ETH zürich

ETH Library

Glycosylphosphatidylinositols and phosphatidylinositol mannosides

chemical syntheses and method development

Doctoral Thesis

Author(s):
Liu, Xinyu

Publication date:
2007

Permanent link:
https://doi.org/https://doi.org/10.3929/ethz-a-005412221

Rights / license:
In Copyright - Non-Commercial Use Permitted

This page was generated automatically upon download from the ETH Zurich Research Collection.
For more information, please consult the Terms of use.

Doctoral Thesis ETH No. 17093

Glycosylphosphatidylinositols and Phosphatidylinositol Mannosides: Chemical Syntheses and Method Development

A dissertation submitted to the
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY (ETH) ZÜRICH

for the degree of
Doctor of Natural Sciences

Presented by

Xinyu Liu

B.E. Chemistry
Kyoto University, Japan

Born September 9,1978
in Shenyang, P.R. China.

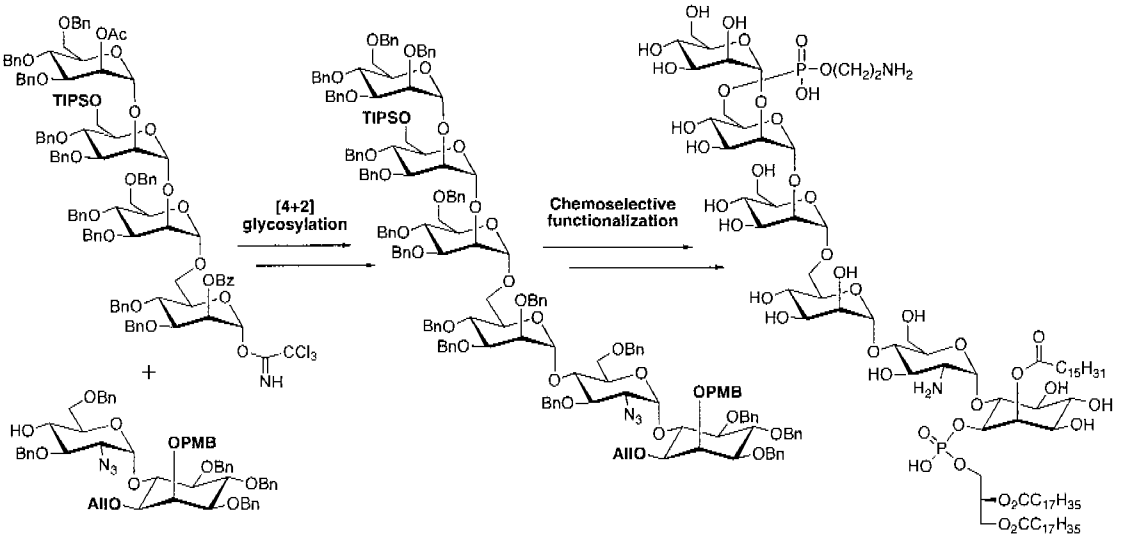
accepted on the recommendation of
Prof. Dr. Peter H. Seeberger, examiner
Prof. Dr. Erick M. Carreira, co-examiner

Zürich, 2007

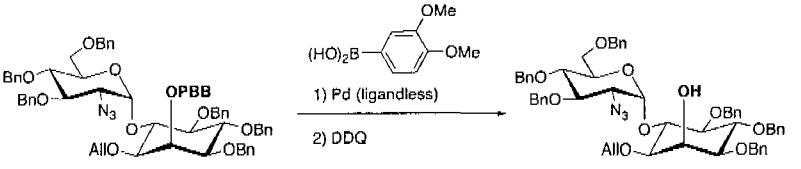
Summary

Cell surface glycoconjugates in the form of glycolipids and glycoproteins play vital roles in various biological recognition events. Recent advances in organic synthesis have made available numerous structurally well-defined oligosaccharides for elucidating their precise biological functions, whereas the procurement of homogeneous glycolipids and glycoproteins by chemical synthesis still represents significant challenges. The central theme of this Ph.D. thesis is the total chemical synthesis of two distinctive classes of glycoconjugates, glycosylphosphatidylinositols (GPIs) and phosphatidylinositol mannosides (PIMs). Complementary to these synthetic efforts, a new hydroxyl protecting group and a practical route to generate glycosyl phosphates, were developed.

