebaseerd op ethanol en bevatten een verschillend aantal fluoratomen (0 tot 3). Hoe meer fluoratomen het molecuul bevat, hoe minder nucleofiel het is. Dit komt door de elektronenzuigende werking van de fluoratomen. Het reactieve ethanol bleek hoge β -selectiviteit te geven in glycosyleringen met benzylideen beschermde glucose- en mannosendonoren en met een mannuronzuurdonor. Het veel minder reactieve trifluorethanol gaf juist hoge α -selectiviteit met de benzylideenglucosedonor en liet slechts een kleine afname in β -selectiviteit zien voor de benzylideenmannose- en mannuronzuurdonoren. Mono- en difluorethanol gaven mengsels van beide anomere producten in glycosyleringen met de glucosedonor, waarbij meer α -product voor het minder reactieve difluorethanol werd gevormd. Deze resultaten tonen aan dat de koppelingen van de benzylideenglucosedonor gevoelig zijn voor veranderingen in acceptorreactiviteit, terwijl de koppelingen van benzylideenmannose- en mannuronzuurdonoren dat niet zijn. Vervolgens werden relevante suikeracceptoren getest. Suikeracceptoren met primaire of equatoriale secundaire hydroxylgroepen waren voornamelijk β -selectief; axiale secundaire hydroxylgroepen werden juist α -selectief voor de glucosedonor. Wederom bleven de mannose- en mannuronzuurdonoren β -

selectief. Hiermee kan het verband worden gelegd tussen de reactiviteit van de acceptor en de verschuiving van het reactiemechanisme: substituties met sterke nucleofielen hebben meer een S_N2 -karakter en substituties met zwakke nucleofielen meer een S_N1 -karakter. Voor glucose geven deze twee mechanismen twee verschillende producten. Een S_N2 -reactie met het anomere triflaat als vetrekkende groep geeft het β -product, terwijl een S_N1 -reactie via het oxocarbeniumion in de ${}^4H_3/{}^4E$ -conformatie het α -product geeft. De reden dat benzylideenmannose- en mannuronzuurdonoren juist erg β -selectief bleven kan worden verklaard met de β -selectieve conformeren van de oxocarbeniumionen in de S_N1 -reacties. Zowel de $B_{2,5}$ -conformatie die de benzylideenmannosdonor kan aannemen als de 3H_4 -conformatie die mannuronzuurdonoren prefereren, zijn β -selectief.

In **Hoofdstuk 4** wordt de invloed van een azide-functionaliteit als aminebeschermgroep in een glucosamedonor behandeld door de glycosyleringen van benzyliideenglucosazide te vergelijken met benzyliideenglucose uit hoofdstuk 3. De 2-azido-substituent is een elektronenzuigende groep en destabiliseert de vorming van lading op het anomere centrum meer dan een 2-O-benzylgroep, waardoor het S_N1 - S_N2 -evenwicht van de glycosyleringen meer aan de S_N2 -kant komt te liggen. Dit heeft als gevolg dat koppelingen van glucosazidedonoren met hogere β -selectiviteit verlopen. Omdat het α -product, met de 1,2-*cis*-configuratie, juist vaak gewenst is, werden ook de andere beschermgroepen op deze donor geëvalueerd. Het vervangen van de O-benzylgroep op de C-3-positie door een meer zuigende O-benzoylgroep had een gering effect en de donor werd, zoals verwacht, nog β -selectiever. De benzylideenring vervangen door een silylideenring maakte de donor juist reactiever en minder β -selectief. In combinatie met een zwak nucleofiel kan daarmee hoge α -selectiviteit worden verkregen.

Waar de silylideen- en benzylideenbeschermgroepen een ring spannen tussen de C-4- en C-6-posities in monosacchariden, wordt in **Hoofdstuk 5** de invloed van een cyclische bisacetaalgroep, die de alcoholen op C-3 en C-4 beschermd, besproken. Gebruik van de door butaandion-di-acetaal (BDA) beschermde glucosazidedonor geeft β -selectieve koppelingen. De BDA-ring vermindert de conformationele vrijheid van de donor en hindert als zodanig de vorming van het oxocarbeniumion, wat vervolgens leidt tot veel S_N2 -karakter en hoge β -selectiviteit in de koppelingen.

De rol van de nucleofiliciteit van de acceptor wordt in detail behandeld in **Hoofdstuk 6**. Een uitgebreide reeks van suikeracceptoren met alle mogelijke beschermgroepatronen van benzyl- en benzoylgroepen op een glucoseacceptor werd

geëvalueerd. De door benzylideen beschermde glucose- en glucosazidedonoren uit hoofdstukken 3 en 4 werden als modeldonoren gekozen om de reactiviteit-selectiviteitsrelatie van de acceptoren in kaart te brengen. De koppelingen van beide donoren zijn zeer gevoelig voor veranderingen van acceptorreactiviteit en zijn complementair aan elkaar, waarbij de glucosazidedonor steevast meer β -product geeft. Uit deze studie kwam naar voren dat verandering van reactiviteit van acceptoren, door variatie van beschermgroepen op de C-3- en C-4-posities, een grote invloed kan hebben op de stereoselectiviteit in glycosyleringen. Een enkele strategisch geplaatste benzoylgroep op de acceptor was voldoende om volledige α -selectiviteit te geven met de glucosedonor en hoge α -selectiviteit met de overeenkomstige glucosazidedonor. Door introductie van een tweede benzoylgroep in de acceptor kon ook de koppeling van deze laatste donor met volledige α -selectiviteit worden bewerkstelligd. Gesubstitueerde benzoylbeschermgroepen op de C-6-positie van de acceptor bleken echter minder effect te hebben en alleen twee nitrogroepen op beide ortho-posities gaf een afname in reactiviteit en een toename in α -selectiviteit.

