

SYNTHÈSE ET ÉTUDE R M N DE DISACCHARIDES ET TRISACCHARIDES DANS LA SÉRIE DU L-RHAMNOSE*

COLETTE LAFFITE

Équipe de recherches associee du C N R S (N° 610)

ANNE-MARIE NGUYEN PHUOC DU, FRANÇOIS WINTERNITZ, RENEE WYLDE†

Équipe de recherches du C N R S (N° 195), École Nationale Supérieure de Chimie, 8 rue de l'École Normale 34075 Montpellier (France)

ET FLORE PRATVIEL-SOSA

Laboratoire de Chimie biologique, Faculte de Pharmacie 4, Avenue de l'Observatoire, 75006 Paris (France)

(Reçu le 18 mai 1977 accepté après modification le 30 novembre 1977)

ABSTRACT

Various di- and tri-saccharides containing L-rhamnose were synthesized by condensation of 2,3,4-tri-*O*-acetyl- or 2,3,4-tri-*O*-benzoyl- α -L-rhamnopyranosyl bromide with an unblocked glycopyranoside. The determination of the anomeric configuration of L-rhamnose saccharides by n m r is difficult because structure has a greater effect on the spectra than does configuration. The α and β configurations and the position of the substitution may be assigned from the chemical shifts of H-5 and CH₃. In all the compounds having a β configuration, a shielding of the methyl group and a deshielding of the H-5 proton have been observed as compared to the compounds having an α configuration. The H-5 proton and the methyl group of per-acetylated, (1 \rightarrow 3)-linked α -L derivatives always resonate at higher fields than the corresponding protons of (1 \rightarrow 6)-linked α -L derivatives.

SOMMAIRE

La synthèse de plusieurs di- et tri-saccharides dans la série du L-rhamnose a été réalisée par condensation du bromure de 2,3,4-tri-*O*-acétyl- ou 2,3,4-tri-*O*-benzoyl- α -L-rhamnopyranosyle avec un glycopyranoside non bloqué. L'étude en r m n du proton des différents mono-, di- et tri-saccharides obtenus au cours de ces synthèses a permis de confirmer la difficulté d'attribution de la configuration osidique dans cette série par la valeur du proton anomère, celle-ci étant plus sensible à la substitution.

*Présenté au 6^e « Symposium of N M R Spectroscopy », Banff, Canada, 20 Mai 1977

†Auteur auquel doit être adressée la correspondance concernant cet article

qu'a la configuration La valeur du déplacement chimique du proton H-5 et du groupement méthyle peut servir à préciser la configuration et la position de la substitution Dans tous les composés de configuration β , on a observé un déblindage du groupement méthyle et un blindage du proton H-5 par rapport aux composés de configuration α Le proton H-5 et le groupement méthyle dans les dérivés peracétylés des composés α -L-(1 \rightarrow 3) résonnent toujours à un champ plus fort que les mêmes protons dans les composés α -L-(1 \rightarrow 6)

INTRODUCTION

L'identification des rhamnobioses présente un intérêt considérable en raison de la fréquence du 6-déoxy-L-mannose dans de nombreuses familles végétales et dans les constituants chimiques des capsules bactériennes gram-négatives C'est ainsi qu'ont pu être mises en évidence des unités de rhamnobiose dans la capsule de *Klebsiella*¹⁻⁴ et dans les lipopolysaccharides de diverses *Salmonella*⁵⁻⁸, pour lesquelles les sites immunologiques ont pu être définis L'obtention d'échantillons de structure précise dans l'enchaînement et la configuration permet de déterminer sans ambiguïté la constitution glycosidique des capsules tandis que leurs réactions sérologiques de précipitation et d'inhibition situent la position du fragment rhamnosidique dans le polysaccharide et son importance immunologique

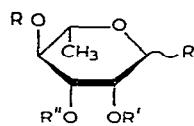
Dans un précédent travail⁹, concernant l'activité β -D-glucosidase chez certains *Rhamnus* et l'isolement d'un trisaccharide nouveau, nous avons noté les difficultés rencontrées dans l'attribution de la structure par la RMN dans la série du L-rhamnose L'ensemble des méthodes chimiques et physico-chimiques permettait cependant de l'identifier comme étant le *O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-D-galactopyranose Mais la différence des valeurs des déplacements chimiques des protons des deux unités de rhamnose faisant partie de ce trisaccharide permettait de mettre en doute la configuration α -L des deux liaisons glycosidiques Pour cette raison il nous a paru essentiel de synthétiser les deux disaccharides le *O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-L-rhamnose et le *O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-D-galactose ainsi que le trisaccharide lui-même

Au cours de ce travail plusieurs monosaccharides de configuration α et β ont été isolés leur étude RMN comparée avec les di- et tri-saccharides permet de confirmer la nature des liaisons osidiques et leurs configurations

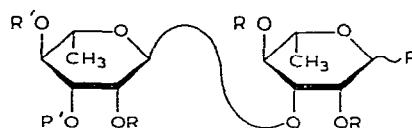
RESULTATS ET DISCUSSION

Synthèse — La synthèse des composés 7 et 13 a été réalisée en mettant à profit la différence de réactivité des groupements hydroxyles d'un glycoside Dans le cas du L-rhamnose il a été montré^{10 11} que OH-3 était le plus réactif, alors que dans le cas du D glucose, la vitesse d'etherification de l'alcool primaire est la plus élevée

Ainsi, le *O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-L-rhamnose (7) est obtenu par condensation du bromure de 2,3,4-tri-*O*-acetyl- α -L-rhamnopyranosyle (4) avec le



- 1 R = OH R = R = H
- 2 R = OAc R = R = Ac
- 3 R = OMe R = R = Ac
- 4 R = Br R = R = Ac
- 5 R = OH, R = R = Ac
- 6 R = OAc R = H R = Ac



