



Contribution à la synthèse de thiooligosaccharides

Didier Vidal

► To cite this version:

| Didier Vidal. Contribution à la synthèse de thiooligosaccharides. Chimie. 1999. dumas-01382412

HAL Id: dumas-01382412

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01382412>

Submitted on 16 Feb 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

Université Blaise Pascal (Clermont II)

Rapport de stage

présenté par

Didier Vidal

Pour l'obtention du Diplôme d'Etudes Approfondies

CONTRIBUTION A LA SYNTHÈSE DE THIOOLIGOSACCHARIDES

Stage effectué au Laboratoire des Hétérocycles et des Glucides

EA 987

ENSCCF

Année universitaire 1998-1999

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à Mr le Professeur J. Gelas pour m'avoir accueilli dans son laboratoire.

Je remercie Mr K. Bennis pour sa disponibilité, et de m'avoir aiguillé tout au long de mon travail.

Je remercie également Mme E. Fanton et I. Ripoche pour l'aide qu'elles ont apportée à ce projet.

Enfin, je ne saurais oublier toutes les personnes du laboratoire pour l'accueil et l'aide qu'elles m'ont manifestés.

Sommaire

Introduction

Première partie : SYNTHÈSE DU THIODISACCHARIDE PRECURSEUR

A) Préparation du thiol anomérique

B) Préparation du triflate

C) Synthèse du thiodisaccharide

Deuxième partie : SYNTHÈSE DU THIOTRISACCHARIDE

A) Préparation de l'accepteur de glycosyle

B) Préparation du donneur de glycosyle

C) Synthèse du thiotrisaccharide

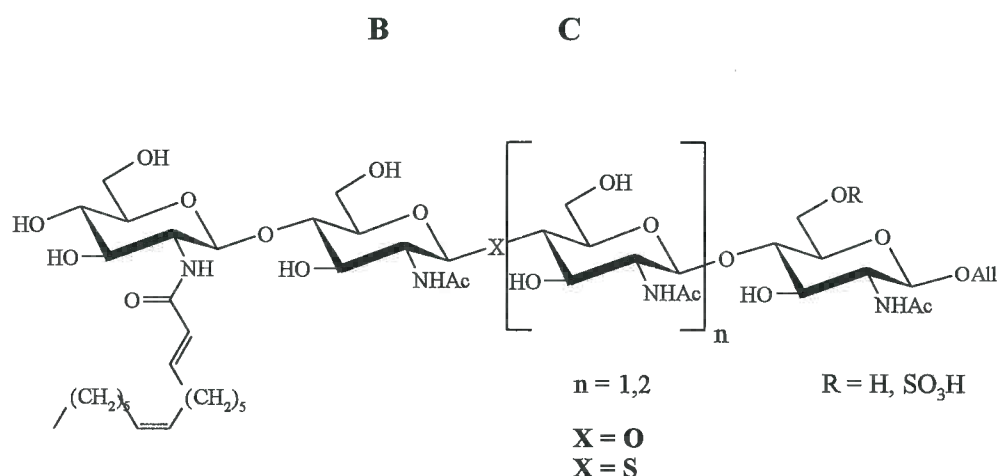
Conclusion générale

Partie expérimentale

Références bibliographiques

INTRODUCTION

L'association en symbiose des plantes légumineuses telles que le pois, la luzerne, avec des bactéries de type *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, et *Azorhizobium*, permet à la plante d'utiliser l'azote de l'air, préalablement fixé et métabolisé en ammoniacque par la bactérie¹. L'infection de la plante par ces bactéries, se traduit par l'apparition de nodules sur les racines de celle-ci. La formation de ces nodules est induite par des agents que sont les facteurs Nod. Ceux-ci sont des lipooligosaccharides, constitués de molécules de tétra-ou penta-saccharides de chitine, avec une diversité de substituants (fig.1) qui seraient à l'origine de la spécificité entre l'hôte et la bactérie².



X=O : facteurs Nod naturels

X=S : thioanalogues de facteurs Nod

Figure 1 : Représentation schématique des facteurs Nod

Ce mécanisme symbiotique permettrait d'éviter l'emploi d'engrais azotés comme les nitrates, qui sont à la fois onéreux et polluants pour l'environnement. Or, ces facteurs Nod naturels^{3,4,5,6} sont peu nombreux dans la nature, et sont facilement dégradés par les chitinases végétales entre la liaison B-C.

Il serait donc intéressant de synthétiser des analogues de facteurs Nod, plus particulièrement des thioanalogues où un atome de soufre remplace l'atome d'oxygène en position interglycosidique de la liaison B-C (fig.1). La différence de réactivité entre ces deux atomes⁷ permettrait aux thioanalogues d'être plus résistants aux chitinases, et donc d'induire le phénomène de nodulation.

Notre laboratoire est engagé dans la synthèse de thioanalogues de facteurs Nod⁸. Nous nous proposons de contribuer à cet axe en préparant des thiooligosaccharides intermédiaires.

Deux voies de synthèse de thiooligosaccharides, représentées dans le Schéma 2, sont actuellement en cours au laboratoire.

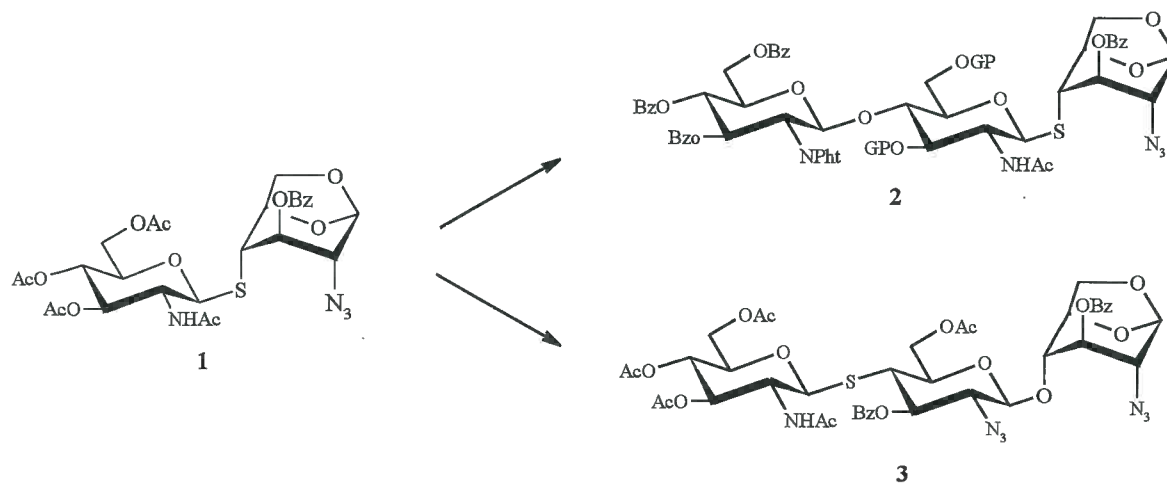


Schéma 1 : Synthèse de thiooligosaccharides

L'objectif du DEA est de synthétiser le thiotrisaccharide (2) à partir du précurseur (1). Dans la première partie, on exposera la formation par substitution nucléophile anomérique du thiodisaccharide (1). Dans la seconde partie, on décrira la synthèse par glycosylation sélective devant mener au thiotrisaccharide (2).

