

DISS. ETH No. 22532

**Chemical Synthesis of Biomolecules Analogs:
Inositol Phosphate/Sulfate Hybrids
And
Fluorinated Carbohydrates**

A thesis submitted to attain the degree of

DOCTOR OF SCIENCES of ETH ZURICH

(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by

Estelle Durantie

MSc. in Chemistry, ENSCM

Born on 18.01.1985

Citizen of France

Accepted on the recommendation of

Prof. Jean-Christophe Leroux, examiner

Prof. Bastien Castagner, co-examiner

Prof. Ryan Gilmour, co-examiner

Abstract

Inositol phosphates and carbohydrates are cyclic polyols biomolecules that play a number of key biological roles. Elucidation of their functions has been hampered by their structural diversity and the difficulty to isolate pure material. Chemical synthesis of these biomolecules and their analogues has not only contributed to illuminate their functional roles but also offers new therapeutic opportunities which are both presented in the **Chapter 1**. Nonetheless, chemical synthesis of well-defined structures of these classes of molecules remains a real challenge. A special focus was put on the stereoselectivity aspect, hence some current strategies in diastereoselective glycosylation are briefly introduced, and methodologies of chiral phosphorylation of inositols are described.

The design and synthesis of inositol phosphate/sulfate hybrids as potential drugs against *Clostridium difficile* infection (CDI) is presented in **Chapter 2**. CDI is an increasingly frequent and severe bacterial infection of the colon that requires additional treatment options. The therapeutic strategy is based on the preemptive induction of toxin B auto-processing in the lumen thus preventing cell penetration of the disease-causing enzymatic domain. The naturally occurring allosteric activator, inositol hexakisphosphate (InsP₆), is inactive in the presence of extracellular high calcium concentration, prompting us to design InsP₆ analogues. At first, a synthesis strategy was developed to prepare *meso* inositol phosphate/sulfate hybrids, and a unified and streamlined synthesis delivered successfully three derivatives. One of the candidates, **SSSPSP**, showed allosteric activity in presence of calcium. Thus, an improved synthesis was designed to provide sufficient amount of material for further *in vivo* investigation. A key finding was that the *O*-sulfation of deprotected inositol phosphates was possible, significantly improving the synthesis of the challenging hybrids, enabling the synthesis of different racemic derivatives. Finally, a new chiral phosphoramidite agent allowing phosphorylation and chiral resolution of inositol intermediates was developed. This methodology now enables the synthesis of various chiral natural inositol phosphates, as well as phosphate/sulfate hybrids.

The **Chapter 3** is dedicated to the investigation of fluorine-directed β -stereoselective glycosylation in the 2-fluorogalactopyranosyl donor. A systematic study showed that fluorine atom at the C2 position, together with electron donating nature of the protecting groups, were leading excellent level of β selectivity in glycosylation reactions. The effect of the glycosyl acceptor was probed and revealed that although the reaction is sensitive to steric hindrance, the presence of fluorine is still able to drive good β selectivity. Utility of this methodology was then illustrated in the synthesis of fluorinated analogues of commonly found disaccharide building blocks and of the glycosphingolipid β -galactose ceramide.

Abstract

To conclude, the development of the synthetic methods presented in this thesis provide useful tools to the synthesis of biomolecule analogues.

Résumé

Les inositol phosphates et les glucides sont des biomolécules polyhydroxylées cycliques qui jouent un rôle important dans un grand nombre de processus biologiques. L'élucidation de leurs fonctions a été ralentie du fait de leur diversité structurale et de la difficulté à isoler du matériel pur. La synthèse chimique de ces biomolécules, ainsi que de leurs analogues, a contribué à éclairer leur rôle fonctionnel et aussi à offrir de nouvelles opportunités thérapeutiques, qui sont présentées dans le **Chapitre 1**. Néanmoins la synthèse de structures bien définies de ces types de molécules reste un défi. Un intérêt particulier a été donné à l'aspect de la stéréosélectivité de la synthèse des glucides et des inositol phosphates. Alors que les méthodes courantes de glycosylation diastéréosélective sont brièvement introduites, les méthodologies de phosphorylation chirale des inositols sont décrites de manière plus détaillées.

La conception et la synthèse d'inositols hybrides phosphate/sulphate en tant que molécule potentiellement active contre une infection à *Clostridium difficile* (ICD) sont présentées dans le **Chapitre 2**. L'ICD est une infection bactérienne du côlon qui est de plus en plus fréquente et de plus en plus sévère, ainsi il est donc nécessaire de trouver de nouveaux traitements. La stratégie thérapeutique proposée est basée sur l'induction de l'auto-protéolyse de la toxin B dans la lumière du gros intestin afin de prévenir l'absorption du domaine enzymatique causant la maladie. L'activateur allostérique naturel, l'inositol hexakisphosphate (InsP₆), est inactif en présence de concentrations élevées de calcium habituellement présentes dans l'intestin. Cette observation, nous a mené à concevoir des analogues de InsP₆. Dans un premier temps, une stratégie de synthèse a été développée pour préparer des inositols hybrides phosphate/sulphate *meso*. Une synthèse unifiée et profilée a permis de fournir avec succès trois dérivés. Un des candidats, **SSSPSP**, a montré une activité allostérique en présence de calcium. Ainsi, une synthèse améliorée a été conçue pour fournir une quantité suffisante de matériel pour pouvoir effectuer des études *in vivo* plus approfondies. Une découverte clé a été la réalisation de la sulphation sur les inositol phosphates entièrement déprotégés. Ce résultat a amélioré de manière significative la synthèse compliquée des inositols hybrides, donnant accès à la préparation de différents dérivés racémiques. Finalement, un nouveau phosphoramidite chirale, permettant phosphorylation et résolution chirale d'intermédiaires d'inositols a été développé. Cette méthodologie peut être utilisée dans la synthèse chirale d'inositols phosphates naturels, et aussi d'inositols hybrides phosphate/sulphate.

Le **Chapitre 3** est dédié à l'étude de la glycosylation β -stéréosélective dirigée par l'atome de fluor du 2-fluorogalactopyranoside. Une étude systématique a montré que l'atome de fluor à la position C2, combiné à la nature électro-donneur des groupes protecteurs conduisaient à un excellent niveau de

β sélectivité. L'effet du glucide accepteur a été sondé et a révélé que bien que la sélectivité de la réaction était sensible à l'encombrement stérique, la présence du fluor est toujours capable de mener une bonne sélectivité. L'utilité de cette méthodologie a été illustrée dans la synthèse d'analogues fluorés de disaccharides communément rencontrés et d'un glycosphingolipide β -galactose ceramide.