- 7 R = OH R = R = H
- 8 R = OAc R = R = Ac
- 9 R = OMe R = R = Ac
- 10 R = Br R = R = Ac
- 11 R = OH R = R = Ac
- 12 R = OAc R = H R = Ac

méthyl- γ -L-rhamnopyranoside, méthode développée avec succès par King et Bishop^{12 13} pour la synthèse du *O*- β -D-glucopyranosyl- et *O*- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-L-rhamnose. La condensation est réalisée dans l'acétonitrile en présence de cyanure mercurique. Après acétylation du mélange réactionnel, on isole, à côté du 1 2 3 4-tétra-*O*-acétyl- γ -L-rhamnopyranose, les trois disaccharides suivants

(a) Le dérivé peracétylé du méthyl-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranoside (9) largement majoritaire et bien différent des deux autres disaccharides le rendement et les conditions de la réaction montrent qu'il s'agit bien du disaccharide α -L-(1 \rightarrow 3). Il est bien connu^{14 15}, en effet, que les réactions du type Koenigs-Knorr avec le bromure de 2 3 4-tri-*O*-acetyl- ou -tri-*O*-benzoyl- γ -L-rhamnopyranosyle ou mannopyranosyle conduisent uniquement à des composés de configuration α . Son pouvoir rotatoire fortement négatif, son spectre RMN ainsi que celui de ses dérivés, comme son spectre ¹³C confirment, sans ambiguïté la position de la liaison et sa configuration L. Hydrolyse et acétylation de 9 conduisent à l'hexa-acétate 8.

(b) Le second composé isolé par chromatographie est le dérivé peracétylé du méthyl-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopyranoside. Il est très difficilement séparable de la fraction suivante. Il a été identifié par ses propriétés spectrales et synthétisé par ailleurs^{16 17}.

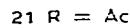
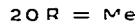
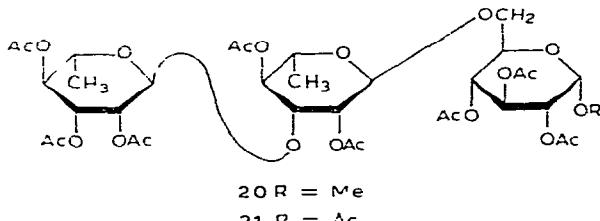
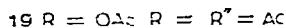
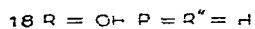
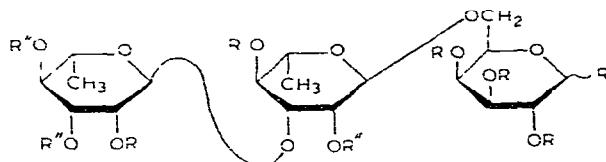
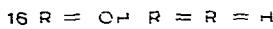
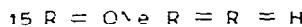
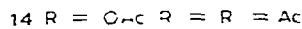
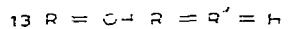
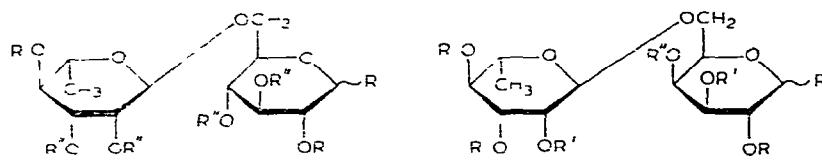
(c) Le dernier composé elué est le dérivé peracétylé du méthyl-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranoside par hydrolyse et acétylation il conduit au disaccharide hexa-acétyle déjà décrit³.

La synthèse du *O*- γ -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-D-glucose (13) (rutinose) a été réalisée par condensation du bromure de 2,3,4-tri-*O*-benzoyl- α -L-rhamnopyranosyle avec le méthyl- α -D-glucopyranoside. Après débenzoylation et hydrolyse, le disaccharide obtenu en majorité est identique au produit naturel provenant de la hydrolyse ménagée de la rutine^{18 19}. La configuration osidique β -L proposée par Zemplén et Gerecs^{18,19} a été infirmée plus tard par Gorin²⁰ par analogie avec divers mannosides. Ici encore, la prépondérance de ce composé et les conditions de la réaction montrent qu'il s'agit bien du composé α -L-(1 \rightarrow 6).

Le robinobiose ou *O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-D-galactose (16) a été obtenu par condensation du bromure de 2,3,4-tri-*O*-acétyl- α -L-rhamnopyranosyle

avec le 1,2,3,4-di-*O*-isopropylidène- α -D-galactopyranose. Le disaccharide isolé après le traitement habituel est identique au robinobiose provenant de l'hydrolyse de la robinine²¹⁻²⁴.

La condensation du bromure de 2,4-di-*O*-acétyl-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-acétyl- α -L-rhamnopyranosyl)- α -L-rhamnopyranosyle (10) avec le méthyl- α -D-glucopyranoside ou le 1,2,3,4-di-*O*-isopropylidène- α -D-galactopyranose conduit, après le même traitement que celui utilisé pour les disaccharides, aux deux composés 18 et 20, le premier étant identique au produit naturel décrit antérieurement⁵. La synthèse totale du trisaccharide 18 confirme donc la structure proposée.



Étude 1 m n — Saccharides libres. L'examen du Tableau I permet de constater une différence dans la valeur du proton anomère H-1' dans les composés 1, 7, 13 et 16 et celle de H-1'' et H-1' dans 18, bien que tous de configuration α . En effet cette

