



University of Groningen

Total synthesis of mycolic acids and site-selective functionalization of aminoglycoside antibiotics

Tahiri, Nabil

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

2019

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Tahiri, N. (2019). Total synthesis of mycolic acids and site-selective functionalization of aminoglycoside antibiotics. [Groningen]: University of Groningen.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

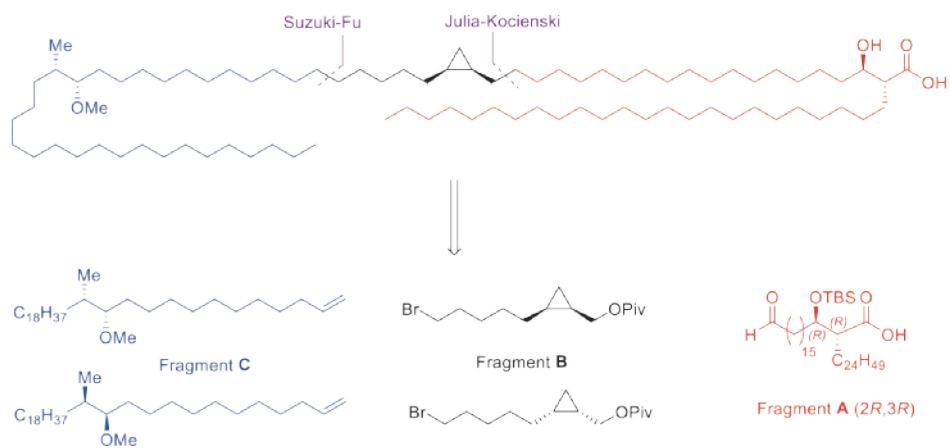
Nederlandse Samenvatting

Ongeveer een kwart van de wereldbevolking is besmet met een sluimerende (gesloten tbc) of een actieve tuberculose besmetting (open tbc). Het aantal geïnfecteerde patiënten stijgt in een rap tempo, en de 10 miljoen nieuwe infecties in 2017 zijn hier een goede weerspiegeling van. Wanneer de ziekte op tijd wordt gediagnosticeerd is de kans op genezing aanzienlijk, mits de patiënt een grondige antibioticakuur ondergaat gedurende meerdere maanden. Als gevolg van de opkomst van meerdere resistente tuberculose bacteriën, verliezen de huidige antibiotica steeds vaker hun effectiviteit. De behandeling van deze resistente vormen vergt de toepassing van een combinatie van meerdere toxische medicijnen in een hogere dosis over een langere periode (tot wel twee jaar), met als logisch gevolg dat de kwaliteit van leven voor patiënten aanzienlijk achteruit gaat. Deze lastige behandeling kan deels verklaard worden door de ongebruikelijk dikke celwand van de tuberculose bacterie. Het buitenste membraan, ook wel het mycomembraan genoemd, bevat een hoge concentratie mycolzuren. Deze vetzuren kunnen zich vouwen in het mycomembraan om zo een compacte en zeer hydrofobe beschermlaag tegen externe dreigingen te vormen. Deze vetzuren zijn essentieel voor het bestaan van pathogene tuberculose, en kunnen worden gecategoriseerd in drie klassen: de α -, methoxy-, en ketomycolzuren. Afhankelijk van de klasse waartoe ze behoren bevatten deze zeer lipofiele vetzuren minimaal 74 en maximaal 88 koolstofatomen. Hoewel deze moleculen bijna een eeuw geleden geïsoleerd zijn, is de stereochemie nog steeds niet volledig opgehelderd.

Aangezien deze mycolzuren verantwoordelijk zijn voor een deel van het immuunrespons na infectie door tuberculose, zijn deze verbindingen vanuit biologisch oogpunt zeer relevant. Ze worden daarom intensief bestudeerd door biologen. Onderzoekers werken aan de ontwikkeling van nieuwe componenten voor vaccinaties en diagnostische methodes gebaseerd op deze moleculen, maar zijn terughoudend om dit te doen op basis van natuurlijk geïsoleerd materiaal. Het gebruik van natuurlijk materiaal verhoogt namelijk de kans op vervuilingen door andere natuurlijk aanwezige componenten in het isolaat. Bovendien is het kweken van pathogene tuberculose bacteriën niet geheel zonder risico's. Tuberculose onderzoekers zouden daarom veel baat hebben bij een asymmetrische totaalsynthese van deze moleculen, bij voorbaat een met een hoog rendement.

