

RĪGAS TEHNISKĀ UNIVERSITĀTE
Materiālzinātnes un lietišķās ķīmijas fakultāte
Organiskās ķīmijas tehnoloģijas institūts

RIGA TECHNICAL UNIVERSITY
Faculty of Material Science and Applied Chemistry
Institute of Technology of Organic Chemistry

Vitālijs RJABOVS
Doktora studiju programmas „Ķīmija” doktorants

**JAUNU KARBOPEPTOĪDU UN TO TRIAZOLANALOGU SINTĒZE UN
OTRĒJO STRUKTŪRU IZPĒTE**

Promocijas darba kopsavilkums

**SYNTHESIS AND STRUCTURAL STUDIES OF NOVEL
CARBOPEPTOIDS AND THEIR TRIAZOLE ANALOGS**

Summary of Doctoral Thesis

Zinātniskais vadītājs (Supervisor)
Dr. chem., prof.
M. TURKS

RTU Izdevniecība
Rīga 2013

UDK 547.458.057(043.2)

Rj 127 j

Rjabovs V. Jaunu karbopeptoīdu un to triazolanalogu sintēze un otrējo struktūru izpēte. Promocijas darba kopsavilkums.- R.: RTU Izdevniecība, 2013.-66 lpp.

Iespiests saskaņā ar RTU P01 2013.gada 25. jūlija lēmumu, protokols Nr. 3.

Šis darbs izstrādāts ar Eiropas Sociālā fonda atbalstu projektā «Atbalsts RTU doktora studiju īstenošanai»



This work has been supported by the European Social Fund within the project «Support for the implementation of doctoral studies at Riga Technical University».

ISBN 978-9934-10-494-7

PROMOCIJAS DARBS
IZVIRZĪTS ĶĪMIJAS DOKTORA GRĀDA IEGŪŠANAI RĪGAS TEHNISKAJĀ
UNIVERSITĀTĒ

Promocijas darbs ķīmijas doktora grāda iegūšanai tiek publiski aizstāvēts 2013.g.
..... Rīgas Tehniskās universitātes Materiālzinātnes un lietišķās ķīmijas
fakultātē, Āzenes 14/24, auditorijā.

OFICIĀLIE RECENZENTI

Dr. habil. chem. Grigorijs Veinbergs (Latvijas Organiskās sintēzes institūts, Latvija)

Dr. chem. Aigars Jirgensons (Latvijas Organiskās sintēzes institūts, Latvija)

PhD Jeroen D. C. Codée (Leidenes universitāte, Nīderlande)

APSTIPRINĀJUMS

Apstiprinu, ka esmu izstrādājis doto promocijas darbu, kas iesniegts izskatīšanai Rīgas Tehniskajā universitātē ķīmijas doktora grāda iegūšanai. Promocijas darbs nav iesniegts nevienā citā universitātē zinātniskā grāda iegūšanai.

Vitālijs Rjabovs(Paraksts)

Datums:

Promocijas darbs ir uzrakstīts angļu valodā, satur ievadu, 3 nodaļas, secinājumus, literatūras sarakstu, 18 pielikumus, 76 shēmas un 113 zīmējumus, kopā 225 lappuses. Literatūras sarakstā ir 130 nosaukumi.

SATURS

PROMOCIJAS DARBA VISPĀRĒJS RAKSTUROJUMS	5
Tēmas aktualitāte	5
Pētījuma mērķis un uzdevumi.....	5
Zinātniskā novitāte un galvenie rezultāti	5
Darba struktūra un apjoms	6
Darba aprobācija un publikācijas.....	6
PROMOCIJAS DARBA GALVENIE REZULTĀTI	8
1. Jaunu karbopeptoīdu un to triazolanalogu sintēze	9
1.1. Monomēru sintēze.....	9
1.2. Disaharīdu sintēze.....	11
1.3. Starpproduktu un monomēru izmantošana	13
1.4. Oligosaharīdu sintēze.....	15
1.4.1. Ar triazoliem saistītie oligosaharīdi	15
1.4.2. Ar amīdsaiti un triazoliem saistīti oligosaharīdi	18
1.4.3. Oligopeptīdu sintēze	18
2. Karbopeptoīdu un to triazolanalogu struktūru pētījumi.....	19
2.1. Pamatdatu iegūšana no monosaharīdu konformāciju pētījumiem	20
2.2. Oligosaharīdu struktūru pētījumi	22
2.2.1. Ar triazoliem saistītie oligosaharīdi	22
2.2.1.1. KMR pētījumi	22
2.2.1.2. Molekulāras dinamikas pētījumi.....	23
2.2.1.3. Cirkulārā dihroisma pētījumi	24
2.2.2. Ar amīdsaiti un triazoliem saistītie oligosaharīdi	27
2.2.2.1. KMR pētījumi	27
2.2.2.2. Molekulāras dinamikas pētījumi.....	30
2.2.2.3. Cirkulārā dihroisma pētījumi	30
SECINĀJUMI.....	32
PATEICĪBAS	35
Literatūras saraksts	36

PROMOCIJAS DARBA VISPĀRĒJS RAKSTUROJUMS

Tēmas aktualitāte

Pētījumi par proteīnu mijiedarbībām un to regulēšanas (stimulēšanas vai inhibēšanas) iespējām ļoti intensīvi attīstās. Tādēļ ir pieprasījums pēc jaunām molekulārām platformām, kurām vienlaicīgi būtu gan strukturālā daudzveidība, gan stereoķīmiskā noteiktība. No šīm platformām var veidot gan mazmolekulārus, gan lielmolekulārus savienojumus, kurus potenciāli var izmantot proteīnu mijiedarbības regulēšanai.

Dabīgo ogļhidrātu atvasinājumi – cukuramīnoskābes – tiek plaši pētīti kā pamatelementi karbopeptoīdiem – foldamēriem, kuros ogļhidrātu fragmenti ir saistīti ar amīdsaitēm. Tiem piemīt spēja veidot noteiktas otrējās struktūras šķīdumos. Savukārt triazoli ir proteīnu pamatsaites – amīdsaites – izostēri, kuri ir plaši pielietoti peptidomimētiķu sintēzē.

Pētījuma mērķis un uzdevumi

Promocijas darba mērķis ir jauna tipa karbopeptoīdu molekulāras platformas izveide un aprobācija telpiski strukturētu oligosaharīdu sintēzē. Jauna foldamēru klase ļaus novērtēt šo struktūru pielietošanas iespējas strukturāli noteiktu makromolekulu sintēzē.

Darba uzdevumi ir:

Sintezēt pamatplatformas elementus saturošus būvblokus un pielietot tos oligosaharīdu, kuros ogļhidrāta platformas mijas ar amīdsaitēm, un to mimētiķu, kuros amīdsaite aizstāta ar triazolu tiltiņu, sintēzēs.

Iegūtos karbopeptoīdus izpētīt ar fizikālām pētīšanas metodēm – KMR un CD spektriem, ar mērķi noskaidrot to pirmējās un otrējās struktūras.

Zinātniskā novitāte un galvenie rezultāti

Uz jauna būvbloka pamata sintezētas ar amīdsaitēm un triazolu cikliem saistītas karbopeptoīdu struktūras. To pētījumi, izmantojot spektroskopiskās un datorsimulācijas metodes, ļāva novērtēt iespējamo otrējo struktūru veidošanos šķīdumā.

Darba struktūra un apjoms

Promocijas darbs ir uzrakstīts angļu valodā un sastāv no literatūras apskata par cukuraminoskābju sintēzēm un karbopeptoīdu otrējo struktūru pētījumiem, darba gaitā iegūto rezultātu izvērtējuma un eksperimentālās daļas, kurā aprakstītas recenzētos žurnālos nebuplicētu savienojumu sintēzes.

Darba aprobācija un publikācijas

Promocijas darba rezultāti izklāstīti 4 oriģinālpublikācijās, 1 apskatrakstā un 3 patentos:

1. Rjabovs, V.; Turks, M. Tetrahydrofuran amino acids of the past decade. *Tetrahedron* **2013**, *in press*, DOI:10.1016/j.tet.2013.10.021. (apskatraksts)
2. Luginina, J.; Rjabovs, V.; Belyakov, S.; Turks, M. A concise synthesis of sugar isoxazole conjugates. *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 5328-5331.
3. Rjabova, J.; Rjabovs, V.; Moreno Vargas, A. J.; Clavijo, E. M.; Turks, M. Synthesis of novel 3-deoxy-3-C-triazolylmethyl-allose derivatives and evaluation of their biological activity. *Centr. Eur. J. Chem.* **2012**, *10*, 386-394.
4. Turks, M., Rjabovs, V., Rjabova, J., Lugiņina, J., Moreno Vargas, A. J., Moreno Clavijo, E. 3-Dezoksi-3-(1-(1,2,3-triazolil)metil)allozes atvasinājumi kā glikozidāžu inhibitori. LV patents 14445 B (20.03.2012.).
5. Lugiņina, J.; Rjabovs, V.; Belyakov, S.; Turks, M. On Moffatt dehydration of glucose-derived nitro alcohols. *Carbohydr. Res.* **2012**, *350*, 86-89.
6. Turks, M., Rjabovs, V., Mackeviča, J. 1',4'-Diaizvietoti 1,2:5,6-di-O-izopropilidēn-3-C-(1'-triazolil)metilglikofuranozes atvasinājumi. LV patents 14613 B (20.03.2013.).
7. Turks, M., Mackeviča, J., Rjabovs, V., Moreno Vargas, A. J., Robina, I. Ar bis-triazolu tiltiņu saistītu disaharīdu sintēze. LV patents 14275 B (20.05.2011.).
8. Strakova I., Kumpiņa I., Rjabovs V., Lugiņina J., Belyakov S., Turks M. Resolution, absolute configuration, and synthetic transformations of 7-amino-tetrahydroindazolones. *Tetrahedron: Asymmetry* **2011**, *22*, 728-739.

Darba rezultāti prezentēti konferencēs:

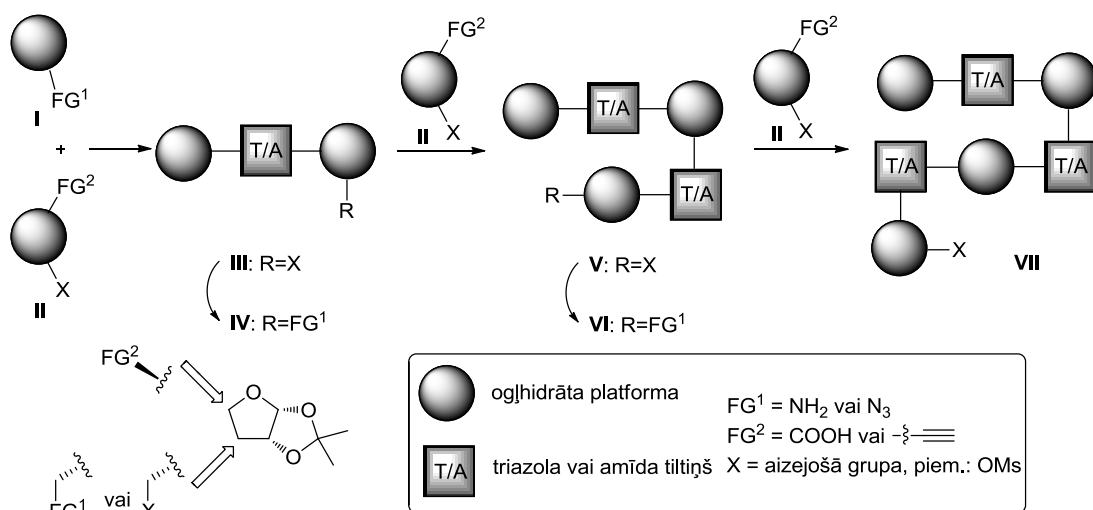
1. Rjabovs, V., Zeļencova, D., Edwards, A., Liepiņš, E., Turks, M. Synthesis and Spectroscopic Studies of Novel Carbopeptoids. *Abstracts of 18th European Symposium on Organic Chemistry (ESOC 2013)*: 18th European Symposium on Organic Chemistry (ESOC 2013), France, Marseille, 7-12 July, 2013. pp.541-541.

2. Posevins, D., Rjabovs, V., Turks, M. Synthesis of Linear Homooligomers from Furanoid Sugar Amino Acids. *Organine Chemija: Proceedings of KTU International Conference*, Lithuania, Kaunas, 24-24 April, 2013. pp.20-20.
3. Rjabovs, V. Synthesis and Spectroscopic Studies of Glucose-Derived Carbopeptoids. *Materials Sciences and Applied Chemistry*. Vol.27, 2013, pp.92-92. ISSN 14077329.
4. Rjabovs V., Turks M. Saccharopeptides and their triazole isosteres. *International Conference on Organic Synthesis Program and Abstracts*, Estonia, Tallina, 1.-4. July, 2012. - pp 165-165.
5. Rjabovs, V., Rjabova, J., Grigorjeva, J. Synthesis of Novel Glucose and Allose Derivatives. (*7th Paul Walden Symposium on Organic Chemistry*) *Latv. J. Chem.*, 2012, 1, pp.73-73. ISSN 0868-8249
6. Rjabovs V., Turks M. Structural Hybrids: Combining the Best of Sugars, Peptides, and Heterocycles. *13th Belgian Organic Synthesis Symposium: Programme & Book of Abstracts*, Belgium, Leuven, 15.-20. July, 2012. - pp 320-320.
7. Turks M., Mackeviča J., Lugiņina J., Rjabovs V., Belyakov S., Moreno Vargas A., Robina I. Synthesis of disaccharides with extended bis-azole linkers. *Proceedings of 16th European Carbohydrate Symposium*, Italy, Sorrento, 3.-7. July, 2011. - pp 84-84.
8. Turks M., Rjabovs V., Grigorjeva J., Lugiņina J., Mackeviča J., Rjabova J., Ostrovskis P., Belyakov S., Moreno Vargas A., Robina I. Synthesis of monosaccharide-azole conjugates. *Proceedings of 16th European Carbohydrate Symposium*, Italy, Sorrento, 3.-7. July, 2011. - pp 564-564.
9. Rjabovs V., Ostrovskis P., Turks M. Synthesis of sugar amino acids. *Proceedings of Riga Technical University 52. International Scientific Conference*, Latvia, Riga, 13.-15. October, 2011. - pp 53-53. ISBN 978-9934-10-181-6
10. Rjabovs V., Turks M. Peptidosaccharides and their triazole isosteres. *Proceedings of 12th Belgian Organic Synthesis Symposium (BOSS XII)*, Belgium, Namur, 11-16 July, 2010. - pp 206-206.

PROMOCIJAS DARBA GALVENIE REZULTĀTI

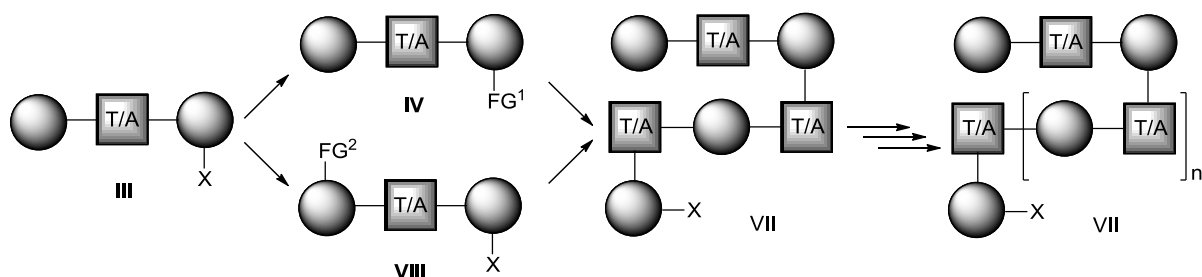
Uzsākot darbu, mēs izvirzījām hipotēzi, ka jaunus ar amīdiem un triazoliem saistītus oligosaharīdus – karbopeptoīdus, varētu veidot uz līdz šim neizpētītas strukturālas platformas pamata. Tai būtu jāsaturs ierobežoti kustīgs cukura pamatcikls, pie kura ir pievienotas savstarpēji *trans*-orientētas funkcionālas grupas (1., 2. att.: FG¹ un FG²). Promocijas darba rezultāti parāda, ka tās ir viegli iegūstamas no kopīgām izejvielām un ļauj iegūt amīdu un triazolu starpcukuru tiltiņus. Kombinējot būvblokus, var iegūt gan tikai ar vienu tiltiņa tipu saistītus oligosaharīdus, gan ar dažādiem – amīdiem un triazoliem saistītus analogus.

Oligosaharīdu sintēzēm mēs izmantojām divas pieejas. Pirmajā metodē (1. att.) ķēdes pagarināšana notiek, iteratīvi pievienojot funkcionalizētu monomēru **II** pie sākumposma **I** un modificējot iegūto augstākās kārtas oligomēru **III** un **V** aizvietotājus X par FG¹ tā, lai varētu veikt nākamo pagarināšanas reakciju. Šī metode ļauj ātri un ar ļoti labiem iznākumiem iegūt oligomērus ar ķēdes garumu līdz četrām ogļhidrātu vienībām.



1. Attēls. Iteratīvās sintēzes stratēģijas shēma.

Otrā metode (2. att.) ļauj sintezēt atbilstošus heksamērus un oktamērus, veicot ķēdes pagarināšanu par divām vienībām katrā solī. Tam mēs izmantojām funkcionalizētus dimērus **IV** un **VIII**, kurus ieguvām no dimēra **III**.

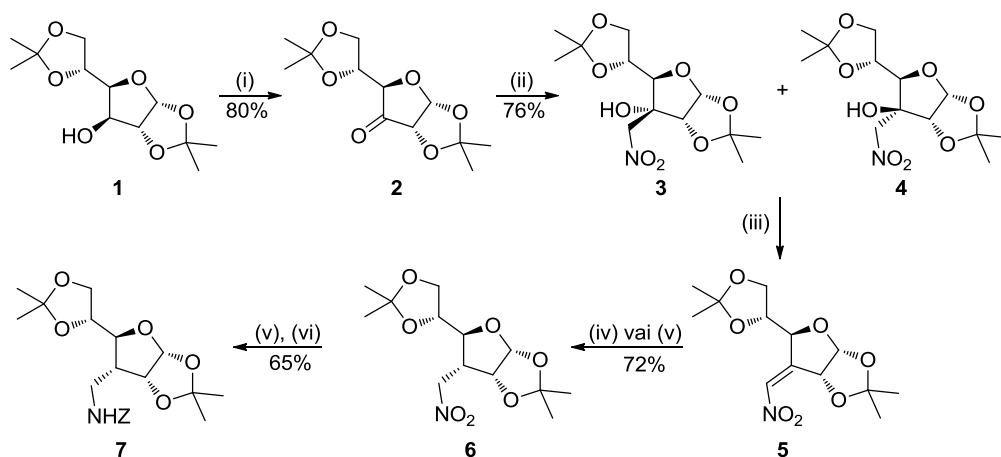


2. Attēls. Dimēru pievienošanas stratēģijas shēma.

1. Jaunu karbopeptoīdu un to triazolanalogu sintēze

1.1. Monomēru sintēze

Cukuramīnoskābes un no tām atvasinātus oligomērus var sintezēt, izmantojot viegli pieejamas izejvielas no dabīgiem avotiem [1]. Modificējot molekulās esošās funkcionālās grupas, var pakāpeniski ievadīt nepieciešamās funkcijas, kontrolējot izvēlētās relatīvas konfigurācijas izveidi.

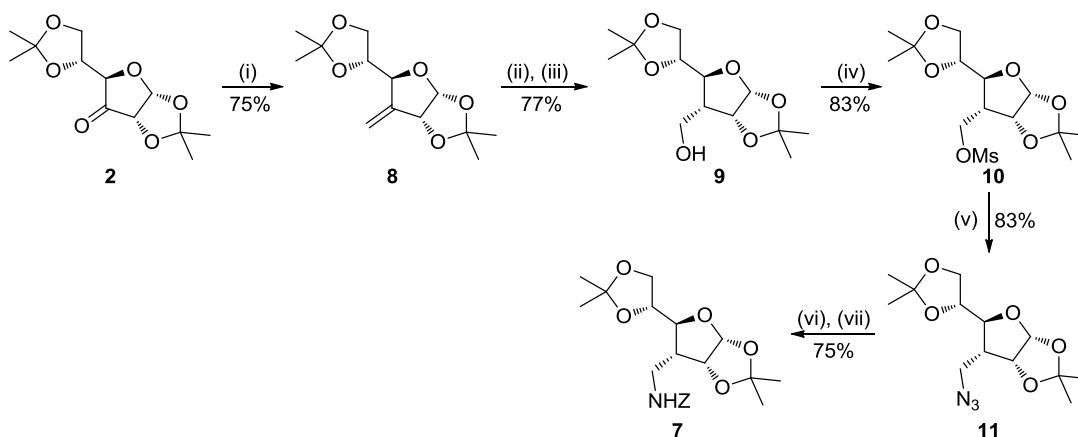


Kā izejvielu sintēzei izmantojām 1,2:5,6-di-O-izopropilidēn- α -glikofuranozi (diacetonglikozi, DAG) **1**, kuru oksidējām ar NaOCl TEMPO klātienē [2]. Iegūto ketonu **2** tālāk modificējām, izmantojot nitrometāna pievienošanās Henrī reakcijā un Vitiga reakciju ar trifenilfosfonija metilīdu.

Henrī reakcijā (1. shēma) veidojās produktu **3** un **4** maisījums, kuru dehidratē pēc Mofata metodes [3,4]. Iegūto produktu **5** reducējām ar nātrija borhidrīdu līdz amīnam **6**, ko hydrogenējām un aizsargājām ar Z-grupu.

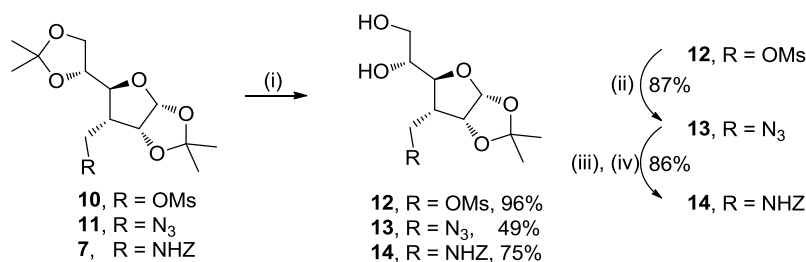
Aizsargāto amīnu **7** var iegūt no ketona **2**, izmantojot Vitiga reakciju, hidroborēšanu-oksīdēšanu, spirta **9** mezilēšanu un azidēšanu [5]. Pēc azīda **11** hydrogenēšanas un Z-grupas ievadīšanas mēs ieguvām **7** (2. shēma).

Lai ievadītu karbonskābes funkciju, savienojumam **7** selektīvi nošķēlām 5,6-O-izopropilidēnaizsarggrupu skābās hidrolīzes apstākļos. Taču reakcijas gaitā bieži veidojās pilnīgi deaizsargāts cukurs, kurš rodas nošķēloties arī savienojuma 1,2-O-izopropilidēngrupai.



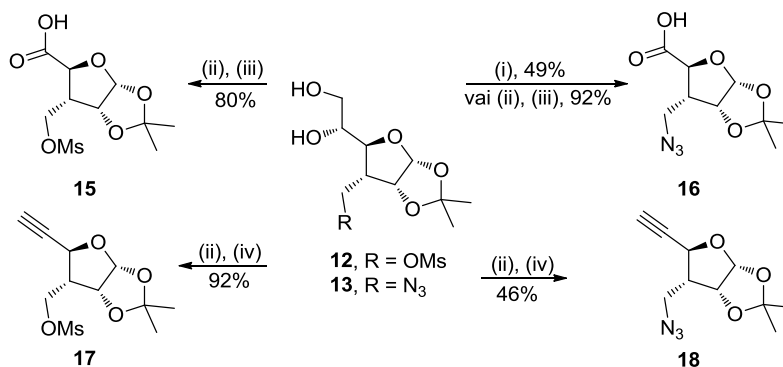
2. Shēma. (i) MePPh_3Br , $n\text{-BuLi}$, THF (ii) $\text{H}_3\text{B}\cdot\text{SMe}_2$, THF; (iii) NaOH , H_2O_2 ; (iv) MsCl , Et_3N , DCM; (v) NaN_3 , DMF; (vi) H_2 , Pd/C , MeOH ; (vii) ZCl , Et_3N , DCM.

Mēs novērojam, ka līdzīgos apstākļos savienojuma **10** hidrolīze notiek daudz selektīvāk un bez blakusproduktu veidošanās un savienojuma **12** iznākums sasniedz 95% (3. shēma). Azīda **11** 5,6-*O*-izopropilidēngrupas šķelšana nav pilnīgi hemoSelektīva un attiecīgo diolu **13** ieguvām tikai ar 50% iznākumu.



3. Shēma. (i) H_2SO_4 , MeOH , DCM; (ii) NaN_3 , DMF; (iii) H_2 , Pd/C , MeOH ; (iv) ZOSuc , Na_2CO_3 , THF, H_2O .

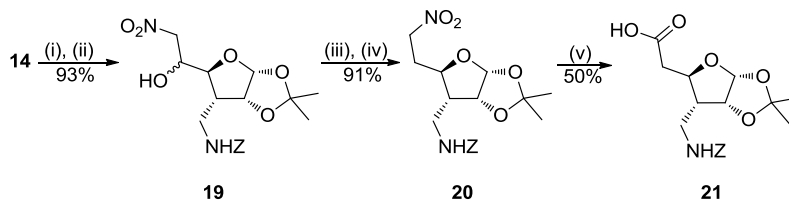
Lai sintezētu cukuraminoskābes **15** un **16**, diolus **12** un **13** pakļāvam oksidējošai šķelšanai ar nātrija periodātu un tālākai oksidēšanai ar nātrija hlorītu (4. shēma). Skābi **15** ieguvām ar 80% iznākumu, bet skābi **16** – ar 92% iznākumu. Divpakāpju procesa iznākums ir ievērojami labāks par viena reaktora rutēnija katalizētu diola **13** oksidēšanu ar nātrija periodātu, kas ļāva iegūt **16** ar 49% iznākumu.



4. Shēma. (i) NaIO_4 , RuCl_3 , CHCl_3 , H_2O , MeCN ; (ii) NaIO_4 , MeOH ; (iii) NaClO_2 , NaH_2PO_4 , H_2O , MeCN , (iv) Ohiras-Bestmana reaģents, K_2CO_3 , MeOH .

Izmantojot Ohiras-Bestamana reaģentu, diolu divās stadijās (piemēram, process **12**→**17**) var pārvērst par trīskāršo saiti, iegūstot alkīnus **17** un **18**.

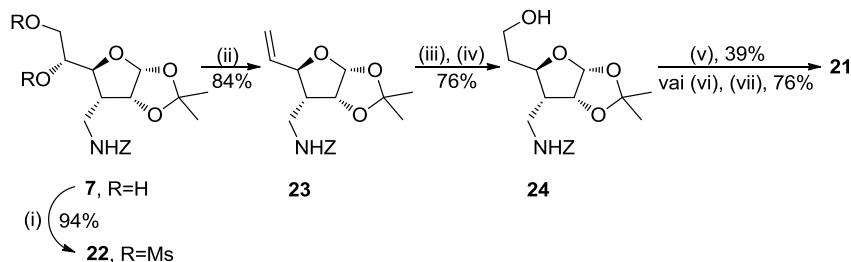
Cukuraminoskābes sintēzei, kas satur -CH₂- linkeru starp THF ciklu un karbonskābes funkciju, var izmantot divas iepriekš lietotajām līdzīgas stratēģijas – no diola **14** iegūtā aldehīda Henrī reakciju ar nitrometānu (5. shēma) un hidroborēšanas-oksidēšanas reakciju sekvenci (6. shēma).



5. Shēma. (i) NaIO₄, MeOH; (ii) NaCH₂NO₂, MeOH; (iii) Ac₂O, *p*-TsOH; (iv) NaBH₄, MeOH; (v) NaNO₂, DMSO, AcOH, MS 4Å.

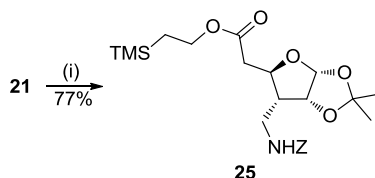
Savienojuma **20** nitrometilgrupu var pārvērst par karbonskābi ar nātrija nitrītu etiķskābes klātienē ar 50% iznākumu.

Kā alternatīvu nitrogrupas modificēšanas reakcijām mēs izvēlējamies pirmējā spirta **24** (6. shēma), kuru iegūst hidroborējot alkēnu **23**, oksidēšanu par skābi.



6. Shēma. (i) MsCl, Et₃N, DMAP, DCM; (ii) NaI, EMK; (iii) H₃B·THF, THF; (iv) NaBO₃·4H₂O; (v) PDC, DMF; (vi) NaOCl, NaBr, TEMPO, DCM, H₂O; (vii) NaClO₂, NaH₂PO₄, H₂O, MeCN.

Pirmējā spirta oksidēšanai var izmantot piridīnija dihromātu dimetilformamīdā vai TEMPO katalizētu oksidēšanu ar hipohlorītu, kas ļauj iegūt skābi **21** ar 76% iznākumu. Skābi aizsargājām trimetilsililestera veidā (7. shēma).

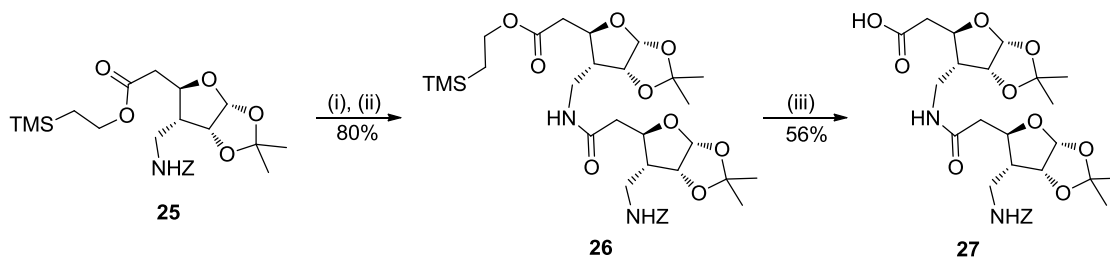


7. Shēma. (i) TMS(CH₂)₂OH, EDCI, DMAP, DCM.

1.2. Disaharīdu sintēze

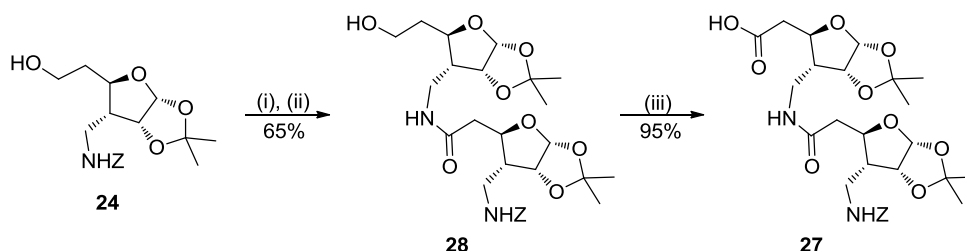
Lai oligosaharīdu sintēze būtu konverģenta, izvēlējamies izmantot attiecīgos disaharīdus kā būvblokus. Tā esteri **25** hydrogenējām un acilējām ar cukuraminoskābi **21**, iegūstot aizsargātu

dimēru **26** (8. shēma). Savukārt, mēģinājumi nošķelt skābes aizsarggrupu izrādījās ne īpaši veiksmīgi. Tā, tikai reakcijas ar TBAF/THF un CsF/DMF 130 °C deva vēlamo produktu.