Hoofdstuk 7 en 8 hebben vijftringsuikers, ook wel furanoses genoemd, als onderwerp. Het eerste hoofdstuk beschrijft de synthese van een set van furanoses met verschillende substituenten op de C-2- of C-5-positie. Op C-2 werd een fluor of een azide geïnstalleerd en C-5 werd geoxideerd tot een uronzuur (methylester). Oxidatie van de C-5-alcoholen in alle furanoses verliep zonder problemen maar het installeren van de substituenten op de C-2-positie bleek niet triviaal. De gekozen strategie omvatte in eerste instantie de inversie van de C-2-positie door gebruik te maken van een triflaat als *O*-vertrekkende groep en fluoride- of azide-anionen als nucleofielen. Voor de vier verschillende configuraties van de furanoses (arabinose, ribose, lyxose en xylose) verliep de inversie met verschillende uitkomsten. Het inverteren van ribose gaf geen problemen en de 2-fluoro- en 2-azidoarabinoses waren gemakkelijk te verkrijgen. Zowel het arabinosetriflaat inverteren om zo de riboseconfiguratie te verkrijgen, als de transformatie van een xylose- naar een lyxose-geconfigureerde bouwsteen, gaf bijproducten door participatie van de beschermgroepen. Voor arabinose was de β -anomeer probleemloos om te zetten naar 2-fluoro- en 2-azidoribose, maar de α -anomeer gaf een ongewenste en verrassende migratie van de anomere *O*-methylgroep naar de C-2-positie. In het geval van xylose gaf alleen de α -anomeer het gewenste lyxoseproduct en beide anomeren gaven significante hoeveelheden bijproducten als gevolg van participatie van de C-5-*O*-benzylgroep. Het inverteren van lyxose naar xylose bleek

onmogelijk en alleen furan werd gevormd. Om de gewenste 2-fluoro- en 2-azidoxyloses te kunnen maken werd gebruik gemaakt van een andere strategie: met behulp van een glycaal werden de azido- en fluorogroepen geïnstalleerd. Tenslotte werden er van de vier furanoseconfiguraties imidaatdonoren gesynthetiseerd, met in elk van de configuraties een variatie in de drie verschillende C-2- of C-5-modificaties. De glycosylerende eigenschappen van deze twaalf donoren met modelacceptoren wordt in Hoofdstuk 8 besproken.

Hoofdstuk 8 beschrijft een onderzoek naar de selectiviteit van furanosedonoren als de reacties worden uitgevoerd onder S_N1 -condities, waarbij verondersteld wordt dat oxocarbeniumion-intermediaren verantwoordelijk zijn voor de selectiviteit. Allereerst werden de imidaatdonoren uit Hoofdstuk 7 geglycosyleerd met de modelacceptoren allyltrimethylsilaan of triethylsilaan-*d*. De koppelingen van de arabinose-, ribose- en xylosedonoren verliepen met uitstekende 1,2-*cis*-selectiviteit, terwijl xylosedonoren anomere mengsels gaven. Vervolgens werd met behulp van kwantummechanische berekeningen de energie van alle mogelijke conformaties van de oxocarbeniumionen berekend en bepaald welke conformeren het meest stabiel waren. Daaruit kwam naar voren dat oxocarbeniumionen die een enkele conformatie sterk prefereerden ook zeer selectief waren in de experimentele glycosyleringen. In het geval van het arabinosyl-oxocarbeniumion werden meerdere conformaties laag in energie gevonden. Deze conformaties waren nagenoeg plat. Echter, dit had geen invloed op de experimentele glycosyleringen, welke volledig 1,2-*cis*-selectief bleken. Voor de verschillende xylosyl-oxocarbeniumionen werden ook meerdere conformaties gevonden die vergelijkbaar laag in energie waren. Naast de gebruikelijke conformaties uit het bestaande S_N1 -model voor furanoseglycosyleringen, waarbij de E_3 - en 3E -conformaties de hoofdrol spelen, werd nu ook de 4E -conformatie aangetroffen. Doordat er meerdere gunstige conformaties waren, gaven de glycosyleringsreacties anomere mengsels. Uit de studie kan geconcludeerd worden dat de gebruikte kwantummechanische methode in staat is verschuivingen in de populatieverdeling van de verschillende conformaties in kaart te brengen. Deze verschuivingen worden veroorzaakt door de stereo-elektronische effecten van functionele groepen zoals een azide, fluoride, of uronzuur. Met de berekende energieverdeling van de conformaties van een oxocarbeniumion kan vrij nauwkeurig worden voorspeld of een glycosyleringsreactie onder S_N1 -condities selectief verloopt of dat erosie van selectiviteit verwacht kan worden.