

Note

Coupure sélective par l'hydrazine des groupements acétyles anomères de résidus glycosyles acétylés*

GÉRARD EXCOFFIER, DIDIER GAGNAIRE ET JEAN-PIERRE UTILLE

Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales (C.N.R.S.), B.P. 53, 38041 Grenoble (France)

(Reçu le 6 juin 1974; accepté après modification le 13 septembre 1974)

Dans une étude précédente² sur la coupure sélective des esters β -benzoylpropioniques et leur utilisation en synthèse d'oligosaccharides, il a été démontré que le groupe acétyle anomère du 1,2,3,4-tétra-*O*-acétyl-6-*O*-(3-benzoylpropionyl)- β -D-glucopyranose est attaqué plus rapidement par l'acétate d'hydrazine que les autres substituants. La création d'un groupement hydroxyle hémiacétalique libre sur des mono- ou oligosaccharides acylés — le plus souvent acétylés — implique généralement l'hydrolyse d'un halogénure de glycosyle. La sensibilité particulière des groupes acétyles anomères vis-à-vis de certains réactifs nucléophiles a cependant été mise en évidence récemment : Rowell et Feather³ ont obtenu les heptaacétates du cellobiose et du maltose libres sur l'extrémité réductrice par action contrôlée de la pipéridine sur les octaacétates β correspondants.

Nous avons recherché ici dans quelle mesure la coupure par l'hydrazine des acétates de glycosyle pouvait être rendue sélective et applicable à l'étape ultime de la synthèse d'oligosaccharides sur polymère support: en effet, toutes les méthodes utilisées jusqu'ici pour la séparation de l'oligosaccharide et du support insoluble présentent des inconvénients. Dans le cas de l'ancrage par liaison ester¹, la transestérification par le méthanol peut être compliquée par la présence de résidus acides ou chlorures d'acide; la méthode de Fréchet et Schuerch⁴ — ozonolyse d'un allyl-glycoside — ne conduit pas jusqu'ici à des oligosaccharides libres; la coupure d'un thioglycoside par le chlorure mercurique a été envisagée⁵, mais cette réaction, qui se déroule en milieu aqueux, devra sans doute être adaptée au cas d'un support insoluble hydrophobe; enfin, la photolyse d'un 6-nitrovératryl-glycoside utilisée par Zehavi et Patchornik⁶ ne semble pas satisfaisante à l'échelle préparative.

L'action d'un léger excès d'acétate d'hydrazine sur une solution de 1,2,3,4,6-penta-*O*-acétyl- α -D-glucopyranose dans le *N,N*-diméthylformamide conduit, avec un bon rendement (d'après la c.c.m.), au mélange à l'équilibre des anomères du 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-D-glucopyranose. Le spectre de r.m.n. du produit brut est en effet

*Synthèse d'oligosaccharides sur polymère support. Partie V. Pour la Partie IV, voir Réf. 1.

superposable à celui d'un mélange équilibré de ces anomères, obtenu à partir de 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranose authentique, et son pouvoir rotatoire est voisin de celui du même mélange (environ 10% inférieur). On peut contrôler en r.m.n. l'évolution du pic acétate porté par C-1 ; à 37°, ce pic disparaît en 12 min environ. On n'observe à aucun moment la présence de pentaacétate β , qui, même en faible quantité, serait aisément détecté dans cette région du spectre.

De même, l'action de l'acétate d'hydrazine sur le 1,2,3,4,6-penta-*O*-acétyl- β -D-glucopyranose fournit un produit brut rigoureusement identique (c.c.m., pouvoir rotatoire) à celui obtenu à partir du pentaacétate α , avec une vitesse de réaction sensiblement comparable. L'examen par r.m.n. confirme l'absence, en cours et en fin de réaction, de pic correspondant à un acétate en position axiale. Par ailleurs, le 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranose authentique est anomérisé très rapidement dans les conditions réactionnelles.

Cet ensemble de faits suggère que la réaction procède d'une attaque nucléophile de l'hydrazine, ou de l'ion $\text{NH}_2\text{-NH}_3^+$, sur le groupement carbonyle du résidu acétyle en C-1, suivie de l'anomérisation de l'ion glucosyloxy formé (ou de l'hémiacétal).