8. Shēma. (i) H₂, Pd/C, MeOH; (ii) **21**, EDCI, Et₃N, DMAP, DCM; (iii) CsF, DMF.

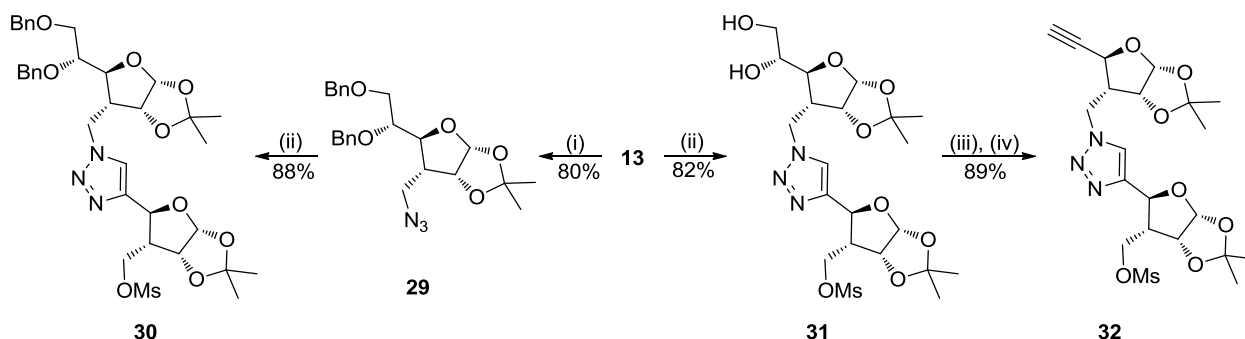
Kā alternatīvu metodi var izmantot spirta **24** hidrogenēšanu un acilēšanu par disaharīdu **28**, ko tālāk oksidē katalītiskos apstākļos līdz skābei **27** (9. shēma).



9. Shēma. (i) H₂, Pd/C, MeOH; (ii) **21**, EDCI, Et₃N, DMAP, DCM; (iii) NaOCl, NaBr, TEMPO, H₂O, DCM.

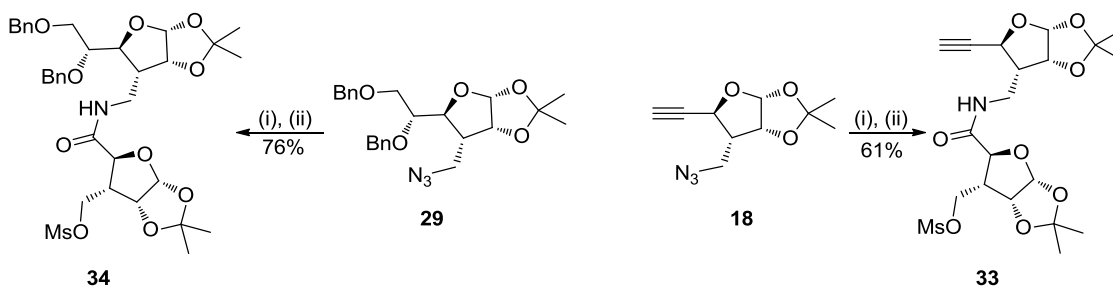
Lai sintezētu ar triazoliem saistītos oligosaharīdus sākumā pielietojām iteratīvas sintēzes stratēģiju, taču mēs secinājām, ka disaharīdu izmantošana gan paātrina sintēzi, gan palielina kopējo iznākumu.

Tāpēc mēs pārveidojām iepriekš iegūtos savienojumus **13** un **17** par disaharīdiem ar triazolu tiltiņu **30** un **32** (10. shēma).



10. Shēma. (i) NaH, BnBr, DMF; (ii) **17**, CuSO₄, nātrija askorbāts, H₂O, THF; (iii) NaIO₄, MeOH; (iv) Ohiras-Bestmana reagents, K₂CO₃, MeOH.

Azīdus **18** un **29** reducējām pēc Štaudingera un acilējām ar skābi **15**, iegūstot dimērus **33** un **34** ar amīda tiltiņu (11. shēma)

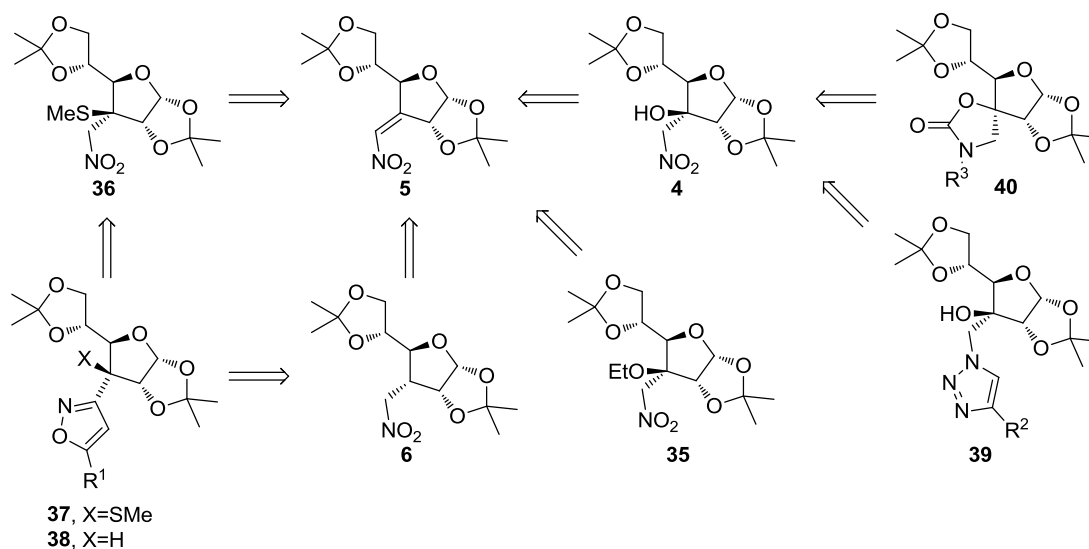


11. Shēma. (i) PPh_3 , H_2O , MeCN ; (ii) **15**, EDCI , Et_3N , DCM .

1.3. Starpproduktu un monomēru izmantošana

Papildus oligomēru sintēzei un to otrējo struktūru izpētei disertācijas izstrādes gaitā mēs demonstrējām jauniegūto monosaharīdu fragmentu izmantošanas iespējas dažādu ogļhidrātu atvasinājumu ieguvē.

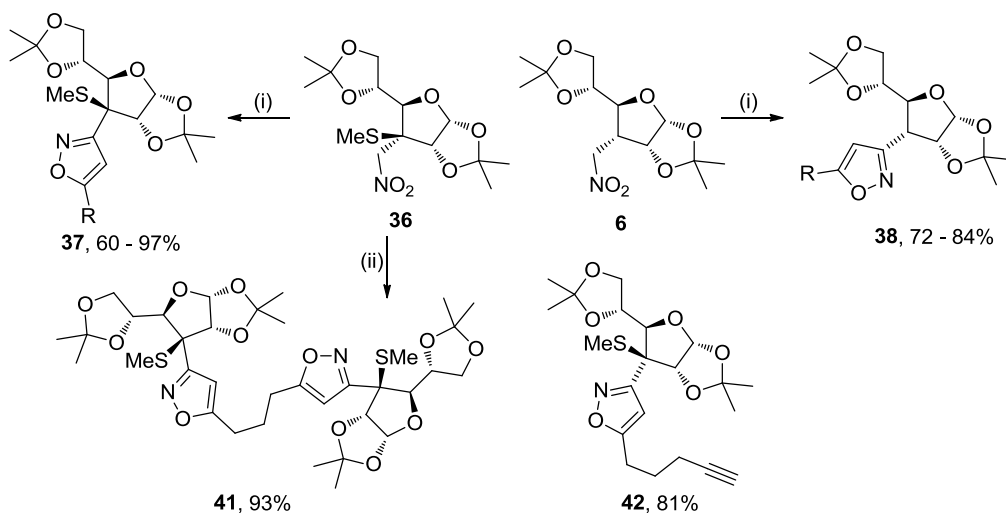
Tā no nitroalkēna **5** diastereoselektīvi sintezējām nukleofīlu 1,4-pievienojšanās produktus ar alkoksi- (**35**), alkiltio- (**36**) un hidroksilgrupām (**4**), kurus mūsu laboratorijā vēlāk izmantojām izoksazolu (**37** un **38**) [6], triazolu (**39**) [7] un oksazolidīnonu (**40**) [3] sintēzei (3. attēls).



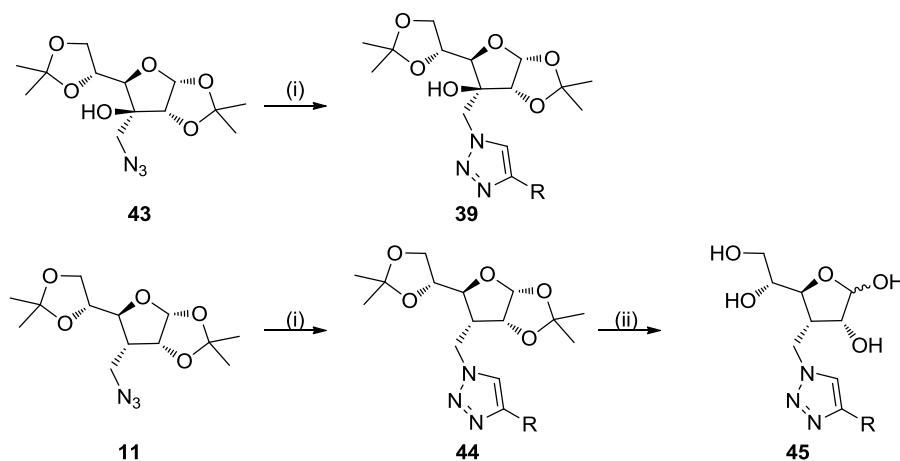
3. Attēls. Savienojuma **5** izmantošanas iespējas

Izoksazolus sintezējām, izmantojot no nitrometilgrupas ģenerētā nitriloksīda 1,3-dipolāro ciklopievienojšanās reakciju ar terminālajiem alkīniem [6]. Tā var sintezēt gan tio-aizvietotāju saturošus, gan nesaturošus izoksazolus ar vispārīgām formulām **37** un **38** ar iznākumiem līdz 95%. Ja izmanto diīnus, var sintezēt gan di- (**41**), gan monoizoksazolus ar terminālu trīskāršo saiti (**42**) (12. shēma).

Lai sintezētu monosaharīdu-triazolu konjugātus, savienojumu **4** pārvērtām par azīdu **43**, kuru tāpat kā iepriekš minēto azīdu **11** izmantojām 1,4-diaizvietotu 1,2,3-triazolu sintēzei [5,7] (13. shēma).



12. Shēma. (i) $\text{RC}\equiv\text{CH}$, Et_3N , etilhlorformiāts, toluols; (ii) 1,n-diīns, Et_3N , etilhlorformiāts, toluols.

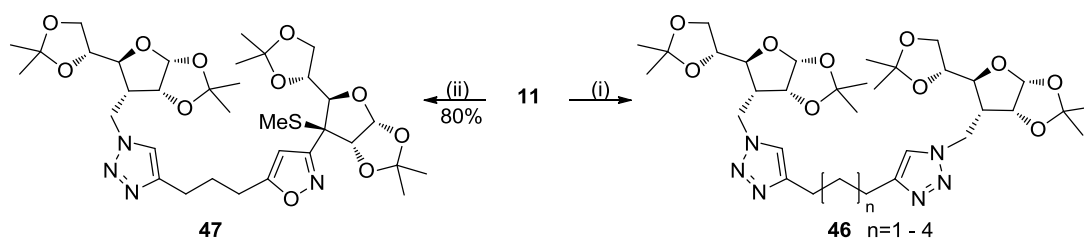


13. Shēma. (i) $\text{RC}\equiv\text{CH}$, CuSO_4 , nātrija askorbāts, H_2O , THF; (ii) TFA, H_2O .

Azīdu reakcijas ar terminālajiem alkīniem veicām THF, kā katalizatoru sistēmu izmantojot vara(II) sulfātu un nātrija askorbātu [5,7]. Tabulā ir apkopoti dati par sintezētajiem triazoliem ar vispārīgajām formulām **39** un **44**. Daļai no savienojumiem **44** nošķēlām aizsarggrupas skābās hidrolīzes apstākļos un sadarbībā ar Seviļas universitātes pētniekiem veicām bioloģiskās aktivitātes pārbaudi. Savienojums **44a** 0.1 mM koncentrācijā inhibēja α -L-fukozidāzi (EC 3.2.1.51) par 26%. Aizsarggrupas nesaturošais monosaharīds **45c** 1 mM koncentrācijā inhibēja β -glikozidāzi (EC 3.2.1.21) par 15% [5,8].

Azīdu **11** izmantojām arī reakcijās ar alkadiīniem un terminālu alkīnu saturošu izoksazola atvasinājumu **42**, iegūstot simetriskus [9] un nesimetriskus [8] disaharīdus **46** un **47** (14. Shēma).

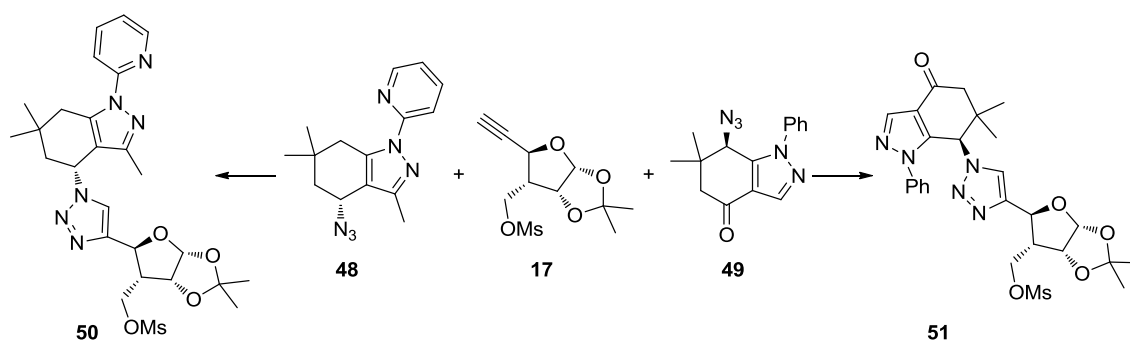
Savukārt alkīnu **17** izmantojām aizvietotu tetrahydroindazolu **50** un **51** sintēzei [10], veicot reakciju ar atbilstošajiem enantiomēri tīrajiem azīdiem **48** un **49**, kas bija pieejami mūsu zinātniskajā grupā (15. shēma). Šādi paveras ceļš uz jauna tipa pseidonukleozi sintēzi.



14. Shēma. (i) 1,n-diīns, CuSO₄, nātrija askorbāts, H₂O, THF; (ii) **42**, CuSO₄, Na askorbāts, H₂O, THF.

1. Tabula. Monasaharīdu-triazolu konjugātu **39**, **44** un **45** sintēze saskaņā ar 13. shēmu.

Nr.	R	Produkts 39	Produkts 44	Produkts 45
1.		39a , 98%	44a , 95%	45a , kvant.
2.		39b , 89%	-	
3.		39c , 97%	44c , 91%	45c , kvant.
4.		39d , 93%	-	-
5.		39e , 96%	-	-
6.		39f , 94%	-	-
7.		39g , 83%	44g , 92%	45g , kvant.
8.		39h , 86%	-	-
9.		39i , 88%	44i , 88%	45i , kvant.
10.		39j , 88%	44j , 92%	-
11.		39k , 85%	44k , 92%	45k , kvant.
12.		-	44l , 81%	45l , kvant.
13.		-	44m , 81%	45m , kvant.



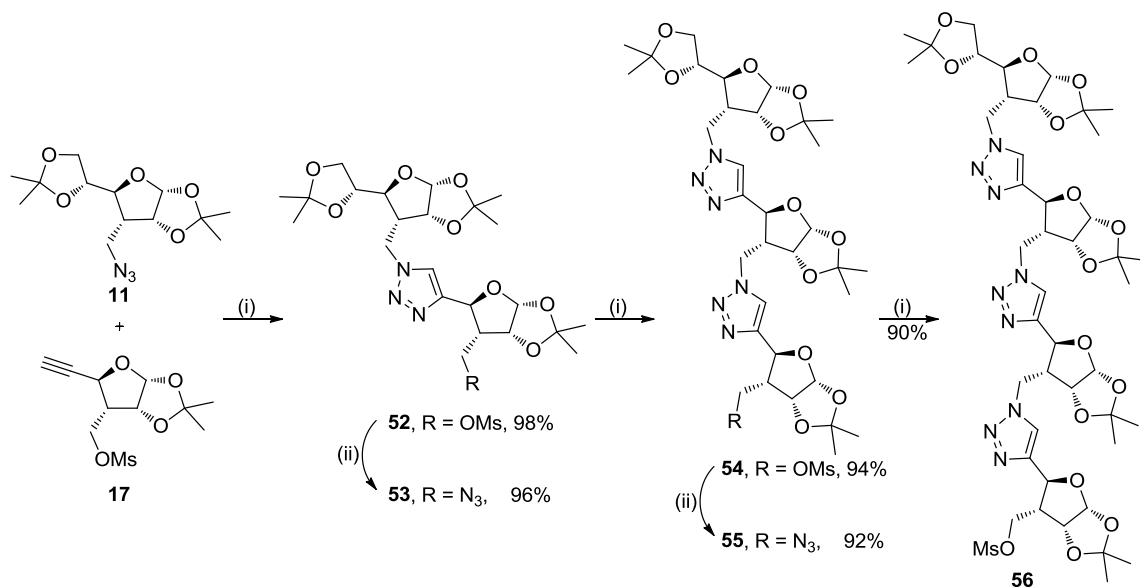
15. Shēma. (i) CuSO₄, nātrija askorbāts, H₂O, THF.

1.4. Oligosaharīdu sintēze

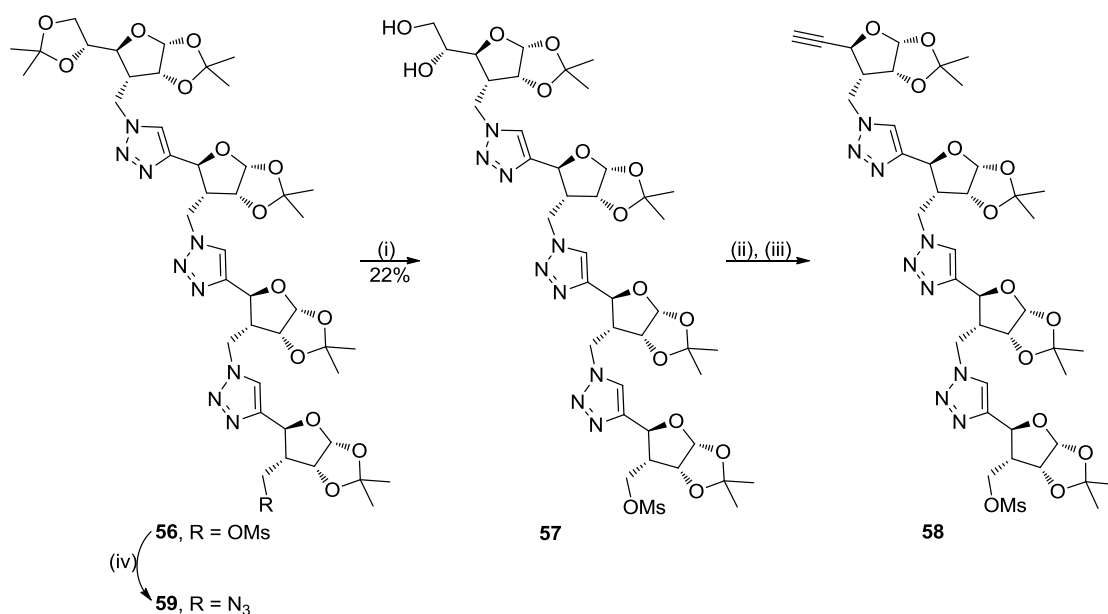
1.4.1. Ar triazoliem saistītie oligosaharīdi

Tā kā sintētiski triazolu sintēzes būvbloki iegūstami salīdzinoši ātrāk, vispirms tika sintezēti oligosaharīdi, kas starpcukuru saitē satur tikai triazolus. Sākumā, izmantojot iteratīvu

azidēšanu - ciklopievienošanās reakciju, mēs ieguvām izopropilidēngrupas saturošu tetrasaharīdu **56** ar kopējo iznākumu 73% 5 stadijās (16. shēma).



16. Shēma. (i) **17**, CuSO₄, nātrija askorbāts, H₂O, THF; (ii) NaN₃, DMF.

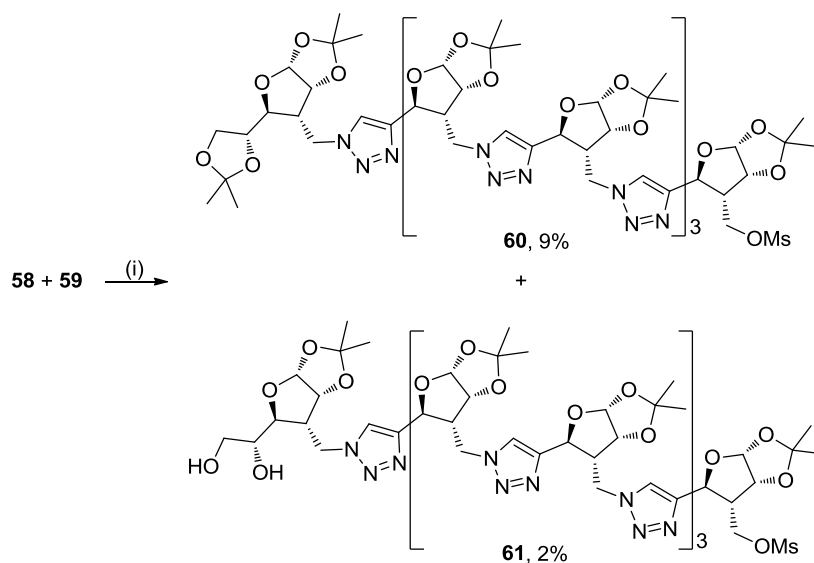


17. Shēma. (i) H₂SO₄, MeOH, DCM; (ii) NaIO₄, MeOH; (iii) Ohira-Bestmana reaģents, K₂CO₃, MeOH; (iv) NaN₃, DMF.

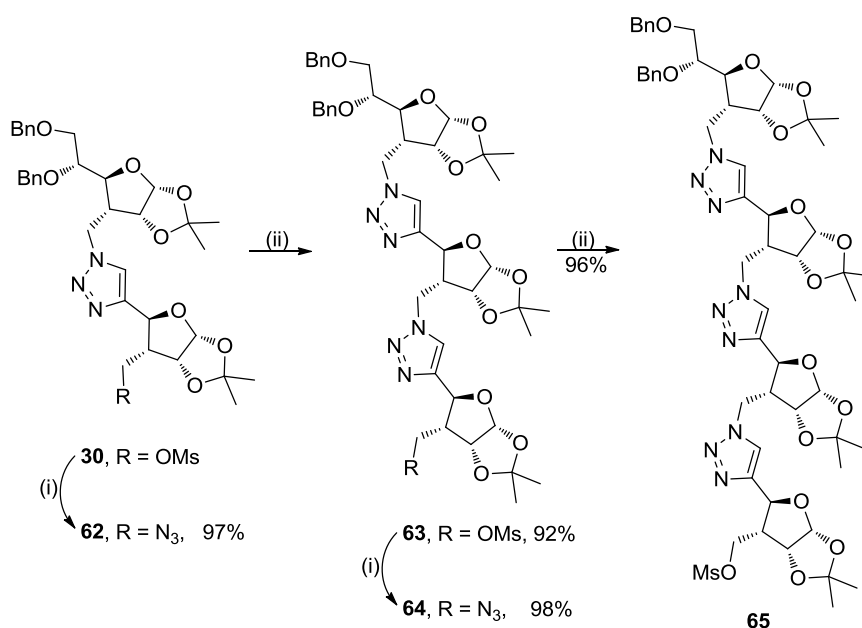
Lai sintezētu oktasaharīdu, mēs nolēmām nošķelt terminālo 5,6-izopropilidēngrupu un diolu **57** pārvērst par alkīnu **58**. To izdevās izdarīt, bet ar zemu iznākumu pirmajā reakcijā un nepietiekami tīru produktu otrajā reakcijā (17. shēma). Vienlaicīgi tetrasaharīdu **56** azidējām par **59**.

Reakcijā starp alkīnu **58** un azīdu **59** ar zemu iznākumu ieguvām oktasaharīdu **60**, kā arī tā 5,6-diolu **61**, kurus attīrījām ar preparatīvo šķidrums hromatogrāfiju uz apgrieztās fāzes (18. shēma).

Lai varētu realizēt procesu, apejot acetonīdu hidrolīzes reakciju, nolēmām veikt sintēzi, izmantojot ar benzilgrupām aizsargātu savienojumu **30**. To līdzīgi kā iepriekš, pārvērtām par tetrasaharīdu **65** ar 84% kopējo iznākumu četrās stadijās (19. shēma).



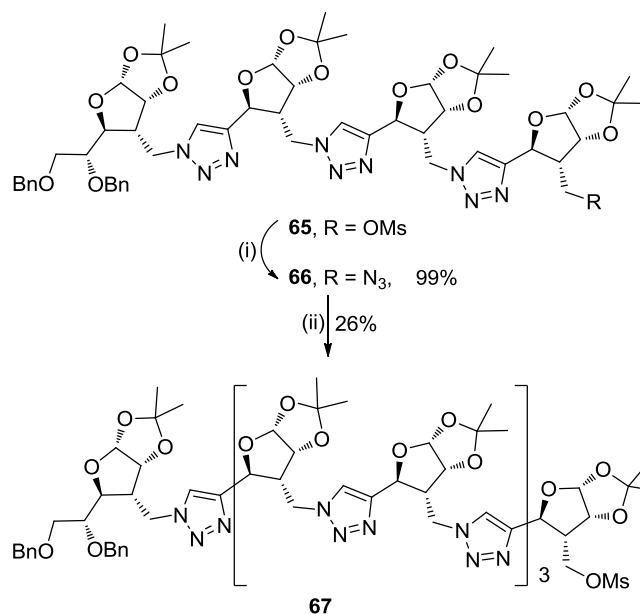
18. Shēma. (i) CuSO_4 , nātrija askorbāts, H_2O , DMF.



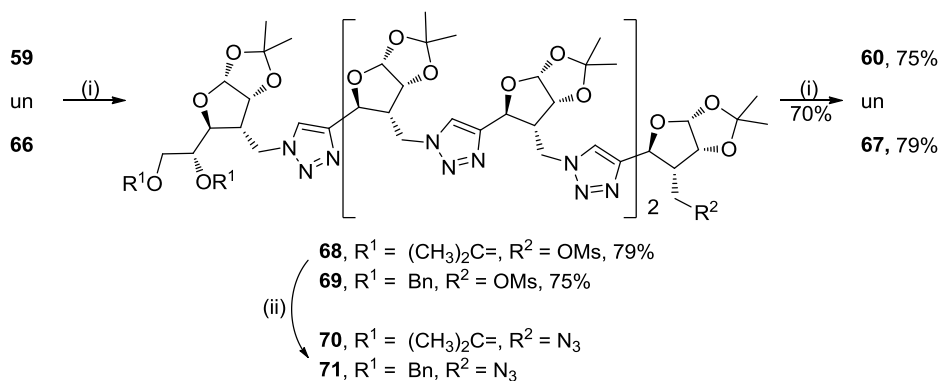
19. Shēma. (i) NaN_3 , DMF; (ii) **17**, CuSO_4 , nātrija askorbāts, H_2O , THF.

Taču tetramēra katalītiskā hidrogēnēšana noritēja ilgi un ar samērā zemiem iznākumiem. Mēs ieguvām diolu **57**, kuru pārvērtām par alkīnu **58**. To bez attīrīšanas lietojām oktamēra **67** sintēzei reakcijā ar azīdu **66** (20. shēma).

Iegūto oktasaharīdu no piemaisījumiem varējām attīrīt tikai ar AEŠH uz apgrieztās fāzes, kas ir ilgs un darbietilpīgs process. Tādēļ nolēmām izmantot citu pieeju – audzēt oligomēra ķēdi, pievienojot disaharīdu **32**. Šī pieeja ļauj iegūt heksasaharīdus **68** un **69** no atbilstošiem tetrasaharīdiem, kā arī tālāk tos pārvērst par nepieciešamiem oktasaharīdiem (21. shēma).



