

**ÉCOLE DOCTORALE SANTE, SCIENCES BIOLOGIQUES ET CHIMIE
DU VIVANT**

Institut de Chimie Organique et Analytique

THÈSE présentée par :

Hélène LEDRU

soutenue le : **28 Novembre 2017**

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'université d'Orléans**

Discipline/ Spécialité : Chimie Organique

**Synthèse chimique d'oligosaccharides
de la zone de liaison des protéoglycanes
et nouvelles méthodes d'activation pour
l'obtention de sucres sulfatés**

THÈSE dirigée par :

Mme Chrystel LOPIN-BON Maître de Conférences, Université d'Orléans

RAPPORTEURS :

M. David BONNAFFE

Professeur, Université Paris-Sud, Orsay

M. José KOVENSKY

Professeur, Université de Picardie, Amiens

JURY :

M. David BONNAFFE

Professeur, Université Paris-Sud, Orsay

Mme Sandrine GULBERTI

Maître de Conférences, Université de
Lorraine, Nancy

Mme Nathalie KARST

Responsable de laboratoire, SANOFI, Vitry s/
Seine

M. José KOVENSKY

Professeur, Université de Picardie, Amiens

Mme Chrystel LOPIN-BON

Maître de Conférences, Université d'Orléans

M. Arnaud TATIBOUËT

Professeur, Université d'Orléans

REMERCIEMENTS

Tout d'abord je remercie l'ANR « GAG-sorting » pour le soutien financier apporté à ce projet ainsi que le Professeur Olivier Martin et le Professeur Pascal Bonnet de m'avoir accueillie au sein de l'ICOA.

Je tiens à remercier le Professeur David Bonnaffé et le Professeur José Kovensky d'avoir accepté de juger mon travail de thèse en tant que rapporteurs. Je remercie également le Professeur Arnaud Tatibouët, le Docteur Nathalie Karst et le Docteur Sandrine Gulberti d'avoir bien voulu prendre part à mon jury de thèse en tant qu'examineurs.

Je remercie tout particulièrement le Docteur Chrystel Lopin-Bon pour m'avoir permis de faire cette thèse sous sa direction, pour son encadrement, sa confiance, ses conseils avisés, sa disponibilité. Merci pour tous ces échanges (scientifiques ou non). Merci d'être une directrice de thèse comme il n'y en a pas deux... en un mot géniale !

Mes remerciements vont également au Professeur Sylvain Routier et au Docteur Frédéric Buron pour notre collaboration et pour m'avoir fait découvrir les techniques de micro-ondes et de chimie en flux continu. Je remercie également le Professeur Richard Daniellou et le Docteur Pierre Lafite pour leur aide et leurs conseils sur les sulfatases, ainsi que l'équipe du Docteur Sylvie Fournel-Gigleux et plus particulièrement le Docteur Sandrine Gulberti pour les tests biologiques en cours.

Je remercie également le Docteur Cyril Colas pour les HRMS ainsi que Yann, Marie-Madeleine et Christophe, sans qui le labo ne fonctionnerait pas aussi bien.

Un grand merci aux ex-collègues du labo 8, Benjamin et Samir, pour ces fous rires et la bonne ambiance au laboratoire, ainsi qu'aux différents stagiaires qui sont passés au labo 8, et notamment Hela pour son aide sur les composés fluorés. Merci à nos voisins du labo 7 et surtout à Chloé qui a toujours été disponible pour discuter, aller à des concerts. Je remercie également tous ceux que j'ai cotoyés à l'ICOA, doctorants, post-doctorants, stagiaires, permanents.

Et puisqu'il faut parfois souffler en dehors du laboratoire, je remercie mes amis rencontrés grâce à l'ADSO, à EDIFICE et à la SECO et plus particulièrement Maxime, Clément, Emanuela, Martin...

Enfin je remercie de tout mon cœur Franck, pour m'avoir supportée avec ma bonne et ma mauvaise humeur, pour son soutien sans faille et ses attentions quotidiennes, et ma famille pour m'avoir toujours soutenue et épaulée.

TABLE DES MATIÈRES

ABRÉVIATIONS	8
I- INTRODUCTION BIOLOGIQUE	12
I-1. Les protéoglycanes	14
I-1.1. La protéine porteuse ou core protein	14
I-1.2. La zone de liaison	15
I-1.3. Les glycosaminoglycanes	15
I-1.4. Deux exemples de maladies liées aux PGs	17
I-2. La biosynthèse des protéoglycanes	18
I-3. Les enzymes de bifurcation	20
I-3.1. La CSGalNAcT-1	20
I-3.2. L'EXTL2 et l'EXTL3	22
I-3.3. Orientation de la biosynthèse	22
I-3.4. Nécessité d'une synthèse chimique	24
II- TRAVAUX DE SYNTHÈSES DÉCRITS DANS LA LITTÉRATURE	26
II-1. Synthèses de la zone de liaison sulfatée	28
II-1.1. Synthèses de la zone de liaison sulfatée <i>via</i> l'utilisation d'un	28
groupement protecteur temporaire	
II-1.1.1. Synthèses de la zone de liaison sulfatée en position 4	28
II-1.1.2. Synthèses de la zone de liaison sulfatée en position 6	32
II-1.2. Synthèses de la zone de liaison partielle, sulfatée en position 4 ou 6	37
<i>via</i> un diol intermédiaire	
II-2. Synthèses de la zone de liaison avec une amorce de GAGs	43
II-2.1. Synthèses de la zone de liaison avec une amorce de CS	43
II-2.2. Synthèse de la zone de liaison avec une amorce de Hep	47
II-2.3. Synthèses de la zone de liaison liée à une D-GalNAc par une liaison α	49
III- OBJECTIFS ET STRATÉGIE DE SYNTHÈSE	52
III-1. Objectifs de recherche	54
III-2. Stratégie de synthèse pour accéder aux di- et trisaccharides sulfatés	56
IV- SYNTHÈSE	60
IV-1. Synthèse du disaccharide protégé de la zone de liaison 137	62
IV-1.1. Synthèse du bloc donneur 82	62
IV-1.2. Synthèse du bloc accepteur 138	64
IV-1.3. Synthèse du disaccharide 137	66
IV-2. Synthèses des disaccharides finaux sulfatés ou non	69
IV-2.1. Synthèse du disaccharide 6-sulfaté 129	69
IV-2.2. Synthèse du disaccharide 4-sulfaté 130	71
IV-2.3. Synthèse du disaccharide non sulfaté 128	72
IV-3. Synthèse des trisaccharides de la zone de liaison possédant	73
la première unité des CS	

IV-3.1. Préparation de la D-galactosamine 111	73
IV-3.2. Synthèse du précurseur trisaccharidique 159	73
IV-3.3. Synthèse du trisaccharide 6-sulfaté 132	75
IV-3.4. Synthèse du trisaccharide 4-sulfaté 133	76
IV-3.5. Synthèse du trisaccharide non sulfaté 131	78
IV-4. Synthèse des trisaccharides de la zone de liaison possédant la première unité des HS	79
IV-4.1. Préparation de la D-glucosamine 139	79
IV-4.2. Synthèse du précurseur trisaccharidique 167	80
IV-4.2.1. Glycosylation	80
IV-4.2.2. Réduction du groupement azido	85
IV-4.2.3. Déprotection du silylène	86
IV-4.3. Synthèse du trisaccharide 6-sulfaté 135	86
IV-4.4. Synthèse du trisaccharide 4-sulfaté 136	87
IV-4.5. Synthèse du trisaccharide non sulfaté 134	90
IV-5. Synthèses de composés fluorés – Travail préliminaire	91
IV-5.1. Préparation des précurseurs 183 et 184	91
IV-5.2. Fluoration de la position 6	93
IV-6. Conclusion	95
V- NOUVELLES MÉTHODES D’ACTIVATION POUR L’OBTENTION DE SUCRES SULFATÉS	98
V-1. Introduction sur ces différentes méthodes	100
V-1.1. Le principe du micro-ondes (MW)	100
V-1.2. La chimie de flux continu	102
V-2. Sulfatation exhaustive	103
V-2.1. Sulfatation de la position 4	103
V-2.2. Disulfatation des positions 4 et 6	105
V-3. Sulfatation régiosélective de la position 6	107
V-4. Application sur les di- et trisaccharides	109
V-4.1. Application sur un disaccharide D-Gal-D-Gal	109
V-4.2. Application sur nos composés	111
V-4.2.1. 6-Sulfatation	111
V-4.2.2. 4-Sulfatation	112
V-5. Conclusion	113
VI- UTILISATION DE SULFATASES POUR L’OBTENTION DE SUCRES MONOSULFATÉS	116
VI-1. Généralités sur les sulfatases	118
VI-2. Projet envisagé	120
VI-2.1. Choix et synthèse des composés	120
VI-2.2. Choix des sulfatases	121
VI-3. Résultats préliminaires	122
VI-4. Conclusion	124
VII- CONCLUSION ET PERSPECTIVES	126

VII-1. Conclusion.....	128
VII-2. Perspectives.....	130
VIII- PARTIE EXPÉRIMENTALE.....	132
IX- ANNEXES.....	204
X- RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	216

ABRÉVIATIONS

A	Abalone
Å	Angström
Ac	Acétyle
All	Allyle
BAIB	<i>Bis</i> acétoxy iodobenzène
Bn	Benzyle
^t Bu	<i>Tert</i> -Butyle
Bz	Benzoyle
CAN	Nitrate d'Ammonium Cérique
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
ChSy	Synthase de CS
ChPF	Chondroïtine Polymerizing Factor
CS	Sulfate de Chondroïtine
CSA	Acide CamphreSulfonique
CTC	Chauffage Thermique Classique
DAST	Trifluorure de diéthylaminosulfure
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène
DCC	<i>N,N'</i> -Dicyclohexylcarbodiimide
DCU	Dicyclohexyl urée
diTBSdiOTf	Di- <i>tert</i> -butylsilylbis(trifluorométhanesulfonate)
DMAP	Diméthylaminopyridine
DMF	<i>N,N</i> -Diméthylformamide
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DMTST	Triflate de diméthyl(méthylthio)sulfonium
DS	Sulfate de Dermatane
EP	Ether de pétrole
éq.	Equivalent molaire
Et	Ethyle
EXT	Exostose
EXTL	Exostosin-like
FGFR	Fibroblast Growth Factor Receptor
D-Gal	D-Galactose
D-GalN	D-Galactosamine
D-GalNAc	<i>N</i> -Acétyl-D-galactosamine
GAGs	Glycosaminoglycanes
D-Glc	D-Glucose
D-GlcA	Acide D-glucuronique
D-GlcN	D-Glucosamine
D-GlcNAc	<i>N</i> -Acétyl-D-glucosamine
Gly	Glycine
GTs	Glycosyltransférases
h	Heure

HA	Acide Hyaluronique
Hep	Héparine
HMDS	Hexaméthylidisilazane
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HS	Sulfate d'Héparane
Hz	Hertz
L-IdoA	Acide L-iduronique
<i>J</i>	Constante de couplage
<i>j</i>	Jour
KS	Sulfate de Kératane
<i>L</i>	<i>Patella vulgata</i>
Lev	Lévulinoyle
MBz	4-Méthoxybenzoyle
Me	Méthyle
min	Minute
pMBn	<i>p</i> -Méthoxybenzylidène
MN	7-Méthyl-2-naphtyle
MP	4-Méthoxyphényle
MS	Molecular Sieves
MW	Micro-ondes
NAP	2-Naphtylméthyle
NIS	<i>N</i> -Iodosuccinimide
PFA	Perfluoralkoxy
Piv	Pivaloyle
PGs	Protéoglycanes
pNP	<i>Para</i> -nitrophénol
ppm	Partie Par Millions
PTFA	<i>N</i> -phényl trifluoroacétamide
PTFE	Polytétrafluoroéthylène
Pyr	Pyridine
RE	Réticulum Endoplasmique
RMN	Résonnance Magnétique Nucléaire
<i>S</i>	<i>Helix pomatia</i>
Ser	Sérine
S_N2	Substitution Nucléophile de type 2
S_Ni	Substitution Nucléophile Intramoléculaire
TBAF	Fluorure de tétra- <i>n</i> -butylammonium
TBAN	Nitrite de tétrabutylammonium
TBDMS	<i>Tert</i> -butyldiméthylsilyle
TBDPS	<i>Tert</i> -butyldiphénylsilyle
TCA	Trichloroacétamide
TEMPO	(2,2,6,6-Tétraméthylpipéridin-1-yl)oxy
Tf	Triflate
TFA	Acide Trifluoroacétique
TfOH	Acide triflique

THF	Tétrahydrofurane
TMSCl	Chlorure de Triméthylsilyle
TMSOTf	Triflate de Triméthylsilyle
UDP	Uracilyldiphosphate
D-Xyl	D-Xylose
Z	Benzyloxycarbonyle

I- INTRODUCTION BIOLOGIQUE

I-1. Les protéoglycanes

Les protéoglycanes (PGs) sont des macromolécules complexes composées d'une protéine porteuse ou *core protein* sur laquelle sont greffées de façon covalente des chaînes polysaccharidiques, les glycosaminoglycanes (GAGs), par l'intermédiaire d'une zone de liaison tétrasaccharidique, commune à une grande majorité de GAGs¹ (Figure 1).



Figure 1 : Protéoglycane schématisé

Les protéoglycanes présentent une grande diversité moléculaire liée à l'hétérogénéité de la protéine porteuse et à la grande diversité des chaînes des GAGs mais également à leur localisation extracellulaire, membranaire ou intracellulaire.¹ Ces variabilités expliquent l'importance des PGs dans de nombreux processus physiologiques et pathologiques. Leurs rôles dans les processus biologiques sont variés : reconnaissance, croissance et différenciation cellulaire, maintien de l'intégrité structurale de tissus cognitifs, infections virales et bactériennes notamment.^{1,2} Ils sont également impliqués dans de nombreuses maladies comme l'arthrose, l'athérosclérose, la maladie d'Alzheimer, des maladies génétiques ou certains cancers.^{3,4,5}

I-1.1. La protéine porteuse ou *core protein*

La partie protéique des PGs détermine leur localisation et leur distribution dans la cellule, *via* sa taille et sa nature. Il existe une protéine porteuse propre à chaque famille de PGs, dont la taille varie de 10 à plus de 500 kDa. Les structures de ces protéines sont uniques mais il semble que le motif « Ser-Gly-X-Gly », où X est un acide aminé quelconque, soit commun à de nombreuses séquences protéiques, avec le résidu L-Serine comme site potentiel d'accroche des GAGs.^{1,6}

¹ Kjellen, L., Lindahl, U., *Annu. Rev. Biochem.*, **1991**, 60, 443-475

² Pedersen, L. C., Tsuchida, K., Kitagawa, H., Sugahara, K., Darden, T. A., Nigishi, M., *J. Biol. Chem.*, **2000**, 275, 34580-34585

³ Sugahara, K., Mikami, T., Uyama, T., Mizuguchi, S., Nomura, K., Kitagawa, H., *Current Opinion Struct. Biol.*, **2003**, 13, 612-620

⁴ Wegrowski, Y., Maquart, F.-X., *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, **2004**, 49, 259-268

⁵ Praillet, C., Lortat-Jacob, H., Grimaud, J.-A., *medecine/sciences*, **1998**, 14, 421-428

⁶ Thèse de Catherine Bui, Université Henry Poincaré, Nancy I, **2009**

I-1.2. La zone de liaison

Sur ce résidu L-Sérine est greffée la zone de liaison des PGs. Celle-ci est constituée de quatre unités saccharidiques, un D-xylose, deux D-galactoses et un acide D-glucuronique (D-GlcA- β -(1 $\rightarrow$ 3)-D-Gal- β -(1 $\rightarrow$ 3)-D-Gal- β -(1 $\rightarrow$ 4)-D-Xyl- β -O-) (*Figure 2*). Elle initie la polymérisation des GAGs et est commune à la majorité d'entre eux, excepté l'acide hyaluronique qui n'est pas lié à une protéine.

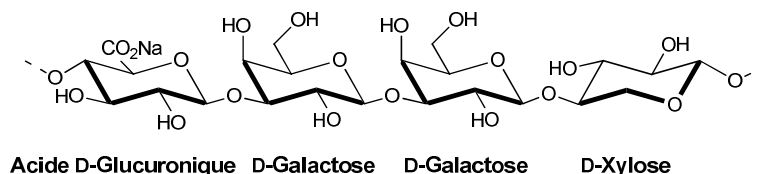


Figure 2 : Zone de liaison des PGs

De nombreuses études ont montré que cette zone de liaison pouvait être modifiée en diverses positions (*Voir chapitre I-3.3. Orientation de la biosynthèse*).

I-1.3. Les glycosaminoglycanes

Les glycosaminoglycanes sont des chaînes polysaccharidiques linéaires, le plus souvent composées d'un motif disaccharidique répétitif formé d'une hexosamine (D-glucosamine (D-GlcN) ou D-galactosamine (D-GalN)) et d'un acide uronique (acides D-glucuronique (D-GlcA) ou L-iduronique (L-IdoA)).^{7,8} Le nombre de ces unités répétitives varie de 5 (dans le sulfate de kératane) à plus de 5000 (pour l'acide hyaluronique).

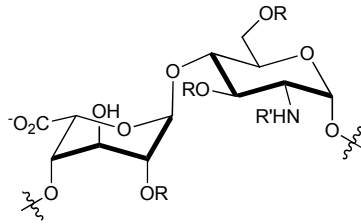
Les GAGs se différencient par leur hexosamine et sont ainsi répartis en deux grandes familles : les glucosaminoglycanes si l'hexosamine est la D-glucosamine et les galactosaminoglycanes qui possèdent la D-galactosamine mais ils peuvent aussi être séparés en quatre classes : (I) l'acide hyaluronique (HA), (II) l'héparine (Hep) / le sulfate d'héparane (HS), (III) le sulfate de chondroïtine (CS) et de dermatane (DS) et enfin (IV) le sulfate de kératane (KS).⁹ Ci-dessous sont présentées les formes majoritaires des différents GAGs (*Figure 3*).

⁷ Lindhardt, R. J., Toida, T., *Acc. Chem. Res.*, **2004**, 37, 431-438

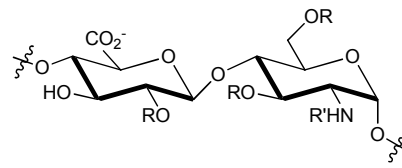
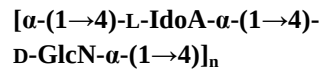
⁸ Lindahl, U., Höök, M., *Ann. Rev. Biochem.*, **1978**, 47, 385-417

⁹ Mende, M., Bednarek, C., Wawryszyn, M., Sauter, P., Biskup, M. B., Schepers, U., Bräse, S., *Chem. Rev.*, **2016**, 116, 8193-8255

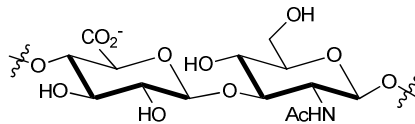
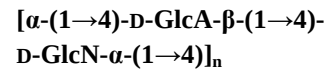
Les glucosaminoglycanes



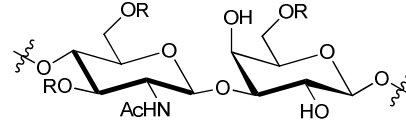
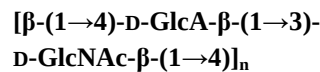
Héparine (Hep)



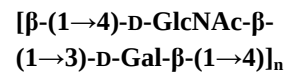
Sulfate d'Héparane (HS)



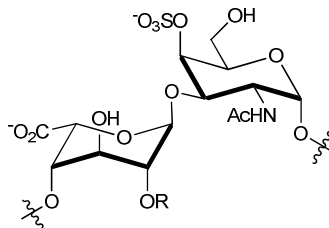
Acide Hyaluronique (HA)



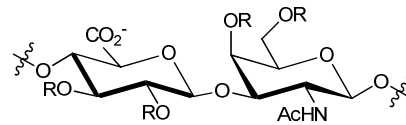
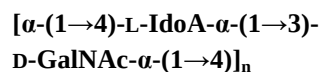
Sulfate de Kératane (KS)



Les galactosaminoglycanes



Sulfate de Dermatan (DS)



Sulfate de Chondroïtine (CS)

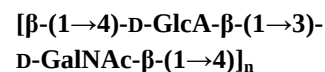


Figure 3 : Structures des différentes unités disaccharidiques des GAGs

L'HA a la particularité de ne pas être lié à une protéine et le KS ne possède pas d'acide uronique. Les CS, HA et KS possèdent un motif disaccharidique répétitif unique alors que les DS, Hep et HS possèdent à la fois des D-GlcA et des L-IdoA. Les GAGs peuvent également être acétylés ou non sur l'amine et/ou sulfatés (N- ou O-sulfonations).¹ L'ensemble de ces modifications détermine la localisation des différents GAGs. Par exemple les KS se retrouvent dans le cartilage ou la cornée alors que les DS se retrouvent dans la peau et les tendons notamment (*Tableau 1*).⁸

Tableau 1 : Exemples de localisation des GAGs

GAGs	Exemples de localisation
<i>HA</i>	Peau, humeur vitrée, cordon ombilical, cartilage
<i>CS</i>	Cartilage, cornée, os, peau, paroi artérielle
<i>DS</i>	Peau, valve du cœur, tendon, paroi artérielle
<i>HS</i>	Poumon, paroi artérielle
<i>Hep</i>	Foie, poumon, peau, muqueuses intestinales
<i>KS</i>	Cartilage, cornée, disques vertébraux

I-1.4. Deux exemples de maladies liées aux PGs

Comme indiqué précédemment, les PGs ont une localisation variée et sont impliqués dans divers processus physiologiques et pathologiques. Les paragraphes qui vont suivre vont traiter deux exemples de maladies dans lesquelles sont impliqués les PGs.

L'arthrose est la maladie articulaire la plus fréquente et touche environ 70% de la population française de plus de 65 ans.¹⁰ Elle se caractérise par la dégradation progressive du cartilage et s'accompagne donc de douleurs persistantes aux articulations.¹¹ Les articulations les plus touchées, pour les personnes âgées de 65 à 75 ans, sont la colonne vertébrale (70-75%), les doigts (60%), le genou (30%) et les hanches (10%) mais toutes les autres articulations peuvent être touchées, même si cela est plus rare.¹⁰ Les principaux facteurs de risque conduisant à cette maladie sont l'âge, la surcharge pondérale, les traumatismes et des facteurs hormonaux, les femmes étant plus touchées que les hommes.¹²

Les PGs sont des composants majeurs du cartilage, avec l'eau et les fibres de collagènes. Ces protéoglycanes sont de deux types, ceux de haut poids moléculaire (aggrécane) et ceux de plus petit poids moléculaire (décorine, biglycane...).¹³ Les aggrécanes contribuent à l'hydrophilie de la matrice extracellulaire du cartilage et sont intégrés dans le réseau formé par les fibres de collagène. Les GAGs présents dans l'aggrécane sont le sulfate de chondroïtine, qui est majoritaire et principalement sulfaté en position 6 et 4, avec un rapport C6S/C4S grand, et le sulfate de kératane.

Dans le processus arthrosique, il y a un déséquilibre synthèse-dégradation de l'aggrécane, ce qui induit des modifications quantitatives et qualitatives des PGs.¹⁴ Il a notamment été montré que le rapport C6S/C4S diminuait avec l'aggravation de l'arthrose.¹³ Ces différentes modifications entraînent un dommage du réseau des fibres de collagène et conduisent donc progressivement à la dégradation du cartilage.

Les protéoglycanes sont également impliqués dans différents cancers, comme celui du pancréas, du sein ou encore du poumon. Les cancers sont liés à un dysfonctionnement des mécanismes de régulation de notre organisme et provoquent la prolifération de cellules de manière anarchique. Ces maladies touchent aussi bien les hommes que les femmes, quelque soit leur âge. En France, on estime que 3 millions de personnes de 15 ans et plus, en vie en

¹⁰ www.inserm.fr/thematiques/physiopathologie-metabolisme-nutrition/dossiers-d-information/arthrose

¹¹ www.vulgaris-medical.com

¹² public.larhumatologie.fr/grandes-maladies/arthrose

¹³ Pertuiset, E., *Rev. Rhum.*, **2002**, 69, 157-170

¹⁴ Caterson, B., Flannery, C. R., Hugues, C. E., Little, C. B., *Matrix Biology*, **2000**, 19, 333-344

2008, ont eu un cancer au cours de leur vie. Les cancers les plus courants sont ceux de la prostate, du sein, du côlon-rectum et celui du poumon.¹⁵

Les protéoglycanes et notamment le sulfate d'héparane jouent un rôle dans le cancer.¹⁶ Celui-ci est présent à la surface de nombreuses cellules, y compris les cellules tumorales. Le HS semble être un signal pour réguler la croissance, la prolifération et la migration de ces cellules. Il semble également impliqué dans la transformation des cellules en cellules cancéreuses et dans la régulation des métastases.

Dans le cas du cancer du poumon, les HS présents à la surface des cellules sont surexprimés. Ces changements pourraient augmenter le signal permettant la croissance des cellules cancéreuses. En effet, les résidus sulfatés des HS sont nécessaires pour activer le récepteur du facteur de croissance, FGFR (fibroblast growth factor receptor), et permettent la stabilisation du complexe ligand-récepteur.¹⁷

On comprend donc bien l'importance des PGs dans les processus biologiques et les pathologies. Il est donc crucial de comprendre la biosynthèse de ces PGs, et notamment les mécanismes des différentes enzymes impliquées dans ce processus, qui pourraient alors devenir de potentielles cibles thérapeutiques.

I-2. La biosynthèse des protéoglycanes

La diversité moléculaire des PGs est générée au cours de leur biosynthèse. Cette dernière fait intervenir de nombreuses enzymes¹⁸ et débute, comme pour les autres glycoprotéines, par la formation de la protéine porteuse dans le réticulum endoplasmique (RE). Les chaînes glycosidiques sont ensuite formées dans le RE et dans l'appareil de Golgi, avec l'accroche des différentes unités de la zone de liaison sur la protéine porteuse et l'élongation des chaînes de GAGs.

La biosynthèse de cette amorce tétrasaccharidique se fait par additions successives des différents monosaccharides qui la composent et débute par le transfert d'un D-xylose sur le résidu L-sérine par l'action de la D-xylosyltransférase (XylT-1).¹⁹ Les deux D-galactoses sont ensuite ajoutés par action successive de deux galactosyltransférases, la β 4GalT-7 et la β 3GalT-6.^{20,21} L'acide glucuronique est ensuite ajouté *via* une glucuronyltransférase (GlcAT-1)²² (Schéma 1).

¹⁵ <http://www.e-cancer.fr/>

¹⁶ Sasisekharan, R., Shriver, Z., Venkataram, G., Narayanasami, U., *Nat. Rev. Cancer*, **2002**, 2, 521-528

¹⁷ Raman, K., Kuberan, B., *Curr. Chem. Biol.*, **2010**, 4, 20-31

¹⁸ Sugahara, K., Kitagawa, H., *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **2000**, 10, 518-527

¹⁹ Götting, C., Kuhn, J., Zahn, R., Brinkmann, T., Kleesiek, K., *J. Mol. Biol.*, **2000**, 304, 417-528

²⁰ Almeida, R., Levery, S. B., Mandel, U., Kresse, H., Schwientek, T., Bennett, E. P., Clausen, H., *J. Biol. Chem.*, **1999**, 274, 26165-26171

²¹ Bai, X., Zhou, D., Brown, J. R., Crawford, B. E., Hennet, T., Esko, J. D., *J. Biol. Chem.*, **2001**, 276, 48186-48195

²² Kitagawa, H., Tone, Y., Tamura, J.-I., Neumann, K. W., Ogawa, T., Oka, S., Kawasaki, T., Sugahara, K., *J. Biol. Chem.*, **1998**, 273, 6615-6618

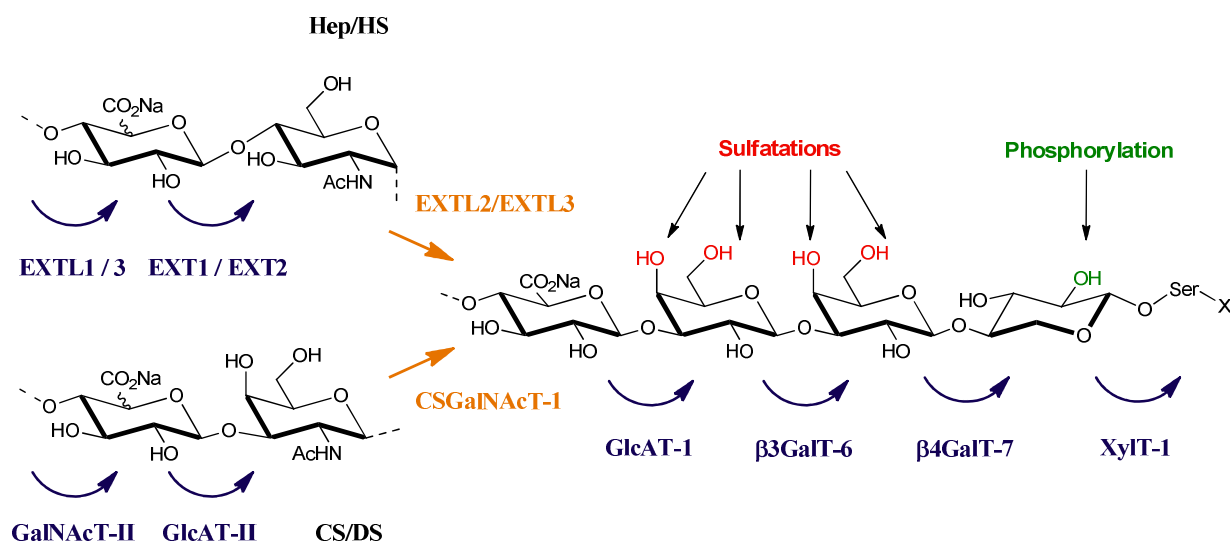


Schéma 1 : Biosynthèse des PGs

L'orientation de la biosynthèse des GAGs se fait par le transfert du cinquième motif saccharidique sur la zone de liaison. Si le sucre transféré est la *N*-acétyl-D-galactosamine (D-GalNAc), la biosynthèse s'orientera vers les CS/DS avec l'action de la *N*-acétylgalatosylaminyltransférase (CSGalNAcT-1). L'action des exostosin-like O-glycosyltransférases (EXTL2/EXTL3) avec l'addition de la *N*-acétyl-D-glucosamine (D-GlcNAc) conduira aux HS/Hep. Ces deux enzymes seront détaillées dans le chapitre I-3. Les enzymes de bifurcation.

La polymérisation des différentes chaînes de GAGs se fait ensuite par l'action de différentes enzymes.¹⁸ La GlcAT-II et la GalNAcT-II ainsi que différentes synthases de sulfate de chondroïtine (ChSy), qui utilisent un cofacteur, le chondroïtin polymerizing factor (ChPF), permettent l'élongation des chaînes de CS/DS. Pour les Hep/HS il s'agit de différentes exostoses EXT1 et EXT2 qui ont des activités de GlcAT-II et de l'EXTL1 et l'EXTL3 qui jouent ici le rôle de GlcNAcT-II.²³ Par ailleurs, différentes épimérase, afin d'obtenir les deux type d'acides (D-glucuronique ou L-iduronique), et différentes sulfotransférases²⁴ (O- et N-sulfotransférases, 4- et 6-sulfotransférases), nécessaires à la sulfatation de chaque position, permettent d'accéder aux GAGs finaux, qui peuvent également être acétylés ou non sur l'amine.

Au cours de la biosynthèse, des modifications chimiques de la zone de liaison (phosphorylation de la position 2 du xylose et/ou sulfatation des positions 4 ou 6 des galactoses) peuvent avoir lieu et influencer cette biosynthèse (*Voir chapitre I-3.3. Orientation de la biosynthèse*).

Les différentes modifications biochimiques de la zone de liaison influencent donc l'activité des différentes enzymes de la biosynthèse des PGs, au niveau de la formation de

²³ Busse, M., Feta, A., Presto, J., Wilén, M., Grønning, M., Kjellén, L., Kusche-Gullberg, M., *J. Biol. Chem.*, **2007**, 282, 32802-32810

²⁴ Habuchi, O., *Biochim. Biophys. Acta*, **2000**, 1474, 115-127

cette zone de liaison mais également au niveau de l'élargissement des chaînes polysaccharidiques et probablement aussi de l'orientation de la synthèse vers les CS/DS ou les Hep/HS.

I-3. Les enzymes de bifurcation

Comme indiqué dans le chapitre précédent, l'orientation de la biosynthèse se fait lors de l'ajout du cinquième motif saccharidique et fait intervenir différentes enzymes : la CSGalNAcT-1 qui mène aux CS/DS ou les EXTL2/EXTL3 pour aller vers les Hep/HS (Schéma 2). Mais il n'existe que peu de données sur ces enzymes dans la littérature.

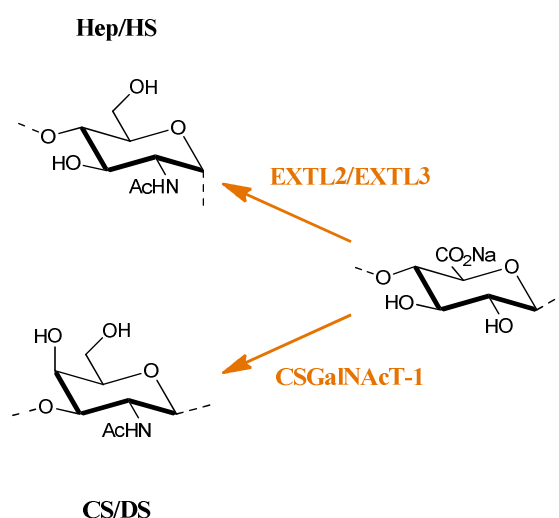


Schéma 2 : Les enzymes de bifurcation

I-3.1. La CSGalNAcT-1

L'orientation de la biosynthèse vers les CS/DS se fait par le transfert d'un résidu *N*-acétylgalactosamine D-GalNAc à partir de l'UDP-D-GalNAc via l'action de la CS-*N*-acétylgalactosaminyltransférase (CSGalNAcT-1). L'implication de cette enzyme a été montrée en 1999 par l'équipe de Sugahara²⁵ qui a réalisé la première réaction de transfert d'un D-GalNAc avec une liaison β -1,4 sur la zone de liaison liée à l' α -thrombomoduline.

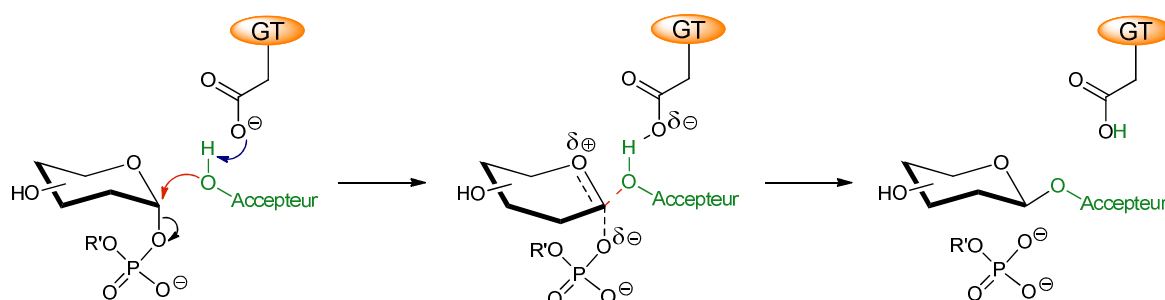
Cette enzyme fait partie de la famille des glycosyltransférases (GTs). Ces enzymes catalysent le transfert d'un monosaccharide, activé majoritairement par un groupement phosphaté (comme l'uracyldiphosphate UDP), sur une molécule accepteur possédant, le plus souvent, un groupement hydroxyle, mais aussi quelques fois un nucléophile azoté, sulfuré ou carboné.²⁶ Certaines GTs utilisent des ions divalents comme cofacteurs lors des réactions enzymatiques (Mn^{2+} ou Mg^{2+}).²⁶

²⁵ Nadanaka, S., Kitagawa, H., Goto, F., Tamura, J.-I., Neumann, K. W., Ogawa, T., Sugahara, K., *Biochem. J.*, **1999**, 340, 353-357

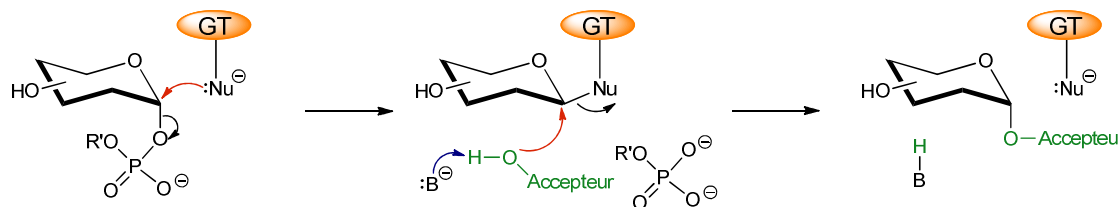
²⁶ Lairson, L. L., Henrissat, B., Davies, G. J., Withers, S. G., *Annu. Rev. Biochem.*, **2008**, 77, 521-555

Deux types de mécanismes existent pour les GTs, avec inversion ou rétention de configuration du carbone anomérique du sucre donneur.^{27,28} Le mécanisme d'inversion de configuration est un mécanisme de type S_N2 , qui passe par un état de transition de type « ion oxocarbénium » et qui est catalysé par une base, qui augmente la nucléophilie du groupement attaquant. Le mécanisme de rétention de configuration est, quant à lui, encore controversé aujourd'hui. La première possibilité est un mécanisme de double déplacement avec la formation d'un intermédiaire covalent entre un résidu de l'enzyme et le sucre. La seconde possibilité est un mécanisme de type S_Ni dans lequel il y a une interaction entre le groupement phosphate et l'accepteur nucléophile, avec la formation d'un ion oxocarbénium (Schéma 3).

Mécanisme d'inversion de configuration



Mécanisme de double déplacement



Mécanisme de type S_Ni

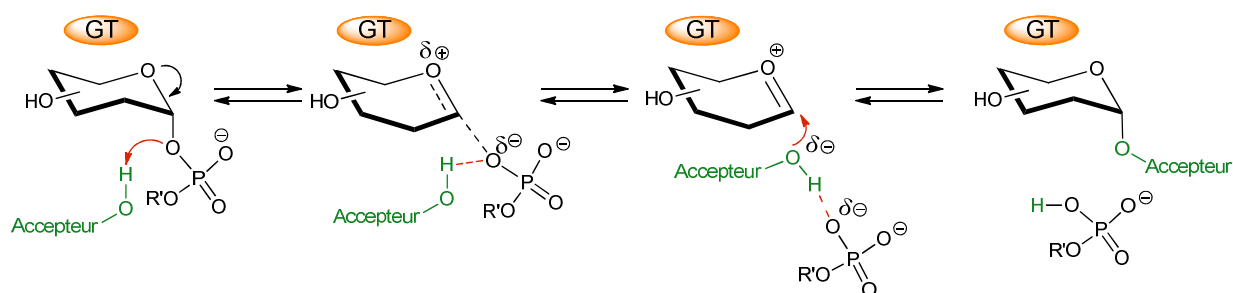


Schéma 3 : Mécanismes possibles pour les GTs

²⁷ Breton, C., Fournel-Gigleux, S., Palcic, M. M., *Curr. Opin. Struc. Biol.*, **2012**, 22, 540-549

²⁸ Ardèvol, A., Iglesias-Fernández, J., Rojas-Cervellera, V., Rovira, C., *Biochem. Soc. Trans.*, **2016**, 44, 51-60

La CSGalNAcT-1, glycosyltransférase qui nous intéresse plus particulièrement, catalyse le transfert du D-GalNAc sur l'hydroxyle en position 4 de l'acide glucuronique de la zone de liaison, en suivant le mécanisme d'inversion de configuration.

I-3.2. L'EXTL2 et l'EXTL3

La biosynthèse des chaînes de GAGs s'oriente vers les Hep/HS lorsque le résidu *N*-acétylglucosamine D-GlcNAc est transféré sur l'acide glucuronique de la zone de liaison à partir de l'UDP-D-GlcNAc.

La *N*-acétylglucosaminyltransférase I (GlcNAcT-I) fut l'enzyme initialement identifiée pour catalyser cette réaction clé.²⁹ Quelques années plus tard, il a été montré que les glycosyltransférases impliquées dans la biosynthèse des Hep/HS étaient fortement associées à une famille de gènes nommés exostoses (EXT) et à leurs homologues EXTL (EXT-like) découverts par la suite.^{30,31} Ces gènes font parti d'une famille de « suppresseurs de tumeurs ». En 1999, l'équipe de Sugahara a montré que le gène EXTL2 encodait une α -1,4-*N*-acétylhexosaminyltransférase du même nom, capable de transférer des D-GalNAc et des D-GlcNAc sur la zone de liaison des protéoglycanes.³² La structure cristallographique de cette enzyme, issue de la souris, a été résolue en 2003 et cette étude a montré un mécanisme de rétention de configuration, suivant probablement celui de type S_Ni.³³ A notre connaissance, la structure cristallographique de l'enzyme humaine n'est toujours pas résolue. L'équipe de Sugahara a également observé des résultats intéressants avec les EXTL1 et EXTL3.³⁴ En effet, l'EXTL3 montre une activité de *N*-acétylglucosaminyltransférase I et II (GlcNAcT-I et GlcNAcT-II), qui permet respectivement le transfert du premier D-GlcNAc et celui des suivants, et est donc impliqué dans l'initiation et l'élongation des chaînes de Hep/HS. En revanche, l'EXTL1 ne montre qu'une activité de GlcNAcT-II et n'est donc impliqué que dans l'élongation des chaînes.

Ainsi les deux enzymes connues à ce jour pour initier la synthèse des chaînes d'Hep/HS sont l'EXTL2, qui peut transférer des D-GalNAc et des D-GlcNAc, et l'EXTL3, qui permet également l'élongation de cette chaîne de GAGs.³⁵

I-3.3. Orientation de la biosynthèse

Bien que les enzymes permettant d'accéder aux différents types de chaînes de GAGs, les CS/DS et les Hep/HS, soient relativement connues aujourd'hui, le ou les mécanisme(s)

²⁹ Fritz, T. A., Lagemwa, F. N., Sarkar, A. K., Esko, J. D., *J. Biol. Chem.*, **1994**, 269, 300-307

³⁰ Wise, C. A., Clines, G. A., Massa, H., Trask, B. J., Lovett, M., *Genome Res.*, **1997**, 7, 10-16

³¹ Van Hul, W., Wuyts, W., Hendrickx, J., Speleman, F., Wauters, J., De Boulle, K., Van Roy, N., Bossuyt, P., Willems, P. J., *Genomics*, **1998**, 47, 230-237

³² Kitagawa, H., Shimakawa, H., Sugahara, K., *J. Biol. Chem.*, **1999**, 274, 13933-13937

³³ Pedersen, L. C., Dong, J., Taniguchi, F., Kitagawa, H., Krahm, J. M., Pedersen, L. G., Sugahara, K., Nigishi, M., *J. Biol. Chem.*, **2003**, 278, 14420-14428

³⁴ Kim, B.-T., Kitagawa, H., Tamura, J.-I., Saito, T., Kushe-Gullberg, M., Lindahl, U., Sugahara, K., *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, **2001**, 98, 7176-7181

³⁵ Busse-Wicher, M., Wicher, K. B., Kusche-Gullberg, M., *Matrix Biology*, **2014**, 35, 25-33

qui oriente(nt) la biosynthèse vers l'un ou l'autre type de GAGs est encore incertain. En plus des GTs impliquées, deux grands types de modifications biochimiques sur la zone de liaison semblent avoir une influence sur certaines enzymes de la biosynthèse mais leur rôle n'est pas encore bien déterminé sur les enzymes de bifurcations (*Figure 4*).

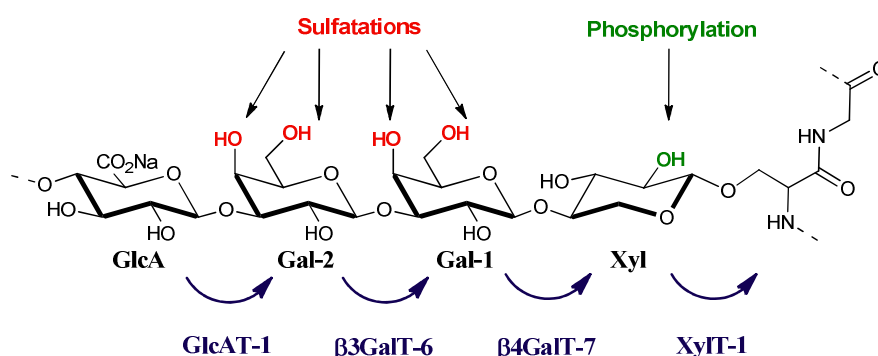


Figure 4 : Biosynthèse de la zone de liaison

La première modification est la 2-*O*-phosphorylation du D-xylose. Cette modification a été observée pour la première fois au cours des années quatre-vingt sur des sulfates de chondroïtine et sur des sulfates d'héparane.^{36,37} En 2008, il a été montré que la 2-*O*-phosphorylation du D-xylose augmentait l'activité de la GlcAT-1, comparativement au composé non phosphorylé.³⁸ Cette modification semble également avoir un impact sur la β4GalT-7 puisque le xylose phosphorylé inhibe l'activité de celle-ci.³⁹ De plus, il a été observé que la 2-*O*-phosphorylation du D-xylose avait également un effet sur la CSGalNAcT-1. En effet, cette enzyme en présence de la zone de liaison phosphorylée ou non transférerait de manière préférentielle le tétrasaccharide phosphorylé.⁴⁰

La seconde modification est la sulfatation des positions 4 et/ou 6 d'un ou des deux D-galactoses de la zone de liaison. Ces sulfatations ont été observées sur des CS par l'équipe de K. Sugahara.^{41,42,43} En revanche, elles sont absentes sur les chaînes d'Hep/HS. Ces différentes sulfatations impactent directement l'activité de la GlcAT-1. En effet, le composé D-Gal-β-1,3-D-Gal(6S)-β-OMP (MP : 4-méthoxyphényl) est meilleur substrat que le disaccharide non sulfaté. En revanche, aucune activité de cette enzyme n'a été observée en présence de sulfates sur la position 4 du Gal-1 ou les positions 4 ou 6 du Gal-2.^{39,44} De plus, il a été observé

³⁶ Oegema, T. R., Kraft, E. L., Jourdian, G. W., Van Valen, T. R., *J. Biol. Chem.*, **1984**, 259, 1720-1726

³⁷ Fransson, L.-A., Silveberg, I., Carlstedt, I., *J. Biol. Chem.*, **1985**, 260, 14722-14726

³⁸ Tone, Y., Pederson, L. C., Yamamoto, T., Izumikawa, T., Kitagawa, H., Nishihara, J., Tamura, J.-I., Negishi, M., Sugahara, K., *J. Biol. Chem.*, **2008**, 283, 16801-16807

³⁹ Gulberti, S., Lattard, V., Frondeur, M., Jacquinet, J.-C., Mulliert, G., Netter, P., Magdalou, J., Ouzzine, M., Fournel-Gigleux, S., *The Scientific World Journal*, **2005**, 5, 510-514

⁴⁰ Izumikawa, T., Sato, B., Mikami, T., Tamura, J.-I., Igarashi, M., Kitagawa, H., *J. Biol. Chem.*, **2015**, 290, 5438-5448

⁴¹ Sugahara, K., Yamashima, I., De Waard, P., Van Halbeek, H., Vliegthart, J. F. G., *J. Biol. Chem.*, **1988**, 263, 10168-10174

⁴² Yamada, S., Oyama, M., Yuki, Y., Kato, K., Sugahara, K., *Eur. J. Biochem.*, **1995**, 233, 687-693

⁴³ Kitagawa, H., Oyama, M., Masayama, K., Yamaguchi, Y., Sugahara, K., *Glycobiology*, **1997**, 7, 1175-1180

⁴⁴ Gulberti, S., Lattard, V., Frondeur, M., Jacquinet, J.-C., Mulliert, G., Netter, P., Magdalou, J., Ouzzine, M., Fournel-Gigleux, S., *J. Biol. Chem.*, **2005**, 280, 1417-1425

récemment que les sulfates avaient également un impact important sur la CSGalNAcT-1.⁴⁵ Ainsi le motif GlcA-Gal-Gal, suffisant pour être substrat, est un meilleur substrat de cette enzyme lorsqu'il est sulfaté sur les positions 4 ou 6 du Gal-1 ou bien la position 6 du Gal-2 mais il est inactif sur cette enzyme quand il est 4-sulfaté sur le Gal-2.

Les modifications biochimiques de la zone de liaison semblent donc influencer la biosynthèse des PGs dès les premières étapes et intervenir dans l'orientation de cette biosynthèse. Mais le rôle de ces différentes modifications reste encore peu connu. Les groupements phosphate et/ou sulfates des diverses positions pourraient agir comme un signal dans la biosynthèse des PGs et contrôler ainsi l'orientation de cette biosynthèse vers les CS/DS ou les Hep/HS.

I-3.4. Nécessité d'une synthèse chimique

Afin de mieux cerner le mécanisme d'action des enzymes de bifurcation, il est nécessaire de comprendre l'importance des modifications et notamment des sulfatations de la zone de la liaison sur l'orientation de la biosynthèse pour mener aux Hep/HS ou aux CS/DS. Cette zone de liaison, possédant des groupements sulfates aux positions désirées, est très difficilement isolable. Il est donc nécessaire de la synthétiser.

L'objectif de ce travail de thèse est donc la synthèse de disaccharides de la zone de liaison, sulfatés ou non sur les positions 4 ou 6 du D-Gal, pour les tester comme substrats de la CSGalNAcT-1 et de l'EXTL3, mais également la synthèse des trisaccharides correspondants, possédant le premier monosaccharide des chaînes de GAGs (D-GlcNAc ou D-GalNAc), comme molécules de référence pour les tests biologiques, afin d'étudier le rôle des sulfates sur ces deux enzymes.

Le chapitre suivant présentera donc quelques exemples de synthèses de la zone de liaison décrits dans la littérature.

⁴⁵ Gulberti, S., Jacquinet, J.-C., Chabel, M., Ramalanjoana, N., Magdalou, J., Netter, P., Coughtrie, M. W. H., Ouzzine, M., Fournel-Gigleux, S., *Glycobiology*, **2012**, 22, 561-571

II- TRAVAUX DE SYNTHÈSES DÉCRITS DANS LA LITTÉRATURE

Le chapitre précédent a montré que la compréhension de la biosynthèse des protéoglycanes ainsi que des mécanismes qui la régissent était cruciale. Il semble en effet nécessaire de comprendre les processus d'orientation de la biosynthèse vers les différentes chaînes de GAGs. Pour cela, de nombreuses équipes ont synthétisé la zone de liaison des PGs totale ou partielle, modifiée (sulfatée et/ou phosphorylée) ou non, possédant ou non une amorce de GAGs.

L'objectif de mon travail de thèse étant à la fois la synthèse de disaccharides sulfatés de la zone de liaison et celles des trisaccharides correspondants comportant le premier motif des GAGs (D-GalNAc et D-GlcNAc), le prochain chapitre est divisé en deux grandes parties. Celui-ci expose, dans un premier temps, de manière non exhaustive, des exemples de synthèses de la zone de liaison ou de certains sucres la composant, possédant un groupement sulfate sur les positions 4 et/ou 6 d'un ou des galactose(s). La synthèse des oligosaccharides possédant une amorce de GAGs est également présentée dans un second temps.

Les synthèses reportées présentent des stratégies convergentes, comportant le moins d'étapes possibles et permettant l'obtention des composés de manière régio- et stéréocontrôlée, notamment pour l'introduction des groupements sulfates.

II-1. Synthèses de la zone de liaison sulfatée

II-1.1. Synthèses de la zone de liaison sulfatée *via* l'utilisation d'un groupement protecteur temporaire

II-1.1.1. Synthèses de la zone de liaison sulfatée en position 4

Sugahara K.⁴¹ a montré en 1988 l'existence d'un groupement sulfate sur la position 4 du Gal-2 de la zone de liaison provenant du cartilage du rat. Suite à ces travaux, en 1992, Goto F. et Ogawa T.⁴⁶ ont reporté la première synthèse totale de la zone de liaison des PGs, possédant un résidu L-sérine comme aglycone, avec un groupement sulfate sur la position 4 du Gal-2, introduit de manière régiocontrôlée (*Figure 5*).

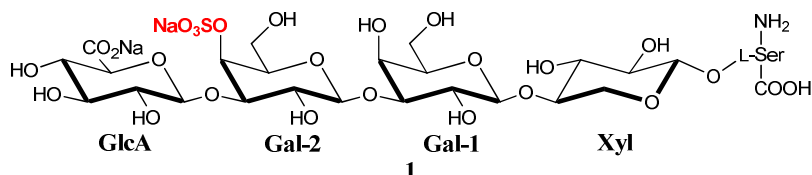


Figure 5 : Zone de liaison synthétisée par Goto F. et Ogawa T.

Cette synthèse a été réalisée par additions successives de motifs monosaccharidiques, suivies de la glycosylation avec le résidu L-sérine puis de la sulfatation de la position 4 du

⁴⁶ Goto, F., Ogawa, T., *Tetrahedron Lett.*, **1992**, 33, 5099-5102

Gal-2 et enfin la déprotection totale du tétrasaccharide pour conduire au composé **1** (Schéma 4).

L'étape clé de cette synthèse est l'obtention du tétrasaccharide **2**, qui possède un groupement protecteur temporaire, le groupement lévulinoyle (Lev), en position 4 du Gal-2, permettant, après déprotection sélective, de sulfater cette position spécifiquement.

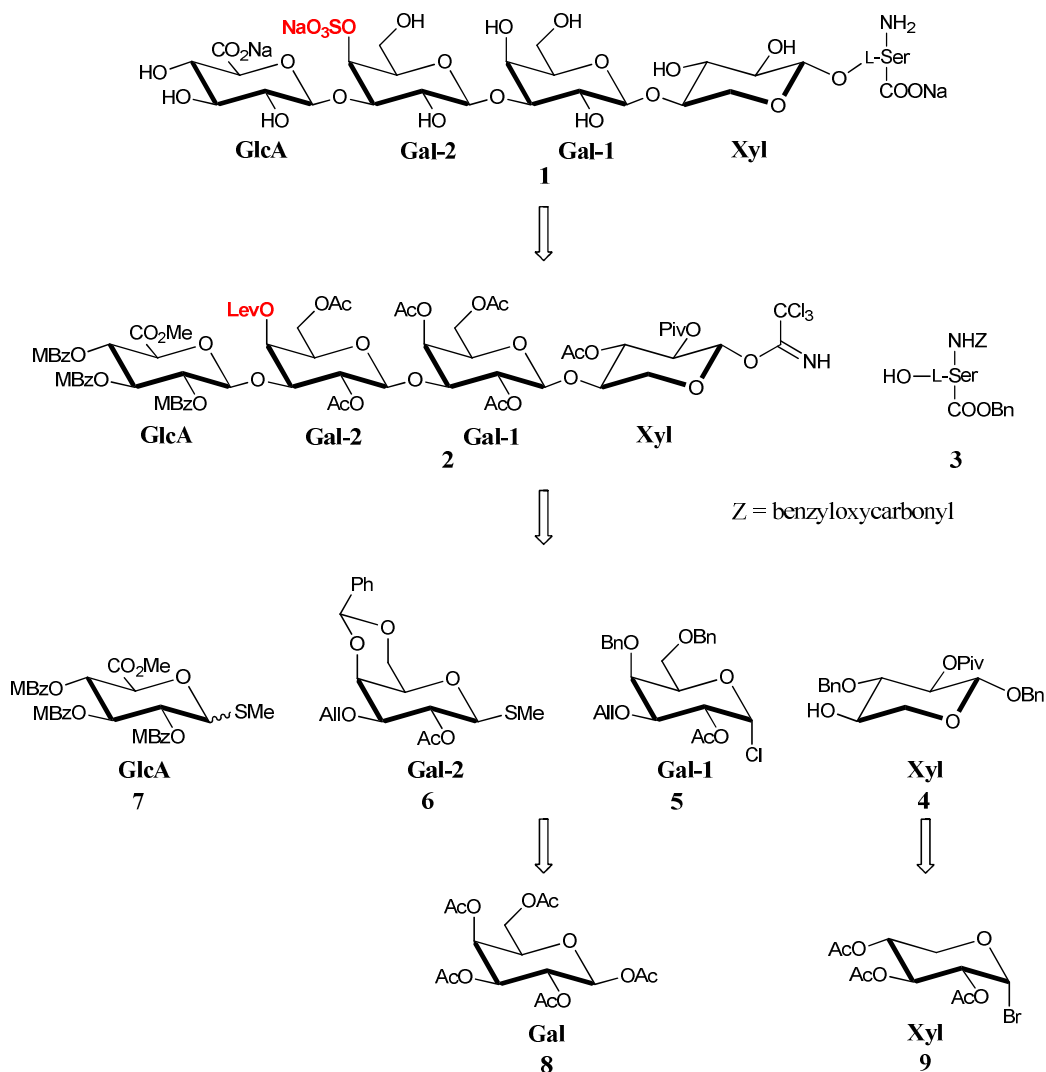


Schéma 4 : Rétrosynthèse du composé **1**

Le composé **2** est obtenu à partir des quatre monosaccharides **4-7**. Les deux D-galactoses, **5** et **6**, sont obtenus à partir du D-galactose peracétylé **8**, après des étapes de protections régiosélectives. Le composé **5** possède des groupements benzyles sur les positions 4 et 6 alors que le composé **6** possède un benzylidène. Ces différentes protections vont permettre de les différencier lors des étapes futures. L'accepteur **4** est lui obtenu à partir du

dérivé bromé **9**, issu d'un sucre commercial. La synthèse de l'ester **7** est quant à elle en grande partie déjà connue⁴⁷.

La glycosylation entre l'accepteur **4** et le donneur **5** en présence de triflate d'argent permet d'obtenir un disaccharide qui, après des étapes successives de *O*-déallylations et glycosylations avec **6** puis **7**, conduira à un tétrasaccharide. Des étapes de protections et déprotections régiosélectives, suivies de l'introduction de l'imidate permettent l'obtention du composé **2**. Il est à noter que l'introduction du groupement lévulinoyle sur la position 4 du Gal-2 est rendu possible par la déprotection du benzylidène et l'acétylation de l'alcool primaire.

Le résidu L-sérine est introduit lors de la glycosylation, en présence de BF₃.Et₂O, entre le tétrasaccharide **2** et le résidu peptidique **3**. Le groupement lévulinoyle est sélectivement déprotégé en présence d'acétate d'hydrazine et cette position est ensuite sulfatée à l'aide du complexe triméthylamine-trioxyde de soufre Me₃N.SO₃ avec un rendement de 97%. Une déprotection totale du composé conduit à la molécule finale **1**.

En 1994, l'équipe de Jacquinet J.-C.⁴⁸ a également synthétisé le tétrasaccharide **10** la zone de liaison des PGs, sulfaté en position 4 du Gal-2 mais ici lié à un dipeptide. Leur stratégie de synthèse a été l'addition successive de monosaccharides sur le dérivé disaccharidique **16** déjà décrit par la même équipe⁴⁹ afin d'accéder au tétrasaccharide **11** présentant un groupement chloroacétate (ClAc) sur la position 4 du Gal-2 permettant la future sulfatation de cette position (*Schéma 5*).

⁴⁷ Nakano, T., Ito, Y., Ogawa, T., *Tetrahedron Lett.*, **1990**, 31, 1597-1600

⁴⁸ Rio, S., Beau, J.-M., Jacquinet, J.-C., *Carbohydr. Res.*, **1994**, 255, 103-124

⁴⁹ Rio, S., Beau, J.-M., Jacquinet, J.-C., *Carbohydr. Res.*, **1993**, 244, 295-313

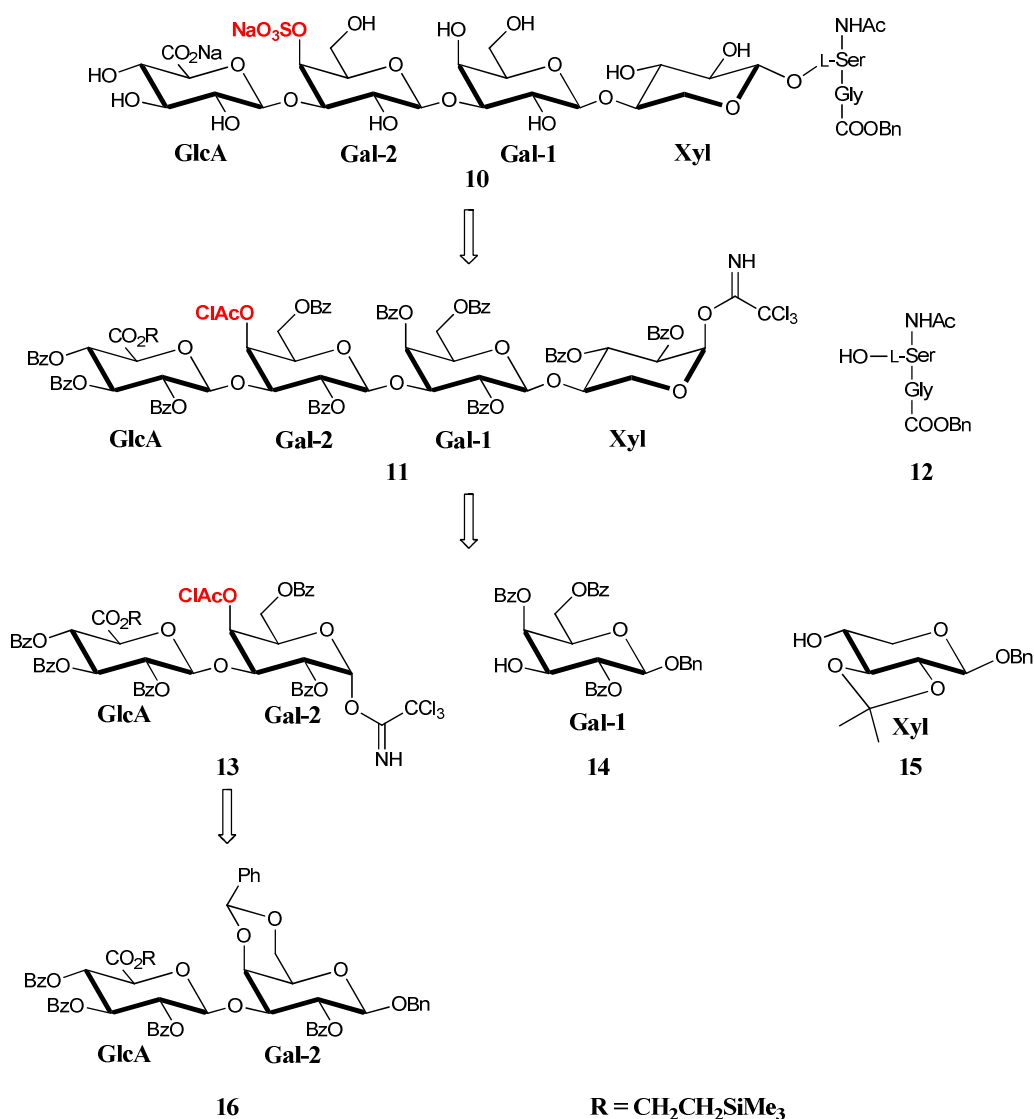


Schéma 5 : Rétrosynthèse du composé 10

La déprotection du benzylidène du composé **16**, déjà connu, permet d'accéder au diol. Celui-ci va subir une benzylation sélective de la position 6 du D-Gal, à l'aide de cyanure de benzoyle BzCN, puis une chloroacétylation de la position 4. Cette protection temporaire permettra de sulfater sélectivement cette position par la suite. L'hydrogénation catalytique (Pd-C) puis l'activation de ce produit par un trichloroacétimide conduisent au composé **13**. La glycosylation du composé **14** avec l'imide **13**, en présence de triflate de triméthylsilyle (TMSOTf), forme le trisaccharide qui va alors subir le même enchaînement de réactions (hydrogénation, activation et glycosylation ici avec **15**) et conduire au tétrasaccharide **11**. La glycosylation entre ce composé et le résidu protéique permet d'obtenir le glycopeptide. La déprotection du chloroacétate par la thiourée suivie de la sulfatation de cet alcool avec le complexe SO₃.NMe₃ et la saponification de la molécule donnent le tétrasaccharide dipeptidique **10**.