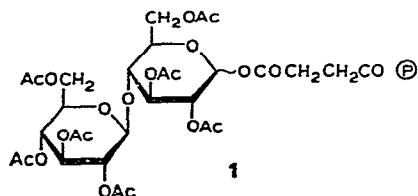
La réacétylation des produits bruts donne presque quantitativement un mélange des 1,2,3,4,6-penta-*O*-acétyl-D-glucopyranoses dans le rapport α à β de ~ 2 (déterminé par polarimétrie et dosage des protons anomères en r.m.n.).

Entre autres solvants examinés, l'acétonitrile, l'hexaméthylphosphorotriamide et le *p*-dioxanne s'avèrent convenables; toutefois, la réaction y est peut-être moins sélective, et en tout cas moins rapide que dans le *N,N*-diméthylformamide; on peut noter cependant qu'une solution préfabriquée d'acétate d'hydrazine dans le *N,N*-diméthylformamide est moins réactive que l'acétate cristallin ajouté à une solution du glucide dans ce même solvant.

Les dérivés peracétylés du β -D-xylopyranose, de l' α -cellobiose, du β -gentiobiose et du β -maltose réagissent de façon analogue; il en résulte toujours un mélange d'anomères dont peut cristalliser le plus stable; ainsi, le 2,3,4-tri-*O*-acétyl- α -D-xylopyranose et le 2,3,6-tri-*O*-acétyl-4-*O*-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranosyl)- α -D-glucopyranose sont obtenus purs, puisque leur réacétylation par l'anhydride acétique et la pyridine fournit quantitativement les peracétates de configuration α . Par contre, les mélanges anomères obtenus à partir des acétates du D-glucose, du gentiobiose et du maltose ne peuvent être résolus, du moins sans pertes importantes.

La possibilité d'extension de ces résultats à la synthèse sur polymère support a été vérifiée sur un exemple simple. Le support choisi est un polystyrène réticulé par 2% de divinylbenzène, moins poreux et moins fragile que le polymère « popcorn » initialement utilisé dans ce laboratoire⁷; il a été fonctionnalisé par succinylation⁸ et contient 2,2 milliéqu. d'acide par g. Le bromure d'hepta-*O*-acétyl- α -cellobiosyle réagit avec ce polymère, dans des conditions anomérisantes¹, pour donner l'ester insoluble **1** avec un rendement qui peut atteindre 50% par rapport aux fonctions carboxyliques. Dans une expérience parallèle, un polymère « popcorn » succinylé contenant 1,35 milliéqu. d'acide par g n'est estérifié qu'à 16%. La coupure de **1** réalisée par l'acétate d'hydrazine dans le *N,N*-diméthylformamide fournit le 2,3,6-tri-

O-acétyl-4-*O*-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranosyl)- α -D-glucopyranose cristallisé, avec un rendement de 81,5 % par rapport à **1**.



En fin de synthèse sur support solide, cette méthode peut donc constituer un moyen de couper l'oligosaccharide du support, dans le cas où la première unité a été ancrée par O-1 ; elle fournit un oligomère complètement substitué, excepté en C-1 du sucre réducteur, susceptible d'être purifié sous cette forme, et éventuellement marqué de façon sélective sur l'extrémité réductrice*.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Méthodes générales. — La chromatographie en couche mince (c.c.m.) a été effectuée sur des plaques finies Merck (Kieselgel F₂₅₄) éluées par des mélanges benzène-acétone 3:1 ou 9:4 (v/v). Les points de fusion instantanés ont été mesurés sur banc Kofler. Les spectres de r.m.n., effectués en solution dans le chloroforme-*d* en présence de tétraméthylsilane, ont été enregistrés sur appareils Varian A60-A ou HA-100. Les pouvoirs rotatoires ont été déterminés à l'aide d'un appareil Roussel-Jouan.

Scission du groupement acétyle en O-1 de monosaccharides et en O-1 du sucre réducteur de disaccharides peracétylés. — À une solution du sucre acétylé (1 mmol) dans le minimum de *N,N*-diméthylformamide (0,5 à 5 ml) à 50° on ajoute l'acétate d'hydrazine (0,11 g, 1,2 mmol); le mélange est agité à 50° jusqu'à dissolution complète (2 à 3 min); on peut alors contrôler par c.c.m., polarimétrie et r.m.n. que la réaction est pratiquement terminée. Après 10 min à température ambiante, la solution, diluée par 10–30 ml d'acétate d'éthyle, est lavée par 2 × 10 ml d'une solution aqueuse saturée de chlorure de sodium (qui peut précipiter partiellement au cours du premier lavage), puis séchée sur sulfate de calcium. Après évaporation, le résidu est débarrassé des dernières traces de *N,N*-diméthylformamide par entraînement avec du toluène. Les cinq composés suivants ont été préparés par cette méthode.