20. Shēma. (i) NaN_3 , DMF; (ii) **58**, CuSO_4 , nātrija askorbāts, H_2O , THF.



21. Shēma. (i) **32**, CuSO_4 , nātrija askorbāts, H_2O , THF; (ii) NaN_3 , DMF.

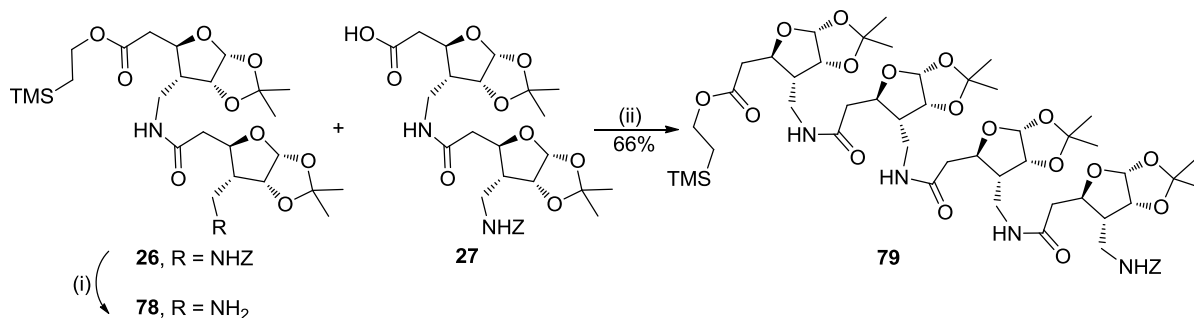
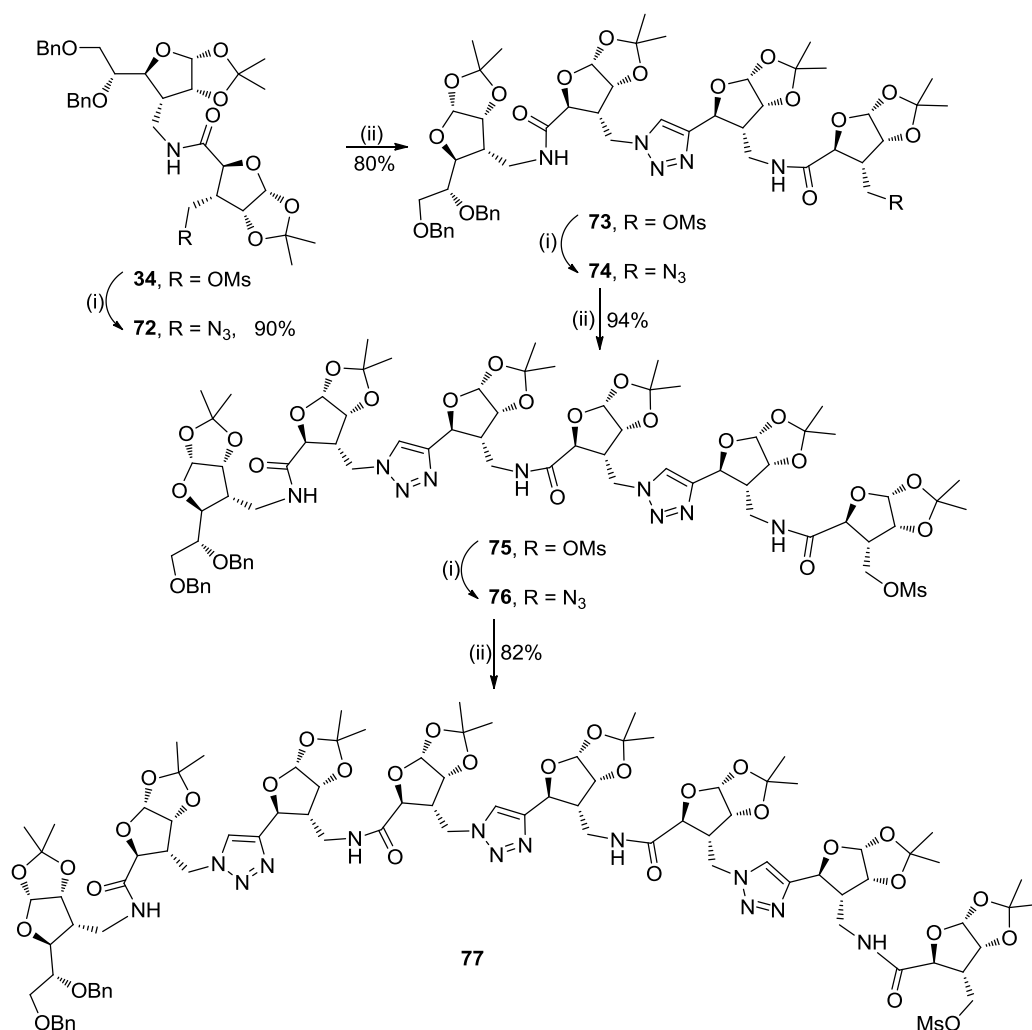
Tādējādi mēs ieguvām divas ar triazoliem saistītu oligomēru sērijas, kuras tālāk pētījām ar kodolu magnētiskās rezonanses un cirkulārā dihroisma spektroskopijām. Var secināt, ka īsākas virknes oligomērus var efektīvi sintezēt, veicot ķēdes pagarināšanu pa vienam monomēram. Garākus oligomērus var ērti iegūt, izmantojot disaharīdus kā būvblokus, tādējādi pagarinot ķēdi par diviem ogļhidrāta fragmentiem vienā stadijā.

1.4.2. Ar amīdsaiti un triazoliem saistīti oligosaharīdi

Izmantojot pārbaudīto stratēģiju un iepriekš iegūtos disaharīdus kā būvblokus, mēs sintezējām hibrīdu sērijas tetrasaharīdu **73**, heksasaharīdu **75** un oktasaharīdu **77**, kura kopējais iznākums ir 55% sešās stadijās (22. shēma).

1.4.3. Oligopeptīdu sintēze

Hidrogenējot C-aizsargātu dipeptīdu **26** un acilējot iegūto amīnu ar skābi **27**, mēs ieguvām C- un N-aizsargātu tetrapeptīdu **79**, ar 66% iznākumu 2 stadijās (23. shēma).

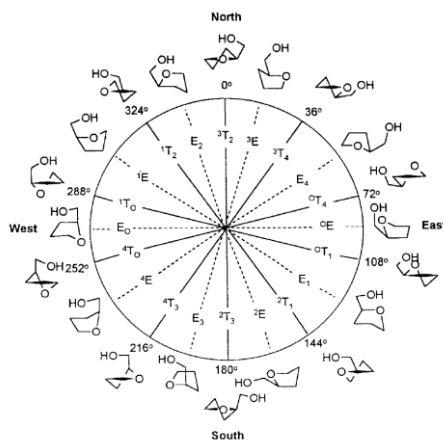


2. Karbopeptoīdu un to triazolanalogu struktūru pētījumi

Lai veiktu struktūru pētījumus jāzina, kāda konformācija piemīt katram struktūrelementam. Tā kā mūsu savienojumi satur 3,4-*trans*-aizvietotu furanozes ciklu, tā konformācija var būtiski ietekmēt arī saistītājelementu (amīdu un triazolu) novietojumu telpā.

Furanozes ciklam, tāpat kā ciklopentānam, piemīt tieksme mazināt cikla enerģiju, izvirzot vienu vai divus atomus no pārējo atomu veidotās plaknes. Ja tiek izbīdīts viens atoms (virs

plaknes – *endo*, zem plaknes – *ekso*), veidojas aploksnes tipa konformācija, ko apzīmē ar burtu „E” (no angl. envelope). Ja divi atomi izvirzās dažādās plaknes pusēs – veidojas *twist*-konformācija, T. Šīs konformācijas var pāriet viena uz otrā (pseudorotācija), veidojot tā saukto pseudorotācijas ciklu (4. attēls) [11].



4. Attēls. Pseudorotācijas cikls [11]

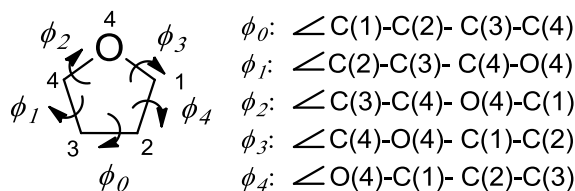
Pseudorotāciju raksturo divi lielumi – pseudorotācijas fāzes leņķis P un tās amplitūda Ψ . Šos lielumus var aprēķināt pēc formulām 2.1. un 2.2., zinot furanozes cikla divplakņu kaktu leņķus (5. attēls).

$$\tan P = \frac{\varphi_2 + \varphi_4 - (\varphi_1 + \varphi_3)}{3.077 \varphi_0} \quad (2.1.)$$

un

$$\Psi_j = \Psi_m \cos(P + 144j) \quad (2.2)$$

kur j – divplakņu kakta leņķa indekss, $j=0-4$;



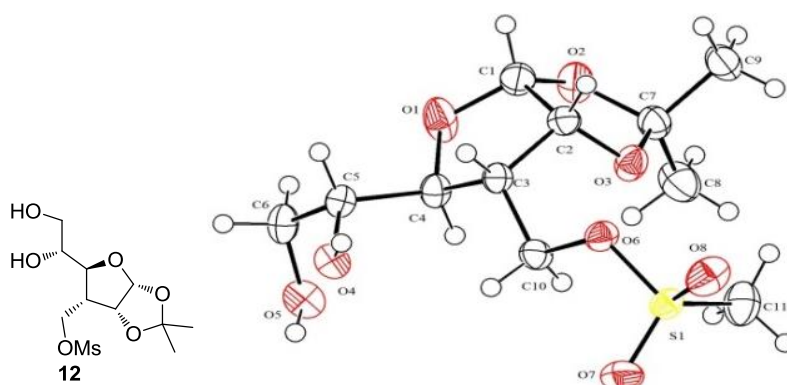
5. Attēls. Furanozes divplakņu kakta leņķi

Ja furanozes konformācijas fāzes leņķis ir no 270° līdz 90° , tad tas pieder pie ziemeļu konformāciju kopas (pēc līdzības ar zemeslodes attēlojumu globusā), bet ja no 90° līdz 270° – pie dienvidu kopas.

2.1. Pamatdatu iegūšana no monosaharīdu konformāciju pētījumiem

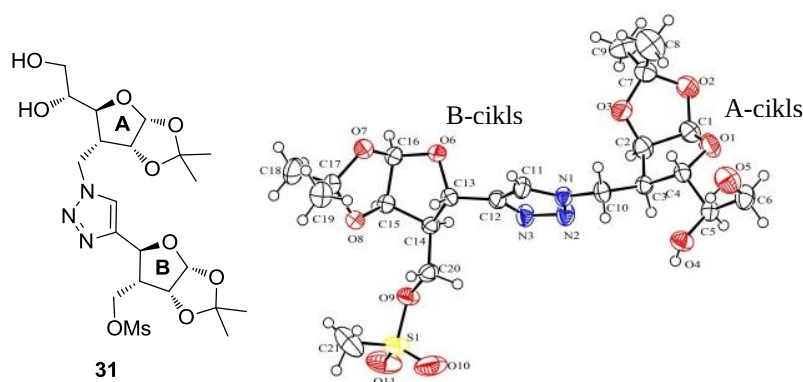
Mūsu sintezētie oligomēri lielākoties ir eļļveida vai amorfas cietas vielas, tāpēc tiem nebija iespējams iegūt rentgenstruktūranalīzei piemērotus kristālus. Taču dažiem no monosaharīdiem, kurus ieguvām darba gaitā, izdevās veikt struktūru pētījumus.

Mēs ieguvām diola **12** monokristālu un izpētījām to ar rentgenstruktūranalīzes palīdzību (6. attēls). Mēs secinājām, ka furanozes cikla konformācija ir pārejas stāvoklī no 3E uz 3T_4 ($P=31^\circ$). Aizvietotāji pie cikla C(3) un C(4) atomiem veido aizkavētās konformācijas.



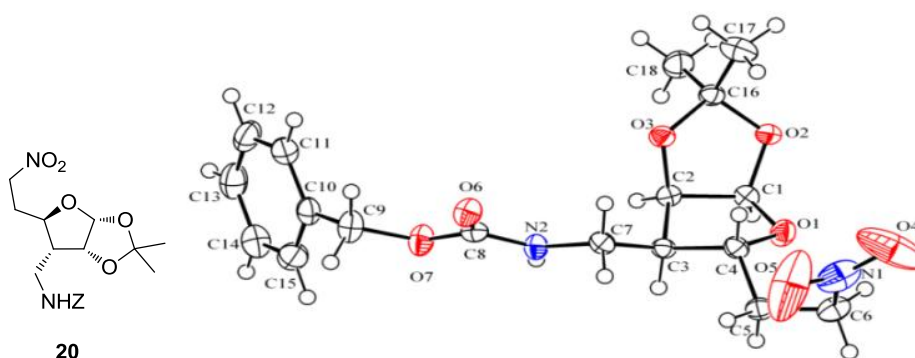
6. Attēls. Diola **12** rentgenstruktūranalīzes ORTEP attēlojums.

Kā strukturāli tuvāku mūsu mērķsavienojumiem mēs izpētījām disaharīdu **31** ar triazola starpcukuru tiltiņu (7. attēls). Mēs noteicām, ka savienojuma A-ciklam ir 3T_2 konformācija ($P=6^\circ$), bet B-ciklam – E_4 ($P=51^\circ$).



7. Attēls. Disaharīda **31** rentgenstruktūranalīzes ORTEP attēlojums.

Tāpat izpētījām arī *N*-benziloksikarbonilaizsargātu nitrosavienojumu **20** (8. attēls). Tam piemīt pārejas konformācija ${}^3E \rightarrow {}^3T_4$ ($P=32^\circ$). Veicot tā ${}^1\text{H}$ -KMR spektru salīdzināšanu ar līdzīgiem savienojumiem, mēs secinājām, ka tiem saglabājas līdzīgs karbamāta un metilēngrupas protonu novietojums, kad divplakņu kakta leņķi $\text{H(N)}\text{-N(CO)}\text{-C(3')}\text{-H(3')} = \pm 120^\circ$. Apskatīto savienojumu raksturojošie divplakņu kakta leņķi ir apkopoti 2. tabulā.



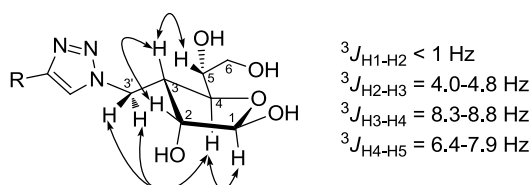
8. Attēls. Savienojuma **20** rentgenstruktūranalīzes ORTEP attēlojums

2. Tabula. Savienojumu **12**, **31** un **20** konformācijas raksturojošie divplakņu kakta leņķi.

Nr.	Leņķis	Savienojums			
		12	31		20
			A	B	
1.	C(1)-C(2)-C(3)-C(4)	23.6	29.4	26.5	31.3
2.	C(2)-C(3)-C(4)-O(4)	-27.6	-25.8	-40.9	-37.0
3.	C(3)-C(4)-O(4)-C(1)	21.8	12.6	40.5	29.2
4.	C(4)-O(4)-C(1)-C(2)	-6.4	6.2	-23.2	-8.9
5.	O(4)-C(1)-C(2)-C(3)	-11.7	-22.8	-3.2	-14.9
6.	H(1)-C(1)-C(2)-H(2)	-13.7	-26.7	-3.4	-17.5
7.	C(2)-C(3)-C(3')-VA*	57.1	54.4	62.1	64.1
8.	H(3)-C(3)-C(2)-H(2)	30.2	37.5	33.1	40.3
9.	H(3)-C(3)-C(4)-H(4)	-152.7	-152.5	-169.9	177.5

*VA – vecākais aizvietotājs

Mēs arī izpētījām aizsarggrupas nesaturošus monosaharīdu-triazolu konjugātus **45** šķīdumā ar KMR spektriem. Balstoties uz novērotajām spinu sadarbības konstantēm ^1H -KMR spektrā un NOE datiem, mēs secinājām, ka no visas šķīdumā esošas β -furanozes formas >97% atrodas $^3\text{T}_2$ konformācijā (9. attēls).



9. Attēls. Monosaharīdu-triazolu konjugātu **45** konformācija

Tādējādi mēs varam secināt, ka visiem savienojumiem ar 1,2-izopropilidēngrupu piemīt konformācijas no tā saucamās ziemeļu kopas. Taču katru konkrēto konformāciju ietekmē aizvietotājs pie C(3) atoma, šķīdumā notiekošā ierobežotā pseidorotācija, bet kristāliskajā formā konformāciju ietekmē režģa pakojums.

2.2. Oligosaharīdu struktūru pētījumi

Lai izpētītu sintezēto oligomēru telpiskās struktūras, mēs lietojām kodolu magnētiskās rezonanses un cirkulārā dihroisma spektroskopijas, kā arī molekulārās dinamikas aprēķinus molekulu otrējās struktūras vizualizācijai.

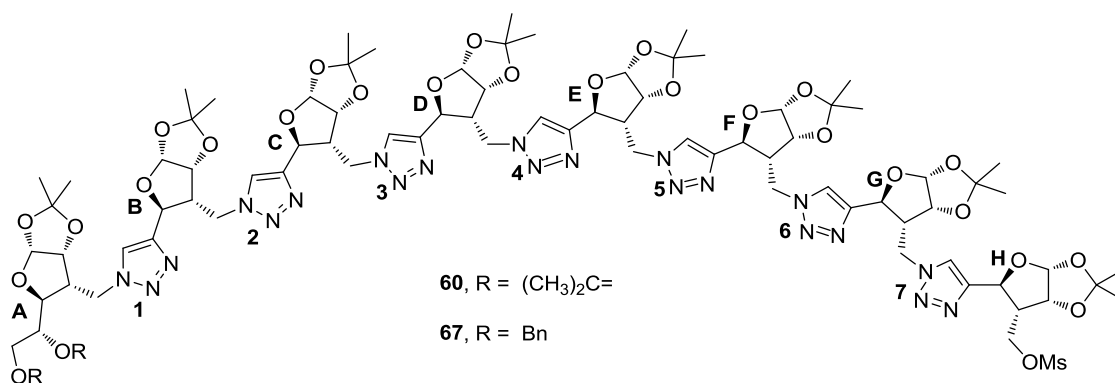
2.2.1. Ar triazoliem saistītie oligosaharīdi

2.2.1.1. KMR pētījumi

Oligomēru spektru analīzi mēs sākam no disaharīdiem, kuriem noteicām visas protonu ķīmiskās nobīdes un novērotās sadarbības konstantes.

Veicot konstanšu analīzi, mēs secinājām, ka gan disaharīdam ar 5,6-izopropilidēngrupu, gan ar 5,6-di-*O*-benzilēteriem furanožu konformācijas ir līdzīgas un pieder ziemeļu konformāciju kopai. Starpcukura tiltiņa (metilēngrupas un triazola) telpiskais izkārtojums arī sakrīt – viens no H(3') protoniem ir *ap* stāvoklī pret H(3), bet triazola cikls veido divplakņu kakta leņķi $N(tr)-C(3')-C(3)-H(3)=-60^\circ$. Triazola protons ir virzīts tuvāk furanozes C(2) ogleklim un zem tās cikla plaknes esošajai -CH₃ grupai.

Lielākas atšķirības ir 5,6-aizvietotāju orientācijā – cikliskais acetāls izkārtots paralēli cukura plaknei, bet acikliskie ēteri brīvi rotē, ietekmējot C(4)-C(5) saites ģeometriju.



10. Attēls. Triazolu saturošu oligomēru vispārīga struktūra

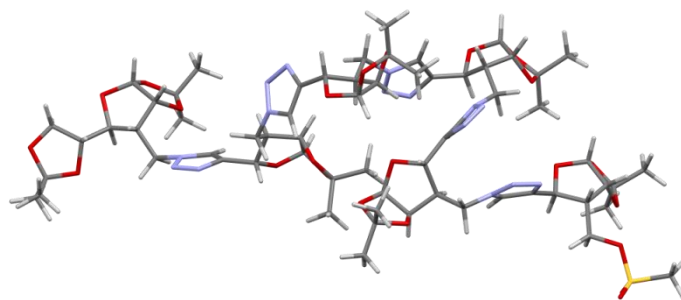
Mēs novērojām, ka palielinoties ķēdes garumam, signālu nobīdes mainījās tikai starp dažādās molekulas daļās esošiem protoniem. Tā terminālo fragmentu (A- un D-cikli tetramēram, A- un F-cikli heksamēram un A- un H-cikli oktamēram) protonu signāli spektrā nemainījās, pārejot no viena savienojuma uz otru. Iekšējo ogļhidrātu un tiltiņu protonu signāli pārklājās arvien vairāk, pieaugot ķēdes garumam (10. attēls). Taču no redzamajiem signāliem mēs noteicām, ka katra tiltiņa konformācija oligomēros ir līdzīga dimēru linkera konformācijai, un tetrahydrofurāna cikliem piemīt konformācija no ziemeļu kopas.

2.2.1.2. Molekulāras dinamikas pētījumi

Izmantojot no heksasaharīda **68** KMR spektriem trideiterotrifluoretanolā iegūtos attālumus starp protoniem molekulā, veicām molekulāras dinamikas aprēķinus ar mērķi vizualizēt savienojuma **68** telpisko struktūru (11. attēls).

Aprēķiniem izmantojām programmu NAMD 2.9 (spēka lauks *CHARMM*) un vizualizācijas programmu VMD 1.9.1 [12].

Pēc MD aprēķiniem var secināt, ka visu iegūto struktūru furanožu ciklu konformācijas pieder pie ziemeļu konformāciju kopas, bet tiltiņu -CH₂- grupu konformācijas atbilst spektrā novērotajām spinu mijiedarbības konstantēm starp to protoniem un ciklu H(3) protoniem.



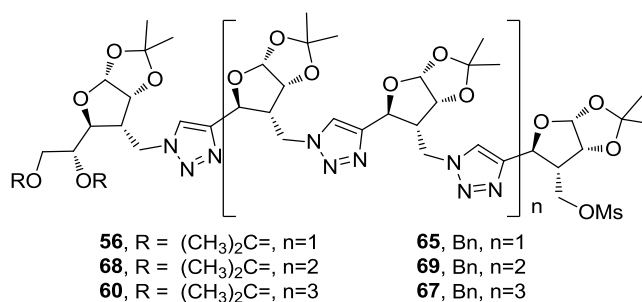
11. Attēls. Heksasaharīda **68** struktūra pēc molekulāras dinamikas simulācijas.

Tad, kad triazols pie C(3') atoma ir virzīts uz atbilstošā cikla C(4) atomu, veidojas β -pagrieziņa tipa struktūtelements. 11. Attēlā parādīta struktūra ar diviem secīgiem β -pagriezieniem.

2.2.1.3. Cirkulārā dihroisma pētījumi

Cirkulārā dihroisma spektroskopija ļauj ātri noteikt savienojumu struktūras īpašības, salīdzinot CD spektrus ar jau zināmo vielu spektriem. Lielas spektru bibliotēkas ir izveidotas no α -aminoskābēm veidotiem dabīgiem un sintētiskiem oligopaptīdiem un proteīniem, kā arī no nedabiskām β -aminoskābēm veidotiem oligomēriem. Mūsu gadījumā, kad mēs apskatām jauna tipa vielu klasi, mēs varam tikai veikt pētījumus dažādos šķīdinātājos un iegūtos datus saistīt ar datiem no KMR pētījumiem un molekulārās dinamikas aprēķiniem.

Savienojumu sērijā ar 5,6-*O*-izopropilidēngrupu divos šķīdinātājos (MeCN un TFE) tika izpētīti disaharīdi **52** un **53**, tetrasaharīds **56**, heksasaharīds **68** un oktasaharīds **60**. Analogiskie savienojumi **30**, **62**, **65**, **69** un **67** tika izpētīti arī sērijā ar benzilēteriem (12. attēls).

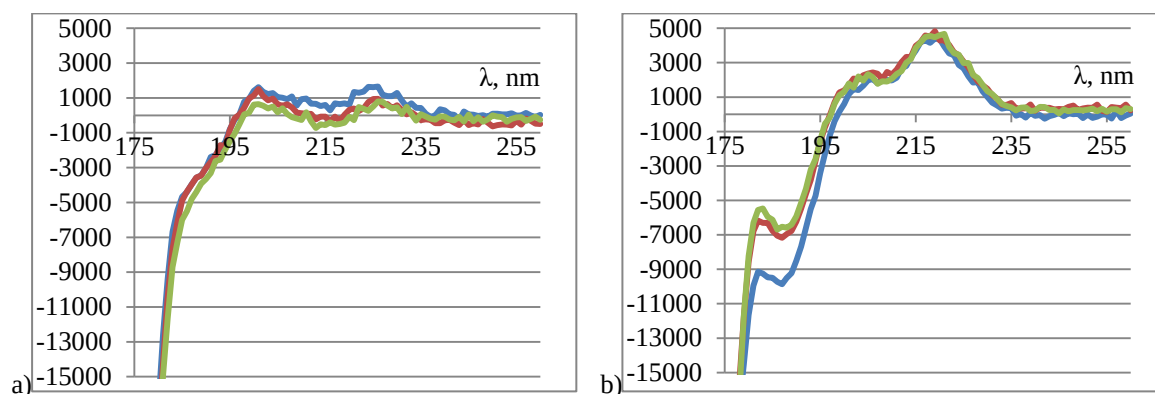


12. Attēls. Ar CD spektriem pētītie triazolus saturošie oligosaharīdi

Savienojumu CD spektrus uzņēmām acetonitrilā reģionā no 180 līdz 260 nm, bet trifluoretanolā no 175 līdz 260 nm. Iegūtos datus pārveidojām par molāro elipticitāti, kuru normalizējām pēc vai nu tiltiņu, vai hromoforu skaita, lai novērtētu pieaugošas ķēdes ietekmi uz spektru intensitāti.

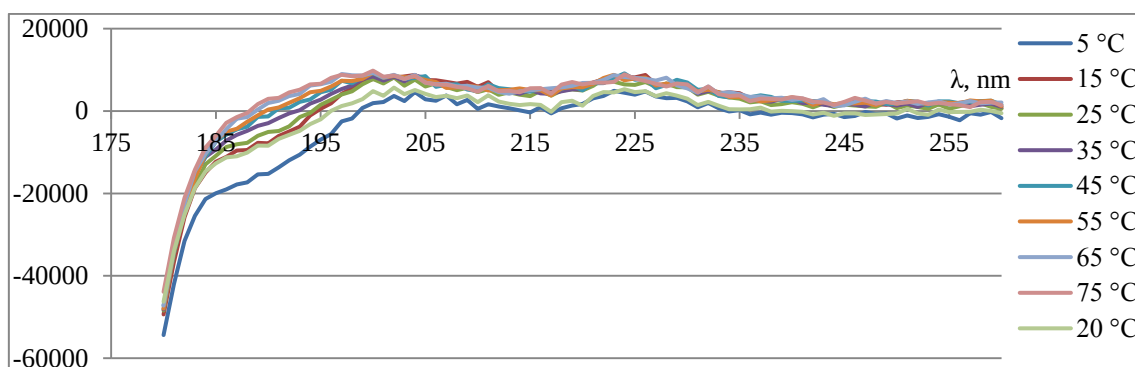
Savienojumu sērijā ar izopropilidēngrupām visu oligosaharīdu normalizētiem spektriem piemīt gan vienādas spektrālas īpašības, gan intensitātes (13. attēls). Tas nozīmē, ka ķēdes

garums neietekmē konformāciju sadalījumu. Savukārt, vairāku spektru maksimumu intensitāšu atšķirības dažādos šķīdinātājos var liecināt par globālās mijiedarbības ar šķīdinātāju izmaiņām.



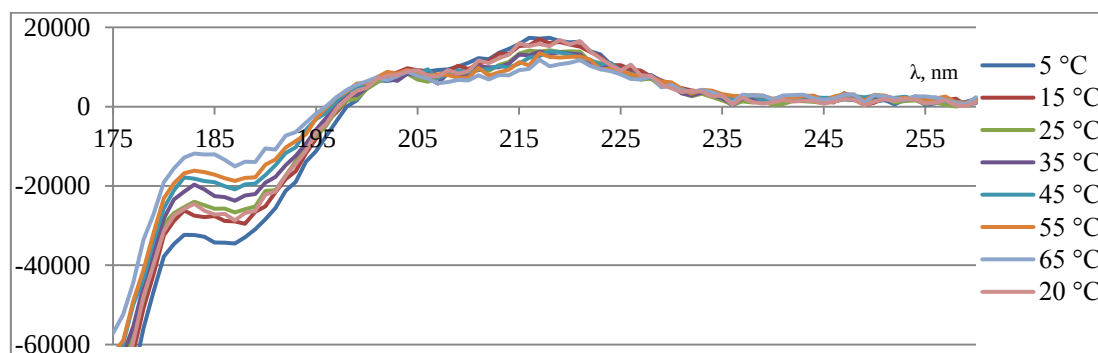
13. Attēls. Uz triazolu normalizēti savienojumu **56** (zils), **68** (sarkans) un **60** (zaļš) CD spektri MeCN (a) un TFE (b) šķīdumos.

Lai pārbaudītu konformāciju termisko stabilitāti, veicām temperatūras ietekmes pētījumus, paraugus sildot no 5 °C līdz 65 °C TFE un līdz 75 °C MeCN šķīdumos.



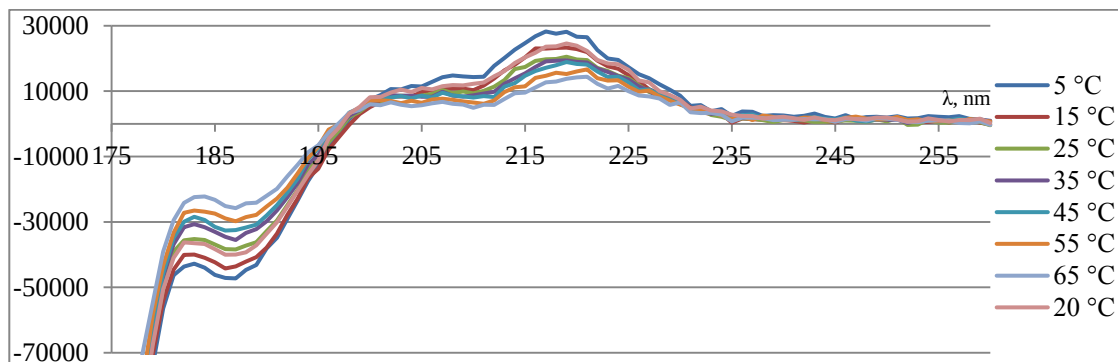
14. Attēls. Temperatūras ietekme uz tetrasaharīda **56** CD spektru MeCN šķīdumā.

Var redzēt, ka tetrasaharīda **56** spektrs MeCN paliek praktiski nemainīgs. Lielākās izmaiņas ir apgabalā no 185 līdz 195 nm (14. attēls). Savukārt, TFE ir redzams, ka augstākās temperatūrās spektra intensitāte samazinās, ko varētu skaidrot ar temperatūras inducētām konformacionālām izmaiņām (15. attēls).



15. Attēls. Temperatūras ietekme uz tetrasaharīda **56** CD spektru TFE šķīdumā.

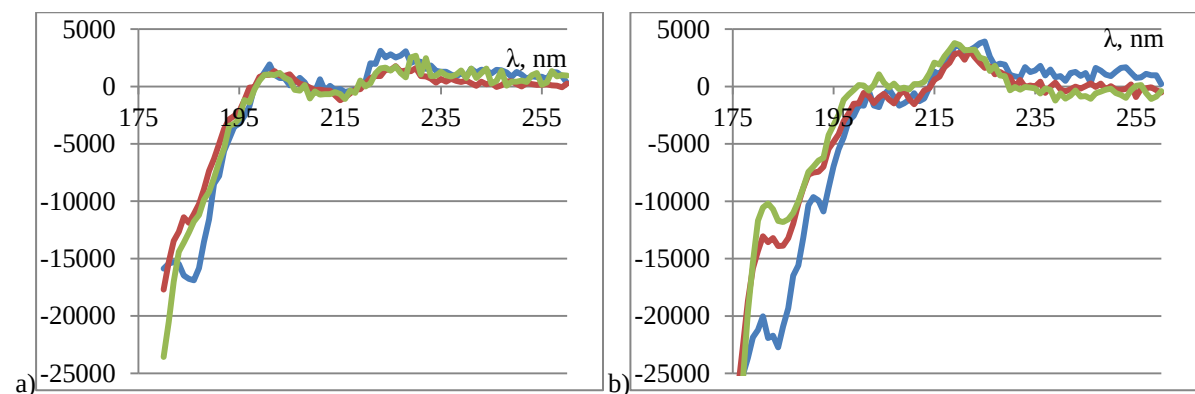
Līdzīgu ainu novērojām arī heksasaharīda **68** spektros TFE (16. attēls), kas liecina par to, ka garāko ķēžu konformācijas augstākās temperatūras mainās tāpat, kā tetra saharīda konformācijas. Var secināt, ka pieaugot ķēdes garumam konformācija ir stabila un būtiski nemainās.



