

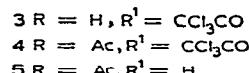
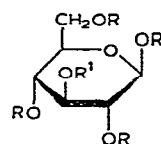
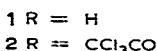
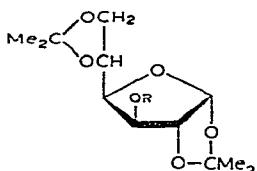
Synthèse du nigérose et du laminarabiose sur

Gérard ESCRICHÉ, Daniel V. COUDREAU et Monique B. VIGNON
Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales, C.N.R.S.
38041 Grenoble (France)

(Reçu le 5 mai 1976; accepté le 14 juin 1976)

Ce travail s'inscrit dans le cadre de l'étude des polymère support insoluble. En ce qui concerne le glucose, nous avons précédemment comparé¹ la stéréos catalysée par sels mercuriques, sur support à celle et méthodes fournissent des résultats très voisins, aussi l'agent glycosylant est acétoxylée que lorsqu'elle porte participant.

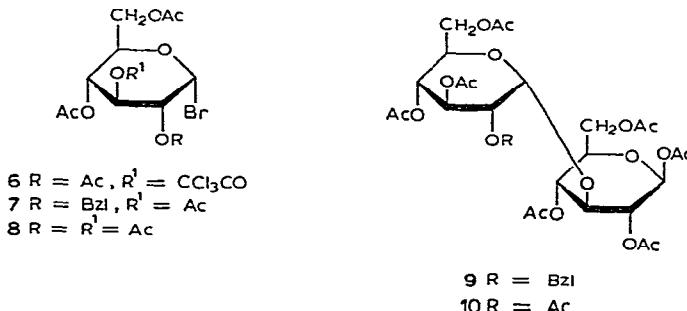
Pour tester la réactivité d'un groupe hydroxyle semblables, nous avons choisi la position 3 d'un résidu carbone anomère; la réaction a d'abord été examinée monomère substitué de façon très voisine, le 1,2 pyranose (5). La synthèse de 5 est réalisée à partir du α -D-glucofuranose (1): la trichloroacétylation de 1 fournit sont hydrolysés par le mélange acide trifluoroacétique-acétylé dans des conditions qui préservent la configuration anomère; le groupe trichloroacétyle de 4 est enfin dans le mélange méthanol-pyridine en solution dans le chloroform (49 % à partir de 1) est comparable à celui que l'on peut



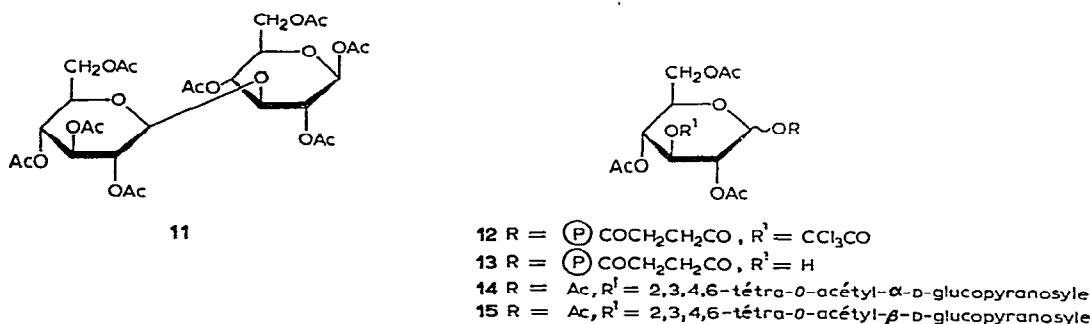
*Synthèse d'oligosaccharides sur polymère support. VIII. Pour la faire partie de la thèse de M. R. Vignon inventoriée au C.N.R.S. soi-

la méthode classique³, dans laquelle la protection temporaire de la position 3 est réalisée par un groupe benzyle; d'autre part, le bromure **6** est aisément préparé à partir de **4**, et fournit une possibilité d'allongement ultérieur de la chaîne.