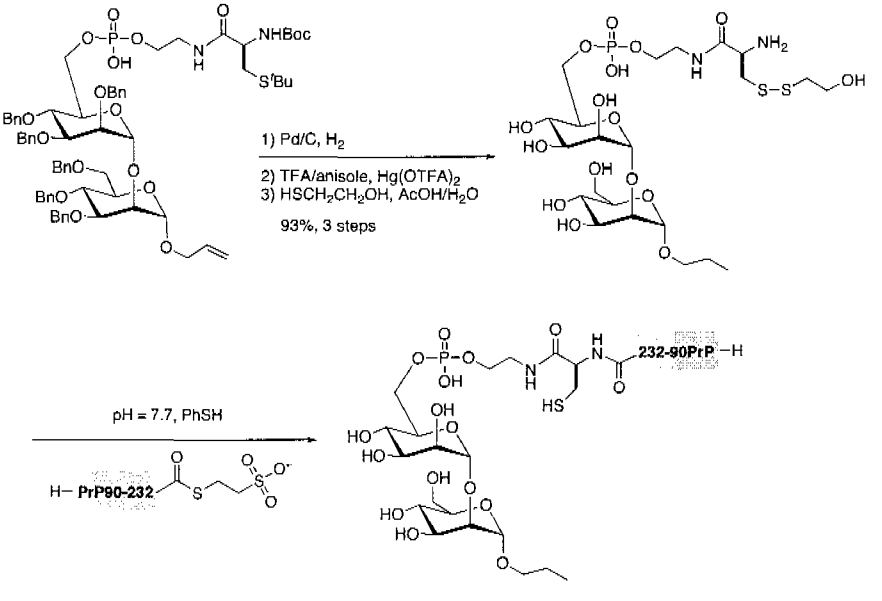
The first part of this dissertation deals with the chemical syntheses of GPIs, a class of glycolipids that anchors proteins to plasma membranes in eukaryotic cells. The initial synthetic target was the putative malaria toxin, a fully lipidated GPI from *Plasmodium falciparum*. A convergent synthetic strategy was designed for this molecule. A pseudohexasaccharide with three orthogonal protecting groups was synthesized via a stereoselective [4+2] glycosylation between a tetramannoside fragment and a glucosamine-inositol pseudodisaccharide. Late stage chemoselective modifications then culminated in the first total synthesis of the native malarial GPI. This synthetic GPI served as an important tool to study GPI's involvement in malaria-associated pathogenesis.



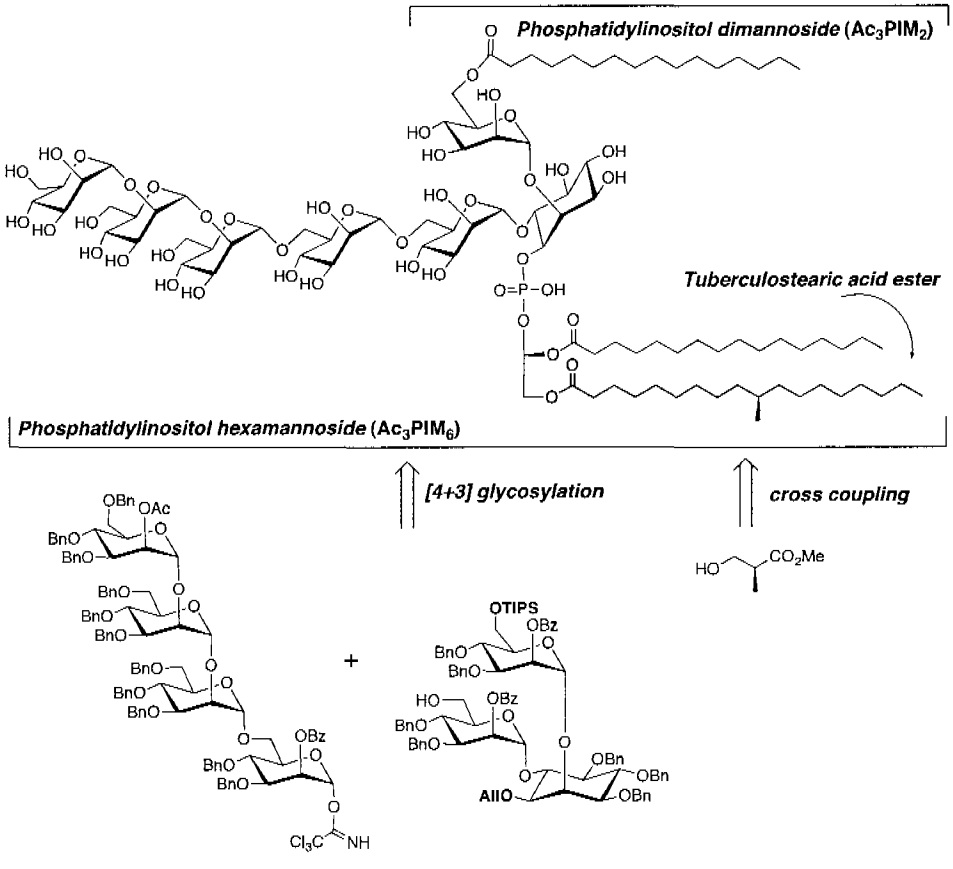
During this synthetic study, a new strategy was developed for the oxidative cleavage of the latent *p*-bromobenzyl (PBB) ether, via a ligandless Suzuki–Miyaura cross coupling reaction. This protocol proved superior to the previous method that relied on the acidic cleavage via Buchwald-Hartwig amination, a process that is incompatible with substrates containing azido groups.