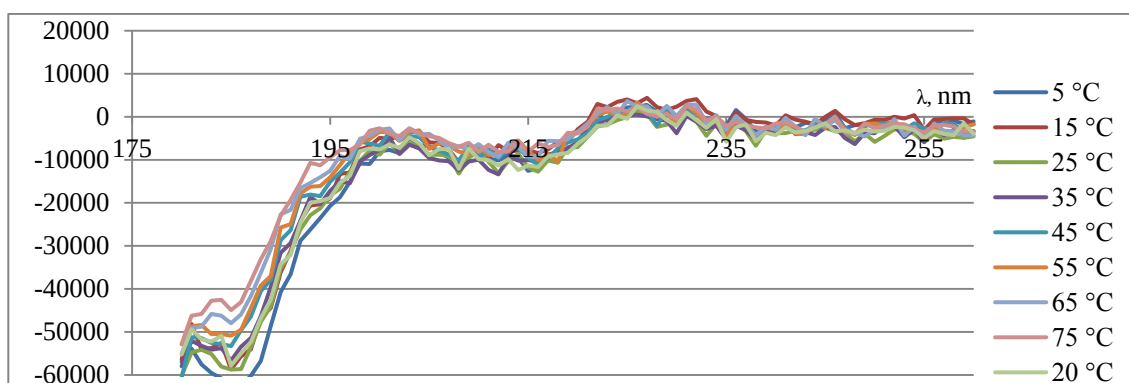
16. Attēls. Temperatūras ietekme uz heksasaharīda **68** CD spektru TFE šķīdumā.

Oligomēri no benzilaizsargātās sērijas uzrāda līdzīgu tendenci – normalizētie spektri maz atšķiras, palielinoties ķēdes garumam, un trifluoretanolā spektri ir ar lielāku intensitāti (17. attēls).

Salīdzinot ar pirmo sēriju, negatīvajam maksimumam <190 nm piemīt lielākā intensitāte, ko var skaidrot ar benzilgrupas ietekmi uz UV absorbciju.

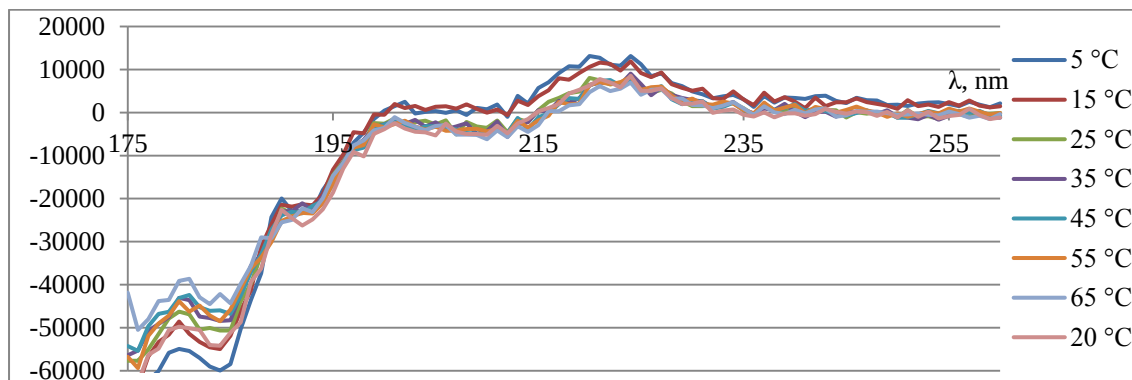


17. Attēls. Uz triazolu normalizēti savienojumu **65** (zils), **69** (sarkans) un **67** (zaļš) CD spektri MeCN (a) un TFE (b) šķīdumos.



18. Attēls. Temperatūras ietekme uz tetrasaharīda **65** CD spektru MeCN šķīdumā.

Tetrasaharīda **65** CD spektru pētījumi paaugstinātās temperatūrās (18. attēls) deva līdzīgu rezultātu kā analogiskā savienojuma **56** pētījumi acetonitrilā. Spektru intensitāšu izmaiņas pie viļņu garumiem >190 nm pat TFE ir ļoti mazas (19. attēls). Tas liecina par to, ka struktūras lielākās izmaiņas, kas saistītas ar siltumkustību, notiek benzilēteru tuvumā.

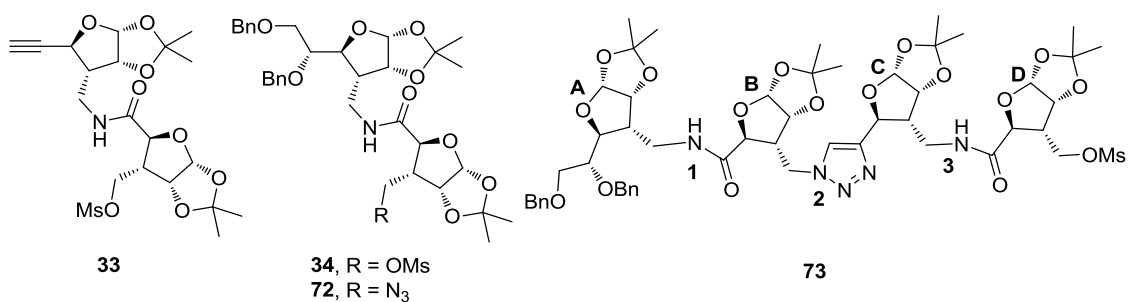


19. Attēls. Temperatūras ietekme uz tetrasaharīda **56** CD spektru TFE šķīdumā.

2.2.2. Ar amīdsaiti un triazoliem saistītie oligosaharīdi

2.2.2.1. KMR pētījumi

Tā kā salīdzinot ar iepriekš izpētītajiem savienojumiem, šajā sērijā parādās papildus struktūrelements – amīds, mēs nolēmām sākt pētījumus no disaharīdiem **33**, **34** un **72** (20. attēls).



20. Attēls. Disaharīdi **33**, **34**, **72** un tetrasaharīds **73**

Balstoties uz furanožu protonu sadarbības konstantēm, mēs varam secināt, ka tām piemīt ziemeļu kopas konformācijas (no 3T_2 līdz 3T_4), bet amīds veido divplakņu kaktu leņķus ar metilēngrupas protoniem $H(N)-N(CO)-C(3')-H(3')$ $\pm 120^\circ$. Savukārt, tiltiņa $-CH_2-$ grupas konformācija ir atkarīga no dimēra: savienojumā **34** viens no protoniem ir *ap* pret $H(3)$, bet savienojumos **33** un **72** – *sc* konformācijā.

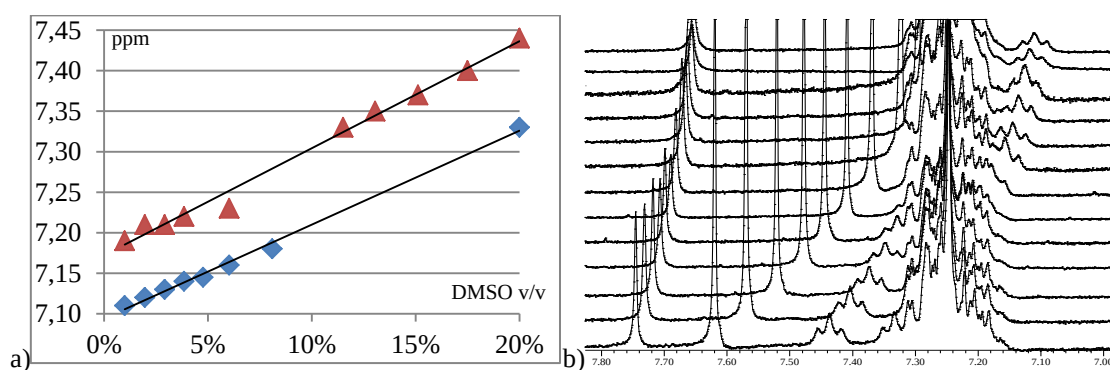
Savienojuma **33** amīda protona ķīmiskā nobīde ir 6.99 ppm, bet savienojumu **34** un **72** – 7.13 un 7.12 ppm.

No literatūras var secināt, ka, iespējams, šie divi protoni ir iesaistīti vājā ūdeņraža saitē ar ētera tipa skābekli [13].

Līdzīgi izpētījām tetrasaharīdu **73** un konstatējām, ka furanožu ciklu konformācija nemainās. Triazola un amīdu tiltiņu konformācijas sakrīt ar atbilstošo disaharīdu konformācijām – pie triazola saistītās metilēngrupas protoni veido divplakņu kakta leņķus ar H(3) 180° un 60° , bet amīdu - $\pm 60^\circ$.

Tajā pašā laikā amīdu H(N) protoni veido $\pm 120^\circ$ leņķus ar tiltiņa -CH₂-grupas protoniem. Ķīmiskās nobīdes (7.17 un 7.24 ppm) liecina par vājām ūdeņraža saitēm.

Mēs veicām šķīdinātāja titrēšanu ar mērķi noteikt amīdu protonu piedalīšanos ūdeņražu saišu veidošanā. Pievienojot DMSO-d₆ pie tetrasaharīda **73** šķīduma CDCl₃, noteicām ķīmisko nobīžu izmaiņas (21. attēls).



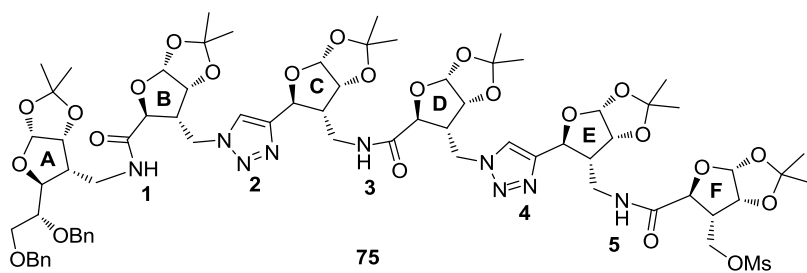
21. Attēls. Šķīdinātāja titrēšana: a) ķīmisko nobīžu izmaiņu grafiks. b) Titrēšanas KMR spektru pārklāšana (300 MHz, augšā – 1% DMSO, apakšā – 20% DMSO)

No grafika 21. attēlā var redzēt, ka, pievienojot 20 tilp.% DMSO, abi NH signāli nobīdās ne vairāk kā par 0.25 m.d., kas liecina par protonu nepieejamību mijiedarbībai ar polāro šķīdinātāju iespējamo iekšmolekulāro H-saišu dēļ [13].

Heksasaharīda furanožu H(1), H(2), H(4) un četri no sešiem H(3) ir labi izšķirti, tāpēc varam secināt, ka ogļhidrātu platformas konformācijas ir līdzīgas iepriekš izpētītajām (22. attēls). Tāpat arī triazolu tiltiņu un -CH₂OMs aizvietotāja orientācija ir līdzīga.

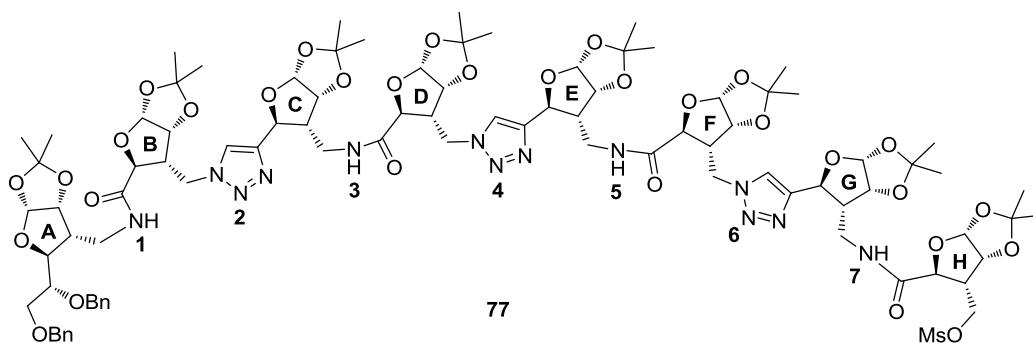
Amīdu tiltiņu -CH₂- grupu signāli ir labi izšķirti savā starpā, taču A-cikla viens no protoniem pārklājas ar H(5) un H(6) signāliem. Kopumā var secināt, ka -CH₂- grupu protoni ar atbilstošiem H(3) protoniem veido divplakņu kaktu leņķus, kas ir tuvu $\pm 60^\circ$, bet ar zināmu nobīdi, kas arī atspoguļojas 2-3 Hz starpībā starp abu geminālu protonu konstantēm.

Amīdu protonu signāli atrodas pie 7.16 m.d. (amīds **1**), 7.25 m.d. (amīds **5**) un 7.39 m.d. (amīds **3**), kas var liecināt par H-saišu veidošanos. Šķīdinātāja titrēšanas rezultāti (signālu nobīžu izmaiņas <0.36 m.d., pievienojot 33 tilp. % DMSO) un temperatūras nobīdes koeficienti (<0.0038 m.d./grāds) arī apstiprina to. No sadarbības konstantēm varam secināt, ka divplakņu kakta leņķi ir H(N)-N(CO)-C(3')-H(3') $\sim \pm 120^\circ$.



22. Attēls. Heksasaharīds 75

Kaut arī oktasaharīda spektrā signāli sāk pārklāties un tas apgrūtina atšifrēšanu un konformācijas noteikšanu, mēs varam secināt, ka furanožu un triazolu tiltiņu konformācijas sakrīt ar heksasaharīda un tetrasaharīda konformācijām (23. attēls).



23. Attēls. Oktasaharīds 77.

No amīdu tiltiņu metilēngrupu protoniem pilnīgi pārklājas amīdu 3 un 5 protonu signāli, kā arī pašu amīdu H(N) signāli (7.41 ppm) un atbilstošie H(3) signāli. Pārklāšanās dēļ mēs nevaram izmantot visus informatīvus signālus, bet tikai dažus no tiem. Lietojot pieejamos datus, varam secināt, ka abu metilēngrupu konformācijas ir līdzīgas ar pārējo amīdu tiltiņu konformācijām.

Lai izvērtētu šķīdinātāja ietekmi uz oktasaharīda 77 konformācijām šķīdumā, mēs veicām KMR pētījumus acetonitrilā (CD_3CN) un trifluoretanolā ($\text{CF}_3\text{CD}_2\text{OH}$). Rezultāti ļāva secināt, ka molekula ir ļoti kustīga, tāpēc viennozīmīgi prognozēt tās amīda tiltiņu konformācijas ir ļoti grūti. Tās kustīgums samazinās, pārejot no hloroforma šķīdumu uz acetonitrila un trifluoretanola šķīdumiem. To pierāda ^1H -KMR spektra signālu paplašināšanās un jaunu kodolu Overhausera efekta signālu parādīšanās ROESY spektrā trifluoretanolā.

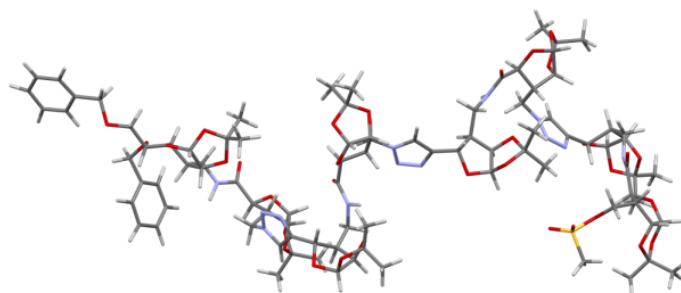
Noslēgumā var secināt, ka dažādiem tiltiņiem piemīt atšķirīga orientācija telpā, kura nemainās pieaugot savienojuma ķēdes garumam. No izpētītiem oligomēriem visas novērotās individuālas īpatnības piemīt sākot no heksasaharīda, kamēr oktasaharīda spektros pārklāšanās dēļ ir grūtāk noteikt struktūrelementu raksturojošās sadarbības konstantes.

Izmantojot ROESY spektru datus, mēs noteicām attālumus starp dažādiem protoniem hloroforma un trifluoretanola šķīdumos un izmantojām tos molekulārās dinamikas aprēķinos.

2.2.2.2. Molekulāras dinamikas pētījumi

Mēs izmantojām no KMR spektriem iegūtos datus par attālumiem starp protoniem oktasaharīda **77** molekulā molekulāras dinamikas aprēķinos.

Iegūtās struktūras tika novērtētas, ņemot vērā KMR spektru datus. Mēs secinājām, ka visu ciklu konformācijas atbilst ziemeļu konformāciju kopai. Savukārt, starpcukuru tiltiņu izvietojumu viennozīmīgi novērtēt nevar, jo spektru dati neizslēdz vairākas molekulā esošas konformācijas (24. attēls).

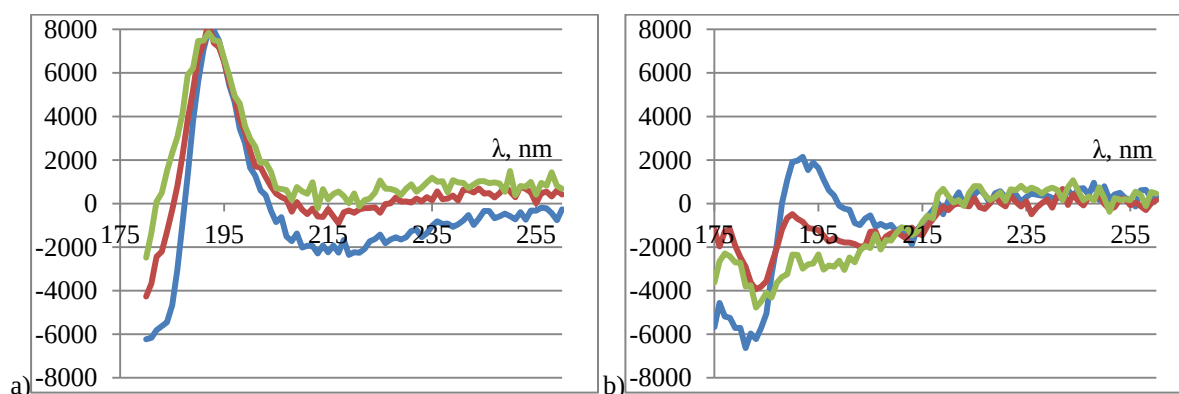


24. Attēls. Molekulārās dinamikas simulācijā iegūtā oktasaharīda **77** struktūra.

2.2.2.3. Cirkulārā dihroisma pētījumi

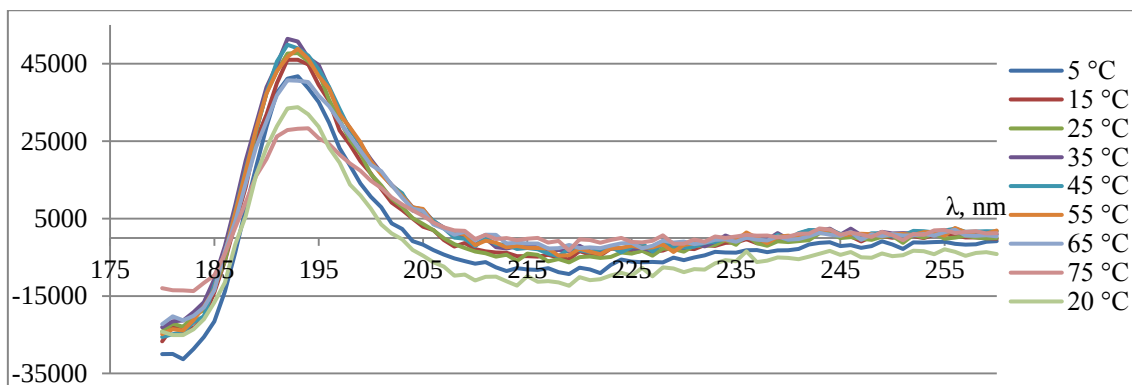
Mēs izpētījām amīdus un triazolus saturošus oligosaharīdus tāpat kā tikai triazolus saturošus, uzņemot cirkulārā dihroisma spektrus gan MeCN, gan TFE, gan arī veicot temperatūras ietekmes pētījumus.

Acetonitrilā oligomēru spektri uzrādīja vienādus spektrus, kuru uz hromoforu (amīdi, triazoli un fenilgrupas) skaitu normalizētās intensitātes izrādījās vienādas (25. attēls).



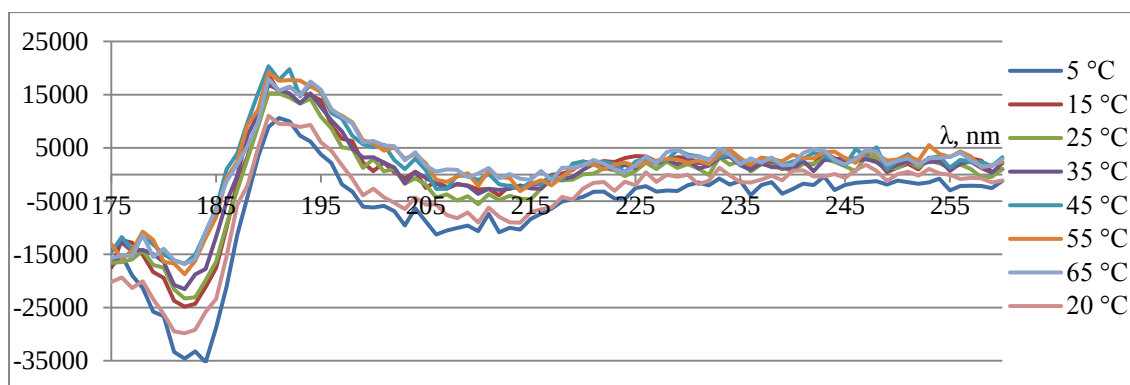
25. Attēls. Uz hromoforu normalizēti savienojumu **73** (zils), **75** (sarkans) un **77** (zaļš) CD spektri MeCN (a) un TFE (b)

Tai pašā laikā trifluoretanolā mēs novērojam šķīdinātāja ietekmi uz savienojumu otrējām struktūrām, par ko liecina tetrasaharīda spektra intensitātes samazināšanās. Izpaužas arī spektru atkarība no ķēdes garuma, kā rezultātā oktasaharīda spektrā pilnīgi izzūd maksimums ap 192 nm (25. attēls). Var secināt, ka TFE šķīdumā oligosaharīdu struktūras mainās, taču precīzi noteikt izmaiņu raksturu nevar.



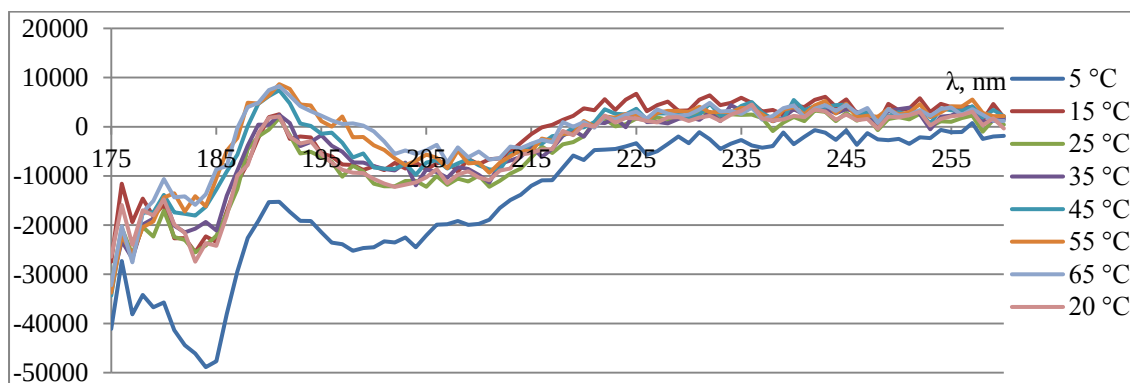
26. Attēls. Temperatūras ietekme uz tetrasaharīda **73** CD spektru MeCN šķīdumā.

Tetrasaharīda **73** temperatūras pētījumi abos šķīdinātājos parādīja, ka acetonitrilā ir neliela 75 °C spektra maksimuma samazināšanās (26. attēls), bet izmaiņas TFE šķīdumā ir niecīgas (27. attēls).



27. Attēls. Temperatūras ietekme uz tetrasaharīda **73** CD spektru TFE šķīdumā.

Savukārt, heksasaharīda **75** spektriem augstākās temperatūrās (>45 °C) ir nedaudz lielākas intensitātes maksimumam pie 191 nm (28. attēls).

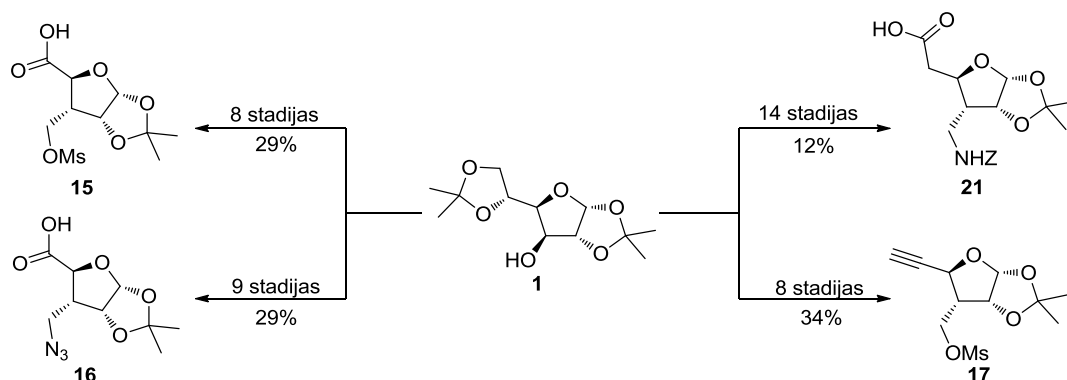


28. Attēls. Temperatūras ietekme uz heksasaharīda **75** CD spektru TFE šķīdumā.

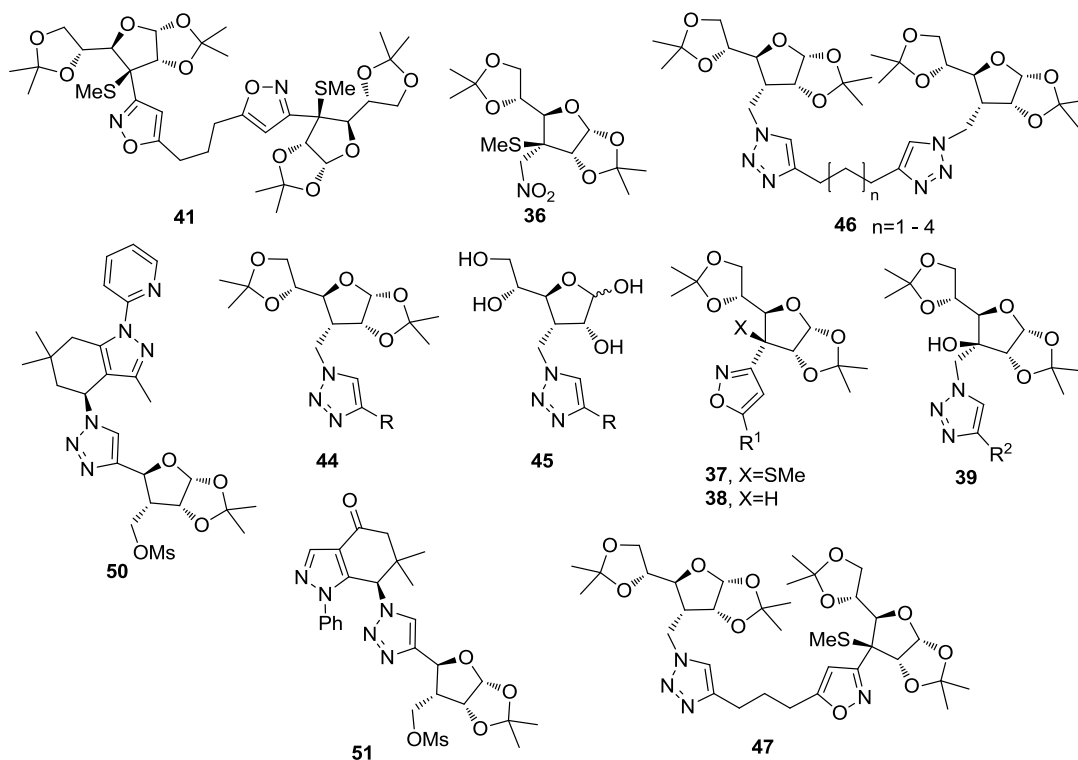
Nobeigumā var secināt, ka šajās struktūrās saistītājelementi ir vairāk pakļauti šķīdinātāja ietekmei, kuras rezultātā vai nu veidojas jaunas, vai sabrūk esošās iekšmolekulāras mijiedarbības. Vienlaicīgi šī ietekme tiek pastiprināta ar pieaugošo ķēdes garumu.

SECINĀJUMI

1. Sākot ar komerciāli pieejamo diaceton- α -D-glikozi, cukuraminoskābes prekursors **15** ir sintezējams 8 stadijās ar kopējo iznākumu 29%, bet aizsargātās cukuraminoskābes **16** un **21** attiecīgi 9 un 14 stadijās ar 29% un 12% iznākumiem. Triazolu sintēzes prekursors **17** ir iegūstams 8 stadijās ar 34% kopējo iznākumu. Izstrādatās monosaharīdu būvbloku ieguves metodes ir ar labu atkārtotamību.

