

Note

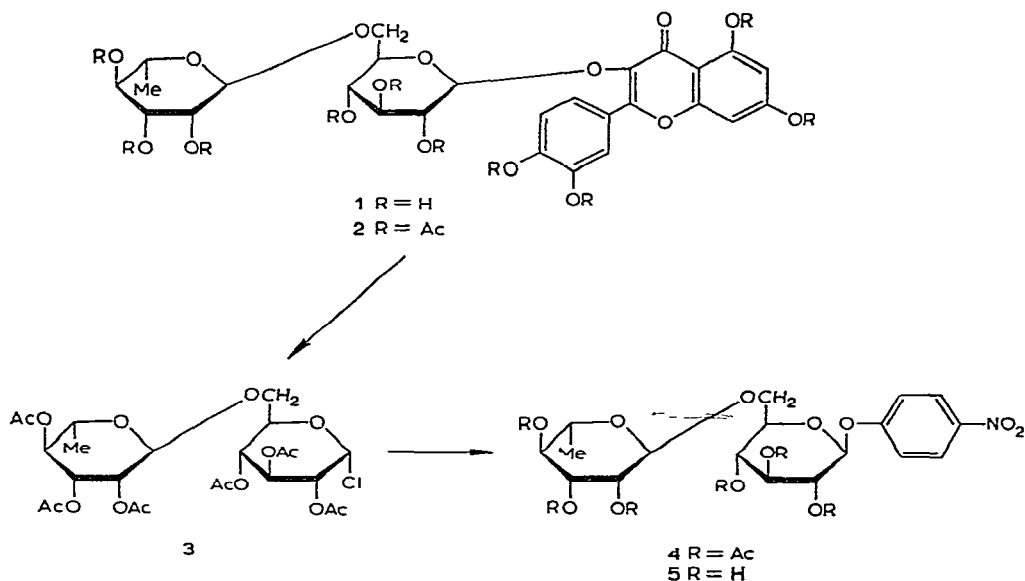
Préparation du *p*-nitrophényl-rutinoside (*p*-nitrophényl-6-*O*- α -L-rhamnopyranosyl- β -D-glucopyranoside)*

R. BOURBOUZE, F. PRATVIEL-SOSA ET F. PERCHERON

Laboratoire de Chimie Biologique, E. R. A. n° 99 du C. N. R. S.,
Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université René Descartes,
4, Avenue de l'Observatoire, Paris VI (France)

(Reçu le 23 novembre 1971, accepté après modification le 10 février 1972)

Dès 1926, Bridel et Charaux¹ chez divers *Rhamnus*, puis Suzuki² chez d'autres espèces végétales, fongiques ou bactériennes, signalèrent la présence d'une activité β -D-glucosidase particulière, s'exerçant sur des hétéroglycosides complexes en libérant des disaccharides, par exemple, la rutine est hydrolysée en quercétol et rutinose (6-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-D-glucose). Afin d'approfondir l'étude de ces enzymes, nous avons entrepris la synthèse de substrats plus solubles que les hétérosides naturels, et nous décrivons ici la préparation du *p*-nitrophényl-rutinoside



*Dédié au Professeur Jean-Émile Courtois à l'occasion de son 65ème anniversaire

Nous avons adapté la méthode de Koenigs-Knorr, ce qui nécessitait l'emploi de chlorure de rutinosyle peracétylé, que nous avons obtenu par coupure de la rutine acétylée grâce au dichlorométhyl-méthyléther en présence de chlorure de zinc, dans les conditions décrites par Gross et Farkas^{3,4}. Nous n'avons pas réussi à condenser l'halogénose directement avec le *p*-nitrophenol en présence d'alcali en solution acétonique, le produit de départ étant retrouvé quantitativement en fin d'opération. Mais la condensation s'effectue en solution pyridinique, à l'obscurité, en présence de carbonate d'argent fraîchement préparé; le rendement est augmenté en présence de Driérite.

Cette méthode pourra sans doute permettre la synthèse d'aryl-glycosides d'autres disaccharides ou de trisaccharides provenant d'hétérosides naturels. De tels composés peuvent rendre de grands services dans l'étude de la spécificité de certaines glycosidases.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Rutine acétylée [*Quercét-3-yl*-(6-O- α -L-rhamnopyranosyl)- β -D-glucopyranoside *décaacétate*] (2) — On laisse en contact la rutine (1, 25 g) avec un mélange anhydride acétique-pyridine anhydre 25 ml, (2/3, v/v) pendant 24 h à la température du laboratoire. Le dérivé acétylé est précipité dans un excès d'eau glacée sous agitation vigoureuse. Le précipité est essoré, lavé à l'eau et séché sous vide, après decoloration au charbon et deux cristallisations dans l'éthanol, on obtient 2 sous forme de poudre microcristalline (27 g, 65%), p f 122–124° (non corrigé), $[\alpha]_D^{22} -73,9^\circ$ (c 1, chloroforme). Nous n'avons pas trouvé de constantes physiques de ce composé dans la littérature.