Met het werk beschreven in dit proefschrift heb ik het tuberculose-onderzoek vanuit twee verschillende invalshoeken benaderd. Aan de ene hand heb ik een asymmetrische totaalsynthese van vier methoxy mycolzuur diastereomeren ontwikkeld, wat ervoor zorgt dat deze stoffen nu toegankelijker zijn, en daardoor door meer biologen kunnen worden bestudeerd. Bovendien kunnen deze verschillende diastereomeren dienen als referentiemateriaal in toekomstige stereochemie ophelderingstudies. Aan de andere kant, heb ik nieuwe aminoglucoside antibiotica ontwikkeld, die mogelijk tegen tuberculose gebruikt zouden kunnen worden. Een belangrijke pijler in dit deel van het onderzoek was de regioselectieve oxidatie van suikers, die ontwikkeld is door onze onderzoeksgroep in 2013.

De door ons gebruikte strategie in de synthese van deze vier mycolzuur diastereomeren staat weergegeven in Schema 1. We hebben het molecuul in drie fragmenten verdeeld van ongeveer gelijkwaardige stereocomplexiteit. De synthese van deze fragmenten staat beschreven in **hoofdstuk 2**. Om vier verschillende diastereomeren te verkrijgen hebben we beide enantiomeren van fragment **C** en fragment **B** gemaakt, terwijl van fragment **A** een enkel enantiomeer (*2R,3R*) was vervaardigd. Fragment **A** was gesynthetiseerd in negen stappen en 24% opbrengst, en voor de synthese van de fragmenten **B** en **C** waren in totaal acht stappen nodig per fragment met een opbrengst van respectievelijk 38% en 45%. De koppeling van deze fragmenten staat beschreven in **hoofdstuk 3**. Vanuit de afzonderlijke fragmenten waren acht extra stappen nodig om uiteindelijk de vrije mycolzuren te genereren. De langste lineaire sequentie bedroeg 17 stappen in totaal, met een goede opbrengst van maar liefst 12%. De mycolzuren zijn vervolgens gederiviseerd als (*R*)- en (*S*)-glycerol monomycolaten, en glucose monomycolaten.

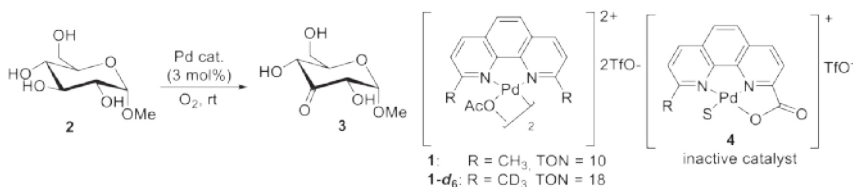


Schema 1. Retrosynthetische analyse voor de synthese van mycolzuren.

De biologische tests van deze verbindingen wezen uit dat *S,S* stereochemie in het α -methyl methoxy segment (Fragment **C**) een hogere T cel activatie vertoonde vergeleken met *R,R* stereochemie op deze positie. Aan de andere kant waren de verschillen in de stereochemie in de cyclopropylring minimaal, maar vertoonden de isomeren met *R,S* stereochemie in de cyclopropylring (zoals is weergegeven in het volledige molecuul in Schema 1) een betere T cel activatie in vergelijking met de *S,R* isomeren. De optische rotaties van de methyl esters waren in overeenstemming met de literatuurwaarden verkregen door Al Dulayymi *et al.* en Asselineau *et al.* Met de experimenteel bepaalde molaire rotaties van deze verbindingen hebben wij voor het eerst aangetoond dat het principe van optische superpositie in deze verbindingen opgaat, en dat daarom de strategie van Asselineau *et al.* voor de bepaling van de stereochemie geldig is.