Il faut noter qu'en parallèle le composé tétrasaccharidique dipeptidique phosphorylé sur la position 2 du D-Xyl **17** a également été obtenu à partir de précurseurs communs à la synthèse de **10** (Figure 6).

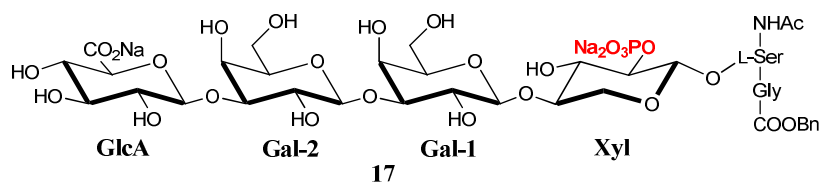


Figure 6 : Glycopeptide phosphorylé

La stratégie de synthèse choisie afin d'obtenir des composés sulfatés en position 4 a donc été dans les deux cas l'utilisation de groupements protecteurs temporaires (Lev ou ClAc), orthogonaux aux autres protections de la molécule.

II-1.1.2. Synthèses de la zone de liaison sulfatée en position 6

En 1999, Tamura J.-I. et Nishihara J.⁵⁰ ont reporté la première synthèse de glycosylsérines comprenant à la fois un groupement phosphate et un groupement sulfate, dans le but d'étudier l'importance de ces groupements dans la formation de la zone de liaison.

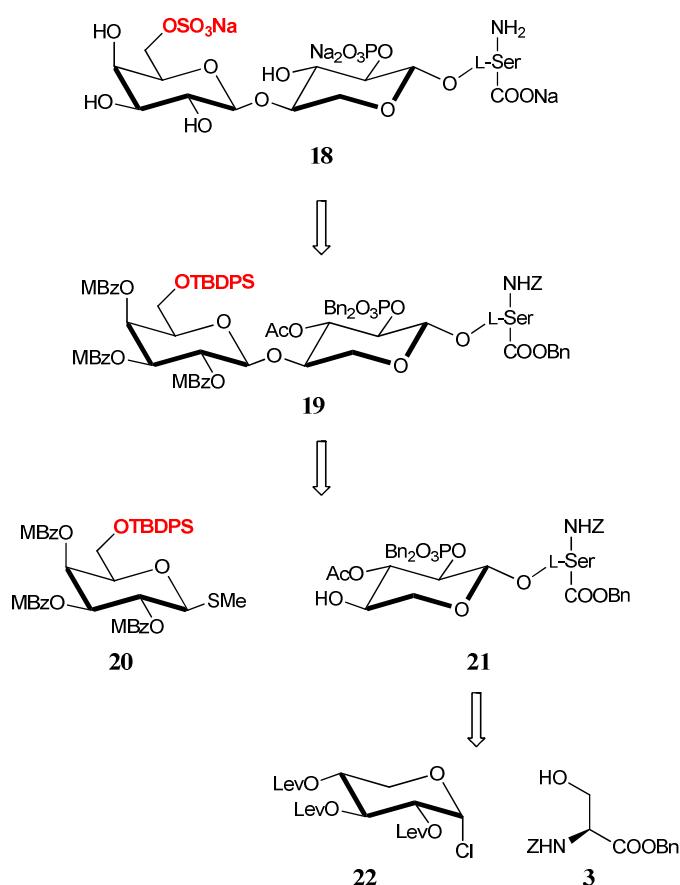


Schéma 6 : Rétrosynthèse du composé 18

Leur stratégie de synthèse a été de former en priorité la liaison Xyl-Ser à partir de **22** et **3** avant l'introduction du motif galactose (Schéma 6). Le groupement phosphate a ensuite

⁵⁰ Tamura, J.-I., Nishihara, J., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1999**, 9, 1911-1914

été introduit grâce à des protections sélectives des positions 3 et 4 et la phosphorylation de la position 2 pour donner finalement le composé **21**. Le galactose **20** a été préparé à partir du méthyl-1-thio- β -D-galactopyranoside, produit commercial, par la protection sélective et temporaire de l'alcool primaire par un groupement *tert*-butyldiphénylsilyle (TBDPS) et la protection des autres positions par des esters de méthylbenzoyle (MBz). La glycosylation entre les composés **20** et **21** conduit au disaccharide **19** qui subit alors la déprotection sélective de l'alcool primaire, la sulfatation de cette position en présence de $\text{SO}_3\cdot\text{NMe}_3$, puis la saponification afin d'obtenir le composé final **18**.

Une déprotection totale du composé **19** leur a également permis d'obtenir le disaccharide phosphorylé mais non sulfaté.

Ce même groupe a étendu en 2001⁵¹ sa stratégie de synthèse à la formation de trisaccharides (β -D-Gal-(1 $\rightarrow$ 3)- β -D-Gal-(1 $\rightarrow$ 4)- β -D-Xyl-Ser) phosphorylés sur le D-xylose et sulfatés sur la position 6 de l'un ou l'autre des galactoses (*Schéma 7 et Schéma 8*).

L'intermédiaire clé de cette synthèse est le trisaccharide **24**, qui possède un TBDPS en position 6 du Gal-2 et un benzylidène sur le Gal-1. Celui-ci provient de la glycosylation entre le galactose **20** et le disaccharide **25**, en présence de NIS-TfOH (*N*-iodosuccinimide - acide triflique) qui donne un mélange d'isomères α/β inséparables, qui le seront lors de la déprotection du groupement silylé. Le composé **25** provient de la glycosylation entre le motif Xyl-Ser **21** et le galactose **6**⁴⁶ suivie de la déallylation. La glycosylation s'effectue dans des conditions identiques à celles utilisées pour **24**, mais ici les deux isomères sont séparables et le disaccharide **25** est isolé avec un rendement de 37%.

Le trisaccharide final **23**, sulfaté sur la position 6 du Gal-2, a été obtenu, en suivant les mêmes étapes de déprotection sélective du TBDPS, sulfatation et saponification que précédemment, à partir du trisaccharide **24**.

Une déprotection totale de ce composé a également permis d'obtenir le disaccharide phosphorylé non sulfaté.

⁵¹ Tamura, J.-I., Nishihara, J., *J. Org. Chem.*, **2001**, 66, 3074-3083

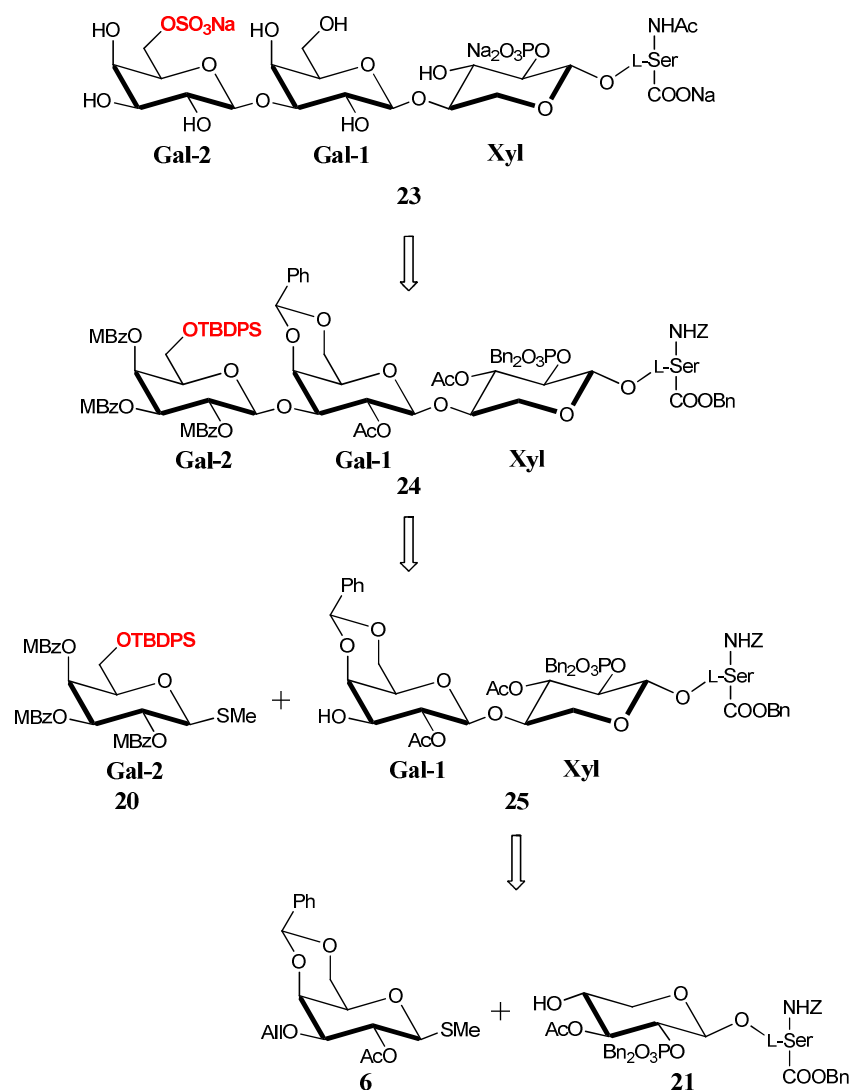


Schéma 7 : Rétrosynthèse du trisaccharide 23

Pour la synthèse du trisaccharide **26** sulfaté sur le Gal-1, les auteurs ont choisi cette fois de former le disaccharide **28** comportant les deux motifs galactoses, à partir des composés **29**, protégé par des groupements acétates, et **30**, qui présente un groupement protecteur orthogonal TBDPS en position 6. La glycosylation avec le composé **21** suivie de la déprotection du TBDPS, de la sulfatation et de la saponification de la molécule permettent d'obtenir le trisaccharide final **26**, 6-sulfaté sur le Gal-1. Les difficultés dans cette synthèse ont été les étapes de glycosylations qui conduisaient à des mélanges d'isomères α/β séparables mais seuls les isomères β ont été engagés pour la suite des étapes.

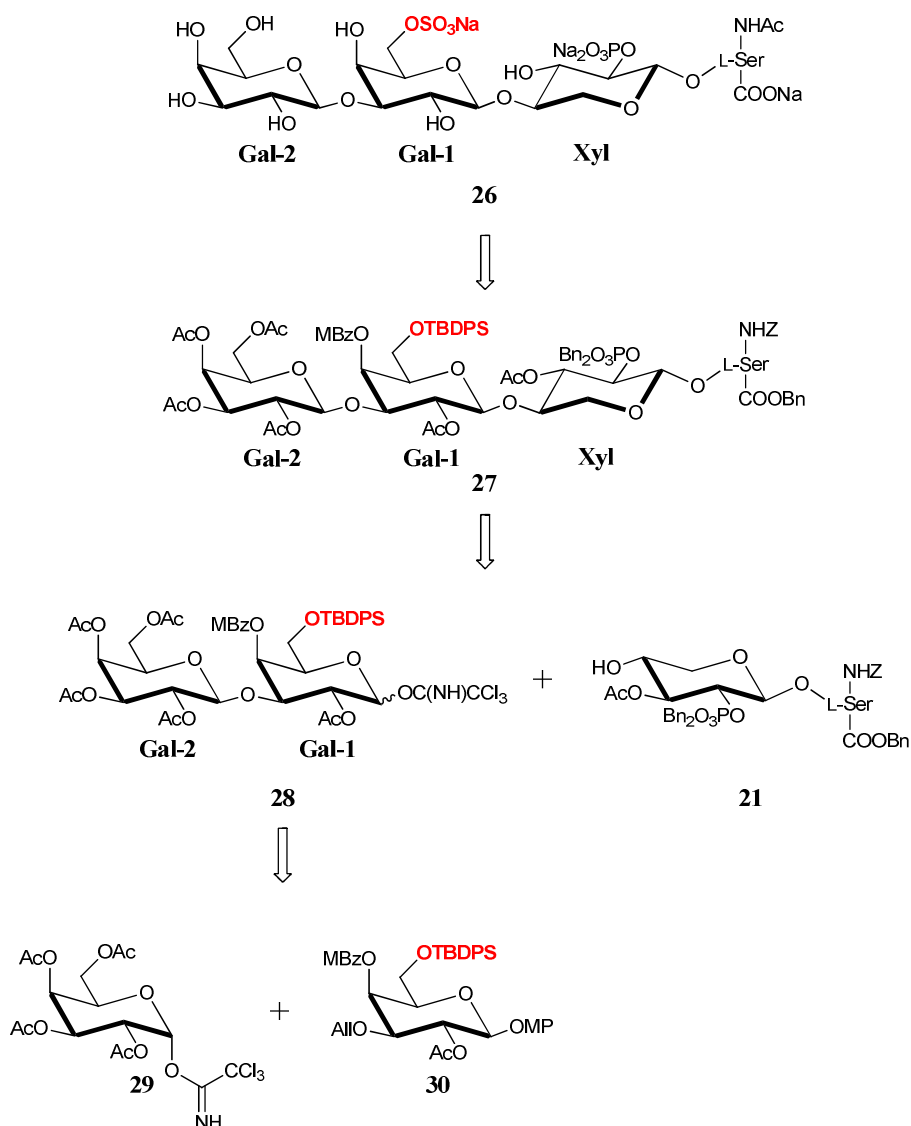


Schéma 8 : Rétrosynthèse du trisaccharide 26

En 2006, Jacquinet J.-C.⁵² a reporté la synthèse de différents glycosides de la zone de liaison, mono-, di- et trisaccharides, phosphorylés ou non, sulfatés ou non, afin d'étudier l'influence de ces groupements sur les enzymes de biosynthèse de la zone de liaison. Seules les synthèses des di- et trisaccharides seront présentées ici. Ces différents composés comportent un motif 7-méthoxy-2-naphtyle (MN) en position anomérique afin de faciliter leur détection lors des différents tests enzymatiques.

La synthèse des composés disaccharidiques **31** et **32**, sulfatés en position 6 du D-Gal, l'un phosphorylé sur la position 2 du D-Xyl et l'autre non, qui proviennent respectivement des disaccharides **33** et **34**, a impliqué la préparation d'un intermédiaire commun, le composé **35** (Schéma 9). Celui-ci provient de la glycosylation entre les monosaccharides **36**, qui est activé par un imidate et qui possède un groupement lévulinoyle en position 6, et **37** en présence de TMSOTf suivie de l'hydrolyse acide du motif 2,3-isopropylidène. La différenciation des positions 2 et 3 du motif xylose, par l'intermédiaire d'un composé stannylé, va permettre

⁵² Jacquinet, J.-C., *Carbohydr. Res.*, **2006**, 341, 1630-1644

l'obtention des molécules **33** et **34**, dont la position 6 sera délévulinoylée puis sulfatée. Une saponification conduira aux molécules finales **31** et **32**.

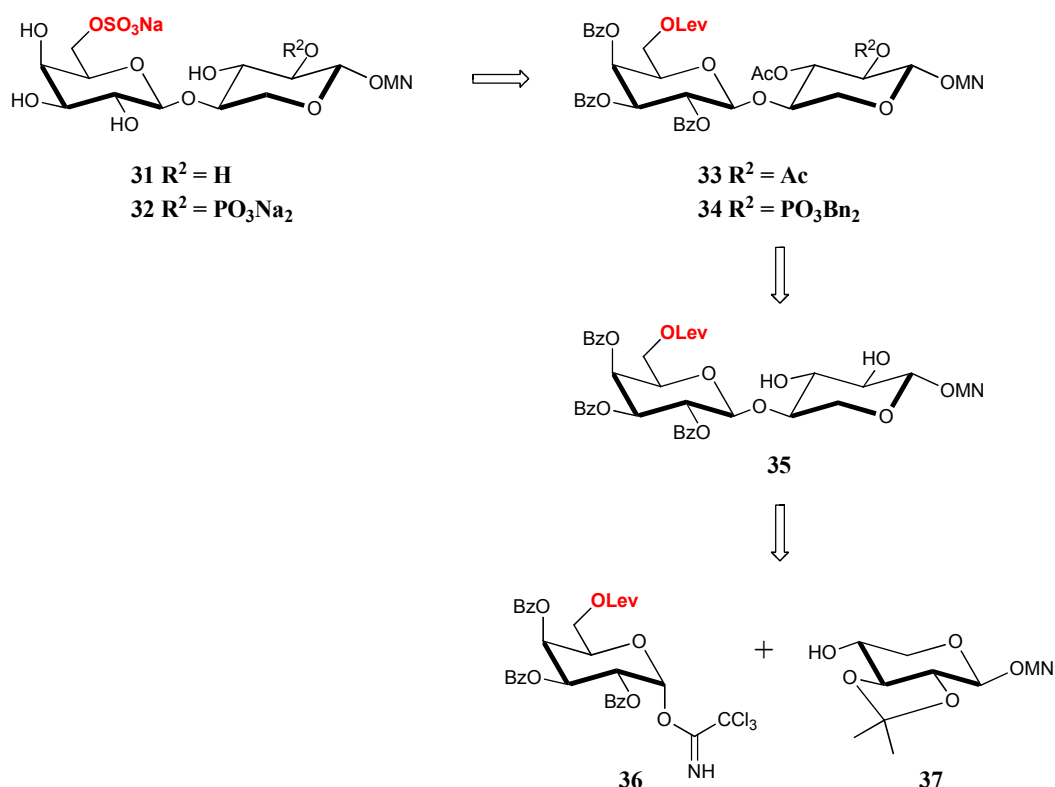


Schéma 9 : Rétrosynthèse des disaccharides **31** et **32**

Il est à noter que les saponifications des composés **34** et **33** conduisent aux disaccharides non sulfatés, phosphorylé ou non.

La synthèse des trisaccharides **38** et **39** a, comme pour les disaccharides, nécessité celle d'un précurseur commun, le composé **40**, qui possède un groupement Lev sur la position 6 du Gal-1 (Schéma 10). Celui-ci a été obtenu après le couplage du disaccharide **41** et du motif xylose **37** et l'hydrolyse de l'acétal. Le composé **41** provient de la glycosylation entre les deux motifs galactoses, **42** et **43**. Ce dernier possède un groupement silylène sur les positions 4 et 6, ce qui va permettre sa déprotection sélective pour l'introduction du groupement Lev après glycosylation. Ce composé **43** a été obtenu à partir du galactose **45** possédant un groupement 4-méthoxyphényle (MP) comme aglycone. La formation d'acétals entre les positions 3 et 4 et celle de l'acétal mixte en position 6 a permis d'isoler la position 2 afin de la benzoyler et d'obtenir le composé **44**. La déprotection des acétals suivie de l'introduction du silylène conduit au composé **43**. Les étapes de déprotection sélective du Lev, sulfatation et saponification, identiques à celles des disaccharides, réalisées sur le produit **40** conduisent aux trisaccharides finaux **38** et **39**.

Les auteurs ont également obtenu les trisaccharides non sulfatés, phosphorylé ou non, en utilisant les mêmes intermédiaires que pour la synthèse de **38** et **39**.

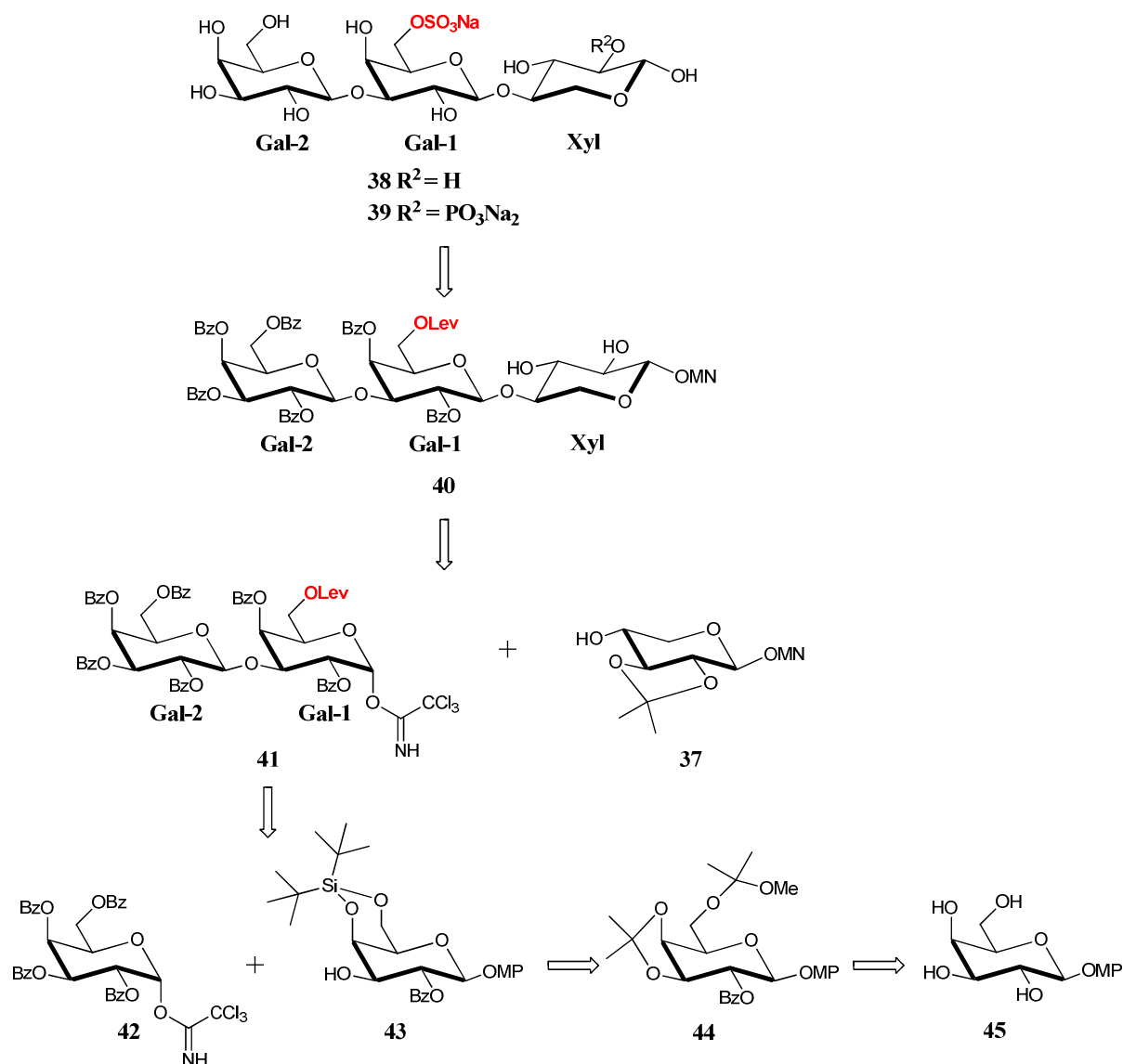


Schéma 10 : Rétrosynthèse des trisaccharides 38 et 39

Ces différentes synthèses présentent des stratégies similaires pour l'introduction du groupement sulfate en position 6 du D-Gal. Dans le cas des disaccharides Gal-Xyl, une protection temporaire orthogonale de la position 6 du D-Gal (Lev, TBDPS) est introduite dès la formation du monosaccharide.

II-1.2. Synthèses de la zone de liaison partielle, sulfatée en position 4 ou 6 via un diol intermédiaire

En 2004, Jacquinet J.-C.⁵³ reporte la synthèse de différents disaccharides de la zone de liaison afin d'étudier le rôle des sulfatations dans la biosynthèse des sulfates de chondroïtines. Ces composés sont formés des deux D-Gal, sulfatés sur l'un ou l'autre, en position 4 ou 6, avec pour aglycone le 4-méthoxyphényle qui permettra une bonne détection lors des tests

⁵³ Jacquinet, J.-C., *Carbohydr. Res.*, **2004**, 339, 349-359

biologiques. Une stratégie de protections orthogonales des galactoses de la zone de liaison a été élaborée afin de pouvoir, en fin de synthèse, sulfater l'un ou l'autre de ces galactoses (Schéma 11).

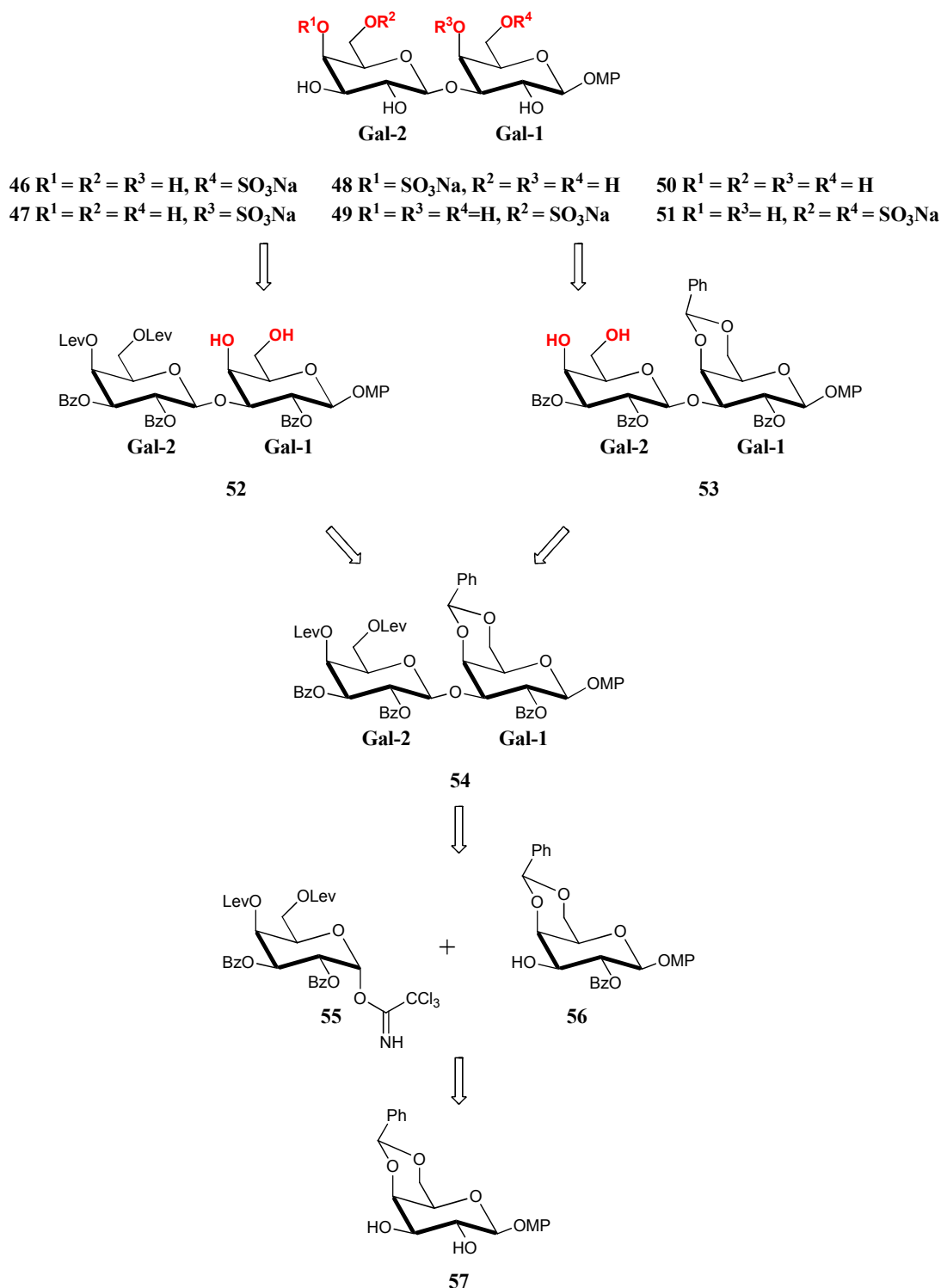


Schéma 11 : Rétrosynthèse des disaccharides D-Gal-D-Gal

Les intermédiaires clés de cette synthèse sont les diols **52** et **53**, qui proviennent du composé **54** qui possède des groupements protecteurs orthogonaux sur les deux D-Gal, des groupements lévulinoyles sur le Gal-2 et un benzylidène sur le Gal-1. Ce disaccharide **54** a été

obtenu par le couplage des deux monosaccharides **55** et **56**, à l'aide de TMSOTf avec un rendement de 70%. Ces composés sont issus du dérivé du D-Gal **57**.

A partir du disaccharide **54**, une déprotection du benzyldène ou des groupements Lev permet l'obtention des diols **52** ou **53** respectivement. Afin d'obtenir les différents composés sulfatés, deux voies ont été suivies : les composés 6-sulfatés sont issus de la sulfatation sélective de la position 6 à l'aide du complexe $\text{SO}_3\cdot\text{NMe}_3$ (1,5 éq.) alors qu'une benzoylation sélective de cette position, avec du cyanure de benzoyle, suivie de la sulfatation de la position 4 permet l'accès aux composés 4-sulfatés (Schéma 12). Une déprotection totale de ces composés mène aux composés finaux **46-49**.

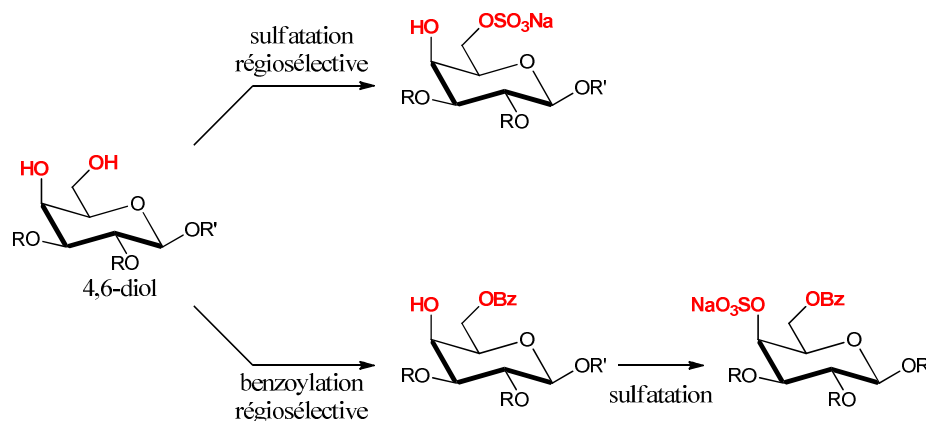


Schéma 12 : Synthèse des produits 4- ou 6-sulfatés à partir d'un diol

Il est à noter qu'une déprotection à la fois des groupements Lev et du benzyldène donne le tétrol correspondant, qui permet l'obtention des composés non sulfaté **50** et 6-disulfaté **51**.

Suivant une stratégie similaire, Thollas B. et Jacquinet J.-C.⁵⁴ ont également synthétisé des trisaccharides de la zone de liaison, possédant le D-GlA et les deux motifs D-Gal, sulfatés en position 4 ou 6 de l'un ou l'autre des D-Gal (Schéma 13).

L'intermédiaire clé de cette synthèse est le composé **66**, trisaccharide commun aux différents produits, qui possède des groupements orthogonaux sur les deux D-Gal, avec un groupement silylène sur le Gal-2 et un groupement benzyldène sur le Gal-1, et qui va ainsi permettre l'obtention des diols **64** et **65**. Ce composé provient de la glycosylation entre le dérivé glucuronique **67** et le disaccharide **68**, formé lui-même par la glycosylation entre les monosaccharides **56** et **69** suivie d'une délévulinoylation et de l'introduction de l'acétal tert-butylsilylène.

La déprotection du silylène en présence du complexe $3\text{HF}\cdot\text{Et}_3\text{N}$ donne accès au diol **65** et va permettre de modifier les positions 4 et 6 du Gal-2, alors que la déprotection du benzyldène conduit au diol **64** et permet ainsi d'accéder aux positions 4 et 6 du Gal-1.

L'accès aux différents produits finaux (**58-63**) se fait comme précédemment par une sulfatation régiosélective pour les composés sulfatés en position 6 ou par une benzoylation

⁵⁴ Thollas, B., Jacquinet, J.-C., *Org. Biomol. Chem.*, **2004**, 2, 434-442

régiosélective suivie de la sulfatation pour les composés 4-sulfatés puis par une saponification.

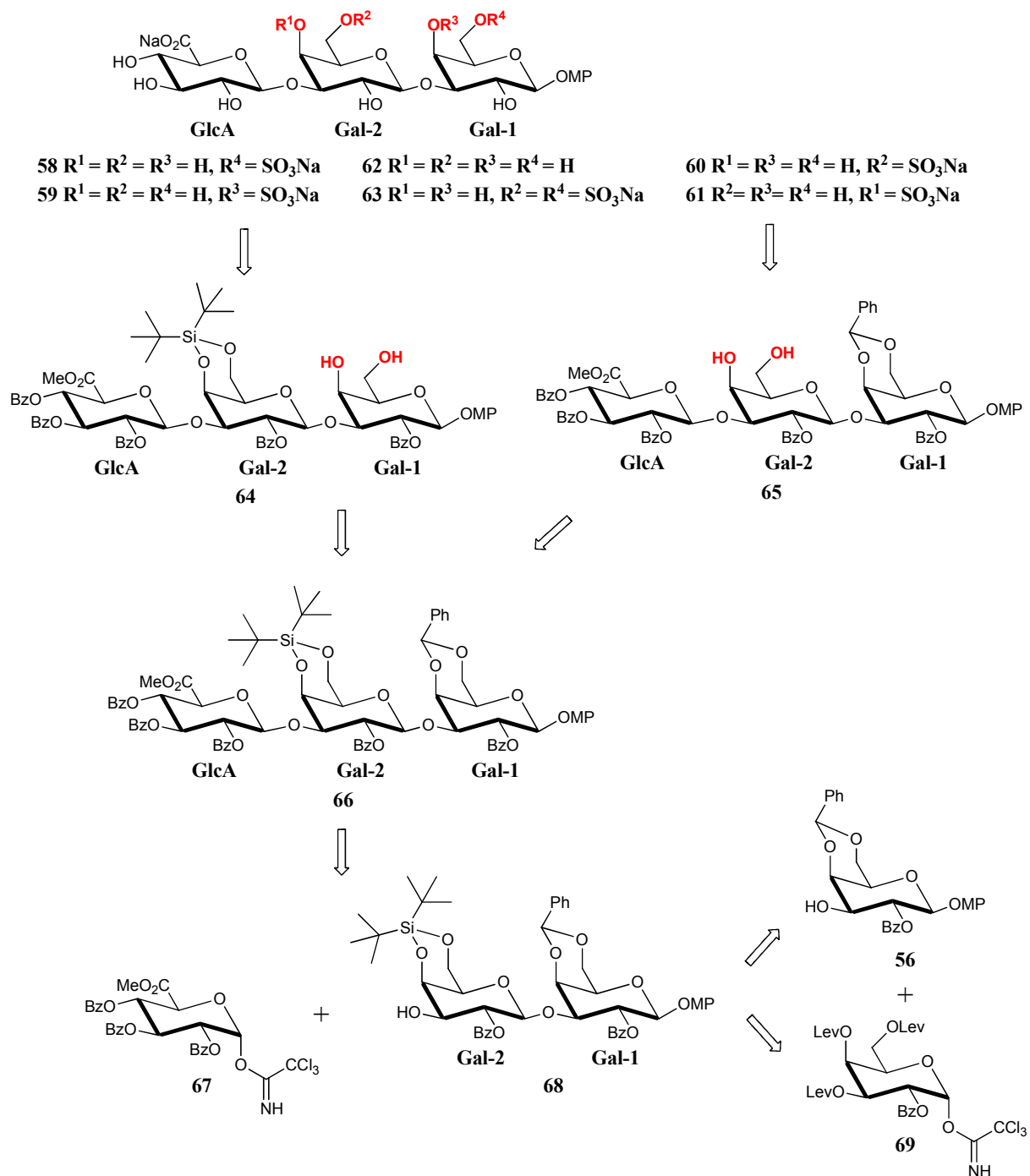


Schéma 13 : Rétrosynthèse des trisaccharides 58-63

Plus récemment, en 2012, Aït-Mohand K. *et al*⁵⁵ ont décrit la synthèse de trisaccharides **70-74** possédant le même motif GlcA-Gal-Gal, mais avec une biotine comme aglycone (*Schéma 14*).

Cette synthèse suit également une stratégie basée sur des groupements protecteurs orthogonaux pour les deux D-Gal. Les trisaccharides biotinylés **70-74** proviennent des deux trisaccharides clés **77** et **78** possédants respectivement des ClAc sur le Gal-2 ou un groupement silylène sur le Gal-1, qui donneront accès aux diols **75** et **76**. La différenciation des deux D-Gal est réalisée lors de la formation des disaccharides **79** et **80** et celle du monosaccharide **81**. La glycosylation du disaccharide **79** avec le composé **81** suivie de la déprotection du silylène et de l'introduction de groupements benzoyles permettent l'obtention du trisaccharide **77**. Ce trisaccharide est le précurseur des molécules sulfatées sur le Gal-2. La glycosylation du disaccharide **80** avec le composé **81** permet l'obtention du trisaccharide **78**. Celui-ci permettra l'accès aux molécules sulfatées sur le Gal-1. Les disaccharides **79** et **80** sont obtenus par la glycosylation des monosaccharides **82** et **43**.

Après formation des diols **75** et **76** par la déprotection sélective des chloroacétates ou du silylène, l'accès aux différents produits finaux (**70-73**) se fait de la même manière que précédemment c'est-à-dire *O*-sulfonation régiosélective pour les composés 6-sulfatés ou benzylation régiosélective puis sulfatation pour les composés sulfatés en position 4 et enfin saponification. Une déprotection totale du trisaccharide biotinylé permet d'accéder à la molécule **74** non sulfatée.

⁵⁵ Aït-Mohand, K., Lopin-Bon, C., Jacquinet, J.-C., *Carbohydr. Res.*, **2012**, 353, 33-48

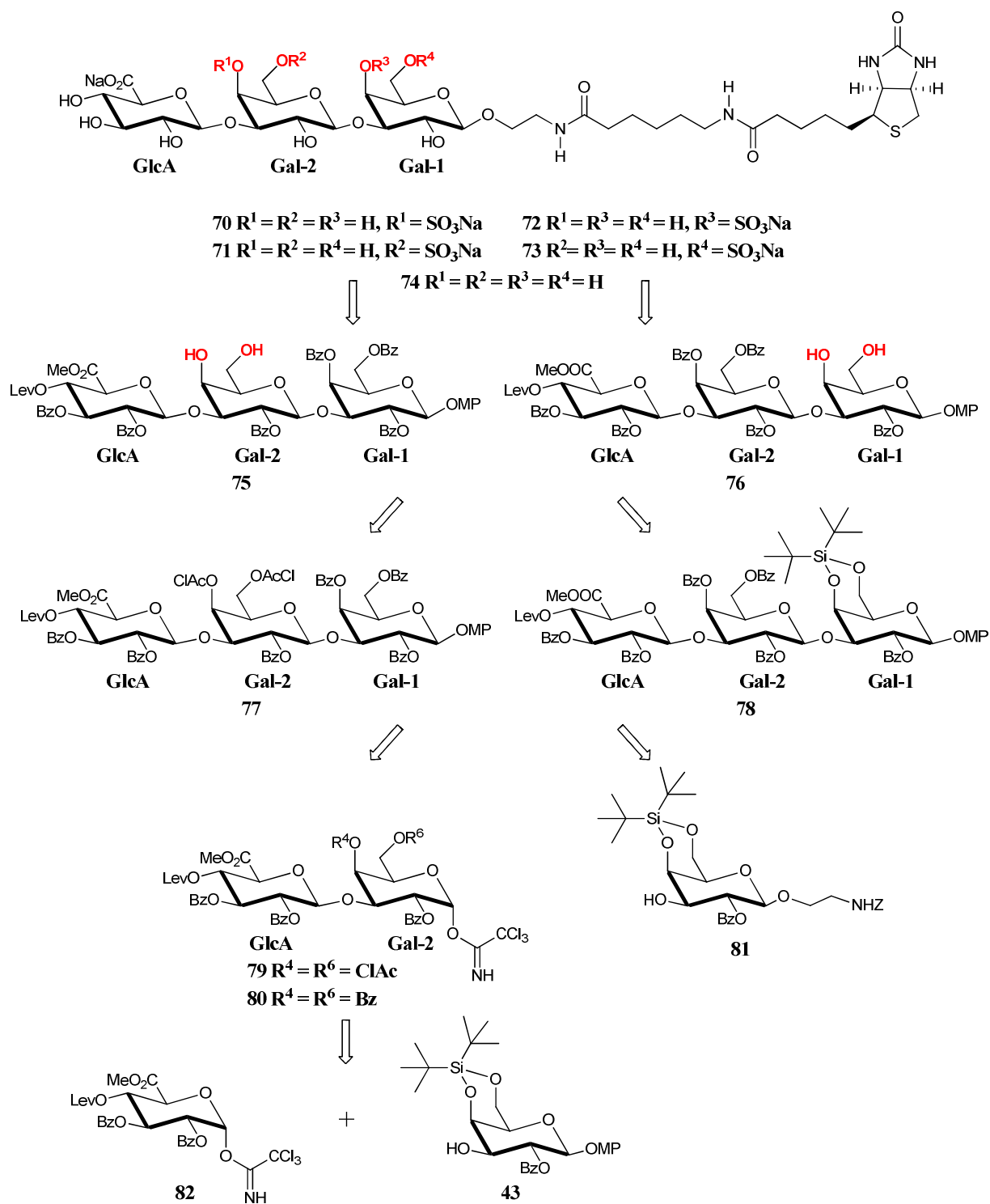


Schéma 14 : Rétrosynthèse des trisaccharides 70-74

La sulfatation de l'un ou l'autre des galactoses est donc rendue possible par la protection orthogonale des deux D-Gal, par des groupements protecteurs tels que le Lev, le benzylidène ou encore le silylène. Après déprotection de l'un des D-Gal, la différenciation des positions 4 et 6 se fait directement à partir du diol. Ici l'obtention des composés 6-sulfatés a lieu grâce à une sulfatation régiosélective de la position 6 alors que les composés 4-sulfatés sont obtenus après benzylation sélective de la position 6 et sulfatation de la position 4.

II-2. Synthèses de la zone de liaison avec une amorce de GAGs

II-2.1. Synthèses de la zone de liaison avec une amorce de CS

Dans la littérature, peu de travaux de synthèse de la zone de liaison comportant une amorce vers les CS sont reportés.

En 1992, Goto F. et Ogawa T.⁵⁶ ont reporté la synthèse d'hexasaccharides combinant à la fois la zone de liaison et l'unité disaccharidique des CS, l'un non modifié **83** et l'autre sulfaté en position 4 **84** sur la D-GalNAc. Leur stratégie a été la synthèse de deux trisaccharides **85** et **86**, le premier étant formé du dernier sucre de la zone de liaison et du disaccharide des CS, le second étant le motif Gal-Gal-Xyl de la zone de liaison (*Schéma 15*).

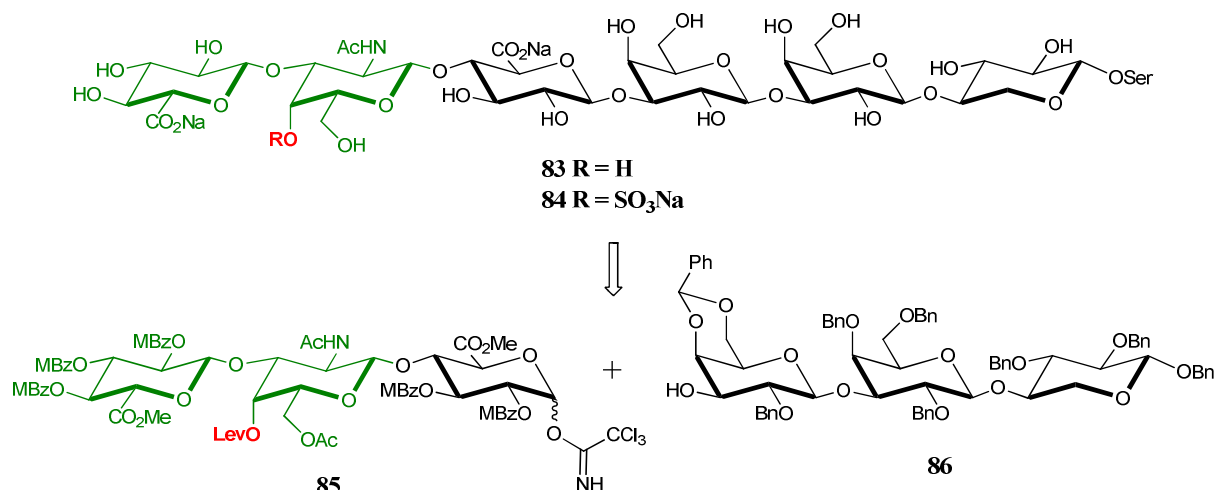


Schéma 15 : Rétrosynthèse des hexasaccharides **83** et **84**

Le bloc donneur **85** (*Schéma 16*) a été synthétisé par additions successives de trois monosaccharides **87**, **89** et **90**. La glycosylation entre les monosaccharides **89** et **90** conduit à un disaccharide. L'unité glucose est ensuite transformée en motif glucuronique par déprotection du MP et oxydation puis une déacétylation donne le composé **88**. La glycosylation avec le monosaccharide **87** est alors réalisée pour accéder à un trisaccharide. La déprotection du benzylidène suivie de l'acétylation sélective de l'alcool primaire et de la lévulinoylation de la position 4 permettent d'obtenir le trisaccharide **85** après réduction du N₃, acétylation de l'amine et activation de la position anomérique.

⁵⁶ Goto, F., Ogawa, T., *Tetrahedron Lett.*, **1992**, 33, 6841-6844

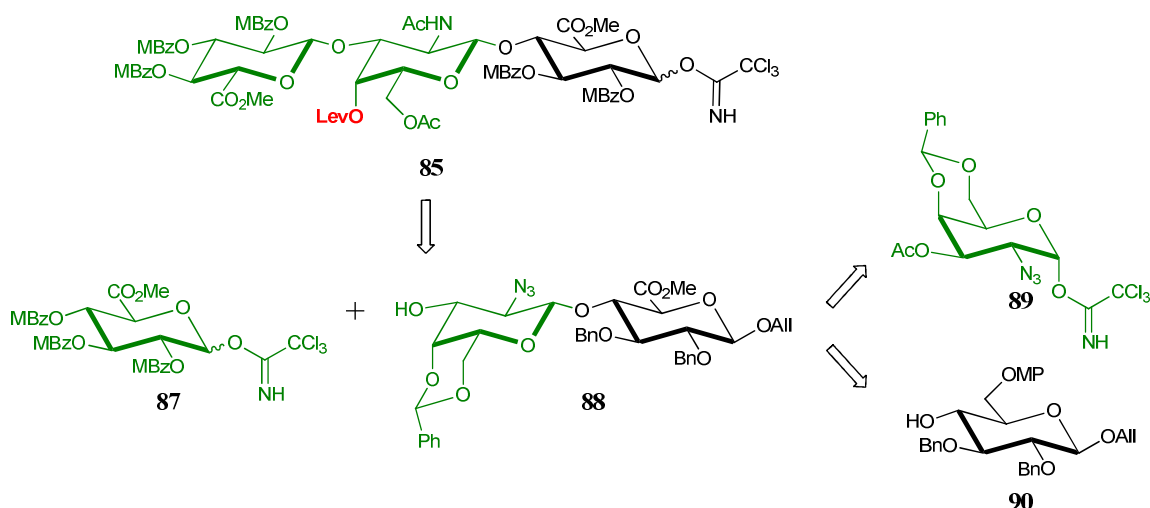


Schéma 16 : Rétrosynthèse du bloc donneur 85

Le bloc accepteur **86** (Schéma 17) est lui obtenu à partir des trois monosaccharides **6**, **92** et **5**. Les glycosylations successives entre les blocs **92** et **5** puis avec le composé **6** conduisent respectivement au disaccharide **91** et au trisaccharide **86**.

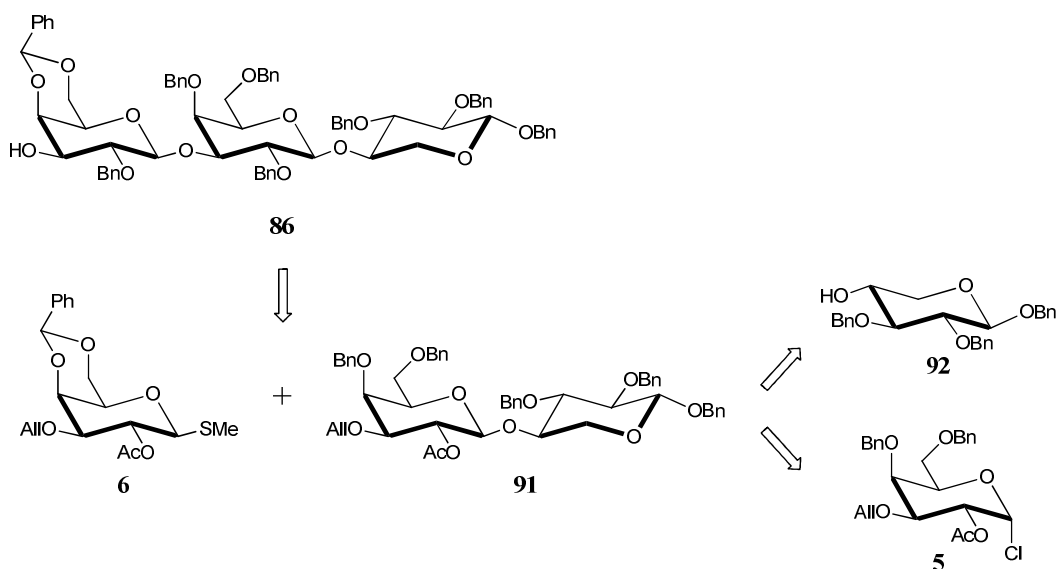


Schéma 17 : Rétrosynthèse du bloc accepteur 86

L'étape suivante est cruciale et consiste en la glycosylation des deux composés trisaccharidiques **85** et **86**. Cette glycosylation a été réalisée en présence de $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ et donne l'hexasaccharide avec un rendement de 47%. Le composé obtenu est soit totalement déprotégé pour donner le composé final **83**, soit délévulinoylé et sulfaté puis déprotégé pour donner le composé **84**.

En 1993, ces auteurs⁵⁷ ont complété leur synthèse précédente en introduisant un groupement sulfate sur la position 4 du Gal-2 de la zone de liaison (Schéma 18).

⁵⁷ Goto, F., Ogawa, T., *Pure & Appl. Chem.*, **1993**, 65, 793-801

L'hexasaccharide clé **94**, précurseur du produit final **93**, est obtenu après la glycosylation entre les deux trisaccharides **85**⁵⁶ (Schéma 16) et **95**⁴⁶, tous les deux décrits par leur groupe en 1992. L'introduction du groupement Lev a été réalisée après la formation de l'hexasaccharide par la déprotection du benzylidène et l'acétylation de l'alcool primaire puis la lévulinoylation de la position 4.

Le composé final **93** est obtenu à partir de **94** après déprotection des groupements Lev et sulfatation de ces positions suivie d'une saponification.

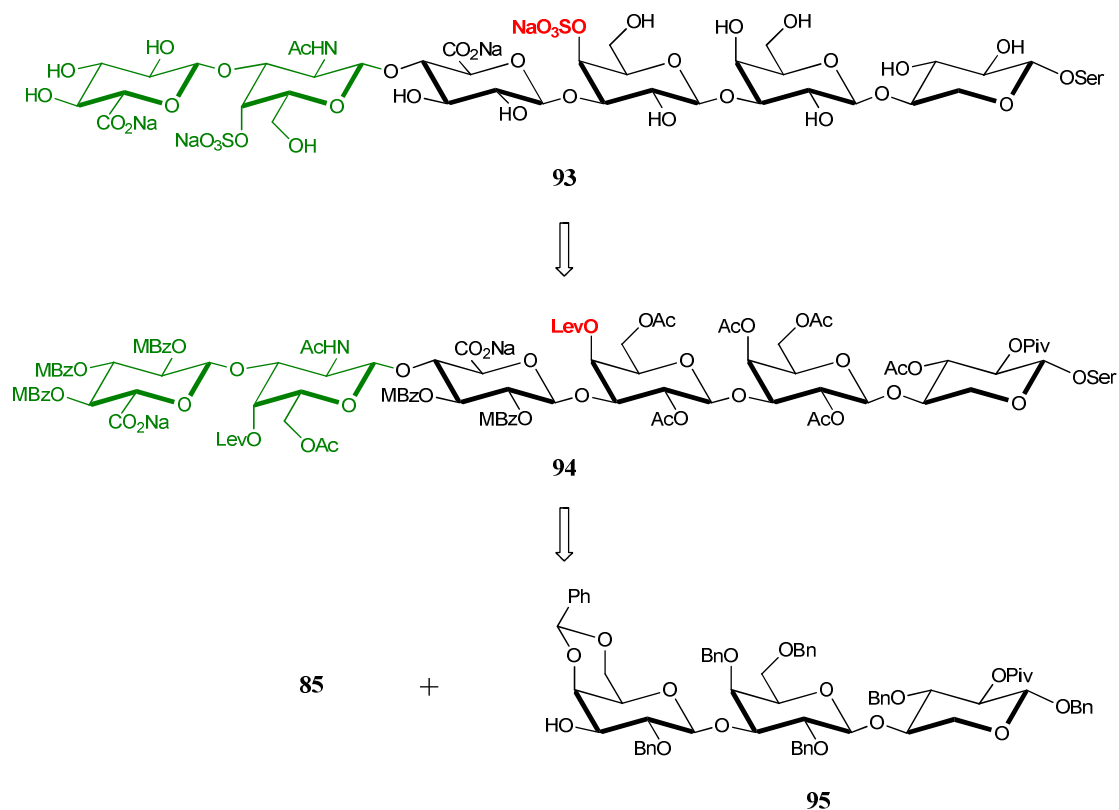


Schéma 18 : Rétrosynthèse de l'hexasaccharide 93

Récemment, en 2016, l'équipe de Jacquinet J.-C.⁵⁸ a reporté la synthèse de tétra- et de pentasaccharides biotinylés **96-105** comprenant le motif GlcA-Gal-Gal de la zone de liaison lié à l'unité D-GalNAc ou au disaccharide D-GlcA-D-GalNAc des CS. Ces composés sont sulfatés sur les positions 4 ou 6 de l'une ou l'autre des unités galactoses de la zone de liaison (Figure 7). Les deux galactoses sont protégés par des groupements protecteurs différents et orthogonaux, permettant ainsi leur différenciation. Ces structures, en relation avec celles publiées en 2012,⁵⁵ devraient aider à la compréhension du mécanisme des polymérases, qui permettent l'élongation des chaînes de CS, et du rôle des groupements sulfates.

⁵⁸ Aït-Mohand, K., Mirault, A., Jacquinet, J.-C., Lopin-Bon, C., *Org. Biomol. Chem.*, **2016**, 14, 7962-7971

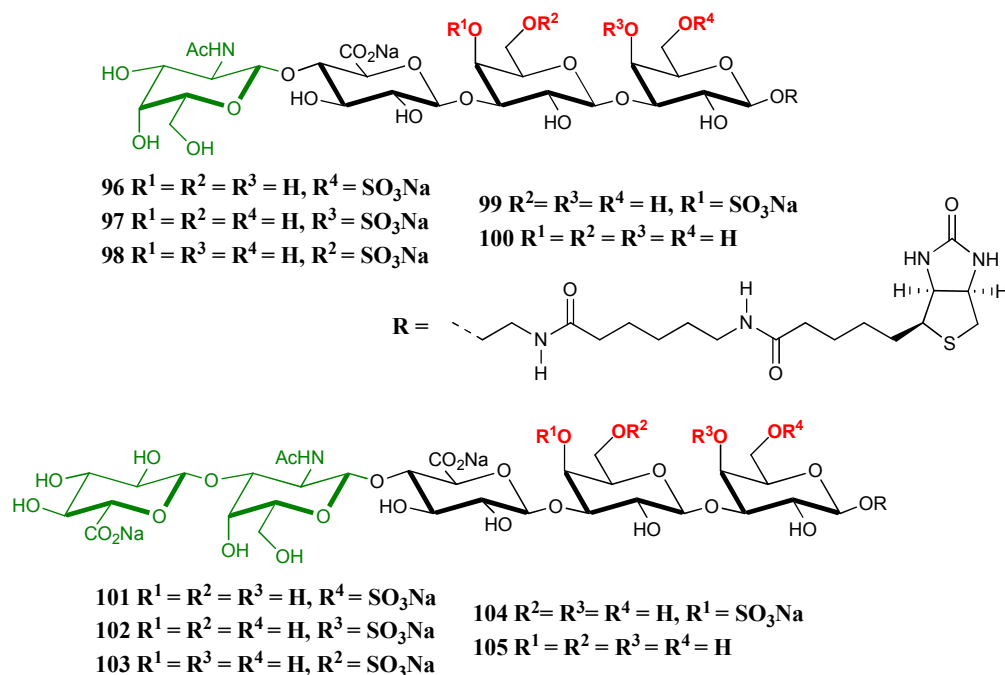


Figure 7 : Tétra- et pentasaccharides biotinylés

Les deux trisaccharides clés **77** et **78** (Schéma 14)⁵⁵ obtenus en 2012 permettent d'accéder à ces différents composés (Schéma 19). Les amorces des CS (mono- et disaccharide) sont introduits après déprotection du groupement Lev et glycosylations avec les différents imidates **110**⁵⁹ et **111**⁶⁰ déjà décrits. Le groupement trichloroacétate TCA est ensuite réduit en groupement acétate puis la déprotection sélective des groupements protecteurs temporaires (silylène sur le Gal-1 et chloroacétate sur le Gal-2) permet d'obtenir les diols précurseurs aux produits finaux **106-109**. Les réactions de sulfatation sont alors réalisées : une sulfatation régiosélective permet d'obtenir les composés 6-sulfatés et une benzylation régiosélective suivie de la sulfatation de la position 4 permettent d'accéder aux composés 4-sulfatés. Une saponification permet l'obtention des composés finaux **96-105**.

⁵⁹ Lopin, C., Jacquinet, J.-C., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2006**, 45, 2574-2578

⁶⁰ Blatter, G., Beau, J.-M., Jacquinet, J.-C., *Carbohydr. Res.*, **1994**, 260, 189-202

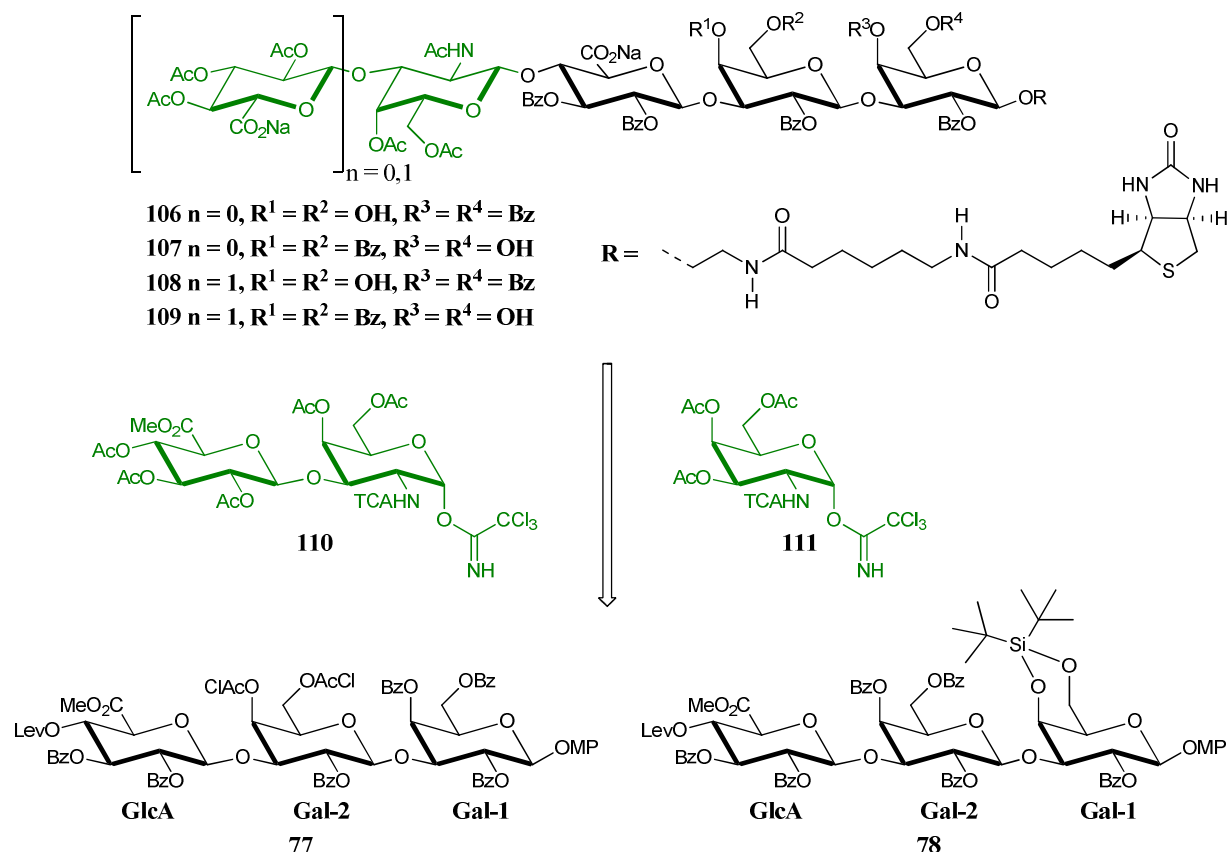


Schéma 19 : Rétrosynthèse des différents tétra- et pentasaccharides

Ainsi peu de travaux décrivent la synthèse de motifs de la zone de liaison liée à une amorce de CS. Néanmoins deux types de synthèses différentes sont utilisés, la synthèse de motifs mélangeant zone de liaison et amorce des CS et la synthèse du motif de la zone de liaison avec ensuite l'ajout de l'amorce des CS.