TABLEAU I

VALEURS DES DEPLACEMENTS CHIMIQUES DES PRINCIPAUX PROTONS DE MONO-, DI- ET TRI-SACCHARIDES DU L-RHAMNOSE^a

Compose	Anomere	Deplacement chimique					
		H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6
1	α	5,11 d <i>J</i> _{1,2} 1,8	3,92 q <i>J</i> _{2,3} 3,5	3,80 q <i>J</i> _{3,4} 9,6	3,44 t <i>J</i> _{4,5} 9,6	3,87 m <i>J</i> _{5,6} 6,3	1,28 d
	β	4,86 d <i>J</i> _{1,2} 1,1	3,94 q <i>J</i> _{2,3} 3,5	3,60 q <i>J</i> _{3,4} 9,5	3,36 t <i>J</i> _{4,5} 9,5	3,40 m <i>J</i> _{5,6} 6,2	1,29 d
Methyl-L-rhamnopyranoside	α	4,70 d <i>J</i> _{1,2} 1,7	3,93 q <i>J</i> _{2,3} 3,5	3,71 q <i>J</i> _{3,4} 9,6	3,44 t <i>J</i> _{4,5} 9,6	3,64 m <i>J</i> _{5,6} 6,2	1,30 d
	β					3,49 m	
	α	5,04 d <i>J</i> _{1,2} 1,7	4,07 q <i>J</i> _{2,3} 3,5		3,5 t	3,89 m <i>J</i> _{5,6} 6,2	1,28 d
7	α	5,07 d <i>J</i> _{1,2} 1,7	4,07 q <i>J</i> _{2,3} 3,5			3,89 m	1,28 d
	β	4,87 d					
	α	4,96 d <i>J</i> _{1,2} 3					1,38 d
13	α	5,34 d <i>J</i> _{1,2} 3					
	β	4,76 <i>J</i> _{1,2} 7					
	α	4,89 d <i>J</i> _{1,2} 3	4,02 q <i>J</i> _{2,3} 3		3,49 t <i>J</i> _{4,5} 9	3,82 m <i>J</i> _{5,6} 6	1,35 d
16	α	5,3 d <i>J</i> _{1,2} 3	3,82 q <i>J</i> _{2,3} 3	3,88 q <i>J</i> _{1,2} 7	4,02 t		
	β	4,63 d <i>J</i> _{1,2} 7					
	α''	5,06 d <i>J</i> _{1,2} 1,7	4,10 q <i>J</i> _{1,2} 1,7		3,48 t <i>J</i> _{4,5} 9,5	3,81 m <i>J</i> _{5,6} 6	1,33 d
18	α	4,33 d <i>J</i> _{1,2} 1,7	4,10 q <i>J</i> _{1,2} 1,7				1,33 d
	α	5,29 d <i>J</i> _{1,2} 2,5	3,81 q <i>J</i> _{1,2} 2,5		4,10 t	3,53 m	
	β	4,61 d <i>J</i> _{1,2} 7					

^aLes conditions d'enregistrement des spectres sont données dans la partie expérimentale. Dans le cas des disaccharides les déplacements chimiques des protons de l'unité non réductrice sont portés sur la ligne α . Dans le cas du trisaccharide 18 les déplacements chimiques des protons de l'unité liée à l'extrémité réductrice sont portés sur la ligne α tandis que ceux des protons de l'unité rhamnosidique en bout de chaîne sont portés sur la ligne α'' . Les valeurs des constantes de couplage (*J*) sont données en Hz.

valeur égale à 5,04 p.p.m. dans 7[α -L-(1 \rightarrow 3)] passe à 4,96 p.p.m. dans le rutinose* (13) et 4,89 p.p.m. dans le robinobiose (16) [α -L-(1 \rightarrow 6)], tandis que les valeurs respectives des protons anomères de l' α - et du β -L-rhamnose²⁶ sont de 5,11 et 4,86 p.p.m. La valeur du déplacement chimique du proton anomère d'un disaccharide α -L-(1 \rightarrow 6) substitué est donc voisine de celle du même proton dans le β -L-rhamnopyranose.

*Pour ce compose, les auteurs sont en désaccord avec les résultats d'Imperato²⁵, qui attribue à H-1 la valeur de 5,09 p.p.m.

Pour les disaccharides α -L-(1 \rightarrow 4) ou -(1 \rightarrow 2)substitués, le déplacement chimique de H-1' est voisin^{2 27} de 5 p p m Dans le trisaccharide **18** on retrouve bien la valeur de 5,06 p p m pour H-1" de la première unité rhamnosidique (valeur correspondant à celle de **7**) et on observe H-1' à 4,83 p p m pour la seconde unité rhamnosidique (valeur correspondant à celle de **16**) Le déplacement chimique de H-5 des unités rhamnosidiques—toujours voisin de 3,8 p p m — permet cependant de les différencier des composés β , pour lesquels on observe un blindage de H-5 vers 3,4 p p m comme dans le rhamnose Les valeurs des protons des résidus de D-glucose et de D-galactose sont identiques à celles données par De Bruyn *et al.*^{28 29}

Saccharides acétylés L'étude τ m n des dérivés acétylés permet une meilleure attribution des signaux que pour les saccharides libres, en effet, le deblindage des protons en configuration α des groupements acetates facilite l'observation de H-5 et des protons en configuration α des liaisons osidiques Le spectre (Tableau II) du bromure de 2,3,4-tri-O-acétyl- α -L-rhamnopyranosyle (**4**) est un bon exemple tous les signaux sont analysables et les valeurs des glissements chimiques et des constantes de couplage de chaque proton peuvent être déterminées avec précision Ainsi on observe, à côté du doublet du proton anomère le quartet de H-3 ($J_{2,3}$ 3,2 et $J_{3,4}$ 10 Hz), le quartet de H-2 ($J_{1,2}$ 1,7 Hz) et enfin le large triplet de H-4 ($J_{4,5}$ 10 Hz) tandis que le multiplet de H-5 résonne à 4,08 p p m ($J_{5,6}$ 6 Hz)

Dans les spectres de tous les composés décrits ici, on a étudié la variation des déplacements chimiques du proton anomère, du proton en configuration α de la liaison osidique, celle de H-5 ainsi que les groupements méthyles du rhamnose