2,3,4,6-Tétra-*O*-acétyl-D-glucopyranose. — Les produits bruts obtenus (90–92 %) à partir des 1,2,3,4,6-penta-*O*-acétyl- α - et β -D-glucopyranoses sont identiques en c.c.m. et r.m.n.; $[\alpha]_D^{20} + 74^\circ$ (c 1,95, chloroforme, inchangé par addition d'une goutte d'acide trifluoroacétique) dans les deux cas. Anomérisation du 2,3,4,6-tétra-

*Pendant la rédaction de ce travail, des gentiodextrines synthétisées sur support solide ont été effectivement détachées du polymère par cette méthode⁹.

O-acétyl- β -D-glucopyranose : $[\alpha]_D^{20} + 72^\circ$ (c 7, *N,N*-diméthylformamide, 3 h); $[\alpha]_D^{20} + 72^\circ$ (c 7, *N,N*-diméthylformamide + un cristal d'acétate d'hydrazine, 1 min); $[\alpha]_D^{20} + 81^\circ$ (c 1,9, chloroforme + une goutte d'acide trifluoroacétique, 1 min). Les deux produits bruts fournissent par réacétylation (pyridine-anhydride acétique, 5:3, v/v; 12 h à 0°) des mélanges identiques contenant, à côté d'impuretés mineures (c.c.m.), les pentaacétates anomères dans le rapport α à β de $\sim 2:1$ (polarimétrie, r.m.n.).

2,3,4-Tri-O-acétyl- α -D-xylopyranose. — Le sirop final (81%) obtenu à partir du 1,2,3,4-tétra-*O*-acétyl- β -D-xylopyranose est solubilisé dans le minimum d'éther éthylique; l'anomère α du triacétate cristallise très lentement (45%) : p.f. inst. 160° , $[\alpha]_D^{20} + 94^\circ \rightarrow +64^\circ$ (c 1, pyridine, 24 h) et $[\alpha]_D^{20} + 67^\circ$ (c 1,25, chloroforme) $\rightarrow +33,5^\circ$ (chloroforme + trace d'acide trifluoroacétique); litt.¹⁰ : p.f. inst. 155° , $[\alpha]_D^{20} + 71,1^\circ$ (chloroforme). La réacétylation (pyridine-anhydride acétique) fournit, par évaporation des réactifs, 100% (d'après la r.m.n.) de 1,2,3,4-tétra-*O*-acétyl- α -D-xylopyranose brut, p.f. $62-63^\circ$, $[\alpha]_D^{20} + 88^\circ$ (c 1, chloroforme) après cristallisation dans l'éthanol; litt.¹¹ : p.f. 59° , $[\alpha]_D^{20} + 89,3^\circ$ (chloroforme).

2,3,6-Tri-O-acétyl-4-O-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl- β -D-glucopyranosyl)- α -D-glucopyranose. — À partir de l'octa-*O*-acétyl- α -cellobiose, on obtient 96% d'un solide de p.f. inst. 208° , $[\alpha]_D^{20} + 21,5^\circ$. Une cristallisation dans l'éthanol fournit l'anomère α de l'heptaacétate pur (83%), p.f. inst. $208-210^\circ$, $[\alpha]_D^{20} + 34,5^\circ \rightarrow +22,5^\circ$ (c 1, pyridine, 24 h); litt.³ : p.f. 209° , $[\alpha]_D^{22} + 33,4^\circ \rightarrow +23^\circ$ (pyridine). La réacétylation donne uniquement l'anomère α de l'octaacétate.

2,3,4-Tri-O-acétyl-6-O-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl- β -D-glucopyranosyl)-D-glucopyranose. — Le produit brut solide obtenu (94%) à partir de l'octa-*O*-acétyl- β -gentiobiose est cristallisé dans l'éthanol, donnant 80% d'heptaacétate, p.f. inst. $178-179^\circ$, $[\alpha]_D^{20} + 34,5^\circ \rightarrow +32^\circ$ (c 1, pyridine, 24 h); litt.¹² : p.f. $175-177^\circ$, $[\alpha]_D^{28} + 34,7^\circ$ (pyridine, pas de mutarotation), pour un mélange des anomères α et β (3:1), proportion calculée d'après le pouvoir rotatoire. En r.m.n. à 100 MHz, l'existence des deux anomères se manifeste par la présence de deux doublets très légèrement décalés à 4,57 p.p.m. (dans une région où ne résonne aucun autre proton), correspondant aux protons 1' portés par les carbones de jonction glycosidique ($J_{1,2}$, 7,5 Hz).