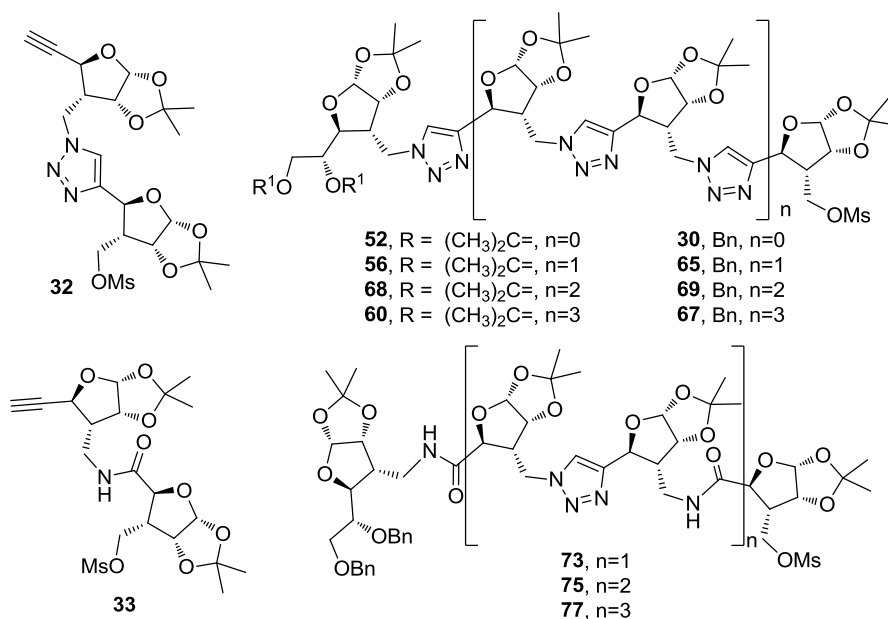


2. Izstrādāto cukuraminoskābju un to prekursoru sintēžu starpproduktus var ērti pielietot dažādu jauna tipa atvasinājumu sintēzē.



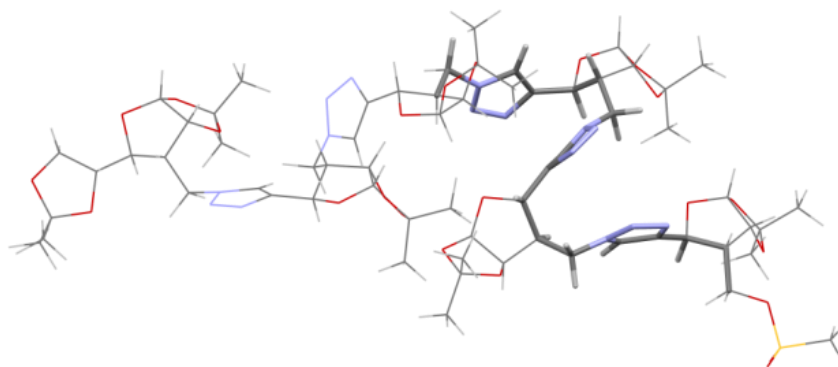
3. Amīdus un triazolus saturošus disaharīdus var ērti sintezēt no monosaharīdiem. Tajos ievadītās karbonskābes vai alkilgrupas ļauj sintezēt oligoamīdus un oligotriazolus, kā arī abus tiltiņus saturošos oligomērus. Monosaharīdu secīga apvienošana ļauj efektīvi iegūt

savienojumus ar ķēdes garumu līdz četrām ogļhidrātu vienībām. Garāku modificētu oligosaharīdu (karbopeptoīdu) ieguvei nepieciešama ķēdes pagarināšana, lietojot disaharīdus **32** un **33**.

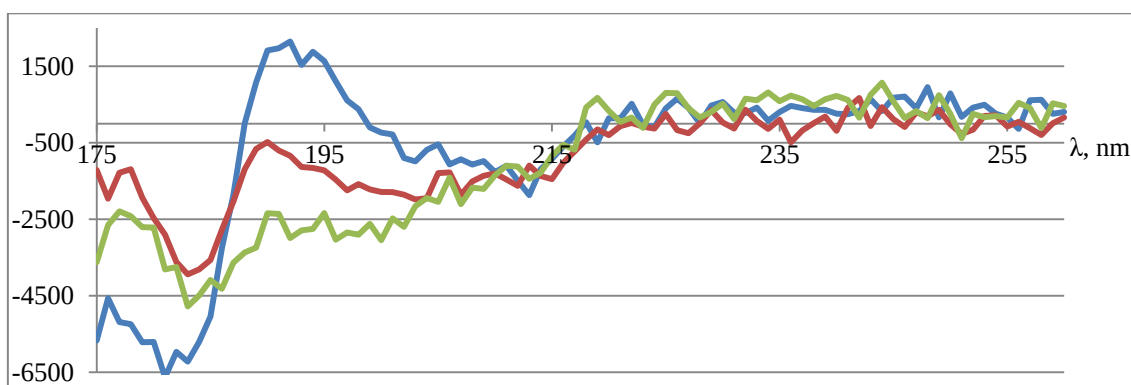


- Kodolu magnētiskās rezonanses spektru pētījumi parāda, ka ar triazoliem saistītajos oligosaharīdos visiem furanozes cikliem piemīt konformācijas no ziemeļu kopas (pseudorotācijas leņķis $P=0\ldots54^\circ$). Starpcukuru tiltiņu (CH₂ grupu un triazolu) konformācijas nav atkarīgas no ķēdes garuma un tiltiņa izvietojuma oligosaharīda ķēdē.
- Hibrīdā tipa oligosaharīdu KMR pētījumi deiterohloroformā parādīja, ka furanožu cikliem un triazolu tiltiņiem piemīt tādas pašas konformācijas, kādas ir novērotas tikai triazolus saturošajos oligosaharīdos. Amīdu tiltiņiem piemīt citāda konformācija, kuras noteikšanu apgrūtina molekulas kustīgums. Tas samazinās, pārejot no hloroforma uz CD₃CN un CF₃CD₂OH.
- No ogļhidrātu pamatciklu un tiltiņu KMR signālu dispersijas var secināt, ka spektru analīze oligomēriem ar vairāk nekā 6 vienādām vienībām paliek pārāk apgrūtināta un nenes papildus informāciju. Hibrīdā tipa oligosaharīdu gadījumā oktasaharīda spektros var identificēt gandrīz visus signālus, kuri sniedz informāciju par konformāciju.
- No KMR spektru datiem nevar secināt par iekšmolekulārām ūdeņraža saitēm starp amīdu protoniem un karbonilgrupām hibrīdā tipa oligosaharīdos. Iespējams, ka amīdu protoni piedalās vājā mijiedarbībā ar ētera tipa skābekli THF ciklā vai ar triazolu slāpekļa atomiem.
- Molekulārās dinamikas aprēķini parādīja, ka gan tikai ar triazoliem saistītajos, gan ar amīdiem un triazoliem saistītajos oligosaharīdos var veidoties β -pagrieziņa tipa struktūra.

Oligosaharīdiem, kas starpcukuru saitē satur tikai triazolus, šos atrastos otrējās struktūras elementus var uzskatīt par pamatoti pierādītiem. Oligosaharīdiem, kas starpcukuru saitē satur gan amīdus, gan triazolus, MD simulācijas rezultātā noteiktās struktūras nevar viennozīmīgi apstiprināt, jo amīdu tiltiņi padara šīs struktūras ļoti kustīgas.



9. Savienojumu cirkulārā dihroisma spektru pētījumi acetonitrilā parādīja, ka gan tikai triazolu saturošajiem, gan jauktajiem oligosaharīdiem netiek novērota spektru atkarība no ķēdes garuma. Tas liecina, ka, palielinoties ķēdes garumam, konformācijas nemainās un neveidojas jaunas otrējās struktūras. Temperatūras izmaiņas neietekmē oligomēru globālo konformāciju kopu acetonitrila šķīdumā.
10. Oligosaharīdiem ar triazolu kā starpcukuru saitēm trifluoretanola šķīdumu CD spektriem ir acīmredzamas dažu spektru apgabalu intensitāšu izmaiņas salīdzinot ar MeCN šķīdumu spektriem. Tas liek secināt par šķīdinātāja mijiedarbību ar molekulām.
11. Jauktā tipa oligosaharīdiem, kas satur gan amīdu, gan triazolu tiltiņus, TFE šķīdumā ir novērojama konformāciju atkarība no ķēdes garuma. Izmaiņas liecina par dominējošu struktūru kopas izzušanu un daudzu ar šķīdinātāja molekulām stabilizētu konformāciju veidošanos, kā rezultātā samazinoties molekulu kustīgumam.



PATEICĪBAS

Šī darba tapšana nebūtu iespējama bez līdzcilvēku – ģimenes, kolēģu un draugu – atbalsta un līdzdalības.

Īpaši vēlos pateikties:

- ✓ Profesoram Edvardam Liepiņam un Diānai Zeļencovai (LOSI) par kodolu magnētiskās rezonanses pētījumiem un molekulāras dinamikas aprēķinu veikšanu;
- ✓ Dr. Alisonei Edvardsai (Dr. Alison A. Edwards) un Dr. Brūsam Aleksanderam (Dr. Bruce D. Alexander) (Kentas un Grinvīčas universitātes Medvejā, Lielbritānija) par palīdzību cirkulārā dihroisma pētījumu veikšanā un analizē;
- ✓ Profesoram Hesusam Trujiljo Vaskesam (La Lagunas universitāte, Spānija) par pirmajiem CD eksperimentiem.
- ✓ Gļebam Kiseļovam par rentgenstruktūranalīžu veikšanu;
- ✓ Publikāciju līdzautoriem, kolēģiem: J. Lugiņinai, J. Rjabovai, I. Strakovai, I. Kumpiņai, S. Beļakovam, un sadarbības partneriem no Seviļas universitātes: I. Robinai Ramirezai (I. Robina Ramirez), E. Moreno Clavijo, A. J. Moreno Vargasam (A. J. Moreno Vargas);
- ✓ Darba vadītājam profesoram Mārim Turkam par bezgalīgu pacietību.

Darba izstrādi finansēja:

- ✓ LZP grants Nr. 09.1557 Jaunu karbopeptoīdu un to triazolanalogu sintēze un otrējo struktūru izpēte (vadītājs: M. Turks, 2009. – 2012. gg.).
- ✓ Eiropas Sociālā fonda projekts «Atbalsts RTU doktora studiju īstenošanai».
- ✓ COST programmai CM0803 “Functional peptidomimetic foldamers: from unnatural amino acids to self-assembling nanomaterials”.

Literatūras saraksts

1. Rjabovs, V.; Turks, M. *Tetrahedron* **2013**, *in press*, doi:10.1016/j.tet.2013.10.021.
2. Ostrovskis, P.; Mackeviča, J.; Kumpiņš, V.; Turks, M. Large Scale Synthesis of 1,2:5,6-Di-O-isopropylidene- α -D-ribo-3-hexofuranose-3-ulose by Oxidation of Diacetone- α -D-glucose. In *Carbohydrate Chemistry: Proven Methods*, Volume 2; van der Marel, G., Codee J., Eds.; CRC Press, 2014, *in press*.
3. Turks, M.; Rodins, V.; Rolava, E.; Ostrovskis, P. Belyakov, S. *Carbohydr. Res.* **2013**, 375, 5-15.
4. Lugiņina, J.; Rjabovs, V.; Belyakov, S.; Turks, M. *Carbohydr. Res.* **2012**, 350, 86-89.
5. Rjabova, J.; Rjabovs, V.; Moreno Vargas, A. J.; Clavijo, E. M.; Turks, M. *Centr. Eur. J. Chem.* **2012**, 10, 386-394.
6. Luginina, J.; Rjabovs, V.; Belyakov, S.; Turks, M. *Tetrahedron Lett.* **2013**, 54, 5328-5331.
7. Turks, M., Rjabovs, V., Mackeviča, J. 1',4'-Diaizvietoti 1,2:5,6-di-O-izopropilidēn-3-C-(1'-triazolil)metilglikofuranozes atvasinājumi. LV patents Nr 14613 B (20.03.2013.).
8. Turks, M., Rjabovs, V., Rjabova, J., Lugiņina, J., Moreno Vargas, A. J., Moreno Clavijo, E. 3-Dezoksi-3-(1-(1,2,3-triazolil)metil)allozes atvasinājumi kā glikozidāžu inhibitori. LV patents 14445 B (20.03.2012.).
9. Turks, M., Mackeviča, J., Rjabovs, V., Moreno Vargas, A. J., Robina, I. Ar bis-triazolu tiltiņu saistītu disaharīdu sintēze. LV patents 14275 B (20.05.2011.).
10. a) Strakova I., Kumpiņa I., Rjabovs V., Lugiņina J., Belyakov S., Turks M. *Tetrahedron: Asymmetry* **2011**, 22, 728-739; b) Turks M. Strakova I., Gorovojs, K.; Belyakov S., Piven, Yu. A.; Khlebnicova, T. S.; Lakhvich, F. A. *Tetrahedron* **2012**, 68, 6131-6140.
11. Taha, H. A.; Richards, M. R.; Lowary, T. L. *Chem. Rev.* **2013**, 113, 1851-1876.
12. Humphrey, W.; Dalke, A.; Schulten, K. *J. Molec. Graphics* **1996**, 14, 33-38.
13. Sharma, G. V.; Yadav, T. A.; Choudhary, M.; Kunwar, A. C. *J. Org. Chem.* **2012**, 77, 6834-6848.

CONTENTS

INTRODUCTION	38
Aims and objectives.....	38
Scientific novelty and main results	38
Structure of the thesis	39
Publications and approbation of the doctoral thesis	39
MAIN RESULTS OF THE THESIS	41
1. Syntheses of novel carbopeptoids and their triazole analogs	41
1.1. Syntheses of the monomers	41
1.2. Syntheses of dimeric building blocks	44
1.3. Synthetic utility of the synthetic intermediates.....	45
1.4. Syntheses of oligosaccharides	47
1.4.1. Triazole-linked oligosaccharides	47
1.4.2. Synthesis of amide-triazole-linked oligosaccharides.....	50
1.4.3. Synthesis of oligopeptides	50
2. Structural studies of carbopeptoids and their triazole analogs	51
2.1. Conformational analysis based on the X-ray diffraction data	52
2.2. Structural studies of the oligosaccharides.....	53
2.2.1. Triazole-linked oligosaccharides	54
2.2.1.1. NMR spectroscopic studies	54
2.2.1.2. Molecular dynamics studies.....	54
2.2.1.3. Circular dichroism studies	55
2.2.2. Amide- and triazole-linked oligosaccharides	57
2.2.2.1. NMR studies	57
2.2.2.2. Molecular dynamics studies.....	59
2.2.2.3. Circular dichroism studies	59
CONCLUSIONS	62
ACKNOWLEDGEMENTS.....	65
References.....	66

INTRODUCTION

As the methods for the studies of biochemical processes evolve and provide new insights into the mechanisms of cellular signaling and protein-protein interactions, innovative scientific approaches to influence these processes are developed by scientists. Thus, many groups have focused on the studies of novel foldamer-forming scaffolds that can either inhibit or promote the specific protein-protein interaction pathways. For instance, sugar amino acids became valuable building blocks that possess the unique combination of diverse stereochemistry of the carbohydrates and synthetic utility of the amino acids. Their oligomers – carbopeptoids – form secondary structures in solution. On the other hand, triazoles have become renowned as isosters of the amide bond.

Aims and objectives

The aim of this doctoral thesis is development and approbation of novel carbopeptoid molecular scaffold in the synthesis of organized oligosaccharides. The access to novel type of foldamers will allow the evaluation of their incorporation into the macromolecules with defined secondary structures.

The main tasks were set:

To synthesize the monosaccharide building blocks that would contain the major elements of the scaffold, in which the carbohydrate moieties would be linked with the amide bonds or their triazole mimetics.

To study the obtained carbopeptoids with the NMR and CD spectroscopic methods and molecular dynamics in order to determine their primary and secondary structures.

Scientific novelty and main results

Novel type of carbopeptoids with the amide and triazole linkers have been synthesized utilizing novel building blocks. Spectroscopic and molecular dynamics studies of their structures allowed to get insight into formation of possible secondary structures in the solution.

Structure of the thesis

The thesis is written in English and consists of the literature review on the synthesis of sugar amino acids and studies of the secondary structures of carbopeptoids; the discussions of the results obtained in the course of the work; experimental procedures describing the results yet to be published in the peer-reviewed scientific journals.

Publications and approbation of the doctoral thesis

Results of the thesis are discussed in 4 original research articles, 1 review article and 3 patents:

1. Rjabovs, V.; Turks, M. Tetrahydrofuran amino acids of the past decade. *Tetrahedron* **2013**, *in press*, DOI:10.1016/j.tet.2013.10.021. (review article)
2. Luginina, J.; Rjabovs, V.; Belyakov, S.; Turks, M. A concise synthesis of sugar isoxazole conjugates. *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 5328-5331.
3. Rjabova, J.; Rjabovs, V.; Moreno Vargas, A. J.; Clavijo, E. M.; Turks, M. Synthesis of novel 3-deoxy-3-C-triazolylmethyl-allose derivatives and evaluation of their biological activity. *Centr. Eur. J. Chem.* **2012**, *10*, 386-394.
4. Turks, M., Rjabovs, V., Rjabova, J., Luginina, J., Moreno Vargas, A. J., Moreno Clavijo, E. Derivatives of 3-deoxy-3-(1-(1,2,3-triazolyl)methyl)allose as the glycosidase inhibitors. LV Patent 14445 B (20.03.2012.).
5. Luginina, J.; Rjabovs, V.; Belyakov, S.; Turks, M. On Moffatt dehydration of glucose-derived nitro alcohols. *Carbohydr. Res.* **2012**, *350*, 86-89.
6. Turks, M., Rjabovs, V., Mackeviča, J. Derivatives of 1',4'-disubstituted 1,2:5,6-di-O-isopropylidene-3-C-(1'-triazolyl)methylglucofuranose. LV Patent 14613 B (20.03.2013.).
7. Turks, M., Mackeviča, J., Rjabovs, V., Moreno Vargas, A. J., Robina, I. Synthesis of bis-triazole-bridged disaccharides. LV Patent 14275 B (20.05.2011.).
8. Strakova I., Kumpina I., Rjabovs V., Luginina J., Belyakov S., Turks M. Resolution, absolute configuration, and synthetic transformations of 7-amino-tetrahydroindazolones. *Tetrahedron: Asymmetry* **2011**, *22*, 728-739.

Results of the thesis were presented at the following conferences:

1. Rjabovs, V., Zeļencova, D., Edwards, A., Liepiņš, E., Turks, M. Synthesis and Spectroscopic Studies of Novel Carbopeptoids. *Abstracts of 18th European Symposium on Organic Chemistry (ESOC 2013)*: 18th European Symposium on Organic Chemistry (ESOC 2013), France, Marseille, 7-12 July, 2013. pp.541-541.
2. Posevins, D., Rjabovs, V., Turks, M. Synthesis of Linear Homooligomers from Furanoid Sugar Amino Acids. *Organine Chemija: Proceedings of KTU International Conference*, Lithuania, Kaunas, 24-24 April, 2013. pp.20-20.
3. Rjabovs, V. Synthesis and Spectroscopic Studies of Glucose-Derived Carbopeptoids. *Materials Sciences and Applied Chemistry*. Vol.27, 2013, pp.92-92. ISSN 14077329.
4. Rjabovs V., Turks M. Saccharopeptides and their triazole isosteres. *International Conference on Organic Synthesis Program and Abstracts*, Estonia, Tallina, 1.-4. July, 2012. - pp 165-165.
5. Rjabovs, V., Rjabova, J., Grigorjeva, J. Synthesis of Novel Glucose and Allose Derivatives. (*7th Paul Walden Symposium on Organic Chemistry*) *Latv. J. Chem.*, 2012, 1, pp.73-73. ISSN 0868-8249
6. Rjabovs V., Turks M. Structural Hybrids: Combining the Best of Sugars, Peptides, and Heterocycles. *13th Belgian Organic Synthesis Symposium: Programme & Book of Abstracts*, Belgium, Leuven, 15.-20. July, 2012. - pp 320-320.
7. Turks M., Mackeviča J., Lugiņina J., Rjabovs V., Belyakov S., Moreno Vargas A., Robina I. Synthesis of disaccharides with extended bis-azole linkers. *Proceedings of 16th European Carbohydrate Symposium*, Italy, Sorrento, 3.-7. July, 2011. - pp 84-84.
8. Turks M., Rjabovs V., Grigorjeva J., Lugiņina J., Mackeviča J., Rjabova J., Ostrovskis P., Belyakov S., Moreno Vargas A., Robina I. Synthesis of monosaccharide-azole conjugates. *Proceedings of 16th European Carbohydrate Symposium*, Italy, Sorrento, 3.-7. July, 2011. - pp 564-564.
9. Rjabovs V., Ostrovskis P., Turks M. Synthesis of sugar amino acids. *Proceedings of Riga Technical University 52. International Scientific Conference*, Latvia, Riga, 13.-15. October, 2011. - pp 53-53. ISBN 978-9934-10-181-6
10. Rjabovs V., Turks M. Peptidosaccharides and their triazole isosteres. *Proceedings of 12th Belgian Organic Synthesis Symposium (BOSS XII)*, Belgium, Namur, 11-16 July, 2010. - pp 206-206.

MAIN RESULTS OF THE THESIS

We started our syntheses from D-glucose, which was modified by introduction of the necessary functional groups (FG¹, FG² and X, Figures 1 and 2).

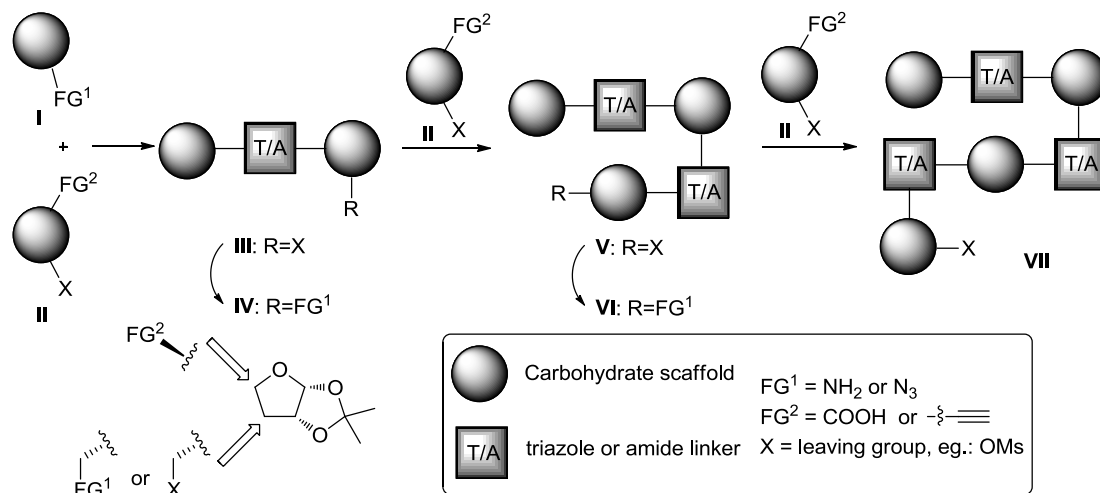


Figure 1. Schematic representation of iterative approach.

We have used two approaches to the syntheses of oligomeric structures. The first method allows the chain elongation in iterative one-by-one manner by an addition of monofunctionalized building block **II** followed by the modification of functional groups (Figure 1). The second approach allows the syntheses of the target compounds by addition of more complex – dimeric building blocks (Figure 2).

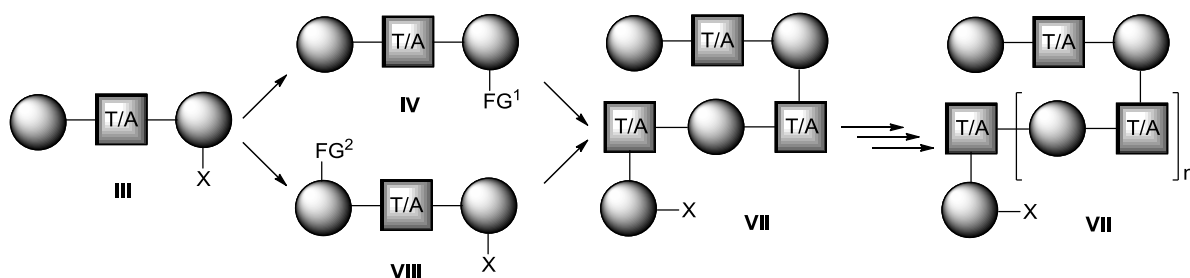


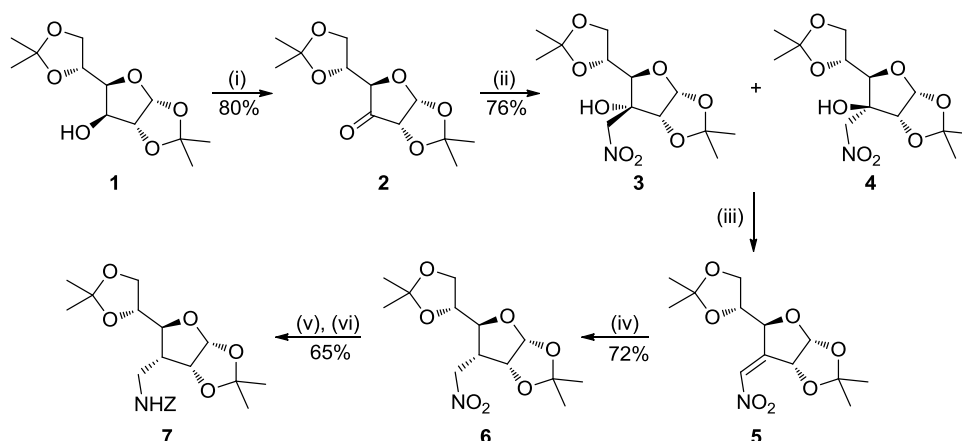
Figure 2. Schematic representation of dimeric synthesis approach.

1. Syntheses of novel carbopeptoids and their triazole analogs

1.1. Syntheses of the monomers

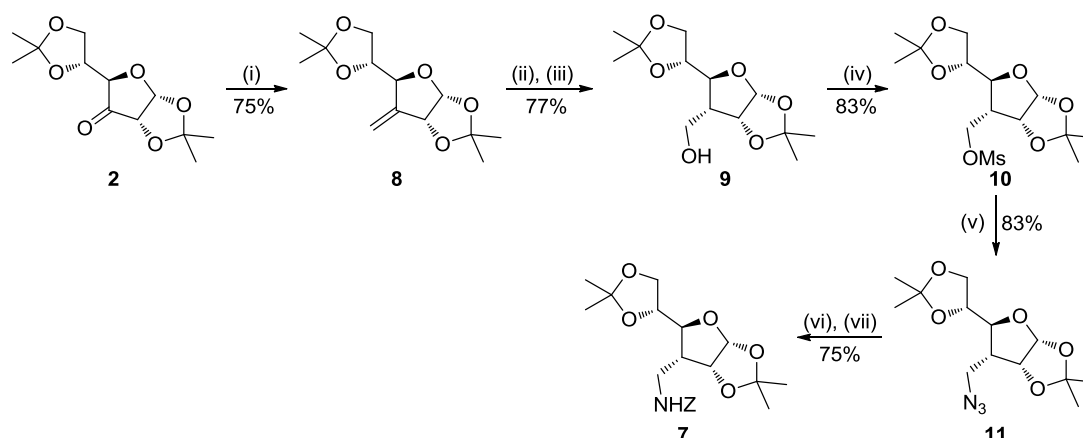
We have synthesized novel sugar amino acids (SAAs) – the necessary monomeric building blocks [1] starting from diacetone-D-glucose. A stepwise modification employing the nitro

group as the precursor for the amine afforded *N*-benzyloxycarbonyl protected amine **7** in 6 steps (Scheme 1) [2-4].



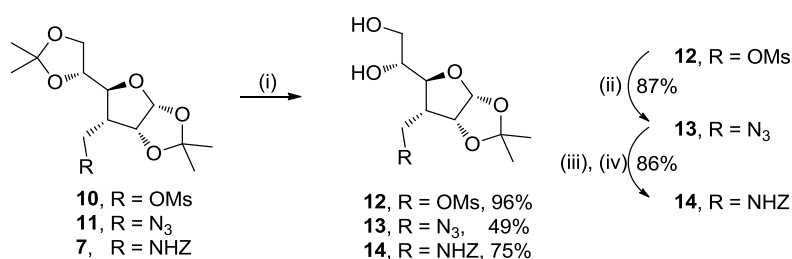
Scheme 1. (i) NaOCl, NaBr, TEMPO, DCM, H₂O; (ii) NaOH, CH₃NO₂, MeOH; (iii) DMSO, Ac₂O; (iv) NaBH₄, MeOH; (v) H₂, Pd/C, MeOH; (vi) ZCl, Et₃N, DCM.

Introduction of the amino group can be done using azide **11** as the precursor (Scheme 2) [5]. Amine **7** can be obtained in 7 steps starting from ketone **2**.



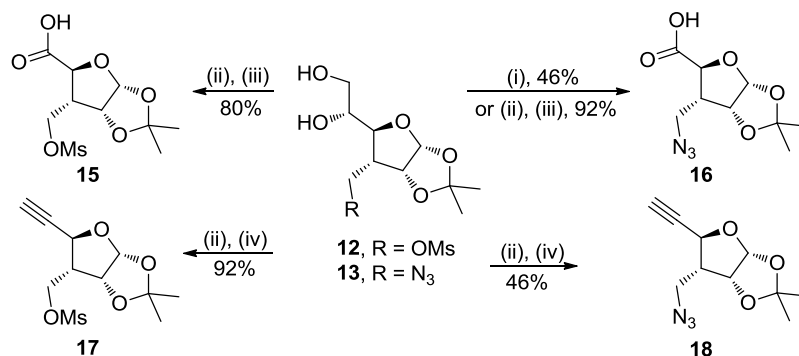
Scheme 2. (i) MePPh₃Br, *n*-BuLi, THF (ii) H₃B·SMe₂, THF; (iii) NaOH, H₂O₂; (iv) MsCl, Et₃N, DCM; (v) NaN₃, DMF; (vi) H₂, Pd/C, MeOH; (vii) ZCl, Et₃N, DCM.

Acidic hydrolysis of the 5,6-*O*-isopropylidene group of the compounds **7**, **10** and **11** yielded useful synthetic intermediates **14**, **12** and **13**, respectively (Scheme 3). Compound **12** was studied by single crystal X-ray diffraction analysis (Figure 6).



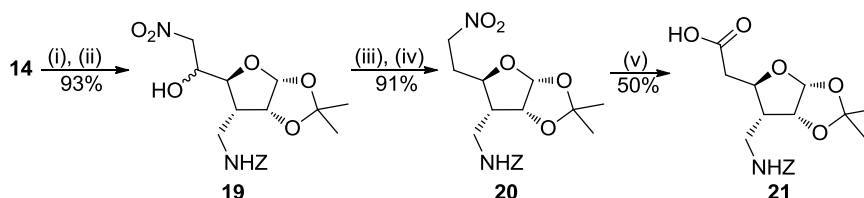
Scheme 3. (i) H₂SO₄, MeOH, DCM; (ii) NaN₃, DMF; (iii) H₂, Pd/C, MeOH; (iv) ZOSuc, Na₂CO₃, THF, H₂O.