Les deux thiotrisaccharides (2) et (3) sont des précurseurs des analogues de facteurs Nod et également des précurseurs d'inhibiteurs potentiels de glycosidases (schéma 2)

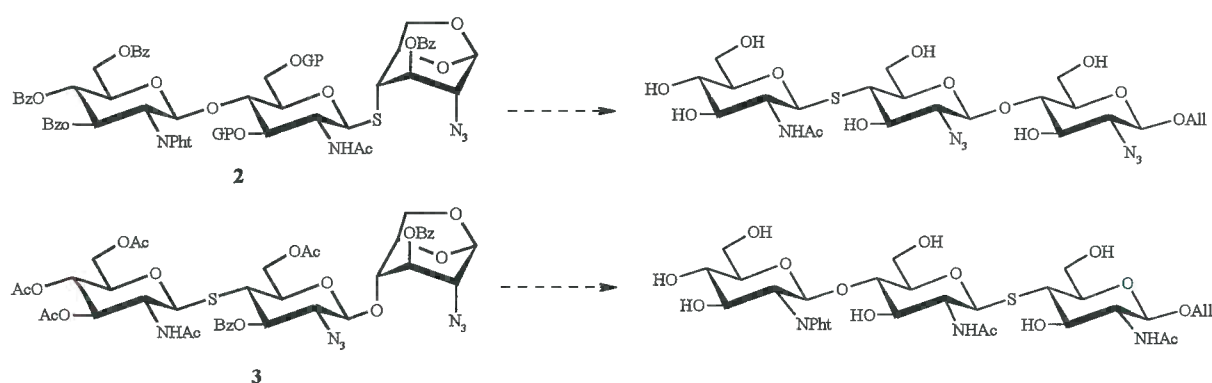


Schéma 2

Première partie :

Synthèse du thiodisaccharide précurseur

1) Synthèse du thiodisaccharide

La préparation de ce thiodisaccharide (1) a été réalisée selon une méthode développée au laboratoire⁸ (schéma.3). Deux voies de synthèse ont été envisagées pour la formation du thiodisaccharide : une voie basée sur une réaction de glycosylation-substitution et une voie faisant intervenir une réaction de substitution nucléophile de type S_N2 . Il a été montré que la substitution nucléophile selon le schéma 3 donne de meilleurs résultats.

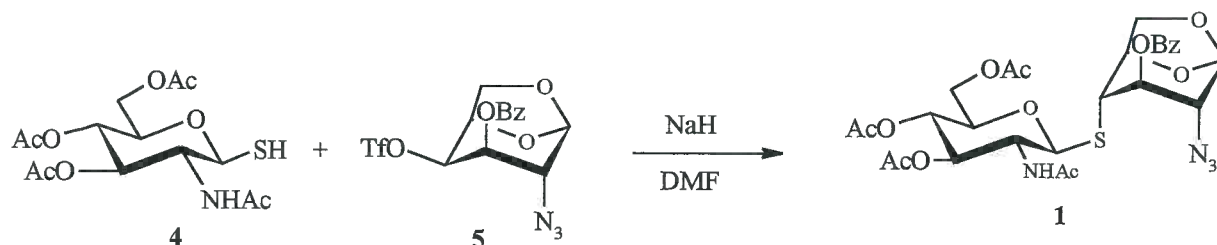
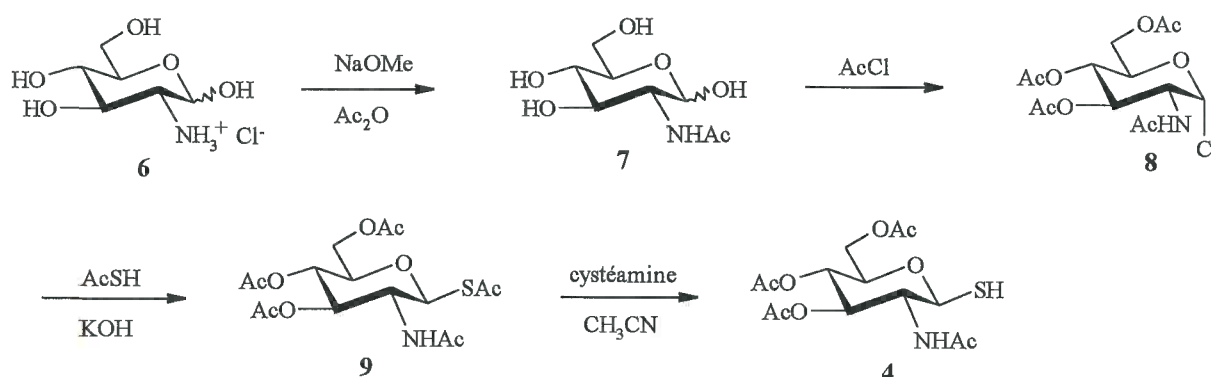


Schéma 3 : Synthèse du thiodisaccharide

La formation du thiodisaccharide (1) implique la préparation préalable du thiolate correspondant, par action d'une base (NaH) sur le thiol (4). Le déplacement du groupement triflate du composé (5) par le thiolate ainsi formé se fait selon une mécanisme de type S_N2 , permettant un couplage $\beta \rightarrow 1,4$.

A) Préparation du thiol anomérique

Ce composé a été synthétisé selon la méthode décrite de W.Meyer Zu Reckendorf et W.A Bonner¹¹ à partir du chlorhydrate de la glucosamine (6) commercial et peu coûteux (schéma.4).



La première étape consiste à libérer l'amine de son sel. La formation de la *N*-acétyl-glucosamine (7) est confirmée par l'apparition sur le spectre RMN ^1H d'un signal à 7,8 ppm sous forme d'un doublet attribuable à *NHAc*.

La *N*-acétyl-glucosamine ainsi formée, est mise à réagir avec le chlorure d'acyle, qui sert à la fois de réactif et de solvant. Cette étape permet de fixer un atome de chlore sur le carbone anomérique en position axiale stabilisée par l'effet anomère, et de protéger sous forme d'acétate les trois fonctions alcool restantes. La structure de ce composé (8) est confirmée par l'apparition sur le spectre RMN ^1H d'un signal à 2,05 ppm sous forme de trois singulets attribuables aux protons des OAc et par une faible constante de couplage de 4 Hz entre *H*-1 et *H*-2 qui confirme la position axiale de l'atome de chlore.

Le chlorure (8) obtenu, étant sensible à l'humidité (formation d'hémiacétal), est utilisé rapidement sans purification dans la troisième étape. Celle-ci consiste en un déplacement du chlorure par le thioacétate formé « in situ », selon un mécanisme $\text{S}_{\text{N}}2$. La formation du thioacétate (9) est confirmée par l'apparition sur le spectre RMN ^1H d'un singulet vers 1,95 ppm intégrant pour trois protons et attribuable au groupement SAc. De plus, la constante de couplage déterminée entre *H*-1 et *H*-2 est égale à 9 Hz, ce qui indique que le groupement thioacétate est bien en position équatoriale.