II-2.2. Synthèse de la zone de liaison avec une amorce de Hep

Dans la littérature est reportée, à notre connaissance, une seule synthèse de la zone de liaison possédant une amorce vers les Hep/HS. La principale difficulté de cette synthèse est l'enchaînement D-GlcNAc- α -(1 $\rightarrow$ 4)-D-GlcA et donc la sélectivité de la glycosylation permettant d'obtenir ce type de composés.

En 1993, Nilsson M. *et al*⁶¹ ont synthétisé des tri- et tétrasaccharides **112** et **113** possédant l'unité disaccharidique des Hep/HS accrochée par une liaison α sur un mono- ou un disaccharide de la zone de liaison, avec un groupement méthyle (Me) comme aglycone (Figure 8). Leur stratégie a été une synthèse convergente avec la formation de plusieurs blocs.

⁶¹ Nilsson, M., Svahn, C.-M., Westman, J., *Carbohydr. Res.*, **1993**, 246, 161-172

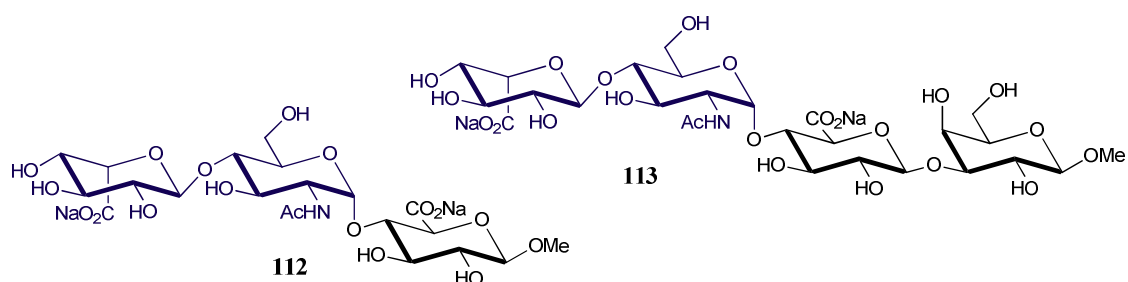


Figure 8 : Composés obtenus par Nilsson M.

Les auteurs ont synthétisé d'une part le disaccharide **115** majoritaire des Hep/HS et d'autre part la partie zone de liaison, le mono- **114** ou le disaccharide **116**. Ces différents composés ont été obtenus à partir des monosaccharides correspondants **117-120** (Schéma 20).

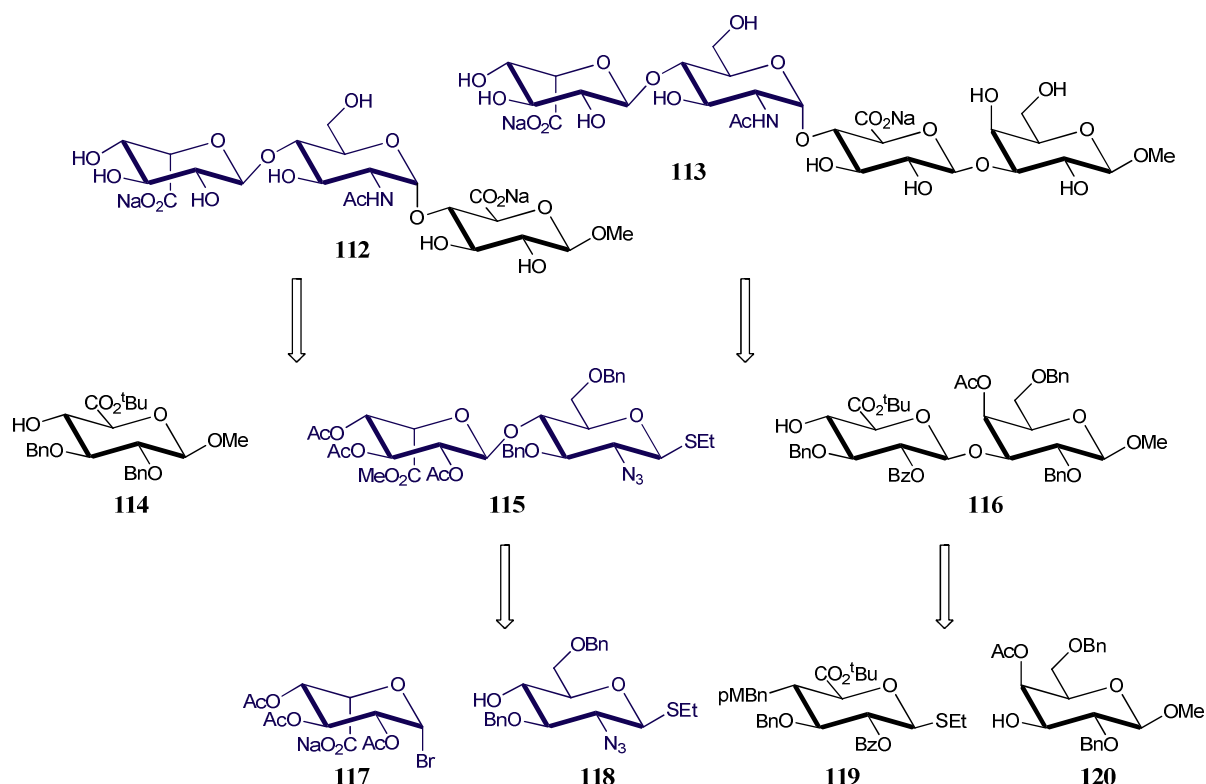


Schéma 20 : Rétrosynthèse des composés 112 et 113

L'étape clé de ces synthèses est la glycosylation entre les composés **115** et **114** d'une part et **115** et **116** d'autre part. Afin d'obtenir une sélectivité α lors de ces glycosylations, un groupement non-participant a été choisi pour la position 2 de l'unité GlcN, ici le groupement azido N_3 . La glycosylation entre les composés **115** et **114** a été réalisée avec du N-iodosuccinimide et du triflate d'argent et permet d'obtenir, avec un rendement de 73%, le trisaccharide avec une anomérie α , qui, après réduction de l'azido, acétylation sélective de l'amine et déprotection totale, conduit au composé **112**. Le tétrasaccharide est quant à lui obtenu après la glycosylation entre les disaccharides **115** et **116** en présence de triflate de diméthyl(méthylthio)sulfonium (DMTST) avec un rendement de 87% pour cette étape. La déprotection totale du composé obtenu, la réduction du N_3 et l'acétylation sélective de l'amine conduisent au composé final **113**.

A notre connaissance, une seule synthèse de motifs de la zone de liaison liée à une amorce de Hep/HS a été réalisée. Celle-ci montre l'importance du groupement en position 2 du sucre aminé ainsi que la complexité de la glycosylation permettant d'obtenir une liaison α .

II-2.3. Synthèses de la zone de liaison liée à une D-GalNAc par une liaison α

Deux équipes ont présenté la synthèse de dérivés de la zone de liaison possédant une liaison α entre la partie zone de liaison et un sucre aminé, qui est ici un D-GalNAc. La présence de cette entité a été identifiée par Freeze⁶² en 1995 dans des cellules de mélanome humain et l'action probable d'une α -D-GalNAc transférase a été mise en évidence par Sugahara⁶³ la même année.

En 1995, Neumann K. W. *et al*⁶⁴ ont synthétisé un pentasaccharide comportant les quatre motifs de la zone de liaison et la D-GalNAc liée en α . Ce pentasaccharide **121** a été obtenu par la glycosylation de deux blocs polysaccharidiques, le disaccharide **122** et le trisaccharide **95** (Schéma 21).

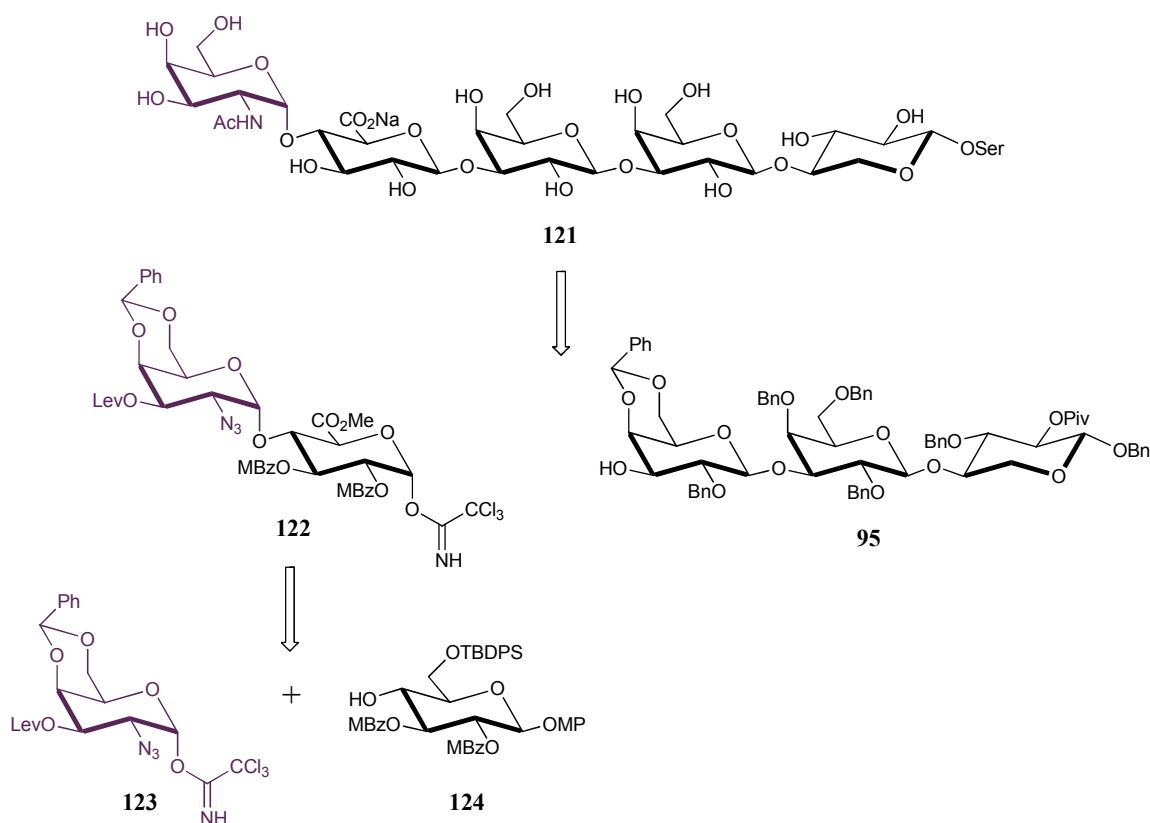


Schéma 21 : Rétrosynthèse du pentasaccharide **121**

⁶² Manzi, A., Salimath, P. V., Spiro, R. C., Keifer, P. A., Freeze, H. H., *J. Biol. Chem.*, **1995**, 270, 9154-9163

⁶³ Kitagawa, H., Tanaka, Y., Tsuchida, K., Goto, F., Ogawa, T., Lidholt, K., Lindahl, U., Sugahara, K., *J. Biol. Chem.*, **1995**, 270, 22190-22195

⁶⁴ Neumann, K. W., Tamura, J.-I., Ogawa, T., *Glycoconj. J.*, **1996**, 13, 933-936

Le disaccharide **122** est obtenu après glycosylation entre les monosaccharides **123**, qui possède comme précédemment un azido en position 2, et **124**, suivie des étapes de déprotection du TBDPS, oxydation, estérification et formation de l'imide. La glycosylation a été réalisée en présence de TMSOTf et conduit à un mélange de stéréoisomères α/β inséparables avec un ratio 1/2. Leur séparation est réalisée après l'estérification. La glycosylation entre le composé **122** et le trisaccharide **95**, déjà connu,⁴⁶ permet d'obtenir le pentasaccharide, qui subit une série de protections / déprotections et la réduction du N₃ par hydrogénolyse avec le catalyseur de Lindlar suivie de l'acétylation. L'activation du pentasaccharide par un imideate permet d'introduire le motif sérine sur la position anomérique. Une déprotection totale permet d'accéder au composé final **121**.

Le groupe de Tamura J.-I.⁶⁵ a synthétisé en 1999 la séquence suivante D-GalNAc- α -(1 $\rightarrow$ 4)-D-GlcA- β -(1 $\rightarrow$ 3)-D-Gal, possédant un bras aminé ou une biotine en position anomérique, composés **125** et **126** respectivement (*Schéma 22*).

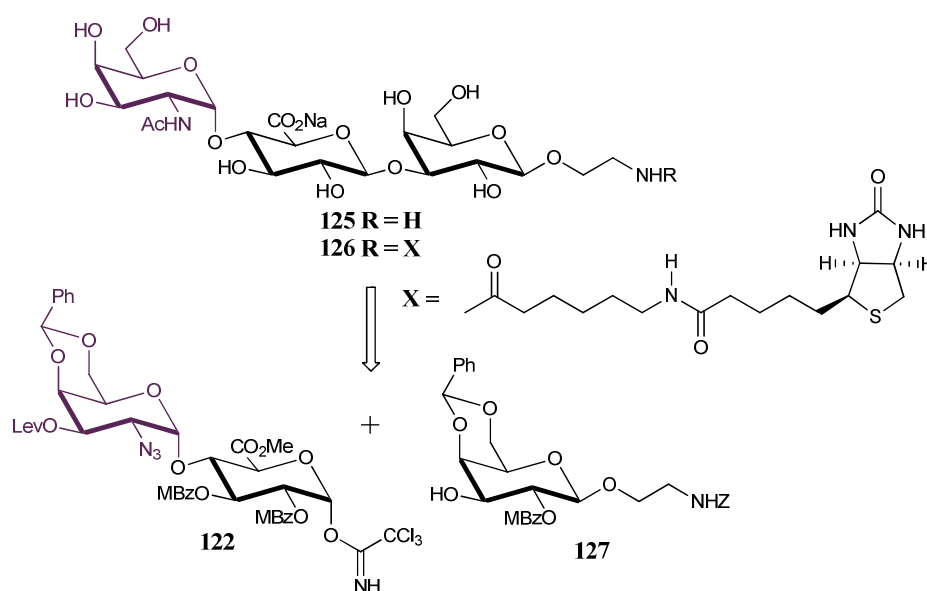


Schéma 22 : Rétrosynthèse des trisaccharides 125 et 126

Les composés **125** et **126** ont été obtenus à partir du disaccharide **122** déjà connu⁶⁴ et du monosaccharide **127**. La glycosylation entre ces deux composés forme le trisaccharide dont l'azido est ensuite réduit par l'acide thioacétique. Une déprotection totale conduit au produit **125** alors qu'un couplage avec le dérivé de la biotine suivie de la déprotection totale permettent d'accéder au trisaccharide **126**.

Ces auteurs ont également synthétisé le disaccharide D-GlcA-D-Gal biotinylé ou non à l'aide du composé **127** et du donneur GlcA connu.⁵⁶

⁶⁵ Tamura, J.-I., Miura, Y., Freeze, H. H., *J. Carbohydr. Chem.*, **1999**, 18, 1-14

Très peu de synthèses de motifs de la zone de liaison liée à un dérivé D-GalNAc en α ont été réalisées. Celles-ci montrent comme précédemment l'importance du groupement en position 2 du sucre aminé.

Un grand nombre de travaux ont donc été décrits sur la synthèse de la zone de liaison sulfatée mais il existe très peu de travaux sur la synthèse de motifs de la zone de liaison sulfatée avec une amorce de CS et il n'existe, à notre connaissance, qu'une publication sur la synthèse de motifs de la zone de liaison liés à une amorce de Hep/HS et aucune où la zone de liaison est sulfatée.

III- OBJECTIFS ET STRATÉGIE DE SYNTHÈSE

III-1. Objectifs de recherche

Comme présenté dans les chapitres précédents, les modifications sulfatées des positions 4 ou 6 des D-galactoses de la zone de liaison peuvent avoir lieu lors de la biosynthèse des protéoglycanes mais leur rôle n'est pas encore bien déterminé, notamment sur les enzymes de bifurcation. De nombreuses études ont montré la synthèse totale ou partielle de la zone de liaison, sulfatée sur au moins l'un des D-galactoses. Mais très peu d'études reportent la synthèse de composés disaccharidiques sulfatés de la zone de liaison possédant la première unité des CS/DS ou des Hep/HS. De plus, très peu de résultats biologiques associés à ces différentes synthèses sont publiés sur la CSGalNAcT-1 et l'EXTL2 ou l'EXTL3.

Dans le cadre d'un projet ANR « GAG-sorting » en collaboration avec l'équipe de biologistes du Dr. Sylvie Fournel-Gigleux de l'université de Lorraine, nous nous sommes intéressés au comportement de deux enzymes de bifurcation, la CSGalNAcT-1 et l'EXTL3, vis-à-vis de composés sulfatés. En effet, cette équipe avait montré que des trisaccharides D-GlcA-D-Gal-D-Gal de la zone de liaison étaient substrats de la CSGalNAcT-1 et que les composés sulfatés en position 4 ou 6 du Gal-1 ou en position 6 du Gal-2 étaient meilleurs substrats que leurs analogues non sulfatés. De plus aucune activité n'était observée avec le trisaccharide sulfaté en position 4 du Gal-2.⁴⁵

L'objectif de ce travail de thèse est donc la synthèse de disaccharides de la zone de liaison, dont le motif sera D-GlcA- β -(1 $\rightarrow$ 3)-D-Gal, sulfatés en position 4 ou 6 du D-galactose, afin, d'une part, de voir si ce motif disaccharidique est suffisant pour être substrat de la CSGalNAcT-1 et de l'EXTL3 et d'autre part d'étudier le rôle des sulfates sur ces deux enzymes. Ces composés posséderont un groupement encombrant UV-visible en position anomérique, le motif 2-naphtylméthyle (NAP), afin de faciliter leur détection lors des tests biologiques. Les différentes molécules **128-130** seront donc synthétisées (*Figure 9*).

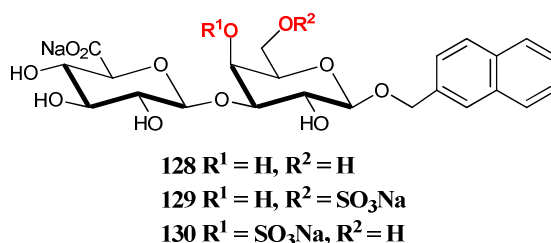


Figure 9 : Disaccharides cibles

Afin d'interpréter de manière non ambiguë les résultats des tests biologiques, les produits de transfert **131-136**, qui sont des trisaccharides possédant le motif disaccharidique précédent attaché au premier motif aminé des deux types de GAGs (D-GalNAc et D-GlcNAc), seront également synthétisés.

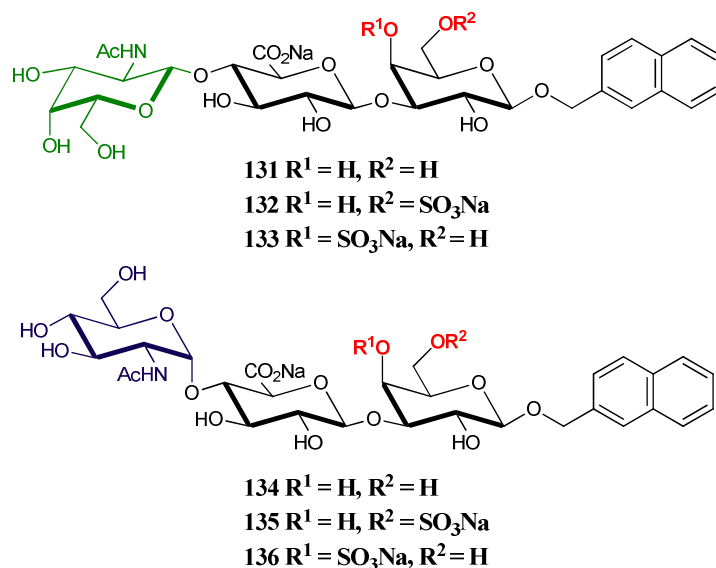


Figure 10 : Trisaccharides cibles

Ces produits de transfert pourront également être testés, dans un projet futur, sur les enzymes d'élongation des chaînes de CS et de HS afin d'étudier le rôle des sulfatations sur celles-ci.

Toutes ces synthèses seront présentées au chapitre IV.

Dans un deuxième temps, nous nous intéresserons à la sulfatation des sucres, et nous avons envisagé, en collaboration avec l'équipe du Professeur Sylvain Routier et du Docteur Frédéric Buron (ICOA), de tester de nouvelles méthodes d'activation pour ces réactions, à savoir le micro-ondes et la chimie en flux continu, pour effectuer la 6-sulfatation régiosélective, la sulfatation de la position 4 ou encore la 4,6-disulfatation.

Dans le même esprit, nous avons envisagé d'utiliser des sulfatases afin de désulfater des composés 4,6-disulfatés, pour obtenir les composés monosulfatés correspondants, en collaboration avec le Professeur Richard Daniellou et le Docteur Pierre Lafite (ICOA).

Ces deux volets feront l'objet des chapitres V et VI.

III-2. Stratégie de synthèse pour accéder aux di- et trisaccharides sulfatés

Notre stratégie de synthèse repose sur une synthèse convergente avec la préparation du disaccharide **137**, commun à toutes les molécules finales (*Figure 11*).

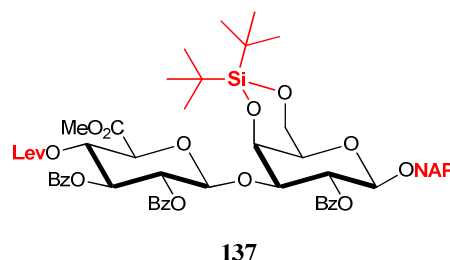


Figure 11 : Précurseur 137

Ce disaccharide possède un groupement NAP en position anomérique, un groupement silylène sur les positions 4 et 6 du D-Gal, qui pourra être sélectivement déprotégé pour les sulfatations futures, et un groupement protecteur temporaire lévulinoyle qui permettra l'accès aux trisaccharides.

Ce disaccharide **137** provient de la glycosylation entre deux monosaccharides, le bloc donneur **82** et le bloc accepteur **138**. Le composé **82**, dont la synthèse est déjà connue au laboratoire,⁵⁵ possède des groupements permanents Bz et un groupement temporaire Lev. L'acide carboxylique est quant à lui protégé sous forme d'ester méthylique. Ce composé est activé par un imidate pour permettre la glycosylation. Le monosaccharide **138** possède également un Bz comme groupement permanent, un silylène sur les positions 4 et 6 et le groupement NAP en position anomérique ; la position 3 reste libre pour pouvoir effectuer la glycosylation (*Schéma 23*).

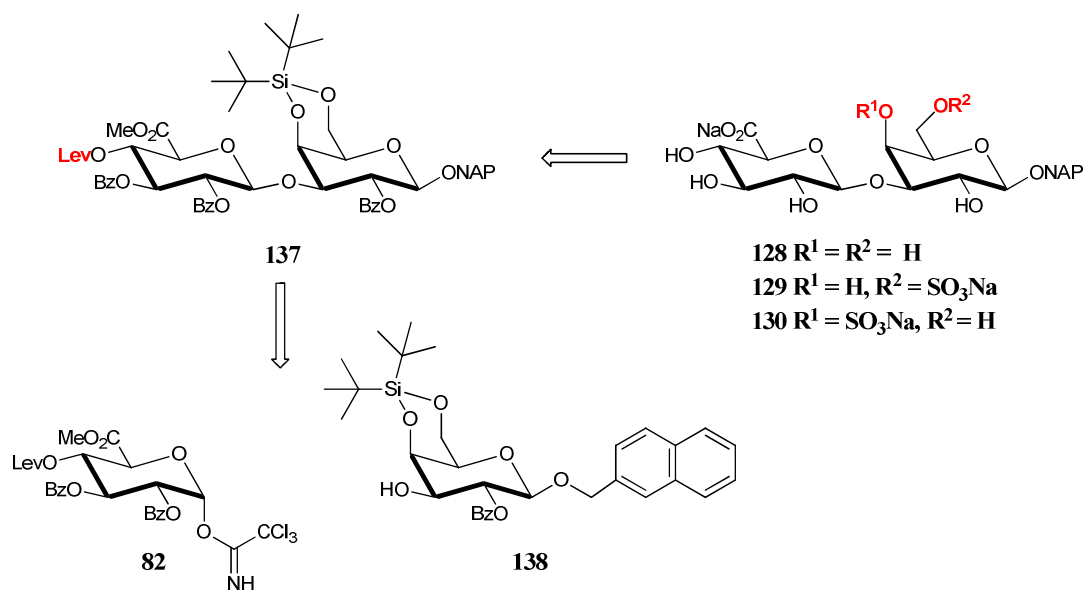


Schéma 23 : Rétrosynthèse des différents composés

Les différents trisaccharides comportant la première unité des CS **131-133** et ceux comportant la première unité des HS **134-136** seront obtenus à partir du disaccharide **137**, dont le groupement Lev sera sélectivement déprotégé, et des différents monosaccharides **111** et **139** respectivement (*Schéma 24*).

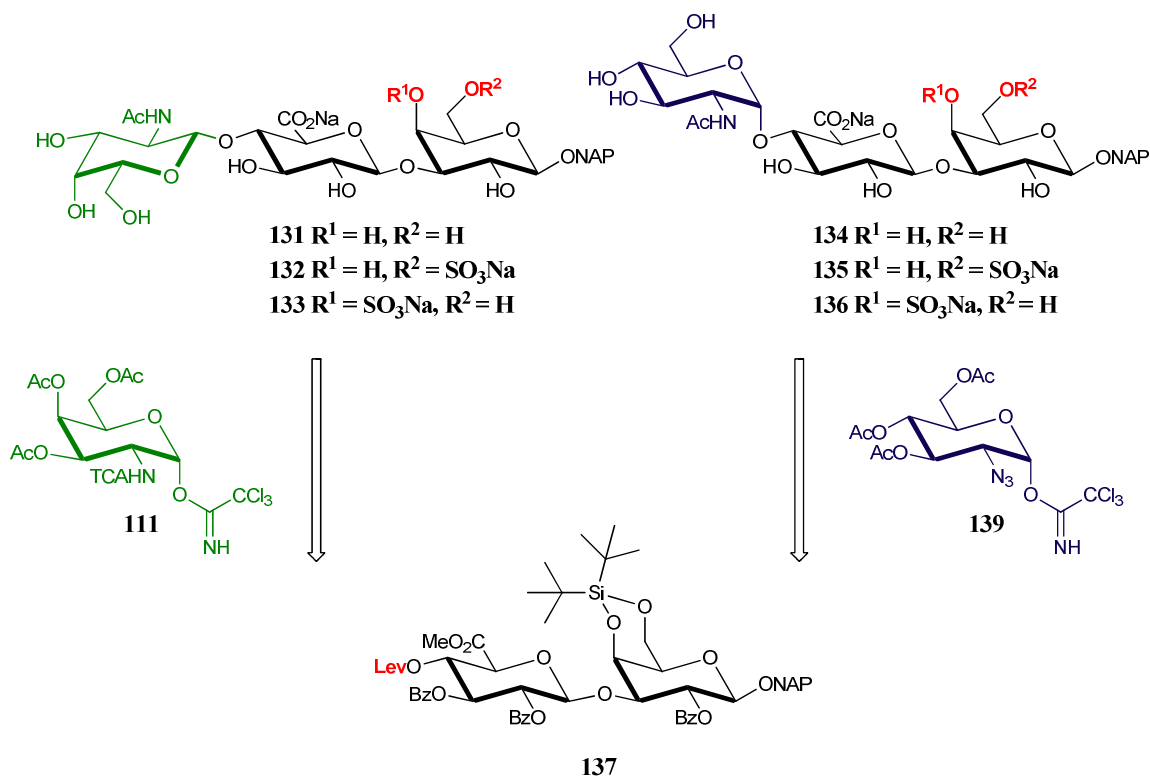


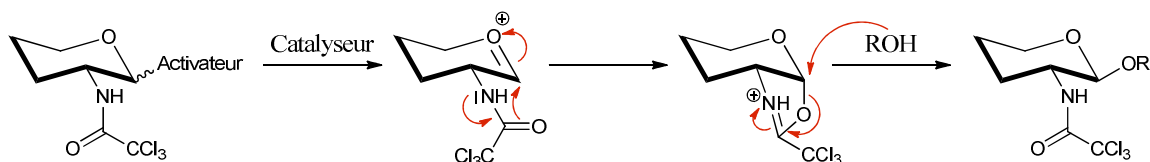
Schéma 24 : Rétrosynthèse des trisaccharides 131-136

La D-GalN **111**, qui est la première unité des CS, est protégée par des groupements acétates sur les positions 3, 4 et 6, l'amine de la position 2 est protégée par un groupement trichloroacétate (TCA) et la position 1 est activée par un trichloroacétimide.

La D-GlcN **139**, qui est la première unité des HS, est protégée par des groupements acétates sur les positions 3, 4 et 6 et possède un groupement azido N_3 sur la position 2 comme précurseur d'amine. La position 1 est, quant à elle, activée par un trichloroacétimide.

Le choix de ces deux groupements différents en position 2 s'explique par la sélectivité souhaitée. En effet, lors de la glycosylation, si l'anométrie 1,2-*trans* est souhaitée, un groupement participant (du type ester, amide, thioester) est nécessaire en position 2 du sucre donneur afin d'avoir l'assistance anchimérique. Pour une anométrie 1,2-*cis* un groupement non participant (azido, éther) doit être utilisé (*Schéma 25*). Pour les trisaccharides **131-133**, l'anométrie 1,2-*trans*, ici β , étant souhaitée, un groupement participant amide est donc nécessaire sur la position 2 du composé **111**. Dans notre synthèse, le groupement trichloroacétamide sera utilisé car il a été montré que cela permettait d'avoir de bons rendements de glycosylation avec une très bonne sélectivité 1,2-*trans*.⁶⁰ En revanche, pour les trisaccharides **134-136**, la sélectivité 1,2-*cis*, ici α , étant voulue, un groupement non participant comme le groupement azido sera utilisé.

Avec assistance anchimérique



Sans assistance anchimérique

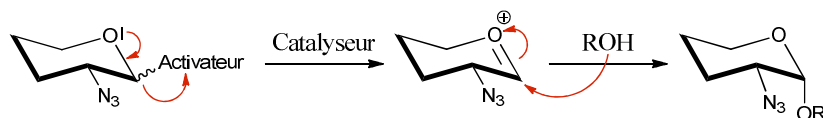


Schéma 25 : Mécanismes de glycosylation

Tous les donneurs utilisés dans nos synthèses seront activés par des trichloroacétimides. En effet, bien qu'il existe différentes méthodes pour préparer des composés activés, les trichloroacétimides de Schmidt⁶⁶ semblent les plus utilisés. Ces derniers sont obtenus à partir des hémiacétals des sucres correspondant et le groupement activateur est introduit en présence de trichloroacétonitrile (Cl₃CCN) et d'une base (Schéma 26). La base utilisée permet le contrôle de l'anomérisation α/β . L'anomère β est le composé cinétique et l'anomère α est le produit thermodynamique. L'utilisation d'une base encombrée comme la 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undéc-7-ène (DBU) permet d'obtenir majoritairement une anomérie α .

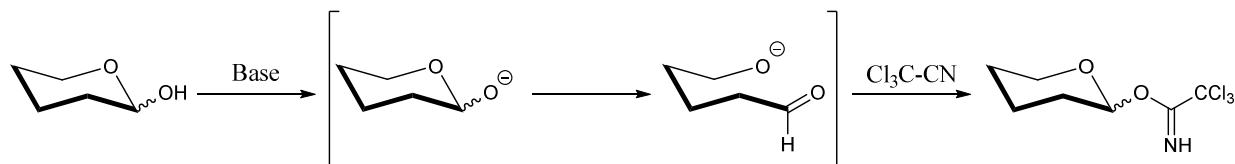


Schéma 26 : Formation du trichloroacétimide de Schmidt

⁶⁶ Schmidt, R. R., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1986**, 25, 212-235

IV- SYNTHÈSE

Dans ce chapitre, nous décrirons dans un premier temps la synthèse du disaccharide clé **137**, puis la synthèse des différents composés sulfatés et enfin celles des différents trisaccharides, possédant la première unité des CS ou celle des HS.

IV-1. Synthèse du disaccharide protégé de la zone de liaison **137**

La synthèse du disaccharide protégé de la zone de liaison **137** a donc nécessité la préparation des deux monosaccharides clés, le bloc donneur **82** et le bloc accepteur **138**.

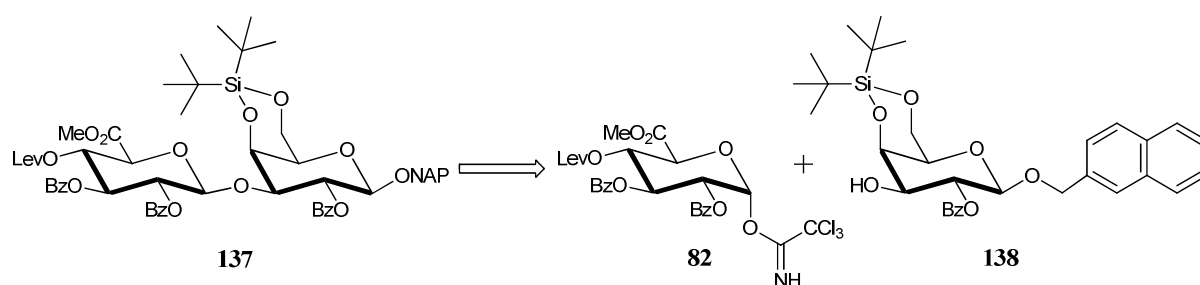


Schéma 27 : Rétrosynthèse du disaccharide **137**

IV-1.1. Synthèse du bloc donneur **82**

Le bloc donneur **82** possède un ester méthylé en position 6, un groupement protecteur temporaire lévulinoyle en position 4 et des groupements protecteurs permanents benzoyles en position 2 et 3. Il est activé en position anomérique par un trichloroacétimide.

Différentes synthèses du composé D-glucuronique **82** sont reportées dans la littérature.^{67,68} Au sein du laboratoire, une première voie de synthèse a été développée en partant de la 6,3-D-glucuronolactone commerciale. Les étapes clés de cette synthèse sont l'ouverture de la lactone et la benzylation sélective des positions 2 et 3 après l'introduction du groupement MP en position anomérique. La dibenzoylation sélective a été effectuée en présence d'oxyde de dibutylétain et de chlorure de benzoyle (BzCl).⁶⁹ Une coupure oxydante du MP suivie de la trichloroacétimidoylation de Schmidt conduisent au composé souhaité **82**.⁵⁵ Cette synthèse est donc réalisée en 7 étapes avec un rendement global de 5% (Schéma 28).

⁶⁷ Bindshädler, P., Noti, C., Castagnetti, E., Seeberger, P. H., *Helv. Chim. Acta*, **2006**, 89, 2591-2610

⁶⁸ Yang, S., Wang, A., Zhang, G., Di, X., Zhao, Z., Lei, P., *Tetrahedron*, **2016**, 72, 5659-5670

⁶⁹ Blatter, G., Jacquinet, J.-C., *Carbohydr. Res.*, **1996**, 288, 109-125

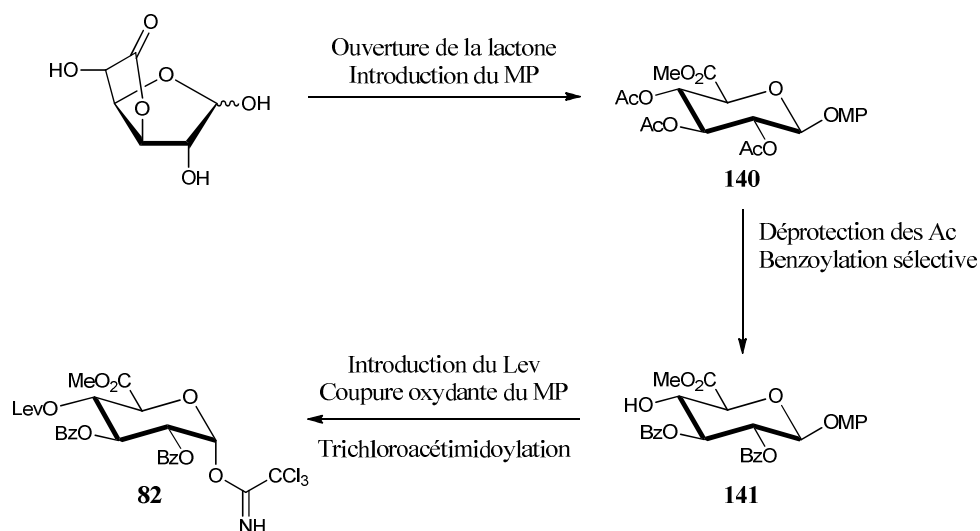


Schéma 28 : Synthèse de 82 à partir de la lactone

Une nouvelle voie de synthèse a été élaborée récemment au laboratoire⁵⁵ et c'est celle-ci que nous avons choisie d'utiliser. Une glycosylation directe avec le 4-méthoxyphénol sur le β -D-glucose peracétylé en présence de TMSOTf conduit au composé **142** avec un rendement de 78%. Le groupement MP a été choisi car il est facilement clivable. De plus, seul le composé d'anométrie β est obtenu, grâce à la présence du groupement participant acétate en position 2 (voir Schéma 25).

Une transestérification en présence de méthanolate de sodium MeONa donne le tétrol (98%) dont les positions 4 et 6 sont ensuite protégées par un benzylidène pour conduire à la molécule **143** (93%). Les positions 2 et 3 sont alors benzoylées en présence de BzCl dans un mélange de solvant CH_2Cl_2 /pyridine 2/1 et l'hydrolyse acide de l'acétal permet d'accéder à la molécule **144** (64% sur deux étapes) (Schéma 29).

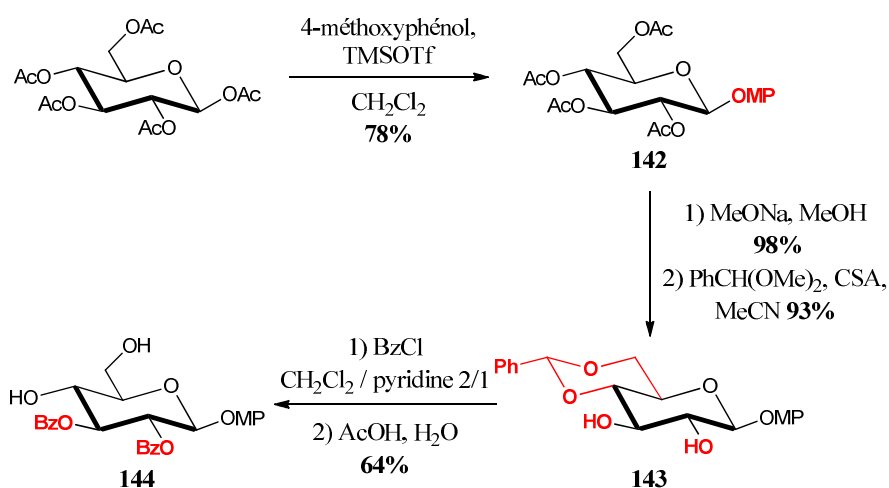


Schéma 29 : Synthèse du diol 144

L'alcool primaire est ensuite sélectivement oxydé en présence de (2,2,6,6-tétraméthylpipéridin-1-yl)oxy (TEMPO) et de bis acétoxy iodobenzène (BAIB), suivant les

conditions de Van der Marel,⁷⁰ pour donner l'acide correspondant (74%) qui est ensuite estérifié avec de l'iodure de méthyle (MeI) en présence de K₂CO₃ dans le *N,N*-diméthylformamide (DMF) (73%).

L'introduction du groupement lévulinoyle sur l'hydroxyle libre est réalisée en présence d'acide lévulinique, de 4-diméthylaminopyridine (DMAP) et de 1,3-dicyclohexylcarbodiimide (DCC) et conduit au composé **145** (87%).

Une coupure oxydante du MP à l'aide de nitrate d'ammonium cérique (CAN) (93%) suivie de la trichloroacétimidoylation de Schmidt permettent l'obtention du précurseur D-glucuronique **82** (82%) (Schéma 30).

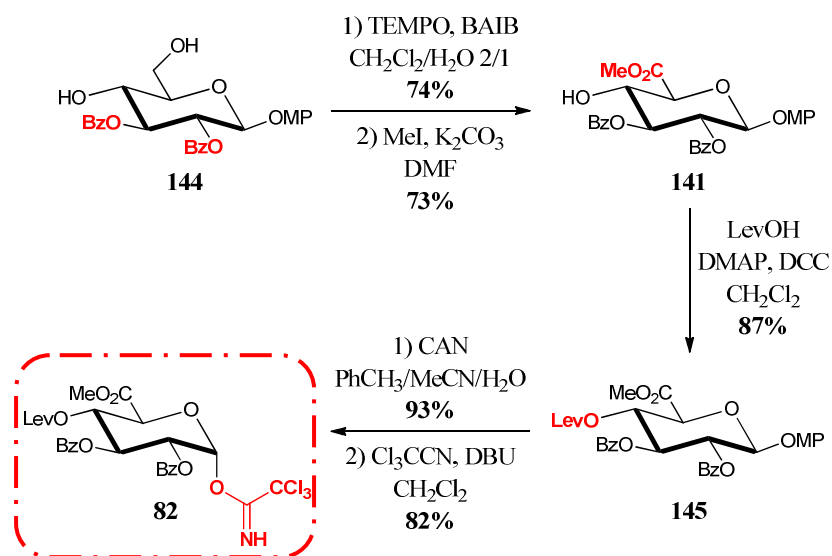


Schéma 30 : Synthèse du composé **82**

Cette synthèse permet ainsi d'obtenir le composé D-glucuronique **82** en 10 étapes avec un rendement global de 16%.

IV-1.2. Synthèse du bloc accepteur **138**

Le bloc accepteur **138** comporte un groupement protecteur silylé sur les positions 4 et 6, qui pourra être déprotégé sélectivement afin de modifier ces positions, un groupement benzoyle en position 2 et possède le groupement 2-naphtylméthyle comme aglycone, qui est un groupement encombré et UV-visible, nécessaire pour les tests biologiques. Différents D-galactosyles silylés ont déjà été synthétisés dans notre équipe, mais avec des aglycones différents.^{52,55}

La synthèse de ce composé commence par l'introduction du groupement NAP en position anomérique. Le groupement NAP n'étant pas suffisamment réactif pour être directement glycosylé à partir du D-Gal peracétylé commercial **8**, une activation de la position anomérique a été nécessaire. La *O*-déacylation sélective de l'acétate anomérique est réalisée

⁷⁰ Van den Bos, L., Codée, J. D. C., van der Toorn, J. C., Boltje, T. J., van Boom, J. H., Overkleeft, H. S., van der Marel, G. A., *Org. Lett.*, **2004**, 6, 2165-2168

avec de l'acétate d'hydrazine⁷¹ (90% de rendement) puis cette position est activée par un trichloroacétimide en présence de trichloroacétonitrile (Cl_3CCN) et de 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène (DBU) permettant l'accès au composé **29** (81%).

La glycosylation de ce dernier avec du 2-naphtalénométhanol en présence de TMSOTf suivie de la transestérification des acétates avec du méthanolate de sodium conduisent au tétrol **146** avec un rendement de 77% sur deux étapes (Schéma 31).

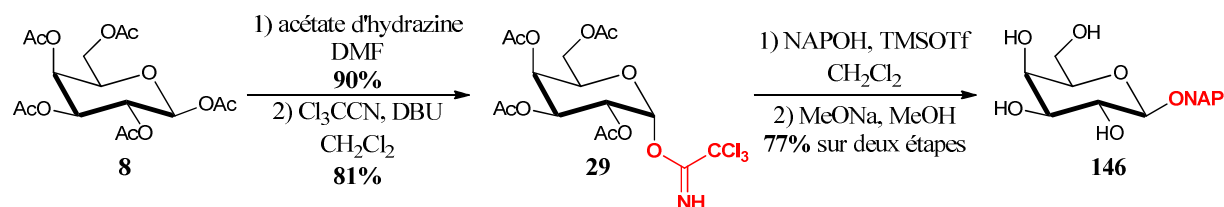


Schéma 31 : Formation du tétrol **146**

Afin d'isoler la position 2 pour pouvoir ensuite la benzoyler, des acétals sont introduits sur les positions 3, 4 et 6 avec du 2,2-diméthoxypropane en présence d'acide camphresulfonique (CSA) pour donner le composé **147** (49% de rendement). Ce rendement moyen peut être expliqué par l'instabilité de l'acétal en position 6, qui s'hydrolyse rapidement.

La molécule **147** est donc directement engagée après purification dans l'étape suivante, c'est-à-dire dans l'étape de benzoylation de la position 2. Celle-ci est réalisée en présence de chlorure de benzoyle (BzCl) dans un mélange $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{pyr}$ 3/1 et conduit au composé **148** (96%). A ce stade, des traces de produit 6-*O*-benzoylé peuvent également être observées.

Les acétals sont ensuite hydrolysés par une solution d'acide acétique à 60% à reflux permettant l'obtention du composé **149** (81%). Le motif silylène est alors introduit par un traitement du composé **149** avec le di-*tert*-butylsilylbis(trifluorométhanesulfonate) (diTBSdiOTf) qui mène à l'accepteur **138** avec un rendement de 50% (Schéma 32).

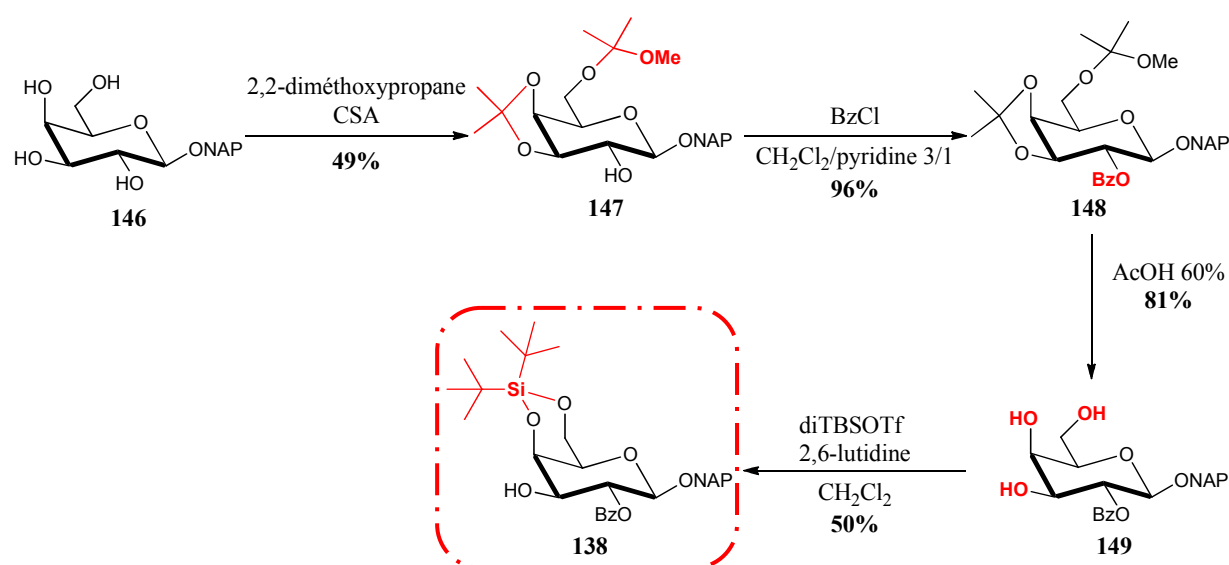


Schéma 32 : Synthèse de l'accepteur **138**

⁷¹ Excoffier, G., Gagnaire, D., Uille, J.-P., *Carbohydr. Res.*, **1975**, 39, 368-373

L'accepteur D-galactosyl **138** est ainsi obtenu en 8 étapes à partir du D-Gal peracétylé avec un rendement global de 11%.

IV-1.3. Synthèse du disaccharide **137**

Les deux monosaccharides **82** et **138**, une fois obtenus, ont permis d'accéder au disaccharide **137** par une étape de glycosylation.

Des travaux précédents⁵⁵ au laboratoire rapportent une glycosylation entre le composé **82** et le monosaccharide **43**, semblable à la molécule **138**, possédant également un silylène. La glycosylation entre les composés **82** et **43** en présence de TMSOTf dans le CH₂Cl₂ a permis d'obtenir le disaccharide **150** avec un rendement de 92% (Schéma 33).

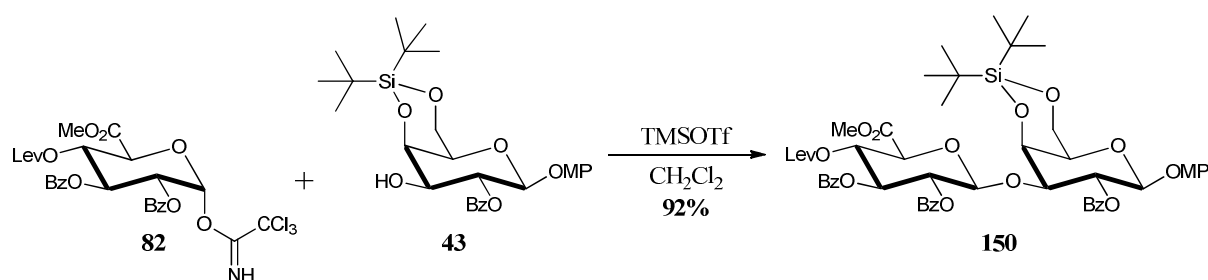


Schéma 33 : Glycosylation entre les composés **82** et **43**

En s'appuyant sur ces résultats, la glycosylation entre les monosaccharides **82** et **138** a été réalisée (Schéma 34).

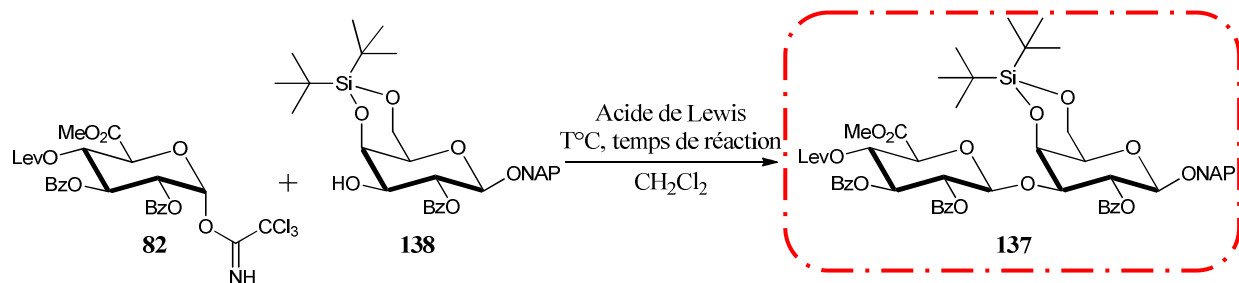


Schéma 34 : Glycosylation entre les composés **82** et **138**

En présence de TMSOTf, le composé **137** a été obtenu avec un rendement de 51% en 45 min (Tableau 1, entrée 1). Afin d'améliorer ce rendement, un autre acide de Lewis a été testé, le BF₃.Et₂O. Dans des proportions similaires à celles utilisées précédemment, le rendement obtenu est de 70% (Tableau 2, entrée 2) ; en augmentant les quantités de produits de départ, le rendement augmente sensiblement (Tableau 2, entrée 3).

Tableau 2 : Conditions de glycosylation

Entrée	Acide de Lewis	Température	Temps de réaction	Masse de 134	Rendement
1	TMSOTf 1M ^a	TA	45 min	100 mg	51%
2	BF ₃ .Et ₂ O 1M ^a	TA ^b	45 min	120 mg	70%
3	BF ₃ .Et ₂ O 1M ^a	TA ^b	45 min	400 mg	87%

^a solution d'acide de Lewis à 1M dans le toluène, ^b 0°C pour l'ajout de BF₃.Et₂O puis TA pour la réaction

Une autre voie de synthèse du composé **137** a également été mise au point au laboratoire par le Dr. Benjamin Ayela, afin d'éviter le passage par l'acétal mixte lors de la synthèse de **138**, qui est l'étape limitante dans cette synthèse.

Ainsi, dans un premier temps, le motif silylène est introduit directement sur les positions 4 et 6 du tétrol **146** avec un rendement de 52% (Schéma 35).

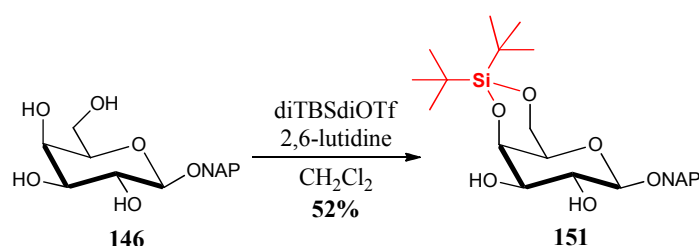


Schéma 35 : Préparation du composé 151

L'étape suivante consiste à glycosyler ce diol avec le donneur **82**, en s'appuyant sur la différence de réactivité entre les alcools 2 et 3. Il a été mis en évidence que des liaisons hydrogènes intramoléculaires pouvaient augmenter la nucléophilie des alcools impliqués dans ces liaisons et ainsi augmenter leur réactivité.⁷² Dans notre cas, l'alcool en position 3 possède un oxygène adjacent en position *cis*. Cela permet donc la formation de liaisons hydrogènes entre les deux, ce qui va augmenter la nucléophilie de l'alcool en position 3 et potentiellement sa réactivité (Figure 12).

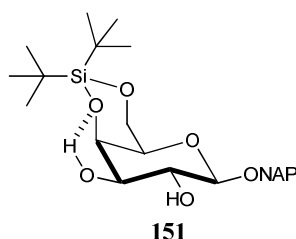


Figure 12 : Illustration des liaisons hydrogènes intramoléculaires

La glycosylation entre les composés **82** et **151** mène au disaccharide souhaité **152** mais également à la formation d'un trisaccharide, correspondant à l'accroche de deux unités donneurs sur l'accepteur **151** (Schéma 36).

⁷² Belen Cid, M., Alfonso, F., Alonso, I., Martin-Lomas, M., *Org. Biomol. Chem.*, **2009**, 7, 1471-1481

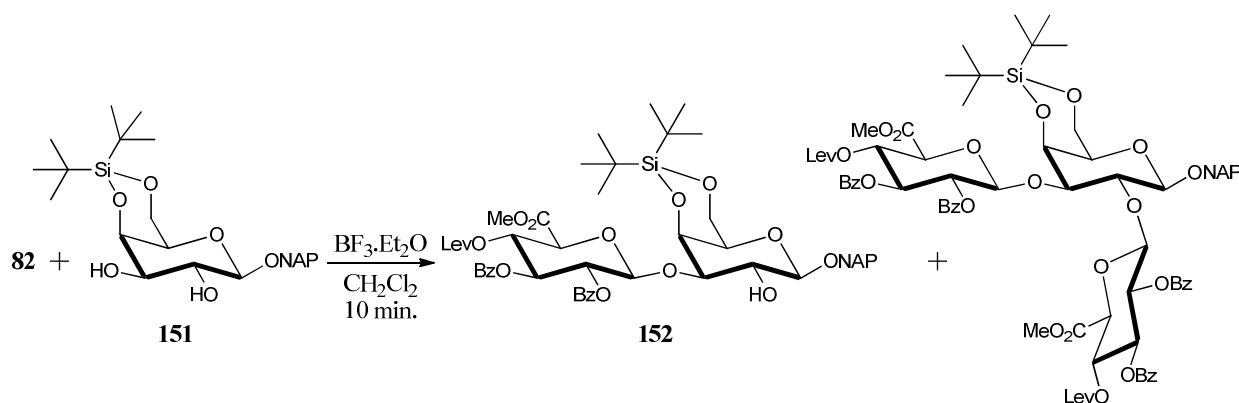


Schéma 36 : Glycosylation entre les composés 82 et 151

Après une optimisation des conditions, mises au point par le Dr. Benjamin Ayela, le disaccharide **152** est obtenu avec un rendement de 51%, avec 12% de composé trisaccharidique, en utilisant le $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$.

La benzylation de la position 2 en présence de BzCl permet d'obtenir la molécule **137** avec un rendement de 79% pour cette étape (Schéma 37).

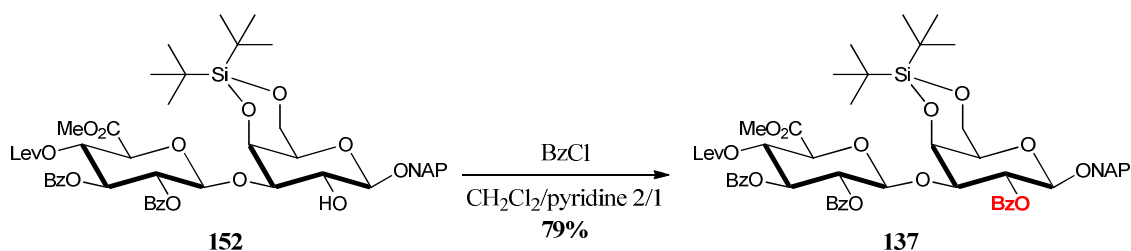


Schéma 37 : Benzoylation de la position 2 du disaccharide

La première voie de synthèse permet un bon contrôle de la glycosylation, qui s'effectue avec de bons rendements, mais elle implique le passage par des acétals peu stables. La seconde voie de synthèse réduit le nombre d'étapes pour obtenir le disaccharide **137** mais nécessite une glycosylation régiosélective difficile à contrôler.

Ces différentes synthèses nous ont donc permis d'obtenir le disaccharide **137**, précurseur pour les disaccharides finaux sulfatés ou non.

IV-2. Synthèses des disaccharides finaux sulfatés ou non

Afin d'obtenir les différents disaccharides finaux **128-130**, il est nécessaire de synthétiser dans un premier temps le diol **153**. Ce composé s'obtient à partir du disaccharide **137**, après déprotection du groupement silylène. Cette désilylation s'effectue en présence du complexe de triéthylamine trihydrofluorure ($3\text{HF} \cdot \text{Et}_3\text{N}$) à 0°C dans le THF et permet ainsi l'accès au composé **153** avec un rendement de 88% (Schéma 38).

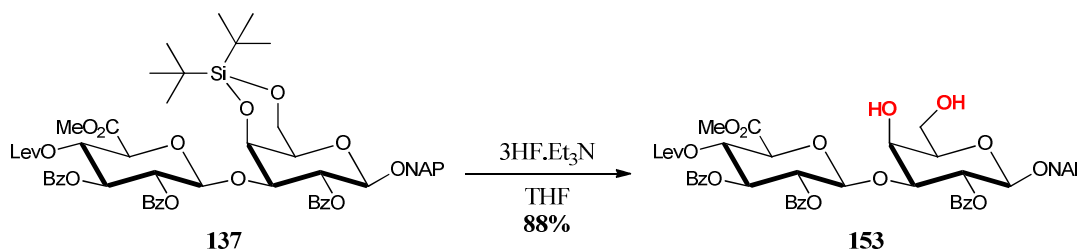


Schéma 38 : Obtention du composé **153**

A partir du diol **153**, deux voies de synthèse différentes sont envisagées afin de sulfater l'alcool en position 4 ou en position 6. En effet, s'il s'agit de l'alcool primaire en position 6, une sulfatation régiosélective permettra l'obtention du composé souhaité. Pour la sulfatation de la position 4, il s'agira d'une sulfatation exhaustive après benzylation de l'alcool primaire (Schéma 39).

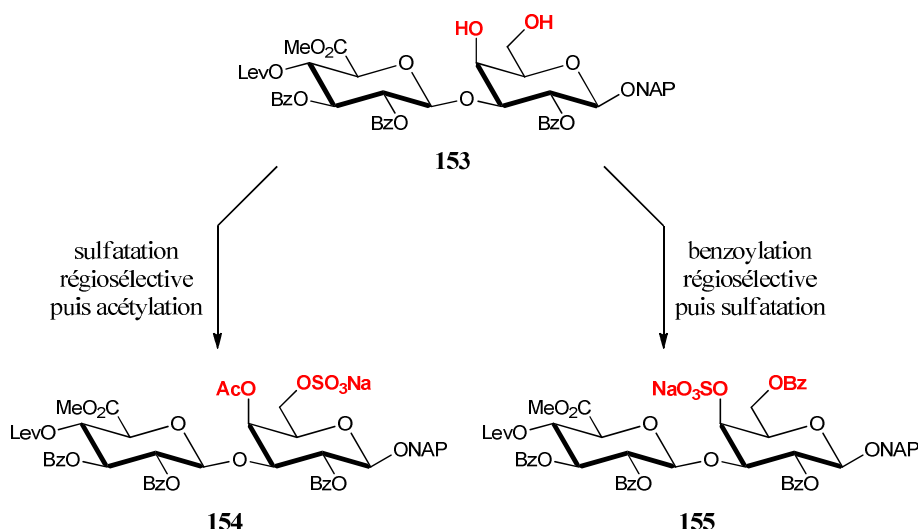


Schéma 39 : Stratégie de synthèse des composés sulfatés **154** et **155**

IV-2.1. Synthèse du disaccharide 6-sulfaté **129**

La sulfatation régiosélective du diol **153** est réalisée avec 2,5 équivalents (éq.) de complexe de trioxide de soufre-triméthylamine ($\text{SO}_3 \cdot \text{NMe}_3$) dans le *N,N*-diméthylformamide (DMF) à 40°C pendant 5h. Afin d'éviter l'obtention de produit disulfaté, il est important de ne pas mettre trop d'équivalents d'agent de sulfatation et de ne pas dépasser une température de 40°C . Une acétylation est ensuite réalisée afin de confirmer par RMN la sulfatation de la

position 6. Un échange d'ions sur une résine échangeuse d'ions Sephadex SP C25 [Na⁺] permet d'obtenir le composé souhaité **154** avec un rendement global pour ces étapes de 60% (Schéma 40).