Oxidative cleavage of the vicinal diol in compounds **12** and **13** by sodium periodate followed by oxidation with sodium chlorite gave sugar amino acids **15** and **16** with masked *N*-termini (Scheme 4). When the Ohira-Bestmann reagent (dimethyl (acetyldiazomethyl) phosphonate) was applied after the diol cleavage, alkynes **17** and **18** were obtained.



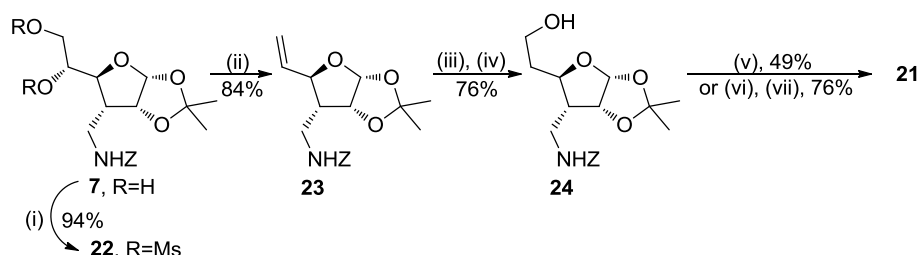
Scheme 4. (i) NaIO₄, RuCl₃, CHCl₃, H₂O, MeCN; (ii) NaIO₄, MeOH; (iii) NaClO₂, NaH₂PO₄, H₂O, MeCN, (iv) Ohira-Bestmann reagent, K₂CO₃, MeOH.

For the syntheses of SAA with additional -CH₂- group between the furanose and carboxylic acid moiety we have used two strategies. One featured an introduction of a nitro group (Scheme 5). The other used a deoxygenation reaction and following hydroboration-oxidation to introduce a primary hydroxyl group (Scheme 6).

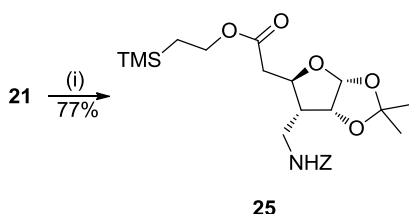


Scheme 5. (i) NaIO₄, MeOH; (ii) NaCH₂NO₂, MeOH; (iii) Ac₂O, *p*-TsOH; (iv) NaBH₄, MeOH; (v) NaNO₂, DMSO, AcOH, MS 4Å.

The molecular structure of compound **20** was proved by single crystal X-ray diffraction analysis (Figure 8). Intermediate **20** was subjected to Nef-type reaction to yield sugar amino acid **21** (50%). According to the other approach, primary alcohol **24** was oxidized to yield **21** in 76% yield. The acid was protected as trimethylsilyl ester **25** (Scheme 7).



Scheme 6. (i) MsCl, Et₃N, DMAP, DCM; (ii) NaI, EMK; (iii) H₃B·THF, THF; (iv) NaBO₃·4H₂O; (v) PDC, DMF; (vi) NaOCl, NaBr, TEMPO, DCM, H₂O; (vii) NaClO₂, NaH₂PO₄, H₂O, MeCN.

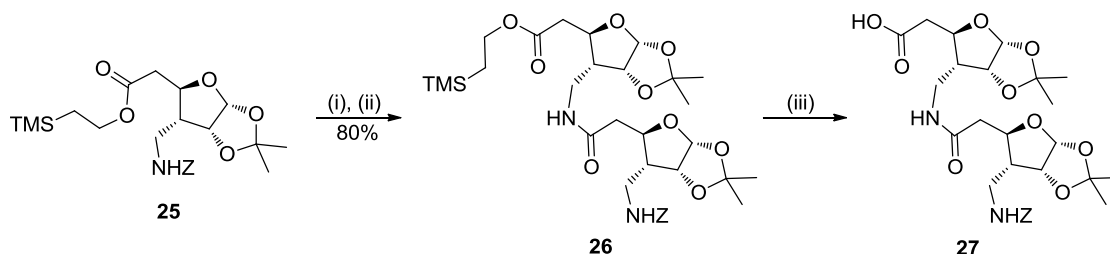


Scheme 7. (i) TMS(CH₂)₂OH, EDCI, DMAP, DCM.

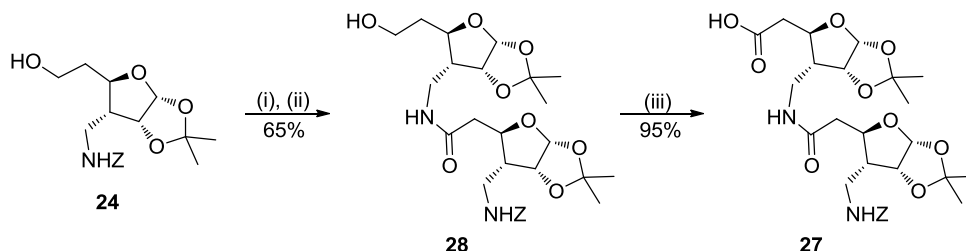
1.2. Syntheses of dimeric building blocks

In order to diversify the synthetic route and make it more convergent, we have synthesized dimeric building blocks based on the aforementioned monomers.

The fully protected building block **25** was *N*-deprotected and acylated with **21**. The obtained dimersaccharide **26** was deprotected at its *C*-termini to produce **27** (Scheme 8).

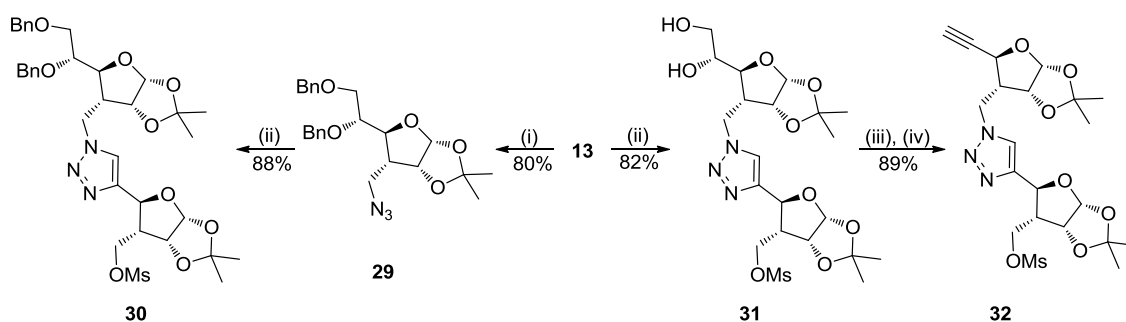


Scheme 8. (i) H₂, Pd/C, MeOH; (ii) **21**, EDCI, Et₃N, DMAP, DCM; (iii) CsF, DMF.

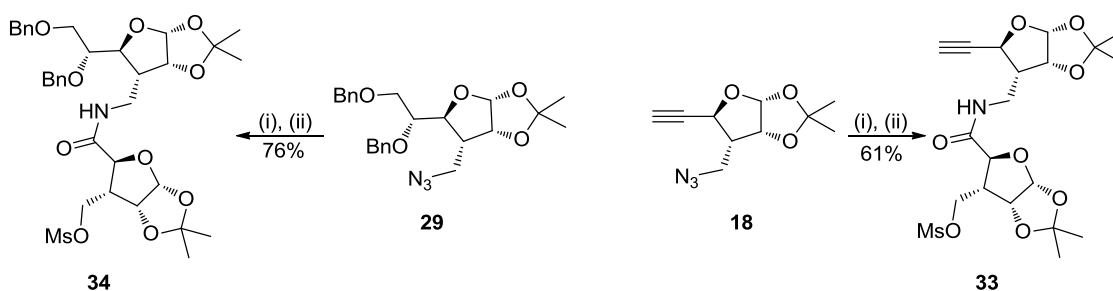


Scheme 9. (i) H₂, Pd/C, MeOH; (ii) **21**, EDCI, Et₃N, DMAP, DCM; (iii) NaOCl, NaBr, TEMPO, H₂O, DCM.

The same amide-linked disaccharide **27** can be obtained by an alternative approach. The zintermediate **24** was *N*-deprotected to produce amino alcohol, which was chemoselectively *N*-acylated. Oxidation of the terminal alcohol gave compound **27**.



Scheme 10. (i) NaH, BnBr, DMF; (ii) **17**, CuSO₄, sodium ascorbate, H₂O, THF; (iii) NaIO₄, MeOH; (iv) Ohira-Bestmann reagent, K₂CO₃, MeOH.



Scheme 11. (i) PPh_3 , H_2O , MeCN ; (ii) **15**, EDCI, Et_3N , DCM.

We modified monomers **13** and **17** to synthesize dimers **30** and **32** (Scheme 10). The azides **18** and **29** were reduced and acylated to yield amide-linked disaccharides **33** and **34** (Scheme 11).

1.3. Synthetic utility of the synthetic intermediates

In addition to the syntheses of oligosaccharides and determination of their secondary structures, we have demonstrated synthetic utility of the obtained monosaccharides in the syntheses of carbohydrate derivatives.

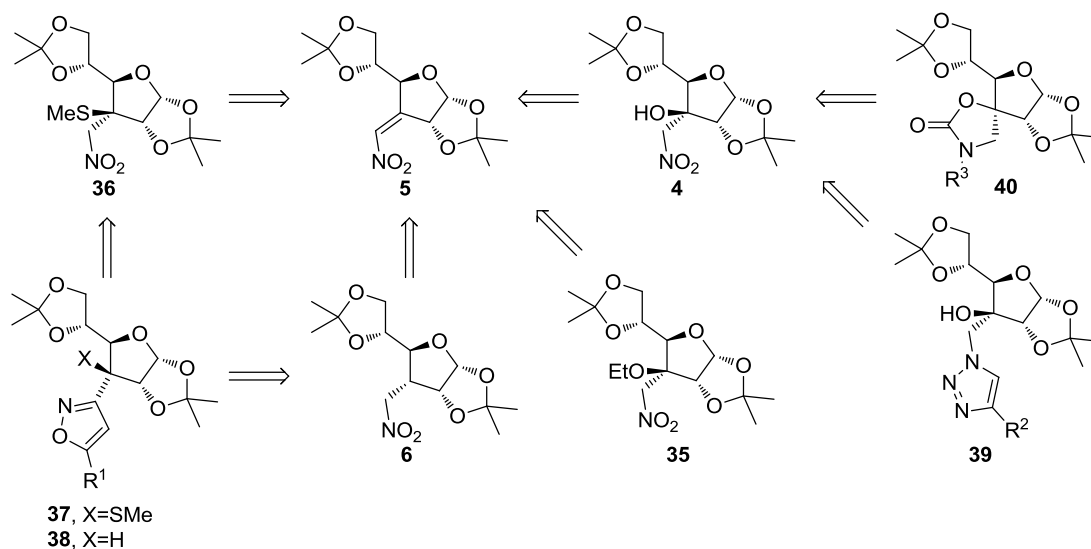
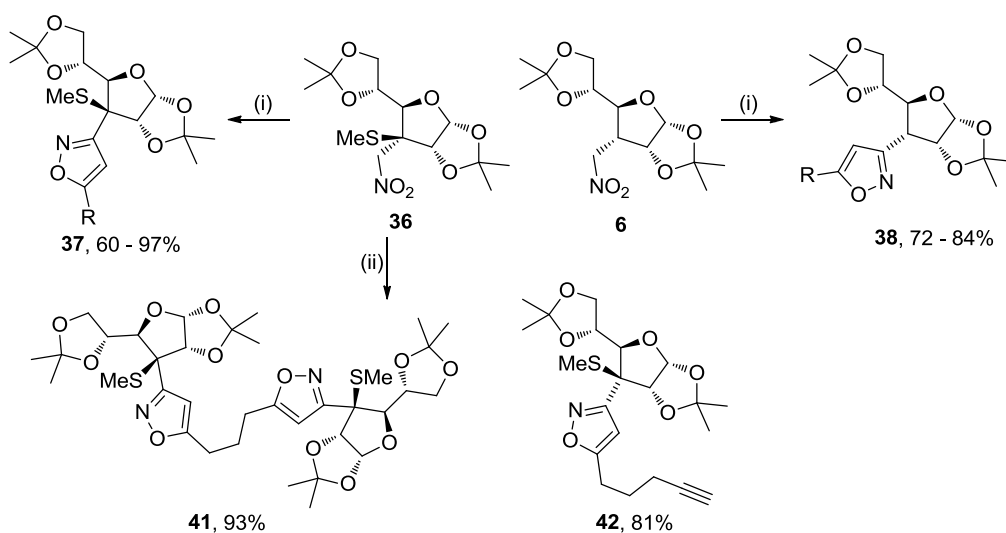


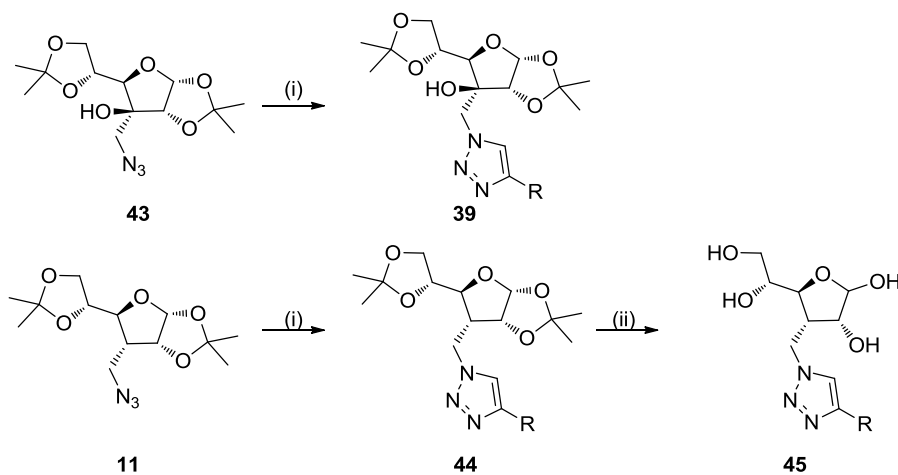
Figure 3. Retrosynthetic analysis of the syntheses of the related small molecules.

We have synthesized isoxazoles (**37**, **38**, **41** and **42**, Scheme 12) and triazoles (**39**, **44** and **45**, Scheme 13, **46** and **47**, Scheme 14, **50** and **51**, Scheme 15) using the intermediates that we have obtained (Figure 3) [5-10].

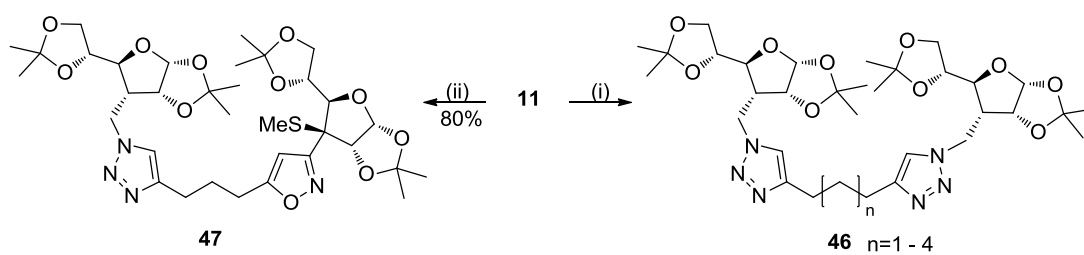
The triazoles **44** and **45** (Scheme 13, Table 1) were tested for their glycosidases inhibiting activity as the glycosidase inhibitors [5,8]. Compounds **44a** and **45c** showed 26% inhibition of α -L-fucosidase (EC 3.2.1.51) at 0.1 mM concentration and 15% inhibition of β -glucosidase (EC 3.2.1.21) at 1mM concentration, respectively.



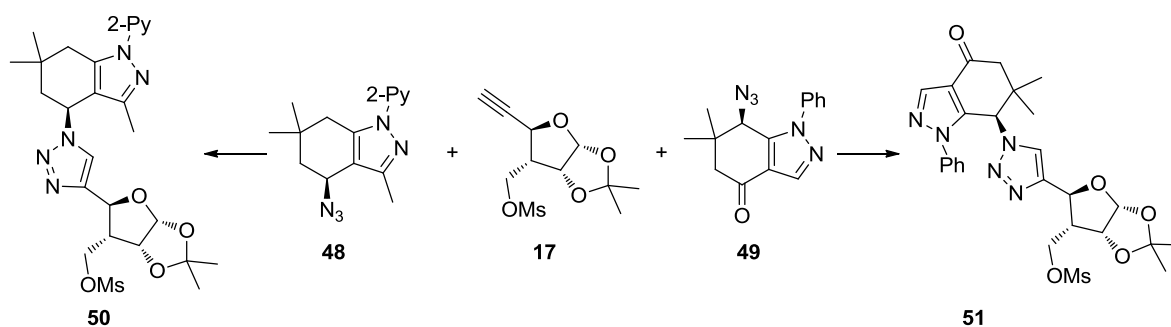
Scheme 12. (i) $\text{RC}\equiv\text{CH}$, Et_3N , ethyl chloroformate, toluene; (ii) 1,n-diyne, Et_3N , ethyl chloroformate, toluene.



Scheme 13. (i) $\text{RC}\equiv\text{CH}$, CuSO_4 , sodium ascorbate, H_2O , THF; (ii) TFA, H_2O .



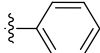
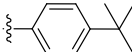
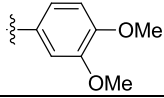
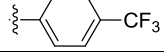
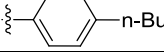
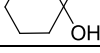
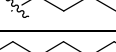
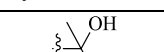
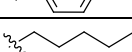
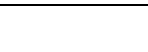
Scheme 14. (i) 1,n-diyne, CuSO_4 , sodium ascorbate, H_2O , THF; (ii) 42, CuSO_4 , sodium ascorbate, H_2O , THF.



Scheme 15. (i) CuSO_4 , sodium ascorbate, H_2O , THF.

Alkyne **17** was used for the syntheses of 1,2,3-triazole substituted tetrahydroindazoles **50** and **51** (Scheme 15) [10].

Table 1. Triazole derivatives **39**, **44**, **45** synthesized according Scheme 13.

Nr.	R	Product 39	Product 44	Product 45
1.		39a , 98%	44a , 95%	45a , quant.
2.		39b , 89%	-	
3.		39c , 97%	44c , 91%	45c , quant.
4.		39d , 93%	-	-
5.		39e , 96%	-	-
6.		39f , 94%	-	-
7.		39g , 83%	44g , 92%	45g , quant.
8.		39h , 86%	-	-
9.		39i , 88%	44i , 88%	45i , quant.
10.		39j , 88%	44j , 92%	-
11.		39k , 85%	44k , 92%	45k , quant.
12.		-	44l , 81%	45l , quant.
13.		-	44m , 81%	45m , quant.

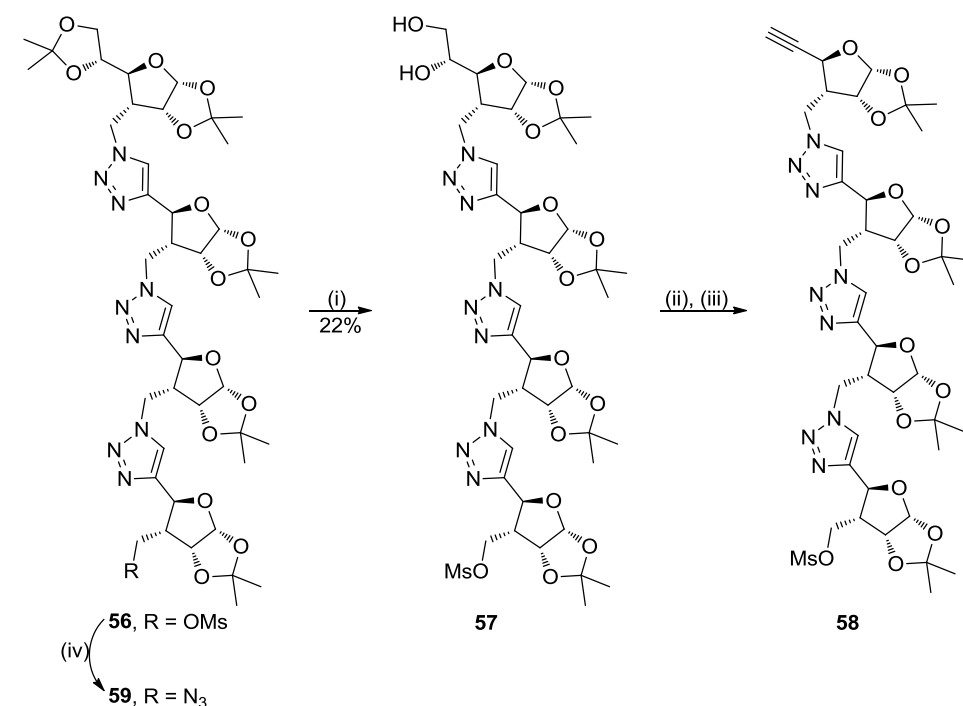
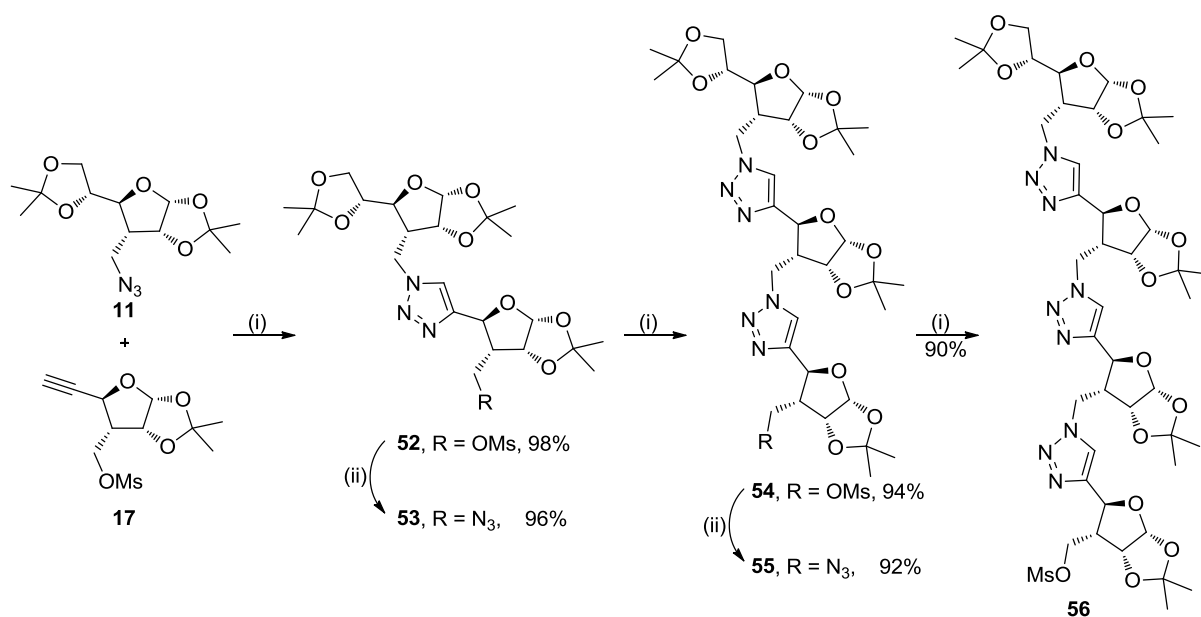
1.4. Syntheses of oligosaccharides

1.4.1. Triazole-linked oligosaccharides

We have synthesized triazole-linked tetrasaccharide **56** in 73% total yield over 5 steps using monomers **11** and **17** (Scheme 16).

In order to synthesize octasaccharide, we have modified **56** to get alkyne **58** and azide **59** (Scheme 17). The CuAAC between **58** and **59** gave octasaccharides **60** and **61** (Scheme 18) in a low yield.

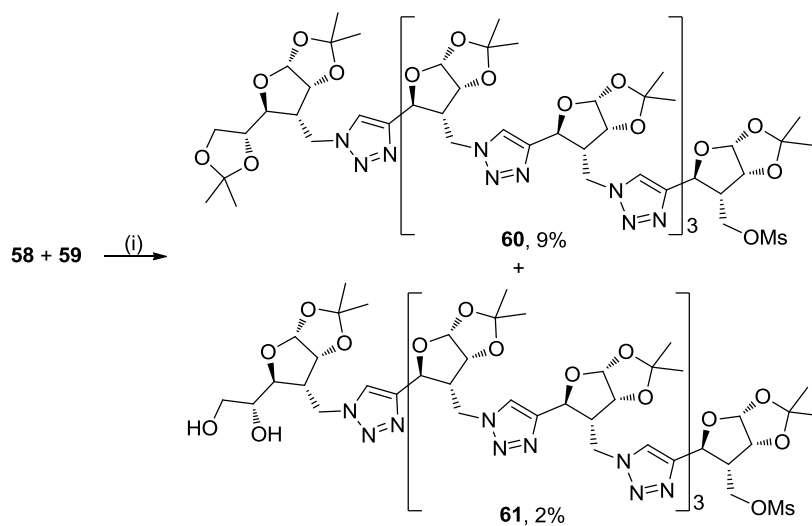
To avoid the problems with low yields, we used the 5,6-di-*O*-benzyl protected azide **62** for the synthesis of tetrasaccharide **65** (Scheme 19). Hydrogenolysis of benzyl ethers in **65** gave better the yield of the intermediate diol **57** that acidic hydrolysis of 5,6-*O*-acetonide in **56**.



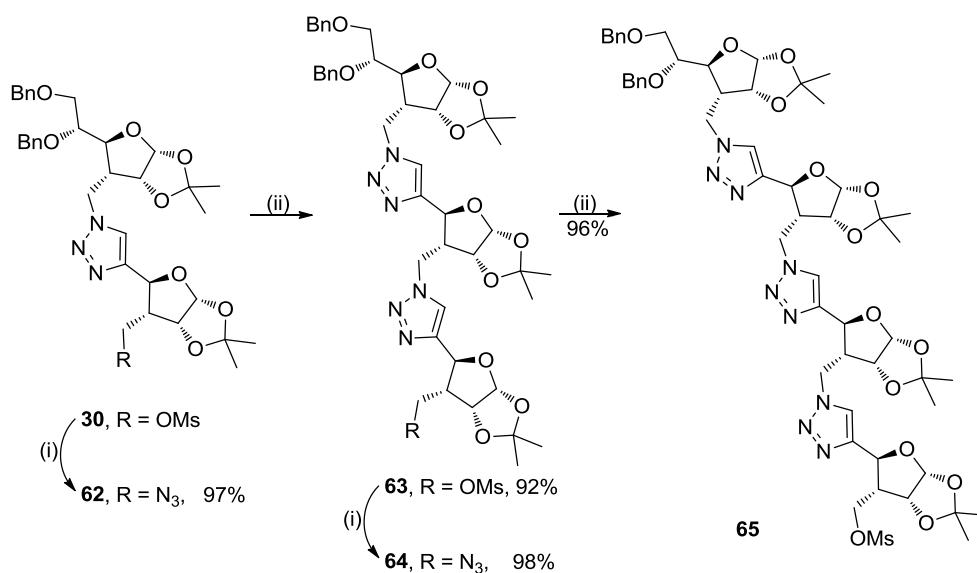
Crude alkyne **58** was used to synthesize the 5,6-di-*O*-benzyl protected octasaccharide **67** (Scheme 20). However, due to the difficulties of purification the yield was low.

On the other hand, we have used dimeric building blocks to synthesize hexasaccharides **68** and **69** starting from the corresponding tetramers (Scheme 21)

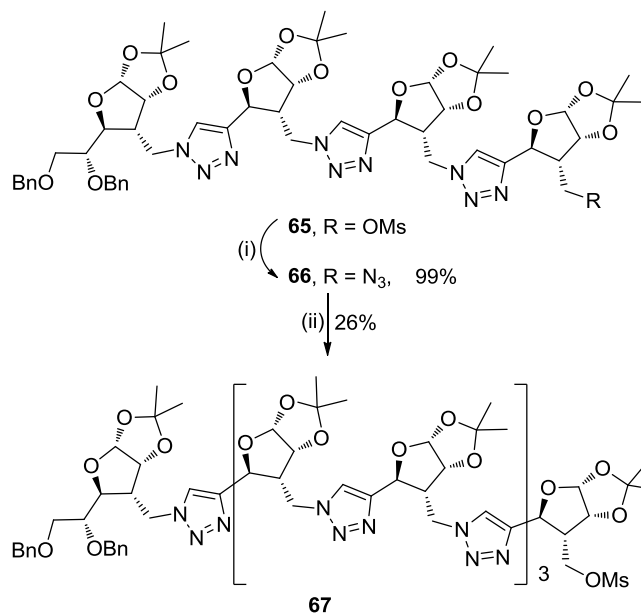
Azidation of **68** and **69** and subsequent CuAAC with the alkyne **32** gave octasaccharides **60** and **67** in good yields (Scheme 21).



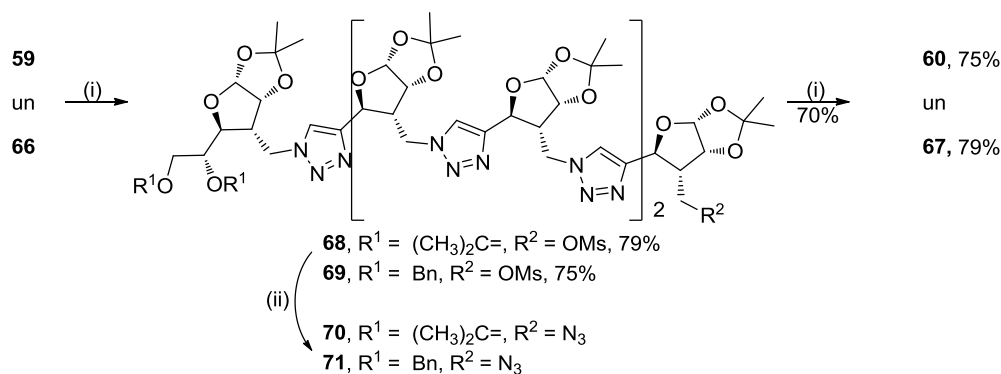
Scheme 18. (i) CuSO_4 , sodium ascorbate, H_2O , DMF.



Scheme 19. (i) NaN_3 , DMF; (ii) **17**, CuSO_4 , sodium ascorbate, H_2O , THF.