Le composé thioacétate formé est mis à réagir avec la cystéamine dans l'acétonitrile, qui, par une réaction d'addition-élimination sur le groupement SAc, conduit au thiol (4). La formation du thiol (4) est confirmée par l'apparition d'un doublet à 2,6 ppm attribuable au *SH*.

B) Préparation du triflate

Le 1,6-anhydro-4-*O*-triflate (5) a été préparé au laboratoire, selon la méthode décrite par Paulsen et *al*⁹ et par R.W. Jeanloz et P.J. Stoffyn¹⁰ à partir du galactose commercial (Schéma 5).

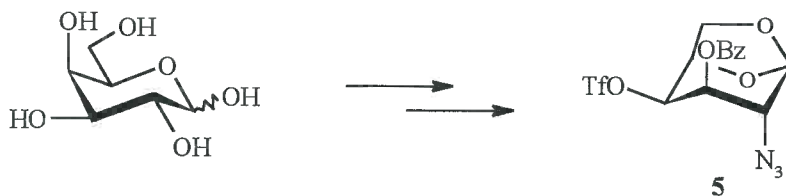


Schéma 5 : Synthèse du 1,6-anhydro-4-*O*-triflate

C) Préparation du thiodisaccharide

La synthèse de ce composé est réalisée selon la méthode décrite au laboratoire⁸. La réaction consiste à former le thiodisaccharide (1) par substitution nucléophile anomérique du 2-acétamido-2-désoxy-D-glucopyranose-1-thiolate (4) correspondant au thiol et du 1,6-anhydro-4-*O*-triflate (5). La synthèse s'effectue en milieu strictement anhydre, afin que le composé (4) sous forme de thiolate S⁻, puisse réagir avec le groupement triflate du composé (5). La formation du thiodisaccharide (1) est confirmée par la disparition sur le spectre RMN ¹H du signal du thiol SH, et l'apparition d'un multiplet entre 7,55 et 8,10 d'intensité 5H du groupement benzoate du donneur de glycosyle. Ceci confirme que le thiolate S⁻ formé « in situ » a réagi avec le triflate du composé (5) pour donner le thiodisaccharide (1).

Cette synthèse clôt la première partie de notre projet, à savoir la formation du thiodisaccharide (1), qui nous servira, après certaines modifications, à envisager la préparation du thiotrisaccharide (2) par glycosylation sélective avec le trichloroacétimide (11) (Schéma 6).

Deuxième partie :

Synthèse d'un thiotrisaccharide

La synthèse du thiotrisaccharide (**2**) est envisagée selon une glycosylation entre l'accepteur de glycosyle (**10**), possédant une fonction OH libre en position 4, qui a été préparé à partir du thiodisaccharide (**1**) préalablement synthétisé, et un donneur de glycosyle (**11**), activé par un acide de Lewis, le TMSOTf (Schéma 6).

Ce donneur possède un site d'attaque privilégié, qui est le groupement trichloroacétimide. Le TMSOTf active ce groupement pour former un ion oxocarbenium, qui devra être attaqué par la fonction OH-4 de l'accepteur (**10**) pour donner le thiotrisaccharide (**2**).

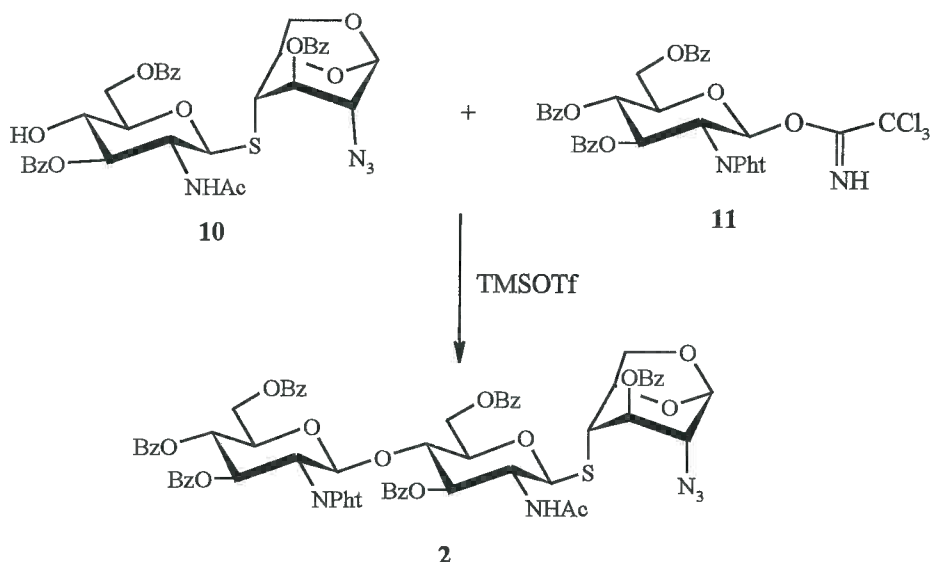


Schéma 6 : Synthèse du thiotrisaccharide

A) Préparation de l'accepteur de glycosyle

1) Désacétylation du thiodisaccharide

La première étape de formation du thiodisaccharide (**10**), consiste en une déprotection sélective des trois groupements hydroxyle en positions 3,4 et 6 réalisée sur le composé (**1**) pour donner le 1,6-anhydro-4-*S*-(2-acétamido-2-désoxy)-4-thio-glucopyranose (**12**) (Schéma.7).

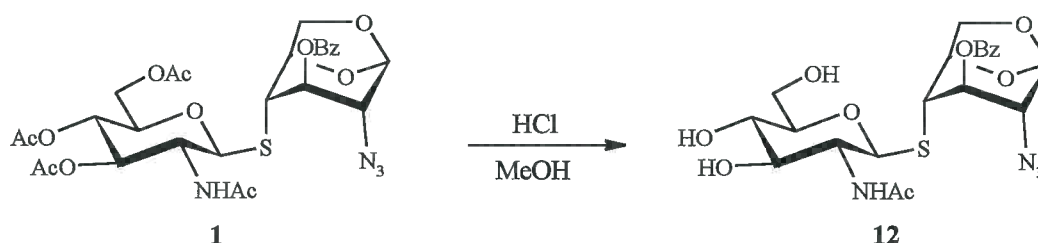


Schéma 7 : Synthèse du triol (12)

La réaction est réalisée par ajout d'une solution d'acide chlorhydrique (chlorure d'acyle dans du méthanol anhydre). Plusieurs ajouts sont nécessaires pour déprotéger les trois fonctions alcool. La structure du triol (12) formé est confirmée par son spectre RMN ^1H . En effet, on note particulièrement la disparition de trois singulets vers 2 ppm attribuables aux protons des acétates et l'apparition des signaux des protons caractéristiques des groupements hydroxyle.

Afin d'obtenir l'accepteur de glycosyle avec seule la position OH-4 libre, il faut protéger sélectivement les fonctions alcool 3 et 6 du triol (12). Notre choix s'est porté sur une benzylation sélective des positions 3 et 6, compte tenu de la relative facilité de cette protection.