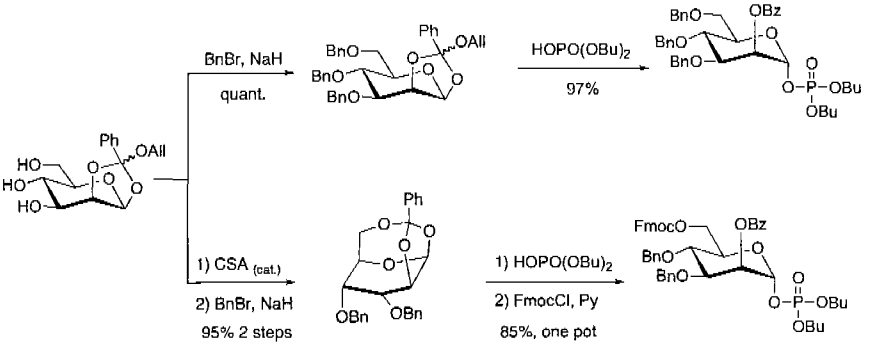
Considerable effort was then directed at establishing a general method for the synthesis of defined GPI-anchored proteins, with a particular emphasis on the generation of a GPI-anchored prion protein. Synthetic strategies were evaluated in a dimannoside model. Introduction of the cysteine moiety to a GPI backbone prior to global deprotection proved feasible and the late stage native chemical ligation with a recombinant prion protein with C–terminal thioester was successful. These studies paved the way for the assembly of a fully GPI-anchored prion protein.



The second part of this dissertation describes the chemical syntheses of phosphatidylinositol mannosides (PIMs), a class of antigenic glycolipids as the key constituents of the mycobacterial cell wall. PIMs occur in several glycoforms with varying numbers of mannoses and lipid residues. The total synthesis of the most abundant PIMs, triacylated phosphatidylinositol dimannoside (Ac_3PIM_2) and hexamannoside (Ac_3PIM_6), were addressed. The synthetic strategy relied on a [4+3] glycosylation of a tetramannoside fragment and inositol-dimannoside fragment, which allowed for convergent access to the glycan backbone of the PIM_2 and PIM_6. A short practical synthesis of tuberculostearic acid was achieved based on a copper-catalyzed cross coupling reaction. Union of the glycan and lipid parts resulted in the first total synthesis of native PIM_2 and PIM_6.



