

Diss. ETH Nr. 17047

**Bicyclische Kohlenhydratmimetika mit erzwungener  
Bootkonformation. Herstellung und Evaluation als  
übergangszustandsanaloge  $\beta$ -Glycosidasehemmer.**

ABHANDLUNG

zur Erlangung des Titels  
Doktor der Naturwissenschaften

der

EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE  
ZÜRICH

vorgelegt von

**Stephan Buser**

Dipl. Chem. ETH Zürich  
Geboren am 08. November 1973  
Niedererlinsbach SO

Angenommen auf Antrag von:  
Prof. Dr. A. Vasella, Referent  
Prof. Dr. H.-J. Borschberg, Korreferent

2007

## 1. Zusammenfassung/Summary

Gemäss *Deslongchamps'* Postulat muss ein  $\beta$ -Pyranosid im Verlauf der Glycosidspaltung vor dem Erreichen des Übergangszustands eine Konformationsänderung durchlaufen, um eine Wechselwirkung zwischen einem der beiden nichtbindenden, doppelt besetzten Orbitale des endocyclischen Sauerstoffatoms und dem antibindenden  $\sigma^*$ -Orbital der glycosidischen Bindung zu ermöglichen ( $n \rightarrow \sigma^*$  Wechselwirkung).  $\alpha$ -Pyranoside reagieren direkt aus der Grundzustandskonformation. Klassische Betrachtungsweisen sehen im Gluconolacton **40** einen übergangszustandsanalogen Glycosidasehemmer (Abbildung 1.1, S. 9), da dessen Grenzstruktur dem reaktiven Zwischenprodukt (einem solvatisierten Oxocarbeniumion) und somit dem Übergangszustand der Glycosidhydrolyse ähnelt. Zahlreiche Analoge des Gluconolactons wurden im Laufe der Jahre hergestellt und als Glycosidaseinhibitoren getestet, unter anderem das Amidin **41**, das Hydroximolactam **31**, das Imidazol **39** und das sehr stark hemmende Phenethylimidazol **43**. Als Gemeinsamkeit besitzen diese Hemmer alle ein  $sp^2$ -hybridisiertes, anomeres Zentrum. Durch die postulierte Änderung der Substratkonformation wird das glycosidische Sauerstoffatom des Substrats um ca. 2 Å über die gemittelte Ebene des Glycons im Grundzustand verschoben. Somit sind Lactonanalogue keine idealen, übergangszustandsanalogen Hemmer. Sie entsprechen eher einem Punkt auf der Reaktionskoordinate, wo der Übergangszustand bereits überschritten wurde.

Eine neue Generation von Hemmern, welche zwar die reaktive Konformation nachahmen, jedoch weder die Verlängerung der zu spaltenden Bindung noch die Umhybridisierung, sollte Aufschluss geben über das Ausmass der Änderung der Substratkonformation und die Frage beantworten, ob Konformationsänderung und Umhybridisierung konzertiert verlaufen. Solche Hemmer sollten eine fixierte Boot- oder Twistboot-Konformation besitzen, so wie die Isochinolidine **24** und **25** (Abbildung 1.1), die als  $\beta$ -Glycosidasehemmer in dieser Arbeitsgruppe bereits evaluiert wurden.

Um die Versuchsreihe mit bicyclischen Hemmern weiter zu führen, wurde die Länge der Brücke zwischen C(1) und C(4) modifiziert und damit die Geometrie der bootähnlichen Struktur und die Position der Substituenten beeinflusst. Bei der Synthese dieser neuartigen Verbindungen spielte jeweils eine andere Variante der *Diels-Alder*-

Reaktion eine Schlüsselrolle, um zum bicyclischen Racemat zu gelangen. Das Aminotetraol **72** wurde in einer Gesamtausbeute von 20% in 10 Schritten erhalten; das Aminotriol **56** in 13 Schritten und 5% Gesamtausbeute. Das Norbornan **55** wurde in 14 Schritten und 8% Gesamtausbeute hergestellt; das *Homo*-Isochinuclidin **57** in 13 Schritten und 11% Gesamtausbeute.