Le tétraacétate **5** a été condensé avec le bromure de 3,4,6-tri-*O*-acétyl-2-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyle (**7**) en présence de cyanure mercurique dans le 1,2-dichloroéthane, et la fraction disaccharidique du mélange brut séparée par chromatographie sur couche préparative; dans les limites analytiques de la r.m.n. du proton à 250 MHz, on peut estimer que la réaction est stéréospécifique, et conduit exclusivement au dérivé **9** du 3-*O*- α -D-glucopyranosyl-D-glucose (nigérose); la débenzylation, puis l'acétylation de O-2' permettent d'obtenir aisément l'octaacétate **10**. Une synthèse très satisfaisante du nigérose a été effectuée récemment⁴ par condensation du chlorure de 3,4,6-tri-*O*-acétyl-2-*O*-benzyl- β -D-glucopyranosyle sur le tétraacétate **5**, en présence de perchlorate d'argent et de 2,4,6-triméthylpyridine; toutefois, les auteurs ne donnent pas de précisions sur la présence éventuelle de l'anomère β (laminarabiose) dans le mélange réactionnel.



Une réaction du même type a été mise en œuvre sur le polymère **13**; celui-ci est obtenu par condensation du bromure **6** et d'un polystyrène succinylé, puis traitement du polymère **12** intermédiaire avec un mélange pyridine-méthanol, enfin estérification des fonctions acides résiduelles par le diazométhane⁵. Après glycosylation de **13** par un excès de bromure **7**, la liaison d'ancre est coupée par l'acétate d'hydrazine dans le *N,N*-diméthylformamide, et le mélange glucidique acétyle. La c.c.m. présente deux



taches: l'une, correspondant aux deux anomères du 1,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-2-*O*-benzyl-*D*-glucopyranose, résulte d'une transestérification de **13** par le bromure **7**; la tache principale correspond à un mélange, qui est isolé par chromatographie sur couche préparative, débenzylé et acétylé; d'après la r.m.n., il est composé uniquement des deux octaacétates du nigérose (**14**), dans un rapport α à β voisin de 4:1.

La condensation du bromure de 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- α -*D*-glucopyranosyle (**8**) sur **5** en présence de cyanure mercurique est connue⁶ pour n'être pas stéréospécifique. Dans le 1,2-dichloroéthane, cette réaction conduit effectivement à un mélange des octaacétates du β -nigérose et du β -laminarabiose (**10 + 11**) dans le rapport 9:11; ces proportions sont déterminées par r.m.n. après séparation chromatographique de la fraction disaccharidique sur couche préparative.

Dans une expérience parallèle, un essai de fractionnement sur colonne de silice conduit à un résultat différent, puisque le rapport en produits cristallisés **10** à **11** est cette fois 31:19; cette apparente incohérence reflète en réalité une tendance plus ou moins marquée à la cristallisation.

La glycosylation de **5** par le bromure trichloroacétylé **6** fournit un mélange des disaccharides **10** et **11** dans le rapport 61:39, déterminé par r.m.n. après élimination des groupes trichloroacétyles, acétylation et chromatographie sur couche préparative; ce résultat contraste avec la faible différence observée lorsque le groupe trichloroacétyle est substitué en O-6 du *D*-glucose¹.

Aux fins de comparaison avec la glycosylation de **5**, le polymère **13** a été condensé avec le bromure de 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- α -*D*-glucopyranosyle; après coupure des liaisons d'ancre par l'acétate d'hydrazine, acétylation et séparation de l'ensemble des disaccharides sur couche préparative, le dosage par r.m.n. de (**14 + 15**) indique un rapport nigérose à laminarabiose égal à 11:14.

Ainsi, il apparaît, d'après l'ensemble des résultats décrits ici et lors de travaux précédents¹, que la stéréodirectivité de la glycosylation en présence de sels mercuriques n'est pas affectée par l'immobilisation de l'alcool sur un support insoluble.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Méthodes générales. — Les points de fusion, non corrigés ont été mesurés sur appareil Büchi-Tottoli. Les pouvoirs rotatoires ont été déterminés à l'aide d'un polarimètre « Quick » Roussel-Jouan. Les spectres r.m.n. (dans le chloroforme-*d*, avec Me₄Si comme référence interne) ont été enregistrés sur appareil Cameca 250; l'analyse des spectres a été réalisée à l'aide des techniques de double résonance et de double résonance internucléaire (« Indor »). Les chromatographies sur couches minces (c.c.m.) ont été effectuées sur plaques finies de Kieselgel F₂₅₄ (Merck, Darmstadt, Allemagne), d'épaisseur 0,25 mm pour la c.c. préparative, élues par benzène-acétone (3:1). Les spectres i.r. ont été enregistrés à l'aide d'un appareil Perkin-Elmer 237, à des concentrations de 10% environ dans KBr. Les analyses ont été effectuées par le Service Central de Microanalyse du C.N.R.S.