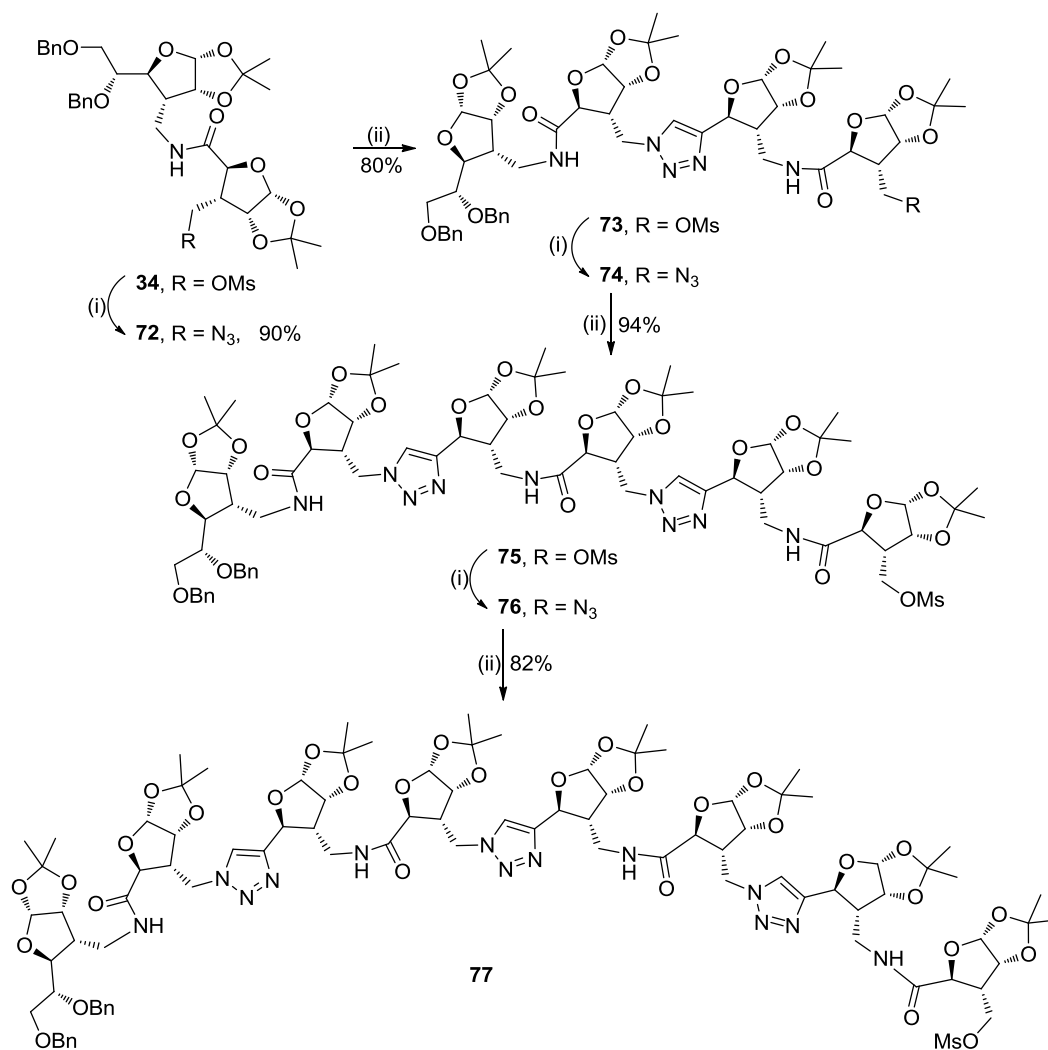
Scheme 20. (i) NaN_3 , DMF; (ii) **58**, CuSO_4 , sodium ascorbate, H_2O , THF.



Scheme 21. (i) **32**, CuSO_4 , sodium ascorbate, H_2O , THF; (ii) NaN_3 , DMF.

1.4.2. Synthesis of amide-triazole-linked oligosaccharides

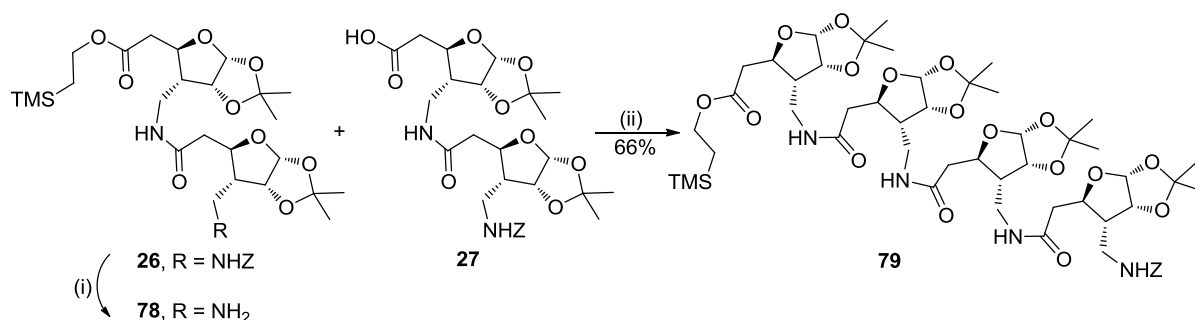
Using a dimeric building block synthetic strategy we have synthesized tetrasaccharide **73**, hexasaccharide **75** and octasaccharide **77** (Scheme 22).



Scheme 22. (i) NaN_3 , DMF; (ii) **33**, CuSO_4 , sodium ascorbate, H_2O , THF.

1.4.3. Synthesis of oligopeptides

We modified dipeptide **26** to synthesize C- and N-protected tetrapeptide **79** (Scheme 23).



Scheme 23. (i) H_2 , Pd/C, MeOH; (ii) EDCI, Et_3N , DMAP, DCM.

2. Structural studies of carbopeptoids and their triazole analogs

To evaluate the secondary structures of the oligomers, one has to determine the conformations of the carbohydrate core and the linkers.

Due to the fact that 5-membered rings tend to minimize the torsional strain of several eclipsed conformations by moving one or two atoms out of plane of the cycle, several conformations of the furanoses are possible. They are characterized by the phase angle of pseudorotation P and can be arranged into so-called pseudorotational wheel (Figure 4) [10].

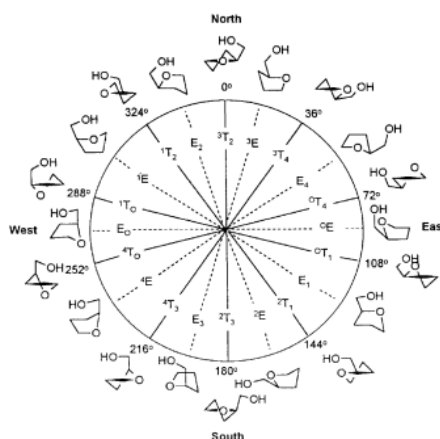


Figure 4. Pseudorotational wheel [10].

The phase angle can be calculated using formula 2.1., if the dihedral angles of the furanose are known (Figure 5). The latter can be determined from single crystal X-ray diffraction data.

$$\tan P = \frac{\varphi_2 + \varphi_4 - (\varphi_1 + \varphi_3)}{3.077\varphi_0} \quad (2.1.)$$

and

$$\Psi_j = \Psi_m \cos(P + 144j) \quad (2.2)$$

where Ψ – puckering amplitude,
 j – index of the dihedral angle, $j=0-4$;

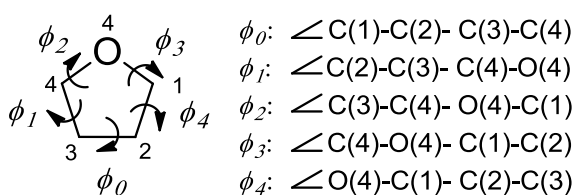


Figure 5. Dihedral angles of the furanose

When $270^\circ < P < 90^\circ$ the conformer belongs to the north pool of conformations, when $90^\circ < P < 270^\circ$ - to the south pool of conformations.

2.1. Conformational analysis based on the X-ray diffraction data

Mostly our synthesized oligosaccharides are amorphous or oily substances. However, we have obtained single crystals of three synthetic intermediates.

We have analyzed the structure of the diol **12** (Figure 6). The conformation of the furanose is in transition from 3E to 3T_4 ($P=31^\circ$). The substituents at C(3) and C(4) form staggered conformations.

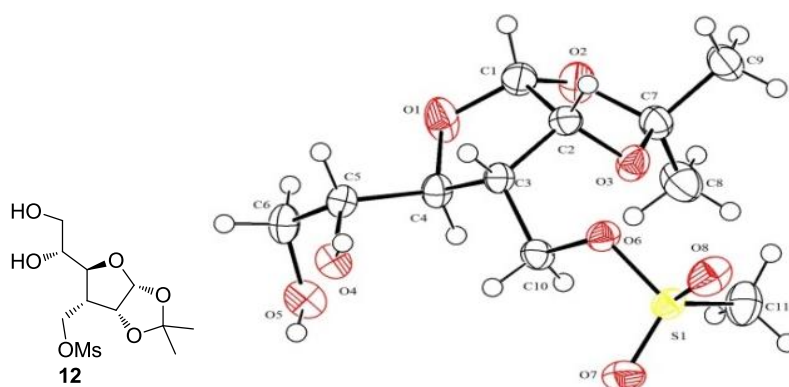


Figure 6. ORTEP representation of diol **12**.

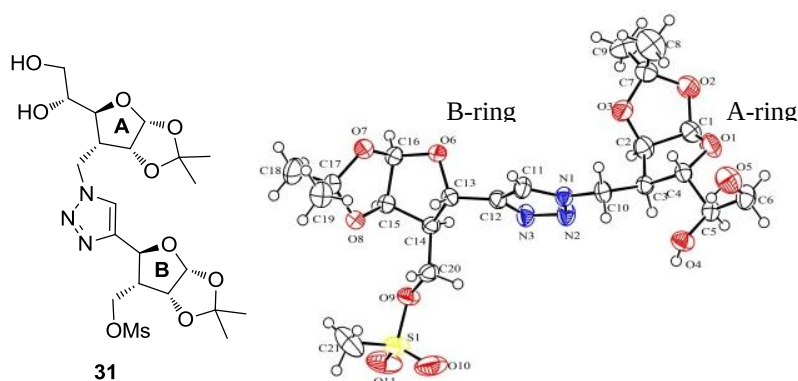


Figure 7. ORTEP representation of disaccharide **31**.

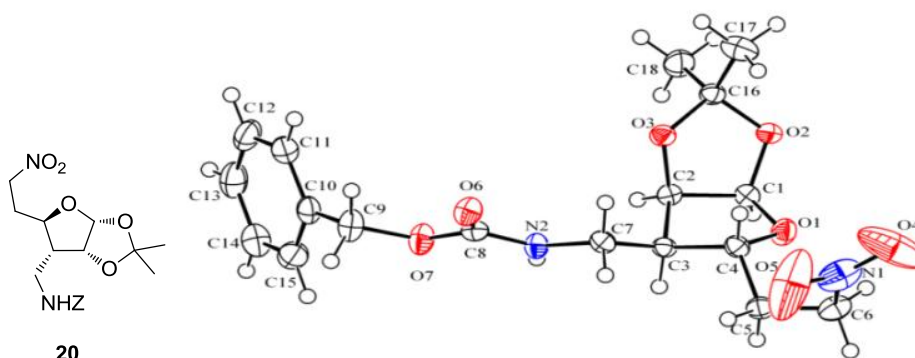


Figure 8. ORTEP representation of compound **20**.

As the most structurally relevant to our oligosaccharides we have acquired a structure of disaccharide **31** (Figure 7). We have determined that A-ring is in 3T_2 conformation ($P=6^\circ$), while B-ring is in E_4 conformation ($P=51^\circ$).

We have also studied nitro compound **20** (Figure 8). It is in the transition from ${}^3E \rightarrow {}^3T_4$ ($P=32^\circ$).

The characteristic dihedral angles of the studied compounds are summarized in table 2.

Table 2. Characteristic dihedral angles of compounds **12**, **31** and **20**.

Entry	Dihedral angle	Compound			
		12	31		20
			A	B	
1.	C(1)-C(2)-C(3)-C(4)	23.6	29.4	26.5	31.3
2.	C(2)-C(3)-C(4)-O(4)	-27.6	-25.8	-40.9	-37.0
3.	C(3)-C(4)-O(4)-C(1)	21.8	12.6	40.5	29.2
4.	C(4)-O(4)-C(1)-C(2)	-6.4	6.2	-23.2	-8.9
5.	O(4)-C(1)-C(2)-C(3)	-11.7	-22.8	-3.2	-14.9
6.	H(1)-C(1)-C(2)-H(2)	-13.7	-26.7	-3.4	-17.5
7.	C(2)-C(3)-C(3')-LS*	57.1	54.4	62.1	64.1
8.	H(3)-C(3)-C(2)-H(2)	30.2	37.5	33.1	40.3
9.	H(3)-C(3)-C(4)-H(4)	-152.7	-152.5	-169.9	177.5

*LS – the largest substituent

We have also studied the major conformations of compounds **45** in solution by NMR. Based on the spin-spin coupling constants and the observed nuclear Overhauser effects we have concluded that >97% of the major isomer (β -furanose) is in 3T_2 conformation (Figure 9).

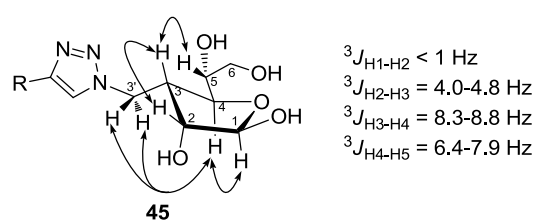


Figure 9. Structure of the major isomer of compounds **45** in the solution.

We can conclude that the 3-substituted derivatives of 3-deoxy-1,2-O-isopropylidene- α -glucose have the north pool conformations.

2.2. Structural studies of the oligosaccharides

We have conducted spectroscopic (NMR and CD) studies of the oligosaccharides and molecular dynamics simulations for selected compounds.

2.2.1. Triazole-linked oligosaccharides

2.2.1.1. NMR spectroscopic studies

We have analyzed the NMR spectra in CDCl_3 of triazole-linked disaccharides **30**, **31**, **32**, **52**, and **62**, tetrasaccharides **56** and **65**, hexasaccharides **68** and **69**, and octasaccharides **60** and **67**.

We can conclude that, based on the spin-spin coupling constants, the furanoses in this series of compounds belong to the north pool of conformations. The interresidue linkers are orientated in such a manner that one of the $\text{H}(3')$ protons of the $-\text{CH}_2-$ groups is in anti-periplanar conformation with respect to $\text{H}(3)$. This makes the dihedral angles $\text{C}(2)-\text{C}(3)-\text{C}(3')-\text{N}(\text{triazole}) \sim 60^\circ$ or $\sim 120^\circ$ with dynamic deviations.

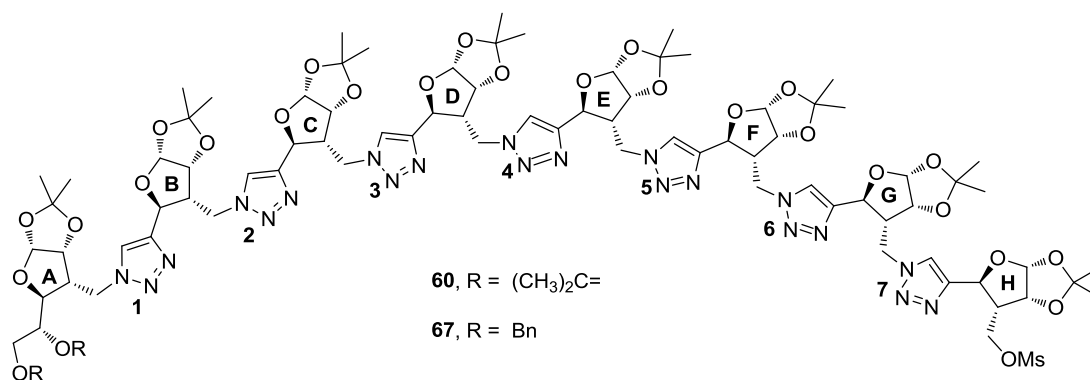


Figure 10. Structures of triazole-linked octasaccharides.

With the increase of the chain length, more signals are overlapping, thus impeding determination of the coupling constants and the nuclear Overhauser effects.

2.2.1.2. Molecular dynamics studies

Using distances calculated from ROESY spectrum of hexasaccharide **68** we conducted restrained molecular dynamics simulation (NAMD 2.9, CHARMM force field) in order to visualize the secondary structure (VMD 1.9.1 [12]).

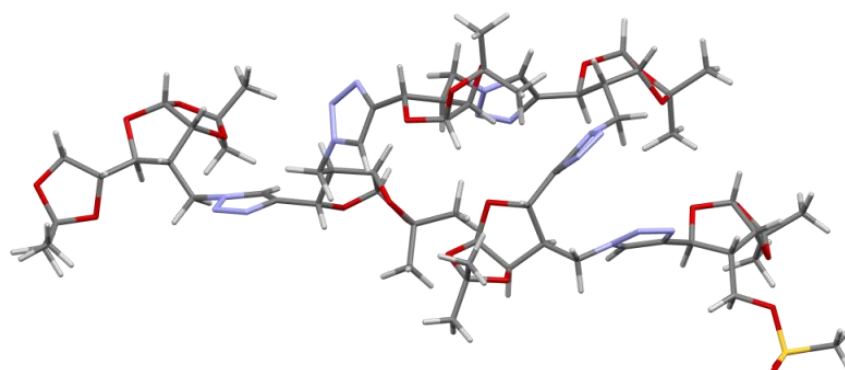


Figure 11. Structure of the hexasaccharide **68** after the MD simulation.

After the restrained MD we can conclude that all furanose rings are from north pool of conformations, while the linkers can acquire two different orientations. One of the orientations is similar to that of the triazole linker in disaccharide **31**. The other orientation allows the formation of the β -turn-like structure (Figure 11).

2.2.1.3. Circular dichroism studies

In this series we have conducted CD studies for the disaccharides **52**, **53**, **30** and **62**, tetrasaccharides **56** and **65**, hexasaccharides **68** and **69**, and octasaccharides **60** and **69** (Figure 12).

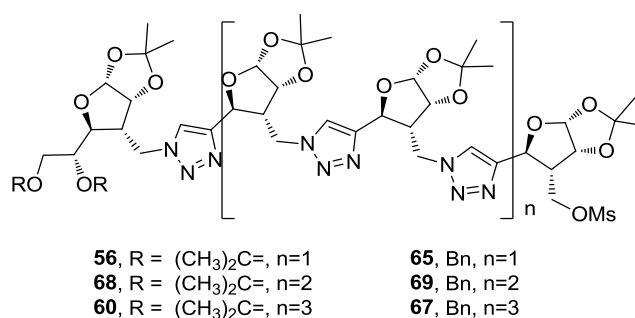


Figure 12. Structures of the triazole-linked oligosaccharides studied by CD spectra.

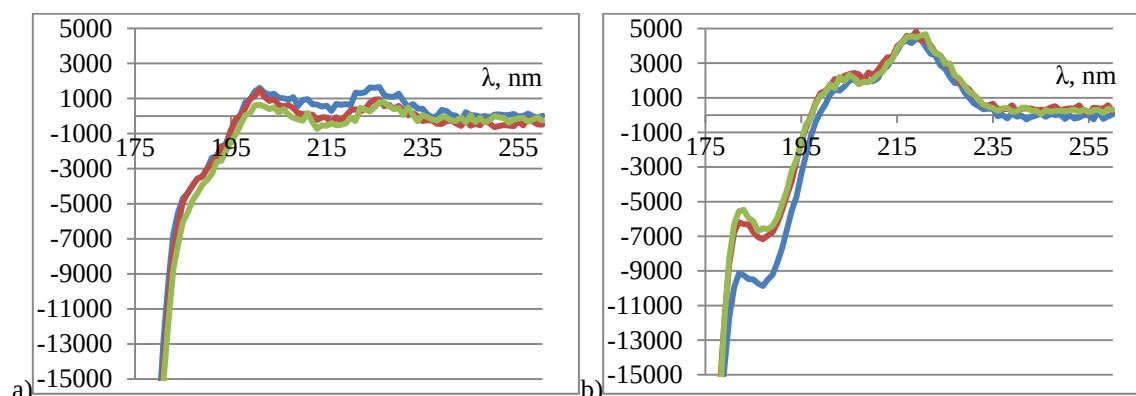


Figure 13. Per triazole normalized CD spectra of **56** (blue), **68** (red) and **60** (green) in MeCN (a) and TFE (b).

Per triazole normalized CD spectra of the 5,6-*O*-isopropylidene protected oligosaccharides **56**, **68**, and **60** are almost identical within the series of the compounds in both solvents (Figure 13). This is an indication of similar distribution of the conformations in these compounds. Slight differences between the different solvents indicate a possible solvation effect.

Variable temperature experiments were carried out for the tetrasaccharide **56** in MeCN (Figure 14) and TFE (Figure 15) and for hexasaccharide **68** in TFE (Figure 16).

It can be concluded that changes of the conformations of the chromophores in tetrasaccharide **56** in MeCN solution are insignificant above 195 nm. In TFE solution the intensity of the positive maximum at 217 nm decreases. This suggests a slight temperature dependence of the conformations.

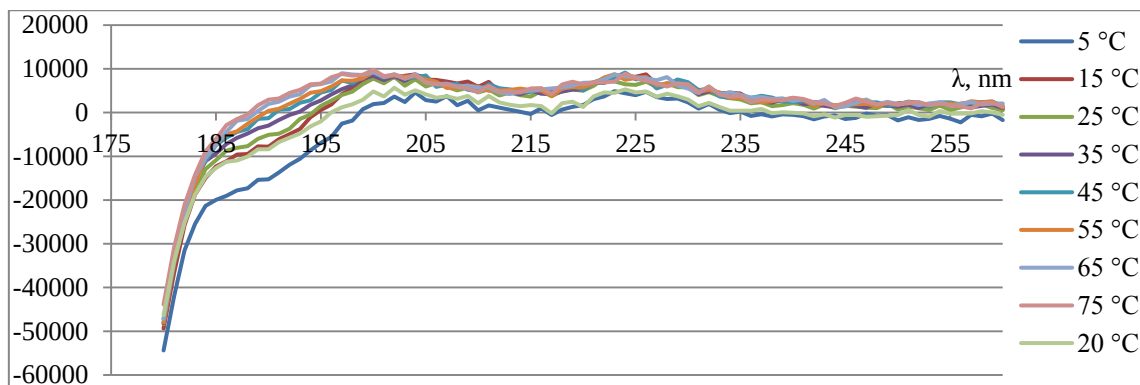


Figure 14. Influence of temperature on the CD spectra of tetrasaccharide **56** in MeCN.

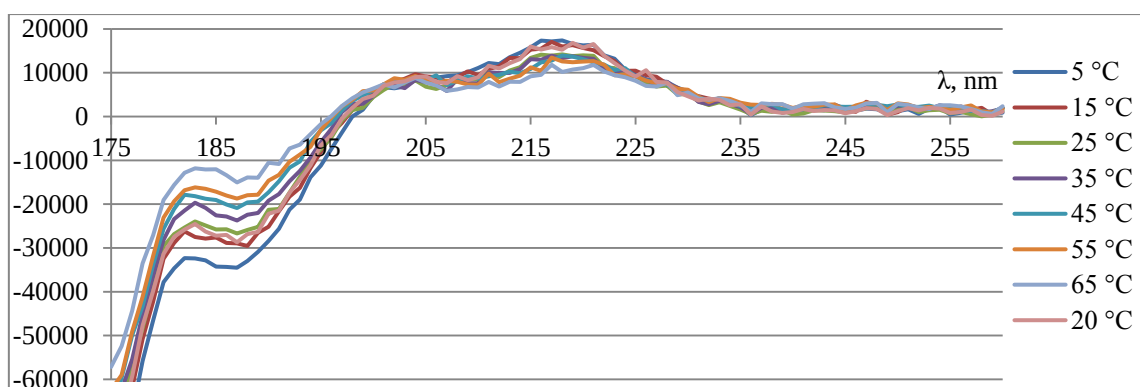


Figure 15. Influence of temperature on the CD spectra of tetrasaccharide **56** in TFE

Similar temperature dependence is observed in the variable temperature spectra of hexasaccharide **68** in TFE. Increasing temperature results in changes of the conformations thus decreasing of the intensity of the spectrum.

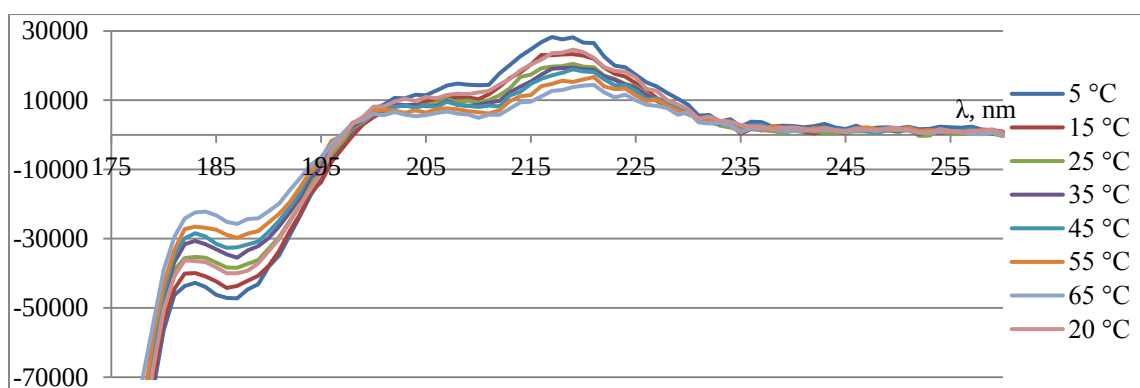


Figure 16. Influence of temperature on the CD spectra of hexasaccharide **68** in TFE.

Per triazole normalized CD spectra (Figure 17) of the triazole-linked oligosaccharides **65**, **69**, and **67** exhibited spectral features similar to those of the compounds described above, although slightly more intense. Intensities of the spectra in different solvents indicate that the compounds do not exhibit chain length dependence within the series. Variable temperature studies did not reveal any significant temperature dependence neither in MeCN (Figure 18), nor in TFE (Figure 19).

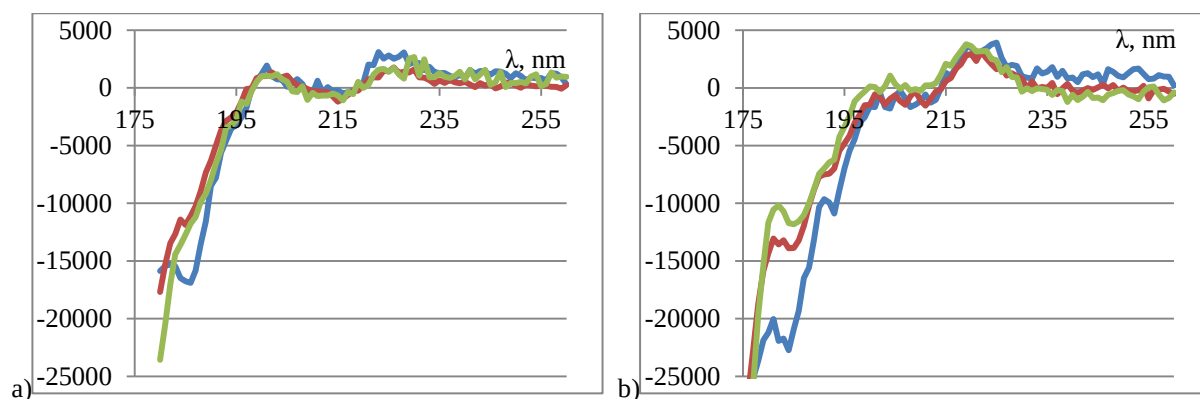


Figure 17. Per triazole normalized CD spectra of **65** (blue), **69** (red) and **67** (green) in MeCN (a) and TFE (b).

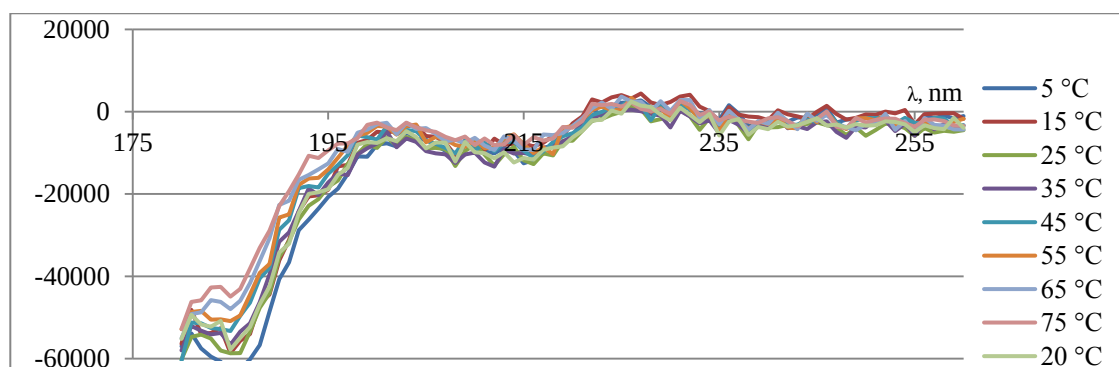


Figure 18. Influence of temperature on the CD spectra of tetrasaccharide **65** in MeCN.

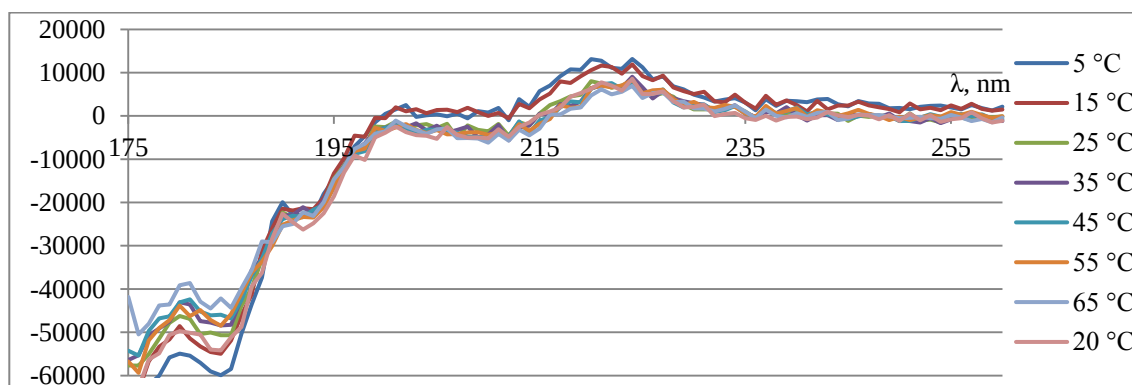


Figure 19. Influence of temperature on the CD spectra of tetrasaccharide **65** in TFE.

2.2.2. Amide- and triazole-linked oligosaccharides

2.2.2.1. NMR studies

In these hybrid compounds an additional structural element – amide – is added. We have studied disaccharides **33**, **34**, and **72**, tetrasaccharide **73** (Figure 20), hexasaccharide **75** (Figure 22) and octasaccharide **77** by NMR spectroscopy (Figure 23).