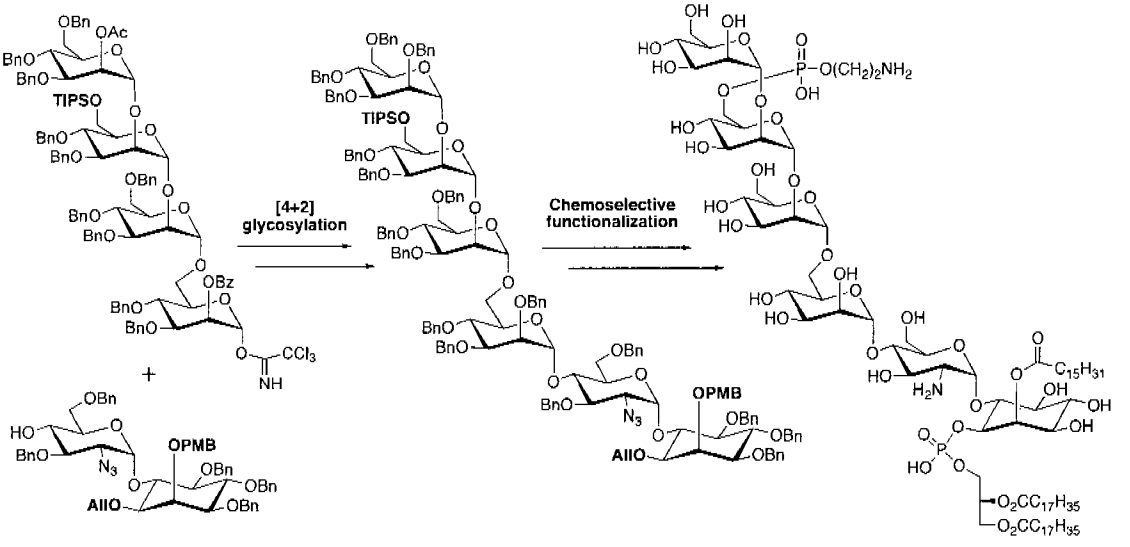
The third part of this thesis presents a practical method for the generation of glycosyl phosphates, a novel class of glycosylating agents. The extensive use of glycosyl 1,2-*O*-orthoesters as synthetic intermediates in the assembly of GPIs and PIMs led to the discovery that glycosyl 1,2-orthoesters can be converted to the corresponding glycosyl 1-*O*-phophates with high efficiencies when using a slight excess of dibutyl phosphate. The same strategy was also applicable to glycosyl tricyclic orthoesters that had been rarely used for the preparation of functional building blocks for chemical glycosylation. These investigations expanded the scope of glycosyl phosphate chemistry, but also demonstrated the hidden synthetic values of glycosyl orthoesters.



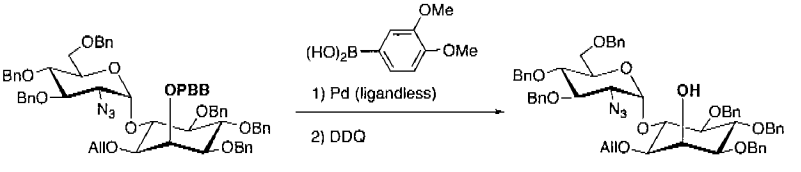
Zusammenfassung

Glykolipide und Glykoproteine spielen als Zelloberflächen-Bestandteile eine entscheidende Rolle in einer Reihe von biologischen Erkennungsprozessen. Während die gegenwärtigen Fortschritte in der organischen Synthese es ermöglicht haben, die meisten strukturell definierten Oligosaccharide synthetisch aufzubauen und so ihre biologische Rolle präzise zu bestimmen, stellt die Beschaffung der Glykolipide und Glykoproteine mittels chemischer Synthese immer noch eine grosse Herausforderung dar. Im Mittelpunkt folgender Arbeit stehen die Totalsynthesen von zwei bestimmten Klassen von Glykokonjugaten, der Glykosylphosphatidylinositole (GPI) und der Phosphatidylinositolmannoside (PIM). Ergänzend zu diesen präparativen Arbeiten wurden zusätzlich eine neuartige Hydroxyl-Schutzgruppe sowie ein praktischer synthetischer Zugang zu Glykosylphosphaten entwickelt.