2) Benzylation sélective

Cette seconde étape consiste à effectuer à partir du composé (12) une double benzylation sélective sur les positions 3 et 6, pour conduire au 1,6-anhydro-4-*S*-(2-acétamido-3,6-di-*O*-benzoyl-2-désoxy)-4-thio-glucopyranose (10) (Schéma.8).

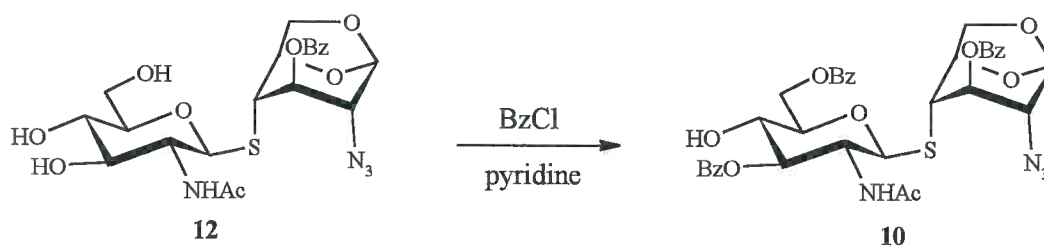


Schéma 8 : Synthèse du dibenzoylé (10)

La benzylation s'effectue par addition d'une solution de chlorure de benzoyle dans du dichlorométhane anhydre sur le thiodisaccharide déprotégé (12). L'ajout de cette solution a lieu à basse température (-60°C) et en présence de pyridine servant à neutraliser l'acide formé

au cours de la réaction. La formation de ce composé a été confirmée par l'apparition sur le spectre RMN ^1H de 15 H aromatiques. En plus du composé dibenzoylé (10) attendu, nous avons observé au cours de cette réaction la formation des produits mono- et tri-benzoylé.

B) Préparation du donneur de glycosyle

Le trichloroacétimide (11) a été préparé au laboratoire selon la méthode décrite par B.M. Pinto et coll.¹² (Schéma 9).

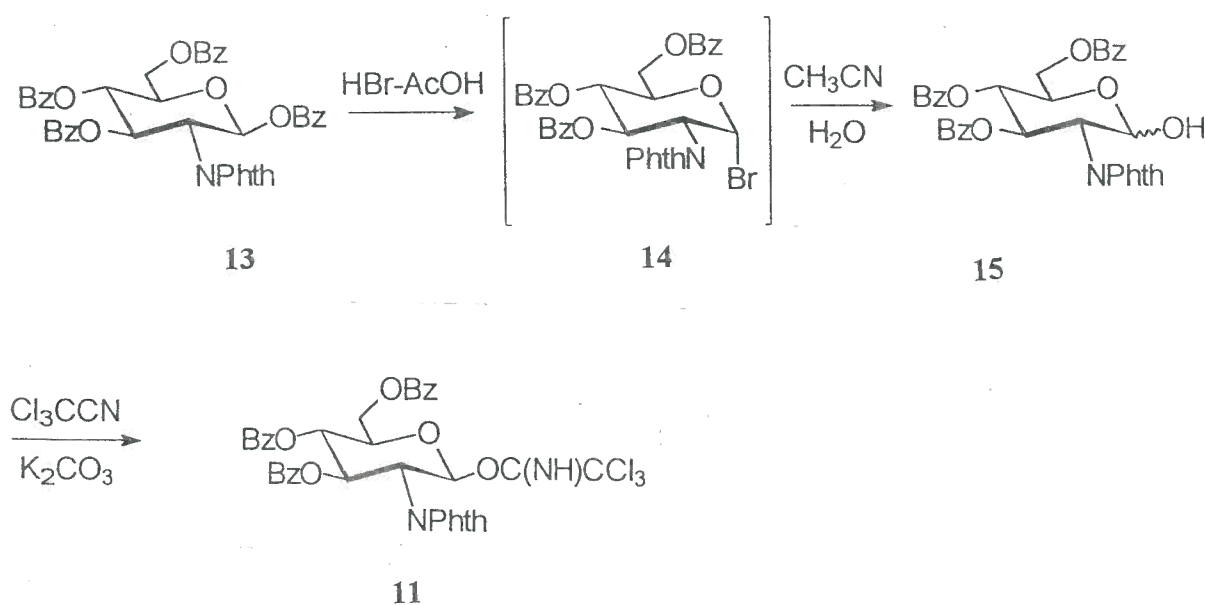


Schéma 9 : Synthèse du trichloroacétimide (11)

C) Préparation du thiotrisaccharide

La synthèse du thiotrisaccharide (2) devrait être réalisée par glycosylation sélective de la position OH-4 libre du produit dibenzoylé (10) avec le groupement trichloroacétimide du composé (11), activé par le TMSOTf. La réaction s'effectue à basse température (-45°C), et dans des conditions strictement anhydres. Plusieurs additions de TMSOTf fraîchement distillé (2,4 eq au total) sont nécessaires pour faire avancer la réaction (contrôle CCM).

Sur le spectre de RMN ^1H du produit, après plusieurs purifications sur colonne de gel de silice, on note des signaux de protons aromatiques (30 protons), indiquant la présence de trois nouveaux groupements benzoate. Cependant, nous n'observons plus de doublet du NHAc . Une étude plus précise du spectre de corrélation COSY ^1H - ^1H confirme la structure du trisaccharide (**16**) (Schéma 10).

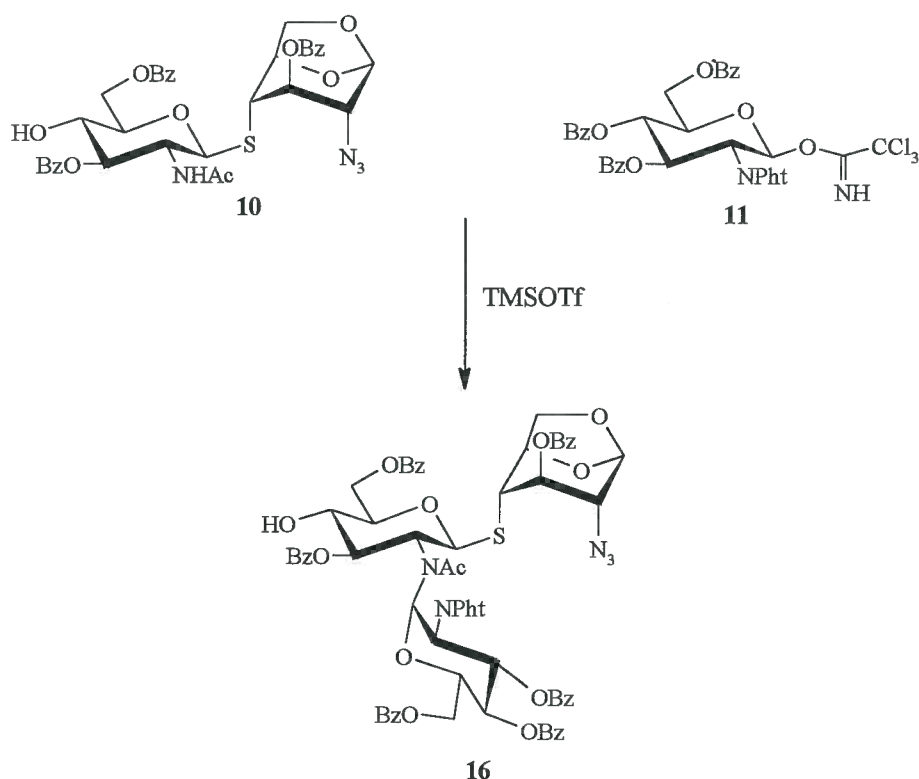


Schéma 10 : Synthèse du trisaccharide (**16**)

Nous n'observons donc pas la formation du thiotrisaccharide attendu, mais la formation de la glycosylamine correspondante. Ceci peut s'expliquer par la nature des groupements protecteurs, et particulièrement ceux en positions 3 et 6. L'hypothèse d'un encombrement

stérique, empêchant l'approche des réactifs peut être avancée. Cette hypothèse devrait être confirmée par d'autres études.