La réacétylation fournit un mélange des octaacétates anomères dans un rapport α à β de $\sim 2:1$ (déterminé sur le proton anomère du cycle réducteur). Par cristallisation fractionnée dans l'éthanol, on peut isoler l'octa-*O*-acétyl- α -gentiobiose pur (50%), p.f. 191° , $[\alpha]_D^{20} + 51^\circ$ (c 1, chloroforme); litt.¹³ : p.f. $191-192^\circ$, $[\alpha]_D^{20} + 51,6^\circ$ (chloroforme).

2,3,6-Tri-O-acétyl-4-O-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl- α -D-glucopyranosyl)-D-glucopyranose. — Le produit brut obtenu (90%) à partir de l'octa-*O*-acétyl- β -maltose fournit dans l'éthanol 80% d'un solide, p.f. inst. 191° , $[\alpha]_D^{20} + 73,5^\circ \rightarrow +112^\circ$ (c 1, pyridine, 24 h); $[\alpha]_D^{20} + 77^\circ$ (c 1, chloroforme) $\rightarrow +108^\circ$ (chloroforme + trace d'acide trifluoroacétique); litt.³ : p.f. 188° , $[\alpha]_D^{22} + 84^\circ \rightarrow +114^\circ$ (pyridine); litt.¹⁴ : après 16 recristallisations, p.f. 181° , $[\alpha]_D + 67,8^\circ \rightarrow 110^\circ$ (chloroforme, 5 semaines). L'existence des deux anomères est démontrée en r.m.n. à 100 MHz par la présence, à l'extrémité vers les champs faibles du spectre (5,6 p.p.m.), d'un triplet (doublet de doublet, avec

deux J voisins, 9,5 Hz) dont l'intensité augmente par équilibration avec une goutte d'acide trifluoroacétique; ce triplet doit probablement être attribué au proton H-3 de l'anomère α , déblindé par interaction 1,3-diaxiale¹⁵ avec l'oxygène O-1. Pour la même raison, il y a diminution de l'intensité du multiplet complexe situé à l'extrémité vers les champs forts (3,8 p.p.m.) des protons du cycle (vraisemblablement H-5 de l'anomère β). Par réacétylation, on obtient un mélange des octaacétates dans le rapport β à α de $\sim 7:2$. Rowell et Feather³ ont isolé 66% de l'anomère β de l'octaacétate, mais ne précisent pas la composition des liqueurs de cristallisation.

Polymères succinylés. — (a) *Polystyrène réticulé par 2% de divinylbenzène.* Un polystyrène commercial (Fluka, réf. 27821, 200–400 mesh) a été purifié selon Merrifield¹⁶, et succinylé par la méthode de Ogilvie et Kroeker⁸, avec de légères modifications dans la durée et la température de réaction: l'anhydride succinique (0,8 g) est ajouté lentement à une suspension du copolymère (2 g) dans une solution de chlorure d'aluminium (2,13 g) dans le nitrobenzène (25 ml); le mélange est agité pendant 12 h à 0°, puis chauffé progressivement à 40° et maintenu une nuit à cette température. Le traitement est poursuivi comme décrit⁸. Le polymère obtenu contient 2,2 milliéqu. d'acide par g.

(b) *Polystyrène « popcorn ».* La réaction précédente, effectuée dans des conditions identiques sur un polystyrène « popcorn » préparé selon Letsinger¹⁷ fournit un support contenant 1,35 milliéqu. d'acide par g.