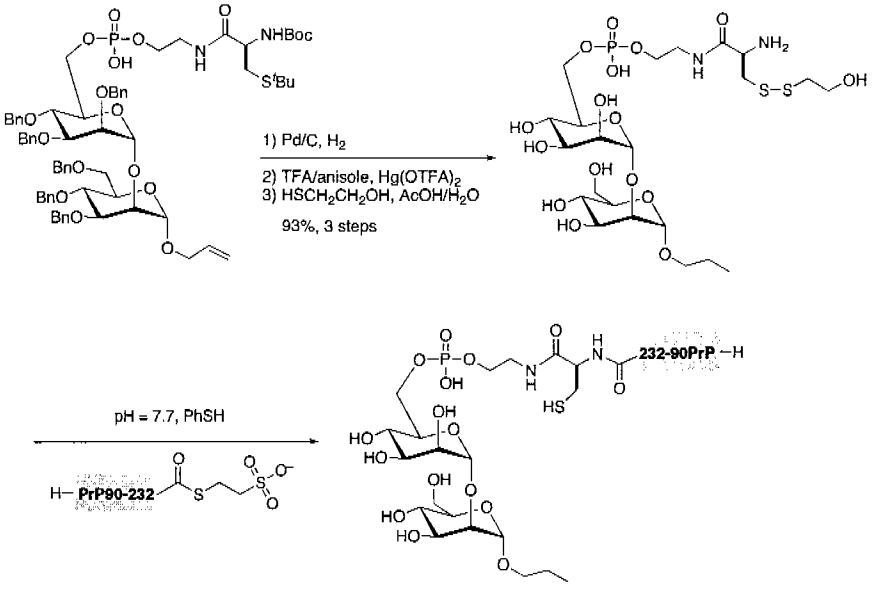
Der erste Teil der vorliegenden Dissertation behandelt die Synthese von GPI-Molekülen. Diese sind eine Klasse von Glykolipiden, die für die Verankerung der Proteine in der Plasmamembran eukaryotischer Zellen verantwortlich sind. Als primäres Ziel diente hierbei die Synthese des vermutlichen Malariatoxins, eines vollständig lipidierten GPI-Moleküls von *Plasmodium falciparum*. Hierfür wurde eine konvergente Synthesestrategie entworfen. Das Pseudohexasaccharid wurde mittels stereoselektiver [4+2]-Glykosylierung zwischen einem Tetramannose-Fragment und einem Glukosamin-Inositol-Pseudodisaccharid aufgebaut. Chemoselektive Modifizierungen in der späten Phase der Synthese krönten die erste Totalsynthese des natürlichen Malaria-GPI-Moleküls. Mit dem auf diese Weise erhaltenen synthetischen Glykokonjugat wurde schliesslich die potenzielle Beteiligung des Moleküls an den Malaria-assoziierten pathogenen Prozessen untersucht.



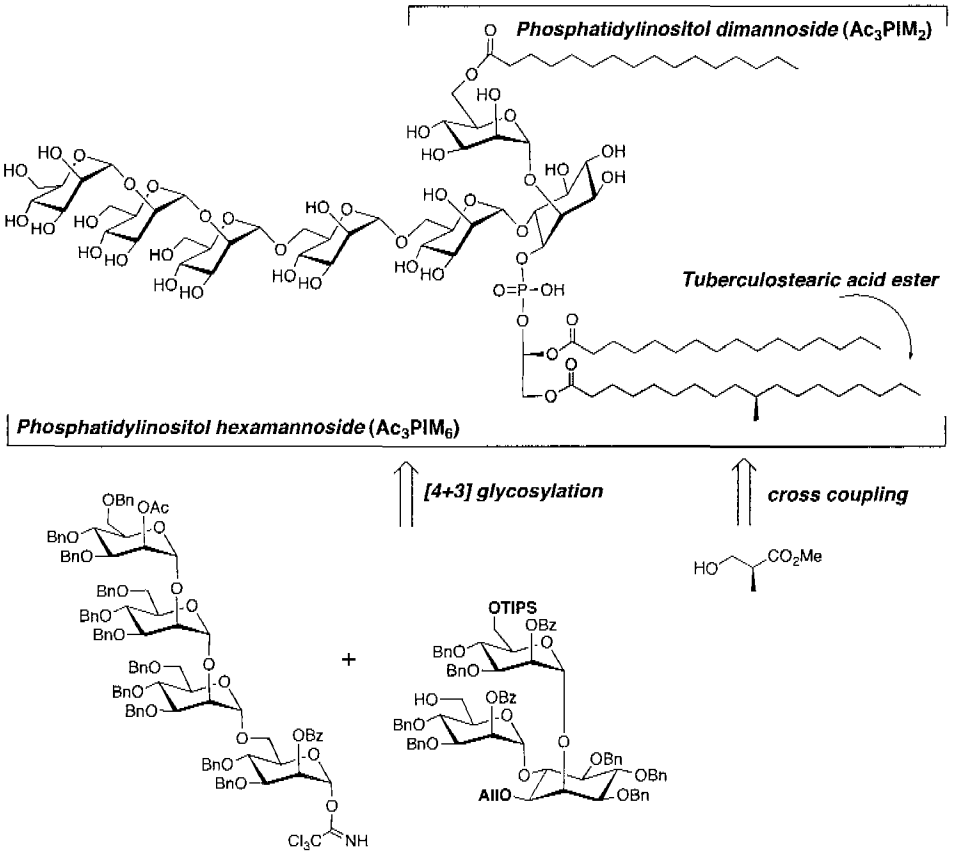
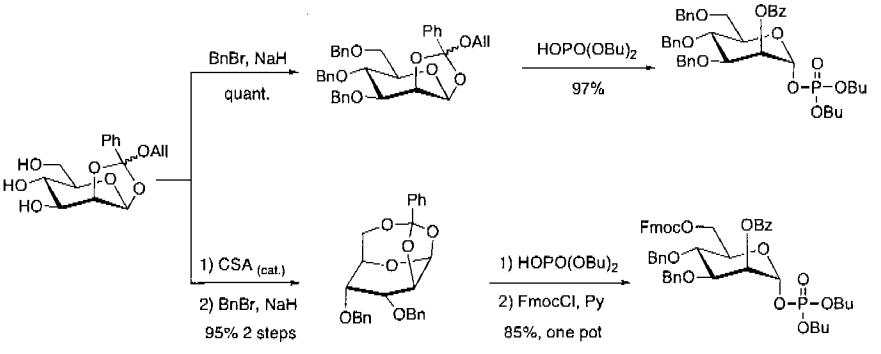
Während dieser synthetischen Studien wurde eine neuartige Schutzgruppenstrategie entwickelt. Diese erlaubt es, die *p*-Bromobenzylether (PBB) mittels ligandenfreier Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplung oxidativ zu spalten. Das neu entwickelte Protokoll stellt eine bessere Alternative dar, verglichen mit der aus vorherigen Arbeiten bekannten säurekatalysierten Spaltung der substituierten Benzylether nach einer Buchwald-Hartwig-Aminierung. Letztere Strategie war beispielsweise mit Verbindungen, die Azide enthalten, nicht kompatibel.