La synthèse du thiotrisaccharide (**2**) n'a donc pas été réalisée, cependant on peut envisager d'autres groupements protecteurs des groupements hydroxyle en positions 3 et 6.

D) Nouvelle voie de synthèse

Cette nouvelle approche est inspirée des travaux de M. Probert, J. Zhang, D.R. Bundle¹³. Le composé (**12**), sera protégé sélectivement en positions 4 et 6 sous forme de benzylidène acétal pour donner (schéma 11) le produit (**17**). On procédera ensuite à la protection du OH-3 sous forme de para-méthoxybenzyle pour donner (Schéma.12) le produit (**18**). L'ouverture sélective du benzylidène acétal se fera avec libération du OH-4 et protection par le groupement para-méthoxybenzyle sur la position 6.

Le couplage du donneur de glycosyle (**11**) et de l'accepteur (**19**) devrait conduire au thiotrisaccharide attendu.

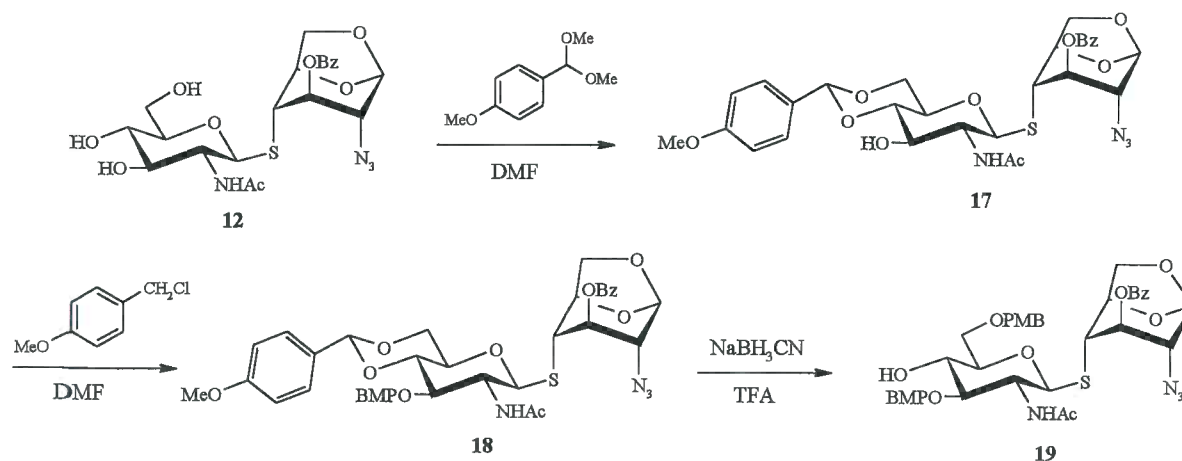


Schéma 11 : Synthèse du composé (**19**)

CONCLUSION
GENERALE

Notre objectif était de synthétiser le thiotrisaccharide (2). La méthode originelle ne nous a pas permis d'y parvenir. En effet, nous avons obtenu le composé (16) dérivant d'une *N*-glycosylation lors de l'étape finale du projet. Néanmoins, au cours de notre travail, nous avons pu montrer avec précision la formation du thiodisaccharide (1); précurseur par substitution nucléophile anomérique; la déprotection des trois groupements acétate de ce thiodisaccharide, et la formation de manière sélective du produit dibenzoylé (10) possédant une fonction OH-4 libre et servant théoriquement d'accepteur de glycosyle.

En revanche, une nouvelle voie de synthèse a été envisagée pour pouvoir mener à bien ce projet. En effet, cette approche vise à changer de groupements protecteurs (élimination des OBz) pour permettre une glycosylation sélective en position OH-4, pour donner le thiotrisaccharide attendu.

Cette nouvelle voie contribuera à la synthèse de thioanalogues de facteurs Nod.

PARTIE

EXPERIMENTALE

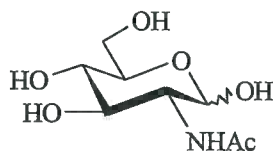
Méthodes générales

Les spectres de RMN ^1H ont été enregistrés sur un appareil Bruker AC-400 fonctionnant à 400 MHz pour le proton. Tous les spectres ont été réalisés dans CDCl_3 sauf indication contraire. Les déplacements chimiques sont exprimés en ppm par rapport au TMS. Les chromatographies sur couches minces (CCM) ont été effectuées sur des plaques d'aluminium avec du gel de silice 60-UV₂₅₄ comme adsorbant (Macherey-Nagel). Elles ont été révélées par exposition sous une lampe UV et minéralisation après pulvérisation d'une solution de H_2SO_4 à 10% dans l'éthanol à 95°.

Les purifications ont été réalisées par chromatographie sur colonne de gel de silice 60 (E.Merck 70-230 mesh) à raison de 30 g de silice par gramme de produit. Les chromatographies Sephadex LH-20 ont été réalisées avec un mélange CHCl_3 : 1 ; MeOH : 1 comme éluant.

Les points de fusion ont été déterminés sur un appareil BÜCHI SMP-20..

2-Acétamido-2-désoxy-D-glucopyranose (7)



7

A 90 mL de méthanol anhydre, on ajoute 2,1 g (0,0913 mol ; 1 eq) de Na. L'addition doit être lente et à 0°C. On laisse revenir à température ambiante, puis on ajoute au mélange 20 g (0,0928 mol) d'hydrochlorure de glucosamine commercial et on laisse sous agitation. On filtre, et rajoute 11 mL (0.116 mol ; 1,25 eq) d'anhydride acétique au filtrat. On laisse sous agitation pendant une nuit à température ambiante. Le mélange est ensuite placé 1h dans un bain de glace pour faire cristalliser la glucosamine. Le précipité est lavé avec du méthanol distillé puis avec de l'éther anhydre. Le produit obtenu est séché au dessiccateur chauffant à 50°C.