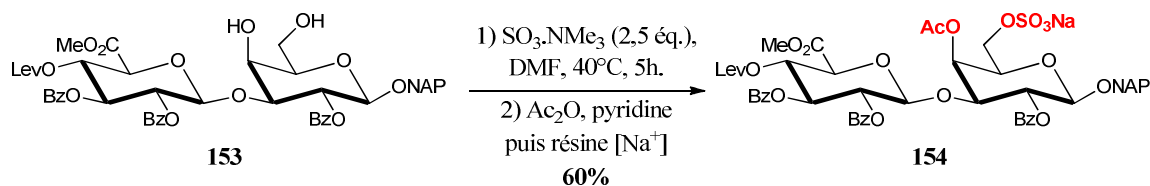


Schéma 40 : 6-Sulfatation du diol 153

La réaction de sulfatation de la position 6 et l'acétylation de la position 4 sont prouvées par la résonance magnétique nucléaire (RMN) ¹H et ¹³C car les protons et les carbones sulfaté et acétylé sont déblindés (Tableau 3).

Tableau 3 : RMN ¹H et ¹³C des positions 4 et 6

Composé	H-6 ppm H-4 ppm	C-6 ppm C-4 ppm
153	3,93-3,88 4,23-4,18	61,64 68,80
154	4,39-4,22 5,87	70,60 69,56

Une saponification permet d'obtenir le composé final 6-sulfaté **129**. Cette saponification se fait en deux temps : tout d'abord, l'ester méthylique est déprotégé en présence de peroxyde de lithium LiOOH formé *in situ* par une solution de lithine et d'eau oxygénée.⁷³ Cette méthode permet d'éviter le risque de β-élimination sur le D-Glc. En effet, l'ion HOO⁻ formé (pK_a = 11,6) est moins basique l'ion HO⁻ (pK_a = 15,8). Une fois l'ester méthylique déprotégé, les autres esters sont saponifiés avec l'ajout d'une solution de soude 4M. Après purification sur LH-20 dans l'eau, le composé **129** est obtenu avec un rendement de 40% (Schéma 41).

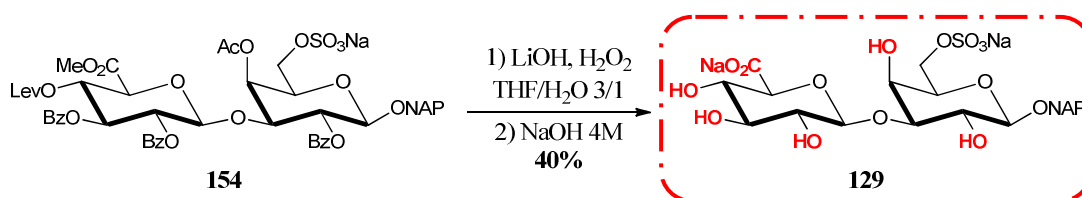


Schéma 41 : Saponification de la molécule 154

⁷³ Evans, D. A., Britton, T. C., Ellman, J. A., *Tetrahedron Lett.*, **1987**, 28, 6141-6144

IV-2.2. Synthèse du disaccharide 4-sulfaté 130

La sulfatation en position 4 requiert un nombre important d'équivalents d'agent de sulfatation ainsi qu'une température plus élevée. Comme la position primaire est plus réactive que la position 4, il est nécessaire de la protéger sélectivement avant de sulfater la position 4. Une benzylation sélective du diol **153** est donc réalisée à l'aide de cyanure de benzyle (BzCN) dans la pyridine et conduit au composé **156** avec un rendement de 75% (Schéma 42).

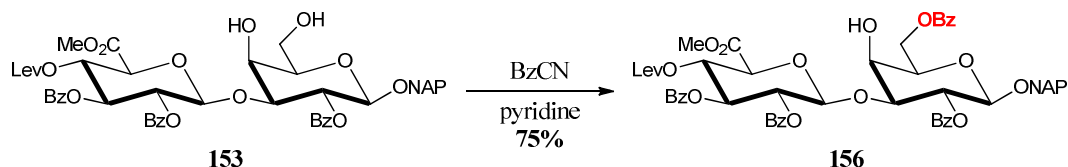


Schéma 42 : Benzoylation sélective du composé 156

La sulfatation du composé **156** est réalisée avec un très large excès de $\text{SO}_3 \cdot \text{NMe}_3$ chauffé dans le DMF à 60°C , car la position axiale est difficile à sulfater. Dans un premier temps, 10 éq. d'agent de sulfatation sont mis en présence du composé **156**. Après 21h, la réaction étant incomplète, de nouveaux éq. de $\text{SO}_3 \cdot \text{NMe}_3$ sont ajoutés et cela est répété plusieurs fois afin d'obtenir une réaction totale, ce qui a lieu après 5j. et 45 éq. d'agent de sulfatation. Une purification sur une colonne d'exclusion stérique LH-20 afin d'ôter l'excès de réactif ainsi qu'un échange d'ions permettent d'obtenir le composé souhaité **155** avec un rendement global pour ces étapes de 62% (Schéma 43).

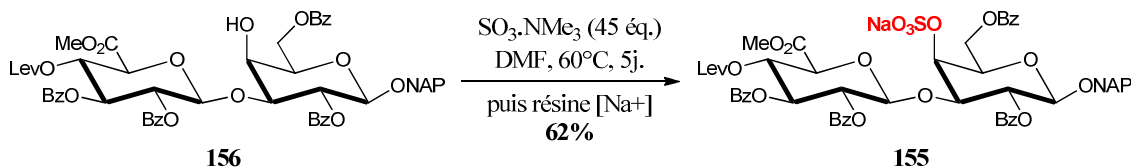


Schéma 43 : 4-Sulfatation du disaccharide 156

La réaction de sulfatation de la position 4 et celle de benzylation de la position 6 sont confirmées par RMN ^1H et ^{13}C puisque les protons et les carbones sulfaté et benzoylé sont déblindés, ce qui prouve la présence de groupements électroattracteurs sur les positions 4 et 6 (Tableau 4).

Tableau 4 : RMN ^1H et ^{13}C des positions 4 et 6

Composé	H-6 ppm H-4 ppm	C-6 ppm C-4 ppm
153	3,93-3,88 4,23-4,18	61,64 68,80
155	4,87-4,68 5,08-5,07	65,17 76,27

Une saponification en deux temps, dans les mêmes conditions que celles utilisées lors de la synthèse du composé **129**, permet d'obtenir le composé final **130**, sulfaté sur la position 4. Après purification sur LH-20 dans l'eau, le composé **130** est obtenu avec un rendement de 71% (Schéma 44).

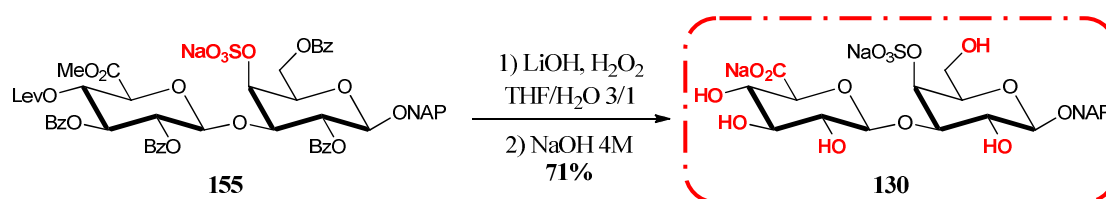


Schéma 44 : Obtention du disaccharide 130 4-sulfaté

IV-2.3. Synthèse du disaccharide non sulfaté 128

La saponification du composé **153**, réalisée dans les mêmes conditions que précédemment, permet d'obtenir le disaccharide non sulfaté **128** avec un rendement de 74%. Ce composé servira de témoin lors des tests biologiques (Schéma 45).

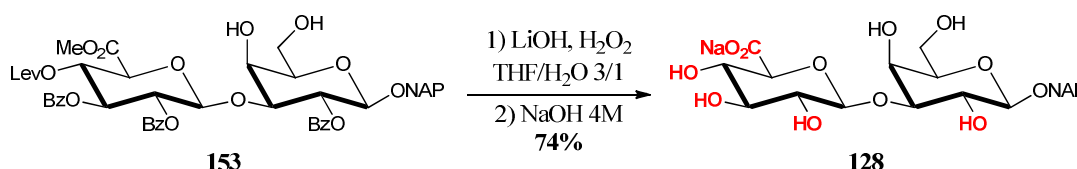


Schéma 45 : Saponification de la molécule 153

Les trois disaccharides non sulfaté, sulfaté en position 6 ou sulfaté en position 4 ont donc été synthétisés. La sulfatation de la position 6 a été réalisée sur le diol avec 2,5 éq. d'agent de sulfatation en 5h alors que celle de la position 4 a nécessité la protection de la position 6, un suivi constant de la réaction, un grand nombre d'éq. d'agent de sulfatation (45 éq.) ainsi qu'un temps de réaction conséquent (5j.).

IV-3. Synthèse des trisaccharides de la zone de liaison possédant la première unité des CS

Les trisaccharides **131-133**, possédant une unité D-GalN (amorce de CS), sont préparés à partir de la D-galactosamine **111** et du disaccharide **137**.

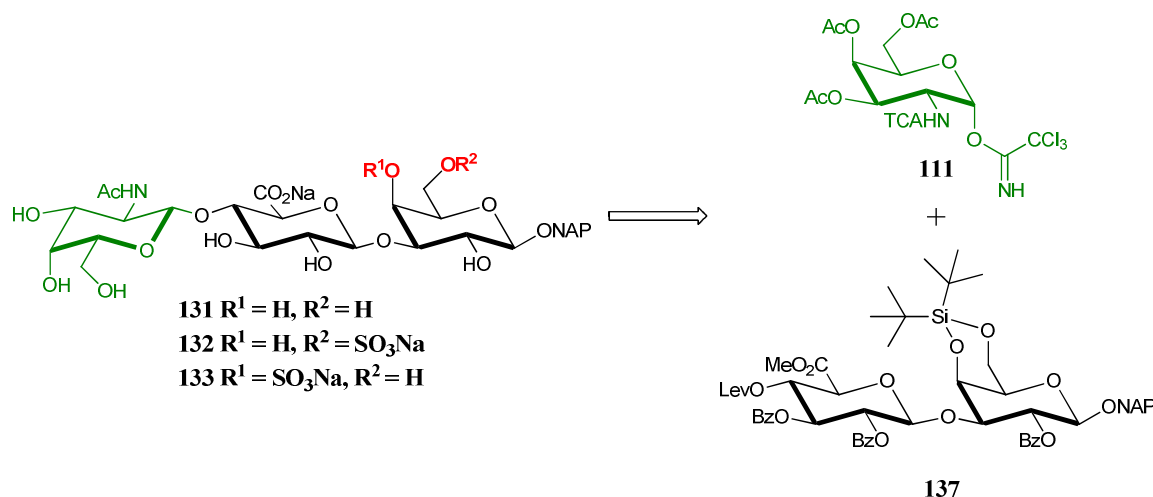


Schéma 46 : Rétrosynthèse des trisaccharides 131-133

IV-3.1. Préparation de la D-galactosamine 111

La synthèse de ce composé a déjà été réalisée au laboratoire en 12 étapes à partir de la D-glucosamine.⁷⁴ Partant d'un intermédiaire avancé de cette synthèse, le composé **157** disponible au laboratoire, nous avons préparé le produit de transfert **111** en 3 étapes. La peracétylation du composé **157** suivie de la coupure oxydante du MP et de la trichloroacétimidoylation conduisent au produit attendu **111** (Schéma 47).

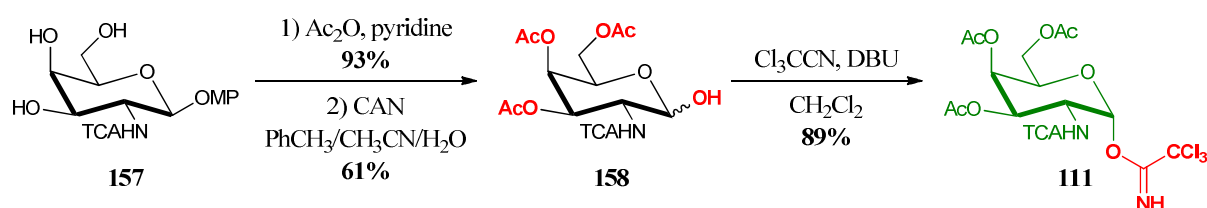


Schéma 47 : Synthèse de la D-galactosamine 111

IV-3.2. Synthèse du précurseur trisaccharidique 159

La synthèse des composés trisaccharidiques finaux **131-133** a nécessité celle d'un intermédiaire commun, le diol **159**, dont les positions 4 et 6 du D-Gal sont libres pour les futures sulfatations (Figure 13).

⁷⁴ Bélot, F., Jacquinet, J.-C., *Carbohydr. Res.*, **2000**, 325, 93-106

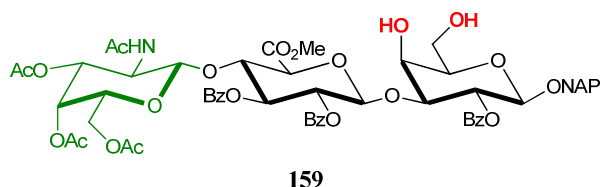


Figure 13 : Précurseur trisaccharidique 159

La synthèse de ce composé démarre avec la déprotection sélective du groupement Lev de la position 4 du D-GlcA de la molécule **137** mis en présence d'un mélange pyridine/AcOH/hydrazine (12/8/1) pendant exactement 8 minutes. La glycosylation du composé obtenu **160** avec la D-galactosamine **111** permet d'obtenir le trisaccharide **161** avec un bon rendement de 82% (Schéma 48).

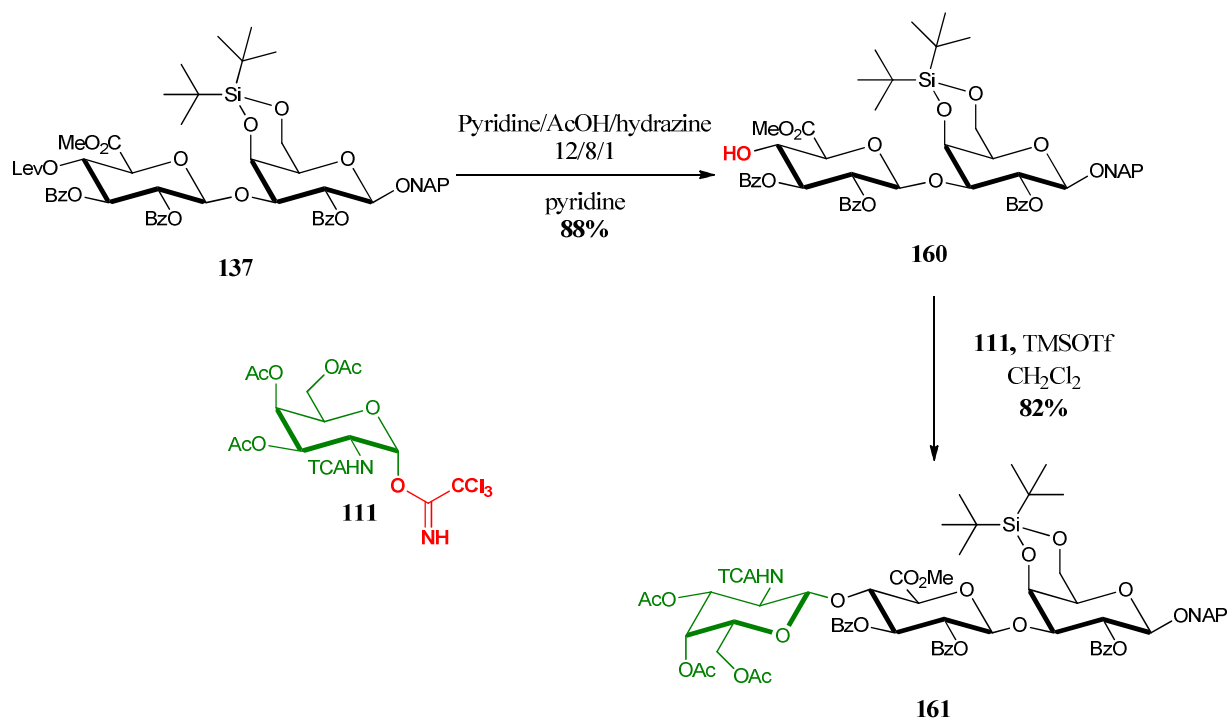


Schéma 48 : Préparation du trisaccharide 161

L'étape suivante est la réduction du trichloroacétamide en acétamide. Une méthode, développée précédemment au laboratoire,⁷⁵ permet de s'affranchir de l'utilisation de dérivé d'étain, communément utilisé pour de telles réactions,⁶⁰ et utilise le couple zinc/cuivre dans l'acide acétique chauffé à 50°C. Cette étape est réalisée par l'ajout séquentiel du couple zinc/cuivre afin d'avoir toujours en solution l'espèce réactive. Le composé **162** possédant le motif NHAc est ainsi obtenu avec 84% de rendement. Enfin, la déprotection du silylène, en présence de 3HF.Et₃N, permet d'obtenir le composé **159**, précurseur des composés finaux **131-133** (Schéma 49).

⁷⁵ Vibert, A., Lopin-Bon, C., Jacquinot, J.-C., *Tetrahedron Lett.*, **2010**, 51, 1867-1869

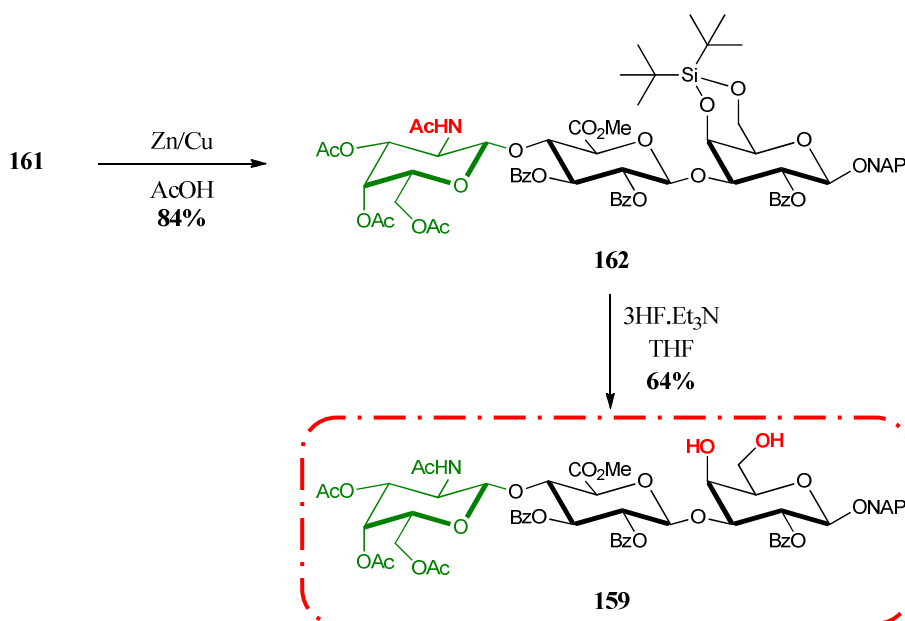


Schéma 49 : Synthèse du précurseur trisaccharidique 159

A partir du diol **159**, les composés sulfatés pourront être obtenus : la sulfation régiosélective permettra l'accès au composé sulfaté en position 6 tandis que la protection de la position 6 suivie de la sulfation de la position 4 donneront le composé 4-sulfaté.

IV-3.3. Synthèse du trisaccharide 6-sulfaté 132

Le diol **159** obtenu, nous avons réalisé la sulfatation régiosélective de la position 6 suivie de l'acétylation de la position 4, dans les mêmes conditions que précédemment. En présence de 2,5 éq. de $\text{SO}_3 \cdot \text{NMe}_3$, le composé **159** est chauffé à 40°C pendant 5h puis la position 4 est acétylée. Après purification sur colonne de gel de silice et échange d'ion, le sel de sodium **163** est alors obtenu, avec un rendement de 70% (Schéma 50).

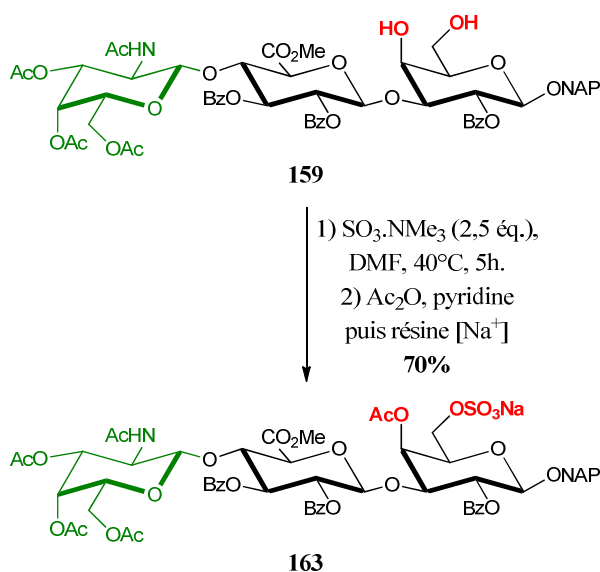


Schéma 50 : Sulfatation du trisaccharide 159

La sulfatation de la position 6 et l'acétylation de la position 4 ont été confirmées par RMN ^1H et ^{13}C . En comparant les valeurs obtenues pour les molécules **159** et **163**, un déplacement vers des valeurs déblindées est observé, montrant la présence de groupements électroattracteurs sur ces positions (*Tableau 5*).

Tableau 5 : RMN ^1H et ^{13}C des positions 4 et 6

Composé	H-6 ppm H-4 ppm	C-6 ppm C-4 ppm
159	3,38-3,27 4,25-4,23	60,26 68,71
163	4,19-4,11 5,59	66,75 70,49

Une saponification en deux temps, dans les mêmes conditions que celles du composé **154**, permet d'obtenir le trisaccharide final 6-sulfaté **132**, comportant la première unité des CS. Après purification sur LH-20 dans l'eau, le composé **132** est obtenu avec un rendement de 83% (*Schéma 51*).

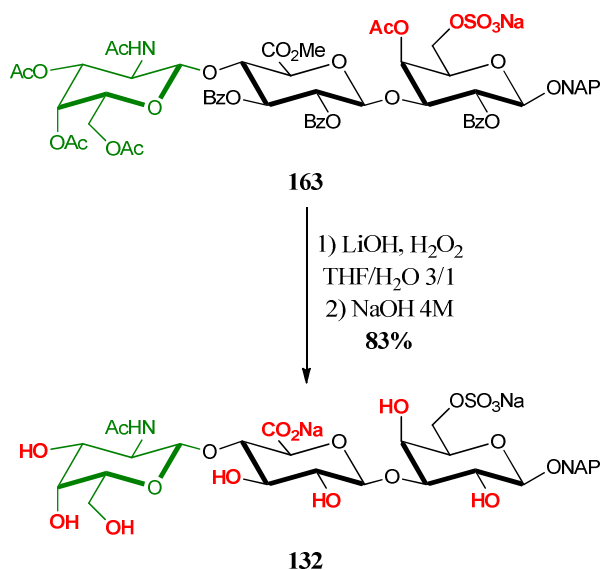


Schéma 51 : Saponification de la molécule 163

IV-3.4. Synthèse du trisaccharide 4-sulfaté **133**

Comme pour le disaccharide **130**, la préparation du composé **133** sulfaté en position 4 a nécessité au préalable la protection de la position 6 du diol **159**. Cette position a donc été sélectivement benzoylée en présence de BzCN, pour conduire au trisaccharide **164** (71%). La sulfatation de la position 4 avec un large excès d'agent de sulfatation est alors réalisée. Le composé **164** est mis en solution dans le DMF en présence de 10 éq. de $\text{SO}_3\cdot\text{NMe}_3$ à 60°C pendant 20h. Afin d'obtenir une réaction complète, de l'agent de sulfatation est ajouté

plusieurs fois pour finalement conduire au produit voulu après 6j. de réaction et 15 éq. d'agent de sulfatation. Une purification sur une colonne d'exclusion stérique LH-20 afin d'ôter l'excès de réactif ainsi qu'un échange d'ions permettent d'obtenir le trisaccharide 4-sulfaté **165** avec un rendement de 59% (Schéma 52).

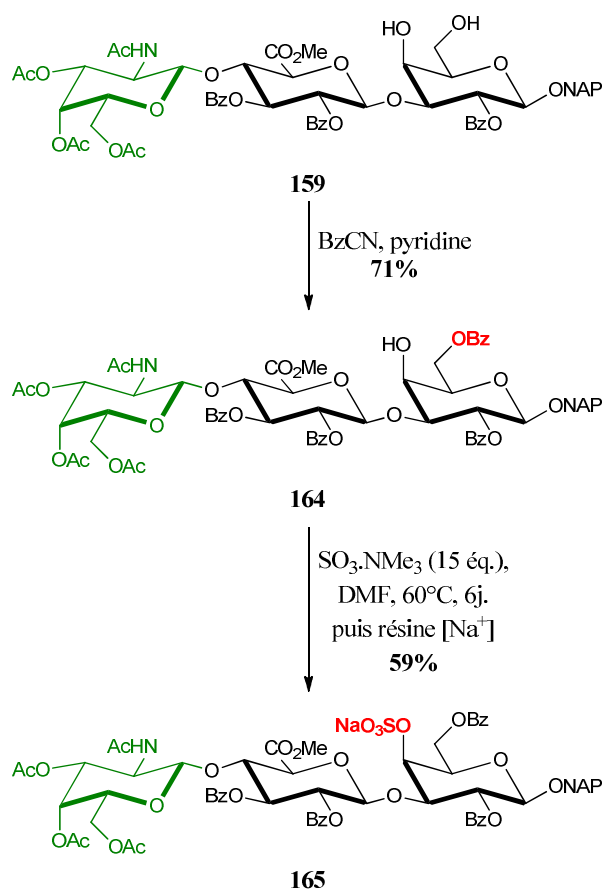


Schéma 52 : Synthèse du trisaccharide **165**

La sulfatation de la position 4 et la benzylation en 6 ont été confirmées par RMN ¹H et ¹³C. En comparant les valeurs obtenues pour les molécules **159** et **165**, un déplacement vers des valeurs déblindées est observé, montrant la présence de groupements électroattracteurs sur ces positions (Tableau 6).

Tableau 6 : RMN ¹H et ¹³C des positions 4 et 6 du D-Gal

Composé	H-6 ppm H-4 ppm	C-6 ppm C-4 ppm
159	3,38-3,27 4,25-4,23	60,26 68,71
165	4,98-4,63 5,15	64,59 77,36

Une saponification en deux temps permet d'obtenir le trisaccharide final **133**, possédant un groupement sulfate en position 4 et comportant la première unité des CS. Après

purification sur LH-20 dans l'eau, le composé **133** est obtenu avec un rendement de 64% (Figure 14).

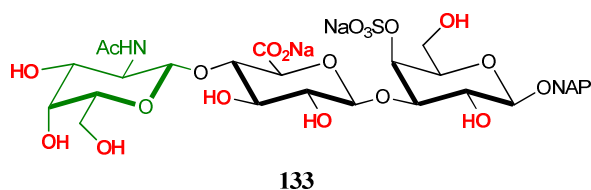


Figure 14 : Trisaccharide 4-sulfaté **133**

IV-3.5. Synthèse du trisaccharide non sulfaté **131**

La saponification du composé **159**, synthétisé précédemment au laboratoire, permet d'obtenir le disaccharide non sulfaté **131** avec un rendement de 83% (Schéma 53). Ce composé servira de témoin lors des tests biologiques.

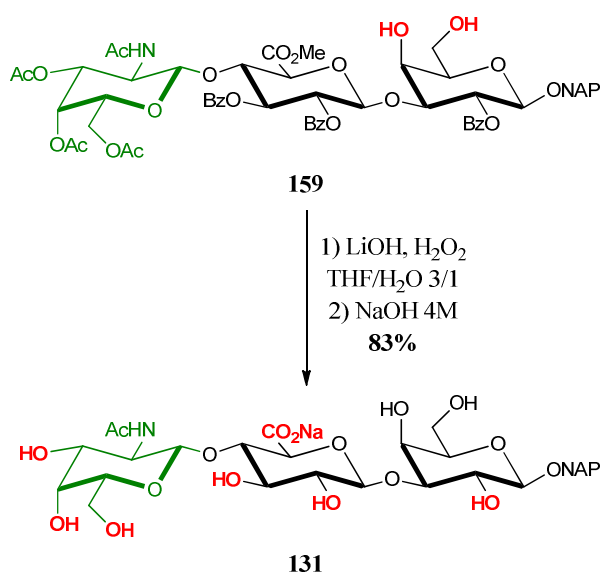


Schéma 53 : Saponification de la molécule **159**

Les trois produits de transfert trisaccharidiques non sulfaté, sulfaté en position 6 ou sulfaté en position 4 possédant le premier motif aminé des CS ont donc été synthétisés. La sulfatation de la position 6 a été réalisée sur le diol avec 2,5 éq. d'agent de sulfatation en 5h alors qu'une protection de la position 6, un suivi constant de la réaction, un grand nombre d'éq. d'agent de sulfatation (15 éq.) ainsi qu'un temps de réaction conséquent (6j.) ont été nécessaires pour obtenir le produit sulfaté en position 4.

IV-4. Synthèse des trisaccharides de la zone de liaison possédant la première unité des HS

Les trisaccharides **134-136**, possédant une unité D-GlcN (amorce de HS), sont préparés à partir de la D-glucosamine **139** et du disaccharide **160**, provenant de **137**.

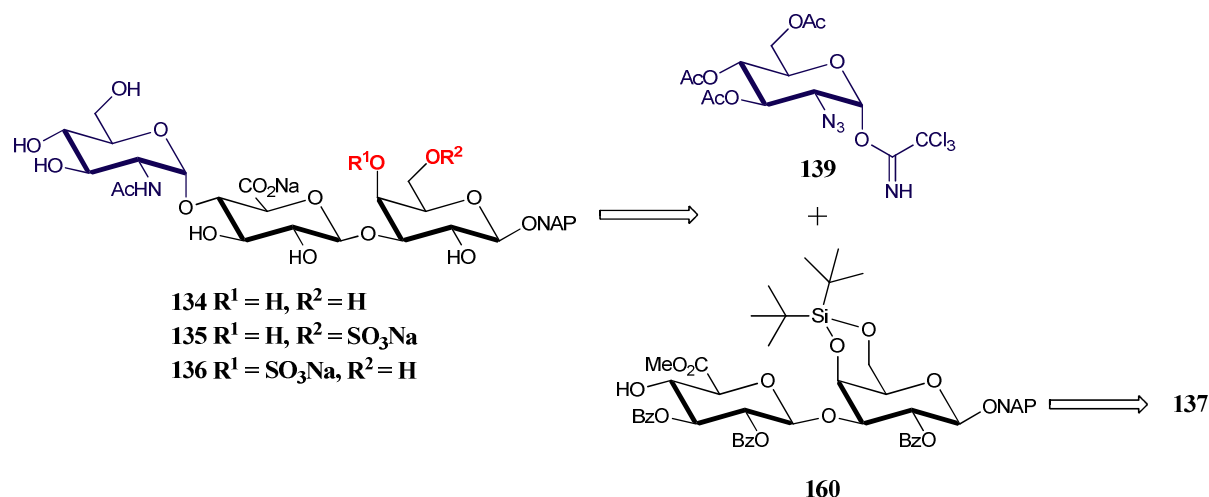


Schéma 54 : Rétrosynthèse des trisaccharides 134-136

La principale difficulté de cette synthèse repose sur la sélectivité de la glycosylation qui doit donner un produit avec une anomérie α . Un groupement non participant est donc nécessaire en position 2 du donneur. Sachant qu'un acétamide doit être présent sur la molécule finale à cette position, nous avons décidé d'utiliser le groupement azido, qui devrait permettre d'obtenir une anomérie α et qui, une fois réduit et acétylé, conduira à un acétamide.

IV-4.1. Préparation de la D-glucosamine 139

La synthèse de ce composé, connu,⁷⁶ a été réalisée en 3 étapes à partir du 2-azido-2-déoxy-D-glucose commercial. La première étape consiste en la peracétylation de la molécule qui conduit au composé **166**. L'acétate anomérique est ensuite déprotégé à l'aide d'acétate d'hydrazine puis une trichloroacétimidoylation permet d'accéder au monosaccharide **139**.

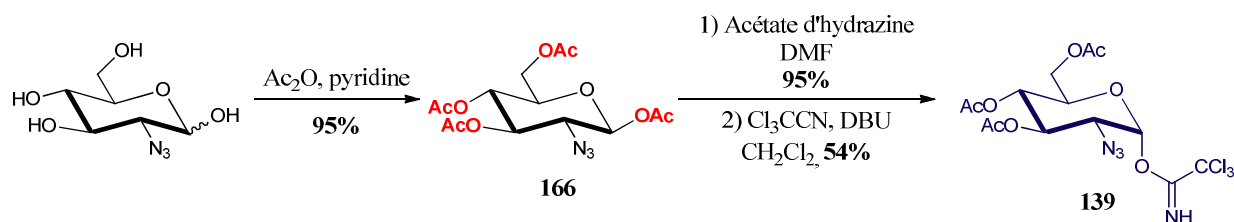


Schéma 55 : Synthèse de la D-glucosamine 139

⁷⁶ Grundler, G., Schmidt, R. R., *Liebigs Ann. Chem.*, **1984**, 1826-1847

IV-4.2. Synthèse du précurseur trisaccharidique 167

Afin d'obtenir les molécules finales trisaccharidiques, sulfatées ou non, possédant la D-GlcN (amorce des HS), nous souhaitons synthétiser le diol **167**, possédant une liaison avec une anomérie α reliant la première unité des HS au disaccharide de la zone de liaison (Schéma 56).

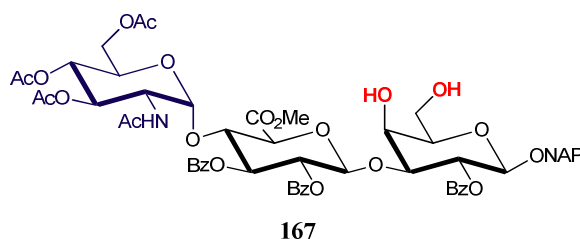


Schéma 56 : Précurseur trisaccharidique 167

IV-4.2.1. Glycosylation

Afin d'accéder au trisaccharide **167**, il est nécessaire de réaliser une glycosylation entre les composés **160** et **139** et de mettre au point les conditions de réaction pour obtenir une bonne sélectivité α . Le composé **160** étant obtenu en 2 étapes à partir de deux monosaccharides dont les synthèses nécessitent 10 et 8 étapes, nous avons envisagé de tester la glycosylation sur un alcool commercial, le 2-naphtalénométhanol, puis sur le monosaccharide **141** avant de tester les meilleures conditions sur le disaccharide **160** (Figure 15).

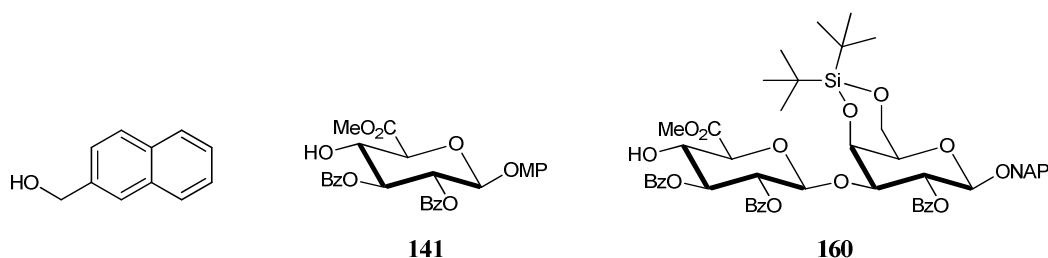


Figure 15 : Différents accepteurs pour tester la glycosylation

➤ Glycosylation avec le 2-naphtalénométhanol

Nous avons choisi de faire cette réaction dans des conditions classiques. Cette glycosylation a donc été réalisée avec 1,5 éq. de 2-naphtalénométhanol en présence de TMSOTf (0,2 éq. par rapport à l'imidate **139**) dans le dichlorométhane. Le produit **168** a été obtenu avec un bon rendement de 80% mais sous forme de mélange inséparable entre les deux isomères α/β dans les proportions 2/1 (Schéma 57).

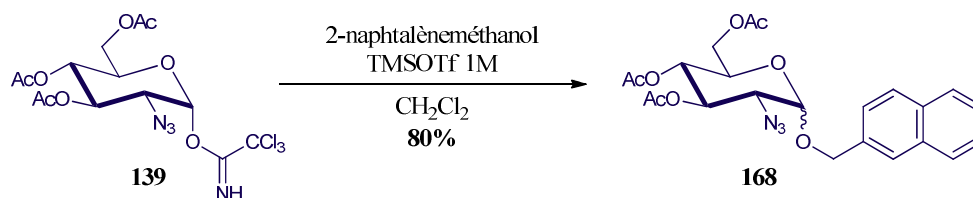


Schéma 57 : Formation du composé 168

➤ Glycosylation avec le monosaccharide 141

En s'appuyant sur ce résultat préliminaire satisfaisant, nous avons testé cette réaction sur le monosaccharide **141**, possédant un motif D-glucuronique (Schéma 58).

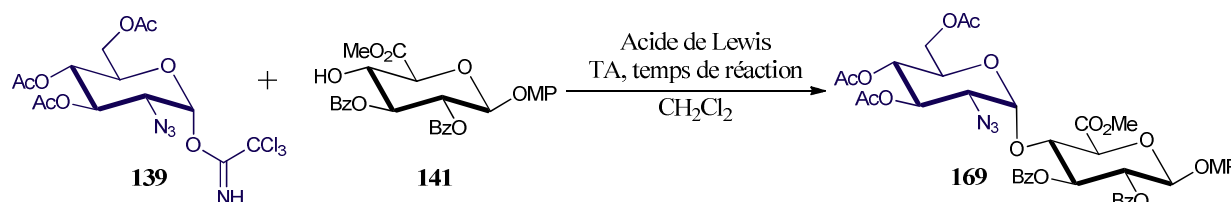


Schéma 58 : Glycosylation entre les composés 139 et 141

Dans des conditions de glycosylation identiques à celles utilisées pour le 2-naphtalénométhanol (Tableau 7, Entrée 1), un modeste rendement de 24% est obtenu mais avec une excellente sélectivité. Celle-ci a été vérifiée par RMN et est notamment visible au niveau du proton 2 de la glucosamine qui fait un couplage avec le proton 1, avec une constante de couplage de 3,5 Hz, caractéristique d'une anomérie α . En augmentant le temps de réaction, le rendement augmente légèrement (Tableau 7, Entrée 2). En revanche l'utilisation de $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ ne conduit à aucun résultat ; seul du produit de départ est récupéré (Tableau 7, Entrée 3).

De nombreuses études ont montré l'influence du solvant lors des réactions de glycosylation, notamment sur la stéréosélectivité. Les solvants de la famille des éthers (THF, Et_2O ...) semblent favoriser la formation de liaison α , thermodynamiquement plus stable.^{77,78} En 2004, l'équipe de D. Bonnaffé a étudié la glycosylation entre un donneur trichloroacétimidate possédant un azido en position 2 et un accepteur glucuronique.⁷⁹ Divers solvants ont été essayés pour cette glycosylation (CH_2Cl_2 , THF, Et_2O ou le mélange de deux de ces solvants).

Nous avons donc décidé de tester différents solvants afin d'obtenir le composé **169** avec les meilleurs rendement et sélectivité. Les composés **139** et **141** n'étant pas solubles dans le THF ou l' Et_2O purs, nous avons testé des mélanges de ces solvants dans le CH_2Cl_2 . L'utilisation de THF semble empêcher la glycosylation alors que l'utilisation de mélange CH_2Cl_2 / Et_2O , dans les proportions 1,5/2 ou 1/1, augmente légèrement le rendement jusqu'à 50% (Tableau 7, Entrées 4-7). Mais ces conditions sont peu reproductibles, probablement à cause de l'humidité contenue dans l' Et_2O , même lorsqu'il est distillé et le rendement est bien souvent autour de 30%.

⁷⁷ Wulff, G., Röhle, G., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1974**, 13, 157-170

⁷⁸ Demchenko, A., Stauch, T., Boons, G.-J., *Synlett.*, **1997**, 818-820

⁷⁹ Lucas, R., Hamza, D., Lubineau, A., Bonnaffé, D., *Eur. J. Org. Chem.*, **2004**, 2107-2117

Tableau 7 : Conditions de glycosylation entre 139 et 141

Entrée	Solvant	Temps de réaction	Acide de Lewis	Rendement	Ratio α / β
1	CH ₂ Cl ₂	1h	TMSOTf 1M	24%	1/0
2	CH ₂ Cl ₂	2h	TMSOTf 1M	34%	1/0
3	CH ₂ Cl ₂	1h	BF ₃ .Et ₂ O 1M	0%	X
4	CH ₂ Cl ₂ / THF 1/4	1h	TMSOTf 1M	6%	4/6
5	CH ₂ Cl ₂ / THF 1/1	1h	TMSOTf 1M	traces	X
6	CH ₂ Cl ₂ / Et ₂ O 1,5/2	1h	TMSOTf 1M	50%	1/0
7	CH ₂ Cl ₂ / Et ₂ O 1/1	1h	TMSOTf 1M	46%	1/0

➤ Glycosylation avec le disaccharide 160

Malgré ces rendements modestes, nous avons décidé de tester la glycosylation entre le monosaccharide **139** et le disaccharide **160** afin d'obtenir le trisaccharide **170** souhaité (Schéma 59).

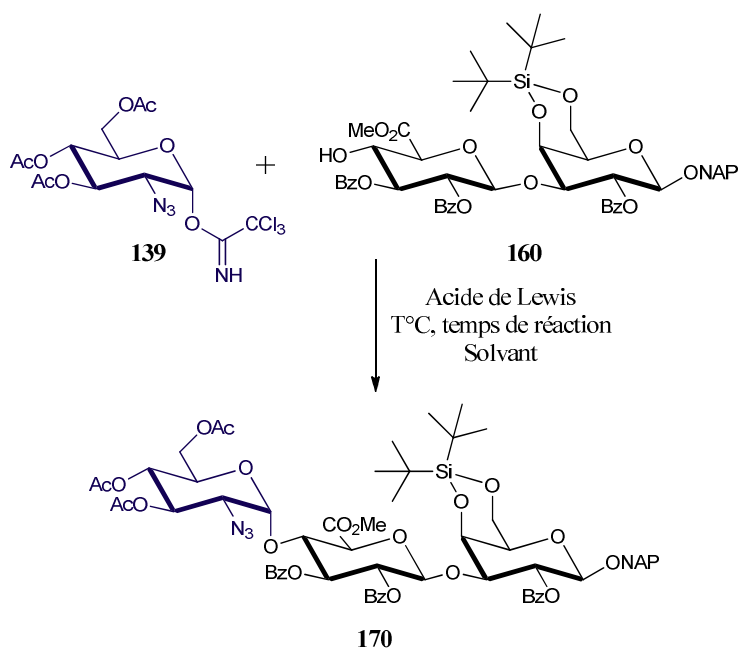


Schéma 59 : Glycosylation pour former le trisaccharide 170

Dans les conditions classiques de glycosylation avec le CH₂Cl₂, un rendement de 33% est obtenu pour la synthèse du trisaccharide, avec un ratio α/β de 3/1 en partie séparable (Tableau 8, Entrée 1). Comme précédemment, le produit n'est pas obtenu en présence de THF (Tableau 8, Entrée 2). Un mélange CH₂Cl₂ / Et₂O permet d'obtenir le trisaccharide **170** avec une excellente sélectivité en faveur du composé α (vérifiée par RMN et visible au niveau du proton 2 de la glucosamine qui fait un couplage avec le proton 1, avec une constante de couplage de 3,5 Hz, caractéristique d'une anomérie α) et un rendement moyen (Tableau 8, Entrée 3). Une augmentation du temps de réaction permet d'améliorer légèrement le rendement de la réaction (Tableau 8, Entrée 4). Il est à noter que le suivi de cette réaction par

chromatographie sur couche mince est difficile car les produits de départ et d'arrivée sont au même Rf.

Pour toutes ces réactions, afin de simplifier la purification, une silylation en présence de chlorure de triméthylsilyle (TMSCl) et d'hexaméthyldisilazane (HMDS) est réalisée afin de séparer le trisaccharide **170** du disaccharide **160** et ce dernier est alors récupéré silylé.

Tableau 8 : Conditions de glycosylation entre 139 et 160

Entrée	Solvant	Temps de réaction	Acide de Lewis	Rendement	Ratio α / β
1	CH ₂ Cl ₂	1h30	TMSOTf 1M	33%	3/1
2	CH ₂ Cl ₂ / THF 1/4	2h	TMSOTf 1M	traces	X
3	CH ₂ Cl ₂ / Et ₂ O 1,5/2	2h	TMSOTf 1M	28%	1/0
4	CH ₂ Cl ₂ / Et ₂ O 1,5/2	2h30	TMSOTf 1M	36%	1/0

➤ Tests avec le *N*-phényltrifluoroacétimide

Les résultats de glycosylation obtenus pour former le disaccharide **169** ou le trisaccharide **170** présentent une bonne sélectivité mais des rendements moyens. Une autre voie de synthèse a été envisagée, utilisant le *N*-phényltrifluoroacétimide (PTFA) à la place du trichloroacétimide (TCA). Ce composé est accessible aussi facilement que le TCA. Contrairement à ce dernier, le PTFA ne peut pas se réarranger en amide et il est donc plus robuste.⁸⁰ Le PTFA est un bon substitut du TCA et son utilisation a été montrée à de nombreuses reprises pour la synthèse de flavonoïdes glycosylés⁸¹ ou bien encore sur des fructoses⁸² par exemple.

L'acétate anomérique du composé peracétylé **166** est sélectivement déprotégé par de l'acétate d'hydrazine puis l'hémiacétal formé est mis en présence de chlorure de *N*-phényltrifluoroacétimidoyl et de K₂CO₃ afin de synthétiser le *N*-phényltrifluoroacétimide **171** (77%) (Schéma 60).⁸⁰

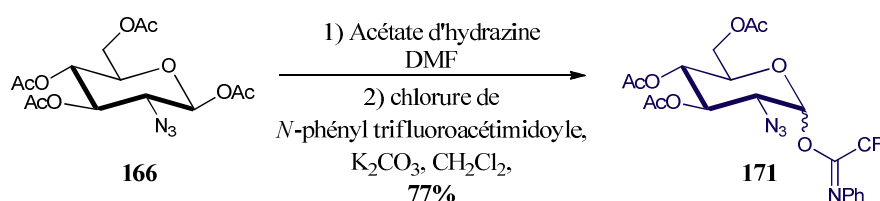


Schéma 60 : Formation du *N*-phényltrifluoroacétimide 171

A partir de ce composé, la glycosylation a tout d'abord été testée sur le monosaccharide **141**, pour la formation du disaccharide **169** (Tableau 9, Entrées 1 et 2). Pour ces essais, le temps de la réaction a été fixé à 2h et l'acide de Lewis TMSOTf 1M a été choisi. Les résultats étant légèrement meilleurs en présence d'Et₂O, ces conditions ont été choisies

⁸⁰ Yu, B., Tao, H., *Tetrahedron Lett.*, **2001**, 42, 2405-2407

⁸¹ Li, M., Han, X., Yu, B., *J. Org. Chem.*, **2003**, 68, 6842-6845

⁸² Lian, G., Gao, Q., Lin, F., *Carbohydr. Res.*, **2008**, 343, 2992-2996

pour la formation du trisaccharide **170** à partir de l'accepteur **160** et donnent un rendement de 30% (Tableau 9, Entrée 3).

Tableau 9 : Glycosylation avec le composé 171

Entrée	Solvant	Accepteur	Produit	Rendement	Ratio α/β
1	CH ₂ Cl ₂	141 ^a	169	43%	1/0
2	CH ₂ Cl ₂ / Et ₂ O 1,5/2	141 ^a	169	51%	1/0
3	CH ₂ Cl ₂ / Et ₂ O 1,5/2	160 ^b	170	30%	1/0

^a **141** monosaccharide ; ^b **160** disaccharide

Les essais réalisés avec le PTFA n'ont pas permis d'améliorer le rendement de la glycosylation pour former le trisaccharide **170**.

➤ Autre méthode d'obtention du trisaccharide **170**

Les rendements de glycosylation, décrits ci-dessus pour la synthèse de **170**, étant assez faibles (30%), nous avons donc imaginé une autre voie de synthèse afin d'accéder à ce trisaccharide. Nous avons envisagé d'obtenir le composé **170** à partir de l'accepteur **138** synthétisé précédemment et du disaccharide **169**, obtenu lors de la glycosylation entre les monosaccharides **139** et **141**.

Afin d'activer le composé **169** par un trichloroacétimide, une coupure oxydante du MP par le CAN suivie de la formation de l'imide donnent le composé **172**. La glycosylation entre **172** et le monosaccharide **138** en présence de BF₃.Et₂O permet d'obtenir le trisaccharide **170** avec un rendement de 39% (Schéma 61).

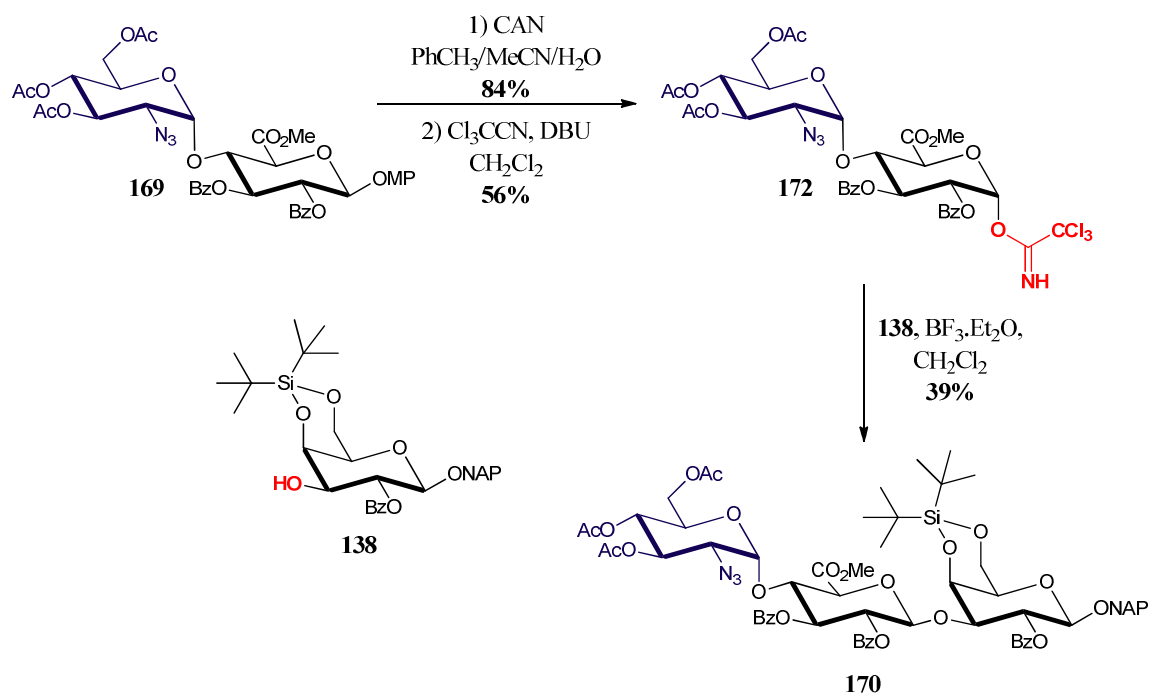


Schéma 61 : Formation du trisaccharide **170** à partir du disaccharide **169**

Cependant cette voie de synthèse n'améliore pas les rendements d'obtention du trisaccharide **170**.

*Les différentes méthodes de glycosylation testées afin d'obtenir le trisaccharide **170** donnent des rendements modestes (30-40%) mais une très bonne sélectivité α .*

IV-4.2.2. Réduction du groupement azido

Une fois le trisaccharide **170** synthétisé, il nous faut maintenant réduire le groupement azido puis réaliser l'acétylation de l'amine alors formée. Dans la littérature, deux types de protocoles sont reportés : le premier se réalise en deux temps avec la réduction du groupement azido en amine à l'aide de triphénylphosphine (PPh_3) suivie de l'acétylation de cette amine en présence d'acide acétique.^{79,83} Le second protocole est la réduction et l'acétylation simultanées par l'action de l'acide thioacétique.^{84,85,86}

Dans un premier temps, nous avons souhaité tester ces méthodes sur les mono- et disaccharides **168** et **169**, avant de les réaliser sur le trisaccharide **170**.

Suivant le protocole de Nakajima M.,⁸³ le composé **168** a été mis en présence de triphénylphosphine dans le THF puis de l'eau a été ajoutée pour réduire l'azido en amine ; l'acétylation est ensuite réalisée en ajoutant de l'anhydride acétique, le tout en « one pot ». Le composé semble avoir été réduit mais l'acétylation ne semble pas avoir marché. Une acétylation dans des conditions classiques (Ac_2O / pyr) a alors été effectuée. Finalement de légères traces de produit réduit et acétylé ont été obtenues en mélange avec de l'oxyde de triphénylphosphine tandis qu'un second produit a été isolé mais la RMN a montré une dégradation.

Le composé **168**, en mélange α/β , en présence d'acide thioacétique pendant 6h conduit, en revanche, au composé **173** avec un rendement de 73%. Cette étape ne permet pas plus de séparer les deux isomères (Schéma 62). La réduction et l'acétylation se font donc facilement en présence d'acide thioacétique, sans problème de purification.

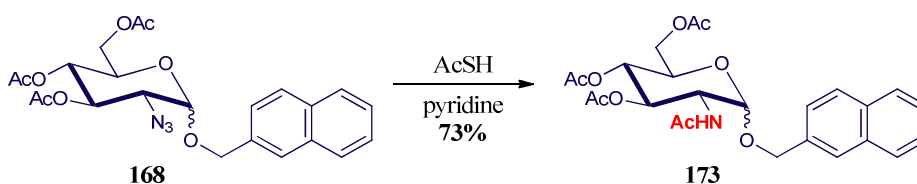


Schéma 62 : Réduction de l'azido du composé **168**

La réduction du disaccharide **169** s'effectue également aisément dans les mêmes conditions que pour le monosaccharide **168**. Mais cette réaction est plus longue (23h) et

⁸³ Takahashi, S., Kuzuhara, H., Nakajima, M., *Tetrahedron*, **2001**, 57, 6915-6926

⁸⁴ Shanguan, N., Katukojlava, S., Greenberg, R., Williams, L. J., *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, 7754-7755

⁸⁵ Lu, L.-D., Shie, C.-R., Kulkarni, S. S., Pan, G.-R., Lu, X.-A., Hung, S.-C., *Org. Lett.*, **2006**, 8, 5995-5998

⁸⁶ Hu, Y.-P., Zhong, Y.-Q., Chen, Z.-G., Chen, C.-Y., Shi, Z., Zulueta, M. M. L., Ku, C.-C., Lee, P.-Y., Wang, C.-C., Hung, S.-C., *J. Am. Chem. Soc.*, **2012**, 134, 20722-20727

conduit au disaccharide **174** avec un rendement de 53%, le reste étant du produit de départ (Schéma 63).

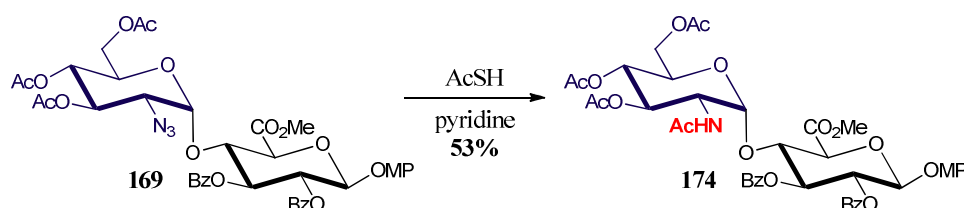


Schéma 63 : Réduction de l'azido du disaccharide 169

Les mêmes conditions de réaction sont utilisées pour la réduction du groupement azido du trisaccharide **170**. Après 53h de réaction, le produit **175** est obtenu avec un rendement de 77%, de légères traces de produit de départ étant encore visibles sur la CCM (Schéma 64).

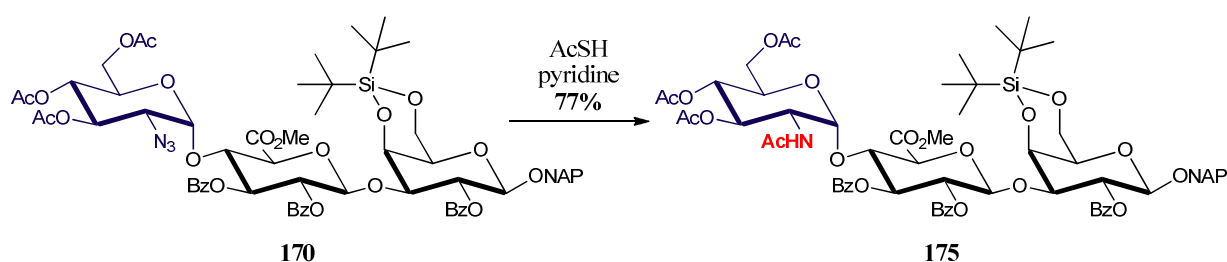


Schéma 64 : Réduction de l'azido du trisaccharide 170

IV-4.2.3. Déprotection du silylène

La déprotection du groupement silylène s'effectue en présence de 3HF.Et₃N et le diol **167** est alors obtenu avec un rendement de 87% (Schéma 65). Cette étape de déprotection permet d'obtenir le diol **167**, précurseur pour les sulfatations des positions 6 ou 4.

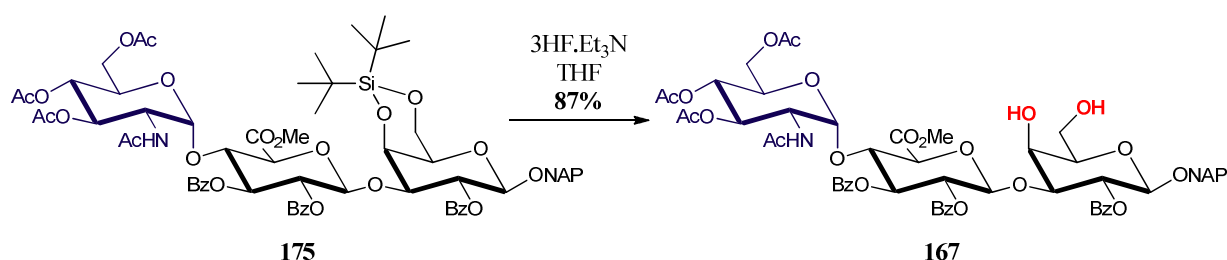


Schéma 65 : Déprotection du silylène du composé 175

IV-4.3. Synthèse du trisaccharide 6-sulfaté 135

Comme précédemment, la sulfatation régiosélective en 6 suivie de l'acétylation de la position 4 du diol **167**, suivant les conditions décrites pour la sulfatation de **154**, c'est-à-dire 2,5 éq. de SO₃.NMe₃ à 40°C, permettent d'obtenir, en 5h, le sel de sodium **176** avec 40% de rendement.

Une saponification en deux étapes, comme décrite pour le composé **129**, permet d'obtenir le trisaccharide final **135**, possédant un groupement sulfate en position 6 (90%) (Schéma 66).

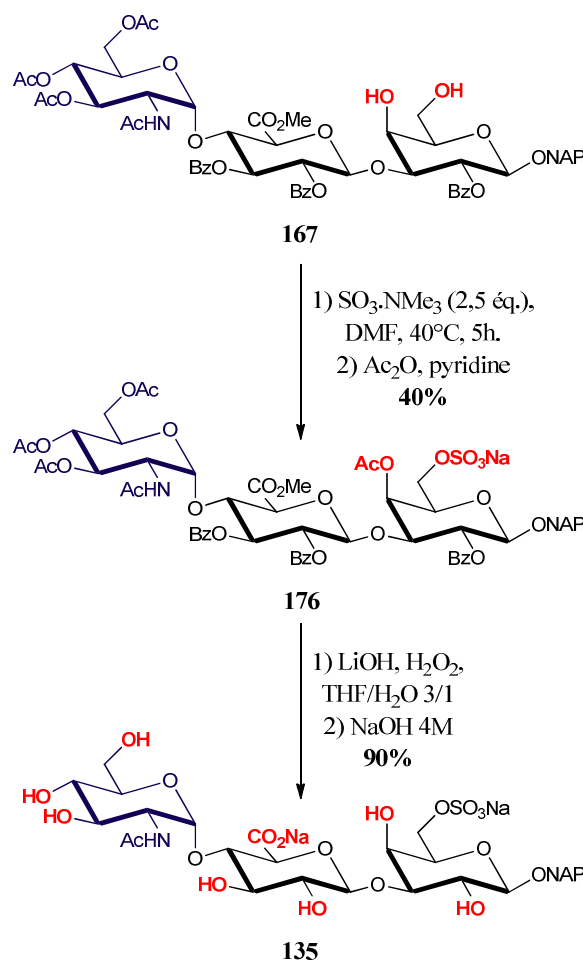


Schéma 66 : Synthèse du trisaccharide **135**

Les positions du groupement sulfate et de l'acétate de la molécule **176** sont confirmées par analyse RMN ¹H et ¹³C, l'introduction de ces groupements déblindant les protons et les carbones les portant.