1,2:5,6-Di-O-isopropylidène-3-O-trichloroacétyl- α -D-glucofuranose (2). — L'esté-

rification du 1,2:5,6-di-*O*-isopropylidène- α -D-glucofuranose (**1**, 20 g, 77 mmol) par le chlorure de trichloroacyle (13,6 ml, 120 mmol), en solution dans benzène-pyridine (10:1, v/v; 250 ml) est conduite selon la méthode de Stevens et Blumbergs⁷. Le composé **2** est cristallisé dans l'éthanol (28 g, 90 %), p.f. 77°, $[\alpha]_D^{20} - 24^\circ$ (*c* 1, chloroforme).

Anal. Calc. pour $C_{14}H_{19}Cl_3O_7$: C, 41,45; H, 4,72; Cl, 26,21; O, 27,60. Trouvé: C, 41,49; H, 4,70; Cl, 26,22; O, 27,82.

3-O-Trichloroacetyl- β -D-glucopyranose (**3**). — Le composé **2** (22,5 g, 55,5 mmol) est dissous dans un mélange acide trifluoroacétique-eau (9:1, v/v; 200 ml)⁸; après 15 min d'agitation, le solvant est évaporé sous vide. L'acide trifluoroacétique est complètement éliminé par entraînement avec de l'acétate d'éthyle, jusqu'à prise en masse du résidu d'évaporation. Une cristallisation dans l'acétate d'éthyle fournit **3**, p.f. 135°, $[\alpha]_D^{20} + 18^\circ$ (*c* 1, H_2O , 5 min) → + 23° (1 jour).

Anal. Calc. pour $C_8H_{11}Cl_3O_7$: C, 29,52; H, 3,41; Cl, 32,67; O, 34,40. Trouvé: C, 29,79; H, 3,51; Cl, 32,73; O, 34,41.

1,2,4,6-Tétr-O-acétyl-3-O-trichloroacetyl- β -D-glucopyranose (**4**). — À une suspension de **3** dans le benzène (200 ml), refroidie à 0°, on ajoute de l'anhydride acétique (25 ml) et de la pyridine (25 ml). Après réchauffement lent, on agite pendant 12 h à température ambiante. Un traitement conventionnel fournit **4**, qui cristallise dans l'éthanol (7,88 g, 80 %), p.f. 164°, $[\alpha]_D^{20} + 6^\circ$ (*c* 1, chloroforme).

Anal. Calc. pour $C_{16}H_{19}Cl_3O_{11}$: C, 38,93; H, 3,88; Cl, 21,54; O, 35,65. Trouvé: C, 39,19; H, 3,94; Cl, 21,76; O, 35,67.

1,2,4,6-Tétr-O-acétyl- β -D-glucopyranose (**5**). — Une solution de **4** (3 g, 6,25 mmol) dans un mélange anhydre dichlorométhane-pyridine-méthanol (10:1:1, v/v; 36 ml) est agitée pendant 2 h à température ambiante. Les solvants sont éliminés par évaporation sous vide, puis entraînement avec du toluène. Le résidu est cristallisé dans chloroforme-éther éthylique, donnant **5** (1,98 g, 91 %), p.f. 128°, $[\alpha]_D^{20} - 11^\circ$ (*c* 1, chloroforme); litt.²: p.f. 126-127°, $[\alpha]_D^{18} - 13,6^\circ$ (*c* 2,5, chloroforme).

Bromure de 2,4,6-tri-O-acétyl-3-O-trichloroacetyl- α -D-glucopyranosyle (**6**). — Le composé **4** (6 g, 12 mmol) dissous dans le chloroforme (15 ml) est traité par une solution à 40 % de HBr dans l'acide acétique (18 ml), pendant 3 h à 0°, puis 2 h à 20°. Après dilution par du chloroforme, les acides sont éliminés par plusieurs lavages de la solution organique avec de l'eau glacée, et finalement par entraînement avec du toluène. Le résidu est cristallisé dans éther éthylique-éther de pétrole, donnant **6** (3,9 g, 63 %), p.f. 84°, $[\alpha]_D^{20} + 180^\circ$ (*c* 1, chloroforme).