Caractéristiques :

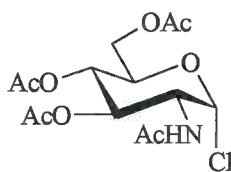
RMN ^1H (DMSO- d_6) :

7,80 (d, 1 H β , $J_{\text{NH},2}$ 10 Hz, NH β) ; 7,70 (d, 1 H α , $J_{\text{NH},2}$ 10 Hz, NH α) ; 6,54 (d, 1 H β , $J_{1,2}$ 9 Hz, H-1 β) ; 6,46 (d, 1 H α , $J_{1,2}$ 4 Hz, H-1 α) ; 4,95 (m, 2 H α +2 H β , (H-3,H-4) α et (H3-H4) β) ; 4,70 (d, 1 H α , OH α) ; 4,57 (t, 1 H β , $J_{2,1+2,3}$ 8 Hz, H-2 β) ; 4,45 (m, 1 H α +1 H β , H-2 α + OH β) ; 3,55 (m, 4 H β + 5 H α , (H-6,H-6') α et (H-6,H-6') β et 3 OH α + 2 OH β) ; 3,18 (d, 1 H β , 1 OH β) ; 3,10 (m, 1 H α +1 H β , H-5 α + OH β) ; 3,05 (m, 1 H β , H-5 β) ; 1,85 (2 s, 3 H β +3 H α , NAc α + β).

F: 20 1°C (litt¹⁴ 205°C).

Rendement : 40%

Chlorure de 2-acétamido-3,4,6-tri-*O*-acétyl-2-désoxy- α -D-glucopyranosile (8)



8

Le montage de cette synthèse est muni d'une garde au CaCl_2 pour éviter toute trace d'humidité. A 9 g (0,0407 mol) de *N*-acétylglucosamine (7), on ajoute 18 mL de chlorure d'acyle (0,25 mol ; 6,1 eq). Le mélange est agité à température ambiante pendant 16 h. Au mélange réactionnel, on ajoute 72 mL de dichlorométhane. La phase organique est neutralisée par addition d'une solution saturée de NaHCO_3 glacée. La phase aqueuse est reextraite avec du dichlorométhane. Les phases organiques sont rassemblées et séchées sur Na_2SO_4 , puis concentrées à l'évaporateur rotatif. Un sirop de couleur brune est obtenu, auquel on rajoute rapidement 90 mL d'éther anhydre pour provoquer la cristallisation. Le produit est filtré, et récupéré sous la forme d'une poudre de couleur saumon.

Caractéristiques :

RMN ^1H (CDCl_3) :

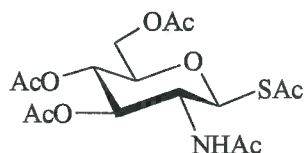
6,19 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 4 Hz, H-1) ; 5,85 (d, 1 H, $J_{\text{NH},2}$ 9 Hz, NH) ; 5,33 (dd, 1 H, $J_{3,2}$ 12 Hz, $J_{3,4}$ 10 Hz, H-3) ; 5,23 (dd, 1 H, $J_{4,3+4,5}$ 9 Hz, H-4) ; 4,54 (ddd, 1 H, $J_{2,\text{NH}+2,3}$ 9 Hz, $J_{2,1}$ 4 Hz, H-2) ; 4,30 (m, 1 H, H-6 et H-6') ; 4,14 (m, 1H, H-5) ; 2.05 (3 s, 12 H, 4 OAc)

F : 114°C (litt¹⁴ 127°C).

Rendement : 65%

2-Acétamido-3,4,6-tri-*O*-acétyl-1-*S*-acétyl-2-désoxy-1-thio-β-D-glucopyranose

(9)



9

Le chlorure (8) (20 g, 0,0525 mol) est dissous dans 280 mL d'acétone de synthèse. On ajoute au mélange 7,17 mL d'acide thioacétique (0,101 mol ; 2,1 eq) puis, 8,7 g de KOH dans 47 mL d'éthanol (0,155 mol ; 1,5 eq par rapport à l'acide thioacétique). Après 2 h de réaction et précipitation du chlorure de potassium, le mélange réactionnel est versé dans 500 mL d'eau, et deux extractions avec 500 mL de dichlorométhane sont effectuées. La phase organique est lavée avec une solution saturée de NaHCO₃, puis avec une solution de NaCl saturée. Les phases aqueuses sont reextraites 2 fois avec 300 mL de dichlorométhane. Les phases organiques sont rassemblées, séchées avec Na₂SO₄ puis concentrées. On obtient une huile orangée que l'on triture dans un mélange (Acétate d'éthyle : 1 ; Toluène : 1) afin d'obtenir la cristallisation. Après précipitation, le composé est filtré, puis lavé avec le même mélange de solvants.

Caractéristiques :

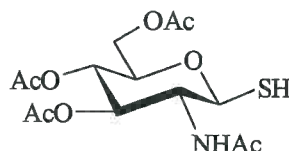
RMN ¹H (CDCl₃) :

5,65 (d, 1 H, $J_{NH,2}$ 9 Hz, NH) ; 5,10 (d, 3 H, H-1, H-3 et H-4) ; 4,40 (q, 1 H, $J_{2,1+2,3+2,NH}$ 9 Hz, H-2) ; 4,25 (dd, 1 H, $J_{6,6'}$ 12 Hz, $J_{6,5}$ 2 Hz, H-6) ; 4,10 (dd, 1 H, $J_{6',6}$ 12 Hz, $J_{6',5}$ 2 Hz, H-6') ; 3,80 (m, 1 H, H-5) ; 2,40 (s, 3 H, NAc) ; 2,10 (2 s, 9 H, OAc) ; 1,95 (s, 3 H, SAc).

F: 190°C (litt¹⁵ 198°C).

Rendement : 14%

2-Acétamido-3,4,6-tri-O-acétyl-2-désoxy-1-thiol-D-glucopyranose (4)



4

Le thioacétate (9) (0,9 g, 2,22 mmol) est dissous dans 75 mL d'acétonitrile fraîchement distillé. Le mélange réactionnel est agité et porté à 65°C. La cystéamine (0,19 g; 2,45 mmol; 1,1 eq) est ajoutée. Le mélange réactionnel est laissé sous agitation pendant une vingtaine de minutes. La réaction est stoppée en mettant le ballon dans la glace, afin d'en contrôler l'avancement. Par la suite, 140 μ L (2,45 mmol) d'acide acétique sont ajoutés et on laisse 5 minutes sous agitation à température ambiante. Le mélange est concentré et coconcentré avec du toluène afin d'éliminer toute trace d'acide acétique. La purification du produit est réalisée par chromatographie sur gel de silice. L'élution s'effectue avec un gradient d'éluant (CHCl_3 :100 ; MeOH :2 ; CHCl_3 :100 ; MeOH :5 ; CHCl_3 :100 ; MeOH :10). Les fractions contenant le produit sont rassemblées puis concentrées. Le produit est trituré dans 6 mL de Cyclohexane :7 ; Acétate d'éthyle :3).