Tableau 10 : RMN ¹H et ¹³C des positions 4 et 6 du D-Gal

Composé	H-6 ppm H-4 ppm	C-6 ppm C-4 ppm
167	4,08-4,03 et 3,90-3,87 4,20-4,10	62,36 69,11
176	4,22-4,18 et 4,05-3,97 5,53	68,01 71,00

IV-4.4. Synthèse du trisaccharide 4-sulfaté **136**

La synthèse du composé **136** a nécessité, comme pour le disaccharide **130**, de protéger la position 6 du diol **167**. Une benzylation sélective au BzCN a donc été réalisée et conduit au trisaccharide **177** avec un rendement de 81%. La position 4 a ensuite été sulfatée avec un large excès d'agent de sulfatation. Un suivi de la réaction par CCM et l'ajout d'agent de sulfatation (25 éq. en tout) permettent d'obtenir le trisaccharide 4-sulfaté en 7j. Après purification sur LH-20, colonne de silice puis échangeuse d'ion, le sel de sodium **178** est obtenu avec 95% de rendement (*Schéma 67*).

La sulfatation de la position 4 et la benzylation en 6 ont été confirmées par RMN ^1H et ^{13}C , en comparant les valeurs obtenues pour les molécules **167** et **178** (*Tableau 11*).

Tableau 11 : RMN ^1H et ^{13}C des positions 4 et 6 du D-Gal

Composé	H-6 ppm H-4 ppm	C-6 ppm C-4 ppm
167	4,08-4,03 et 3,90-3,87 4,20-4,10	62,36 69,11
178	4,77-4,75 5,11-5,06	66,27 78,03 ou 72,65

Une saponification en deux temps, dans les mêmes conditions que celles du composé **154**, permet d'obtenir le trisaccharide final 4-sulfaté **136** (64%), possédant le motif aminé des HS.

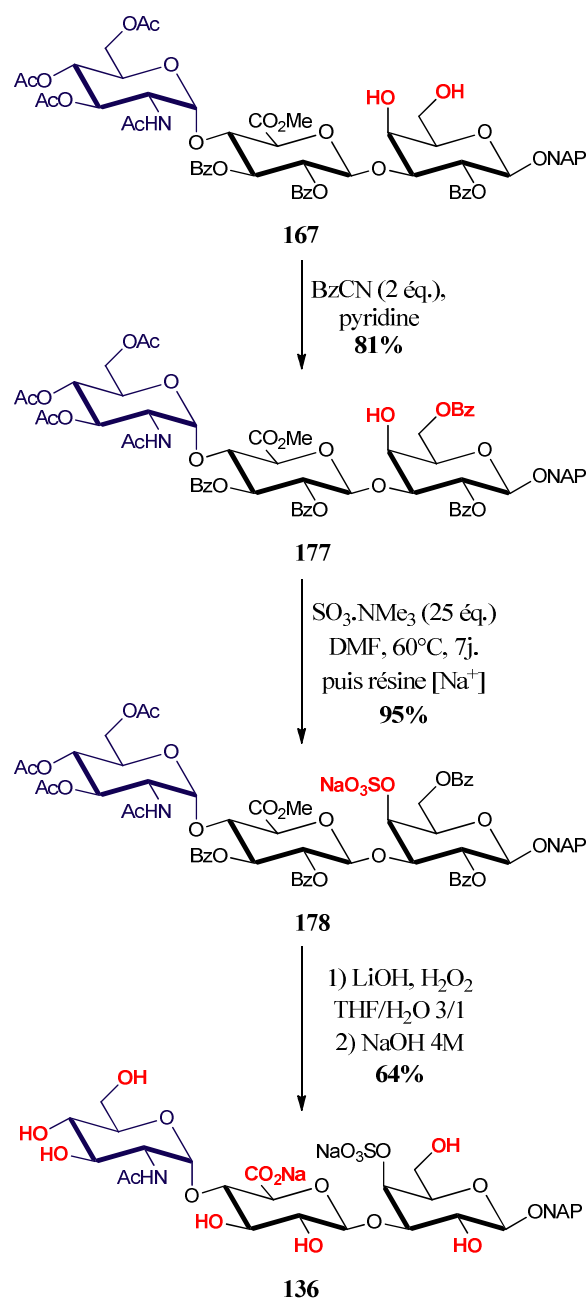


Schéma 67 : Synthèse du trisaccharide 4-sulfaté 136

IV-4.5. Synthèse du trisaccharide non sulfaté 134

Le composé non sulfaté **134** est obtenu en saponifiant la molécule **167** dans des conditions identiques à celles précédentes.

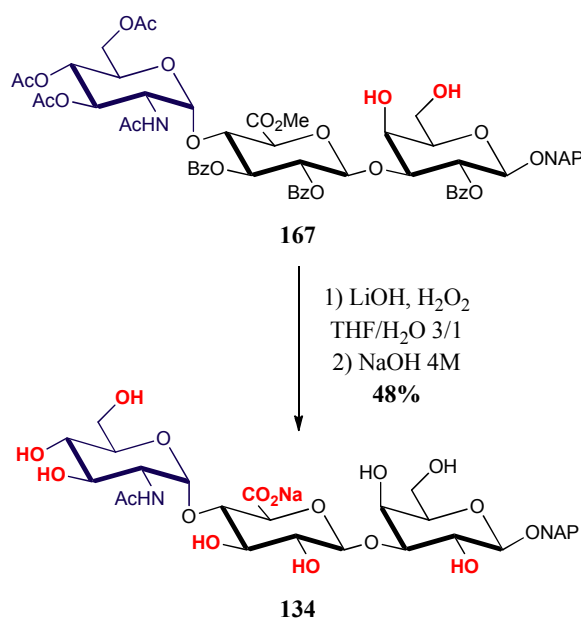


Schéma 68 : Préparation du composé 134

La réaction de glycosylation permettant l'obtention du trisaccharide avec une anomérie α entre l'amorce HS et le disaccharide de la zone de liaison a été réalisée avec de modestes rendements, malgré l'ensemble des conditions testées. La réduction du groupement azido en présence d'acide thioacétique a été réalisée avec de bons rendements. Les trois produits de transfert trisaccharidiques non sulfaté, sulfaté en position 6 ou sulfaté en position 4 possédant la première unité des HS ont pu être synthétisés. La sulfatation de la position 6 a été réalisée sur le diol avec 2,5 éq. d'agent de sulfatation en 5h alors que qu'une protection de la position 6, un grand nombre d'éq. d'agent de sulfatation (25 éq.) ainsi qu'un temps de réaction conséquent (7j.) ont été nécessaires pour obtenir le produit sulfaté en position 4.

IV-5. Synthèses de composés fluorés – Travail préliminaire

Ce travail a fait l'objet du stage de master 1 d'Hela Ben Zeineb, que j'ai encadrée avec le Dr. Chrystel LOPIN-BON. Les résultats présentés ci-après sont des résultats préliminaires qui restent à optimiser.

Dans le but d'étudier l'influence des positions 4 et 6 du D-Gal de la zone de liaison sur la CSGalNAcT-1, nous avons également souhaité effectuer des modifications fluorées sur ces différentes positions. La synthèse des disaccharides D-GlcA-D-Gal **179** et **180**, fluorés en position 4 ou 6 du D-Gal et possédant un groupement 4-méthoxyphénol en position anomérique, a donc été envisagée. Ils seront issus de la glycosylation entre l'imidate **82** et les différents D-Gal **181** et **182**, qui posséderont déjà le fluor en position 4 ou 6. Ces monosaccharides seront obtenus à partir des D-Gal **183** et **184**. Ceux-ci proviendront du diol **185**, lui-même issu du composé **57** dont le précurseur est le D-Gal peracétylé commercial **8** (Schéma 69).

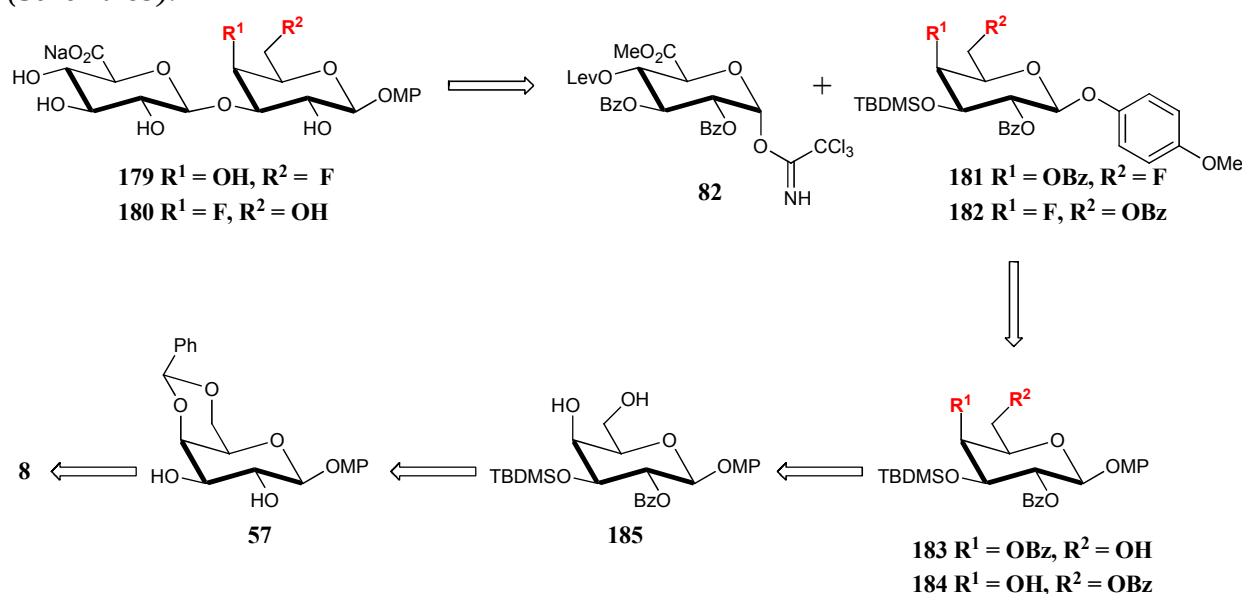


Schéma 69 : Rétrosynthèse des disaccharides fluorés

IV-5.1. Préparation des précurseurs 183 et 184

La synthèse du composé **57**, déjà connu,⁸⁷ a été réalisée à partir du D-Gal peracétylé **8**. Une glycosylation avec le 4-méthoxyphénol en présence de TMSOTf permet d'obtenir le composé **186** avec un rendement de 86%. Une transestérification au méthanolate de sodium suivie de l'introduction du benzylidène sur les positions 4 et 6, à l'aide de diméthoxytoluène et de CSA, permettent d'accéder au monosaccharide **57** avec un rendement de 70% pour cette dernière étape.

⁸⁷ Ohlsson, J., Magnusson, G., *Carbohydr. Res.*, **2000**, 329, 49-55

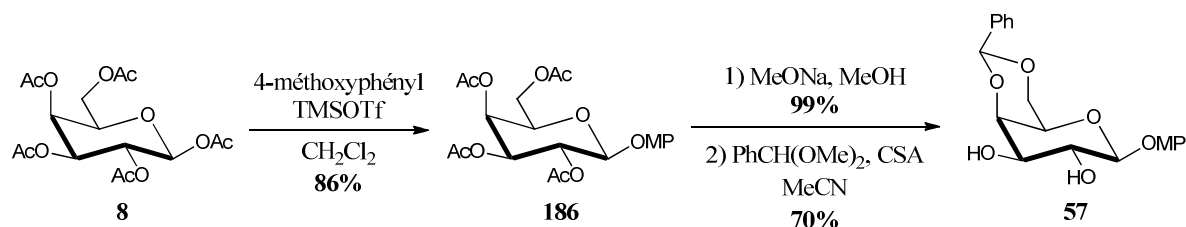


Schéma 70 : Formation du composé 57

Pour isoler et modifier les positions 4 et 6, les positions 2 et 3 doivent donc être protégées. Comme expliqué au chapitre précédent, la position 3 du D-Gal 57 est plus nucléophile grâce à sa capacité à faire des liaisons hydrogènes intramoléculaires. Une protection sélective de cet alcool est donc possible. Le groupement protecteur utilisé est le *tert*-butyldiméthylsilyle (TBDMS) car une déprotection sélective de cet alcool sera alors possible en fin de synthèse. La position 3 est donc protégée en présence de TBDMSCl (1,1 éq. pour être sélectif) et d'imidazole dans la pyridine. La position 2 est alors benzoylée puis le groupement benzylidène est déprotégé pour conduire au composé 185 (Schéma 71).

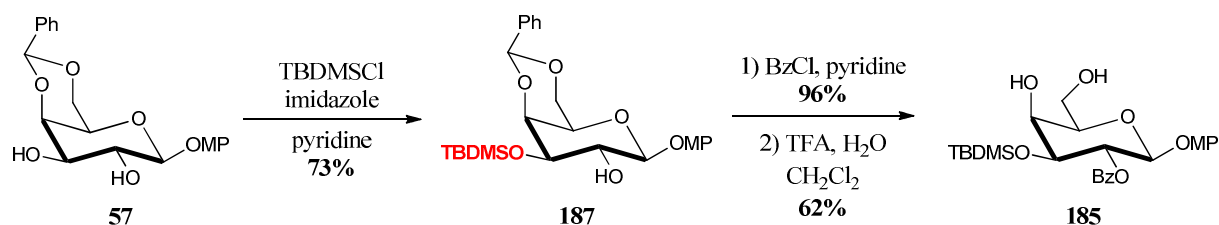


Schéma 71 : Synthèse du composé 185

L'accès aux composés 183 et 184 se fait à partir de 185. En présence de triméthylorthobenzoate et de CSA, l'intermédiaire 188 est formé mais non isolé. Celui-ci est alors ouvert par un acide et donne les deux composés 183 et 184 facilement séparables avec des rendements de 50 et 23% respectivement.

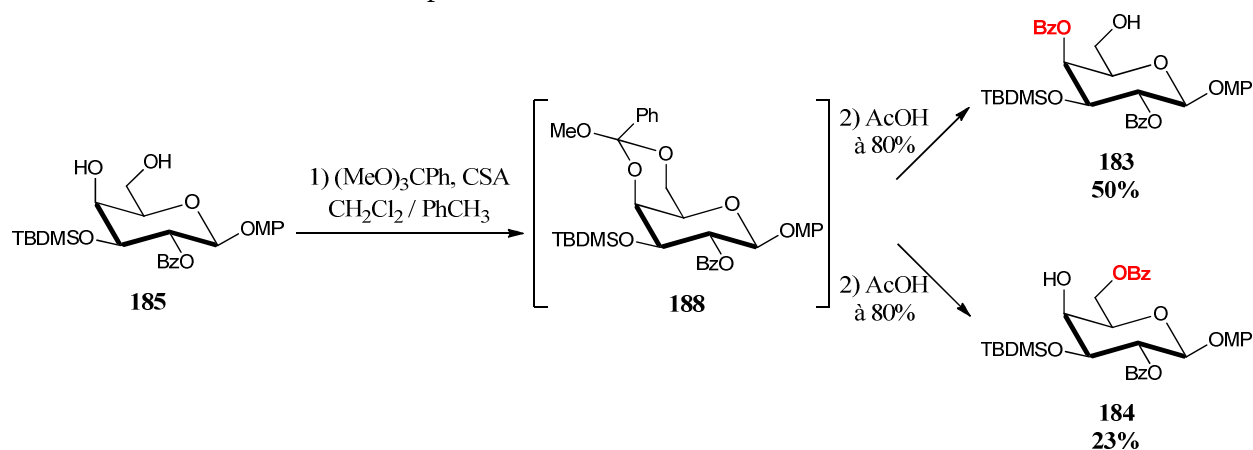


Schéma 72 : Préparation des composés 183 et 184

A partir de ces molécules, les essais de fluoration des positions 4 et 6 vont être possibles. Il est à noter que le composé 185 peut également être utilisé pour les fluorations de la position 6.

IV-5.2. Fluorations de la position 6

Pour la fluoration de la position 6, plusieurs voies de synthèse ont été testées, en se basant sur des travaux de la littérature.^{88,89}

Dans un premier temps, nous avons souhaité introduire un triflate sur la position 6 de manière à faciliter son remplacement par un atome de fluor.

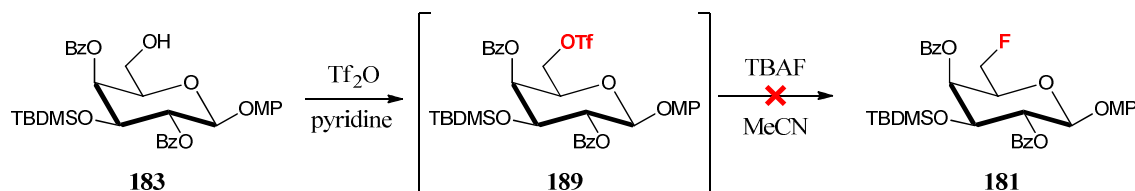


Schéma 73 : Essai de fluoration du composé 183 via un triflate

L'alcool **183** est alors mis en présence d'anhydride triflique dans la pyridine. D'après les CCM, le composé **189** semble se former mais son isolation et donc sa RMN n'ont pas pu être réalisées car ce dernier est instable et semble se dégrader par traitement à l'acide ou par coévaporation au toluène lors de l'élimination de la pyridine. Remplacer la pyridine par la 2,6-lutidine dans la réaction n'a pas donné de meilleurs résultats (Schéma 73).

Un test one-pot a donc été effectué afin d'obtenir le produit fluoré, en mettant directement le fluorure de tétra-*n*-butylammonium (TBAF) après la formation du triflate sans isolation de celui-ci. Mais le produit fluoré attendu n'a pas été obtenu. Le produit obtenu semble montrer que le groupement Bz a migré en position 6 et aucune trace de fluor n'est observée.

Afin d'éviter les problèmes de migration du groupement benzoyle, la même séquence réactionnelle a été réalisée sur le diol **185**. Mais cette fois encore, le triflate s'est dégradé avant l'introduction du fluor (Schéma 74).

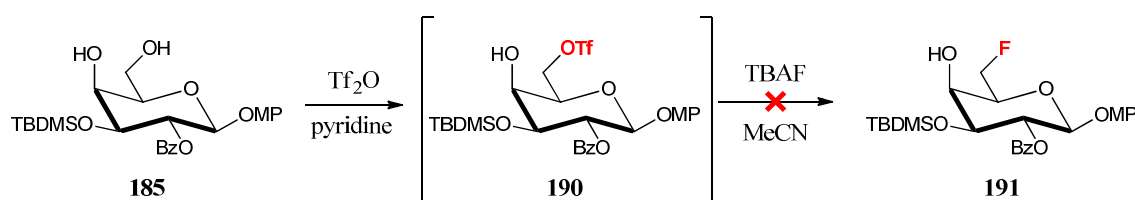


Schéma 74 : Essai de fluoration sur le diol

Une nouvelle méthode de fluoration a ensuite été testée pour éviter le passage par un triflate. Elle consiste à fluorer directement la position 6 du diol en utilisant le trifluorure de diéthylaminosulfure (DAST). Cette réaction s'effectue dans le dichlorométhane à une température de -40°C. Le composé 6-fluoré a ainsi pu être obtenu avec un rendement moyen

⁸⁸ Yokoyama, M., *Carbohydr. Res.*, **2000**, 327, 5-14

⁸⁹ Dax, K., Albert, M., Ortner, J., Paul, B. J., *Carbohydr. Res.*, **2000**, 327, 47-86

de 40% (Schéma 75). La présence du fluor a été confirmée par RMN (RMN ^1H , H-6 : dd, $J_{5,6} = 6,5 \text{ Hz}$, $J_{6,F} = 48,0 \text{ Hz}$) et masse. Cette étape reste encore à optimiser.

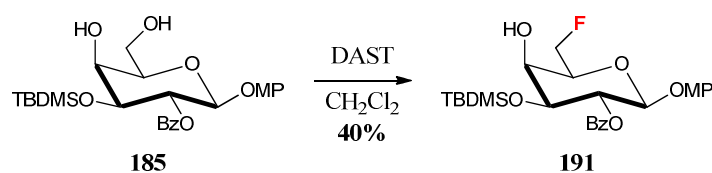


Schéma 75 : Fluoration de la position 6 avec le DAST

La synthèse du composé 6-fluoré **191** a ainsi été réalisée à partir du diol correspondant. Les étapes de protection de l'alcool, déprotection du TBDMS, glycosylation avec l'imide **82** puis déprotection totale devraient nous permettre d'obtenir le disaccharide 6-fluoré.

L'étape de fluoration de la position 6 reste néanmoins à optimiser. La synthèse du composé 4-fluoré est à initier.

Ces deux composés une fois synthétisés viendront enrichir la collection de disaccharides que l'on a au laboratoire, comprenant les disaccharides sulfatés que j'ai synthétisés ainsi que les composés méthoxy et désoxy synthétisés par le Dr. Benjamin Ayela. Des tests biologiques pourront être effectués afin de voir l'influence des modifications des positions 4 et 6 sur la CSGalNAcT-1.

IV-6. Conclusion

Ce chapitre a décrit la synthèse de neuf composés finaux, non sulfatés ou sulfatés en position 6 ou 4, trois disaccharides et six trisaccharides possédant le premier motif aminé soit des CS, soit des HS. Ces différents composés ont été envoyés à nos collaborateurs biologistes, afin de les tester notamment sur les enzymes de bifurcation, la CS-GalNAcT-1 et l'EXTL3.

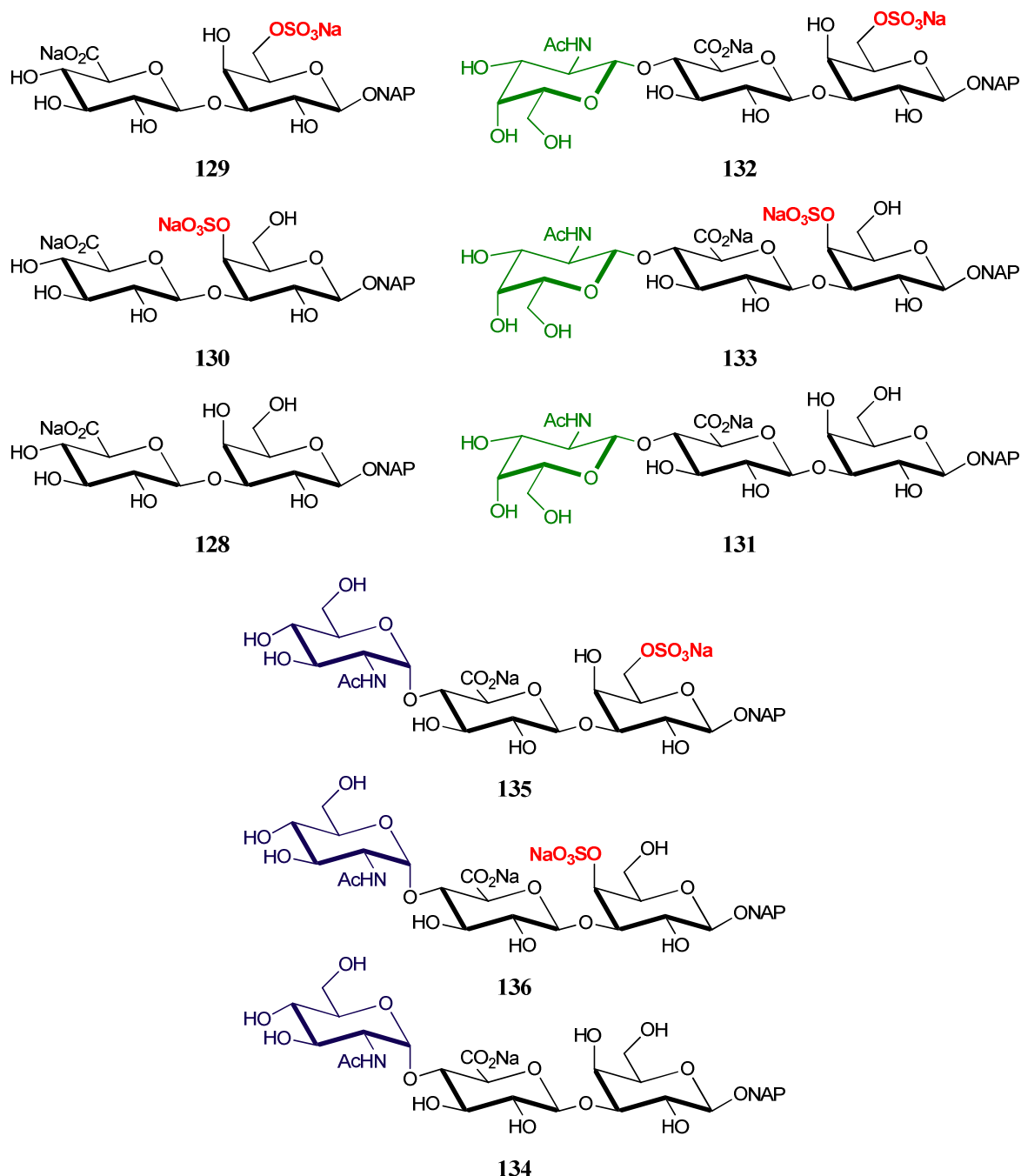


Schéma 76 : Composés finaux obtenus

Différentes conditions ont été testées afin d'obtenir une sélectivité ainsi qu'un rendement correct pour former les trisaccharides possédant la D-GlcNAc.

Les réactions de sulfatation ont été réalisées en partant des différents diols. Une sulfatation régiosélective de la position 6 a permis d'obtenir les composés 6-sulfatés. La protection sélective de la position 6 suivie de la sulfatation exhaustive de la position 4, réalisée avec un nombre d'équivalents de réactif sulfaté et un temps importants, ont permis d'obtenir les composés 4-sulfatés.

Les résultats préliminaires de la synthèse des composés fluorés en positions 4 ou 6 ont également été présentés. Le monosaccharide 6-fluoré a ainsi pu être synthétisé. Quelques étapes restent encore à effectuer pour obtenir le monosaccharide 4-fluoré et les disaccharides finaux.

**V- NOUVELLES MÉTHODES
D'ACTIVATION POUR L'OBTENTION
DE SUCRES SULFATÉS**

Le chapitre précédent traitait de la synthèse d'oligosaccharides sulfatés en position 6 ou 4. Les conditions classiques de sulfatation sont l'utilisation d'un agent de sulfatation, comme $\text{SO}_3\cdot\text{NMe}_3$, $\text{SO}_3\cdot\text{NEt}_3$, $\text{SO}_3\cdot\text{Py}$, dans le DMF à 40-60°C. Sur nos composés, la sulfatation régiosélective de la position 6 requiert 2,5 éq. d'agent de sulfatation et une température de 40°C pendant quelques heures. La sulfatation exhaustive de la position 4 de nos molécules est, quant à elle, plus difficile et nécessite un large excès d'agent de sulfatation ainsi qu'une température plus importante de 60°C pendant un temps considérable pouvant aller jusqu'à plusieurs jours, toujours suivis d'une purification par colonne d'exclusion stérique permettant d'éliminer l'excès d'agent de sulfatation.

Face à ces considérations, nous avons envisagé d'utiliser d'autres méthodes d'activation pour cette réaction, en s'appuyant sur du matériel disponible au laboratoire. En collaboration avec l'équipe du Pr. Sylvain Routier et du Dr. Frédéric Buron de l'ICOA, nous avons donc choisi de tester et de comparer la réaction de sulfatation en utilisant la méthode de chauffage classique, les irradiations micro-ondes et également une méthode innovante, la chimie en flux continu, dans le but de réduire à la fois le nombre d'équivalents d'agent de sulfatation utilisés et le temps de réaction. De plus, réduire le nombre d'équivalents d'agent de sulfatation utilisés permet de s'affranchir d'une colonne d'exclusion stérique LH-20 et donc de diminuer également le temps de purification de cette réaction.

Dans le cadre de cette étude, nous avons testé et comparé ces trois modes d'activation pour la sulfatation exhaustive ou régiosélective de différents monosaccharides modèles, un D-galactose **192** et deux D-glucosamines **193** et **194**, disponibles au laboratoire (*Figure 16*), puis ces méthodes seront mises en place sur nos oligosaccharides. Pour les différentes réactions de sulfatation réalisées, nous avons choisi d'utiliser le $\text{SO}_3\cdot\text{NMe}_3$ comme agent de sulfatation.

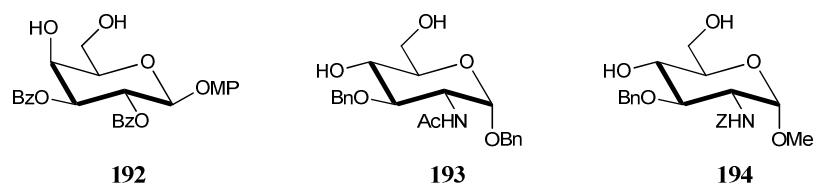


Figure 16 : Monosaccharides choisis

V-1. Introduction sur ces différentes méthodes

V-1.1. Le principe du micro-ondes (MW)

Depuis quelques dizaines d'années, l'utilisation des micro-ondes s'est fortement développée dans les laboratoires académiques ou industriels. En effet, celui-ci offre de nombreux avantages, notamment la réduction drastique du temps de réaction ou l'augmentation des rendements.

Le chauffage par un appareil micro-ondes repose sur l'utilisation d'ondes électromagnétiques dont les longueurs d'ondes vont de quelques millimètres à quelques mètres (Figure 17).⁹⁰

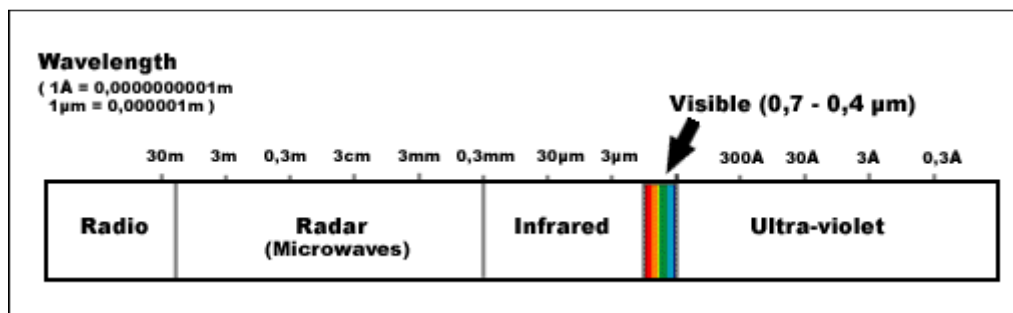


Figure 17 : Spectre électromagnétique

Le principe de ce chauffage est dû à l'interaction entre ces ondes et le matériel chimique de la réaction. Ces molécules possèdent chacune un moment dipolaire, qui va ainsi s'aligner sur le champ électrique induit par les irradiations micro-ondes. Ce dernier étant alternatif, les moments dipolaires vont alors osciller, ce qui va provoquer la rotation et la friction des molécules entre elles et donc la chaleur. Cela permet ainsi une meilleure homogénéité du chauffage et une sélectivité puisque seules les molécules polaires vont être chauffées, contrairement au chauffage conventionnel qui chauffe de manière non sélective et superficielle.^{91,92}

Le premier four à micro-ondes a été introduit dans les années 50 avec un essor dans les années 70-80. Mais sa première utilisation en synthèse chimique a été publiée en 1986.⁹³ Depuis, son utilisation s'est généralisée et nous le retrouvons dans la synthèse de produits naturels, pour l'optimisation de certaines réactions, dans des réactions organocatalysées, etc.^{91,92,94}

Le micro-ondes a déjà été utilisé dans les réactions de O-sulfonation de différents types de molécules, produit naturel,⁹⁵ polyphénols.⁹⁶ Mais son utilisation reste peu décrite sur des polysaccharides.^{97,98,99,100,101,102}

⁹⁰ www.esa.int

⁹¹ Bhatre, M., Phadke, S., *World J. Pharm. Res.*, **2015**, 4, 2294-2314

⁹² Gupta, M., Paul, S., Gupta, R., *Acta Chim. Slov.*, **2009**, 56, 749-764

⁹³ Gedye, R., Smith, F., Westaway, K., Ali, H., Baldisera, L., Laberge, L., Roussel, J., *Tetrahedron Lett.*, **1986**, 27, 279-282

⁹⁴ Kappe, C. O., Dallinger, D., *Nat. Rev. Drug Disc.*, **2006**, 5, 51-63

⁹⁵ Kyota, H., Dixon, D. J., Luscombe, C. K., Hettstedt, S., Ley, S. V., *Org. Lett.*, **2002**, 4, 3223-3226

⁹⁶ Raghuraman, A., Riaz, M., Hindle, M., Desai, U. M., *Tetrahedron Lett.*, **2007**, 48, 6754-6758

⁹⁷ Maza, S., de Paz, J. L., Nieto, P. M., *Tetrahedron Lett.*, **2011**, 52, 441-443

⁹⁸ Maccione, G., Maza, S., Kayser, M. M., de Paz, J. L., Nieto, P. M., *Eur. J. Org. Chem.*, **2014**, 3868-3884

⁹⁹ Chen, X., Shao, X., Li, W., Zhang, X., Yu, B., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2017**, 56, 7648-7652

¹⁰⁰ Miller, G. J., Hansen, S. U., Avizienyte, E., Rushton, G., Cole, C., Jayson, G. C., Gardiner, J. M., *Chem. Sci.*, **2013**, 4, 3218-3222

¹⁰¹ Sankaranarayanan, N. V., Strebel, T. R., Boothello, R. S., Sheerin, K., Raghuraman, A., Sallas, A. F., Mosier, P. D., Watermeyer, N. D., Oscarson, S., Desai, U. R., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2017**, 56, 2312-2317

¹⁰² Xu, P., Laval, S., Guo, Z., Yu, B., *Org. Chem. Front.*, **2016**, 3, 103-109

V-1.2. La chimie en flux continu

Depuis quelques années, la chimie en flux continu (ou système micro/mésosofluidique) connaît un véritable essor, principalement dans les laboratoires industriels. Cette technique repose sur l'introduction en continu du substrat et du réactif, qui se mélangent et réagissent ensemble dans un microréacteur.

L'appareil de chimie en flux continu peut être divisé en plusieurs parties : le système d'injection des réactifs et solvant (**A**), le mélangeur (**B**), le réacteur (**C**) et enfin la collecte du produit (**D**) (Figure 18).¹⁰³

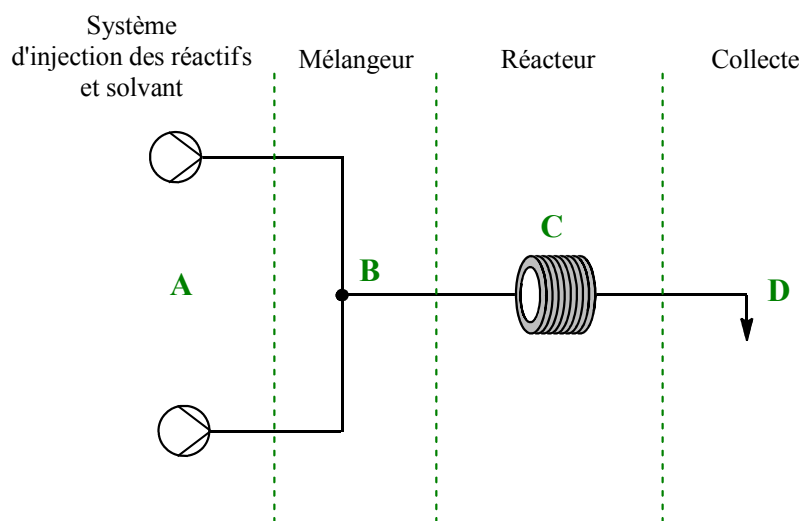


Figure 18 : Appareil de chimie en flux continu

Le système d'injection des réactifs et solvant (**A**) est composé de pompes pour pousser ce matériel chimique dans l'appareil ; le débit peut ainsi être contrôlé. Les pompes les plus utilisées sont des pompes HPLC (High Performance Liquid Chromatography), principalement pour les laboratoires académiques, ou des pompes péristaltiques sur de gros systèmes, notamment pour les laboratoires industriels et elles permettent d'appliquer la pression souhaitée avec un débit supérieur à $0,1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$.

Le mélange des réactifs et solvant (**B**) se fait *via* une connexion par T ou Y de manière passive, lors de leur rencontre, et peut, en plus, être induit (ultrasonication etc.).

Le réacteur (**C**) est le cœur de l'appareil dans lequel la réaction aura lieu. Il existe différents modèles de réacteur mais le plus utilisé est le réacteur tubulaire enroulé (coil-based reactor unit). Celui-ci est composé d'un tube fait en fluoropolymères inertes (comme le polytétrafluoroéthylène (PTFE)). Les températures du mélangeur et du réacteur peuvent être contrôlées ; un chauffage ou un refroidissement peuvent être réalisés.

Une fois le produit passé dans tout le tube, la collecte (**D**) a lieu, le plus souvent dans un seul récipient mais un collecteur de fraction peut également être installé si nécessaire.

¹⁰³ Plutschack, M. B., Pieber, B., Gilmore, K., Seeberger, P. H., *Chem. Rev.*, 10.1021/acs.chemrev.7b00183

La chimie en flux continu permet de réaliser des réactions liquide-liquide, solide-liquide ou encore gaz-liquide.

Les avantages de la chimie en flux continu sont nombreux. Cette technique permet un excellent contrôle de la température et du temps de réaction, ce qui induit l'optimisation plus facile de réactions, une meilleure sélectivité et des réactions secondaires réduites. Le système mésofluidique augmente le ratio surface/volume, dû à la taille du réacteur. Cela augmente également le mélange des réactifs et solvants entre eux. La transposition des synthèses à différentes échelles se réalise très aisément avec cette technique.

Les applications de cette technique sont nombreuses en synthèse organique. Cette technique a, par exemple, été utilisée pour la fonctionnalisation d'aza-indoles,¹⁰⁴ pour des réactions de Diels-Alder asymétriques¹⁰⁵ ou bien pour la synthèse de produits pharmaceutiques comme le Tamoxifen.^{106,107}

A notre connaissance, la réaction de sulfatation et notamment celle de sucres avec l'utilisation de la chimie en flux continu n'a pas été reportée dans la littérature.

V-2. Sulfatation exhaustive

V-2.1. Sulfatation de la position 4

Dans un premier temps, nous avons choisi d'étudier la sulfatation exhaustive de la position 4 des différents monosaccharides. Nous avons tout d'abord réalisé la benzylation sélective de la position 6 de ces sucres, en présence de cyanure de benzoyle et les composés **195**, **196** et **197** ont été obtenus (*Schéma 77*).

¹⁰⁴ D'Attoma, J., Cozien, G., Brun, P. L., Robin, Y., Bostyn, S., Buron, F., Routier, S., *ChemistrySelect*, **2016**, 3, 338-342

¹⁰⁵ Porta, R., Benaglia, M., Chiroli, V., Coccia, F., Puglisi, A., *Organocatalysts. Isr. J. Chem.*, **2014**, 54, 381 – 394

¹⁰⁶ Porta, R., Benaglia, M., Puglisi, A., *Org. Process. Res. Dev.*, **2016**, 20, 2-25

¹⁰⁷ Murray, P. R. D., Browne, D. L., Pastre, J. C., Butters, C., Guthrie, D., Ley, S. V., *Org. Process Res. Dev.*, **2013**, 17, 1192

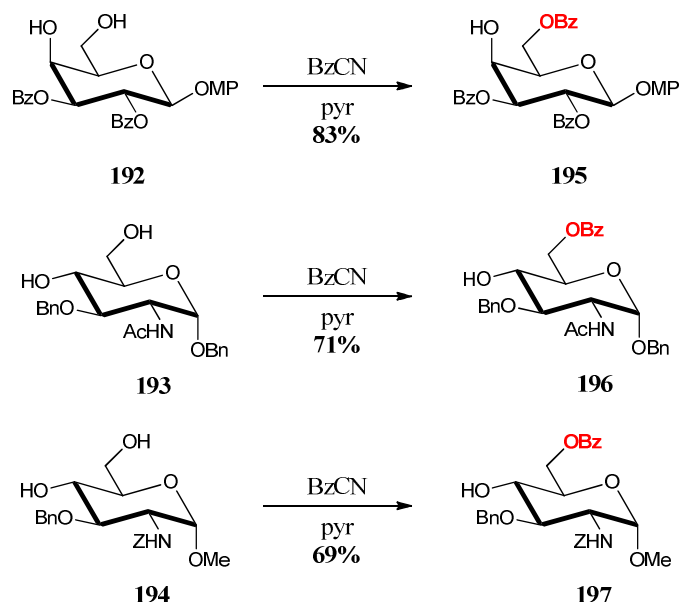


Schéma 77 : Benzoylations sélectives de la position 6

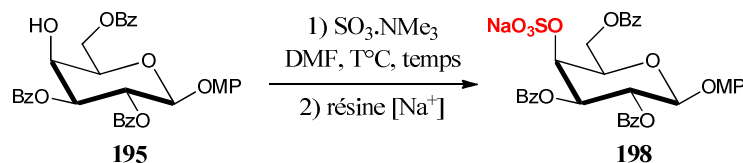
L'étude des conditions de sulfatations en chauffage classique, en MW ou en chimie en flux continu a été réalisée sur le D-galactose **195**, la position axiale étant connue pour être moins réactive qu'une position équatoriale.

La sulfatation de ce composé par chauffage thermique classique a nécessité, après suivi CCM et ajout régulier d'agent de sulfatation, un large excès de $\text{SO}_3\cdot\text{NMe}_3$ (9,0 éq.) et 5j. de chauffage à 60°C afin d'obtenir la molécule **198** avec un rendement de 77%, après purification par colonne d'exclusion stérique (pour ôter l'excès de réactif), colonne sur gel de silice et résine échangeuse d'ions (*Tableau 12, Entrée 1*).

Nous avons ensuite testé cette sulfatation au MW et en chimie en flux continu, dans le but de diminuer le temps de réaction et le nombre d'équivalents d'agent de sulfatation, ce qui permettrait également d'éviter la colonne d'exclusion stérique. Le nombre d'équivalents d'agent de sulfatation a donc été fixé à 2,5. Au MW à 60°C en 20 min, le composé **198** a été obtenu avec un rendement de 16% (*Tableau 12, Entrée 2*). Une augmentation de la température à 80°C puis 100°C permet d'atteindre un rendement maximum de 75% (*Tableau 12, Entrées 3 et 4*). Une diminution du temps de réaction ou du nombre d'équivalents d'agent de sulfatation conduit à des rendements inférieurs (*Tableau 12, Entrées 5 et 6*).

L'utilisation de la chimie en flux continu a permis d'obtenir la molécule **198** avec 72% de rendement en 20 min à 100°C (*Tableau 12, Entrée 7*). Une réduction du temps de réaction ou de la température diminue également considérablement les rendements (*Tableau 12, Entrées 8 et 9*).

Tableau 12 : Conditions de réaction pour la sulfatation de la position 4 du D-galactose 195



Entrée	Mode de chauffage	SO ₃ .NMe ₃ (éq.)	Temps de réaction	Température	Rendement
1	Thermique classique	9,0	5 j.	60°C	77%
2	MW	2,5	20 min	60°C	16%
3	MW	2,5	20 min	80°C	72%
4	MW	2,5	20 min	100°C	75%
5	MW	2,5	10 min	100°C	48%
6	MW	2,0	20 min	100°C	66%
7	Flux	2,5	20 min	100°C	72%
8	Flux	2,5	20 min	80°C	14%
9	Flux	2,5	10 min	100°C	9%

La sulfatation des molécules **196** et **197** dans les meilleures conditions obtenues avec le D-galactose, soit 20 min à 100°C avec 2,5 éq. d'agent de sulfatation au MW ou avec la chimie en flux continu, permet d'obtenir les molécules **199** et **200** avec des rendements autour de 60-70% et 40% respectivement (*Figure 19*).



CTC : 23 h, SO₃.NMe₃ (3,5 éq.), 60°C, **71%**
 MW : 20 min, SO₃.NMe₃ (2,5 éq.), 100°C, **71%**
 Flux : 20 min, SO₃.NMe₃ (2,5 éq.), 100°C, **59%**

CTC : 7 h, SO₃.NMe₃ (2,5 éq.), 60°C, **43%**
 MW : 20 min, SO₃.NMe₃ (2,5 éq.), 100°C, **36%**
 Flux : 20 min, SO₃.NMe₃ (2,5 éq.), 100°C, **42%**

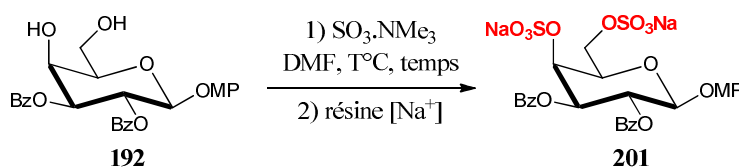
Figure 19 : Sulfatation de la position 4 des D-glucosamines

L'utilisation du MW et de la chimie en flux continu permet de réduire considérablement le nombre d'éq. d'agent de sulfatation ainsi que le temps de réaction pour la sulfatation de la position 4 d'un D-galactose ou des D-glucosamines, en passant de plusieurs heures voire jours de réaction avec un nombre d'équivalents d'agent de sulfatation parfois important (jusqu'à 9,0 éq.) à 20 min. avec 2,5 éq.

V-2.2. Disulfatation des positions 4 et 6

En s'appuyant sur les résultats obtenus pour la sulfatation de la position 4, nous avons choisi de tester la disulfatation des positions 4 et 6, en étudiant les conditions de réaction sur le D-galactose, pour les mêmes raisons que précédemment. Afin d'éviter une fois de plus une longue purification avec la colonne d'exclusion stérique, nous avons fixé à 4,0 le nombre d'éq. de SO₃.NMe₃ pour les sulfatations au MW et en chimie en flux continu.

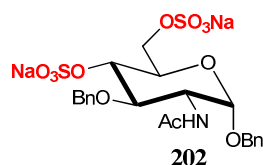
Tableau 13 : Conditions de réaction pour la disulfatation du D-galactose 192



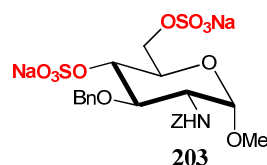
Entrée	Mode de chauffage	SO ₃ .NMe ₃ (éq.)	Temps de réaction	Température	Rendement
1	Thermique classique	8,0	96 h	65°C	59%
2	MW	4,0	20 min	100°C	61%
3	MW	4,0	30 min	100°C	68%
4	MW	3,0	30 min	100°C	49%
5	Flux	4,0	20 min	100°C	59%

Dans les conditions de chauffage thermique classique, le composé **201** a été obtenu avec un rendement de 59%, en chauffant à 65°C pendant 96h avec un total de 8,0 éq. d'agent de sulfatation (*Tableau 13, Entrée 1*). L'application des meilleures conditions obtenues pour **198** au MW et avec la chimie en flux continu (20 min., 100°C) permet d'obtenir la molécule **201** avec des rendements similaires (61 et 59% respectivement) (*Tableau 13, Entrées 2 et 5*). Le passage de 20 à 30 min au MW permet d'augmenter légèrement le rendement alors qu'une réduction du nombre d'éq. fait chuter celui-ci (*Tableau 13, Entrées 3 et 4*). L'augmentation du temps de réaction en chimie en flux continu n'a pas été possible à cause du débit utilisé pour ces réactions.

Comme précédemment, ces meilleures conditions (4,0 éq., 30 min, 100°C au MW ou bien 4,0 éq., 20 min, 100°C en chimie en flux continu) ont été testées sur les D-glucosamines **193** et **194**. Pour le composé **202**, les rendements sont améliorés avec l'utilisation du MW et de la chimie en flux continu par rapport au chauffage classique. Pour le composé **203**, les rendements sont similaires, avec une légère baisse pour la chimie en flux continu (*Figure 20*).



CTC : 31 h, SO₃.NMe₃ (5,5 éq.), 65°C **34%**
 MW : 30 min, SO₃.NMe₃ (4,0 éq.), 100°C, **55%**
 Flow : 20 min, SO₃.NMe₃ (4,0 éq.), 100°C, **51%**



CTC : 32 h, SO₃.NMe₃ (4,5 éq.), 65°C **56%**
 MW : 30 min, SO₃.NMe₃ (4,0 éq.), 100°C **57%**
 Flow : 20 min, SO₃.NMe₃ (4,0 éq.), 100°C **44%**

Figure 20 : Disulfatation des D-glucosamines 193 et 194

Ainsi, l'utilisation du MW ou de la chimie en flux continu permet une fois de plus de réduire considérablement le nombre d'éq. d'agent de sulfatation et le temps de la réaction.

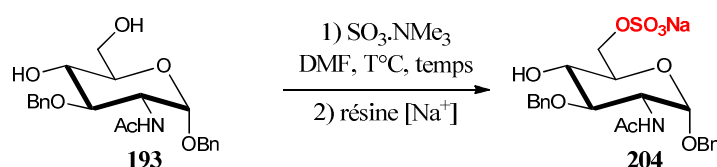
La sulfatation exhaustive de la position 4 et la disulfatation des positions 4 et 6 ont donc été réalisées au MW et avec la chimie en flux continu. Les différentes molécules ont été synthétisées avec des rendements équivalents à ceux obtenus en chauffage thermique classique. Ces méthodes ont nécessité une hausse de la température jusqu'à 100°C mais elles ont permis de réduire le temps de réaction, le nombre d'équivalents d'agent de sulfatation et le temps de purification en évitant la colonne d'exclusion stérique.

V-3. Sulfatation régiosélective de la position 6

Une étude de la sulfatation régiosélective de la position 6 à partir de diols a ensuite été menée, tout d'abord sur la D-glucosamine **193**. Dans les conditions classiques, la 6-sulfatation requiert peu d'équivalents d'agent de sulfatation, généralement 2,5 éq. et un chauffage peu élevé (40°C).

Dans ces conditions, la molécule **204** a été obtenue avec un rendement modeste de 51% en 3,5h (Tableau 14, Entrée 1). A la même température de 40°C au MW en 10 min, 45% de produit 6-sulfaté sont formés mais il reste 40% de produit de départ (Tableau 14, Entrée 2). En augmentant le chauffage, le rendement est amélioré jusqu'à un maximum de 57% à 60°C puis il diminue car du produit 4,6-disulfaté est alors formé (Tableau 14, Entrées 3, 4 et 5). A 60°C, une augmentation du temps de réaction donne un rendement plus faible, du à la formation du composé 4,6-disulfaté (Tableau 14, Entrée 6). Les mêmes observations sont faites avec la chimie en flux continu, bien que le rendement soit légèrement meilleur (69%) pour les conditions optimales (Tableau 14, Entrées 7 et 8).

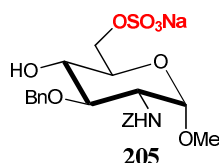
Tableau 14 : Sulfatation régiosélective de la position 6 de la D-glucosamine **193**



Entrée	Mode de chauffage	$\text{SO}_3 \cdot \text{NMe}_3$ (éq.)	Temps de réaction	Température	Rendement
1	Thermique classique	2,5	3,5 h	40°C	51%
2	MW	2,5	10 min	40°C	45% ^a
3	MW	2,5	10 min	60°C	57%
4	MW	2,5	10 min	70°C	53% ^b
5	MW	2,5	10 min	80°C	34% ^c
6	MW	2,5	20 min	60°C	38%
7	Flux	2,5	10 min	60°C	69%
8	Flux	2,5	10 min	80°C	56% ^d

^a 40% de produit de départ restant, ^b traces de produit 4,6-disulfaté ; ^c 56% de produit 4,6-disulfaté ; ^d 35% de produit 4,6-disulfaté

L'application des conditions optimales (10 min à 60°C) sur le diol **194** montre une augmentation importante du rendement, encore plus considérable en chimie en flux continu (Figure 21).

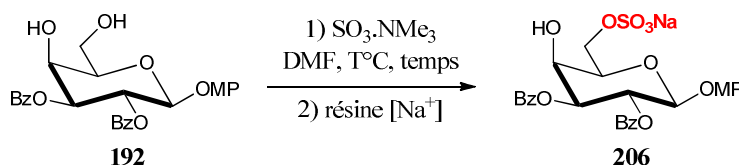


Batch : 5,5 h, $\text{SO}_3\cdot\text{NMe}_3$ (2,5 éq.), 40°C, **31%**
 MW : 10 min, $\text{SO}_3\cdot\text{NMe}_3$ (2,5 éq.), 60°C, **57%**
 Flow : 10 min, $\text{SO}_3\cdot\text{NMe}_3$ (2,5 éq.), 60°C, **78%**

Figure 21 : 6-Sulfatation du diol 194

La sulfatation régiosélective de la position 6 du D-galactose **192**, en conditions thermiques classiques, a permis l'obtention du composé 6-sulfaté **206** avec un rendement de 85%, avec 2,5 éq. de $\text{SO}_3\cdot\text{NMe}_3$ en 6,5h à 40°C (Tableau 15, Entrée 1). L'application des conditions précédentes à 40 ou 60°C, suivant les techniques du MW et de la chimie en flux continu, a conduit à la molécule **206** avec de modestes rendements (Tableau 15, Entrées 2, 3 et 4).

Tableau 15 : 6-Sulfatation de la molécule 192



Entrée	Mode de chauffage	$\text{SO}_3\cdot\text{NMe}_3$ (éq.)	Temps de réaction	Température	Rendement
1	Thermique classique	2,5	6,5 h	40°C	85%
2	MW	2,5	10 min	40°C	54%
3	MW	2,5	10 min	60°C	69%
4	Flux	2,5	10 min	60°C	65%

La position 4 de ce D-galactose étant moins réactive que celle d'une D-glucosamine, il a été possible d'augmenter les températures. Chauffer à 80°C au MW améliore nettement le rendement (84%) mais une diminution du nombre d'éq. d'agent de sulfatation ou du temps de réaction diminue celui-ci (Tableau 16, Entrées 1, 2 et 3). Les mêmes tendances sont observées avec la chimie en flux continu, le meilleur rendement obtenu étant de 78% (Tableau 16, Entrées 4 et 5).

Tableau 16 : Optimisation des conditions de 6-sulfatation du D-galactose 192

Entrée	Mode de chauffage	SO ₃ .NMe ₃ (éq.)	Temps de réaction	Température	Rendement
1	MW	2,5	10 min	80°C	84%
2	MW	2,0	10 min	80°C	66%
3	MW	2,5	5 min	80°C	66%
4	Flux	2,5	10 min	80°C	78%
5	Flux	2,5	5 min	80°C	67%

La 6-sulfatation régiosélective a donc été réalisée au MW et avec la chimie en flux continu. Les différentes molécules ont été synthétisées avec des rendements meilleurs (dans le cas des D-glucosamines) ou équivalents (pour le D-galactose) à ceux obtenus en chauffage thermique classique. Ces méthodes ont requis une hausse de la température mais elles ont permis de réduire le temps de réaction.

V-4. Application sur les di- et trisaccharides

Ces différentes techniques d'activation et de chauffage ont été utilisées pour sulfater les différents di- et trisaccharides présentés dans le chapitre IV. En effet, ces étapes de sulfatation, notamment celles de la position 4, nécessitent un nombre d'équivalents d'agent de sulfatation très important ainsi qu'un temps de réaction long de plusieurs jours.

V-4.1. Application sur un disaccharide D-Gal-D-Gal

Dans un premier temps, nous avons choisi de tester ces méthodes pour la sulfatation de disaccharides D-Gal-D-Gal **207**, dont les hydroxyles des positions 4 et 6 sont libres, et **208**, qui possède un hydroxyle libre en 4 et un groupement Bz en 6, déjà connus⁵³ et synthétisés au laboratoire.

La sulfatation de la position 6 du diol **207** a déjà été décrite dans la littérature.⁵³ Dans des conditions de chauffage thermique classique (CTC) (40°C et 2,5 éq. de SO₃.NMe₃) pour une quantité de produit de départ d'environ 400 mg, la molécule 6-sulfaté **209** a été obtenue avec un rendement de 83% en 1,5h. Comme les tests au MW et en chimie en flux continu seront réalisés à partir de 50 mg de produit **207**, pour des raisons de solubilité et de concentration, la réaction de sulfatation précédente a été testée dans ces proportions, en CTC à 40°C en 1,5h et le rendement obtenu est de 76%. En utilisant les conditions de réaction optimisées pour la 6-sulfatation du D-galactose **192**, soit 2,5 éq. de SO₃.NMe₃ à 80°C pendant 10 min pour le MW et la chimie en flux continu, des rendements de 65 et 41% respectivement ont été obtenus pour la synthèse du composé **209** (Schéma 78). Pour l'essai en chimie en flux continu, la sulfatation n'est pas totale puisque 59% de produit de départ ont été récupérés. Il semblerait donc que ces conditions ne soient pas assez poussées pour obtenir une réaction totale dans ce cas. Mais les concentrations et la taille de la boucle d'injection de l'appareil de

flux continu étant limitées, il ne nous a pas été possible d'augmenter la quantité d'agent de sulfatation.

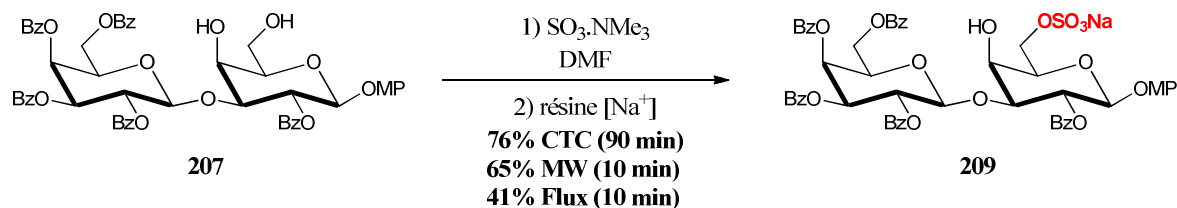


Schéma 78 : 6-Sulfatation du disaccharide 207

La sulfatation de la position 6 du disaccharide **207** a ainsi été réalisée en CTC, au MW ou en chimie de flux continu. Les rendements obtenus avec ces deux dernières techniques sont légèrement inférieurs à ceux obtenus en CTC, principalement avec la chimie en flux continu mais les temps de réaction sont nettement inférieurs, avec le passage de 90 min. à 10 min.

La sulfatation de la position 4 du disaccharide **208** en CTC, reportée dans la littérature,⁵³ a permis d'obtenir le composé **210** avec un rendement de 90% en chauffant à 60°C pendant 72h avec 10 éq. de $\text{SO}_3\cdot\text{NMe}_3$, en partant de 300 mg de produit de départ **208** (Schéma 79).

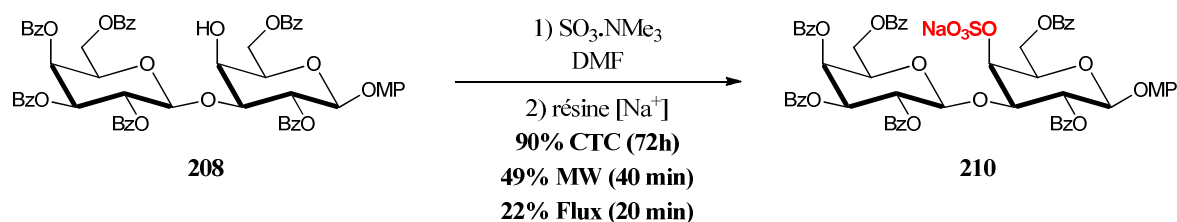


Schéma 79 : 4-Sulfatation du composé 208

En utilisant les conditions de réaction optimisées pour la 4-sulfatation du D-galactose **195** (en partant de 50 mg), soit 2,5 éq. de $\text{SO}_3\cdot\text{NMe}_3$ à 100°C pendant 20 min pour le MW et la chimie en flux continu, des rendements de 32 et 22% respectivement ont été obtenus pour la synthèse du composé **210**. Ces rendements sont relativement faibles et du produit départ est récupéré dans les deux cas. Un chauffage plus long a donc été testé au MW et un meilleur rendement de 49% est obtenu en chauffant à 100°C pendant 40 min. Cette augmentation du temps de réaction n'a pas été possible en chimie en flux continu, à cause de la longueur de la boucle d'injection et du débit utilisé.

La sulfatation de la position 4 du disaccharide **208** a ainsi été réalisée en CTC, au MW ou en chimie en flux continu. Les rendements obtenus avec ces deux dernières techniques sont inférieurs à celui obtenu en CTC. Les conditions utilisées avec le MW et la chimie en flux continu mériteraient d'être optimisées, en jouant sur le temps de la réaction et le nombre d'équivalents d'agent de sulfatation.

V-4.2. Application sur nos composés

Nous avons souhaité tester ces nouvelles méthodes d'activation sur nos di- et trisaccharides d'intérêt de la zone de liaison. Les différentes sulfatations ont été réalisées uniquement au MW, pour des raisons d'économie de produit et compte-tenu des résultats obtenus sur le disaccharide D-Gal-D-Gal.

V-4.2.1. 6-Sulfatation

Les di- et trisaccharides **154**, **163** et **176** ont été obtenus respectivement à partir des diols **153**, **159** et **167**. Les réactions de 6-sulfatation ont ici été conduites au MW et sont suivies de l'acétylation de la position 4, afin de correspondre aux composés synthétisés auparavant en chauffage thermique classique, l'acétylation permettant de vérifier par RMN la bonne position du groupement sulfate. Les conditions de réaction MW utilisées sont les conditions optimales de 6-sulfatation pour l'obtention du monosaccharide **206**, soit 10 min à 80°C avec 2,5 éq. de $\text{SO}_3\cdot\text{NMe}_3$.

Dans les conditions de chauffage classique, le composé **154** avait été obtenu avec un rendement de 60% pour l'étape de sulfatation, en 5h à 40°C avec 2,5 éq. de $\text{SO}_3\cdot\text{NMe}_3$, suivie de l'acétylation de la position 4. Ce rendement est identique (63%), en utilisant les irradiations du MW suivie d'une acétylation classique de la position 4, mais le temps de réaction est grandement diminué puisque l'on passe de 5h à seulement 10 min. de réaction (Figure 22).