Dans l'étude du proton anomère on a observé, comme pour les saccharides libres, une différence de la valeur du déplacement chimique en fonction de la substitution, plus importante que celle entre les 1,2 3 4-tetra-O-acétyl- α -L- et β -L-rhamnopyranoses Ainsi, dans le methyl-2,3,4-tri-O-acétyl- α -L-rhamnopyranoside (**3**), H-1 résonne à 4,63 p p m tandis que dans le 2,3,4-tri-O-acétyl- α -L-rhamnopyranose H-1 se situe à 5,03 p p m Quand on passe aux disaccharides, H-1' de **9** résonne à 4,89 p p m les deux protons H-1 résonnant, comme pour **3**, à 4,61 p p m pour l'anomère α et 4,56 p p m pour l'anomère β Il y a peu de modification de la valeur de H-1' dans le dérivé peracétyle **8**, son signal étant situé à 4,96 p p m dans le dérivé bromé **10** de ce disaccharide, H-1' est toujours à 4,92 p p m, tandis que H-1 en configuration α de 1 atome de brome est déblindé à 6,32 p p m Dans le cas des disaccharides liés en α -L-(1 \rightarrow 6), les protons anomères sont blindés par rapport à ceux des α -L-(1 \rightarrow 3), ainsi, dans **14**, H-1' résonne à 4,75 p p m La valeur de H-1' dans les disaccharides α -L-(1 \rightarrow 3) est donc voisine de celle de H-1 dans le 2,3,4-tri-O-acétyl- α -L-rhamnopyranose, tandis que dans le disaccharide α -L-(1 \rightarrow 6) cette valeur est plus proche de celle de H-1 du méthyl-2,3,4-tri-O-acétyl- α -L-rhamnopyranoside Dans les trisaccharides, par ex **19**, on retrouve les valeurs des protons anomères des deux unités rhamnosidiques liées en, l'une α -L-(1 \rightarrow 3) et l'autre α -L-(1 \rightarrow 6) 4,91 p p m pour H-1" et 4,71 p p m pour H-1' Les composés **6** et **12**, qui possèdent un OH-2, comme le 1,3,4-tri-O-acétyl- β -L-rhamnopyranose et le 1,4-di-O acétyl-3-O-(2,3,4-tri-O-acétyl- α -L-rhamnopyranosyl)- β -L-rhamnopyranose, obtenus au cours des réactions

TABLEAU II

VALEURS DES DEPLACEMENTS CHIMIQUES DES PRINCIPAUX PROTONS DANS LES DERIVES ACETYLES DE MONO- DI- ET TRI-SACCHARIDES DU L-RHAMNOSE^a

Com- pose	Ano- mère	Deplacement chimique						
		H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6	OMe
2	α	6,01 d (0,55)	5,20	5,33	5,03	3,94 m (6,0)	1,20 d	
	β	5,93 d (0,50)			4,99	3,60 m (6,0)	1,26 d	
3	α	4,63 d (1,0)	5,22	5,40	5,03	3,86 m (6,0)	1,21 d	3,36
	β	4,51 d (1,0)	5,46	5,10	5,0	3,50 m (6,0)	1,30 d	3,53
4	α	6,25 d (1,7)	5,41 q (3,2)	5,66 q (10)	5,12 t (10)	4,08 m (6,0)	1,26 d	
5	α	5,03 d (1,2)	5,23 q (3,0)	5,36 q (10)	5,05 t (9,0)	4,13 m (6,2)	1,21 d	
	β	4,99 d (1,0)				3,49 m (6,5)	1,24 d	
6	β	5,72 d (0,9)	4,18 q (3,0)	5,00	5,15	3,5 m (6,5)	1,28 d	
8	β	4,96 d (1,0)	5,25	5,05	5,14 t (10)	3,78 m (6,0)	1,18 d	
	α	6,02 d (1,8)	5,25 (3,5)	4,16 q (10)	5,14	3,92 m (6,0)	1,20 d	
9	α	4,89 d (1,5)			5,12 t (10)	3,74 m (6,0)	1,18 d	
	α	4,61 d (1,8)	5,26 (3,5)	4,07 q (10)	5,07 (10)	3,92 m (6,0)	1,22 d	
	β	4,56 d (1,8)					1,37 d	
10	γ	4,92 d (1,5)				3,90 m (6,0)	1,18 d	
	α	6,32 d (1,5)		4,52 q (10)		4,1 m (6,0)	1,21 d	
11	α	4,90 d	5,25	5,05	5,14	3,9 m	1,17 d	
	γ	5,01 d	5,25	4,20	5,14	4,0 m	1,19 d	
12	γ	4,89 d (1,7)				3,6 m (6,0)	1,19 d	
	β	5,72 d (1,2)	4,10 (3,0)	3,68 q (10)	5,10 t (10)	3,43 m (6,0)	1,27 d	
14	α	4,75 d (1,8)	5,2		5,09 t (9,6)	3,89 m (6,0)	1,2 d	
	γ	6,02 d					3,9 m	3,7
	β	5,74 d (7,5)						
19	γ	4,91 d (1,0)		5,10 q (10)	5,09 t (9,5)	3,6 m (6,0)	1,17 d	
	γ	4,71 d (1,5)	5,15 q (2,3)	4,0 q (10)	5,05 t (10)	3,90 m (6,0)	1,20 d	
	γ	6,35 d (2,0)	5,35	5,35	5,55	4,3 t (6,5)	3,53	
	β	5,70 d (8,0)						

^aLes conditions d'enregistrement des spectres sont données dans la partie expérimentale. Dans le cas des disaccharides les déplacements chimiques des protons de l'unité non réductrice sont portés sur la ligne γ . Dans le cas du trisaccharide 19 les déplacements chimiques de l'unité terminale acétyle en C-1 sont portés sur la ligne α ou β . Les déplacements chimiques des protons des deux résidus rhamnosiques sont portés respectivement sur la ligne α' pour le résidu de L-rhamnose lié en C-1, sur la ligne γ pour le résidu de L-rhamnose lié en C-3 et en C-1. Les valeurs des constantes de couplage de chacun des protons avec le proton voisin sont exprimées entre parenthèses, en Hz.

de couplage^{16 17}, présentent H-1 à 5,72 p p m blindé par la configuration β et par le voisinage de OH-2. Dans 12, H-1' résonne normalement à 4,89 p p m.