Caractéristiques :

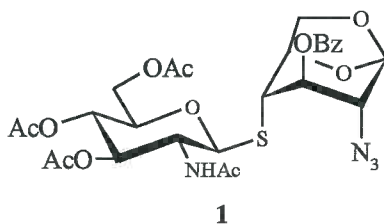
RMN ^1H (CDCl_3) :

5,7 (d, 1 H, $J_{\text{NH},2}$ 10 Hz, NH) ; 5,10 (m, 2 H, H-3 et H-4) ; 4,60 (t, 1 H, $J_{1,\text{SH}+1,2}$ 9 Hz, H-1) ; 4,25 (dd, 1 H, $J_{6',5}$ 5 Hz, $J_{6',6}$ 12 Hz, H-6') ; 4,10 (m, 2 H, H-2 et H-6) ; 3,71 (m, 1 H, H-5) ; 2,60 (d, 1 H, $J_{\text{SH},1}$ 9 Hz, SH) ; 2,05 (4 s, 12 H, OAc).

F: 144°C (litt¹⁶ 146°C).

Rendement : 33%

1,6-Anhydro-2-azido-3-benzoyl-2-désoxy-4-*S*-(2-acétamido-3,4,6-tri-*O*-acétyl-2-désoxy-β-D-glucopyranosyl)-4-thio-β-D-glucopyranose (1)



Toutes les opérations s'effectuent sous argon et en milieu anhydre.

Le thiol (**4**) (0,6 g ; 1,65 mmol ; 1,2 eq) est dissous dans 90 mL de DMF anhydre. Le mélange réactionnel est refroidi à 0°C puis ajouté, goutte à goutte et sous agitation, à 0,0735 g (1,2 eq) de NaH à 55%. Le mélange est laissé sous agitation à 0°C une dizaine de minutes. La solution de thiolate est ajoutée à 0,58g (1,37 mmol) de triflate benzoate. Le mélange réactionnel est agité à température ambiante 20 mn avant d'être porté à 50°C pendant 12 h. On ajoute alors 0,72 mL (0,126 mol ; 9.2 eq) d'acide acétique et le mélange est laissé sous agitation pendant 20 minutes à température ambiante. Le DMF est alors évaporé. Le produit sous forme d'huile brune est purifié par chromatographie sur gel de silice. L'élution s'effectue avec un gradient d'éluant (Cyclohexane :1 ; Acétate d'éthyle :1 ; Cyclohexane :1 ;Acétate d'éthyle :2). Les fractions contenant le disaccharide sont rassemblées, concentrée et cococentrées 3 fois avec du toluène afin d'éliminer le DMF résiduel.

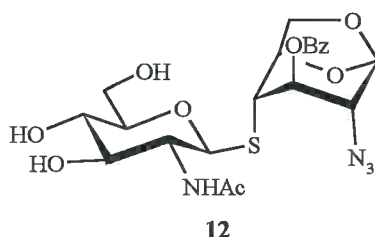
Caractéristiques :

RMN ¹H (CDCl₃) :

8,05-7,47 (m, 5 H, aromatiques) ; 5,80 (d, 1 H, $J_{NH,2}$ 9,5 Hz, *NHB*) ; 5,55 (m, 1 H, H-3A) ; 5,50 (bs, 1 H, H-1A) ; 5,32 (t, 1 H, $J_{3,2+3,4}$ 19 Hz, H-3B) ; 5,17 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 10,5 Hz, H-1B) ; 5,12 (t, 1 H, $J_{4,3+4,5}$ 19,5 Hz, H-4B) ; 4,90 (bd, 1 H, H-5A) ; 4,25-4,11 (m, 3 H, H-6A, H-6B, et H'-6B) ; 4,04 (q, 1 H, $J_{2,1+2,3+2,NH}$ 30 Hz, H-2B) ; 3,89 (m, 1 H, H-5B) ; 3,86 (dd, 1 H, $J_{6,6'}$ 7,5 Hz, $J_{6,5}$ 5 Hz, H-6A) ; 3,67 (s, 1 H, H-2A) ; 3,16 (s, 1 H, H-4A) ; 2,05 ; 2,04 ; 1,99 ; 1,98 (4 s, 12 H, OAc).

Rendement : 80%

1,6-Anhydro-2-azido-3-*O*-benzoyl-2-désoxy-4-*S*-(2-acétamido-2-désoxy- β -D-glucopyranosyl)-4-thio- β -D-glucopyranose (12)



Le thiodisaccharide (**1**) (0,45 g, 0,70mmol) est dissous dans 14,3 mL de méthanol anhydre à température ambiante. Une solution d'HCl dans le méthanol (6,42 mmol, 9,1 eq) est ajoutée au mélange. Cette solution est préparée par l'ajout de 0,8 mL de chlorure d'acyle dans 10 mL de méthanol anhydre à 0°C. Le mélange est porté à 50°C et laissé sous agitation pendant 1 h. Le milieu réactionnel est concentré à l'évaporateur rotatif puis le produit est chromatographié (éluant : CHCl₃ : 9 ; MeOH :1). Le produit récupéré est sous la forme de cristaux blancs.

Caractéristiques :

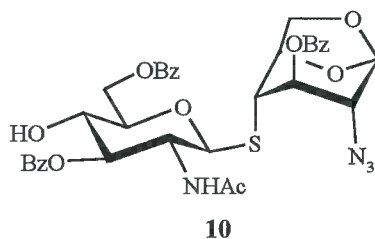
RMN ¹H (CDCl₃) :

8,05-7,70 (m, 5 H, aromatiques) ; 5,64 (d, 1 H, $J_{NH,2}$ 9,5 Hz, *NHA*) ; 4,96 (m, 3 H, H-3A, H-3B, H-1B) ; 4,48 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 5 Hz, H- 1A) ; 4,04 (m, 3 H, H'-6A, H-6A, H-5B) ; 3,84 (m, 2 H, H-2A, H-5A) ; 3,60 (m, 4 H, H-4A, H'-6B, H-6B, H-2B) ; 2,95 (s, 1 H, H-4B) ; 2,15 (s, 3 H, NAc).

Rendement : 87%.

F : 136°C.

1,6-anhydro-2-azido-3-*O*-benzoyl-2-désoxy-4-*S*-(2-acétamido-3,6-di-benzoyl-2-désoxy- β -D-glucopyranosyl)-4-thio- β -D-glucopyranose (10)



Le triol (**12**) (0,1 g, 0,197 mmol) est solubilisé dans 1,4 mL de dichlorométhane anhydre, 1,4 mL de pyridine distillée sont alors ajoutés. Au mélange réactionnel refroidi à -65°C , est ajouté une solution de BzCl (50 μL) dans CH_2Cl_2 (1mL) (0,7 mL, 0,2955 mmol ; 1,5 eq). Le mélange est maintenu 6 heures sous agitation, puis 0,2 mL de méthanol distillé sont introduits. On ajoute 30 mL de dichlorométhane, puis le mélange réactionnel est versé dans 10 mL d'une solution d'HCl 1 N. La phase organique est lavée avec 10 mL d'une solution saturée de NaHCO_3 , puis avec 10 mL d'une solution saturée de NaCl. La phase organique est séchée sur Na_2SO_4 puis concentrée. Le produit est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant : CHCl_3 : 98 ; MeOH : 2). Le produit est sous la forme de cristaux blancs.