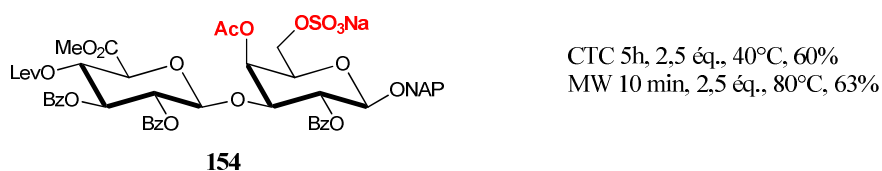


Figure 22 : 6-Sulfatation en CTC et au MW pour le composé 154

La sulfatation de la position 6 du composé **159**, pour conduire au trisaccharide **163** avec un rendement de 70%, avait nécessité le chauffage à 40°C pendant 5h avec 2,5 éq. de $\text{SO}_3\cdot\text{NMe}_3$. L'utilisation du MW a permis d'obtenir le composé **163** avec un rendement de 37% (Figure 23). Ce faible rendement peut s'expliquer par la récupération de 47% de produit correspondant au produit de départ diacétylé.

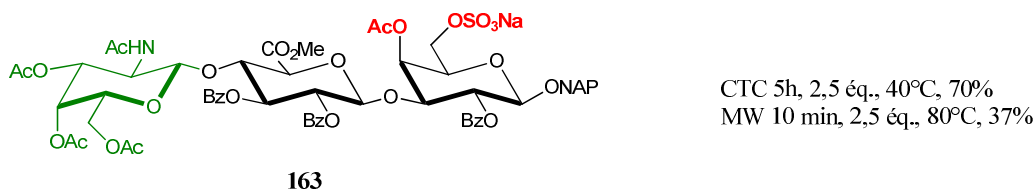


Figure 23 : 6-Sulfatation en CTC et au MW pour le composé 163

Pour la sulfatation en chauffage thermique classique de la position 6 du trisaccharide **167**, un rendement de 40% avait été obtenu après 5h à 40°C avec 2,5 éq. de SO₃.NMe₃. La molécule **176** a pu être obtenue avec un rendement de 49% au MW, mais 38% de produit correspondant au produit de départ diacétylé sont également récupérés (*Figure 24*).

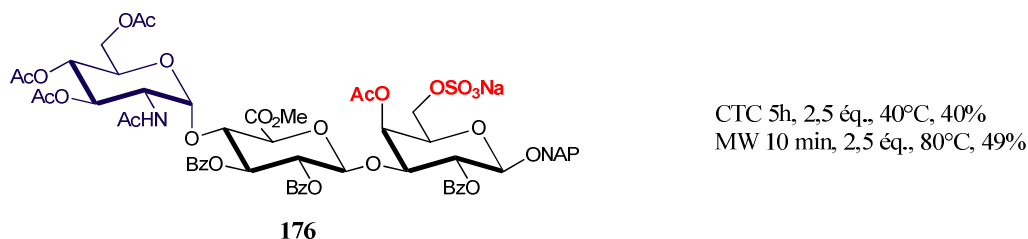


Figure 24 : 6-Sulfatation en CTC et au MW pour le composé 176

La 6-sulfatation des trisaccharides au MW, en comparaison à celle réalisée en CTC, semble bien fonctionner pour la synthèse du trisaccharide **176** mais moins bien pour celle de **163**. Comme du produit de départ diacétylé est récupéré, une optimisation des conditions de réaction en augmentant le temps de réaction au MW semble nécessaire, mais ces tests n'ont pas pu être réalisés, à cause de la faible quantité de produit de départ disponible. En revanche, 10 min semblent suffisantes pour obtenir les disaccharides sulfatés en 6 avec des rendements corrects. Ainsi, le MW apporte ici une réduction conséquente du temps de réaction.

V-4.2.2. 4-Sulfatation

Les di- et trisaccharides 4-sulfatés **155**, **165** et **178** ont été obtenus respectivement à partir des composés **156**, **164** et **177**, possédant l'hydroxyle libre en 4 et benzoylés sur la position 6.

Pour la 4-sulfatation du composé **156**, les conditions développées pour le D-Gal-D-Gal, 40 min, 100°C et 2,5 éq. de SO₃.NMe₃, ont été utilisées et ont permis d'obtenir le composé **155** mais avec un faible rendement de 20%, mais aucun produit secondaire n'a pourtant été observé, seules de légères traces de produit de départ ont pu être observées (5% de produit de départ récupéré ; celui-ci a peut-être été perdu lors de la colonne chromatographique). Un autre essai a été réalisé, avec 15 éq. de SO₃.NMe₃ à 100°C pendant 45 min. Cette fois-ci, le rendement obtenu est de 59%. Cela est satisfaisant puisque le rendement obtenu par chauffage classique était de 62% après 5j. à 60°C et 45 éq. d'agent de sulfatation (*Figure 25*).

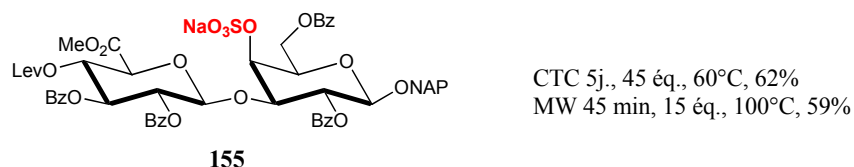


Figure 25 : Comparaison des 4-sulfatations CTC et MW

Pour la 4-sulfatation des deux trisaccharides **164** et **177**, les quantités de produit disponibles étant faibles, nous avons décidé de faire un suivi de la réaction par CCM, ce qui a

impliqué d'ouvrir le tube MW à des temps réguliers. Pour ces deux composés, une légère évolution de la réaction a été visible, avec une légère augmentation de la tâche correspondant au produit attendu, au fur et à mesure des ajouts d'équivalents de réactif sulfaté et des augmentations de temps. Après un total de 10 éq. et 5h de réaction MW, les rendements de 25 et 26% ont été obtenus pour les trisaccharides **165** et **178** respectivement. Dans les deux cas, du produit de départ a été récupéré en quantité importante (56% pour **165** et 51% pour **178**). Ces rendements restent faibles comparés aux rendements obtenus en chauffage classique (59% pour **165** et 95% pour **178**) (Figure 26).

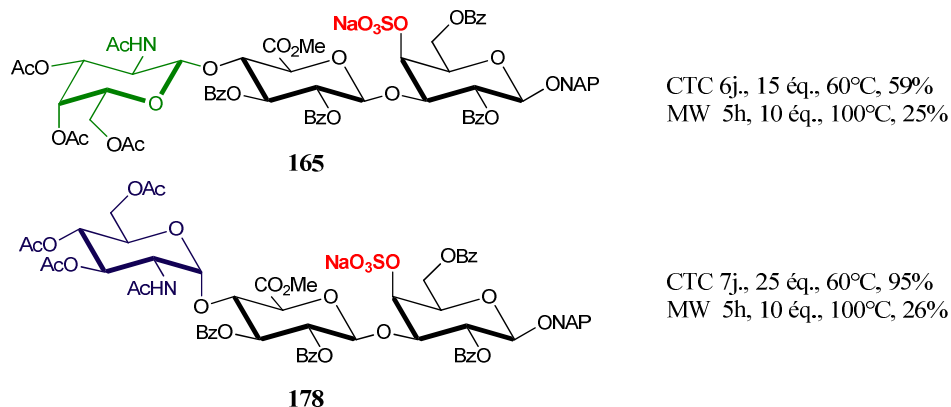


Figure 26 : Comparaison des 4-sulfatations

Ainsi, pour la 4-sulfatation, les réactions au MW doivent avoir un temps plus important et un nombre d'éq. d'agent de sulfatation supérieur à celui utilisé avec les monosaccharides. De plus, les réactions de sulfatation des trisaccharides auraient nécessité une quantité de réactif encore supérieure, augmenter le temps de réaction faisant perdre l'utilité du MW.

V-5. Conclusion

La sulfatation de monosaccharides de différents types (D-Gal ou D-GlcN) a donc été réalisée en conditions de chauffage classique, au MW et en chimie en flux continu. Ces deux dernières techniques ont permis de réduire de façon considérable les temps de réaction et la quantité d'agent de sulfatation nécessaire, comparé aux conditions classiques. Les sulfatations exhaustives de la position 4 ou des positions 4 et 6 ont ainsi été réalisées, comme la 6-sulfatation sélective de diols. Ce travail a donné lieu à une publication.¹⁰⁸

La 6-sulfatation de di- et trisaccharides a également pu être réalisée, principalement au MW, dans les mêmes conditions que les monosaccharides avec des rendements corrects. Pour la sulfatation de la position 4, des conditions différentes ont du être utilisées avec un temps de réaction plus long pour les disaccharides et un nombre supérieur d'équivalents d'agent de sulfatation pour les trisaccharides. Malgré ces améliorations, la sulfatation de la position 4 ne semble pas efficace au MW, en particulier pour les trisaccharides. Ces sulfatations

¹⁰⁸ Ledru, H., D'Attoma, J., Bostyn, S., Routier, S., Buron, F., Lopin-Bon, C., *ChemistrySelect*, **2017**, 2, 9637-9641

mériteraient d'être optimisées, au moins sur les trisaccharides, pour lesquels les rendements obtenus sont faibles. Néanmoins, l'utilisation du MW permet de réduire considérablement le temps des réactions.

VI- UTILISATION DE SULFATASES POUR L'OBTENTION DE SUCRES MONOSULFATÉS

Comme montré dans les différents chapitres précédents, les sucres sulfatés sont très présents dans la nature, avec les protéoglycanes par exemple, ces derniers ayant des rôles biologiques importants.

Dans le cas de notre projet de synthèse (*chapitre IV*), nous avons montré que l'accès aux composés 6-sulfatés et 4-sulfatés nécessitaient deux voies de synthèse en partant du même diol, l'une étant la sulfatation régiosélective de la position 6 sur le diol, l'autre nécessitant une étape de protection régiosélective de la position 6 avant de réaliser la sulfatation de la position 4.

Dans ce chapitre, en collaboration avec l'équipe du Pr. Richard Daniellou et du Dr. Pierre Lafite (ICOA), nous envisageons de partir d'un intermédiaire commun disulfaté, pour accéder à la fois aux composés 4- et 6-sulfatés, en utilisant des sulfatases (*Schéma 80*).

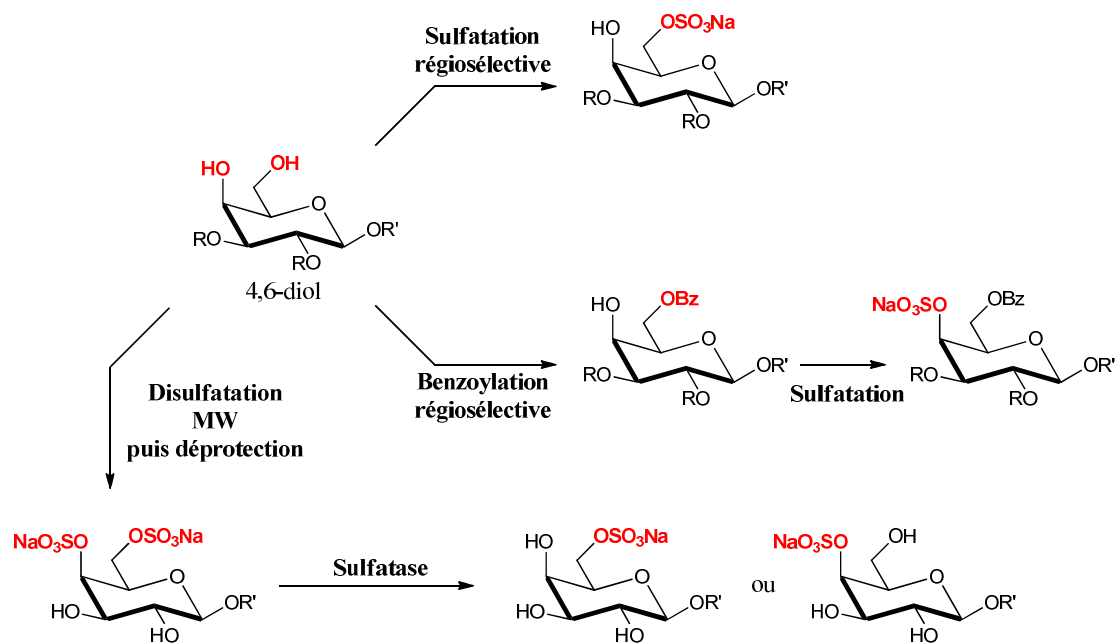


Schéma 80 : Différentes voies d'obtention des composés monosulfatés en 6 ou en 4

Nous envisageons d'initier cette étude sur un monosaccharide disulfaté, obtenu précédemment par MW.

VI-1. Généralités sur les sulfatases

Ces enzymes ont été découvertes au cours du vingtième siècle, à la fois chez les eucaryotes et les procaryotes. Elles sont impliquées dans des processus biologiques importants comme la régulation d'hormones, le développement du cartilage ou encore dans la modification des glycosaminoglycanes.¹⁰⁹

Elles permettent d'hydrolyser les groupements sulfates portés par des atomes d'oxygène (CO-S) ou d'azote (CN-S). Elles font partie de la famille d'enzymes EC 3.1.6. (EC : Enzyme Commission numbers) ; le chiffre 3 correspond à la classe des hydrolases et le

¹⁰⁹ Hanson, S. R., Best, M. D., Wong, C.-H., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2004**, 43, 5736-5763

chiffre 6 aux hydrolases d'esters sulfatés.¹¹⁰ Les séquences et structures de ces enzymes sont très conservées. Leurs substrats sont variés et incluent notamment les stéroïdes, les protéines, les sucres mais aussi les protéoglycanes.¹⁰⁹

Depuis une vingtaine d'années, l'utilisation de sulfatases est devenue une technique alternative à la synthèse chimique pour obtenir des composés sulfatés de manière sélective. En 1998 puis en 2003, l'équipe de Uzawa H. a montré l'utilisation de ces enzymes sur des galactoses possédant un groupement *para*-nitrophénol (pNP) en position anomérique et au moins deux groupements sulfates.^{111,112} Avec différentes sulfatases (snail **S** (*Helix pomatia*), abalone **A** et limpet **L** (*Patella vulgata*), issues de mollusques), des désulfatations régiosélectives ont pu être observées (Schéma 81).

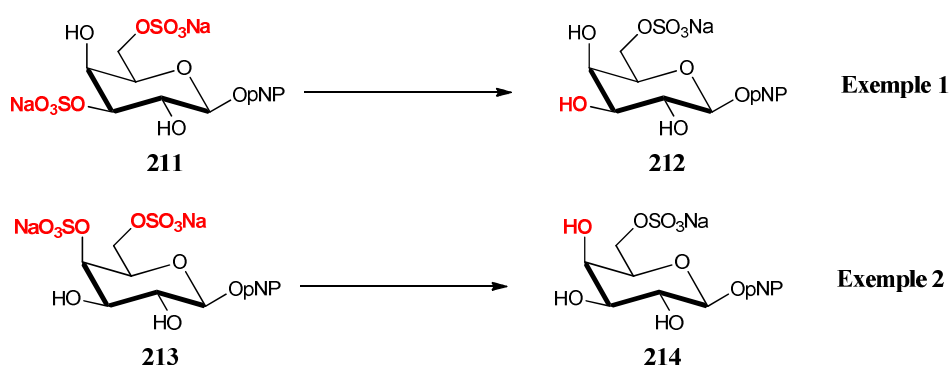


Schéma 81 : Exemples de réactions réalisées par Uzawa, H.

Dans le cas de l'exemple 1, l'hydrolyse du groupement sulfate en position 3 du composé **211**, possédant des sulfates en positions 3 et 6, a été réalisé en présence de la sulfatase **S** et le produit **212** a été isolé avec un rendement supérieur à 90%. L'utilisation des deux autres sulfatases **A** et **L** a montré une réactivité et une sélectivité similaires.¹¹¹

Dans le cas de l'exemple 2, les trois sulfatases **S**, **A** et **L**, ont été testées sur le composé **213**, possédant des groupements sulfates en positions 4 et 6, mais seule la sulfatase **A** a permis d'obtenir le composé **214**, monosulfaté en position 6.¹¹²

En 2004, ce même groupe a également montré que les trois sulfatases précédentes pouvaient hydrolyser des groupements sulfates en position 2 ou 3 sur des α -D-gluco ou α -D-mannopyranosides, possédant un groupement *para*-nitrophénol en position anomérique et des sulfates sur les positions 2 et 6 ou 3 et 6 respectivement (Figure 27).¹¹³

¹¹⁰ <http://www.brenda-enzymes.org>

¹¹¹ Uzawa, H., Toba, T., Nishida, Y., Kobayashi, K., Minoura, N., Hiratani, K., *Chem. Commun.*, **1998**, 2311-2312

¹¹² Uzawa, H., Nishida, Y., Sasaki, K., Minoura, N., Kobayashi, K., *ChemBioChem*, **2003**, 4, 640-647

¹¹³ Uzawa, H., Nishida, Y., Sasaki, K., Nagatsuka, T., Hiramatsu, H., Kobayashi, K., *Carbohydr. Res.*, **2004**, 339, 1597-1602

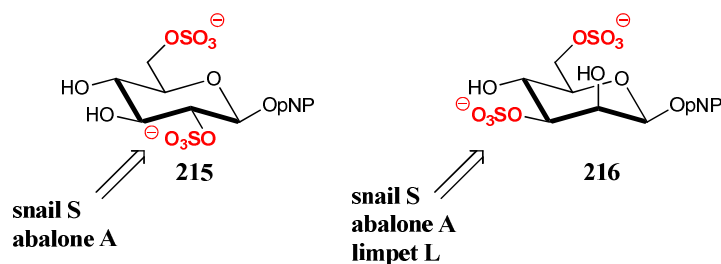


Figure 27 : Résumé des désulfatations réalisées

Plus récemment, les équipes de Le Narvor C. et de Berteau O.¹¹⁴ ont étudié une sulfatase, la chondroïtine-4-*O*-sulfatase, issue de la bactérie *Bacteroides thetaiotaomicron*, qui permet de désulfater sélectivement la position 4 du résidu *N*-acétylgalactosaminyI sur le disaccharide répétitif des CS. Afin de déterminer la structure minimale nécessaire au fonctionnement de cette enzyme, ils ont synthétisé quatre monosaccharides sulfatés en position 4 ainsi qu'un disaccharide D-Glc-D-GalNAc, également sulfaté en 4. Ils ont ainsi montré que cette enzyme fonctionnait avec une structure minimale disaccharidique.

VI-2. Projet envisagé

VI-2.1. Choix et synthèse des composés

Pour tester la désulfatation de monosaccharides 4,6-disulfatés en utilisant les sulfatases, il était nécessaire de préparer un composé 4,6-disulfaté.

Notre choix s'est porté sur le D-Gal **219** possédant le groupement 4-méthoxyphénol comme aglycone (*Figure 28*). En effet nous avons montré aux chapitres V-2 que l'utilisation du micro-ondes notamment permettait d'obtenir le composé 4,6-disulfaté **201** avec de bons rendements en partant du diol correspondant.

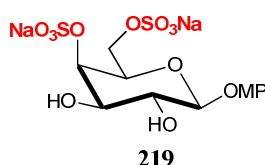


Figure 28 : Composé choisi

Les réactions enzymatiques se réalisant dans l'eau tamponnée, nous avons donc saponifié le composé **201**, obtenu précédemment, en présence d'une solution de soude 4M suivie d'une colonne d'exclusion stérique LH-20 dans l'eau, afin d'obtenir le composé **219**, avec un rendement de 72% (*Schéma 82*).

¹¹⁴ Malleron, A., Benjdia, A., Berteau, O., Le Narvor, C., *Carbohydr. Res.*, **2012**, 353, 96-99

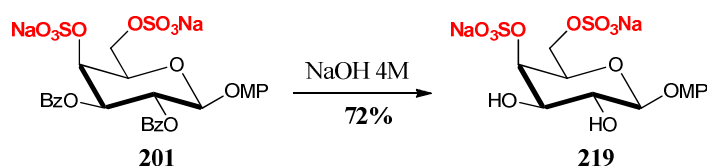


Schéma 82 : Saponification du composé disulfaté

Afin de déterminer sans ambiguïté les produits obtenus lors des réactions enzymatiques, il a été nécessaire de préparer les produits témoins, 4- ou 6-monosulfaté **217** et **218** ainsi que le tétrol **45** (Figure 29).

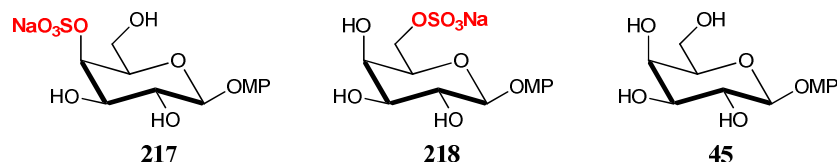


Figure 29 : Produits témoins

Les composés **217** et **218** ont été préparés par saponification des produits **198** et **206**, respectivement, obtenus par sulfatation MW. Le composé 4-sulfaté **217** a ainsi été obtenu avec 71% de rendement et le composé 6-sulfate **218** avec 85% de rendement (Schéma 83).

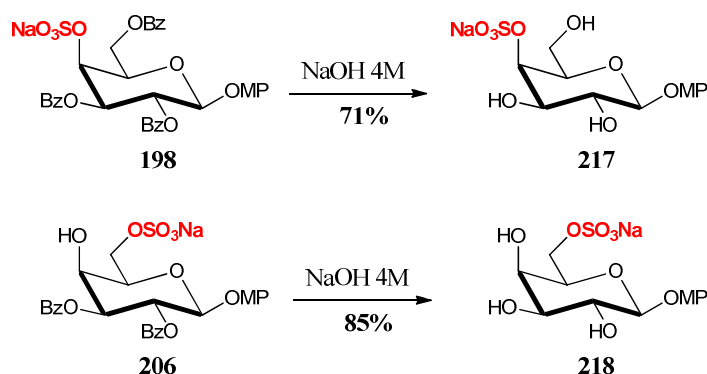


Schéma 83 : Saponification des différents D-Gal

VI-2.2. Choix des sulfatases

En s'appuyant sur les travaux réalisés par Uzawa *et al*, nous avons choisi trois sulfatases commerciales *Helix pomatia* (**S**), *Patella vulgata* (**L**) et une autre non spécifiée provenant d'entrailles d'ormeau (abalone **A**).

Les enzymes sont classées dans une base de données appelée Brenda, qui répertorie toutes les informations connues sur celles-ci.¹¹⁰ Sur les trois enzymes choisies, seule *Helix pomatia* est décrite. Toutes ces caractéristiques sont ainsi répertoriées et notamment la température optimale, qui est de 37°C, et le pH optimum, de 7,4, qui permettent donc d'avoir la plus grande activité.

VI-3. Résultats préliminaires

Compte-tenu de toutes ces informations, nous avons réalisé la réaction enzymatique entre les sulfatases et le composé disulfaté **219**. Pour ce faire, 5 mg de sucre **219** ont été mis en présence de 2 mg de chaque sulfatase dans un tampon NH_4AcO (pH 7, 0,5 mL) à 50 mM à 37°C. Les réactions ont été suivies par CCM (AcOEt / MeOH / H_2O 6/2/1).

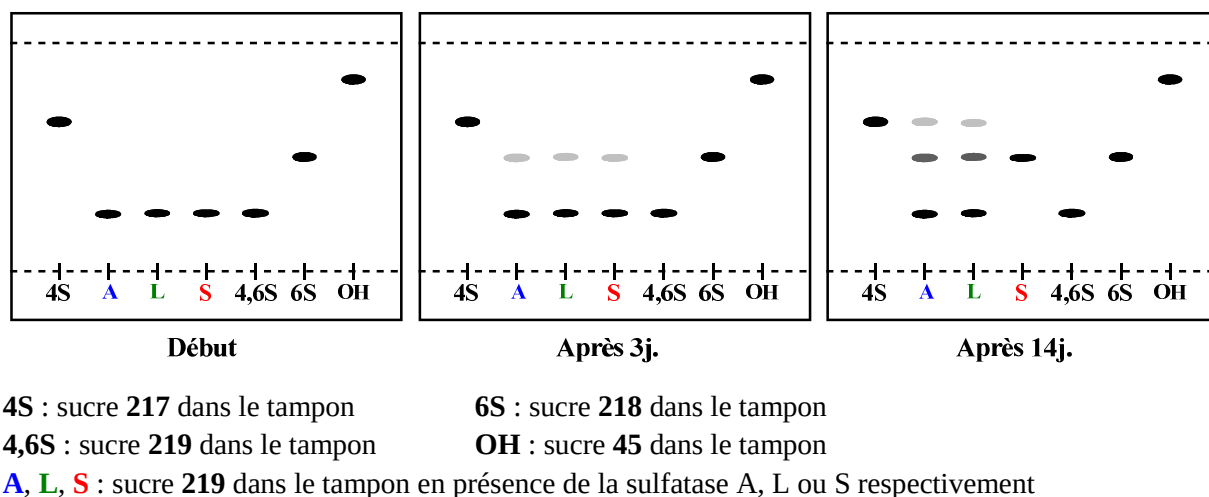


Figure 30 : Suivi CCM des réactions enzymatiques à pH 7

Ces suivis CCM nous montrent, de manière strictement qualitative, que la sulfatase *Helix pomatia* (**S**) permet d'obtenir le composé 6-sulfaté **218** après 14j. Les autres sulfatases **A** et **L** semblent moins sélectives et les réactions sont plus lentes (*Figure 30*).

Il est à noter que les solutions témoins ont également été préparées en mettant en présence les sucres **217**, **218**, **219** et **45** dans la solution tampon, sans sulfatase, afin de voir la stabilité des produits au cours du temps et aucune dégradation n'a été constatée.

Une explication possible concernant la lenteur des réactions avec les sulfatases **A** et **L** peut être le mauvais tampon utilisé, puisque le pH optimal pour ces deux enzymes n'est pas décrit. Une recherche du pH optimal a donc été réalisée.

Pour cela, nous avons utilisé le *para*-nitrophénol sulfaté (pNp-sulf) comme substrat des sulfatases **A** et **L** car la réaction de celui-ci en présence d'eau et d'enzyme à pH basique donne un composé jaune, qui pourra alors servir pour mesurer l'absorbance et trouver ainsi le pH optimal (*Schéma 84*).

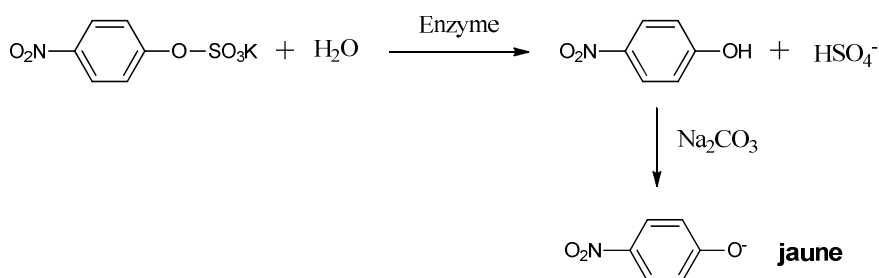
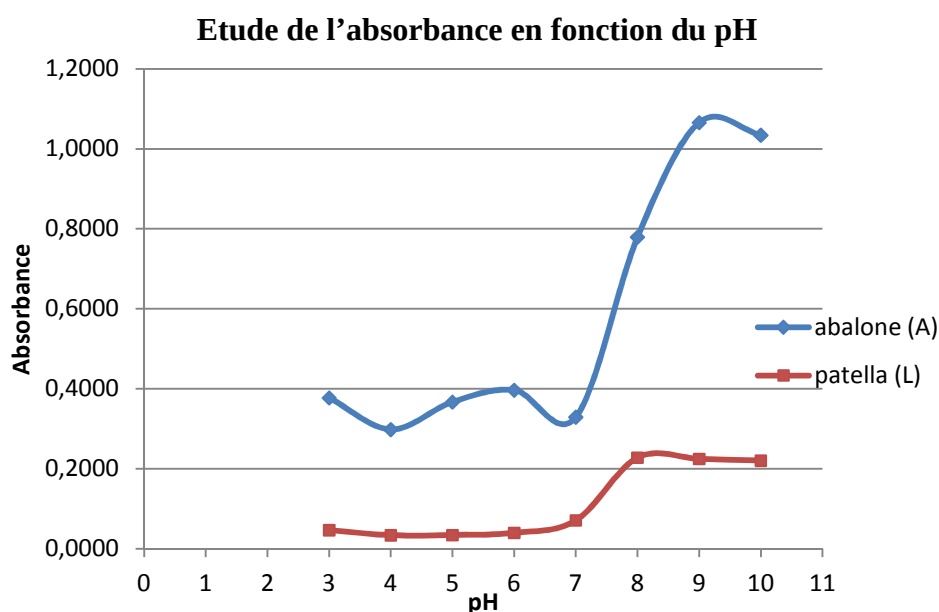


Schéma 84 : Réaction du pNp-sulf

Le pNp-sulf a ainsi été mis en réaction avec les enzymes **A** et **L**, dans des tampons de pH allant de 3 à 10, les tampons acides étant formés à partir d'un mélange phosphate / acide citrique et les tampons basiques à partir d'imidazole. Des réactions de contrôle, correspondant au pNp-sulf dans les différents tampons sans enzyme, ont également été réalisées. Au total, 24 réactions ont ainsi été lancées en parallèle pendant 1h30 à 37°C, puis stoppées avec une solution de Na₂CO₃ 1M. Les solutions ainsi obtenues ont été placées dans une microplaque de 96 puits et l'absorbance a été mesurée dans un spectrophotomètre à 405 nm. Les résultats obtenus sont résumés dans le graphique ci-dessous, chaque point correspondant à la mesure de l'absorbance de la réaction enzymatique de laquelle est déduite la mesure de l'absorbance de la réaction de contrôle (*Graphique 1*).



Graphique 1 : Courbes de l'absorbance

On constate que le pH optimal pour la sulfatase **A** est autour de 9 et celui de la sulfatase **L**, bien que les absorbances soient beaucoup plus faibles, est également autour de 9.

Deux nouvelles réactions enzymatiques ont donc été effectuées, avec les enzymes **A** et **L** mais cette fois-ci à pH 9, à l'aide d'une solution tampon carbonate. 5 mg de sucre **219** ont été mis en présence de 2 mg de chaque sulfatase **A** et **L** dans un tampon carbonate (pH 9, 0,5 mL) à 50 mM à 37°C. Une réaction de contrôle a été réalisée en mettant le sucre **219** dans la solution tampon sans sulfatase.

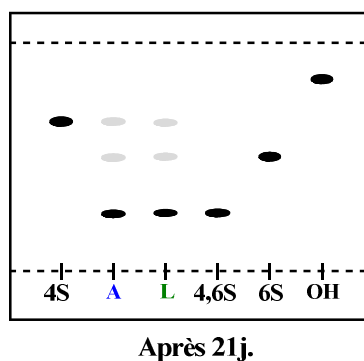


Figure 31 : Suivi CCM des réactions enzymatiques à pH 9

Le suivi CCM de ces réactions a montré de très légères traces de produit 4S et 6S après 21 jours de réaction, semblables à celles obtenues avec le composé 4,6-disulfaté dans le tampon seul. Ces deux enzymes ne semblent ainsi pas capables d'hydrolyser les esters sulfatés des positions 4 ou 6 du D-Gal.

Ces différents résultats avec les trois sulfatases **S**, **A** et **L** nous montrent donc, de manière strictement qualitative, que les sulfatases **A** et **L** ne permettent pas la désulfatation des positions 4 et 6 du D-Gal-OMP, alors que la sulfatase **S** (*Helix pomatia*) permet d'obtenir le composé 6-sulfaté.

Ces résultats sont différents de ceux obtenus par l'équipe de Uzawa H,¹¹² qui a montré la désulfatation de la position 4 du composé D-Gal-pNp disulfaté par la sulfatase abalone **A** sans avoir de résultat pour les sulfatases **S** et **L**.

VI-4. Conclusion

Les tests enzymatiques préliminaires effectués avec les sulfatases *Helix pomatia* **S**, abalone **A** et *Patella vulgata* **L** ont été réalisés sur un monosaccharide disulfaté en position 4 et 6, possédant le groupement MP comme aglycone. Seule la sulfatase **S** a permis d'obtenir un produit monosulfaté en position 6.

De nouveaux essais enzymatiques sont nécessaires afin de quantifier le composé obtenu, avant de tester cette réaction, dans une perspective plus lointaine, sur le disaccharide D-GlcA-D-Gal-ONAP, 4,6-disulfaté.

VII- CONCLUSION ET PERSPECTIVES

VII-1. Conclusion

Lors de notre travail, nous avons atteint notre objectif qui était de synthétiser des disaccharides de la zone de liaison, sulfatés en position 4 ou 6 ou non sulfaté (**128-130**), ainsi que les trisaccharides de transfert correspondant, possédant le premier motif des CS (**131-133**) ou des HS (**134-136**) (*Figure 32*).

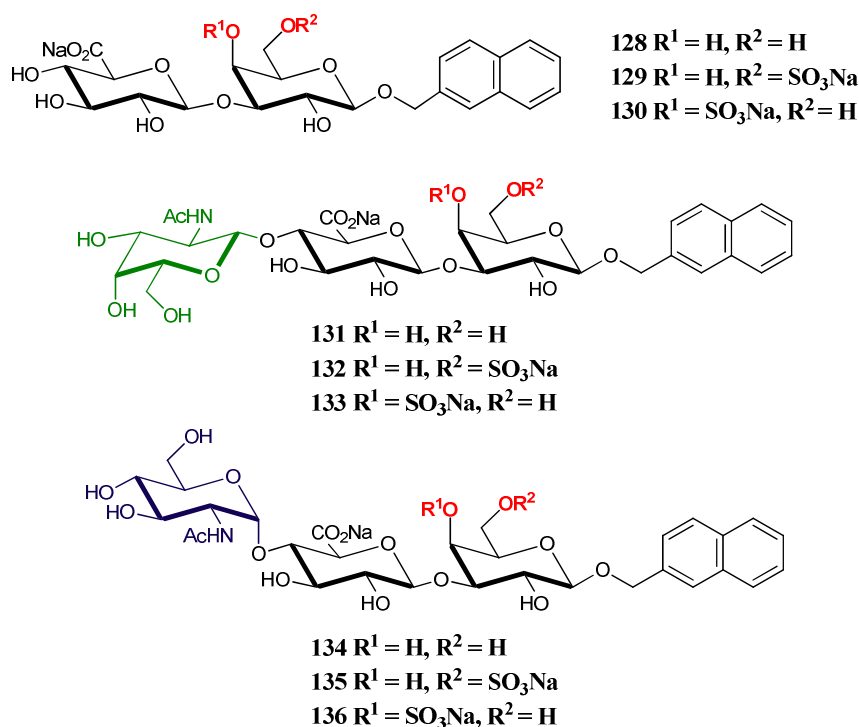


Figure 32 : Molécules finales obtenues

La synthèse de ces composés a nécessité la préparation de deux monosaccharides clés **82** et **138** ; la glycosylation entre ces composés a permis d'accéder au disaccharide intermédiaire **137**. A partir de ce dernier, les disaccharides finaux **128-130** ont pu être formés par des étapes de protection / déprotection et sulfatation, alors qu'une glycosylation avec les imidates **111** et **139** a conduit aux trisaccharides possédant les premières unités de CS et HS respectivement, qui permettent alors d'obtenir les trisaccharides finaux **131-136** (*Schéma 85*).

Les composés **134-136** représentent le premier exemple de composés synthétisés possédant à la fois le disaccharide sulfaté de la zone de liaison et la première unité des HS. Ces molécules ont nécessité une étude de la glycosylation entre ces deux entités afin d'obtenir la sélectivité 1,2-*cis* souhaitée.

Les différentes sulfatations ont été réalisées à partir de diols, soit en effectuant une sulfatation régiosélective de la position 6, réalisées en quelques heures avec peu d'équivalents d'agent de sulfatation, soit, pour la position 4, en benzoylant la position 6 afin de pouvoir ensuite sulfater la position 4, ce qui est réalisé en plusieurs jours avec un nombre important d'équivalents d'agent de sulfatation.

Ces différentes molécules ont été envoyées à nos partenaires biologistes à Nancy et devraient permettre d'étudier le mécanisme d'initiation des chaînes de CS et de HS, de voir si un motif disaccharidique est suffisant pour être substrat de la CS-GalNAcT-1 et de l'EXTL3 et également de comprendre le rôle des sulfatations sur ces enzymes de bifurcation.

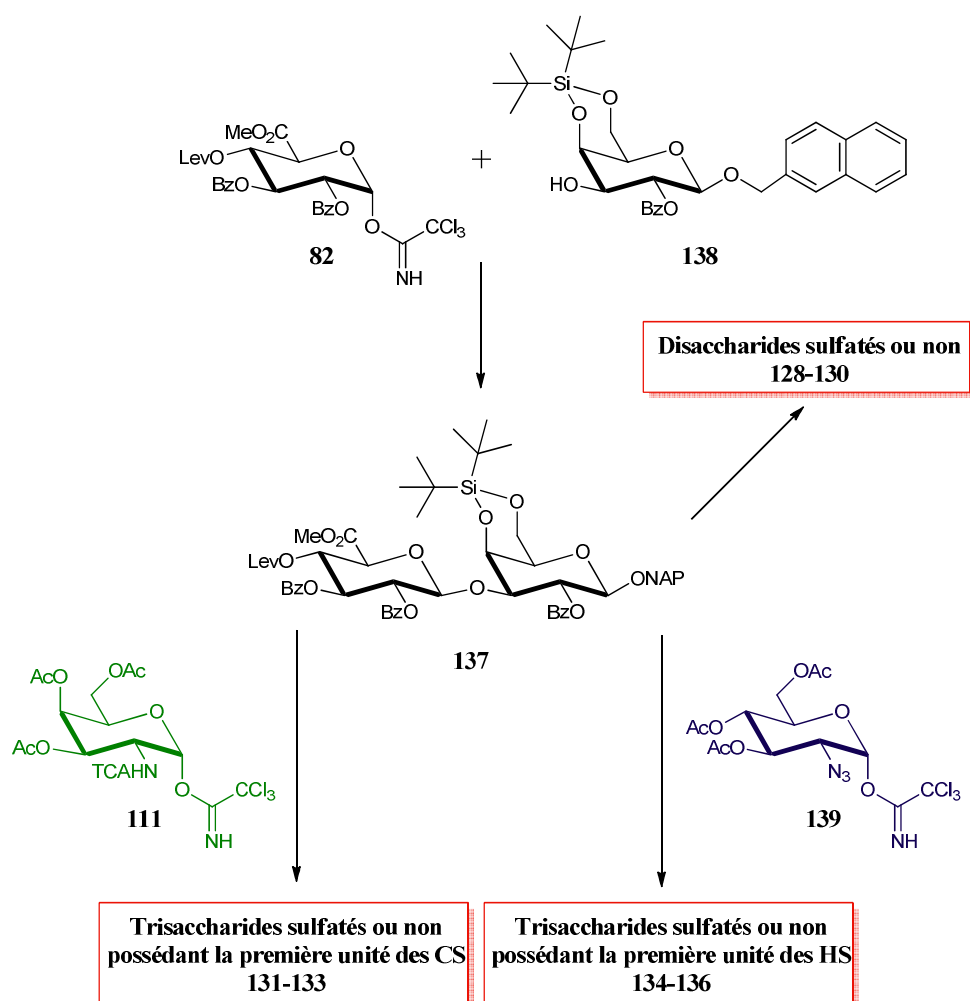


Schéma 85 : Synthèse globale des différents composés

Par ailleurs, les techniques de MW et de chimie en flux continu ont permis d'obtenir des monosaccharides sulfatés sélectivement sur la position 6, sulfatés en position 4 ou encore 4,6-disulfatés avec une réduction considérable du temps de réaction et du nombre d'équivalents d'agent de sulfatation utilisés, en conservant un bon rendement de réaction. La sulfatation de di- et trisaccharides a également été réalisée.



Chemical structures of three disaccharide derivatives:

- (a) $\text{NaO}_2\text{C}-\beta\text{-D-glucopyranosyl}-(1\rightarrow3)-\beta\text{-D-glucopyranoside}$. The structure shows a disaccharide core with substituents R^1O , OR^2 , R^3O , and OR^4 in red. The terminal group is ONAP . The substituent NaO_2C is highlighted in green.
- (b) $\text{AcHN}-\beta\text{-D-glucopyranosyl}-(1\rightarrow3)-\beta\text{-D-glucopyranoside}$. The structure shows a disaccharide core with substituents R^1O , OR^2 , R^3O , and OR^4 in red. The terminal group is ONAP . The substituent AcHN is highlighted in green.
- (c) $\text{AcHN}-\beta\text{-D-glucopyranosyl}-(1\rightarrow3)-\beta\text{-D-glucopyranoside}$. The structure shows a disaccharide core with substituents R^1O , OR^2 , R^3O , and OR^4 in red. The terminal group is ONAP . The substituent AcHN is highlighted in purple.

130

On pourrait également envisager la synthèse de tétrasaccharides possédant le motif disaccharidique de la zone de liaison D-Glc-D-Gal sulfatée ou non, ainsi que le motif disaccharidique répétitif des CS ou des HS pour voir l'influence des sulfates sur les enzymes d'élongation des chaînes de GAGs (Figure 34).

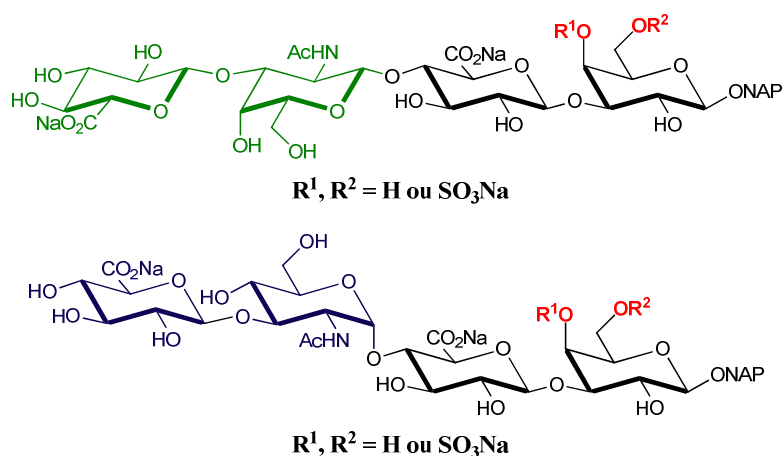


Figure 34 : Composés envisagés pour voir l'influence des sulfates sur les enzymes d'élongation

La synthèse des disaccharides fluorés reste à terminer et il serait souhaitable également de préparer les trisaccharides fluorés possédant dans un premier temps la première unité des CS.

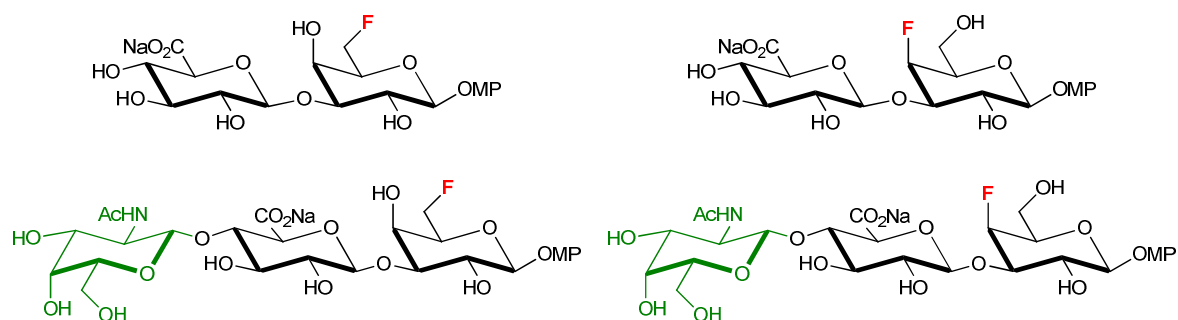


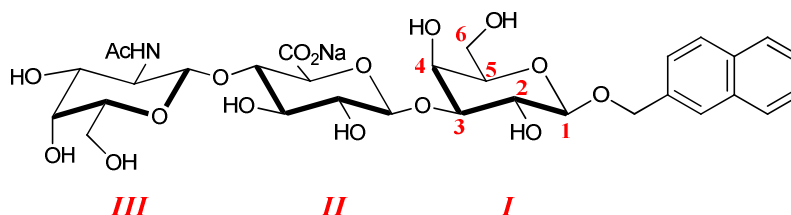
Figure 35 : Composés fluorés à synthétiser

La sulfatation au MW ou avec la chimie en flux continu de la position 4 des di- et trisaccharides mériterait une optimisation plus fine afin de trouver le bon équilibre entre le temps de réaction, le nombre d'équivalents d'agent de sulfatation et le rendement.

Pour l'étude sur les sulfatases, une augmentation de la quantité de produit de départ devrait permettre de purifier la réaction et de déterminer le rendement de celle-ci avec la sulfatase *Helix pomatia*. Il serait intéressant d'utiliser différents substrats 4,6-sulfatés afin de voir si la sélectivité est toujours identique avec cette enzyme, et de les tester également sur les deux autres sulfatases *Patella vulgata* et abalone. Tester de nouvelles sulfatases pourrait permettre d'obtenir des sélectivités différentes, pour, dans des conditions idéales, trouver une sulfatase permettant d'obtenir le composé 6-sulfaté et une autre pour obtenir le composé 4-sulfaté.

VIII- PARTIE EXPÉRIMENTALE

Numérotation des molécules



Chromatographie

Les CCM ont été réalisées sur des feuilles d'aluminium recouvertes de silice Merck 60F₂₅₄ (épaisseur 0,2 mm). Elles ont été révélées par pulvérisation d'un mélange éthanol-acide sulfurique 95-5 puis par chauffage au moyen d'un décapeur thermique.

Les colonnes chromatographiques sur gel de silice ont été réalisées avec de la silice E. Merck, 40-63 μm .

Spectrométrie

Les spectres de masse ont été obtenus à partir d'un spectromètre Micromass Quattro Ultima triple quadripôle opérant en mode positif ou négatif ou d'un spectromètre Perkin-Elmer SCIEX API 300 en mode positif, équipés d'une source d'ionisation par électrospray.

Les spectres de masse haute résolution ont été obtenus à partir d'un spectromètre de masse Brucker maxis par la plateforme de la « Fédération de Recherche ICOA/CBM FR2708 ».

Les spectres de RMN ^1H , ^{13}C et ^{19}F ont été enregistrés à 25°C au moyen de spectromètres Brucker DPX-250 ou Brucker Avance III HD NanoBay 400 MHz. Les déplacements chimiques sont mesurés en ppm par rapport :

- au Me_4Si en tant que standard interne pour les spectres effectués dans le CDCl_3
- à l'acétone en tant que standard interne pour les spectres effectués dans le D_2O
- au signal résiduel du MeOH, du DMSO pour les spectres effectués dans ces solvants.

Autres analyses physiques

Les pouvoirs rotatoires optiques ont été mesurés à 20°C avec un polarimètre Perkin-Elmer 341.

Les points de fusion ont été obtenus dans des tubes capillaires à l'aide d'un appareil Büchi.

Les analyses élémentaires sont réalisées par le service central de microanalyse du CNRS (Vernaison, France).

Appareil micro-ondes

L'appareil de micro-ondes est un système Biotage Initiator utilisant un niveau d'absorbance standart (puissance maximale de 300W). L'appareil fonctionne par consigne de température et la puissance est ajustée pour respecter cette consigne. Les températures sont mesurées avec une sonde infrarouge externe et les temps de réaction sont mesurés à partir du moment où la température atteint la consigne donnée dans le vial. La pression est mesurée par une sonde non –invasive dans la cavité. Les vials utilisés ont une capacité de 2-5 mL.

Appareil de flux continu

Les expériences de chimie en flux continu ont été menées sur un un appareil Uniqsis Flowsyn, comportant deux pompes HPLC, un mixeur de forme T, une vanne VPR 100 psi et un réacteur à tube de PFA (perfluoroalkoxy).

Divers

Pour simplifier la description des protocoles, les composés possédant un trichloroacétimide seront nommés « imidate ».

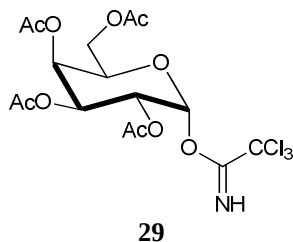
Organisation de la partie expérimentale

Les molécules sont classées par ordre numérique croissant, correspondant à leur apparition dans le manuscrit.

Les différents composés sont dénommés selon la nomenclature anglo-saxonne francisée.

Les déplacements chimiques des spectres RMN ^{13}C sont volontairement arrondis à 2 chiffres après la virgule pour éviter une perte d'information sur le nombre de carbones vus sur le spectre.

2,3,4,6-tétra-O-acétyl-1-O-trichloroacétimidoyl- α -D-galactopyranose
(C₁₆H₂₀Cl₃NO₁₀, M = 492,69 g.mol⁻¹)

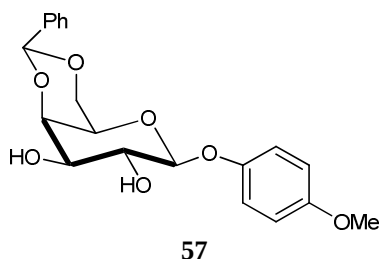


Une solution de 1,2,3,4,6-penta-O-acétyl- β -D-galactopyranose (20 g, 51,2 mmol, 1 éq.) et d'acétate d'hydrazine (7,08 g, 76,8 mmol, 1,5 éq.) dans le DMF est agitée à température ambiante pendant 45 min. Le mélange réactionnel est ensuite versé dans l'eau glacé et agité pendant 15 min. La phase aqueuse est extraite avec de l'AcOEt (3 x 200 mL). Les phases organiques sont lavées avec une solution saturée de NaCl (4 x 150 mL), de l'eau (2 x 150 mL) puis séchées sur MgSO₄ et concentrées pour donner l'hémiacétal correspondant sous forme d'une huile jaune-marron (16,1 g, 90%).

Celui-ci (16,1 g, 46,2 mmol, 1 éq.) est dissous dans 140 mL de CH₂Cl₂ anhydre à température ambiante sous argon. Après dissolution, le trichloroacétonitrile (46 mL, 462 mmol, 10 éq.) et la DBU (1,4 mL, 9,24 mmol, 0,2 éq.) sont ajoutés. La réaction est suivie par CCM (EP / AcOEt 3 / 2) et est terminée après 1h10. Le milieu est concentré et directement purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (EP / AcOEt 3 / 2 + 0,1 % Et₃N). L'imidate **29** est obtenu sous la forme d'un solide jaunâtre (18,3 g, 81%).

¹H RMN (250 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 8,67 (s, 1H ; NH), 6,61 (d, $J_{1,2}$ = 3,0 Hz, 1H ; H-1), 5,57-5,55 (m, 1H ; H-4), 5,46-5,30 (m, 2H ; H-2, H-3), 4,45-4,41 (m, 1H ; H-5), 4,16-4,07 (m, 2H ; H-6a,b), 2,17, 2,03, 2,02, 2,01 (4s, 12H ; OC(O)CH₃)

4-méthoxyphényl 4,6-O-benzylidène- β -D-galactopyranoside
(C₂₀H₂₂O₇, M = 374,38 g.mol⁻¹)



Dans un ballon de 1 litre, le produit **186** (35,7 g, 78,6 mmol, 1 éq) est introduit avec 300 mL de MeOH et une solution de méthanolate de sodium (1M) est ajoutée jusqu'à pH =12. Le mélange réactionnel est agité à température ambiante et sous argon pendant 4 heures. Puis une neutralisation est réalisée avec la résine Amberlite IR-120 dans le MeOH jusqu'à un pH neutre. La résine est filtrée, rincée avec du MeOH et le filtrat est concentré sous pression

réduite et séché sur P₂O₅ pendant une nuit. Le produit est obtenu sous forme d'un solide blanc (23 g, 99%).

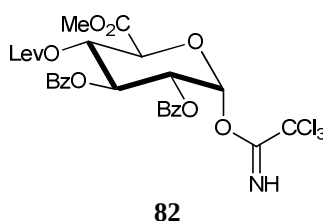
Dans un ballon de 500 mL, le tétrol correspondant (10 g, 34,9 mmol, 1 éq) est introduit avec 200 mL de MeCN, du diméthoxytoluène (8,2 mL, 55,9 mmol, 1,6 éq) et 100 mg de CSA. Le mélange réactionnel est agité pendant 1 heure à température ambiante. Le mélange est ensuite refroidi à 0°C et de la triéthylamine (1 mL) est ajoutée. Le mélange est ensuite concentré sous pression réduite, filtré sur Büchner et lavé à l'éther. Le produit **57** est obtenu sous forme d'un solide blanc (9,7 g, 74%).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 7,52-7,33 (m, 5H ; Ar-H), 7,13-6,76 (m, 4H ; Ar-H), 5,61 (s, 1H ; Ph-CH), 4,79 (d, *J*_{1,2} = 8,0 Hz, 1H ; H-1), 4,44-4,28 (m, 2H ; H-6a,b), 4,15-3,95 (m, 4H ; H-2, H-3, H-4, H-5), 3,78 (s, 3H ; OCH₃)

La RMN est conforme à celle de la littérature.⁸⁷

méthyl (2,3-di-O-benzoyl-4-O-levulinoyl-1-O-trichloroacétimidoyl-α-D-glucopyranosyl)uronate

(C₂₈H₂₆Cl₃NO₁₁, M = 658,87 g.mol⁻¹)



Le composé **145** (5,6 g, 9,02 mmol, 1 éq.) est dissous dans un mélange toluène / acétonitrile / eau 1 / 2 / 1 (300 mL). Après dissolution, le CAN (24,7 g, 45,1 mmol, 5 éq.) est ajouté. Le mélange est laissé sous forte agitation et la réaction est suivie par CCM (EP / AcOEt 1 / 1). Après 1h, le milieu est décanté avec de l'eau glacée. La phase aqueuse est extraite de l'AcOEt (3 x 200 mL). Les phases organiques sont lavées avec une solution de NaCl saturée puis avec de l'eau, séchées sur MgSO₄ et concentrées sous vide. Une huile orange est obtenue. Celle-ci est purifiée par chromatographie sur colonne de gel de silice (EP / AcOEt 1 / 1 puis EP / AcOEt 1 / 5). L'hémiacétal est obtenu sous la forme d'une huile orange très visqueuse (4,3 g, 93%).

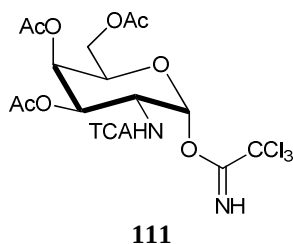
Cet hémiacétal (8,15 g, 15,8 mmol, 1 éq.) est dissous dans 100 mL de CH₂Cl₂ anhydre à température ambiante et sous argon. Après dissolution, le trichloroacétonitrile (15,9 mL, 158 mmol, 10 éq.) et la DBU (0,47 mL, 3,16 mmol, 0,2 éq.) sont ajoutés. La réaction, suivie par CCM (EP / AcOEt 2 / 1), est terminée après 1h30. Le milieu est concentré et directement purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (EP / AcOEt 2 / 1 + 0,1% Et₃N). L'imide **82** est obtenu sous l'apparence d'une mousse jaunâtre (8,5 g, 82%).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 8,66 (s, 1H ; NH), 7,95-7,35 (m, 10H ; Ar-H (Bz)), 6,85 (d, *J*_{1,2} = 3,5 Hz, 1H ; H-1), 6,10 (dd, *J*_{2,3} = *J*_{3,4} = 10,0 Hz, 1H ; H-3), 5,56-5,52 (m, 2H ;

H-2, H-4), 4,64 (d, $J_{4,5} = 10,0$ Hz, 1H ; H-5), 3,79 (s, 3H ; OCH_3), 2,63-2,40 (m, 4H ; $\text{CH}_2\text{C}(\text{O})$ (*Lev*)), 2,04 (s, 3H ; $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ (*Lev*))

La RMN est conforme à celle de la littérature.⁶⁷

3,4,6-tri-O-acétyl-2-désoxy-2-trichloroacétamido-1-O-trichloroacétimidoyl- α -D-galactopyranose
($\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{Cl}_6\text{N}_2\text{O}_9$, $M = 595,04 \text{ g.mol}^{-1}$)



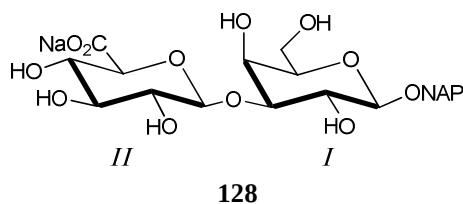
Une solution de l'hémiacétal **158** (605 mg, 1,34 mmol, 1 éq.) dans du CH_2Cl_2 anhydre (5 mL) est agitée à température ambiante et sous argon. Après dissolution, le trichloroacétonitrile (1,34 mL, 13,4 mmol, 10 éq.) et la DBU (40 μL , 0,268 mmol, 0,2 éq.) sont ajoutés. La réaction est suivie par CCM (EP / EtOAc 2 / 1) et terminée après 1h30. Le milieu est concentré et directement purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (EP / AcOEt 2 / 1 + 0,1% Et_3N). L'imide **111** est obtenu sous l'apparence d'une mousse jaunâtre (714 mg, 89%).

^1H RMN (250 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 8,83 (s, 1H ; NH (*imide*)), 6,83 (d, $J_{\text{NH},2} = 9,0$ Hz, 1H ; NH (*NHTCA*)), 6,52 (d, $J_{1,2} = 3,5$ Hz, 1H ; H-1), 5,53 (dd, $J_{3,4} = 3,0$ Hz, $J_{4,5} < 1,0$ Hz, 1H ; H-4), 5,41 (dd, $J_{2,3} = 11,0$ Hz, $J_{3,4} = 3,0$ Hz, 1H ; H-3), 4,72 (ddd, $J_{1,2} = 3,5$ Hz, $J_{2,3} = 11,0$ Hz, $J_{\text{NH},2} = 9$ Hz, 1H ; H-2), 4,42-4,39 (m, 1H ; H-5), 4,24-4,05 (m, 2H ; H-6a,b), 2,21, 2,04, 2,02 (3s, 9H ; 3 x $\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$)

La RMN est conforme à celle de la littérature.¹¹⁵

¹¹⁵ Bartek, J., Müller, R., Kosma, P., *Carbohydr. Res.*, **1998**, 308, 259-273

2-naphtylméthyl O-(sodium β -D-glucopyranosyluronate)-(1 $\rightarrow$ 3)- β -D-galactopyranoside
(C₂₃H₂₇NaO₁₂, M = 518,45 g.mol⁻¹)



Une solution de disaccharide **153** (51 mg, 0,063 mmol, 1 éq.) dans un mélange THF / H₂O (3 / 1, 2 mL) est traitée à -10°C par une solution de LiOOH fraîchement préparée en ajoutant 155 μ L de H₂O₂ sur du LiOH 1M (313 μ L, 0,313 mmol, 5 éq.) à 0°C. Le mélange est agité 8h à température ambiante puis refroidi à 0°C et une solution de NaOH 4M (470 μ L, 1,87 mmol, 40 éq.) est ajoutée. Le milieu est agité toute une nuit à température ambiante puis de la résine amberlite IR-120 [H⁺] est ajoutée jusqu'à un pH de 3,5 (suivi avec un pH-mètre). Le produit est ensuite filtré, concentré et séché. Il est alors lavé avec de l'éther diéthylique. Le résidu est ensuite dissous dans l'eau et une solution de NaOH 1M est ajoutée jusqu'à obtenir un pH de 8,5. Le milieu est agité 5 min et mis au frais une nuit. Le milieu est ensuite concentré et le produit est purifié par colonne d'exclusion stérique Sephadex LH-20 dans l'eau pour donner le disaccharide sulfaté **128** déprotégé sous la forme d'un solide cotonneux rosâtre après lyophilisation (24 mg, 74 %).

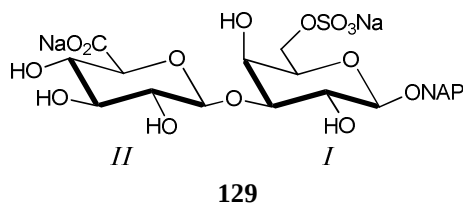
$$[\alpha]_D^{20} = -22,5 \text{ (} c = 1,00, \text{H}_2\text{O)}$$

HRMS : m/z : calculée pour C₂₃H₂₈NaO₁₂ [M+H]⁺ : 519,147297 ; mesurée : 519,147226

¹H RMN (400 MHz, D₂O) : δ (ppm) 7,84-7,76 (m, 4H ; Ar-H), 7,48-7,38 (m, 3H ; Ar-H), 4,90 (ABq, 2H ; Ar-CH₂ (NAP)), 4,46 (d, $J_{1,2} = 8,0$ Hz, 1H ; H-1^{II}), 4,37 (d, $J_{1,2} = 7,5$ Hz, 1H ; H-1^I), 3,99 (s, 1H ; H-4^I), 3,65-3,44 (m, 6H ; H-2^I, H-3^I, H-5^I, H-6^Ia,b, H-4^{II}), 3,35-3,34 (m, 1H ; H-5^{II}), 3,33-3,32 (m, 1H ; H-3^{II}), 3,23 (dd, $J_{1,2} = J_{2,3} = 7,5$ Hz, 1H ; H-2^{II}).

¹³C RMN (100 MHz, D₂O) : δ (ppm) 176,57 (1C ; C-6^{II}), 134,99, 133,55, 133,50, 131,86, 129,42, 128,98, 128,93, 128,62, 128,36, 128,25 (10C ; Ar-C), 104,28 (1C ; C-1^{II}), 102,02 (1C ; C-1^I), 83,39 (1C ; C-3^I), 76,83, 75,96, 75,59, 70,52 (4C ; C-2^I, C-5^I, C-4^{II}, C-5^{II}), 73,80 (1C ; C-2^{II}), 72,43 (1C ; C-3^{II}), 71,98 (1C ; Ar-CH₂ (NAP)), 68,80 (1C ; C-4^I), 61,64 (1C ; C-6^I).