Dans l'étude du proton en α des liaisons osidiques, on observe, dans les disaccharides liés en γ -L-(1 → 3), H-3 vers 4 p p m sous la forme d'un quartet habituel. La valeur de H-3 varie avec la substitution en position 1 : elle est de 4,07 p p m dans 9, 4,16 p p m dans le dérivé peracétyle 8, dans le dérivé bromé 10 ce même proton est déblindé à 4,52 p p m alors qu'il est blindé à 3,68 p p m dans 12 qui est de con-

figuration β . Quand on passe au trisaccharide **19**, on retrouve H-3 à 4,0 p.p.m. permettant ainsi d'identifier ce type de liaison dans le trisaccharide. Dans les disaccharides liés en α -L-(1→4) et α -L-(1→2), H-4 et H-2 résonnent sous la forme de leurs signaux habituels à des valeurs inférieures à 4 p.p.m. Dans les disaccharides liés en α -L-(1→6), on observe les deux protons du groupement méthylénique des résidus de D-glucose ou de D-galactose à 3,60 p.p.m.^{30,31}, ces mêmes protons résonnant au même champ dans les trisaccharides.

Pour les protons H-5 et CH₃, on observe dans les composés α -L-(1→3), comme **8**, **9** et **10**, H-5' aux environs de 3,75 p.p.m. Cette valeur peut être déterminée avec précision par irradiation du groupement méthyle en 6', pour ces mêmes dérivés, CH₃-6' résonne entre 1,17 et 1,18 p.p.m. Dans les disaccharides liés en α -L-(1→6), comme **14** et **17**, H-5' est toujours plus déblindé et résonne vers 3,9 p.p.m. tandis que le groupement méthyle subit également cette influence, résonnant vers 1,20–1,25 p.p.m. Cette différenciation est bien observée dans le trisaccharide **19** où l'on a les deux types de liaisons : on observe H-5 de la première unité rhamnosidique à 3,60 p.p.m. et son groupement méthyle à 1,17 p.p.m. Le proton H-5 du deuxième résidu de L-rhamnose est situé à 3,90 et son groupement méthyle à 1,20 p.p.m. Dans tous les composés β , on a observé un déblindage du groupement méthyle qui résonne toujours entre 1,25 et 1,30 p.p.m., alors que l'on a un blindage du H-5 vers 3,45 p.p.m. L'ensemble des valeurs de tous les protons observés pour le robinobiose et son dérivé acetylé montre qu'il s'agit bien du *O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1→6)-D-galactopyranose, en accord avec les résultats de Vernes *et al.*²³ et que le trisaccharide **18** comporte deux liaisons glycosidiques de configuration α .

En conclusion, il faut retenir de ces résultats les observations suivantes : (a) l'utilisation de glycosides non bloqués pour la synthèse de di- et tri-saccharides est une méthode particulièrement intéressante conduisant à un composé majoritaire, évitant ainsi la préparation, quelques fois difficile, d'intermédiaires convenablement bloqués. (b) L'étude RMN du proton des saccharides dans la série du L-rhamnose a permis de proposer quelques règles d'attribution quant à la substitution et à la configuration. Les valeurs des déplacements chimiques des protons anomères permettent difficilement de renseigner sur la configuration, par contre, elles donnent des informations sur la substitution. Cependant, les valeurs des protons H-5 et des groupements méthyles des unités L-rhamnosidiques précisent à la fois la configuration et la substitution.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Les spectres de RMN ont été enregistrés sur un appareil Varian HA-100 (sauf mention contraire) en solution dans l'oxyde de deutérium pour les oligosaccharides et chloroforme-*d* pour les dérivés acetylés. Les déplacements chimiques sont donnés en valeur de δ 10⁻⁶ par rapport au tétraméthylsilane comme référence interne. Les pouvoirs rotatoires ont été mesurés avec un micropolarimètre Roussel-Jouan. Les points de fusion (non corrigés) ont été déterminés avec un appareil Tottoli. Les

analyses ont été effectuées par le Service Central de Microanalyses du C N R S (division de Montpellier) Les chromatographies ont été faites avec du gel de silice Merck, avec comme éluant le mélange benzène-éther 1 1 (v/v) (solv A) Les chromatographies sur papier (desc.) Whatman n° 1 (analytique) et 3MM (préparatif) ont été réalisées selon la technique de Pratviel-Sosa *et al*⁹ avec des éluants précisés chaque fois Les chromatoplaques (gel de silice Merck) sont révélées par pulvérisation avec de l'acide sulfurique éthanolique à 5% et chauffage à 120° pendant 5 min Les chromatographies sur papier ont été visualisées après séchage à la température ambiante, pulvérisation d'une solution aqueuse de metaperiodate de sodium (0,02M), séchage et nouvelle pulvérisation par une solution de nitrate d'argent à 5% dans l'ammoniaque (ce procédé convient également pour les sucres réducteurs)

Methyl-2,4-di-O-acetyl-3-O-(2,3,4-tri-O-acetyl- α -L-rhamnopyranosyl)- α -L-rhamnopyranoside (9) — Un mélange de méthyl- α -L-rhamnopyranoside³² (1,8 g 10,1 mmol) et de cyanure mercurique (2,5 g) dans 5 ml d'acetonitrile anhydre sont agités sous courant d'azote à la température ambiante on ajoute ensuite 15 ml d'une solution de 4 g (11,3 mmol) de bromure de 2,3,4-tri-O-acetyl- α -L-rhamnopyranosyle³ (4) Le mélange est maintenu dans les mêmes conditions pendant 48 h à l'obscurité après filtration puis évaporation du solvant, le résidu sirupeux repris par 200 ml de chloroforme est lavé par une solution glacee de bromure de potassium (2 × 100 ml), ensuite par une solution froide d'hydrogénocarbonate de sodium et enfin à l'eau Après séchage et évaporation du solvant, le résidu huileux (5 g) est directement acylé par le mélange anhydride acétique-acétate de sodium Le résidu de l'acetylation (4 g) présente quatre taches en c.c.m (solvant A) il est chromatographié sur colonne de gel de silice (200 g) Les premières fractions élues avec du benzene-éther 4 1 (v/v) (solvant B) contiennent du 1,2,3,4-tétra-O-acetyl- α -L-rhamnopyranose (2) les fractions suivantes conduisent à une poudre blanche (9), p.f. 125°, $[\alpha]_D^{25} -48^\circ$ (*c* 0,5, chloroforme) R_F 0,55(A)