Based on the comparison of spectra with those of triazole-linked oligosaccharides we concluded that the triazole linkers in both of these series have similar conformations. The spin-spin coupling constants of the H(3') protons in ^1H -NMR spectra suggest *ap* conformation of one of them to H(3) proton. This conformation of triazole is consistent with spectra of all oligosaccharides (**73**, **75**, **77**) in CDCl_3 solutions.

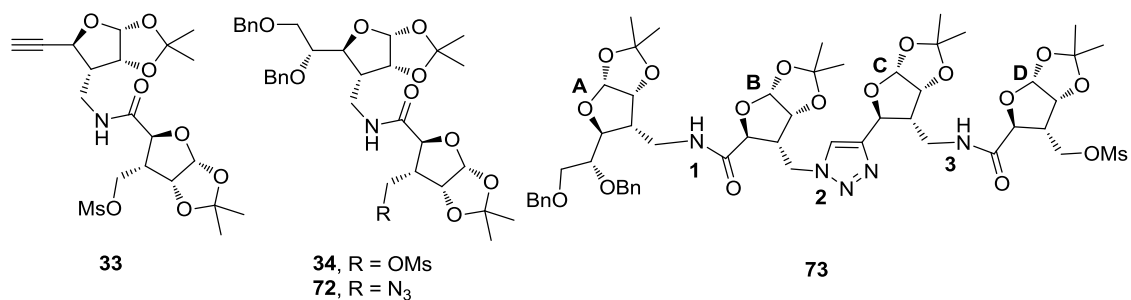


Figure 20. Disaccharides **33**, **34**, **72** and tetrasaccharide **73**.

The conformations of the amide linkers cannot be determined unambiguously. The coupling constants $^3J_{H(3')-H(N)} \sim 5.7$ Hz suggest an averaging over several conformations and fraying of the linkers.

Downfield shifts of the signals of the amide protons in ^1H -NMR spectra ($\delta > 7.15$ ppm) might be regarded as an indicator of weak hydrogen bonds between amide protons and oxygens of the furanoses [13]. We have conducted solvent titration studies of tetrasaccharide **73** (Figure 21) and hexasaccharide **75**. The changes of chemical shifts of the amide protons ($\Delta\delta_{\text{max}} < 0.25$ ppm for **73**, $\Delta\delta_{\text{max}} < 0.38$ ppm for **75**) suggest that they are involved in hydrogen bonding interactions. Variable temperature studies of **75** ($\Delta\delta_{\text{max}}/\Delta T < 3.8$ ppb $\cdot^\circ\text{C}^{-1}$) support this suggestion.

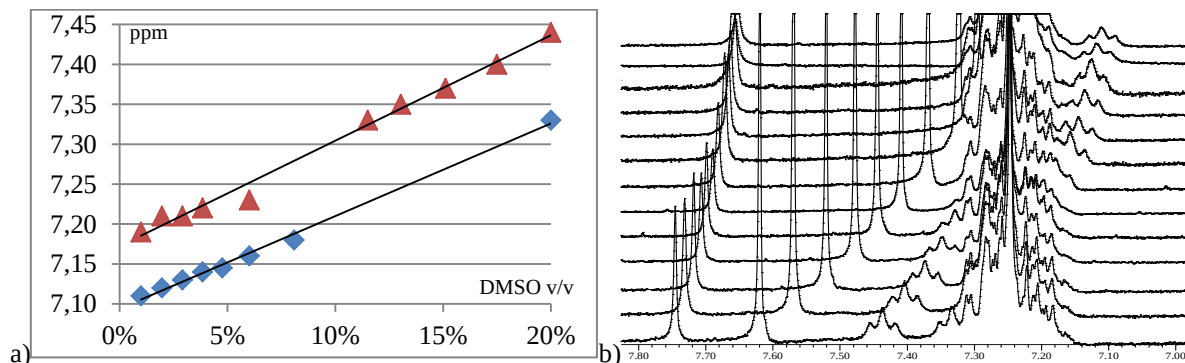


Figure 21. Solvent titration: a) Dependence of chemical shifts of NH from content of DMSO. b) Stacked plot of NMR spectra of **73** in CDCl₃ (300 MHz) (top – 1% DMSO, bottom – 20% DMSO).

In the NMR spectra of the octasaccharide **77** in CDCl₃, CD₃CN and CF₃CD₂OH signals of the internal ring (C-, E-, and G-ring) protons overlap and obstruct determination of the coupling constants and the interatomic distances from ROESY spectra.

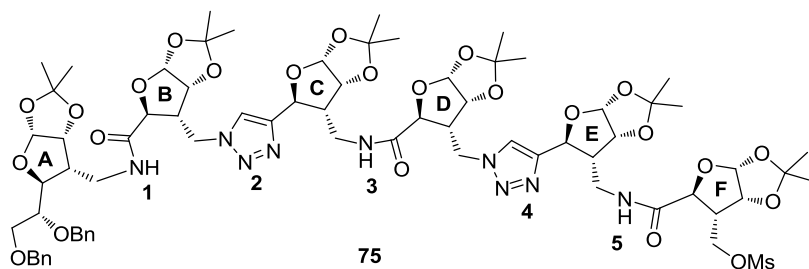


Figure 22. Hexasaccharide **75**.

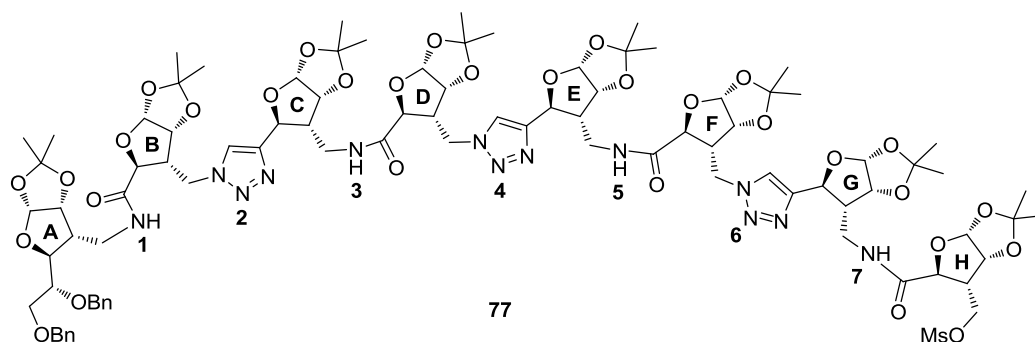


Figure 23. Octasaccharide **77**.

Observed signals suggest that the amide linkers are more flexible than the triazole linkers. Their flexibility complicates the deduction of the predominant conformations of the linkers. In addition, it makes the molecule more flexible in general. The spectra taken in CD_3CN and $\text{CF}_3\text{CD}_2\text{OH}$ suggest that in these solvents the compound **77** is less flexible. Broadening of the proton signals in the latter solvent suggests a presence of several stabilized conformations.

2.2.2.2. Molecular dynamics studies

We used the distances between protons calculated from ROESY spectra of **77** as the restraints in the molecular dynamics simulations (Figure 24).

We can conclude that the flexibility of the molecule allows forming many conformations during the MD that cannot be unambiguously proven. The parameters of the restraints (set distances and force field) used during MD have a major influence on the formation of a pool of trustworthy conformers.

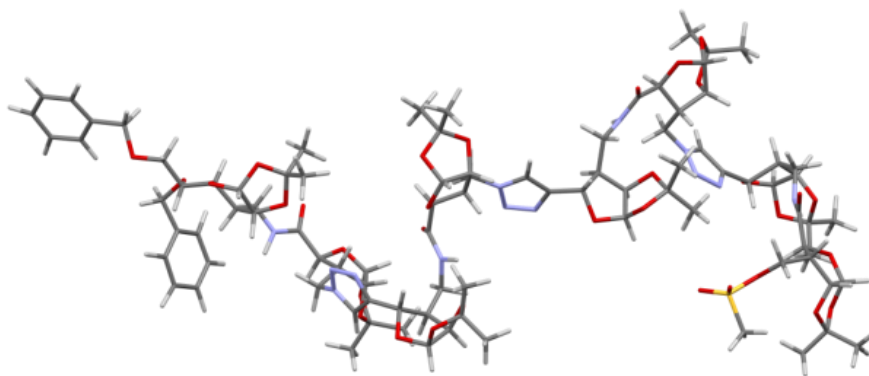


Figure 24. Structure of the octasaccharide **77** after MD simulation.

2.2.2.3. Circular dichroism studies

We have studied the amides and triazoles containing oligosaccharides by CD spectroscopy in MeCN and TFE (Figure 25). Per chromophore (amides, triazoles and phenyl groups) normalized CD spectra in MeCN show no significant difference in spectral features and the intensities. On the other hand, CD spectra in TFE solution exhibit both the solvent

dependence (decrease of intensity of tetrasaccharide spectrum) and chain length dependences (decrease of intensities when going from tetra- to hexa-, to octasaccharide).

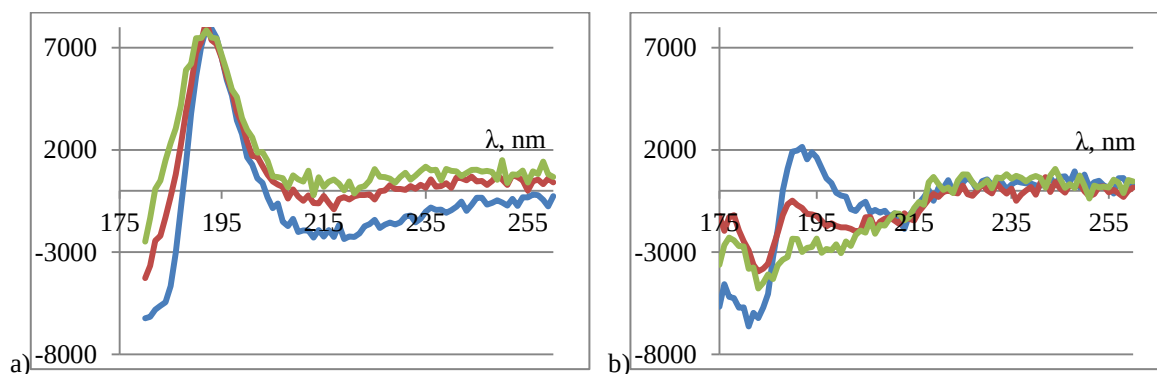


Figure 25. Per chromophore normalized CD spectra of **73** (blue), **75** (red) and **77** (green) in MeCN (a) and TFE (b).

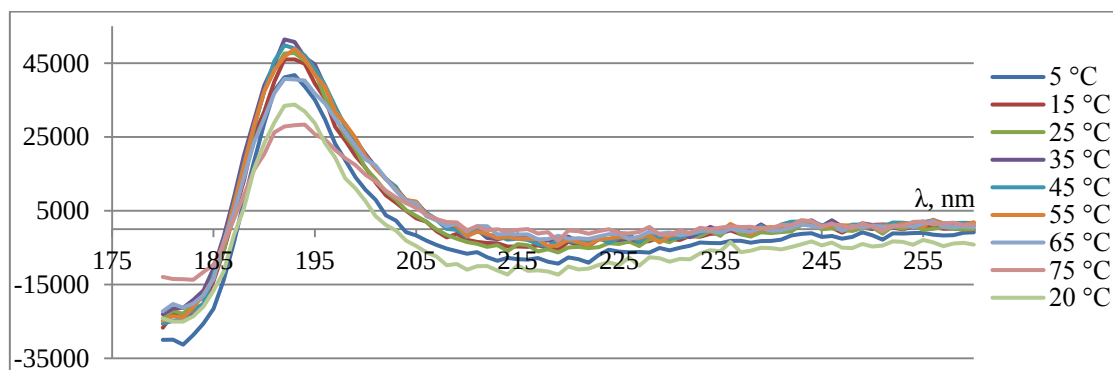


Figure 26. Influence of temperature on the CD spectra of tetrasaccharide **73** in MeCN.

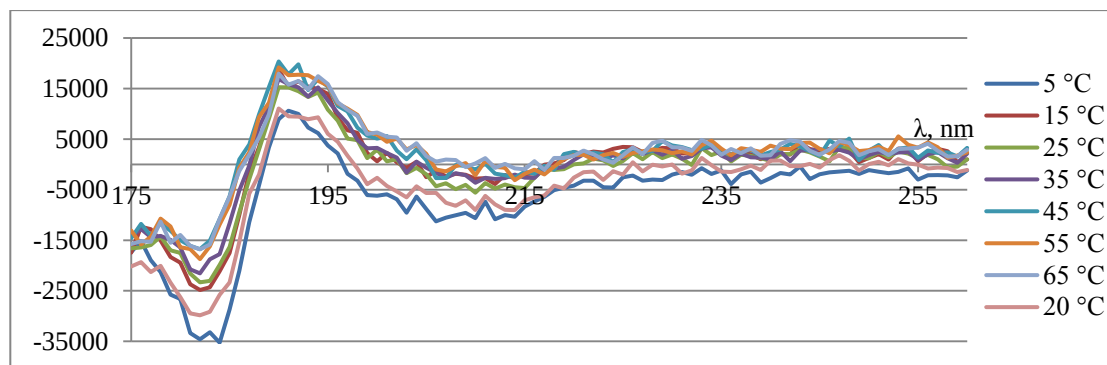


Figure 27. Influence of temperature on the CD spectra of tetrasaccharide **73** in TFE.

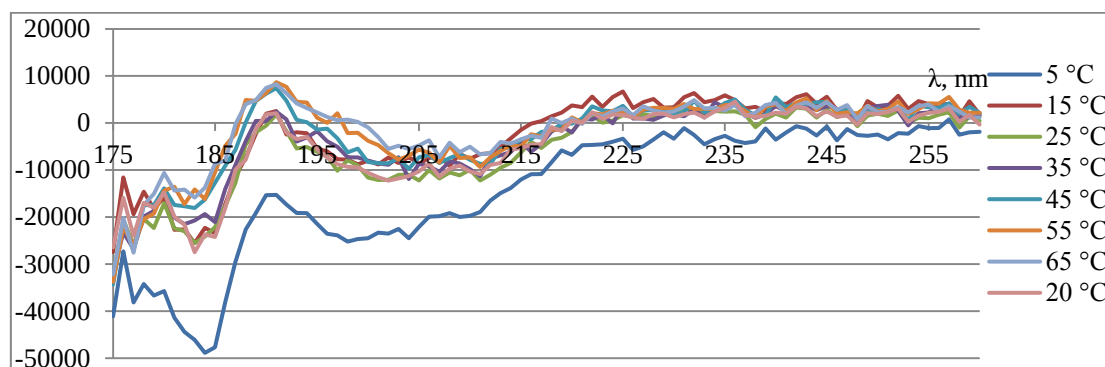


Figure 28. Influence of temperature on the CD spectra of hexasaccharide **75** in TFE.

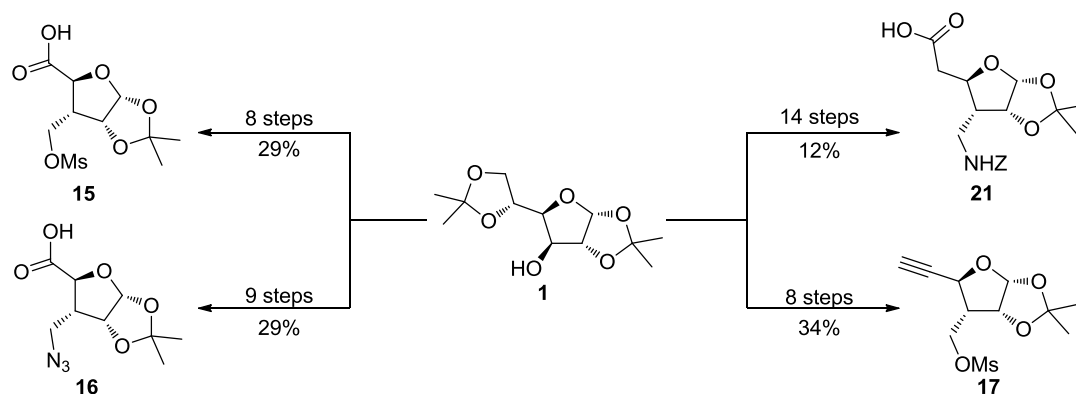
Variable temperature studies of tetrasaccharide **73** in MeCN (Figure 26) showed decrease of the intensity with increased temperature. In TFE solution (Figure 27) changes of intensities are insignificant.

Variable temperature studies of hexasaccharide **75** in TFE solution revealed an increase of the intensity of the spectrum below 205 nm (Figure 28). It is possible that the temperature disrupts newly formed interactions, indications of which can be observed in the spectra of **75** and **77**.

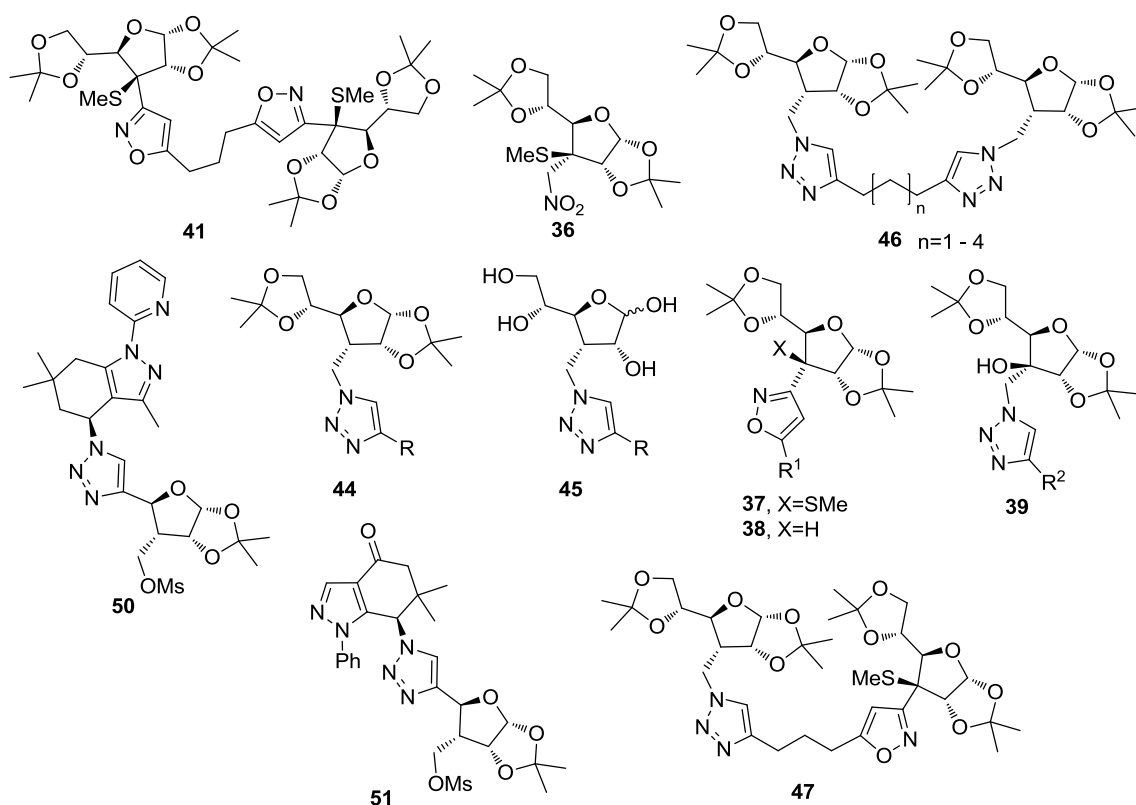
We can conclude that in these structures the chromophores are influenced by the solvent and the increase of chain length more than in the only triazoles containing compounds.

CONCLUSIONS

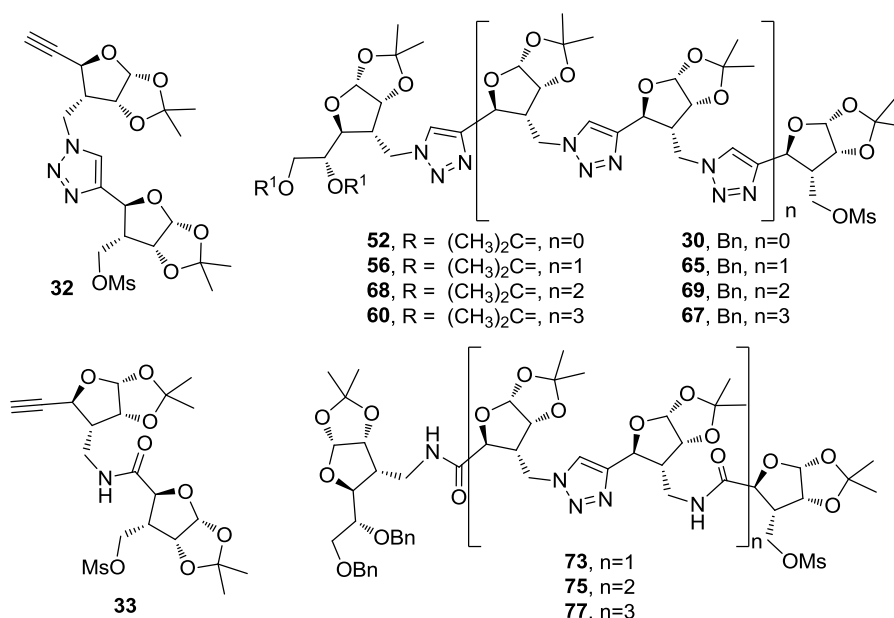
- Starting from the commercially available diacetone- α -D-glucose, the SAA precursor **15** was synthesized in 29% yield in 8 steps, the protected SAAs **16** and **21** were synthesized in 29% in 9 steps and in 12% in 14 steps, respectively. The precursor **17** for the triazole syntheses was synthesized in 8 steps with total yield of 34%. The developed synthetic routes to these building blocks are easily scalable and reproducible.



- The intermediates of the above-mentioned syntheses of the sugar amino acids and their precursors can be used for the synthesis of novel carbohydrate-azole conjugates:

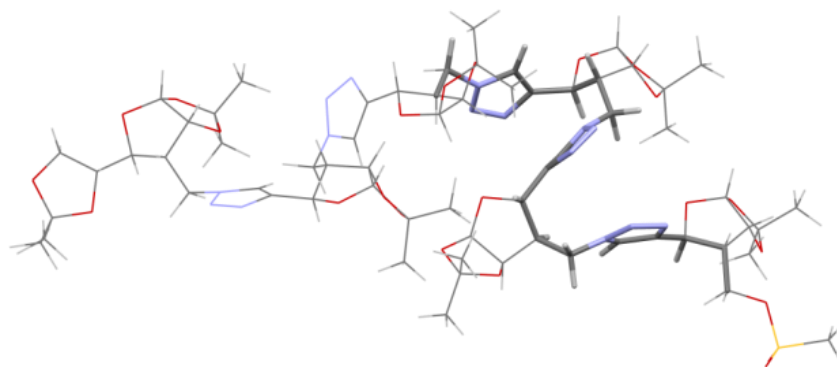


- The amide- and triazole-linked disaccharides can be easily synthesized from the monomers. Consecutive iterative addition of the functionalized monosaccharides allows an effective synthesis of the amide- and triazole-linked oligosaccharides with up to 4 carbohydrate units. For the synthesis of longer chain oligosaccharides (carbopeptoids) the dimeric building blocks **32** and **33** are used.

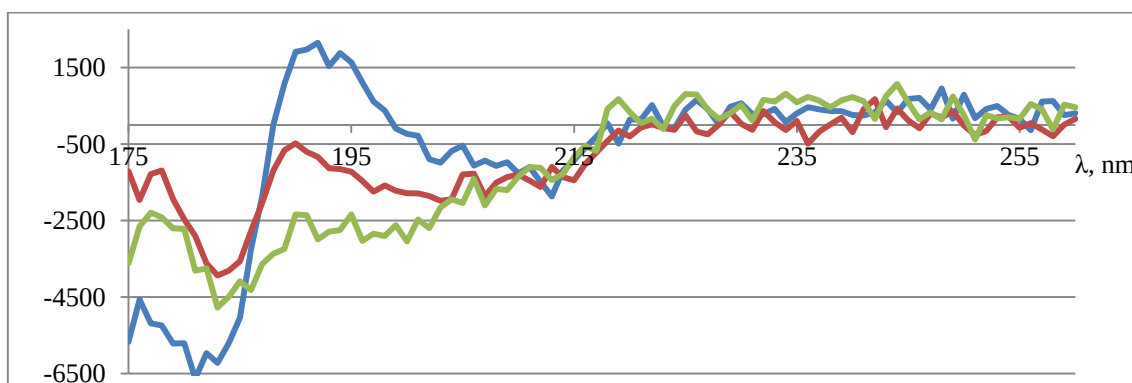


- NMR studies revealed that the conformations of furanoses of the triazole-linked oligosaccharides are from the north pool of conformations ($P=0...54^\circ$). The conformations of the linkers in these series are independent from the chain length of the oligosaccharide.
- NMR studies of the hybrid amide- and triazole-linked oligosaccharides showed that the conformations of the furanoses and the triazole linkers are the same as in the triazole-linked compounds. The conformations of the amide linkers are hard to evaluate by NMR techniques because of the flexibility of the molecules. The flexibility decreases when changing the solvent from CDCl₃ to CD₃CN, and to CF₃CD₂OH.
- The dispersion of the signals in the NMR spectra suggests that the aforementioned oligosaccharides with more than 6 monosaccharide units do not provide additional spectroscopic data valuable for the analysis of the conformations.
- The formation of interresidue hydrogen bonds between the amide protons and amide carbonyl groups cannot be determined unambiguously from the NMR spectra. It can be proposed that there are possible weak hydrogen bonds between the amide protons and oxygens of carbohydrate cores.

8. Molecular dynamics simulations showed that in both series of the oligosaccharides the β -turn-type structures can be formed. The presence of β -turns is strongly supported by the corresponding NMR data in the case of all triazole-linked oligosaccharides. Due to the fact that the structures of amide- and triazole-linked oligosaccharides are more flexible, the presence of β -turns in them is not unambiguously supported by their NMR data.



9. CD spectra of all-triazole linked and amide- and triazole-linked oligosaccharides in MeCN showed neither chain length dependence, nor temperature dependence. This indicates that the pool of conformations of the molecules does not change upon increase of chain length or temperature.
10. CD spectra of both series of compounds mentioned in point 9 in TFE exhibit different intensities of the spectral features compared to the spectra in MeCN. This might suggest different interactions with the solvent.
11. There is an obvious chain length dependence in the CD spectra of the hybrid oligosaccharides possessing both amide and triazole linkers. The nature of the change suggests the decrease of population of major conformations and formation of the solvent-stabilized conformations. This results in decrease of the flexibility of the molecule.



ACKNOWLEDGEMENTS

This work could not have been done without the support and involvement of my family, colleagues, and friends.

Especially I would like to thank:

- ✓ Professor Edvards Liepinsh and Ms Diāna Zeļencova (Latvian Institute of Organic Synthesis) for the acquisition of NMR spectra and for the molecular dynamics simulations;
- ✓ Dr. Alison A. Edwards and Dr. Bruce D. Alexander (The Universities of Kent and Greenwich at Medway, UK) for help in acquisition and analysis of CD spectra;
- ✓ Professor Jesús Trujillo Vázquez (University of La Laguna, Spain) for the initial CD experiments;
- ✓ Gļebs Kiseļovs for X-ray diffraction analyses;
- ✓ Co-authors of the publications, colleagues J. Lugiņina, J. Rjabova, I. Strakova, I. Kumpiņa, S. Belyakov, and collaborators from the University of Seville I. Robina Ramiez, E. Moreno Clavijo, A. J. Moreno Vargas;
- ✓ Supervisor Professor Māris Turks for his immeasurable patience.

Financial support by:

- ✓ Latvian Council of Science grant Nr. 09.1557 “Synthesis and structural studies of novel carbopeptoids and their triazole analogs” (supervisor: M. Turks, 2009. – 2012.).
- ✓ European Social Fund within the project «Support for the implementation of doctoral studies at Riga Technical University».
- ✓ *COST Action CM0803* “Functional peptidomimetic foldamers: from unnatural amino acids to self-assembling nanomaterials”.

References

1. Rjabovs, V.; Turks, M. *Tetrahedron* **2013**, *in press*, doi:10.1016/j.tet.2013.10.021.
2. Ostrovskis, P.; Mackeviča, J.; Kumpiņš, V.; Turks, M. Large Scale Synthesis of 1,2:5,6-Di-O-isopropylidene- α -D-ribo-3-hexofuranose-3-ulose by Oxidation of Diacetone- α -D-glucose. In *Carbohydrate Chemistry: Proven Methods*, Volume 2; van der Marel, G., Codee J., Eds.; CRC Press, 2014, *in press*.
3. Turks, M.; Rodins, V.; Rolava, E.; Ostrovskis, P. Belyakov, S. *Carbohydr. Res.* **2013**, 375, 5-15.
4. Lugiņina, J.; Rjabovs, V.; Belyakov, S.; Turks, M. *Carbohydr. Res.* **2012**, 350, 86-89.
5. Rjabova, J.; Rjabovs, V.; Moreno Vargas, A. J.; Clavijo, E. M.; Turks, M. *Centr. Eur. J. Chem.* **2012**, 10, 386-394.
6. Luginina, J.; Rjabovs, V.; Belyakov, S.; Turks, M. *Tetrahedron Lett.* **2013**, 54, 5328-5331.
7. Turks, M., Rjabovs, V., Mackeviča, J. Derivatives of 1',4'-disubstituted 1,2:5,6-di-O-isopropylidene-3-C-(1'-triazolyl)methylglucofuranose. LV Patent Nr 14613 B (20.03.2013.).
8. Turks, M., Rjabovs, V., Rjabova, J., Lugiņina, J., Moreno Vargas, A. J., Moreno Clavijo, E. Derivatives of 3-deoxy-3-(1-(1,2,3-triazolyl)methyl)allose as the glycosidase inhibitors. LV Patent 14445 B (20.03.2012.).
9. Turks, M., Mackeviča, J., Rjabovs, V., Moreno Vargas, A. J., Robina, I. Synthesis of bis-triazole-bridged disaccharides. LV Patent 14275 B (20.05.2011.).
10. a) Strakova I., Kumpiņa I., Rjabovs V., Lugiņina J., Belyakov S., Turks M. *Tetrahedron: Asymmetry* **2011**, 22, 728-739; b) Turks M. Strakova I., Gorovojs, K.; Belyakov S., Piven, Yu. A.; Khlebnicova, T. S.; Lakhvich, F. A. *Tetrahedron* **2012**, 68, 6131-6140.
11. Taha, H. A.; Richards, M. R.; Lowary, T. L. *Chem. Rev.* **2013**, 113, 1851-1876.
12. Humphrey, W.; Dalke, A.; Schulten, K. *J. Molec. Graphics* **1996**, 14, 33-38.
13. Sharma, G. V.; Yadav, T. A.; Choudhary, M.; Kunwar, A. C. *J. Org. Chem.* **2012**, 77, 6834-6848.