Anal. Calc. pour $C_{14}H_{16}BrCl_3O_9$: C, 32,68; H, 3,13; Br, 15,53; Cl, 20,67. Trouvé: C, 32,67; H, 3,18; Br, 15,41; Cl, 20,48.

1,2,4,6-Tétr-O-acétyl-3-O-(3,4,6-tri-O-acétyl-2-O-benzyl- α -D-glucopyranosyl)- β -D-glucopyranose (**9**). — Un mélange de **5** (174 mg, 0,5 mmol), $HgBr_2$ (10 mg) et $Hg(CN)_2$ (90 mg) dans le 1,2-dichloroéthane (3 ml) est traité par le bromure⁹ **7** (175 mg, 0,38 mmol); après 15 h d'agitation à 32°, on effectue une nouvelle addition de **7** (175 mg), et on continue l'agitation pendant 24 h. La solution, diluée par du chloroforme, est lavée 3 fois par une solution aqueuse de KBr, 2 fois par de l'eau, et

évaporée. Le résidu est chromatographié sur couche épaisse. Le produit sirupeux obtenu (196 mg, 54%) présente une seule tache en c.c.m.; son spectre de r.m.n. correspond à ce qu'on peut attendre du composé **9** pur.

1,2,4,6-Tétra-O-acétyl-3-O-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl- α -D-glucopyranosyl)- β -D-glucopyranose **10** (β -nigérose octaacétate). — Le composé **9** est hydrogéné dans l'éthanol à 90%, sous une pression de 3 atm environ, en présence de palladium sur charbon à 10% (100 mg). Après 24 h d'agitation à température ambiante, la suspension est filtrée et la solution concentrée sous vide. Le sirop obtenu, ne cristallisant pas, est acétylé (anhydride acétique-pyridine, 12 h); le β -nigérose octaacétate est cristallisé dans l'éther éthylique (141 mg, 85%), p.f. 151°, $[\alpha]_D^{20} + 74^\circ$ (*c* 1, chloroforme); r.m.n. (250 MHz, chloroforme-*d*): δ 5,64 (d, $J_{1,2}$ 8,5 Hz, H-1), 5,33 (t, $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 10$ Hz, H-3'), 5,25 (d, $J_{1',2'} = 3,5$ Hz, H-1'), 5,23 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9,5$ Hz, H-4), 5,18 (q, $J_{2,3} = 9,5$ Hz, H-2), 5,07 (t, $J_{3',4'} = J_{4',5'} = 10$ Hz, H-4'), 4,79 (q, $J_{2',3'} = 10$ Hz, H-2'), 4,26 (q, $J_{5,6a} = 4,5$ Hz, $J_{6a,6b} = 12$ Hz, H-6a), 4,22 (q, $J_{5',6'a} = 3,75$ Hz, $J_{6'a,6'b} = 12$ Hz, H-6'a), 4 à 4,17 (massif de m, 3 H, H-6b, H-5' et H-6'b), 3,93 (t, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9,5$ Hz, H-3), 3,75 (oct, $J_{5,6b} = 2,5$ Hz, H-5); litt.⁶: p.f. 150°, $[\alpha]_D^{24} + 79,4^\circ$ (*c* 2,1, chloroforme).

Condensation de 5. — (A) *Avec le bromure 8.* Le composé **5** (0,35 g, 1 mmol), en solution dans le 1,2-dichloroéthane (5 ml), est condensé en présence de $Hg(CN)_2$ (375 mg, 1,5 mmol) et de $HgBr_2$ (10 mg) avec le bromure de 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- α -D-glucopyranosyle (**8**) (0,62 g, 1,5 mmol, dont la moitié à l'instant initial, et le reste au bout de 24 h) pendant 48 h à 30°. Les sels mercuriques sont ensuite éliminés selon le procédé habituel.