Anal Calc pour C₂₃H₃₄O₁₄(534) C 51,68, H 6,36 Trouve C, 51,50 H, 6,41

Les fractions élues par le solvant B sont difficilement séparables elles sont constituées de méthyl-3,4-di-O-acetyl-2-O-(2,3,4-tri-O-acetyl- α -L-rhamnopyranosyl)- α -L-rhamnopyranoside et de méthyl-2,3-di-O-acetyl-4-O-(2,3,4-tri-O-acetyl- α -L-rhamnopyranosyl)- α -L-rhamnopyranoside

1,2,4-Tri-O-acetyl-3-O-(2,3,4-tri-O-acetyl- α -L-rhamnopyranosyl)- α -L-rhamnopyranose (8) — Une solution de 9 dans 7 ml d'anhydride acétique est traitée par 14 ml d'un mélange d'acide sulfurique-anhydride acétique (1%, v/v) pendant 5 h à la température ambiante La solution est ensuite diluée par 100 ml de chloroforme et lavée à l'eau, à l'hydrogénocarbonate de sodium (2 × 100 ml) et à l'eau Les traces d'acide et d'anhydride acétique sont éliminées par évaporation successives dans l'éthanol Le résidu jaune sirupeux est l'hexa-acétate attendu 8 Son spectre de r.m.n montre qu'il s'agit essentiellement de l'anomère γ (95%) $[\alpha]_D^{25} -32^\circ$ (*c* 4,5 chloroforme), R_F 0,75(A)

Anal Calc pour $C_{24}H_{34}O_{15}$ (562) C, 51,25, H, 6,05 Trouvé C, 51,40, H, 6,10

Les deux dernières fractions de la chromatographie précédente ont été hydrolysées et acétylées comme décrit plus haut, elles conduisent après chromatographie au 1,3,4-tri-*O*-acetyl-2-*O*-(2,3,4-tri-*O*-acetyl- α -L-rhamnopyranosyl)- α -L-rhamnopyranose, synthétisé par ailleurs^{16 17}, $r_m n$ 1,2 (CH_3), 1,25 (CH_3'), 3,9 (H-2 et H-5'), 4,98 (H-1'), 5,2 (H-2'), 6,04 (H-1) et au 1,2,3-tri-*O*-acetyl-4-*O*-(2,3,4-tri-*O*-acetyl- α -L-rhamnopyranosyl)- α -L-rhamnopyranose, p_f 158° (litt³ 163°) $[\alpha]_D^{25}$ -63,5° (*c* 2,1, chloroforme), $r_m n$ 1,2 (CH_3), 1,25 (CH_3'), 3,7 (H-4), 3,8 (H-5') 4,84 (H-1'), 4,9 (H-4'), 6,0 (H-1)

3-O- α -L-Rhamnopyranosyl-L-rhamnose — Le disaccharide acétylé **8** (0,500 g) est traité par 10 ml d'une solution de méthylate de sodium 0,2*M* pendant 1 h à 25°, puis neutralisé par de la résine Amberlite IR-120(H^+) Apres filtration et lyophilisation on obtient le disaccharide sous forme d'une mousse blanche, $[\alpha]_D^{25}$ - 21° (*c* 3,2, eau)

Méthyl- α -L-rhamnopyranosyl-(1→6)- α -D-glucopyranoside (15) — Le méthyl- α -D-glucopyranoside³³ (1,5 g 8,25 mmol) est mis en suspension dans le dichlorométhane (5 ml) et agité sous courant d'azote pendant 20 h en présence de Drierite et de carbonate d'argent (2,5 g) Une solution de bromure de 2,3,4-tri-*O*-benzoyl- α -L-rhamnopyranosyle³⁴ (2,3 g, 4,23 mmol) dans le dichlorométhane (10 ml) est alors ajoutée, goutte à goutte, pendant 1 h La réaction est maintenue dans les mêmes conditions pendant 20 h Le résidu brut (3,8 g), obtenu après filtration et évaporation du solvant est chromatographié une première fois sur gel de silice La fraction correspondant au produit de condensation est éluee avec le solvant A (R_f 0,40) Le disaccharide est purifié par chromatographie préparative sur couche mince de gel de silice. R_f 0,5 (chloroforme-méthanol 9/1, v/v) La bande correspondante est éluee avec 50 ml de méthanol on obtient 0,800 g de méthyl-6-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- α -L-rhamnopyranosyl)- α -D-glucopyranoside, $r_m n$ ($CDCl_3$) 1,30 ($J_{5,6}$ 6 Hz CH_3), 3,9 (s, OCH_3) 5,2 ($J_{1,2}$ 2 Hz, H-1 α), 5,45 ($J_{1,2}$ 2 Hz, H-1') 5,65 (H-2'), 5,68 ($J_{4,5}$ 10 Hz, H-4'), 5,90 ($J_{2,3}$ 4 Hz et $J_{3,4}$ 10 Hz, H-3') Ce composé (0,800 g) est dissous dans 40 ml d'une solution méthanolique de méthylate de sodium 0,2*M* apres 18 h le mélange est neutralisé par 2 g de résine Amberlite IR-120(H^+) et le résidu obtenu après filtration et évaporation est repris par l'eau et extrait au benzene, la phase aqueuse est lyophilisée et purifiée par chromatographie préparative sur papier Whatman 3MM (acétate d'éthyle-eau-pyridine, 4/1/1, v/v), $[\alpha]_D^{25}$ +110° (*c* 1, eau)