2-naphtylméthyl O-(sodium β -D-glucopyranosyluronate)-(1 $\rightarrow$ 3)-sodium 6-O-sulfonato- β -D-galactopyranoside
(C₂₃H₂₆Na₂O₁₅S, M = 620,49 g.mol⁻¹)



Une solution de disaccharide **154** (52 mg, 0,049 mmol, 1 éq.) dans un mélange THF / H₂O (3 / 1, 2 mL) est traitée à -10°C par une solution de LiOOH fraîchement préparée en ajoutant 123 μ L de H₂O₂ sur du LiOH 1M (245 μ L, 0,245 mmol, 5 éq.) à 0°C. Le mélange est agité 8h à température ambiante puis refroidi à 0°C et une solution de NaOH 4M (0,61 mL, 2,45 mmol, 50 éq.) est ajoutée. Le milieu est agité toute une nuit à température ambiante puis de la résine amberlite IR-120 [H⁺] est ajoutée jusqu'à un pH de 2 (suivi avec un pH-mètre). Le produit est ensuite filtré, concentré et séché. Il est alors lavé avec de l'éther diéthylique. Le résidu est ensuite dissous dans l'eau et une solution de NaOH 1M est ajoutée jusqu'à obtenir un pH de 9. Le milieu est agité 5 min et mis au frais une nuit. Le milieu est ensuite concentré et le produit est purifié par colonne d'exclusion stérique Sephadex LH-20 dans l'eau pour donner le disaccharide sulfaté **129** déprotégé sous la forme d'un solide cotonneux rosâtre après lyophilisation (12 mg, 40 %).

Rf : 0,65 (CH₂Cl₂ / MeOH / H₂O 4 / 3 / 1)

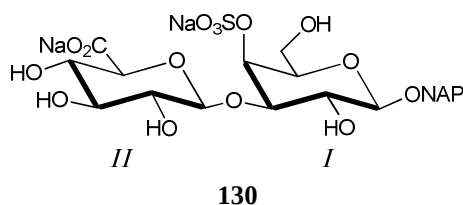
[α]_D²⁰ = - 15,3 (*c* = 1,00, H₂O)

HRMS : *m/z* : calculée pour C₂₃H₂₇O₁₅S [M+H-2Na]⁺ : 575,107615 ; mesurée : 575,109299

¹H RMN (400 MHz, D₂O) : δ (ppm) 8,03-8,00 (m, 4H ; Ar-H), 7,66-7,61 (m, 3H ; Ar-H), 5,05 (ABq, 2H ; Ar-CH₂(NAP)), 4,66 (d, *J*_{1,2} = 7,5 Hz, 1H ; H-1^{II}), 4,54-4,53 (m, 1H ; H-1^I), 4,26-4,25 (m, 3H ; H-6^I_{a,b}, H-5^{II}), 3,93-3,91 (m, 1H ; H-5^I), 3,78-3,72 (m, 3H ; H-2^I, H-3^I, H-4^{II}), 3,54-3,52 (m, 2H ; H-4^I, H-3^{II}), 3,45-3,43 (m, 1H ; H-2^{II})

¹³C RMN (100 MHz, D₂O) : δ (ppm) 175,88, 171,01, 134,08, 132,90, 132,86, 128,32, 128,03, 127,94, 127,68, 126,76, 126,57 (11C ; C-6^{II}, Ar-C), 103,62 (1C ; C-1^{II}), 100,94 (1C ; C-1^I), 82,49 (1C ; C-3^I), 76,12 (1C ; C-4^{II}), 75,28, 71,77 (2C ; C-4^I, C-3^{II}), 73,14 (1C ; C-2^{II}), 72,71 (1C ; C-5^I), 71,25 (1C ; Ar-CH₂(NAP)), 69,79 (1C ; C-2^I), 68,05 (1C ; C-5^{II}), 67,68 (1C ; C-6^I)

2-naphtylméthyl O-(sodium β -D-glucopyranosyluronate)-(1 $\rightarrow$ 3)-sodium 4-O-sulfonato- β -D-galactopyranoside
(C₂₃H₂₆Na₂O₁₅S, M = 620,49 g.mol⁻¹)



Une solution de **155** (77 mg, 0,068 mmol, 1 éq.) dans un mélange THF / H₂O (3 / 1, 2 mL) est traitée à -10°C par une solution de LiOOH fraîchement préparée en ajoutant 171 μ L de H₂O₂ sur du LiOH 1M (343 μ L, 0,343 mmol, 5 éq.) à 0°C. Le mélange est agité 8h à température ambiante puis refroidi à 0°C et une solution de NaOH 4M (0,86 mL, 3,45 mmol, 50 éq.) est ajoutée. Le milieu est agité toute une nuit à température ambiante puis de la résine amberlite IR-120 [H⁺] est ajoutée jusqu'à un pH de 2 (suivi avec un pH-mètre). Le produit est ensuite filtré, concentré et séché. Il est alors lavé avec de l'éther diéthylique. Le produit est ensuite dissous dans l'eau et une solution de NaOH 1M est ajoutée jusqu'à obtenir un pH de 9. Le milieu est agité 5 min et mis au frais une nuit. Le milieu est ensuite concentré et le produit est purifié par colonne d'exclusion stérique Sephadex LH-20 avec de l'eau pour donner le disaccharide sulfaté **130** déprotégé sous la forme d'un solide cotonneux rosâtre après lyophilisation (30 mg, 71%)

Rf : 0,83 (CH₂Cl₂ / MeOH / H₂O 4 / 3 / 1)

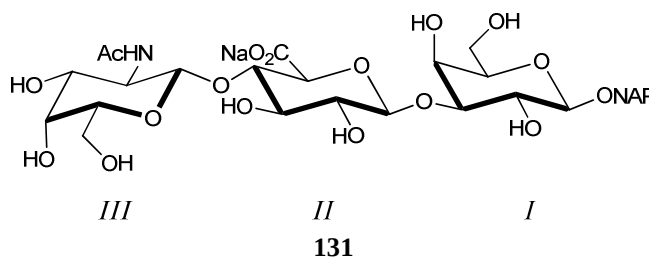
[α]_D²⁰ = - 21,4 (*c* = 1,00, H₂O)

HRMS : *m/z* : calculée pour C₂₃H₂₇O₁₅S [M+H-2Na]⁺ : 575,107615 ; trouvée : 575,107921

¹H RMN (400 MHz, D₂O) : δ (ppm) 7,97-7,58 (m, 7H ; Ar-*H*), 4,98 (ABq, 2H ; Ar-CH₂ (NAP)), 4,79 (dd, *J*_{3,4} = 3,5 Hz, *J*_{4,5} < 1,0 Hz, 1H ; H-4^I), 4,76 (d, *J*_{1,2} = 8,0 Hz, 1H ; H-1^{II}), 4,51 (d, *J*_{1,2} = 7,0 Hz, 1H ; H-1^I), 3,94 (dd, *J*_{2,3} = 10,0 Hz, *J*_{3,4} = 3,5 Hz, 1H ; H-3^I), 3,81-3,70 (m, 5H ; H-2^I, H-5^I, H-6^I_{a,b}, H-5^{II}), 3,60-3,53 (m, 2H ; H-3^{II}, H-4^{II}), 3,44 (dd, *J*_{1,2} = *J*_{2,3} = 8,0 Hz, 1H ; H-2^{II})

¹³C RMN (100 MHz, D₂O) : δ (ppm) 176,28 (1C ; C-6^{II}), 134,64, 133,27, 133,21 (3C ; Ar-C), 128,69, 128,35, 128,08, 127,88, 126,96, 126,86 (7C ; Ar-C), 103,28 (1C ; C-1^{II}), 101,90 (1C ; C-1^I), 77,51 (1C ; C-3^I), 77,43 (1C ; C-4^I), 76,57, 74,85, 71,12 (1C ; C-2^I, C-5^I, C-5^{II}), 75,74 (1C ; C-3^{II}), 73,50 (1C ; C-2^{II}), 72,25 (1C ; C-4^{II}), 71,84 (1C ; Ar-CH₂ (NAP)), 61,30 (1C ; C-6^I)

2-naphtylméthyl O-(2-acétamido-2-désoxy-β-D-galactopyranosyl)-(1→4)-O-(sodium β-D-glucopyranosyluronate)-(1→3)-β-D-galactopyranoside
(C₃₁H₄₀NNaO₁₇, M = 721,64 g.mol⁻¹)



Une solution du diol **159** (101 mg, 0,088 mmol, 1 éq.) dans un mélange THF / H₂O (3 / 1, 2 mL) est traitée à -10°C par une solution de LiOOH fraîchement préparée en ajoutant 220 µL de H₂O₂ sur du LiOH 1M (440 µL, 0,440 mmol, 5 éq.) à 0°C. Le mélange est agité 8h à température ambiante puis refroidi à 0°C et une solution de NaOH 4M (1,32 mL, 5,28 mmol, 60 éq.) est ajoutée. Le milieu est agité toute une nuit à température ambiante puis de la résine amberlite IR-120 [H⁺] est ajoutée jusqu'à un pH de 3,5 (suivi avec un pH-mètre). Le produit est ensuite filtré, concentré et séché. Le résidu est alors lavé avec de l'éther diéthylique. Le produit est ensuite dissous dans l'eau et une solution de NaOH 1M est ajoutée jusqu'à obtenir un pH de 8,5. Le milieu est agité 5 min et mis au frais une nuit. Le milieu est ensuite concentré et le produit est purifié par colonne d'exclusion stérique Sephadex LH-20 dans l'eau pour donner le trisaccharide sulfaté **131** déprotégé sous la forme d'une poudre blanche après lyophilisation (52 mg, 83 %).

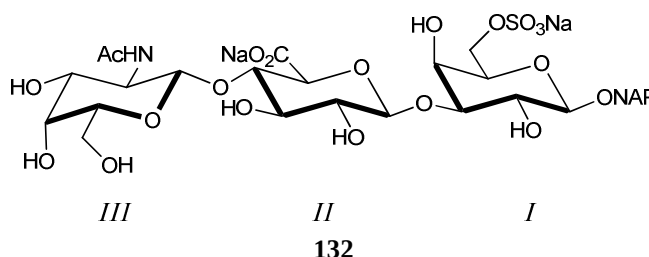
$$[\alpha]_D^{20} = + 7,0 \text{ (} c = 1,00, \text{H}_2\text{O)}$$

HRMS : *m/z* : calculée pour C₃₁H₄₁NNaO₁₇ [M+H]⁺ : 722,226670 ; trouvée : 722,226309

¹H RMN (400 MHz, D₂O) : δ (ppm) 7,93-7,88 (m, 3H ; Ar-*H*), 7,58-7,47 (m, 4H ; Ar-*H*), 4,96 (ABq, 2H ; Ar-CH₂ (NAP)), 4,61 (d, *J*_{1,2} = 8,0 Hz, 1H ; H-1^{II}), 4,50 (d, *J*_{1,2} = 8,5 Hz, 1H ; H-1^{III}), 4,45 (d, *J*_{1,2} = 8,0 Hz, 1H ; H-1^I), 4,11-4,10 (m, 1H ; H-2^{III}), 3,97-3,49 (m, 14H, H-2^I, H-3^I, H-4^I, H-5^I, H-6^I_{a,b}, H-3^{II}, H-4^{II}, H-5^{II}, H-3^{III}, H-4^{III}, H-5^{III}, H-6^{III}_{a,b}), 3,47 (dd, *J*_{1,2} = 8,0 Hz, *J*_{2,3} = 9,5 Hz, 1H ; H-2^{II}), 2,08 (s, 3H ; NHC(O)CH₃)

¹³C NMR (100 MHz, D₂O) : δ (ppm) 174,65, 174,21 (2C, C-6^{II}, C=O), 135,86, 133,87, 132,47, 132,41, 127,56, 127,30, 127,12, 126,19, 126,16, 126,10 (10C, Ar-C), 103,40 (1C, C-1^{II}), 100,89 (1C, C-1^I), 100,57 (1C, C-1^{III}), 67,75 (1C, C-2^{III}), 82,47, 79,15, 76,01, 74,86, 74,40, 73,26, 70,72, 69,35, 67,40, 60,67, 60,51, 51,96 (12C, C-2^I, C-3^I, C-4^I, C-5^I, C-6^I, C-3^{II}, C-4^{II}, C-5^{II}, C-3^{III}, C-4^{III}, C-5^{III}, C-6^{III}), 72,54 (1C, C-2^{II}), 70,83 (1C, Ar-CH₂ (NAP)), 22,12 (1C, NHC(O)CH₃)

2-naphtylméthyl O-(2-acétamido-2-désoxy-β-D-galactopyranosyl)-(1→4)-O-(sodium β-D-glucopyranosyluronate)-(1→3)-sodium 6-O-sulfonato-β-D-galactopyranoside
(C₃₁H₃₉NNa₂O₂₀S, M = 823,68 g.mol⁻¹)



Une solution de trisaccharide **163** (59 mg, 0,046 mmol, 1 éq.) dans un mélange THF / H₂O (3 / 1, 2 mL) est traitée à -10°C par une solution de LiOOH fraîchement préparée en ajoutant 114 µL de H₂O₂ sur du LiOH 1M (229 µL, 0,229 mmol, 5 éq.) à 0°C. Le mélange est agité 8h à température ambiante puis refroidi à 0°C et une solution de NaOH 4M (0,8 mL, 3,22 mmol, 70 éq.) est ajoutée. Le milieu est agité toute une nuit à température ambiante puis de la résine amberlite IR-120 [H⁺] est ajoutée jusqu'à un pH de 2 (suivi avec un pH-mètre). Le produit est ensuite filtré, concentré et séché. Le résidu est alors lavé avec de l'éther diéthylique. Le produit est ensuite dissous dans l'eau et une solution de NaOH 1M est ajoutée jusqu'à obtenir un pH de 9. Le milieu est agité 5 min et mis au frais une nuit. Le milieu est ensuite concentré et le produit est purifié par colonne d'exclusion stérique Sephadex LH-20 dans l'eau pour donner le trisaccharide sulfaté **132** déprotégé sous la forme d'une poudre blanche après lyophilisation (31 mg, 83 %).

Rf : 0,93 (CH₂Cl₂ / MeOH / H₂O 4 / 3 / 1)

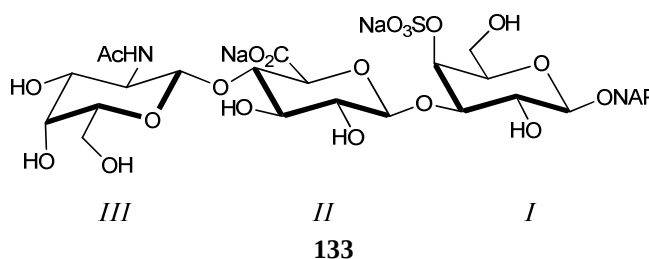
[α]_D²⁰ = - 10,0 (c = 1,00, H₂O)

HRMS : m/z : calculée pour C₃₁H₄₂NO₂₀S [M+3H-2Na]⁺ : 780,201540 ; trouvée : 780,201940

¹H NMR (400 MHz, D₂O) : δ (ppm) 7,97-7,47 (m, 7H ; Ar-H), 4,96 (ABq, 2H ; Ar-CH₂ (NAP)), 4,62 (d, J_{1,2} = 7,5 Hz, 1H ; H-1^{II}), 4,50 (d, J_{1,2} = 8,5 Hz, 1H ; H-1^I), 4,41 (d, J_{1,2} = 8,0 Hz, 1H ; H-1^{III}), 4,23-4,22 (m, 1H ; H-6^{Ia}), 4,21-4,20 (m, 1H ; H-6^{Ib}), 4,13 (dd, J_{3,4} = 4,0 Hz, J_{4,5} < 1,0 Hz, 1H ; H-4^I), 3,94-3,61 (m, 12H ; H-2^I, H-3^I, H-5^I, H-3^{II}, H-4^{II}, H-5^{II}, H-2^{III}, H-3^{III}, H-4^{III}, H-5^{III}, H-6^{IIIa,b}), 3,47-3,43 (m, 1H ; H-2^{II}), 1,94 (s, 3H ; NHC(O)CH₃)

¹³C NMR (100 MHz, D₂O) : δ (ppm) 175,71, 175,26 (2C ; C-6^{II}, C=O), 134,68, 13,54, 133,50 (3C ; Ar-C), 131,87, 129,43, 128,98, 128,69, 128,49, 128,35, 127,25 (7C ; Ar-C), 104,45 (1C ; C-1^{II}), 101,58, 101,51 (2C ; C-1^I, C-1^{III}), 83,23 (1C ; C-3^I), 80,15 (1C ; C-4^{II}), 77,05, 75,90, 74,52, 73,22, 71,77, 70,30, 68,45 (7C ; C-2^I, C-5^I, C-3^{II}, C-5^{II}, C-3^{III}, C-4^{III}, C-5^{III}), 73,59 (1C ; C-2^{II}), 71,80 (1C ; Ar-CH₂ (NAP)), 68,72 (1C ; C-4^I), 68,20 (1C ; C-6^I), 61,70 (1C ; C-6^{III}), 52,99 (1C ; C-2^{III}), 23,16 (1C ; NHC(O)CH₃)

2-naphtylméthyl O-(2-acétamido-2-désoxy-β-D-galactopyranosyl)-(1→4)-O-(sodium β-D-glucopyranosyluronate)-(1→3)-sodium 4-O-sulfonato-β-D-galactopyranoside
(C₃₁H₃₉NNa₂O₂₀S, M = 823,68 g.mol⁻¹)



Une solution de trisaccharide **165** (36 mg, 0,026 mmol, 1 éq.) dans un mélange THF / H₂O (3 / 1, 2 mL) est traitée à -10°C par une solution de LiOOH fraîchement préparée en ajoutant 66 µL de H₂O₂ sur du LiOH 1M (133 µL, 0,133 mmol, 5 éq.) à 0°C. Le mélange est agité 8h à température ambiante puis refroidi à 0°C et une solution de NaOH 4M (0,46 mL, 1,85 mmol, 70 éq.) est ajoutée. Le milieu est agité toute une nuit à température ambiante puis de la résine amberlite IR-120 [H⁺] est ajoutée jusqu'à un pH de 2 (suivi avec un pH-mètre). Le produit est ensuite filtré, rincé à l'eau, concentré et séché toute une nuit. Le résidu est alors lavé avec de l'éther diéthylique. Le produit est ensuite dissous dans l'eau et une solution de NaOH 1M est ajoutée jusqu'à obtenir un pH de 9. Le milieu est agité 5 min et mis au frais une nuit. Le milieu est ensuite concentré et le produit est purifié par colonne d'exclusion stérique Sephadex LH-20 avec de l'eau pour donner le trisaccharide sulfaté **133** déprotégé sous la forme d'un solide cotonneux blanchâtre après lyophilisation (14 mg, 64%).

Rf : 0,90 (CH₂Cl₂ / MeOH / H₂O 4 / 3 / 1)

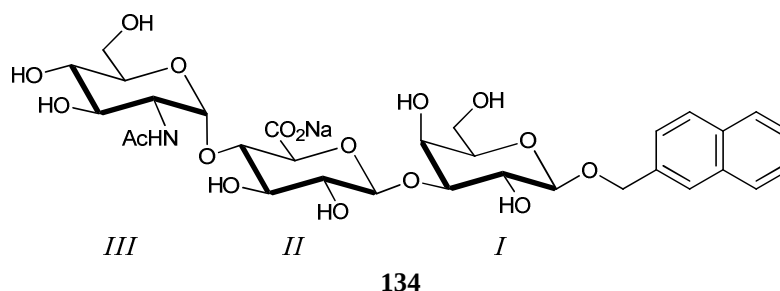
[α]_D²⁰ = - 17,4 (c = 1,00, H₂O)

HRMS : m/z : calculée pour C₃₁H₄₀NO₂₀S [M+H-2Na]⁺ : 778,186987 ; trouvée : 778,188157

¹H NMR (400 MHz, D₂O) : δ (ppm) 8,01-7,50 (m, 7H ; Ar-H), 5,03 (ABq, 2H ; Ar-CH₂ (NAP)), 4,76-4,73 (m, 2H ; H-4^I, H-1^{II}), 4,58 (d, J_{1,2} = 8,0 Hz, 1H ; H-1^I), 4,51 (d, J_{1,2} = 8,5 Hz, 1H ; H-1^{III}), 3,94-3,69 (m, 13H ; H-2^I, H-3^I, H-5^I, H-6^I_{a,b}, H-2^{II}, H-3^{II}, H-4^{II}, H-5^{II}, H-4^{III}, H-5^{III}, H-6^{III}_{a,b}), 3,64-3,60 (m, 1H ; H-3^{III}), 3,48-3,44 (m, 1H ; H-2^{III}), 2,25 (s, 3H ; NHC(O)CH₃)

¹³C NMR (100 MHz, D₂O) : δ (ppm) 175,57, 175,13 (2C ; C-6^{II}, C=O), 134,79, 133,42, 131,74, 129,30, 128,85, 128,51, 128,23, 128,10, 127,12, 127,07 (10C ; Ar-C), 103,80 (1C ; C-1^{II}), 102,03 (1C ; C-1^I), 101,61 (1C ; C-1^{III}), 80,39, 77,94 (2C ; C-3^I, C-4^{II}), 77,75, 77,14, 75,73, 75,03, 74,27, 73,44, 71,67, 71,08, 68,32 (9C ; C-2^I, C-4^I, C-5^I, C-2^{II}, C-3^{II}, C-5^{II}, C-3^{III}, C-4^{III}, C-5^{III}), 72,07, 61,53 (3C ; Ar-CH₂ (NAP), C-6^I, C-6^{III}), 52,84 (1C ; C-2^{III}), 30,76 (1C ; NHC(O)CH₃)

2-naphtylméthyl O-(2-acétamido-2-désoxy- α -D-glucopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(sodium β -D-glucopyranosyluronate)-(1 $\rightarrow$ 3)- β -D-galactopyranoside
(C₃₁H₄₀NNaO₁₇, M = 721,64 g.mol⁻¹)



Une solution de trisaccharide **167** (17 mg, 0,014 mmol, 1 éq.) dans un mélange THF / H₂O (3 / 1, 2 mL) est traitée à -10°C par une solution de LiOOH fraîchement préparée en ajoutant 36 μ L de H₂O₂ sur du LiOH 1M (73 μ L, 0,073 mmol, 5 éq.) à 0°C. Le mélange est agité 8h à température ambiante puis refroidi à 0°C et une solution de NaOH 4M (0,22 mL, 0,875 mmol, 60 éq.) est ajoutée. Le milieu est agité toute une nuit à température ambiante puis de la résine amberlite IR-120 [H⁺] est ajoutée jusqu'à un pH de 3,5 (suivi avec un pH-mètre). Le produit est ensuite filtré, concentré et séché. Il est alors lavé avec de l'éther diéthylique puis à l'EtOH. Le résidu est ensuite dissous dans l'eau et une solution de NaOH 1M est ajoutée jusqu'à obtenir un pH de 9. Le milieu est agité 5 min et mis au frais une nuit. Le milieu est ensuite concentré et le produit est purifié par colonne d'exclusion stérique Sephadex LH-20 dans l'eau pour donner le trisaccharide sulfaté **134** déprotégé sous la forme d'un film blanchâtre (5 mg, 48%).

Rf : 0,21 (AcOEt / MeOH / H₂O 6 / 2 / 1)

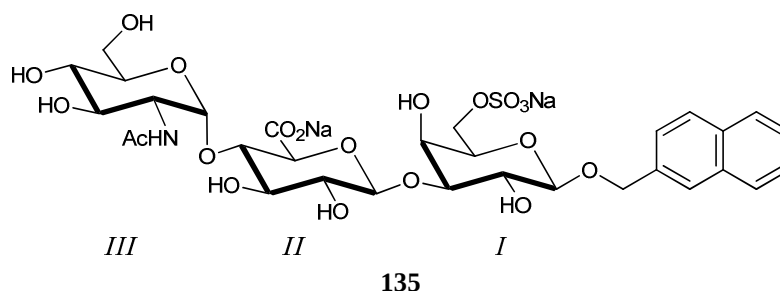
[α]_D²⁰ = + 22,5 (c = 0,50, H₂O)

HRMS : *m/z* : calculée pour C₃₁H₄₂NO₁₇ [M+2H-Na]⁺ : 700,244725 ; trouvée 700,244557

¹H NMR (250 MHz, D₂O) : δ (ppm) 8,01-7,97 (m, 4H ; Ar-H), 7,64-7,59 (m, 3H ; Ar-H), 5,41 (d, *J*_{1,2} = 3,5 Hz, 1H ; H-1^{III}), 5,04 (ABq, 2H ; Ar-CH₂ (NAP)), 4,63 (d, *J*_{1,2} = 8,0 Hz, 1H ; H-1^{II}), 4,55 (d, *J*_{1,2} = 7,5 Hz, 1H ; H-1^I), 4,13 (d, *J*_{3,4} = 3,0 Hz, *J*_{4,5} < 1 Hz, 1H ; H-4^I), 3,89 (dd, *J*_{1,2} = 3,5 Hz, *J*_{2,3} = 10,5 Hz, 1H ; H-2^{III}), 3,69-3,39 (m, 14H ; H-2^I, H-3^I, H-5^I, H-6^Ia,b, H-2^{II}, H-3^{II}, H-4^{II}, H-5^{II}, H-3^{III}, H-4^{III}, H-5^{III}, H-6^{III}a,b), 2,06 (s, 3H ; NHC(O)CH₃)

¹³C NMR (62,5 MHz, D₂O) : δ (ppm) 176,06, 175,13 (2C ; C-6^{II}, C=O), 135,07, 133,70, 133,58, 129,06, 128,70, 128,50, 128,35, 127,34 (10C ; Ar-C), 104,49 (1C ; C-1^{II}), 102,06 (1C ; C-1^I), 97,64 (1C ; C-1^{III}), 83,63, 77,38, 76,53, 75,67, 74,39, 73,40, 72,71, 72,05, 71,45, 70,49, 70,40, 68,94 (12C ; C-2^I, C-3^I, C-4^I, C-5^I, C-2^{II}, C-3^{II}, C-4^{II}, C-5^{II}, C-3^{III}, C-4^{III}, C-5^{III}, Ar-CH₂ (NAP)), 61,72 (2C ; C-6^I, C-6^{III}), 54,42 (1C ; C-2^{III}), 22,66 (1C ; NHC(O)CH₃)

2-naphtylméthyl O-(2-acétamido-2-désoxy- α -D-glucopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(sodium β -D-glucopyranosyluronate)-(1 $\rightarrow$ 3)-sodium 6-O-sulfonato- β -D-galactopyranoside
(C₃₁H₃₉NNa₂O₂₀S, M = 823,68 g.mol⁻¹)



Une solution de trisaccharide **176** (44 mg, 0,034 mmol, 1 éq.) dans un mélange THF / H₂O (3 / 1, 2 mL) est traitée à -10°C par une solution de LiOOH fraîchement préparée en ajoutant 85 μ L de H₂O₂ sur du LiOH 1M (169 μ L, 0,169 mmol, 5 éq.) à 0°C. Le mélange est agité 8h à température ambiante puis refroidi à 0°C et une solution de NaOH 4M (0,59 mL, 2,38 mmol, 70 éq.) est ajoutée. Le milieu est agité toute une nuit à température ambiante puis de la résine amberlite IR-120 [H⁺] est ajoutée jusqu'à un pH de 3 (suivi avec un pH-mètre). Le produit est ensuite filtré, concentré et séché. Il est alors lavé avec de l'éther diéthylique puis à l'EtOH. Le résidu est ensuite dissous dans l'eau et une solution de NaOH 1M est ajoutée jusqu'à obtenir un pH de 9. Le milieu est agité 5 min et mis au frais une nuit. Le milieu est ensuite concentré et le produit est purifié par colonne d'exclusion stérique Sephadex LH-20 dans l'eau pour donner le trisaccharide sulfaté **135** déprotégé sous la forme d'un film blanchâtre (26 mg, 90%).

Rf : 0,21 (AcOEt / MeOH / H₂O 6 / 2 / 1)

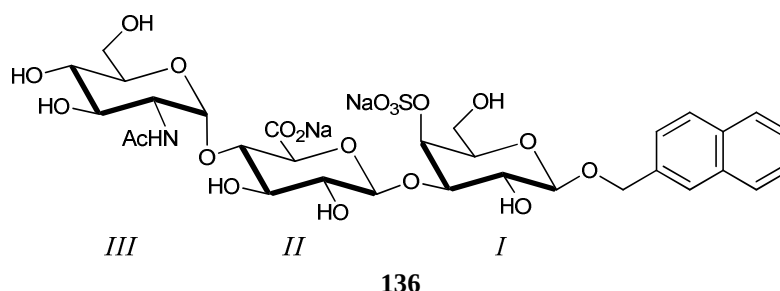
[α]_D²⁰ = + 34,3 (*c* = 1,00, H₂O)

HRMS : *m/z* : calculée pour C₃₁H₄₀NO₂₀S [M+H-2Na]⁺ : 778,186987 ; trouvée 778,186559

¹H NMR (250 MHz, D₂O) : δ (ppm) 7,99-7,95 (m, 4H ; Ar-*H*), 7,62-7,58 (m, 3H ; Ar-*H*), 5,42 (d, *J*_{1,2} = 3,5 Hz, 1H ; H-1^{III}), 4,98 (ABq, 2H ; Ar-CH₂ (*NAP*)), 4,60 (d, *J*_{1,2} = 8,0 Hz, 1H ; H-1^{II}), 4,42 (d, *J*_{1,2} = 7,5 Hz, 1H ; H-1^I), 4,22-4,19 (m, 2H ; H-6^{Ia,b}), 4,13 (dd, *J*_{3,4} = 3,0 Hz, *J*_{4,5} < 1 Hz, 1H ; H-4^I), 3,90 (dd, *J*_{1,2} = 3,5 Hz, *J*_{2,3} = 10,0 Hz, 1H ; H-2^{III}), 3,81-3,36 (m, 12H ; H-2^I, H-3^I, H-5^I, H-2^{II}, H-3^{II}, H-4^{II}, H-5^{II}, H-3^{III}, H-4^{III}, H-5^{III}, H-6^{IIIa,b}), 2,06 (s, 3H ; NHC(O)CH₃)

¹³C NMR (62,5 MHz, D₂O) : δ (ppm) 175,93, 175,04, 134,69, 133,55, 133,51, 129,00, 128,70, 128,56, 128,36, 127,38, 127,26 (12C ; C-6^{II}, C=O, Ar-C), 104,38 (1C ; C-1^{II}), 101,47 (1C ; C-1^I), 97,53 (1C ; C-1^{III}), 83,33, 77,30, 76,96, 76,39, 74,31, 73,29, 72,55, 71,36, 70,34, 70,30 (10C ; C-2^I, C-3^I, C-5^I, C-2^{II}, C-3^{II}, C-4^{II}, C-5^{II}, C-3^{III}, C-4^{III}, C-5^{III}), 71,79 (1C ; Ar-CH₂ (*NAP*)), 68,72 (1C ; C-4^I), 68,29 (1C ; C-6^I), 60,77 (1C ; C-6^{III}), 54,34 (1C ; C-2^{III}), 22,59 (1C ; NHC(O)CH₃)

2-naphtylméthyl O-(2-acétamido-2-désoxy- α -D-glucopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(sodium β -D-glucopyranosyluronate)-(1 $\rightarrow$ 3)-sodium 4-O-sulfonato- β -D-galactopyranoside
(C₃₁H₃₉NNa₂O₂₀S, M = 823,68 g.mol⁻¹)



Une solution de trisaccharide **178** (40 mg, 0,029 mmol, 1 éq.) dans un mélange THF / H₂O (3 / 1, 2 mL) est traitée à -10°C par une solution de LiOOH fraîchement préparée en ajoutant 74 μ L de H₂O₂ sur du LiOH 1M (148 μ L, 0,148 mmol, 5 éq.) à 0°C. Le mélange est agité 8h à température ambiante puis refroidi à 0°C et une solution de NaOH 4M (0,50 mL, 2,03 mmol, 70 éq.) est ajoutée. Le milieu est agité toute une nuit à température ambiante puis de la résine amberlite IR-120 [H⁺] est ajoutée jusqu'à un pH de 2,7 (suivi avec un pH-mètre). Le produit est ensuite filtré, concentré et séché. Il est alors lavé avec de l'éther diéthylique. Le résidu est ensuite dissous dans l'eau et une solution de NaOH 1M est ajoutée jusqu'à obtenir un pH de 8,7. Le milieu est agité 5 min et mis au frais une nuit. Le milieu est ensuite concentré et le produit est purifié par colonne d'exclusion stérique Sephadex LH-20 dans l'eau pour donner le trisaccharide sulfaté **136** déprotégé sous la forme d'un film blanchâtre (16 mg, 64%).

Rf : 0,25 (AcOEt / MeOH / H₂O 6 / 2 / 1)

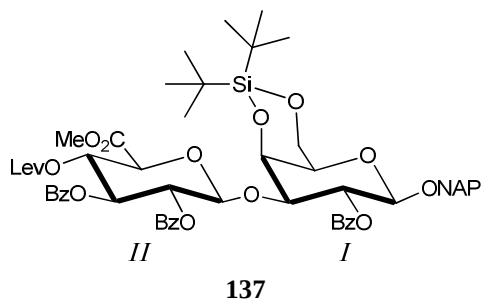
[α]_D²⁰ = + 26,4 (*c* = 1,00, H₂O)

HRMS : *m/z* : calculée pour C₃₁H₄₀NO₂₀S [M+H-2Na]⁺ : 778,186987 ; trouvée 778,186171

¹H NMR (250 MHz, D₂O) : δ (ppm) 7,99-7,93 (m, 4H ; Ar-*H*), 7,63-7,58 (m, 3H ; Ar-*H*), 5,42 (d, *J*_{1,2} = 3,5 Hz, 1H ; H-1^{III}), 5,02 (ABq, 2H ; Ar-CH₂ (NAP)), 4,75-4,71 (m, 2H ; H-1^{II}, H-4^I), 4,54 (d, *J*_{1,2} = 8,0 Hz, 1H ; H-1^I), 3,93-3,88 (m, 2H ; H-3^I, H-2^{III}), 3,83-3,42 (m, 12H ; H-2^I, H-5^I, H-6^{Ia,b}, H-3^{II}, H-4^{II}, H-5^{II}, H-3^{III}, H-4^{III}, H-5^{III}, H-6^{IIIa,b}), 3,42-3,39 (m, 1H ; H-2^{II}), 2,06 (s, 3H ; NHC(O)CH₃)

¹³C NMR (62,5 MHz, D₂O) : δ (ppm) 175,91, 175,02, 134,94, 133,56, 131,83, 129,43, 128,97, 128,63, 128,36, 128,20, 127,24, 127,18 (12C ; C-6^{II}, C=O, Ar-C), 103,63 (1C ; C-1^{II}), 102,16 (1C ; C-1^I), 97,54 (1C ; C-1^{III}), 77,86, 77,79 (2C ; C-3^I, C-4^I), 77,54, 77,06, 76,64, 75,17, 74,24, 72,52, 71,43, 71,25, 70,36 (9C ; C-2^I, C-5^I, C-2^{II}, C-3^{II}, C-4^{II}, C-5^{II}, C-3^{III}, C-4^{III}, C-5^{III}), 72,14 (1C ; Ar-CH₂ (NAP)), 61,60, 60,77 (2C ; C-6^I, C-6^{III}), 54,36 (1C ; C-2^{III}), 30,96 (1C ; NHC(O)CH₃)

2-naphtylméthyl O-(méthyl 2,3-di-O-benzoyl-4-O-levulinoyl-β-D-glucopyranosyluronate)-(1→3)-2-O-benzoyl-4,6-O-di-tert-butylsilyle-β-D-galactopyranoside
(C₅₈H₆₄O₁₇Si, M = 1061,20 g.mol⁻¹)



L'imidate **82** (606 mg, 0,920 mmol, 1,3 éq.) ainsi que le composé **138** (401 mg, 0,710 mmol, 1 éq.) sont dissous dans le CH₂Cl₂ (7 mL) avec une pointe de tamis moléculaire 4 Å sous argon. Le mélange est agité 1h. Le BF₃.Et₂O (185 µL, 0,185 mmol, 0,2 éq. / imidate) est ajouté goutte à goutte à 0°C. La solution est agitée 1h15, en remontant doucement à température ambiante. De la triéthylamine (0,3 mL) est ajoutée pour stopper la réaction. Le tamis est filtré et le filtrat est concentré. Le résidu est purifié par colonne chromatographique de gel de silice (EP / AcOEt 1 / 1) afin d'obtenir le produit **137** sous la forme d'une mousse blanche (655 mg, 87%).

Autre protocole :

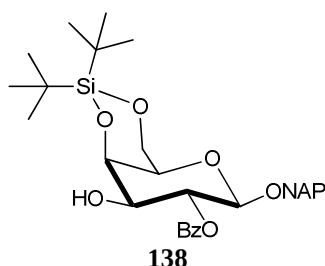
Le disaccharide **152** (143 mg, 0,149 mmol, 1 éq.) est dissous dans du CH₂Cl₂ (2 mL) et de la pyridine (1 mL) sous argon. Le chlorure de benzoyle (0,5 mL, excès) est ajouté. La réaction est laissée une nuit sous argon à température ambiante. Celle-ci est stoppée par ajout de méthanol (1 mL) à 0°C et le mélange réactionnel est agité 20 min supplémentaires. De l'eau est ensuite ajoutée et la phase aqueuse est extraite avec du CH₂Cl₂ et la phase organique est lavée successivement avec une solution saturée de NaHCO₃ puis avec de l'eau, séchée sur MgSO₄ et concentrée. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (EP / AcOEt 1 / 1) afin d'obtenir le produit **137** sous la forme d'une mousse blanche (126 mg, 79%).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 7,83-7,07 (m, 22H ; Ar-H), 5,63 (dd, $J_{1,2} = J_{2,3} = 8,0$ Hz, 1H ; H-2^I), 5,51 (dd, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9,0$ Hz, 1H ; H-3^{II}), 5,45-5,38 (m, 2H ; H-2^{II}, H-4^{II}), 5,01 (d, $J_{1,2} = 7,5$ Hz, 1H ; H-1^{II}), 4,84 (ABq, 2H ; Ar-CH₂(NAP)), 4,66 (dd, $J_{3,4} = 3,0$ Hz, $J_{4,5} < 1,0$ Hz, 1H ; H-4^I), 4,49 (d, $J_{1,2} = 8,0$ Hz, 1H ; H-1^I), 4,30-4,29 (m, 2H ; H-6^Ia,b), 4,10 (d, $J_{4,5} = 9,5$ Hz, 1H ; H-5^{II}), 3,86 (dd, $J_{2,3} = 8,0$ Hz, $J_{3,4} = 3,0$ Hz, 1H ; H-3^I), 3,74 (s, 3H ; COOCH₃), 3,41-3,40 (m, 1H ; H-5^I), 2,62-2,30 (m, 4H ; CH₂C(O) (lev)), 2,04 (s, 3H ; C(O)CH₃ (lev)), 1,09-1,07 (m, 18H ; 2 x (CH₃)₃)

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 205,75, 171,13, 167,10, 165,65, 164,81, 164,75 (6C ; C-6^{II}, C=O), 134,80, 133,42, 133,10, 132,91, 132,85, 132,79, 129,90, 129,83, 129,68, 129,61, 128,89, 128,81, 128,40, 128,34, 128,06, 128,00, 127,86, 127,64, 126,53, 125,98, 125,84, 125,83 (28C ; Ar-C), 101,50 (1C ; C-1^{II}), 99,47 (1C ; C-1^I), 79,70 (1C ; C-3^I), 72,90 (2C ; C-

4^I , C-5^I), 72,50 (1C ; C-3^{II}), 71,77 (1C ; C-2^{II}), 71,60 (1C ; C-5^{II}), 70,73 (1C ; C-2^I), 69,86 (1C ; Ar-CH₂ (NAP)), 69,74 (1C ; C-4^{II}), 67,04 (1C ; C-6^I), 53,05 (1C ; COOCH₃), 37,69, 27,76 (2C ; CH₂C(O) (Lev)), 29,63 (1C ; C(O)CH₃ (Lev)), 27,59, 27,53, 27,49 (6C ; 2 x (CH₃)₃), 23,47, 20,80 (2C ; 2 x C(CH₃)₃)

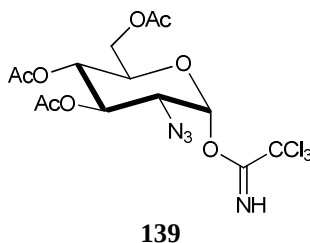
2-naphtylméthyl 2-O-benzoyl-4,6-O-di-*tert*-butylsilylène-β-D-galactopyranoside
(C₃₂H₄₀O₇Si, M = 564,74 g.mol⁻¹)



Le triol **149** (604 mg, 1,42 mmol, 1 éq.) est dissous dans du CH₂Cl₂ sous argon. A 0°C, la 2,6-lutidine (0,46 mL, 3,98 mmol, 2,8 éq.) et le diTBSdiOTf (0,62 mL, 1,70 mmol, 1,2 éq.) sont ajoutés. Après 2h de réaction, de l'eau est ajoutée et la phase organique est lavée avec une solution de HCl 1M, une solution saturée de NaHCO₃ ainsi que de l'eau puis évaporée. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (EP / AcOEt 4 / 1) pour donner **138** sous la forme d'une mousse blanchâtre (401 mg, 50%).

¹H RMN (250 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 8,04-7,25 (m, 12H ; Ar-H), 5,50-5,42 (m, 1H ; H-2), 4,93 (ABq, 2H ; Ar-CH₂), 4,58 (d, $J_{1,2}$ = 8,0 Hz, 1H ; H-1), 4,43 (dd, $J_{3,4}$ = 3,5 Hz, $J_{4,5}$ < 1,0 Hz, 1H ; H-4), 4,33-4,32 (m, 1H ; H-6a,b), 3,69-3,62 (m, 1H ; H-3), 3,46-3,44 (m, 1H ; H-5), 2,78-2,74 (m, 1H ; OH), 1,16, 1,15, 1,08, 1,07, 1,06, 1,03 (6s, 18H ; 2 x (CH₃)₃)

3,4,6-tri-O-acétyl-2-azido-2-désoxy-1-O-trichloroacétimidoyl-α-D-glucopyranose
(C₁₄H₁₇Cl₃N₄O₈, M = 475,67 g.mol⁻¹)



Une solution du produit peracétylé **166** (362 mg, 0,970 mmol, 1 éq.) et d'acétate d'hydrazine (134 mg, 1,46 mmol, 1,5 éq.) dans le DMF est agitée à température ambiante pendant 30 min. Le mélange réactionnel est ensuite versé dans l'eau glacée et agité pendant 15 min. La phase aqueuse est extraite avec de l'AcOEt. Les phases organiques sont lavées avec une solution

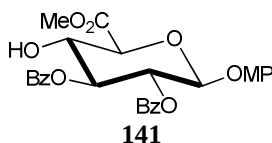
saturée de NaCl, de l'eau puis séchées et concentrées pour donner l'hémiacétal sous forme d'une huile jaune (292 mg, 91% sur deux étapes).

L'hémiacétal (292 mg, 0,881 mmol, 1 éq.) est dissous dans 2 mL de CH₂Cl₂ anhydre à température ambiante sous argon. Après dissolution, le trichloroacétonitrile (0,88 mL, 8,81 mmol, 10 éq.) et la DBU (0,03 mL, 0,176 mmol, 0,2 éq.) sont ajoutés. La réaction est suivie par CCM (EP / AcOEt 3 / 1) et est terminée après 1h10. Le milieu est concentré et directement purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (EP / AcOEt 3 / 1 + 0,1 % Et₃N). L'imide **139** est obtenu sous la forme d'un solide jaunâtre (225 g, 54%).

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 8,83 (s, 1H ; NH), 6,48 (d, $J_{1,2}$ = 3,5 Hz, 1H ; H-1), 5,50 (dd, $J_{2,3}$ = 10,5 Hz, $J_{3,4}$ = 9,5 Hz, 1H ; H-3), 5,13 (dd, $J_{3,4}$ = $J_{4,5}$ = 9,5 Hz, 1H ; H-4), 4,30-4,06 (m, 3H ; H-5, H-6a,b), 3,76 (dd, $J_{1,2}$ = 3,5 Hz, $J_{2,3}$ = 10,5 Hz, 1H ; H-2), 2,09, 2,05, 2,04 (3s, 9H ; 3 x CH₃)

La RMN est conforme à celle de la littérature.⁷⁶

méthyl (4-méthoxyphényl 2,3-di-O-benzoyl- β -D-glucopyranosyl)uronate
(C₂₈H₂₆O₁₀, M = 522,50 g.mol⁻¹)

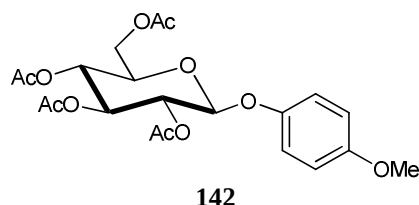


Le diol **144** (9,45 g, 19,1 mmol, 1 éq.) ainsi que 140 mL de CH₂Cl₂ et 70 mL d'eau sont agités jusqu'à dissolution du solide. Le TEMPO (0,60 g, 3,82 mmol, 0,2 éq.) et le BAIB (15,38 g, 47,7 mmol, 2,5 éq.) sont ensuite ajoutés. La réaction est suivie par CCM (CH₂Cl₂ / MeOH 12 / 1) et est terminée après 40 min. 130 mL d'une solution saturée de Na₂S₂O₃ sont ajoutés et le milieu est décanté. La phase aqueuse est extraite avec 140 mL de CH₂Cl₂ et la phase organique est lavée avec une solution saturée de NaCl puis avec de l'eau et séchée sur MgSO₄. Après filtration et évaporation, une huile orange est obtenue. Le produit est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (CH₂Cl₂ / MeOH 16 / 1 puis 12 / 1 et 5 / 1). L'acide correspondant est obtenu sous l'aspect d'une mousse marron (7,15 g, 74%).

Sous argon sont introduits cet acide (7,15 g, 14,1 mmol, 1 éq.), du K₂CO₃ (4,86 g, 35,1 mmol, 2,5 éq.) et du DMF (70 mL). Après homogénéisation, le MeI (2,19 mL, 35,1 mmol, 2,5 éq.) est introduit et le ballon est protégé de la lumière pendant 3h30. 200 mL d'eau et 400 mL d'AcOEt sont ajoutés et le milieu est décanté. La phase aqueuse est extraite avec de l'AcOEt (2 x 100 mL). La phase organique est lavée avec une solution saturée de NaCl (2 x 100 mL), séchée sur MgSO₄, filtrée et évaporée pour obtenir un solide beige. Le produit est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (toluène / AcOEt 5 / 1). L'ester **141** est obtenu sous forme d'un solide beige (5,35 g, 73%).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 8,01-7,38 (m, 10H ; Ar-H (*Bz*)), 6,96-6,77 (m, 4H ; Ar-H (*MP*)), 5,67 (dd, $J_{1,2} = J_{2,3} = 8,0$ Hz, 1H ; H-2), 5,59 (dd, $J_{2,3} = J_{3,4} = 8,0$ Hz, 1H ; H-3), 5,19 (d, $J_{1,2} = 8,0$ Hz, 1H ; H-1), 4,33-4,17 (m, 1H ; H-4), 4,18 (d, $J_{4,5} = 9,5$ Hz, 1H ; H-5), 3,86 (s, 3H ; OCH₃), 3,75 (s, 3H ; COOCH₃), 3,35 (d, $J_{4,HO} = 4,0$ Hz, 1H ; OH)

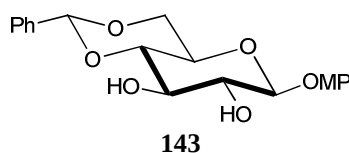
4-méthoxyphényl 2,3,4,6-tetra-*O*-acétyl-β-D-glucopyranoside
(C₂₁H₂₆O₁₁, M = 454,42 g.mol⁻¹)



Sous argon, une solution de β-D-glucose peracétylé (20 g, 51,2 mmol, 1 éq.) et de 4-méthoxyphénol (11,40 g, 92,2 mmol, 1,8 éq.) avec une pointe de tamis moléculaire 4 Å dans du CH₂Cl₂ anhydre (200 mL) est agitée 30 min à température ambiante puis refroidie par un bain de glace à 0°C. Du TMSOTf 99% (1,85 mL, 10,2 mmol, 0,2 éq. / imidate) est ajouté et le mélange est agité 3h à 0°C sous argon. De la triéthylamine (4 mL) est ensuite ajoutée goutte à goutte puis le milieu réactionnel est filtré sur Büchner. Le filtrat est lavé avec 100 mL d'eau puis deux fois avec 100 mL d'une solution de soude 2M et une nouvelle fois avec 100 mL d'eau. La phase organique est séchée sur MgSO₄, filtrée sur coton et concentrée. L'huile obtenue est cristallisée dans l'isopropanol à chaud et le produit **142** est obtenu sous la forme d'une poudre blanche (18,05 g, 78%).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 6,96-6,81 (m, 4H ; Ar-H), 5,30-5,14 (m, 3H ; H-2, H-3, H-4), 4,95 (d, $J_{1,2} = 7,0$ Hz, 1H ; H-1), 4,28 (dd, $J_{5,6a} = 7,0$ Hz, $J_{6a,6b} = 12,0$ Hz, 1H ; H-6a), 4,16 (dd, $J_{5,6b} < 1,0$ Hz, $J_{6a,6b} = 12,0$ Hz, 1H ; H-6b), 3,82-3,79 (m, 1H ; H-5), 3,78 (s, 3H ; OCH₃), 2,08, 2,08, 2,04, 2,03 (4s, 12H ; 4 x OC(O)CH₃)

4-méthoxyphényl 4,6-*O*-benzylidène-β-D-glucopyranoside
(C₂₀H₂₂O₇, M = 374,38 g.mol⁻¹)



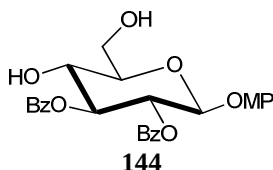
Un grain de sodium est introduit dans un ballon contenant 50 mL de MeOH sous argon. Un dégagement de H₂ est observé. Le ballon est laissé sous agitation jusqu'à dissolution totale du sodium. Le glycoside **142** (18,05 g, 39,7 mmol, 1 éq.) est solubilisé dans 150 mL de MeOH sous argon. Une solution de méthanolate de sodium (1M, 50 mL) est ajoutée jusqu'à un pH basique (environ 12). L'avancement de la réaction est suivi par CCM (CH₂Cl₂ / MeOH 6 / 1)

et après 3h, la réaction est terminée. De la résine amberlite IR-120 [H⁺] est ajoutée jusqu'à neutralisation du milieu réactionnel puis elle est filtrée et rincée au méthanol. Le filtrat est concentré pour donner le tétrol sous forme de poudre blanche (11,1 g, 98%).

Ce tétrol (11,1 g, 38,8 mmol, 1 éq.) et le CSA (542 mg, 2,33 mmol, 0,06 éq.) sont dissous dans 260 mL d'acétonitrile. Le milieu est placé sous argon et le benzaldéhyde diméthylacétal (9 mL, 62,1 mmol, 1,6 éq.) est ajouté. L'avancement de la réaction est suivi par CCM (CH₂Cl₂ / MeOH 9 / 1). La réaction est stoppée après 3h30. De la triéthylamine (1 mL, 7,37 mmol, 0,19 éq.) est ajoutée et le milieu est concentré. Le solide est filtré sur Büchner, rincé avec 100 mL d'éther diéthylique puis séché pour donner le produit attendu **143** sous la forme d'un solide blanc (13,55 g, 93%).

¹H RMN (400 MHz, DMSO) : δ (ppm) 7,46-7,37 (m, 5H ; Ar-H (*Ph*)), 7,01-6,86 (m, 4H ; Ar-H (*MP*)), 5,60 (s, 1H ; Ph-CH), 5,58 (d, $J_{2,HO} = 5,0$ Hz, 1H ; OH-2), 5,42 (d, $J_{3,HO} = 5,0$ Hz, 1H ; OH-3), 4,97 (d, $J_{1,2} = 7,5$ Hz, 1H ; H-1), 4,20 (dd, $J_{5,6a} = 4,5$ Hz, $J_{6a,6b} = 10,0$ Hz, 1H ; H-6a), 3,74-3,34 (m, 5H ; H-2, H-3, H-4, H-5, H-6b), 3,32 (s, 3H ; OCH₃)

4-méthoxyphényl 2,3-di-O-benzoyl- β -D-glucopyranoside
(C₂₇H₂₆O₉, M = 494,49 g.mol⁻¹)



Le benzyldène **143** (11,15 g, 29,8 mmol, 1 éq.), le CH₂Cl₂ (150 mL) et la pyridine (75 mL) sont agités sous argon à 0°C. Le chlorure de benzoyle (10,4 mL, 89,4 mmol, 3 éq.) est ajouté. Le ballon revient progressivement à température ambiante et la réaction est suivie par CCM (toluène / AcOEt 3 / 1). Après 3h30, celle-ci est stoppée avec l'ajout de méthanol (15 mL) à 0°C. Le mélange réactionnel est dilué avec du CH₂Cl₂ (200 mL) et lavé avec de l'eau (180 mL). La phase aqueuse est extraite avec 100 mL de CH₂Cl₂ puis les phases organiques sont lavées avec 200 mL d'une solution saturée de NaHCO₃ puis avec 180 mL d'eau, séchées sur MgSO₄, filtrées, concentrées et coévaporées avec du toluène puis avec du CH₂Cl₂. Le benzyldène benzoylé correspondant est obtenu sous forme d'une poudre blanche. Le produit brut (19,65 g) est directement engagé dans l'étape suivante.

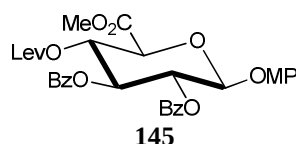
¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 8,05-7,26 (m, 15H ; Ar-H (*Bz*)), 6,94-6,76 (m, 4H ; Ar-H (*MP*)), 5,86 (dd, $J_{2,3} = J_{3,4} = 10,0$ Hz, 1H ; H-3), 5,70 (dd, $J_{1,2} = 8,0$ Hz, $J_{2,3} = 10,0$ Hz, 1H ; H-2), 5,68 (s, 1H ; H-7), 5,25 (d, $J_{1,2} = 8,0$ Hz, 1H ; H-1), 4,47 (dd, $J_{5-6a} = 5,0$ Hz, $J_{6a-6b} = 10,5$ Hz, 1H ; H-6a), 4,04 (dd, $J_{3,4} = 10,0$ Hz, $J_{4,5} = 8,0$ Hz, 1H ; H-4), 3,96-3,91 (m, 1H ; H-6b), 3,82-3,78 (m, 1H ; H-5), 3,75 (s, 3H ; OCH₃)

Ce benzyldène benzoylé brut (17,35 g, 29,8 mmol, 1 éq.) et 400 mL d'acide acétique sont agités à 100°C jusqu'à dissolution de la majorité du solide (40 min). 100 mL d'eau sont alors

ajoutés par palier de 10 mL toutes les 5 minutes. Dès que le milieu est limpide, signe de la solubilisation totale du produit, le mélange est agité 40 min supplémentaires à 100°C puis la réaction est laissée revenir à température ambiante. Le milieu est concentré puis coévaporé avec 200 mL d'eau. Le solide est recristallisé dans l'acétate d'éthyle à chaud. Le diol **144** est obtenu sous forme d'une poudre blanche (9,45 g, 64% sur deux étapes).

¹H RMN (250 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 8,01-7,37 (m, 10H ; Ar-*H* (Bz)), 6,94-6,76 (m, 4H ; Ar-*H* (MP)), 5,66 (dd, $J_{1,2} = 8,0$ Hz, $J_{2,3} = 10,0$ Hz, 1H ; H-2), 5,45 (dd, $J_{2,3} = J_{3,4} = 10,0$ Hz, 1H ; H-3), 5,20 (d, $J_{1,2} = 8,0$ Hz, 1H ; H-1), 4,08-3,88 (m, 2H ; H-4, H-5), 3,75 (s, 3H ; OCH₃), 3,72-3,67 (m, 2H ; H-6a,b), 3,23 (d, $J_{5,HO} = 4,0$ Hz, 1H ; OH-5), 2,09 (dd, $J_{6a,HO} = J_{6b,HO} = 7,5$ Hz, 1H ; OH-6)

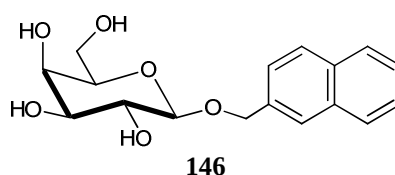
méthyl (4-méthoxyphényl 2,3-di-*O*-benzoyl-4-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)uronate
(C₃₃H₃₂O₁₂, M = 620,60 g.mol⁻¹)



Une solution d'ester **141** (5,4 g, 10,3 mmol, 1 éq.), d'acide lévulinique (1,55 g, 13,4 mmol, 1,3 éq.) et de DMAP (0,25 g, 2,06 mmol, 0,2 éq.) dans du CH₂Cl₂ (70 mL) est agitée à température ambiante sous argon. La DCC (2,77 g, 13,4 mmol, 1,3 éq.) est alors ajoutée. Le mélange réactionnel est ainsi agité pendant 2h30. La DCU formée est ensuite filtrée sur Büchner et rincée au CH₂Cl₂. Le filtrat est lavé avec de l'eau et la phase aqueuse est extraite au CH₂Cl₂. La phase organique est lavée avec une solution de HCl 1M puis de NaHCO₃ saturée et enfin avec de l'eau, séchée sur MgSO₄, filtrée et concentrée sous pression réduite. Le solide blanc ainsi obtenu est purifié par recristallisation dans l'acétone à chaud pour donner le produit attendu **145** sous forme de solide blanc (5,6 g, 87%).

¹H RMN (250 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 7,97-7,38 (m, 10H ; Ar-*H* (Bz)), 6,96-6,76 (m, 4H ; Ar-*H* (MP)), 5,79-5,61 (m, 2H ; H-2, H-3), 5,58 (dd, $J_{3,4} = 9,0$ Hz, $J_{4,5} = 9,5$ Hz, 1H ; H-4), 5,22 (d, $J_{1,2} = 7,0$ Hz, 1H ; H-1), 4,31 (d, $J_{4,5} = 9,5$ Hz, 1H ; H-5), 3,77 (s, 3H ; OCH₃), 3,75 (s, 3H ; COOCH₃), 2,64-2,36 (m, 4H ; CH₂C(O) (Lev)), 2,05 (s, 3H ; C(O)CH₃ (Lev))

2-naphtylméthyl β-D-galactopyranoside
(C₁₇H₂₀O₆, M = 320,34 g.mol⁻¹)

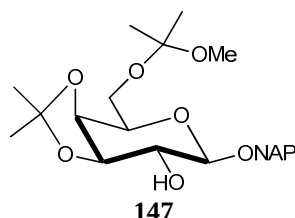


Une solution d'imidate **29** (18,35 g, 37,2 mmol, 1 éq.) et de 2-naphtalèneméthanol (8,83 g, 55,8 mmol, 1,5 éq.) avec une pointe de tamis moléculaire 4Å dans du CH₂Cl₂ anhydre est agitée sous argon à température ambiante pendant 1h30. Du TMSOTf 99% (1,4 mL, 7,44 mmol, 0,2 éq.) est ajouté goutte à goutte à température ambiante et la réaction est suivie par CCM (EP / AcOEt 2 / 1). Après 1h, la réaction est terminée. La triéthylamine (3,5 mL) est ajoutée puis le mélange réactionnel est filtré, concentré puis purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (EP / AcOEt 3 / 2 + 0,1 % Et₃N) pour donner le glycoside acétylé correspondant sous la forme d'une mousse jaunâtre (13,9 g).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 7,84-7,39 (m, 7H ; Ar-H (NAP)), 5,39 (dd, $J_{3,4} = 3,0$ Hz, $J_{4,5} < 1,0$ Hz, 1H ; H-4), 5,33-5,28 (m, 1H ; H-2), 4,98 (dd, $J_{2,3} = 10,0$ Hz, $J_{3,4} = 3,0$ Hz, 1H ; H-3), 4,92 (ABq, 2H ; Ar-CH₂ (NAP)), 4,56 (d, $J_{1,2} = 8,0$ Hz, 1H ; H-1), 4,26-4,09 (m, 2H ; H-6a,b), 3,91-3,88 (m, 1H ; H-5), 2,17, 2,07, 2,01, 1,97 (4s, 12H ; OC(O)CH₃)

Le glycoside acétylé (13,9 g, 28,5 mmol, 1 éq.) est solubilisé dans 150 mL de MeOH. Le mélange est mis sous agitation et sous argon. Une solution de méthanolate de sodium (1M, 50 mL) est ajoutée jusqu'à un pH basique (environ 12). L'avancement de la réaction est suivie par CCM (CH₂Cl₂ / MeOH 6 / 1) et après 4h, la réaction est terminée. De la résine amberlite IR-120 [H⁺] est ajoutée jusqu'à neutralisation du milieu réactionnel. La résine est filtrée, rincée au méthanol. Le filtrat est concentré pour donner le produit attendu **146** sous forme de poudre blanche (8,95 g, 77% sur deux étapes).

2-naphtylméthyl 3,4-O-isopropylidène-6-O-(2-méthoxy-2-propyl)-β-D-galactopyranoside
(C₂₄H₃₂O₇, M = 432,51 g.mol⁻¹)

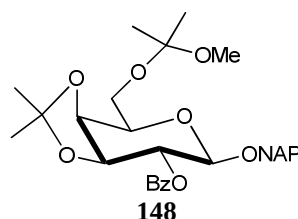


Dans un ballon, sous argon, le tétrol **146** (1,5 g, 4,68 mmol, 1 éq.) et le CSA (54 mg, 0,232 mmol, 0,05 éq.) sont dissous dans le 2,2-diméthoxypropane (45 mL). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 96h. L'excès d'acide est neutralisé avec de la triéthylamine (1,5 mL) puis le milieu réactionnel est concentré. Le résidu obtenu est purifié par colonne chromatographique de gel de silice (CH₂Cl₂ / acétone 12 / 1 + 1% de Et₃N). Le composé **147** est obtenu sous la forme d'une poudre blanche (997 mg, 49 %).