(a) Le produit brut est chromatographié sur silice (60 g); des mélanges benzène-éther éthylique de polarité croissante éluent successivement: les deux anomères du 1,2,3,4,6-penta-*O*-acétyl-D-glucopyranose dans le rapport β à $\alpha \approx 2:1$ (85 mg), le 3,4,6-tri-*O*-acétyl-1,2-*O*-(1-cyanoéthylidène)- α -D-glucopyranose¹⁰ (55 mg); le β -nigérose octaacétate (**10**), recristallisé dans l'éthanol (187 mg, 27%); le 1,2,4,6-tétra-*O*-acétyl-3-*O*-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranosyl)- β -D-glucopyranose (**11**) (β -laminarabiose octaacétate), contaminé par **10**; une cristallisation dans un mélange chloroforme-éther éthylique fournit **11** chromatographiquement pur (115 mg, 17%), p.f. 161, $[\alpha]_D^{20} - 22^\circ$; r.m.n.: (250 MHz, chloroforme-*d*): δ 5,64 (d, $J_{1,2} = 8,5$ Hz, H-1), 5,16 (t, $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 10$ Hz, H-3'), 5,14 (q, $J_{2,3} = 9,5$ Hz, H-2), 5,08 (t, $J_{3',4'} = J_{4',5'} = 10$ Hz, H-4'), 5,04 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9,5$ Hz, H-4), 4,92 (q, $J_{2',3'} = 10$ Hz, H-2'), 4,62 (d, $J_{1',2'} = 8$ Hz, H-1'), 4,42 (q, $J_{5,6a} = 4,5$ Hz, $J_{6a,6b} = 12,5$ Hz, H-6'a), 4,25 (q, $J_{5,6a} = 4,5$ Hz, $J_{6a,6b} = 12,5$ Hz, H-6a), 4,14 (q, $J_{5,6b} = 2$ Hz, H-6b), 4,06 (q, $J_{5',6'b} = 2$ Hz, H-6'b), 3,96 (t, H-3), 3,81 (oct, H-5), 3,71 (oct, H-5'); litt.⁶: p.f. 160°, $[\alpha]_D^{24} - 29,3^\circ$ (*c* 3, chloroforme).

(b) Dans une expérience parallèle, le mélange brut est chromatographié sur couche épaisse; la bande correspondant à l'ensemble des disaccharides **10** et **11** est séparée; la détermination des proportions relatives du proton H-1' de **11** et du proton H-2' de **10** fournit le rapport laminarabiose à nigérose 11:9.

(B) *Avec le bromure 6.* La réaction est effectuée dans les mêmes conditions et

sur les mêmes quantités molaires que décrit dans la méthode A. Le produit brut débarrassé des sels mercuriques est traité par un mélange dichlorométhane-pyridine-méthanol (10:1:1, v/v, 12 ml, 2 h à 20°) pour éliminer les groupes trichloroacétyles, et les positions ainsi libérées sont acétylées (pyridine-anhydride acétique, 1:1, v/v, 4 ml, 12 h à 20°). Le mélange brut obtenu est enfin chromatographié sur couche épaisse pour séparer la fraction disaccharidique (390 mg, 57,5%). L'examen du spectre r.m.n. donne le rapport laminarabiose à nigérose 39:61.

2,4,6-Tri-O-acétyl-3-O-trichloroacétyl-1-O-[(4-oxo-4-polystyryl)butyryl]-D-glucopyranose (12). — À une suspension de copolymère styrène-2% divinylbenzène succinylé¹¹ (4 g, 8,8 meq. d'acide) dans un mélange d'acétonitrile (20 ml) et de 2,4,6-triméthylpyridine (2 ml) sont ajoutés du bromure de tétrabutylammonium (1,29 g, 4 mmol) et du bromure 6 (2,58 g, 5 mmol). Le mélange, périodiquement agité, est maintenu à 50° pendant 14 h; le polymère est alors essoré puis lavé successivement par l'acétonitrile, le benzène, une solution diluée d'acide monochloroacétique dans le chloroforme et de l'éther éthylique. Après séchage complet, l'augmentation de poids (1,29 g) correspond à l'ancrage de 0,744 mmol de D-glucose/g de polymère initial.