6-O- α -L-Rhamnopyranosyl-D-glucose (rutinose) (13) — Une solution de rutine (1,5 g) dans 20 ml d'acide acétique aqueux à 10% est portée à ébullition pendant 6 h, après refroidissement et filtration, elle est extraite à l'éther et lyophilisée donnant 0,5 g de disaccharide, $[\alpha]_D^{25}$ -3,6° (cf litt^{18 19}), R_f 0,3 (Whatman n° 1, acétate d'éthyle-pyridine-eau, 4/1/1, v/v), transformé en méthyl- α -D-rutinoside, identique au produit précédent

1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-O-(2,3,4-tri- α -L-rhamnopyranosyl)- β -D-glucopyranose (14) — L'acétylation du rutinose par l'anhydride acétique-acétate de

sodium conduit essentiellement au composé acétylé **8** p f 169–170° (éther–ether de petr) (litt ¹⁹ p f 168°)

Anal Calc pour C₂₆H₃₆O₁₇(620) C 50,32, H, 5,81 Trouvé C, 50,6, H, 5,95

1,2,3,4-Tétr-O-acetyl-1-6-O-(2,3,4-tri-O-acetyl- α -L-rhamnopyranosyl)- β -D-galactopyranose (lobinobiose hepta-acétate) (17) — A 0,6 g (2,3 mmol) de 1,2,3,4-di-O-isopropylidène α -D-galactopyranose³⁵ dissous dans 5 ml d'acétonitrile, on ajoute 0,200 g de cyanure mercurique; le mélange est maintenu pendant 5 h sous courant d'azote avec agitation énergique. On ajoute alors, goutte à goutte, une solution de 1 g de bromure de 2,3,4-tri-O-acetyl- α -L-rhamnopyranosyl (2,8 mmol) dissous dans 5 ml d'acétonitrile et après 3 jours d'agitation on traite de la façon habituelle. Le résidu brut (1,2 g) est mis en contact avec une solution glacee d'acide trifluoroacétique à 90% durant 10 min à 25°, l'eau et l'acide étant ensuite éliminés par distillation azeotropique avec du benzene, puis avec du toluène. Le résidu, après 24 h de séchage sous vide, devient sirupeux et il est traité par le mélange anhydride acétique-acétate de sodium. La purification du dérivé acétylé par chromatographie sur gel de silice conduit à 0,200 g de **17** pur p f 79–83° (litt ^{21 22} 83–84°), $[\alpha]_D^{25} -15^\circ$ (c 0,9 chloroforme) (litt ^{21 22} -9,9°), R_F 0,25 (73 v/v, benzene–éther)

Anal Calc pour C₂₆H₃₆O₁₇(620) C, 50,32, H, 5,81 Trouvé C, 51,00, H, 5,94

Bromure de 2,4-di-O-acetyl-1-3-O-(2,3,4-tri-O-acetyl- α -L-rhamnopyranosyl)- γ -L-rhamnopyranosyle (10) — Le disaccharide **8** (1 g) est dissous dans 100 ml de chloroforme anhydre contenant une goutte d'anhydride acétique. La solution est refroidie à -2° et on ajoute alors une solution saturée d'acide bromhydrique dans l'acide acétique (25 ml), goutte à goutte, pendant 1 h. Après 3 h d'agitation à -2°, on lave jusqu'à neutralité avec de l'hydrogénocarbonate de sodium puis à l'eau, après séchage et évaporation du chloroforme le résidu est repris par le même solvant et décoloré par filtration sur une colonne de charbon actif après concentration *in vacuo*, on obtient 1 g de dérivé brome, peu stable R_F 0,7(A)

O-(2,3,4-Tri-O-acetyl- α -L-rhamnopyranosyl)-(1→3)-O-(2,4-di-O-acetyl-1- α -L-rhamnopyranosyl)-(1→6)-1,2,3,4-tetra-O-acetyl- α -D-galactopyranose (19) — La condensation est effectuée dans l'acetonitrile en présence de cyanure mercurique comme pour **9**. A partir de 0,400 g (1,54 mmol) de 1,2,3,4-di-O-isopropylidène- α -D-galactopyranose et 1 g (1,71 mmol) de dérivé bromé **10**, on obtient 0,600 g de **22** à côté de 2,4-di-O-acetyl-3-O-(2,3,4-tri-O-acetyl- α -L-rhamnopyranosyl)-L-rhamnopyranose (**11**) (R_F 0,30, A) et de 1,4-di-O-acetyl-3-O-(2,3,4-tri-O-acetyl- α -L-rhamnopyranosyl)- β -L-rhamnopyranose (**12**) (R_F 0,20, A). La deacetalation et l'acetylation successives du trisaccharide conduisent à **19** (0,500 g), p f 152°, R_F 0,4(A)

Anal Calc pour C₃₆H₅₀O₂₃(850) C, 50,82, H, 5,88 Trouvé C, 50,60, H, 6,00

La totalité de **19** est traitée par le méthylate de sodium 0,2M dans les mêmes conditions que le dérivé **7**, après lyophilisation, on isole **18** sous forme d'une mousse blanche cristallisant par ensemencement avec le produit naturel (0,220 g), p f 215°, $[\alpha]_D^{25} -43^\circ$ (c 0,4, eau)

Anal Calc pour $C_{18}H_{32}O_{14}$ $H_2O(490)$ C, 44,07, H, 6,98. Trouvé. C, 44,10, H, 6,90

Méthyl-O-(2,3,4-tri-O-acétyl- α -L-rhamnopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-O-(2,4-di-O-acétyl- α -L-rhamnopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)-2,3,4-tri-O-acétyl- α -D-glucopyranoside (20) — On met en suspension dans 10 ml d'acetonitrile 0,350 g (1,78 mmol) de méthyl- α -D-glucopyranoside avec 1 g de cyanure mercurique, puis on ajoute 1 g de dérivé bromé 10. Après le traitement habituel, on obtient 1 g de produit sirupeux qui est directement acétylé par 4 ml d'anhydride acétique dans 10 ml de pyridine, conduisant à 0,950 g de produit brut purifié par chromatographie sur 300 g de gel de silice, le trisaccharide est élut avec 3,2 (v/v) benzène-éther (0,600 g, 0,73 mmol), R_F 0,25(A), τ m n 3,47 (OCH_3), 4,75 (J_{1-2} 1,7 Hz, H-1'), 4,80 (J_{1-2} 1,8 Hz, H-1 α) et 4,99 (J_{1-2} 1 Hz, H-1 α ')