Réaction du bromure de 2,3,6-tri-O-acétyl-4-O-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl- β -D-glucopyranosyl)- α -D-glucopyranosyle avec les polymères succinylés. — (a) *Polymère réticulé par 2% de divinylbenzène.* Le polymère (1 g, 2,3 milliéqu. d'acide par g) est suspendu dans un mélange de benzène (14 ml) et de 2,4,6-triméthylpyridine (1 ml); la suspension est traitée par le bromure de cellobiosyle peracétylé (2,42 g, 3,45 mmol) et le bromure de tétrabutylammonium (0,37 g, 1,15 mmol), et agitée pendant 24 h à 50°. Le polymère est filtré, lavé successivement par le benzène, une solution diluée d'acide chloroacétique dans le chloroforme, le chloroforme pur et l'éther éthylique. L'augmentation de poids (0,44 g) correspond à 0,71 mmol de cellobiose par g de polymère initial. Le polymère obtenu est traité à nouveau dans les conditions précédentes, mais pendant deux jours. Le polymère final (1) (1,74 g) contient 1,2 mmol de cellobiose par g de polymère initial.

(b) *Polymère « popcorn ».* Ce polymère (1 g, 1,35 milliéqu. d'acide par g) est traité dans les conditions précédentes; la première variation de poids correspond à l'estérification de 10% des fonctions carboxyliques, l'augmentation finale à un taux de 16%.

2,3,6-Tri-O-acétyl-4-O-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl- β -D-glucopyranosyl)- α -D-glucopyranose à partir du polymère 1. — Le polymère 1 (1,74 g, contenant 1,2 mmol de cellobiose) est suspendu dans le *N,N*-diméthylformamide (9 ml) à 50°; on ajoute l'acétate d'hydrazine (0,135 g, 1,47 mmol). Après 5 min à 50° puis 10 min à température ambiante, la suspension est filtrée sur 20 ml d'acétate d'éthyle; le polymère est lavé par 2 \times 15 ml du même solvant. Les solutions réunies sont lavées 3 fois par des solutions aqueuses de chlorure de sodium, séchées sur sulfate de calcium, et évaporées;

le résidu (0,695 g) cristallise dans l'éthanol fournissant le 2,3,6-tri-*O*-acétyl-4-*O*-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranosyl)- α -D-glucopyranose (0,625 g, 81,5% par rapport à 1), p.f. inst. 210°.

RÉFÉRENCES

- 1 G. EXCOFFIER, D. GAGNAIRE, J.-P. UTILLE ET M. VIGNON, *Tetrahedron*, sous presse.
- 2 N. BELORIZKY, G. EXCOFFIER, D. GAGNAIRE, J.-P. UTILLE, M. VIGNON ET P. VOTTERO, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, (1972) 4749-4753.
- 3 R. M. ROWELL ET M. S. FEATHER, *Carbohydr. Res.*, 4 (1967) 486-491.
- 4 J. M. FRÉCHET ET C. SCHUERCH, *Carbohydr. Res.*, 22 (1972) 399-412.
- 5 P. J. PFÄFFLI, S. H. HIXSON ET L. ANDERSON, *Carbohydr. Res.*, 23 (1972) 195-206.
- 6 U. ZEHAVID ET A. PATCHORNIK, *J. Amer. Chem. Soc.*, 95 (1973) 5673-5677.
- 7 G. EXCOFFIER, D. GAGNAIRE, J.-P. UTILLE ET M. VIGNON, *Tetrahedron Lett.*, (1972) 5065-5068.
- 8 K. K. OGILVIE ET K. KROEGER, *Can. J. Chem.*, 50 (1972) 1211-1215.
- 9 G. EXCOFFIER, Thèse d'État, Grenoble, sept. 1974.
- 10 B. HELFERICH ET W. OST, *Chem. Ber.*, 95 (1962) 2616-2622.
- 11 C. S. HUDSON ET J. M. JOHNSON, *J. Amer. Chem. Soc.*, 37 (1915) 2748-2753.
- 12 A. THOMPSON ET M. L. WOLFROM, *J. Amer. Chem. Soc.*, 73 (1951) 2966-2967.
- 13 D. D. REYNOLDS ET W. L. EVANS, *J. Amer. Chem. Soc.*, 60 (1938) 2559-2561.
- 14 C. S. HUDSON ET R. SAYRE, *J. Amer. Chem. Soc.*, 38 (1916) 1867-1873.
- 15 R. U. LEMIEUX ET J. D. STEVENS, *Can. J. Chem.*, 43 (1965) 2059-2070.
- 16 R. B. MERRIFIELD, *J. Amer. Chem. Soc.*, 85 (1963) 2149-2154.
- 17 R. L. LETSINGER, M. J. KORNET, V. MAHADEVAN ET D. M. JERINA, *J. Amer. Chem. Soc.*, 86 (1964) 5163-5165.