Anschliessend wurde eine generelle Strategie zur Synthese von strukturell definierten GPI-verankerten Proteinen entwickelt. Schwerpunkt war dabei die Darstellung eines GPI-verankerten Prionenproteins. Die Studien wurden zunächst an einem Dimannosid als Modellsubstanz durchgeführt. Hierbei konnte ein Cystein-Rest in das GPI-Rückgrat eingebaut werden. Die anschliessenden Versuche zur chemischen Ligation mit einem rekombinanten Prionenprotein mittels eines *C*-terminalen Thioesters erwiesen sich ebenfalls als erfolgreich. Diese Studien ebneten den Weg zum Zusammenbau eines komplett GPI-verankerten Prionenproteins.



Im zweiten Teil der Dissertation wird die chemische Synthese der Phosphatidylinositolmannoside (PIM) beschrieben. Diese repräsentieren eine Klasse antigener Glykolipide, die als Bestandteile der mykobakteriellen Zellwand bekannt sind. PIM-Moleküle weisen eine gewisse Variabilität bezüglich der Anzahl von Mannose- und Lipidresten auf. Die Totalsynthesen der am häufigsten vorkommenden PIM-Moleküle, des triacylierten Phosphatidylinositoldimannosids (Ac_3PIM_2) und des Hexamannosids (Ac_3PIM_6), wurden durchgeführt. Die Synthesestrategie basierte hierbei auf einer [4+3]-Glykosylierung zwischen einem Tetramannose-Fragment und einem Inositol-Dimannose-Fragment und eröffnete somit konvergenten Zugang zum Glykan-Rückgrat von PIM_2 und PIM_6. Eine Kupfer-katalysierte Kreuzkupplung ermöglichte eine kurze und praktische Synthese der Tuberkulostearinsäure. Der Zusammenschluss des Glykanabschnitts mit dem Lipidabschnitt führte schliesslich zur ersten Totalsynthese von natürlich vorkommendem PIM_2 und PIM_6.



Der dritte Teil der Arbeit beschreibt eine praktische Methode zur Darstellung von Glycosylphosphaten, einer neuartigen Klasse von Glykosylierungsreagenzien. Die Anwendung von 1,2-*O*-Orthoestern als Zwischenstufen im Zusammenbau von GPI- und PIM-Molekülen führte zur Erkenntnis, dass die 1,2-*O*-Orthoester mit einem leichten Überschuss an Dibutylphosphat mit hoher Effizienz in die entsprechenden 1-*O*-Phosphate überführt werden können. Diese Strategie wurde ebenfalls an den trizyklischen Orthoestern angewandt, die bislang in der Herstellung von funktionalisierten Zuckerbausteinen nur wenig Anwendung gefunden hatten. Diese Studien erweiterten die Anwendungsbreite von Glycosylphosphat-Reagenzien, zeigten aber auch den bislang verborgen gebliebenen synthetischen Nutzen von glykosidischen Orthoestern.