Anal Calc pour $C_{36}H_{50}O_{23}$ (850) C, 50,82, H, 5,88 Trouvé C, 51,1, H, 6,06

O-(2,3,4-Tri-O-acétyl- α -L-rhamnopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-O-(2,4-di-O-acétyl- α -L-rhamnopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)-1,2,3,4-tétra-O-acétyl- α -D-glucopyranose (21) — Ce composé a été obtenu selon le même procédé que 8 et purifié par chromatographie sur gel de silice (3,2, v/v, benzène-éther), R_F 0,35(A). On a isolé 0,650 g de dérivé peracétylé à partir de 0,350 g de méthyl- α -D-glucopyranoside et 1 g de dérivé bromé du disaccharide, τ m n 1,18 (CH_3''), 1,22 (CH_3'), 3,7 (H-5''), 3,9 ($J_{4,5}$ 10 Hz et $J_{5,6}$ 6 Hz, H-5'), 4,75 (J_{1-2} 1,5 Hz, H-1'), 4,99 (J_{1-2} 2 Hz, H-1''), 5,75 (H-1 β) et 6,36 (H-1 α)

RÉFÉRENCES

- 1 B LINDBERG, J LÖNNGBERG, J L THOMPSON ET W NIMMICH, *Carbohydr Res*, 25 (1972) 49-57
- 2 Y M CHOY ET G G S DUTTON, *Can J Chem*, 52 (1974) 684-687
- 3 G M BEBAULT G G S DUTTON ET C K WARFIELD *Carbohydr Res* 34 (1974) 174-179
- 4 D A L DAVIES, *Adv Carbohydr Chem*, 15 (1960) 271-340
- 5 O LUDERITZ, *Angew Chem Int Ed Engl*, 9 (1970) 649-663
- 6 O LUDERITZ O WESTPHAL A M STAUB ET H NIKAIDO, dans G WEINBAUM, S KADIS ET S J AJL *Microbial Toxins* Vol 4 Academic Press New York, 1971, pp 145-233
- 7 N K KOCHETKOV, B A DMITRIEV, N N MAYSHEVA, A YAHERNYAK, S M KLIMOV, N E BAYRODOVA ET V I TORGOV *Carbohydr Res* 45 (1975) 283-290
- 8 G M BEBAULT, J M BERRY ET G G S DUTTON, *Can J Chem*, 52 (1974) 678-683
- 9 F PRATVIEL-SOSA R WYLDE R BOURBOUZE ET F PERCHERON *Carbohydr Res* 28 (1973) 109-113
- 10 J S BRIMACOMBE ET L C N TUCKER *Carbohydr Res*, 5 (1967) 36-44
- 11 J M WILLIAMS ET A C RICHARDSON, *Tetrahedron*, 23 (1967) 1369-1378
- 12 R R KING ET C T BISHOP *Carbohydr Res*, 32 (1974) 239-249
- 13 R R KING ET C T BISHOP *Can J Chem*, 52 (1974) 3913-3919
- 14 L GOODMAN, *Adv Carbohydr Chem*, 22 (1967) 109-175
- 15 E J REIST ET S M CRUSE, *Carbohydr Res*, 10 (1969) 289-294
- 16 A M NGUYEN PHUOC DU, These de Doctorat de Spécialité, Université de Montpellier 1976
- 17 F WINTERNITZ ET R WYLDE, à paraître
- 18 G ZEMPLÉN ET A GERECS, *Ber*, 67 (1934) 2049-2051
- 19 G ZEMPLÉN ET A GERECS, *Ber*, 68 (1935) 1318-1321
- 20 P A J GORIN ET A S PERLIN, *Can J Chem*, 37 (1959) 1930-1933
- 21 G ZEMPLÉN ET A GERECS, *Ber*, 68 (1935) 2054-2059
- 22 G ZEMPLÉN ET A GERECS *Ber*, 71 (1938) 774-776
- 23 B VERMES, L FARKAS, M NOGRADI ET A KALMAN, *The Robinin Problem, Conv Int Poliphenolet Univ Milan, Guargano* 1975, p 98
- 24 N D MAKSYUTINA ET V I LITVINEVKO, *Dopov Akad Nauk Ukr RSR, Ser B*, 29 (1967) 443-447

- 25 F IMPERATO, *J Org Chem*, 41 (1976) 3478-3479
- 26 A DE BRUYN, E M ANTEUNIS, R DE GUSSEN ET G G S DUTTON, *Carbohydr Res*, 47 (1976) 158-163
- 27 W E DICK, J R HODGE ET G INGLETT, *Carbohydr Res*, 36 (1974) 319-329
- 28 A DE BRUYN, E M ANTEUNIS ET G VERHEGGE, *Acta Ciencia Indica* 2 (1975) 83-87
- 29 A DE BRUYN, E M ANTEUNIS ET G VERHEGGE *Bull Soc Chim Belg*, 84 (1975) 721-734
- 30 R U LEMIEUX ET J D STEVENS, *Can J Chem*, 43 (1965) 2059-2070
- 31 D BASSIEUX, D GAGNAIRE ET M VIGNON, *Carbohydr Res*, 56 (1977) 19-33
- 32 P A LEVENE ET T E MUSKAT, *J Biol Chem*, 105 (1934) 431-442
- 33 A THOMPSON, M L WOLFROM ET E PACSU, *Methods Carbohydr Chem*, (1963), 216-220
- 34 R K NESS H G FLETCHER, JR ET C S HUDSON, *J Am Chem Soc*, 72 (1950) 2200-2205
- 36 O T SCHMIDT, *Methods Carbohydr Chem*, 2 (1963) 318-325