Die hergestellten Verbindungen wurden enzymkinetisch getestet. Die stärkste Hemmung wurde beim Norbornan **55** beobachtet; es hemmte  $\beta$ -Mannosidase mit einer Hemmkonstante von  $K_i = 340 \mu\text{M}$ . Sämtliche Ergebnisse der Hemmstudien der übrigen Verbindungen lagen im sub-millimolaren Bereich.

Die Ergebnisse zeigen, dass bereits eher untergeordnete strukturelle Änderungen die Hemmung stark beeinflussen. Dies ist im Einklang mit der Erwartung, dass Hemmer, die sich strukturell dem vom Enzym stark gebundenen Übergangszustand nähern (somit besonders stark an das Enzym gebunden), auf strukturelle Änderungen besonders stark ansprechen. Es ist fraglich, ob die gleichzeitige Längung der zu spaltenden Bindung, die Konformationsänderung und die Umhybridisierung von einer stabilen Verbindung überhaupt nachgeahmt werden kann.

According to *Deslongchamps'* postulate a  $\beta$ -pyranoside must first undergo a conformational change prior to reaching the transition state. Thus, an interaction takes place with a non-bonding, doubly occupied orbital of the endocyclic oxygen atom and the antibonding  $\sigma$ -orbital of the glycosidic bond ( $n \rightarrow \sigma^*$  interaction).  $\alpha$ -Pyranosides hydrolyse directly from their ground state conformation. From a classical viewpoint, the gluconolactone **40** was considered a transition-state mimic (Abbildung 1.1, S. 9), since its resonance structure resembles the oxocarbeniumion-like transition-state of the hydrolysis of glycosides. Numerous analogues of the gluconolactone **40** have been synthesised and tested as glycosidase inhibitors, among them the amidine **41**, the hydroxymolactam **31**, the imidazole **39** and the very strongly inhibiting phenethyl imidazole **43**. All these inhibitors possess an  $sp^2$ -hybridized anomeric centre. Due to the postulated substrate distortion, the glycosidic oxygen atom, however, is shifted by ca. 2 Å above the average plane of the glycosidic ring in the ground state. Therefore, analogues of the gluconolactone are not ideal, transition-state mimics. They rather correspond to a point on the reaction coordinate after the transition state.

A new generation of inhibitors which mimic the reactive conformation, but neither the elongation of the scissile bond nor the rehybridisation should provide insight about the extent of the substrate distortion and the issue of whether the conformational change and rehybridisation are concerted, or not. These inhibitors possess a conformationally biased boat or twist-boat conformation, such as the isoquinuclidines **24** and **25** (Abbildung 1.1) which have already been evaluated as  $\beta$ -glycosidase inhibitors in this group. Continuing the study of bicyclic inhibitors, I modified the length of the bridge between C(1) and C(4), thus modulating the geometry of the boat-like shape of the inhibitor and the position of the substituents.

For the preparation of these novel inhibitors, variants of the *Diels-Alder*-reaction played a key role. The aminotetraol **72** was obtained in 10 steps and in an overall yield of 20%; the aminotriol **56** was prepared in 13 steps and in an overall yield of 5%, the norbornane **55** in 14 steps and in an overall yield of 8%, and the *homo*-isoquinuclidine **57** in 13 steps and in an overall yield of 11%. These compounds were tested enzymatically. The strongest inhibition was observed with the norbornane **55**; it inhibited  $\beta$ -mannosidase with an inhibition constant of  $K_i = 340 \mu\text{M}$ .

These results show that relatively small structural changes affect the inhibition strongly. This is in agreement with the expectation that inhibitors that are structurally rather close to the transition state (particularly strongly bound by the enzyme) respond strongly to even minor structural changes. One has to ask if the simultaneous lengthening of the scissile bond, the conformational changes, and the rehybridisation can at all be mimicked by a stable compound.

Abbildung 1.1