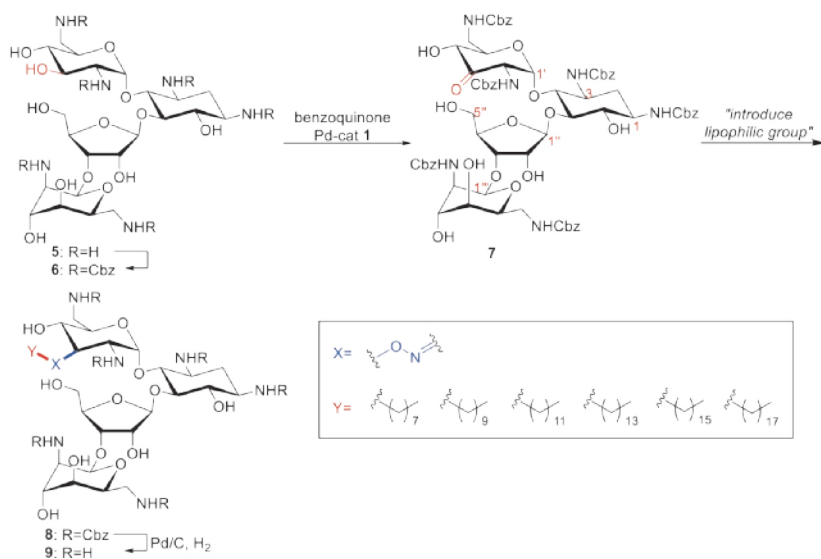
Het resterende deel van dit proefschrift is gericht op de toepassing van de door onze onderzoeksgroep ontwikkelde Pd-gekatalyseerde regioselectieve oxidatie van suikers. In

hoofdstuk 4 staat de optimalisatie van katalysator **1** onder *aerobe condities*. Deze oxidatie kan uitgevoerd met benzochinon of met zuurstof als terminale oxidator. Het gebruik van benzochinon resulteert in hoge reactiesnelheden, maar heeft als bijkomend nadeel dat stoichiometrische hoeveelheden hydrochinon worden gevormd die de isolatie van het product moeilijker maken. Aan de andere kant resulteert het gebruik van zuurstof in schonere eindproducten, maar zorgt de generatie van reactieve palladium hydroperoxide producten tijdens de reactie voor auto-oxidatie van de katalysator. Dit leidt tot de vorming van gedeactiveerde katalysator **4** (Schema 2), waardoor hogere hoeveelheden katalysator nodig zijn tijdens de reactie. Door middel van een simpele deuterering van beide methyl substituenten in katalysator **1** werd katalysator **1-d₆** verkregen, een oxidatief resistentere katalysator. Doordat wij het auto-oxidatie proces van de katalysator remden, konden we de lading van de katalysator verlagen van 10 mol% naar 3 mol%.



Schema 2. De regioselectieve oxidatie van methyl α -D-glucopyranoside onder aerobe condities.

In **hoofdstuk 5** staat de regioselectieve oxidatie van *N*-beschermd neomycine B beschreven. Het oxidatieproduct werd gebruikt voor de synthese van een bibliotheek bestaande uit een reeks van nieuwe amphiphiele neomycine derivaten. Na een reeks van optimalisatie reacties werden de lipofiele ketens (bestaande uit 8 tot 18 koolstoffen) geïnstalleerd via een oxim (Schema 3). Alhoewel de verkregen *E/Z* isomeren deels konden worden gescheiden met behulp van semi-preparatieve HPLC, bleek de isomerisatie van de gezuiverde verbindingen op kamertemperatuur in water onoverkomelijk. Een voorlopige activiteit test van deze verbindingen op *B. subtilis* vertoonde geen significante verschillen tussen de *E/Z* isomeren. Wel vertoonde de verbindingen met C12, C14 en C16 ketens een betere activiteit ten opzichte van de C8, C10 en C18 derivaten. Meer intensieve tests in de toekomst zullen moeten uitwijzen of deze verbindingen ook activiteit vertonen tegen klinisch relevante bacteriën en schimmels.



Schema 3. De korte synthese van een amphiphiele neomycin B bibliotheek.