2,4,6-Tri-O-acétyl-1-O-[(4-oxo-4-polystyryl)butyryl]-D-glucopyranose (13). — Le polymère 12 (5,29 g) est traité par un mélange de méthanol (3 ml) et de pyridine (3 ml) dans le chloroforme (30 ml), pendant 3 h à température ambiante, puis essoré et lavé comme décrit ci-dessus. Après un bref séchage, le polymère est suspendu dans le dichlorométhane, et traité par une solution de diazométhane (environ 1,5 fois la quantité théorique) dans le dichlorométhane, pendant 4 min à température ambiante. Après essorage, lavage et séchage, on obtient 4,925 g de polymère 13; la variation de poids confirme la valeur obtenue précédemment pour le taux d'ancrage.

Condensation de 13. — (A) *Avec le bromure 8.* Le polymère 13 (1,757 g, 1,06 mmol de D-glucose) en suspension dans le 1,2-dichloroéthane est traité par 8 (0,617 g, 1,5 mmol) ajouté en deux parts égales à 24 h d'intervalle, en présence de Hg(CN)₂ (0,38 g, 1,5 mmol) et de HgBr₂ (15 mg). Après 48 h à 30°, avec agitation intermittente, le polymère est essoré, lavé (benzène, chloroforme, méthanol, éther) et brièvement séché sous vide. Le traitement précédent est répété deux fois. Le polymère sec (2,075 g) est suspendu dans 8 ml de N,N-diméthylformamide, et traité deux fois par l'acétate d'hydrazine (184 mg, 2 mmol) dans les conditions précédemment décrites¹. Après évaporation des solvants, la partie glucidique (0,535 g) est acétylée (pyridine-anhydride acétique, 1:1, v/v, 4 ml, 12 h à 20°). Le résidu obtenu (0,57 g) par évaporation des réactifs est chromatographié sur couche épaisse; la fraction disaccharidique (14+15) (0,44 g, environ 61 % à partir de 13) contient, d'après le spectre de r.m.n., 44 % de nigérose et 56 % de laminarabiose, tous deux sous forme du mélange des octaacétates α (environ 85 % pour l'ensemble des deux) et β .

(B) *Avec le bromure 7.* La condensation, la rupture des liaisons d'ancrage et l'acétylation sont réalisées dans les mêmes conditions et sur les mêmes quantités molaires que décrit ci-dessus; le mélange obtenu (0,67 g) est chromatographié sur couche épaisse; la partie disaccharidique (445 mg) est débenzylée selon la méthode

habituelle, et le groupe hydroxyle libéré est acétylé. L'examen par r.m.n. montre que le produit final (395 mg, 55 % par rapport à 13) contient uniquement les octaacétates α et β du nigérose, dans le rapport 81:19.

REMERCIEMENT

Les auteurs remercient le Laboratoire Grenoblois de Résonance Magnétique Nucléaire de Haute Résolution qui leur a donné accès au spectromètre Cameca.

RÉFÉRENCES

- 1 G. EXCOFFIER, D. Y. GAGNAIRE ET M. R. VIGNON, *Carbohydr. Res.*, 46 (1976) 201-213; 215-226.
- 2 B. H. KOEPPEN, *Carbohydr. Res.*, 24 (1972) 154-158.
- 3 K. FREUDENBERG ET E. PLANKENHORN, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, 536 (1938) 257-266.
- 4 K. IGARASHI, J. IRISAWA ET T. HONMA, *Carbohydr. Res.*, 39 (1975) 341-343.
- 5 G. EXCOFFIER, D. Y. GAGNAIRE ET J. P. UTILLE, *Carbohydr. Res.*, 39 (1975) 368-373.
- 6 K. MATSUDA, *Chem. Ind. (London)*, (1958) 1627.
- 7 C. L. STEVENS ET P. BLUMBERGS, *J. Org. Chem.*, 30 (1965) 2723-2728.
- 8 J. E. CHRISTENSEN ET L. GOODMAN, *Carbohydr. Res.*, 7 (1968) 510-512.
- 9 S. BRENNAN ET P. A. FINAN, *J. Chem. Soc. C*, (1970) 1742-1744.
- 10 B. COXON ET H. G. FLETCHER, JR., *J. Am. Chem. Soc.*, 85 (1963) 2637-2642.
- 11 K. K. OGILVIE ET K. KROEKER, *Can. J. Chem.*, 50 (1972) 1211-1215.