Chlorure de rutinosyle peracétylé [*chlorure de 2,3,4-tri-O-acétyl-6-O-(2,3,4-tri-O-acétyl- α -L-rhamnopyranosyl)- α -D-glucopyranosyle*] (3) — On dissout en présence de chlorure de zinc fondu juste avant l'emploi (4 g), 2 (20 g) dans du chloroforme anhydre (80 ml). On ajoute le dichlorométhyl-méthyléther (20 ml) et le mélange est chauffé à 75–80° pendant 2 h. La solution chloroformique est décantée pour éliminer l'aglycone qui a partiellement précipité, et évaporée à sec sous pression réduite. Le résidu huileux est repris par l'éther et l'extrait étheré est lavé à l'eau glacée, puis avec une solution saturée d'hydrogènocarbonate de potassium, à nouveau à l'eau glacée, séché sur sulfate de sodium, et évaporé à sec sous pression réduite. Le résidu est redissous par l'éthanol à reflux (25 ml) et la solution refroidie donne 3 cristallin au bout de quelques jours au réfrigérateur (6 g, 51%), p f 146–147° (non corrigé), $[\alpha]_D^{24} +67,2^\circ$ (c 1, chloroforme). Le pouvoir rotatoire est en accord avec ceux indiqués par d'autres auteurs: +66,5° (Réf 4), +68,2° (Réf 5), +69,7° (Réf 6).

p-Nitrophényl- β -rutinoside hexaacétate [*o-nitrophényl-2,3,4-tri-O-acétyl-6-O-(2,3,4-tri-O-acétyl- α -L-rhamnopyranosyl)- β -D-glucopyranoside*] (4) — Une solution de *p*-nitrophénol (1,5 g) dans la pyridine anhydre (50 ml) est agitée pendant 1 h avec de la Driérite (3 g) et on ajoute ensuite 3 (5 g) et du carbonate d'argent « actif » (3 g) fraîchement préparé⁷. On laisse la réaction se poursuivre sous agitation et à l'obscurité.

pendant 24 h à la température du laboratoire. Le mélange est filtré, et la pyridine est éliminée par plusieurs additions de benzène suivies d'évaporations sous pression réduite. La solution benzénique ainsi obtenue (100 ml) est lavée successivement avec de l'eau glacée, une solution normale d'hydroxyde de sodium, et à nouveau à l'eau glacée, après séchage sur sulfate de sodium anhydre, on évapore à sec sous pression réduite. Le résidu, repris par l'éthanol à reflux (20 ml), décoloré au charbon, cristallise en fines aiguilles blanches. Après recristallisation dans l'éthanol, le produit obtenu (2,55 g, 44%) est encore contaminé par du *p*-nitrophénol qu'on élimine par une nouvelle cristallisation (1,84 g, 32%), *p* f 182° (non corrige); $[\alpha]_D^{24} -61,5^\circ$ (*c* 3, chloroforme), spectre u v $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ 218 et 290 nm (ϵ 4 978).

Anal Calc pour $\text{C}_{30}\text{H}_{37}\text{NO}_{18}$ C, 51,50, H, 5,33; N, 2,00. Trouvé C, 51,45, H, 5,28, N, 2,15.

p-Nitrophényl- β -rutinoside (*p*-nitrophényl-6-O- α -L-rhamnopyranosyl- β -D-glucopyranoside) (5) — Le composé 4 (1,5 g) est dissous dans du méthanol anhydre (15 ml), on ajoute une solution fraîchement préparée de méthylate de sodium 0,1M (1,5 ml), et porte le mélange à l'ébullition à reflux au bain-marie pendant 5 min. Après refroidissement la solution est diluée à l'eau (5 ml) et le sodium est éliminé par agitation avec 150 mg de résine Amberlite IR 120 (H^+) à la température du laboratoire jusqu'à réaction neutre au tournesol⁸. Le *p*-nitrophenyl rutinoside n'ayant pu être cristallisé dans les conditions habituelles, il est isolé par chromatographie sur couche mince de gel de silice, après migration avec le solvant alcool butylique-2-propanol-eau (1·7·2, v/v). L'emplacement correspondant à l'hétéroside, localisé grâce à sa fluorescence en u v, est recueilli par grattage et extrait par du méthanol chauffé à 40°. Ceci élimine les traces de *p*-nitrophénol apparu au cours de la désacétylation. Les solutions méthanoliques sont évaporées sous pression réduite, le résidu est repris à l'eau et la solution aqueuse est lyophilisée. On obtient 0,28 g (28%), *p* f 141–145° (déc, non corrige), spectre u v $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ 220 et 296 nm (ϵ 2 428), $[\alpha]_D^{22} -69,7^\circ$ (*c* 2, eau), Le pouvoir rotatoire est en accord avec les règles d'Hudson pour l'anomère β .

Anal Calc pour $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{NO}_{12} \cdot \text{H}_2\text{O}$ C, 46,49; H, 5,80; N, 3,01. Trouvé C, 46,86, H, 5,88, N, 3,12.

RÉFÉRENCES

- 1 M BRIDEL ET C CHARAUX, *Bull Soc Chim Biol*, 8 (1926) 25.
- 2 H SUZUKI, *Arch Biochem Biophys*, 99 (1962) 476.
- 3 H GROSS ET J FARKAS, *Chem Ber*, 93 (1960) 95.
- 4 R BOGNAR, I FARKAS-SZABO, I FARKAS ET H GROSS, *Carbohydr Res*, 5 (1967) 241.
- 5 G ZEMPLEN ET A GERECs, *Ber*, 68 (1935) 1320.
- 6 M K SHAKHOVA, G I SAMOKHVALOV ET N A PREOBRAZHENSII, *Zh Obshch Khim*, 32 (1962) 390.
- 7 M L WOLFROM ET D R LINEBACK, *Methods Carbohydr Chem*, 3 (1963) 342.
- 8 A THOMPSON ET M L WOLFROM, *Methods Carbohydr Chem*, 2 (1963) 216.