Caractéristiques :

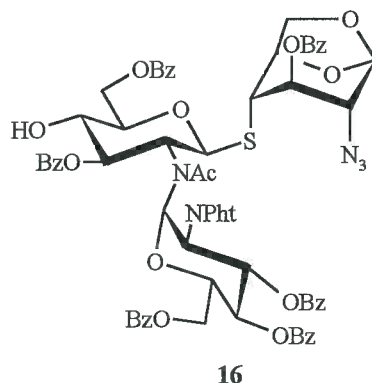
RMN^1H (CDCl_3) :

8,05-7,15 (m, 15 H, aromatiques) ; 6,43 (d, 1 H, $J_{\text{NH},2}$ 9,5Hz, NHB) ; 5,57 (m, 3 H, H-3B, H-3A, H-1A) ; 5,23 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 10,5Hz, H-1B) ; 4,85 (m, 2 H, H'-6B, H-5A) ; 4,75 (dd, 1 H, $J_{6,6'}$ 12 Hz, $J_{6,5}$ 5 Hz, H-6B) ; 4,35 (q, 1 H, $J_{2,1+3,3+2,\text{NH}}$ 10 Hz, H-2B) ; 4,10 (m, 1 H, H-5B) ; 3,95 (d, 1 H, $J_{6,6'}$ 7,5 Hz, H-6A) ; 3,85 (m, 1 H, H-4B) ; 3,70 (dd, 1 H, $J_{6,6'}$ 7 Hz, $J_{6,5}$ 5,5 Hz, H'-6A) ; 3,55 (s, 1 H, H-4A) ; 3,50 (d, 1 H, $J_{\text{OH},4}$ 5 Hz, OH) ; 1,80 (s, 3 H, NAc).

Rendement : 30%

F: 120°C

1,6-Anhydro-2-azido-3-*O*-benzoyl-2-désoxy-4-*S*-(2-acétamido-3,6-di-*O*-benzoyl-2-désoxy- β -D-glucopyranosyl)-2-*N*-(2-phthalimido-3,4,6-tri-*O*-benzoyl-2-désoxy-1- β -D-glucopyranose (16)



Le produit dibenzoylé (**10**) (0,05 g, 0,069 mmol) est introduit dans un ballon contenant 0,064 g ($8,33 \times 10^{-5}$ mol ; 1,2 eq) de trichloroacétimide (**11**) et 0,12 g de tamis moléculaire 4Å activé sont ajoutés aux deux produits. Au mélange réactionnel placé sous argon, 2,5 mL de dichlorométhane anhydre sont ajoutés. Le mélange est refroidi à -45°C puis 25 μL (1,8 eq) d'une solution de TMSOTf / CH_2Cl_2 sont rajoutés à la solution. La réaction terminée, celle-ci est stoppée par ajout de 20 μL (0,195 mmol, 2,8 eq) de triéthylamine. On laisse agiter 5 minutes à température ambiante. La solution est filtrée, et 15 mL de dichlorométhane sont ajoutés au filtrat. Celui-ci est versé dans quelques mL d'une solution d'HCl 1 N ; puis la phase organique est lavée avec une solution de NaHCO_3 saturée, puis une solution de NaCl saturée. Les trois phases aqueuses sont reextraites avec quelques mL de dichlorométhane. Les phases organiques sont rassemblées et séchées sur Na_2SO_4 . Le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant : toluène : 2 ; Acétate d'éthyle : 1).

Caractéristiques :

RMN ^1H (CDCl_3) :

8,10-7,15 (m, 30 H, aromatiques) ; 6,80 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 10 Hz, H-1A) ; 6,24 (dd, 1 H, $J_{3,2}$ 10,5 Hz, $J_{3,2}$ 9,5 Hz, H-3A) ; 5,75 (s, 1 H, H-3C) ; 5,71 (d, 1 H, $J_{4,3}$ 10 Hz, H-4A) ; 5,48 (s, 1 H, H-1C) ; 5,38 (t, 1 H, $J_{3,4+3,2}$ 9 Hz, H-3B) ; 5,05 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 10 Hz, H-1B) ; 4,85-4,45 (m, 6 H,

H'-6B, H-6B, H'-6A, H-6A, H-2A, H-5C) ; 4,32-4,24 (m, 2 H, H-5A, H-6C) ; 4,12 (m, 1 H, H-5B) ; 3,96 (dd, 1 H, $J_{6,6'}$ 7,5 Hz, $J_{6,5}$ 5,5 Hz, H-6C) ; 3,78 (m, 1 H, H-4B) ; 3,60 (s, 1 H, H-2B) ; 3,56 (s, 1 H, H-2C) ; 3,28 (s, 1 H, H-4C) ; 2,99 (d, 1 H, $J_{OH,4}$ 5 Hz, OH) ; 1,80 (s, 3 H, NAc)

Rendement : 31%

Références bibliographiques

- 1- I. Vijn, L. das Neves, A. van Kammen, H. Franssen, et T. Bisseling, *Science*, **260** (1993), 1764-1765.
- 2- J.-C. Promé et N. Demont, *Plant-Microb. Interactions*, Ed. Gary Stacey, Chapman, (1996), 272-309.
- 3- K.C. Nicolaou, N.J. Bockovitch, D.R. Carcanague, C.W. Hummel, et L.F. Even, *J. Am. Chem. Soc.*, **114** (1992), 8701-8702.
- 4- L.-X. Wang, L. Li, Q.-W. Wang, et Y.-Z. Hui, *Tetrahedron Lett.*, **34** (1993), 7763-7766.
- 5- S. Ikeshita, A. Sakamoto, Y. Nakahara, et T. Ogawa, *Tetrahedron Lett.*, **35** (1994), 3123-3126.
- 6- D. Tailler, J.-C. Jacquinet, et J.-M. Beau, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, (1994), 1827-1828.
- 7- J. Defaye et J. Gelas, *Studies in Natural Products Chemistry*, Ed Atta-ur-Rahman, (1991), vol.8, 315.
- 8- a-F.-I. Auzanneau, K. Bennis, E. Fanton, D. Promé, J. Defaye, et J. Gelas, *J. Chem. Soc., Perkins Trans. I*, (1998), 3629-3635.
b-F.-I. Auzanneau, M. Mialon, D. Promé, et J. Gelas, *J. Org. Chem.*, **63** (1998), 6460-6465.
- 9- H. Paulsen, C. Kolar, et W. Stenzel, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **15** (1976), 440-441.
- 10- R.W. Jeanloz et P.J Stoffyn, *Methods Carbohydr. Chem.*, **1** (1962), 221-227.
- 11- W. Meyer Zu Reckendorf et W.A. Bonner, *Carbohydr. Res., J. Org. Chem.*, **26** (1961), 4596.
- 12- F.-I. Auzanneau, F. Forooghian, et B.M. Pinto, *Carbohydr. Res.*, **291** (1996), 21-41.
- 13- M.A. Probert, J. Zhang, et D.R. Bundle, *Carbohydr. Res.*, **296** (1996), 149-170.
- 14- D. Horton, *Methods in Carbohydrate Chemistry*, (1972), vol 6.
- 15- D. Horton et M.L. Wolfrom, *J. Org. Chem.*, **27** (1962), 1794-1800.
- 16- K.L. Matta, E.A.Z. Johnson, R.N. Girotra, et J.J. Barlow, *Carbohydr. Res.*, **30** (1973), 414.