¹H RMN (250 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 7,83-7,45 (m, 7H ; Ar-H), 4,95 (ABq, 2H ; Ar-CH₂), 4,26 (d, $J_{1,2} = 8,5$ Hz, 1H ; H-1), 4,13-4,10 (m, 1H ; H-3), 4,03-3,98 (m, 1H ; H-2), 3,83-3,60 (m, 4H ; H-4, H-5, H-6a,b), 3,25 (s, 3H ; OCH₃), 1,51, 1,40, 1,39, 1,32 (4s, 12H ; 3 x CH₃)

2-naphtylméthyl 2-O-benzoyl-3,4-O-isopropylidène-6-O-(2-méthoxy-2-propyl)-β-D-galactopyranoside

(C₃₁H₃₆O₈, M = 536,62 g.mol⁻¹)

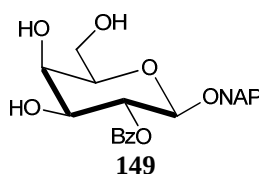


Le monosaccharide **147** (785 mg, 1,81 mmol, 1 éq.) est dissous dans du CH₂Cl₂ (21 mL) et de la pyridine (7 mL) sous argon. Le chlorure de benzoyle (0,32 mL, 2,72 mmol, 1,5 éq.) est ajouté à 0°C. La réaction est agitée sous argon pendant une heure à température ambiante. L'excès d'acide est neutralisé par ajout de méthanol (5 mL) à 0°C et le mélange réactionnel est agité 20 min supplémentaires. De l'eau est ensuite ajoutée et la phase aqueuse est extraite avec du CH₂Cl₂ et la phase organique est lavée successivement avec une solution saturée de NaHCO₃ puis avec de l'eau, séchée sur MgSO₄ et concentrée. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (EP / AcOEt 2 / 1 + 1% de Et₃N) afin d'obtenir le produit **148** sous la forme d'un solide jaunâtre (937 mg, 96 %).

¹H RMN (250 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 8,16-7,14 (m, 12H ; Ar-H), 5,35 (dd, J_{1,2} = J_{2,3} = 8,0 Hz, 1H ; H-2), 4,95 (ABq, 2H ; Ar-CH₂), 4,50 (d, J_{1,2} = 8,0 Hz, 1H ; H-1), 4,25-4,22 (m, 2H ; H-3, H-4), 3,90-3,78 (m, 3H ; H-5, H-6a,b), 3,28 (s, 3H ; OCH₃), 1,64, 1,42, 1,41, 1,33 (4s, 12H ; 3 x CH₃)

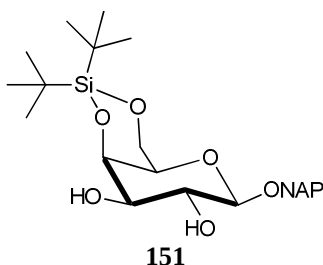
2-naphtylméthyl 2-O-benzoyl-β-D-galactopyranoside

(C₂₄H₂₄O₇, M = 424,44 g.mol⁻¹)



Le monosaccharide **148** (937 mg, 1,75 mmol, 1 éq.) en suspension dans un mélange 2 / 1 AcOH / H₂O (60 mL / 30 mL) est porté à reflux pendant 30 min. Le mélange est laissé revenir à température ambiante, dilué avec de l'eau, concentré puis coévaporé à l'eau puis au toluène. Le produit **149** (604 mg, 81%) est utilisé brut dans l'étape suivante.

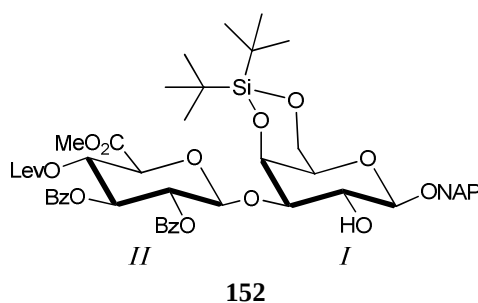
2-naphtylméthyl 4,6-O-di-*tert*-butylsilylène-β-D-galactopyranoside
(C₂₅H₃₆O₆Si, M = 460,64 g.mol⁻¹)



Le tétrol **146** (8,95 g, 27,9 mmol, 1 éq.) est dissous dans le CH₂Cl₂ anhydre (150 mL) sous argon. A 0°C, la 2,6-lutidine (9,05 mL, 78,1 mmol, 2,8 éq.) et le diTBSdiOTf (10,85 mL, 33,5 mmol, 1,2 éq.) sont ajoutés. La réaction est suivie par CCM (EP / AcOEt 1 / 1). Le mélange réactionnel est agité pendant 4h à température ambiante puis lavé successivement avec de l'eau, une solution de HCl 1M puis une solution saturée de NaHCO₃ et à nouveau avec de l'eau. La phase organique est ensuite séchée au MgSO₄, filtrée et concentrée sous pression réduite. Le produit brut est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (EP / AcOEt 1 / 1) pour donner le diol **151** sous forme d'une mousse jaunâtre (6,7 g, 52%).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 7,81-7,46 (m, 7H ; Ar-*H*), 4,95 (ABq, 2H ; Ar-CH₂ (*NAP*)), 4,38 (d, *J*_{1,2} = 8,0 Hz, 1H ; H-1), 4,38-4,37 (m, 1H ; H-5), 4,28 (s, 2H ; H-6a,b), 3,77 (dd, *J*_{1,2} = *J*_{2,3} = 8,0 Hz, 1H ; H-2), 3,53-3,48 (m, 1H ; H-3), 3,43-3,41 (m, 1H ; H-4), 2,67 (d, *J*_{3,HO} = 10,0 Hz, 1H ; OH-3), 2,54-2,52 (m, 1H ; OH-2), 1,08-1,06 (m, 18H ; 2 x (CH₃)₃)

2-naphtylméthyl O-(méthyl 2,3-di-O-benzoyl-4-O-levulinoyl-β-D-glucopyranosyluronate)-(1→3)-4,6-O-di-*tert*-butylsilylène-β-D-galactopyranoside
(C₅₁H₆₀O₁₆Si, M = 957,10 g.mol⁻¹)

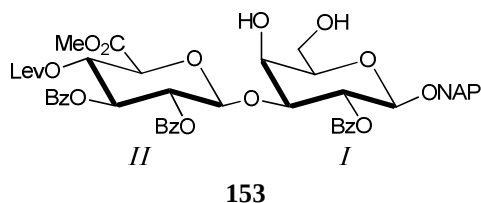


L'imidate **82** (1,42 g, 2,15 mmol, 1,3 éq.) ainsi que le composé **151** (760 mg, 1,65 mmol, 1 éq.) sont dissous dans le CH₂Cl₂ (25 mL) avec une pointe de tamis moléculaire 4 Å sous argon. Le mélange est agité 30 min. Le BF₃.Et₂O (329 μL, 0,329 mmol, 0,2 éq. / imidate) est ajouté goutte à goutte à 0°C. La solution est agitée 20 min, en remontant doucement à température ambiante. De la triéthylamine (0,5 mL) est ajoutée pour stopper la réaction. Le tamis est filtré et le filtrat est concentré. Le résidu est purifié par colonne chromatographique

de gel de silice (EP / AcOEt 1 / 1) afin d'obtenir le produit **152** sous la forme d'une mousse blanche (810 mg, 51%).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 7,93-7,32 (m, 17H ; Ar-*H*), 5,57 (dd, $J_{2,3'} = J_{3,4} = 9,5$ Hz, 1H ; H-3^{II}), 5,53-5,47 (m, 2H ; H-2^{II}, H-4^{II}), 5,38 (d, $J_{1,2} = 7,5$ Hz, 1H ; H-1^{II}), 4,75 (ABq, 2H ; Ar-CH₂ (*NAP*)), 4,51 (dd, $J_{3,4} = 2,0$ Hz, $J_{4,5} < 1,0$ Hz, 1H ; H-4^I), 4,37 (d, $J_{1,2} = 7,5$ Hz, 1H ; H-1^I), 4,23-4,18 (m, 2H ; H-6^{Ia,b}), 4,19 (d, $J_{4,5} = 10,0$ Hz, 1H ; H-5^{II}), 3,99-3,95 (m, 1H ; H-2^I), 3,78 (s, 3H ; COOCH₃), 3,64 (dd, $J_{2,3} = 9,0$ Hz, $J_{3,4} = 2,0$ Hz, 1H ; H-3^I), 3,36 (m, 1H ; H-5^I), 2,60-2,41 (m, 4H ; CH₂C(O) (*lev*)), 2,35 (s, 3H ; C(O)CH₃ (*lev*)), 1,01-0,98 (m, 18H ; 2 x (CH₃)₃)

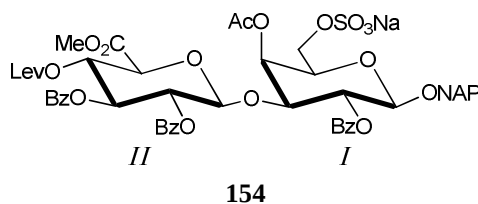
2-naphtylméthyl O-(méthyl 2,3-di-O-benzoyl-4-O-levulinoyl- β -D-glucopyranosyluronate)-(1 $\rightarrow$ 3)-2-O-benzoyl- β -D-galactopyranoside
(C₅₀H₄₈O₁₇, M = 920,91 g.mol⁻¹)



Le disaccharide **137** (127 mg, 0,120 mmol, 1 éq.) est solubilisé dans du THF anhydre (4 mL) et la 3HF.Et₃N (39 μ L, 0,239 mmol, 2 éq.) est ajoutée à 0°C. La réaction est agitée 3h30 à température ambiante. De l'eau est ensuite ajoutée et le milieu est décanté. La phase organique est ensuite lavée avec une solution saturée de NaHCO₃ puis avec de l'eau. Le résidu est purifié par colonne chromatographique (éluant CH₂Cl₂ / MeOH 19 / 1) et le produit **153** est obtenu sous forme d'un solide visqueux blanchâtre (97 mg, 88%).

¹H RMN (250 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 7,81-7,07 (m, 22H ; Ar-*H*), 5,61-5,53 (m, 2H ; H-2^I, H-3^{II}), 5,46-5,35 (m, 2H ; H-2^{II}, H-4^{II}), 4,93 (d, $J_{1,2} = 7,0$ Hz, 1H ; H-1^{II}), 4,86 (ABq, 2H ; Ar-CH₂ (*NAP*)), 4,54 (d, $J_{1,2} = 8,0$ Hz, 1H ; H-1^I), 4,23-4,18 (m, 2H ; H-4^I, H-5^{II}), 4,12-4,04 (m, 1H ; H-3^I), 3,93-3,88 (m, 2H ; H-6^{Ia,b}), 3,77 (s, 3H ; COOCH₃), 3,63-3,58 (m, 1H ; H-5^I), 3,18 (bs, 1H ; OH), 2,65-2,30 (m, 4H ; CH₂C(O) (*lev*)), 2,02 (s, 3H ; C(O)CH₃ (*lev*)), 1,68 (bs, 1H ; OH)

2-naphtylméthyl O-(méthyl 2,3-di-O-benzoyl-4-O-levulinoyl- β -D-glucopyranosyluronate)-(1 $\rightarrow$ 3)-sodium 4-O-acétyl-2-O-benzoyl-6-O-sulfonato- β -D-galactopyranoside
(C₅₂H₄₉NaO₂₁S, M = 1064,99 g.mol⁻¹)



Une solution du diol **153** (79 mg, 0,086 mmol, 1 éq.) et de Me₃N.SO₃ (30 mg, 0,216 mmol, 2,5 éq.) dans la DMF (2 mL) est agitée pendant 5h à 40°C sous argon. La réaction est suivie par CCM (CH₂Cl₂ / MeOH 9 / 1). Le mélange est ensuite refroidi à température ambiante puis 1 mL de MeOH est ajouté. Le mélange est ensuite agité 40 min sous argon puis il est concentré. Le résidu est directement engagé dans une réaction d'acétylation en présence d'anhydride acétique (1,5 mL) et de pyridine (3 mL). Après une nuit, le milieu est concentré et coévaporé au toluène. Une première chromatographie sur colonne de gel de silice est effectuée (CH₂Cl₂ / MeOH 9 / 1). Puis une colonne de résine échangeuse d'ions Sephadex SP C25 [Na⁺] est réalisée (CH₂Cl₂ / MeOH / H₂O 9 / 5 / 1). Enfin une autre colonne de silice (CH₂Cl₂ / MeOH 9 / 1) est nécessaire pour obtenir le produit attendu **154** sous forme d'un solide amorphe jaunâtre (55 mg, 60%).

Rf : 0,28 (CH₂Cl₂ / MeOH 9 / 1)

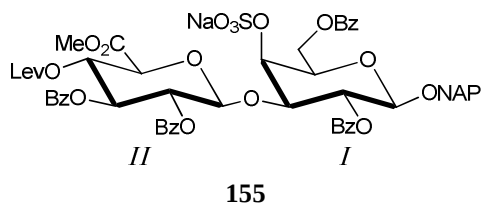
[α]_D²⁰ = + 35,7 (*c* = 1,00, CHCl₃)

HRMS : *m/z* : calculée pour C₅₂H₅₁O₂₁S [M+2H-Na]⁺ : 1043,263806 ; mesurée : 1043,263567

¹H RMN (250 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 7,75-7,03 (m, 22H ; Ar-*H*), 5,87 (dd, *J*_{3,4} = 3,5 Hz, *J*_{4,5} < 1,0 Hz, 1H ; H-4^I), 5,57-5,52 (m, 2H ; H-2^I, H-3^{II}), 5,36-5,30 (m, 2H ; H-2^{II}, H-4^{II}), 5,06 (d, *J*_{1,2} = 7,5 Hz, 1H ; H-1^{II}), 4,77 (ABq, 2H ; Ar-CH₂ (NAP)), 4,65 (d, *J*_{1,2} = 8,0 Hz, 1H ; H-1^I), 4,39-4,22 (m, 5H ; H-3^I, H-5^I, H-6^I_{a,b}, H-5^{II}), 3,86 (s, 3H ; COOCH₃), 2,52-2,42 (m, 4H ; CH₂C(O) (*lev*)), 2,26 (s, 3H ; C(O)CH₃ (*lev*)), 1,99 (s, 3H ; OC(O)CH₃)

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 206,62, 172,53, 171,41, 169,00, 165,38, 164,66, 164,57 (7C ; C-6^{II}, C=O), 134,49, 133,01, 132,75, 132,68, 129,66, 129,57, 129,53, 129,42, 128,70, 128,28, 128,13, 128,00, 127,89, 127,86, 127,45, 126,30, 125,79, 125,64, 125,54 (28C ; Ar-C), 100,73 (1C ; C-1^{II}), 100,01 (1C ; C-1^I), 77,91 (1C ; C-3^I), 72,42 (1C ; C-5^I), 72,21 (1C ; C-3^{II}), 71,21 (2C ; C-2^I, C-5^{II}), 71,08 (1C ; C-2^{II}), 70,60 (2C ; C-6^I, Ar-CH₂ (NAP)), 69,95 (1C ; C-4^{II}), 69,56 (1C ; C-4^I), 53,75 (1C ; COOCH₃), 37,49, 27,62 (2C ; CH₂C(O) (*Lev*)), 29,52 (1C ; OC(O)CH₃), 21,07 (1C ; C(O)CH₃ (*Lev*))

2-naphtylméthyl O-(méthyl 2,3-di-O-benzoyl-4-O-levulinoyl-β-D-glucopyranosyluronate)-(1→3)-sodium 2,6-di-O-benzoyl-4-O-sulfonato-β-D-galactopyranoside
(C₅₇H₅₁NaO₂₁S, M = 1127,06 g.mol⁻¹)



Une solution du composé **156** (124 mg, 0,121 mmol, 1 éq.) et de Me₃N.SO₃ (167 mg, 1,20 mmol, 10 éq.) dans du DMF (2,5 mL) est agitée à 60°C sous argon. La réaction est suivie par CCM (CH₂Cl₂ / MeOH 12 / 1). Après 21h, la réaction étant incomplète, du Me₃N.SO₃ (84 mg, 0,604 mmol, 5 éq.) est ajouté et l'agitation est laissée à 60°C pendant 21h. Après 21h puis 24h, la réaction n'étant toujours pas complète, du Me₃N.SO₃ (167 mg, 1,20 mmol, 10 éq. puis 334 mg, 2,40 mmol, 20 éq. respectivement) est ajouté les deux fois et la réaction est laissée 48h de plus. L'excès de réactif est hydrolysé à température ambiante par du MeOH (2 mL). Le mélange est directement purifié sur colonne Sephadex LH-20 (CH₂Cl₂ / MeOH 1 / 1) puis sur une colonne de gel de silice (CH₂Cl₂ / MeOH 12 / 1). Une colonne de résine échangeuse d'ions Sephadex SP C25 [Na⁺] (CH₂Cl₂ / MeOH / H₂O 9 / 5 / 1) donne le produit désiré **155** (85 mg, 62%) sous forme d'un solide amorphe blanchâtre.

Rf : 0,11 (CH₂Cl₂ / MeOH 12 / 1)

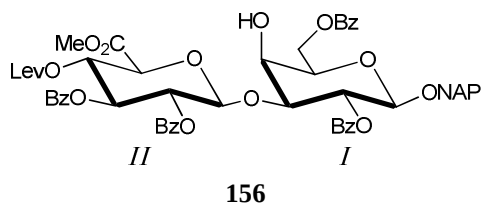
[α]_D²⁰ = + 53,2 (c = 1,01, CH₂Cl₂ / MeOH / H₂O 9 / 5 / 1)

HRMS : m/z : calculée pour C₅₇H₅₁O₂₁S [M-Na]⁻ : 1103,264903 ; trouvée : 1103,264686

¹H RMN (250 MHz, CDCl₃/MeOD/D₂O) : δ (ppm) 8,17-7,01 (m, 27H ; Ar-H), 5,63-5,38 (m, 4H ; H-2^I, H-2^{II}, H-3^{II}, H-4^{II}), 5,08-5,07 (dd, J_{3,4} = 3,0 Hz, J_{4,5} < 1,0 Hz, 1H ; H-4^I), 5,01 (d, J_{1,2} = 7,5 Hz, 1H ; H-1^{II}), 4,87-4,68 (m, 3H ; H-6^{Ia,b}, Ar-CH₂ (NAP)), 4,55-4,40 (m, 1H ; H-1^I), 4,27 (d, J_{4,5} = 9,5 Hz, 1H ; H-5^{II}), 4,10 (dd, J_{2,3} = 10,0 Hz, J_{3,4} = 3 Hz, 1H ; H-3^I), 4,01 (m, 1H ; H-5^I), 3,76 (s, 3H ; COOCH₃), 2,65-2,32 (m, 4H ; CH₂C(O) (lev)), 2,02 (s, 3H ; C(O)CH₃ (lev))

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃/MeOD/D₂O) : δ (ppm) 208,66, 175,55, 168,82, 167,79, 166,78, 166,26, 166,15 (7C ; C-6^{II}, C=O), 134,50, 134,42, 134,23, 133,81, 133,79, 130,73, 130,49, 130,43, 130,37, 130,24, 129,83, 129,39, 129,28, 129,20, 129,18, 128,95, 128,88, 128,45, 128,29, 127,78, 126,82, 126,79, 126,51 (34C ; Ar-C), 102,63 (1C ; C-1^{II}), 99,33 (1C ; C-1^I), 78,1 (1C ; C-3^I), 76,27 (1C ; C-4^I), 73,63 (1C ; C-5^I), 73,39, 72,70, 70,31 (3C ; C-2^{II}, C-3^{II}, C-4^{II}), 72,92 (1C ; C-5^{II}), 71,90 (1C ; C-2^I), 70,64 (1C ; Ar-CH₂ (NAP)), 65,17 (1C ; C-6^I), 53,78 (1C ; COOCH₃), 38,19 (2C ; CH₂C(O) (Lev)), 29,75 (1C ; C(O)CH₃ (Lev))

2-naphtylméthyl O-(méthyl 2,3-di-O-benzoyl-4-O-levulinoyl-β-D-glucopyranosyluronate)-(1→3)-2,6-di-O-benzoyl-β-D-galactopyranoside
(C₅₇H₅₂O₁₈, M = 1025,01 g.mol⁻¹)



Sous argon, le diol **153** (97 mg, 0,105 mmol, 1 éq.) est dissous dans la pyridine (1,5 mL) et le BzCN (28 mg, 0,214 mmol, 2 éq.) est ajouté. Le mélange est agité pendant 24h à température ambiante. La réaction est stoppée en ajoutant du méthanol et laissée agiter pendant 30 min sous argon. Des lavages à l'eau puis au NaHCO₃ et une fois supplémentaire à l'eau sont effectués. La phase organique est séchée, filtrée, évaporée puis coévaporée au toluène. Le résidu obtenu est purifié sur colonne chromatographique (éluant CH₂Cl₂ / acétone 12 / 1) et le produit **156** est obtenu sous forme d'un solide blanc (81 mg, 75%).

Rf : 0,78 (CH₂Cl₂ / MeOH 12 / 1)

[α]_D²⁰ = + 49,9 (*c* = 1,03, CHCl₃)

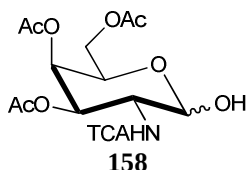
F = 230-232°C (AcOEt à chaud / EP)

HRMS : *m/z* : calculée pour C₅₇H₅₂NaO₁₈ [M+Na]⁺ : 1047,304586 ; trouvée : 1047,304732

¹H RMN (250 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 8,14-7,08 (m, 27H ; Ar-*H*), 5,62-5,54 (m, 2H ; H-2^I, H-3^{II}), 5,46-5,36 (m, 2H ; H-2^{II}, H-4^{II}), 4,95-4,91 (d, *J*_{1,2} = 7,0 Hz, 1H ; H-1^{II}), 4,84 (ABq, 2H ; Ar-CH₂ (NAP)), 4,79-4,70 (m, 2H ; H-6^Ia,b), 4,48 (d, *J*_{1,2} = 8,0 Hz, 1H ; H-1^I), 4,27 (dd, *J*_{3,4} = 3,0 Hz, *J*_{4,5} < 1,0 Hz, 1H ; H-4^I), 4,18 (d, *J*_{4,5} = 9,5 Hz, 1H ; H-5^{II}), 3,93-3,86 (m, 2H ; H-3^I, H-5^I), 3,71 (s, 3H ; COOCH₃), 3,09 (bs, 1H ; OH), 2,61-2,30 (m, 4H ; CH₂C(O) (*lev*)), 2,03 (s, 3H ; C(O)CH₃ (*lev*))

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 205,61, 171,14, 167,02, 166,38, 165,48, 164,63, 164,58 (7C ; C-6^{II}, C=O), 134,24, 133,44, 133,26, 132,89, 132,74, 129,90, 129,85, 129,82, 129,77, 129,58, 129,54, 129,47, 128,55, 128,51, 128,48, 128,45, 128,38, 128,17, 128,08, 127,79, 127,54, 126,82, 125,93, 125,85 (34C ; Ar-C), 101,28 (1C ; C-1^{II}), 98,70 (1C ; C-1^I), 80,97, 72,12 (2C ; C-3^I, C-5^{II}), 72,39 (1C ; C-5^I), 71,77, 70,52 (2C ; C-2^I, C-3^{II}), 71,31, 69,29 (2C ; C-2^{II}, C-4^{II}), 69,62 (1C ; Ar-CH₂ (NAP)), 68,41 (1C ; C-4^I), 63,53 (1C ; C-6^I), 53,13 (1C ; COOCH₃), 37,62, 27,71 (2C ; CH₂C(O) (*Lev*)), 29,56 (1C ; C(O)CH₃ (*Lev*))

3,4,6-tri-O-acétyl-2-désoxy-2-trichloroacétamido-β-D-galactopyranose
(C₁₄H₁₈Cl₃NO₉, M = 450,65 g.mol⁻¹)



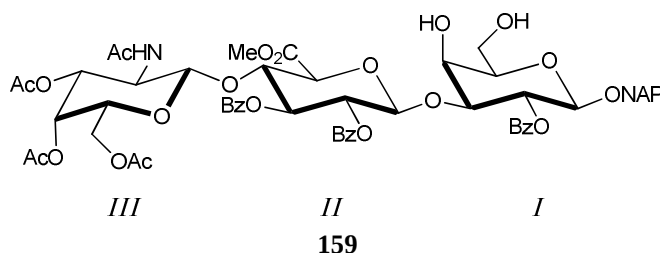
Le composé **157** (999 mg, 2,32 mmol, 1 éq.) est dissous dans la pyridine (10 mL) et l'anhydride acétique (5 mL), et est agité sous argon pendant une nuit. Le milieu est ensuite concentré puis coévaporé. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (EP / AcOEt 1 / 1) pour donner le produit acétylé correspondant sous forme d'un solide blanc (1,2 g, 93%).

¹H RMN (250 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 7,00-6,78 (m, 4H ; Ar-H), 6,74 (d, *J*_{2,NH} = 10,0 Hz, 1H ; NH), 5,46-5,43 (m, 2H ; H-3, H-4), 5,10 (d, *J*_{1,2} = 8,0 Hz, 1H ; H-1), 4,39-4,04 (m, 4H ; H-2, H-5, H-6a,b), 3,77 (s, 3H ; OCH₃), 2,20, 2,07, 2,02 (3s, 9H ; 3 x OC(O)CH₃)

La RMN est conforme à celle de la littérature.⁷⁴

Le composé peracétylé (1,2 g, 2,16 mmol, 1 éq.) est dissous dans le mélange de solvants suivant : toluène / acétonitrile / eau 1 / 2 / 1 (15 mL / 30 mL / 15 mL). Le CAN (6 g, 10,9 mmol, 5 éq.) est ajouté et le mélange est agité à température ambiante. La réaction est suivie par CCM (EP / AcOEt 2 / 1). Après 4h, une spatule de CAN est ajoutée et la réaction est stoppée après 5h. De l'eau glacée est ajoutée et la phase aqueuse est extraite avec de l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée avec une solution de NaCl saturée puis avec de l'eau, séchée sur MgSO₄, filtrée puis concentrée. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (EP / AcOEt 2 / 1 + 0,1% de Et₃N) pour donner l'hémiacétal **158** sous forme d'une mousse rosâtre (605 mg, 61%).

**2-naphtylméthyl O-(2-acétamido-3,4,6-tri-O-acétyl-2-désoxy-β-D-galactopyranosyl)-
 (1→4)-O-(méthyl 2,3-di-O-benzoyl-β-D-glucopyranosyluronate)-(1→3)-2-O-benzoyl-β-D-
 galactopyranoside**
(C₅₉H₆₁NO₂₃, M = 1152,11 g.mol⁻¹)



Une solution de trisaccharide **162** (137 mg, 0,106 mmol, 1 éq.) et de 3HF.Et₃N (35 µL, 0,212 mmol, 2 éq.) dans du THF anhydre (5 mL) est agitée 3h30 à 0°C. La réaction est suivie par

CCM (CH₂Cl₂ / MeOH 15 / 1). De l'eau est ensuite ajoutée et le milieu est décanté. La phase organique est ensuite lavée avec une solution saturée de NaHCO₃ puis avec de l'eau. Le résidu est purifié par colonne chromatographique (CH₂Cl₂ / MeOH 17 / 1) et le composé **159** est obtenu sous forme d'une poudre blanche (78 mg, 64%).

Rf : 0,33 (CH₂Cl₂ / MeOH 15 / 1)

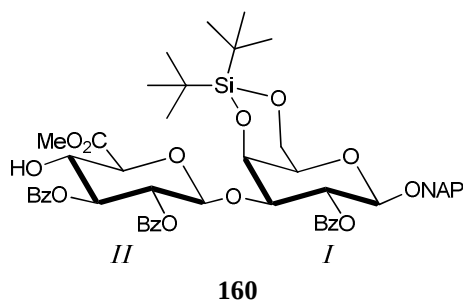
[α]_D²⁰ = + 23,8 (c = 1,01, CHCl₃)

HRMS : *m/z* : calculée pour C₅₉H₆₂NO₂₃ [M+H]⁺ : 1152,370714 ; trouvée : 1152,368605

¹H RMN (250 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 7,87-7,07 (m, 22H ; Ar-*H*), 5,82 (d, *J*_{NH-2} = 9,0 Hz, 1H ; NH), 5,61-5,49 (m, 2H ; H-2^I, H-3^{II}), 5,39-5,33 (m, 1H ; H-2^{II}), 5,08-5,03 (m, 2H, H-3^{III}, H-4^{III}), 4,87 (ABq, 2H ; Ar-CH₂ (NAP)), 4,94 (d, *J*_{1,2} = 7,0 Hz, 1H ; H-1^{II}), 4,73 (d, *J*_{1,2} = 8,0 Hz, 1H ; H-1^{III}), 4,54 (d, *J*_{1,2} = 8,0 Hz, 1H ; H-1^I), 4,44 (dd, *J*_{3,4} = *J*_{4,5} = 9,5 Hz, 1H ; H-4^{II}), 4,25-4,23 (m, 1H ; H-4^I), 4,21 (d, *J*_{4,5} = 9,5 Hz, 1H ; H-5^{II}), 4,05-4,03 (m, 1H ; H-6^{IIIa}), 3,90-3,85 (m, 6H ; H-3^I, H-6^{IIIb}, H-2^{III}, COOCH₃), 3,64-3,52 (m, 2H ; H-5^I ; H-5^{III}), 3,38-3,27 (m, 2H ; H-6^{Ia,b}), 1,94, 1,93, 1,91, 1,89 (4s, 12H ; 3 x OC(O)CH₃, NHC(O)CH₃)

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 170,66, 170,58, 170,20, 170,02, 168,92, 165,14, 165,10 (8C ; C-6^{II}, C=O), 134,40, 133,35, 133,06, 133,03, 132,96, 132,87, 129,65, 129,58, 129,42, 129,36, 128,58, 128,39, 128,29, 128,21, 128,11, 127,89, 127,63, 126,81, 126,05, 125,95, 125,91 (28C ; Ar-C), 101,60 (1C ; C-1^{II}), 101,16 (1C ; C-1^{III}), 99,33 (1C ; C-1^I), 81,90 (1C ; C-3^I), 76,47 (1C ; C-4^{II}), 74,57 (1C ; C-5^{III}), 73,80 (1C ; C-5^{II}), 72,84 (1C ; C-3^{II}), 71,49 (1C ; C-2^{II}), 70,57 (1C ; C-2^I), 70,48 (1C ; C-3^{III}), 70,36 (1C ; C-5^I), 70,08 (1C ; Ar-CH₂), 68,71 (1C ; C-4^I), 66,11 (1C ; C-4^{III}), 61,96 (1C ; C-6^{III}), 60,26 (1C ; C-6^I), 53,46 (1C ; COOCH₃), 51,08 (1C ; C-2^{III}), 23,38 (1C ; NHC(O)CH₃), 20,68, 20,61, 20,59 (3C ; 3 x OC(O)CH₃)

2-naphtylméthyl O-(méthyl 2,3-di-O-benzoyl-β-D-glucopyranosyluronate)-(1→3)-2-O-benzoyl-4,6-O-di-*tert*-butylsilylène-β-D-galactopyranoside
(C₅₃H₅₈O₁₅Si, M = 963,10 g.mol⁻¹)

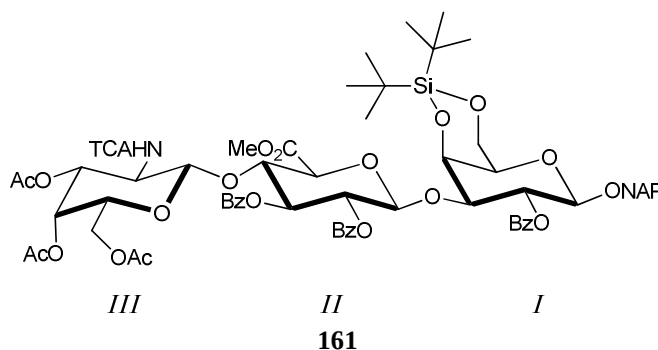


Une solution de disaccharide **137** (250 mg, 0,236 mmol, 1 éq.) dans la pyridine (2,5 mL) est traitée par une solution de pyridine / acide acétique / hydrazine (12 / 8 / 1 mL / mmol) à température ambiante et sous argon pendant 8 min. De l'eau est ensuite ajoutée et la phase

aqueuse est extraite avec du CH_2Cl_2 . La phase organique est lavée successivement avec de l'eau puis avec une solution saturée de NaHCO_3 et à nouveau avec de l'eau, séchée sur MgSO_4 , évaporée et coévaporée au toluène. Le résidu obtenu est purifié par colonne chromatographique sur gel de silice (éluant EP / AcOEt 3 / 2) afin d'obtenir le produit **160** sous la forme d'un solide blanc (199 mg, 88%).

^1H RMN (250 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 7,90-7,03 (m, 22H ; Ar-H), 5,64 (dd, $J_{1,2} = 8,0$ Hz, $J_{2,3} = 10,0$ Hz, 1H ; H-2^I), 5,44-5,26 (m, 2H ; H-2^{II}, H-3^{II}), 4,94 (d, $J_{1,2} = 7,0$ Hz, 1H ; H-1^{II}), 4,85 (ABq, 2H ; Ar- CH_2 (NAP)), 4,68 (dd, $J_{3,4} = 3,0$ Hz, $J_{4,5} < 1,0$ Hz, 1H ; H-4^I), 4,50 (d, $J_{1,2} = 8,0$ Hz, 1H ; H-1^I), 4,30 (m, 2H ; H-6^{Ia,b}), 4,23-4,15 (m, 1H ; H-4^{II}), 3,99 (d, $J_{4,5} = 10,0$ Hz, 1H ; H-5^{II}), 3,86 (dd, $J_{2,3} = 10,0$ Hz, $J_{3,4} = 3,0$ Hz, 1H ; H-3^I), 3,80 (s, 3H ; COOCH_3), 3,43-3,38 (m, 2H ; H-5^I, OH), 1,07-1,06 (m, 18H ; 2 x $(\text{CH}_3)_3$)

2-naphtylméthyl O-(3,4,6-tri-O-acétyl-2-désoxy-2-trichloroacétamido- β -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(méthyl 2,3-di-O-benzoyl- β -D-glucopyranosyluronate)-(1 $\rightarrow$ 3)-2-O-benzoyl-4,6-O-di-*tert*-butylsilylène- β -D-galactopyranoside
($\text{C}_{67}\text{H}_{74}\text{Cl}_3\text{NO}_{23}\text{Si}$, $M = 1395,74 \text{ g.mol}^{-1}$)



L'imidate **111** (160 mg, 0,269 mmol, 1,3 équ.) ainsi que le disaccharide **160** (199 mg, 0,207 mmol, 1 équ.) sont dissous dans le CH_2Cl_2 (2,5 mL) avec une pointe de tamis moléculaire 4 Å sous argon et agité 3h. Le TMSOTf 1M (67,1 μL , 0,067 mmol, 0,25 équ. / imidate) est ajouté goutte à goutte à température ambiante. La solution est agitée 45 min. De la triéthylamine (0,5 mL) est ajoutée pour stopper la réaction. Le tamis est filtré et le filtrat est concentré. Le résidu est purifié par colonne chromatographique de gel de silice (EP / AcOEt 1 / 1) afin d'obtenir le produit **161** sous la forme d'un solide blanc (235 mg, 82%).

Rf : 0,35 (EP / AcOEt 1 / 1)

$[\alpha]_D^{20}$ = + 13,6 ($c = 0,97$, CHCl_3)

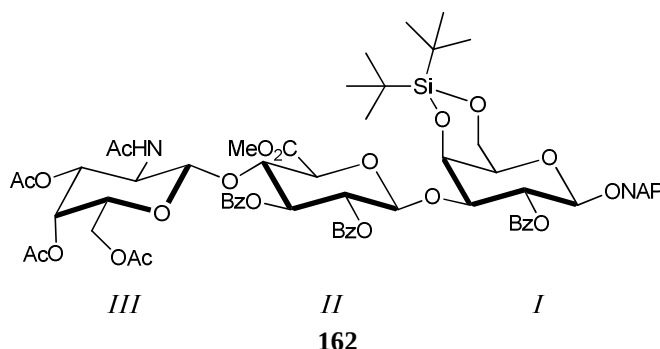
HRMS : m/z : calculée pour $\text{C}_{67}\text{H}_{75}\text{Cl}_3\text{NO}_{23}\text{Si}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 1394,355924 ; trouvée : 1394,355047

^1H RMN (250 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 7,89-6,99 (m, 22H ; Ar-H), 6,71 (d, $J_{\text{NH}-2} = 8,5$ Hz, 1H ; NH), 5,63 (dd, $J_{1,2} = 8,0$ Hz, $J_{2,3} = 10,0$ Hz, 1H ; H-2^I), 5,53-5,36 (m, 2H ; H-2^{II}, H-3^{II}), 5,12-5,08 (m, 2H ; H-3^{III}, H-4^{III}), 4,98 (d, $J_{1,2} = 7,5$ Hz, 1H ; H-1^{II}), 4,89 (d, $J_{1,2} = 8,5$ Hz, 1H ;

H-1^{III}), 4,82 (ABq, 2H ; Ar-CH₂ (NAP)), 4,64 (dd, $J_{3,4} = 3,0$ Hz, $J_{4,5} < 1,0$ Hz, 1H ; H-4^I), 4,48 (d, $J_{1-2} = 8,0$ Hz, 1H ; H-1^I), 4,30-4,22 (m, 3H ; H-4^{II}, H-6^{III}a,b), 4,03 (d, $J_{4-5} = 9,5$ Hz, 1H ; H-5^{II}), 3,90 (ddd, $J_{1,2} = J_{NH-2} = 8,5$ Hz, $J_{2,3} = 11,0$ Hz, 1H ; H-2^{III}), 3,81 (dd, $J_{2,3} = 10,0$ Hz, $J_{3,4} = 3,0$ Hz, 1H ; H-3^I), 3,79 (s, 3H ; COOCH₃), 3,68-3,63 (m, 1H ; H-5^I), 3,42-3,41 (m, 1H ; H-5^{III}), 3,23-3,20 (m, 2H ; H-6^Ia,b), 2,00, 1,95, 1,92 (3s, 9H ; 3 x OC(O)CH₃), 1,10, 1,05 (2s, 18H ; 2 x (CH₃)₃)

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 170,31, 170,11, 170,01, 168,82, 165,36, 164,97, 164,82, 161,70 (8C ; C-6^{II}, C=O), 134,82, 133,31, 133,15, 132,98, 132,88, 132,81, 129,89, 129,73, 129,61, 128,94, 128,39, 128,33, 128,12, 128,07, 127,90, 127,71, 126,61, 126,05, 125,92, 125,88 (28C ; Ar-C), 102,25 (1C ; C-1^{II}), 99,93 (1C ; C-1^{III}), 99,50 (1C ; C-1^I), 80,47 (1C ; C-3^I), 76,19 (1C ; C-4^{II}), 73,94 (1C ; C-5^{II}), 72,88 (1C ; C-4^I), 72,54 (1C ; C-3^{II}), 71,62 (1C ; C-5^{III}), 71,33 (1C ; C-2^{II}), 70,91 (1C ; C-5^I), 70,58 (1C ; C-2^I), 69,90 (1C ; C-3^{III}), 69,86 (1C ; Ar-CH₂ (NAP)), 67,20 (1C ; C-6^{III}), 66,27 (1C ; C-4^{III}), 60,28 (1C ; C-6^I), 53,31 (1C ; COOCH₃), 53,07 (1C ; C-2^{III}), 27,65, 27,56 (6C ; 2 x (CH₃)₃), 23,56, 20,87 (2C ; C(CH₃)₃), 20,79, 20,58, 20,55 (3C ; 3 x OC(O)CH₃)

2-naphtylméthyl O-(2-acétamido-3,4,6-tri-O-acétyl-2-désoxy- β -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(méthyl 2,3-di-O-benzoyl- β -D-glucopyranosyluronate)-(1 $\rightarrow$ 3)-2-O-benzoyl-4,6-O-di-*tert*-butylsilylène - β -D-galactopyranoside
(C₆₇H₇₇NO₂₃Si, M = 1292,41 g.mol⁻¹)



Une solution de trisaccharide **161** (114 mg, 0,082 mmol, 1 éq.) dans de l'acide acétique (1,5 mL) est chauffée à 50°C sous argon. Le couple Zn / Cu est ajouté par portion de 3 éq. pendant 5h (155 mg = 5 x 31 mg, 1,21 mmol, 15 éq.) puis le mélange est agité pendant 20h à 50°C. Le mélange est filtré sur de la célite qui est rincée successivement avec de l'AcOEt, du toluène et du CH₂Cl₂. Le filtrat est évaporé et le résidu est purifié par colonne chromatographique (CH₂Cl₂ / MeOH 19 / 1) pour donner le composé sous la forme d'une mousse blanche **162** (89 mg, 84%).

Rf : 0,62 (CH₂Cl₂ / MeOH 19 / 1)

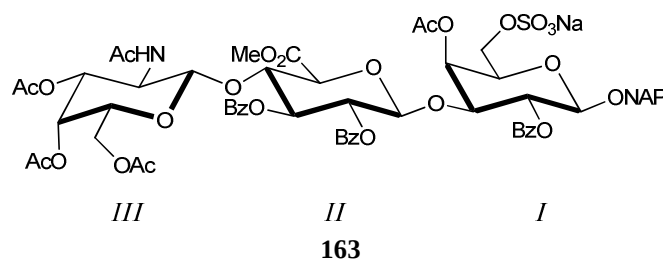
[α]_D²⁰ = +19,6 ($c = 1,02$, CHCl₃)

HRMS : m/z : calculée pour C₆₇H₇₈NO₂₃Si [M+H]⁺ : 1292,472841 ; trouvée : 1292,471422

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 7,87-7,02 (m, 22H ; Ar-H), 5,63 (dd, $J_{1,2} = 8,0$ Hz, $J_{2,3} = 10,0$ Hz, 1H ; H-2^I), 5,50-5,44 (m, 2H ; H-3^{II}, NH), 5,38 (dd, $J_{1,2} = J_{2,3} = 7,0$ Hz, 1H ; H-2^{II}), 5,13-5,06 (m, 2H ; H-3^{III}, H-4^{III}), 5,00 (d, $J_{1,2} = 7,0$ Hz, 1H ; H-1^{II}), 4,84 (ABq, 2H ; Ar-CH₂ (NAP)), 4,66 (d, $J_{1,2} = 8,0$ Hz, 1H ; H-1^{III}), 4,62 (dd, $J_{3,4} = 3,0$ Hz, $J_{4,5} < 1,0$ Hz, 1H ; H-4^I), 4,48 (d, $J_{1,2} = 8,0$ Hz, 1H ; H-1^I), 4,29-4,24 (m, 3H ; H-4^{II}, H-6^Ia,b), 4,07 (d, $J_{4,5} = 10,0$ Hz ; H-5^{II}), 3,83-3,78 (m, 4H ; H-3^I, COOCH₃), 3,78-3,67 (m, 1H ; H-2^{III}), 3,52 (m, 1H ; H-5^{III}), 3,41 (m, 1H ; H-5^I), 3,29-3,25 (m, 2H ; H-6^{III}a,b), 1,92, 1,91, 1,90, 1,89 (4s, 12H ; 3 x OC(O)CH₃, NHC(O)CH₃), 1,11, 1,07 (2s, 18H ; 2 x (CH₃)₃)

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 170,47, 170,41, 170,14, 170,08, 168,27, 165,27, 164,93, 164,87 (8C ; C-6^{II}, C=O), 134,80, 133,33, 133,13, 132,96, 132,84, 132,81, 129,86, 129,70, 129,62, 128,93, 128,37, 128,35, 128,09, 128,05, 127,89, 127,69, 126,57, 126,02, 125,89, 125,85 (28C ; Ar-C), 102,04 (1C ; C-1^{II}), 100,53 (1C ; C-1^{III}), 99,53 (1C ; C-1^I), 80,38 (1C ; C-3^I), 76,60 (1C ; C-4^{II}), 74,39 (1C ; C-5^{II}), 72,93 (1C ; C-4^I), 72,72 (1C ; C-3^{II}), 71,56 (2C ; C-5^{III}, C-2^{II}), 70,54 (1C ; C-5^I), 70,52 (1C ; C-2^I), 69,92 (1C ; C-3^{III}), 69,88 (1C ; Ar-CH₂ (NAP)), 67,12 (1C ; C-6^I), 66,21 (1C ; C-4^{III}), 60,34 (1C ; C-6^{III}), 53,19 (1C ; COOCH₃), 51,73 (1C ; C-2^{III}), 27,64, 27,57 (6C ; 2 x (CH₃)₃), 23,56, 20,86 (2C ; 2 x C(CH₃)₃), 23,48 (1C ; NHC(O)CH₃), 20,73, 20,71, 20,61 (3C ; 3 x OC(O)CH₃)

2-naphtylméthyl O-(2-acétamido-3,4,6-tri-O-acétyl-2-désoxy-β-D-galactopyranosyl)-(1→4)-O-(méthyl 2,3-di-O-benzoyl-β-D-glucopyranosyluronate)-(1→3)-sodium 4-O-acétyl-2-O-benzoyl-6-O-sulfonato-β-D-galactopyranoside
(C₆₁H₆₂NNaO₂₇S, M = 1296,19 g.mol⁻¹)



Une solution du diol **159** (78 mg, 0,068 mmol, 1 équ.) et de Me₃N.SO₃ (24 mg, 0,172 mmol, 2,5 équ.) dans la DMF (2 mL) est agitée pendant 5h à 40°C sous argon. La réaction est suivie par CCM (CH₂Cl₂ / MeOH 9 / 1). Le mélange est ensuite refroidi à température ambiante puis 1 mL de MeOH est ajouté. Le mélange est ensuite agité 40 min sous argon puis il est concentré. Le résidu est directement engagé dans une réaction d'acétylation en présence d'anhydride acétique (1,5 mL) et de pyridine (3 mL). Après une nuit, le milieu est concentré et coévaporé au toluène. Une chromatographie sur colonne de gel de silice est effectuée (CH₂Cl₂ / MeOH 9 / 1). Enfin une colonne de résine échangeuse d'ions Sephadex SP C25 [Na⁺] (CH₂Cl₂ / MeOH / H₂O 9 / 5 / 1) permet d'obtenir le trisaccharide sulfaté **163** sous forme d'un film blanchâtre (61 mg, 70%).

Rf : 0,14 (CH₂Cl₂ / MeOH 9 / 1)

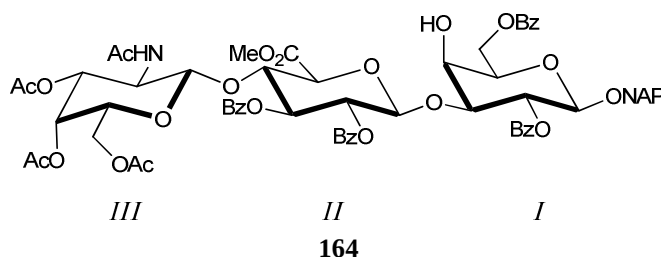
$[\alpha]_D^{20} = +18,1$ ($c = 1,00$, MeOH)

HRMS : m/z : calculée pour $C_{61}H_{64}NO_{27}S$ $[M+2H-Na]^+$: 1274,338093 ; trouvée : 1274,337931

1H NMR (400 MHz, MeOD) : δ (ppm) 7,87-7,07 (m, 22H ; Ar-H), 5,59 (dd, $J_{3,4} = 3,5$ Hz, $J_{4,5} < 1,0$ Hz, 1H ; H-4^I), 5,51 (dd, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9,0$ Hz, 1H ; H-3^{II}), 5,44-5,39 (dd, $J_{1,2} = 8,0$ Hz, $J_{2,3} = 10,0$ Hz, 1H ; H-2^I), 5,23 (dd, $J_{1,2} = J_{2,3} = 7,5$ Hz, 1H ; H-2^{II}), 5,09 (dd, $J_{3,4} = 3,5$ Hz, $J_{4,5} < 1,0$ Hz, 1H ; H-4^{III}), 5,00 (dd, $J_{2,3} = 11,0$ Hz, $J_{3,4} = 3,5$ Hz, 1H ; H-3^{III}), 4,95 (d, $J_{1,2} = 7,5$ Hz, 1H ; H-1^{II}), 4,85 (ABq, 2H ; Ar-CH₂ (NAP)), 4,67-4,64 (m, 2H ; H-1^I, H-1^{III}), 4,33 (dd, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9,5$ Hz, 1H ; H-4^{II}), 4,19-4,11 (m, 5H ; H-3^I, H-5^I, H-6^I_{a,b}, H-5^{II}), 3,91 (s, 3H ; COOCH₃), 3,80 (dd, $J_{1,2} = 8,5$ Hz, $J_{2,3} = 11,0$ Hz, 1H ; H-2^{III}), 3,60-3,56 (m, 1H ; H-5^{III}), 3,41 (dd, $J_{5,6a} = 8,0$ Hz, $J_{6a,6b} = 11,0$ Hz, 1H ; H-6^{III}_a), 3,28 (dd, $J_{5,6b} = 6,0$ Hz, $J_{6a,6b} = 11,0$ Hz, 1H ; H-6^{III}_b), 2,19 (s, 3H ; NHC(O)CH₃), 1,95, 1,93, 1,92, 1,91 (4s, 12H ; 4 x OC(O)CH₃)

^{13}C NMR (100 MHz, MeOD) : δ (ppm) 173,00, 171,53, 171,36, 171,25, 171,21, 169,07, 166,08, 166,04, 165,81 (9C ; C-6^{II}, C=O), 134,92, 134,10, 133,84, 133,77, 133,69, 133,63, 130,16, 130,14, 130,01, 129,87, 129,29, 129,03, 128,95, 128,75, 128,62, 128,47, 128,10, 127,39, 126,55, 126,49, 126,32 (28C ; Ar-C), 101,76 (1C ; C-1^{II}), 101,52 (1C ; C-1^I), 100,20 (1C ; C-1^{III}), 77,58 (1C ; C-3^I), 76,90 (1C ; C-4^{II}), 74,55 (1C ; C-5^I), 73,72 (1C ; C-3^{II}), 72,80 (1C ; C-5^{II}), 72,44 (1C ; C-2^{II}), 71,91 (1C ; C-2^I), 71,23 (1C ; Ar-CH₂ (NAP)), 70,86 (1C ; C-5^{III}), 70,79 (1C ; C-3^{III}), 70,49 (1C ; C-4^I), 66,84 (1C ; C-4^{III}), 66,75 (1C ; C-6^I), 61,16 (1C ; C-6^{III}), 53,61 (1C ; COOCH₃), 51,36 (1C ; C-2^{III}), 23,05 (1C ; NHC(O)CH₃), 20,90, 20,66, 20,60, 20,49 (4C ; OC(O)CH₃)

2-naphtylméthyl O-(2-acétamido-3,4,6-tri-O-acétyl-2-désoxy- β -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(méthyl 2,3-di-O-benzoyl- β -D-glucopyranosyluronate)-(1 $\rightarrow$ 3)-2,6-di-O-benzoyl- β -D-galactopyranoside
($C_{66}H_{65}NO_{24}$, $M = 1256,21$ g.mol⁻¹)



Sous argon, le diol **159** (95 mg, 0,082 mmol, 1 éq.) est dissous dans la pyridine et le cyanure de benzoyle (22 mg, 0,168 mmol, 2 éq.) est ajouté. Le mélange est agité pendant 6h à température ambiante. La réaction est suivie par CCM (CH₂Cl₂ / MeOH 15 / 1). Du BzCN (14 mg, 0,107, 1 éq.) est alors ajouté et le mélange est agité pendant 5h. La réaction est stoppée en ajoutant du méthanol et laissée agiter pendant 30 min sous argon. Des lavages à l'eau puis au NaHCO₃ et une fois supplémentaire à l'eau sont effectués. La phase organique est séchée,

évaporée puis coévaporée au toluène. Le résidu obtenu est purifié sur colonne chromatographique (éluant CH₂Cl₂ / MeOH 15 / 1) et le produit **164** est obtenu sous forme d'un solide blanchâtre (74 mg, 71%).

Rf : 0,65 (CH₂Cl₂ / MeOH 15 / 1)

[α]_D²⁰ = + 14,1 (c = 1,00, CHCl₃)

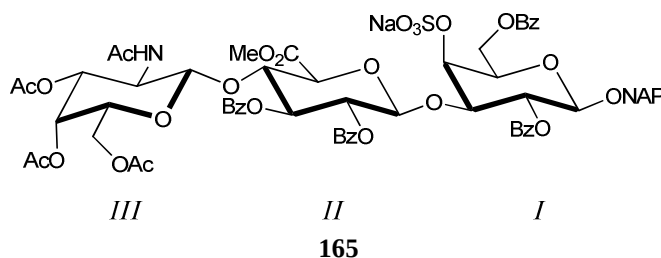
F = dégradation (AcOEt / EP)

HRMS : *m/z* : calculée pour C₆₆H₆₆NO₂₄ [M+H]⁺ : 1256,396928 ; trouvée : 1256,396769

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 8,12-7,12 (m, 27H ; Ar-*H*), 5,66 (d, *J*_{NH-2} = 9,0 Hz, 1H ; NH), 5,58 (dd, *J*_{1,2} = *J*_{2,3} = 8,5 Hz, 1H ; H-2^I), 5,51 (dd, *J*_{2,3} = *J*_{3,4} = 8,0 Hz, 1H ; H-3^{II}), 5,29 (dd, *J*_{1,2} = *J*_{2,3} = 8,0 Hz, 1H ; H-2^{II}), 5,08 (dd, *J*_{3,4} = 2,5 Hz, *J*_{4,5} < 1,0 Hz, 1H ; H-4^{III}), 5,03 (dd, *J*_{2,3} = 10,5 Hz, *J*_{3,4} = 2,5 Hz, 1H ; H-3^{III}), 4,93 (d, *J*_{1,2} = 8,0 Hz, 1H ; H-1^{II}), 4,85 (ABq, 2H ; Ar-CH₂ (NAP)), 4,71-4,69 (m, 3H ; H-1^{III}, H-6^I_{a,b}), 4,50 (d, *J*_{1,2} = 8,5 Hz, 1H ; H-1^I), 4,41 (dd, *J*_{3,4} = *J*_{4,5} = 8,0 Hz, 1H ; H-4^{II}), 4,23-4,18 (m, 2H ; H-4^I, H-5^{II}), 3,93-3,86 (m, 3H ; H-3^I, H-5^I, H-2^{III}), 3,75 (s, 3H ; COOCH₃), 3,51-3,48 (m, 1H ; H-5^{III}), 3,45-3,40 (m, 1H ; H-6^{III}_a), 3,28 (dd, *J*_{5,6b} = 5,5 Hz, *J*_{6a,6b} = 10,5 Hz, 1H ; H-6^{III}_b), 1,93, 1,91 (4s, 12H ; NHC(O)CH₃, 3 x OC(O)CH₃)

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 170,72, 170,61, 170,36, 170,26, 169,13, 166,70, 165,29, 165,11 (9C ; C-6^{II}, C=O), 134,52, 133,64, 133,61, 133,33, 133,29, 133,24, 133,11, 130,31, 130,04, 129,94, 129,90, 129,86, 129,71, 129,55, 128,92, 128,85, 128,65, 128,51, 128,47, 128,37, 128,10, 127,88, 127,14, 126,28, 126,20, 126,13 (34C ; Ar-C), 101,54 (1C ; C-1^I), 101,25 (1C ; C-1^{III}), 99,09 (1C ; C-1^{II}), 81,72 (1C ; C-3^I), 76,52 (1C ; C-4^{II}), 74,01 (1C ; C-5^{II}), 73,06 (1C ; C-3^{II}), 72,54 (1C ; C-5^I), 71,79 (1C ; C-2^{II}), 70,88, 70,72, 70,57 (3C ; C-2^I, C-3^{III}, C-5^{III}), 70,06 (1C ; Ar-CH₂ (NAP)), 68,57 (1C ; C-4^I), 66,39 (1C ; C-4^{III}), 63,97 (1C ; C-6^I), 60,66 (1C ; C-6^{III}), 53,58 (1C ; COOCH₃), 51,50 (1C ; C-2^{III}), 23,67 (1C ; NHC(O)CH₃), 20,90, 20,88, 20,81 (3C ; OC(O)CH₃)

2-naphtylméthyl O-(2-acétamido-3,4,6-tri-O-acétyl-2-désoxy-β-D-galactopyranosyl)-(1→4)-O-(méthyl 2,3-di-O-benzoyl-β-D-glucopyranosyluronate)-(1→3)-sodium 2,6-di-O-benzoyl-4-O-sulfonato-β-D-galactopyranoside
(C₆₆H₆₄NNaO₂₇S, M = 1358,26 g.mol⁻¹)



Une solution du composé **164** (56 mg, 0,045 mmol, 1 éq.) et de Me₃N.SO₃ (62 mg, 0,44 mmol, 10 éq.) dans la DMF (1,5 mL) est agitée à 60°C sous argon. La réaction est suivie par CCM (CH₂Cl₂ / MeOH 12 / 1). Après 20h, la réaction étant incomplète, du Me₃N.SO₃ (31 mg, 22,3 mmol, 5 éq.) est ajouté et l'agitation est laissée à 60°C pendant 21h. Après 26h, la réaction n'étant toujours pas complète, du Me₃N.SO₃ (31 mg, 22,3 mmol, 10 éq.) est encore ajouté et la réaction est laissée 72h de plus. L'excès de réactif est hydrolysé à température ambiante par du MeOH (2 mL) pendant 15 min. Le mélange est directement purifié sur colonne Sephadex LH-20 (CH₂Cl₂ / MeOH 1 / 1) puis sur une colonne de gel de silice (CH₂Cl₂ / MeOH 12 / 1). Une colonne de résine échangeuse d'ions Sephadex SP C25 [Na⁺] (CH₂Cl₂ / MeOH / H₂O 9 / 5 / 1) donne le produit désiré **165** (36 mg, 59%) sous forme d'un film blanchâtre.

Rf : 0,35 (CH₂Cl₂ / MeOH 12 / 1)

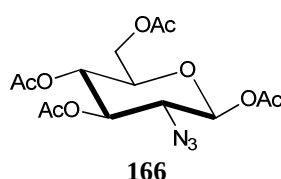
[α]_D²⁰ = + 51,9 (*c* = 1,00, CHCl₃)

HRMS : *m/z* : calculée pour C₆₆H₆₄NO₂₇S [M-Na]⁻ : 1334,339190 ; trouvée : 1334,339067

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 8,14-7,04 (m, 27H ; Ar-*H*), 6,86 (d, *J*_{NH-2} = 10,0 Hz, 1H ; NH), 5,78-5,62 (m, 2H ; H-2^{II}, H-3^{II}), 5,47 (dd, *J*_{1,2} = 8,0 Hz, *J*_{2,3} = 10,0 Hz, 1H ; H-2^I), 5,19 (d, *J*_{1,2} = 8,5 Hz, 1H ; H-1^{III}), 5,15 (dd, *J*_{3,4} = 3,0 Hz, *J*_{4,5} < 1,0 Hz, 1H ; H-4^I), 4,98-4,63 (m, 6H ; H-6^Ia,b, H-1^{II}, H-4^{II}, H-3^{III}, H-4^{III}), 4,83 (ABq, 2H ; Ar-CH₂ (NAP)), 4,43 (d, *J*_{1,2} = 8,0 Hz, 1H ; H-1^I), 4,26-4,21 (m, 2H ; H-5^{II}, H-2^{III}), 3,90 (s, 3H ; COOCH₃), 3,88-3,68 (m, 3H ; H-3^I, H-5^I, H-6^{III}a), 3,23 (dd, *J*_{5,6a} = 5,0 Hz, *J*_{6a,6b} = 11,0 Hz, 1H ; H-6^{III}b), 2,91-2,88 (m, 1H ; H-5^{III}), 2,04, 2,02, 1,77, 1,67 (4s, 12H ; NHC(O)CH₃, 3 x OC(O)CH₃)

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 171,56, 170,99, 170,30, 170,22, 169,75, 166,83, 166,47, 165,15, 164,88 (9C ; C-6^{II}, C=O), 133,92, 133,59, 133,40, 133,34, 133,07, 133,04, 132,98, 130,02, 129,85, 129,60, 129,03, 128,61, 128,22, 128,18, 127,84, 127,66, 126,11, 126,09, 126,01 (34C ; Ar-C), 103,86 (1C ; C-1^{II}), 101,54 (1C ; C-1^{III}), 98,34 (1C ; C-1^I), 80,11 (1C ; C-3^I), 77,36 (1C ; C-4^I), 76,86, 72,13, 65,80 (3C ; C-4^{II}, C-3^{III}, C-4^{III}), 74,13 (1C ; C-5^{II}), 72,79 (1C ; C-5^I), 71,28 (2C ; C-2^{II}, C-3^{II}), 70,79 (1C ; C-5^{III}), 70,37 (1C ; C-2^I), 69,72 (1C ; Ar-CH₂ (NAP)), 64,59 (1C ; C-6^I), 59,91 (1C ; C-6^{III}), 54,00 (1C ; COOCH₃), 50,50 (1C ; C-2^{III}), 23,41 (1C ; NHC(O)CH₃), 20,82, 20,54, 20,33 (3C ; OC(O)CH₃)

1,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-2-azido-2-désoxy-β-D-glucopyranose
(C₁₄H₁₉N₃O₉, M = 373,32 g.mol⁻¹)

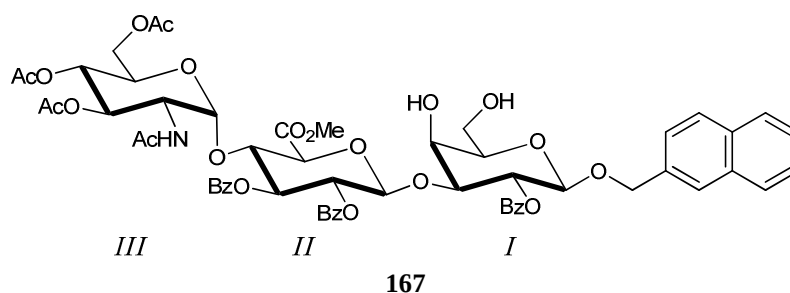


Une solution de 2-azido-2-déoxy-D-glucose (200 mg, 0,975 mmol, 1 éq.) dans de la pyridine (4 mL) et de l'anhydride acétique (3 mL) est agitée sous argon pendant une nuit. Afin de détruire l'excès d'anhydride acétique, des glaçons sont ajoutés au mélange réactionnel qui est alors agité pendant une heure à 0 °C. Une extraction à l'acétate d'éthyle permet de récupérer le produit peracétylé **166** qui est ensuite purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (EP / AcOEt 2 / 1).

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 5,60 (d, $J_{1,2}$ = 8,5 Hz, 1H ; H-1), 5,13-5,04 (m, 2H ; H-3, H-4), 4,30 (dd, $J_{5,6a}$ = 4,5 Hz, $J_{6a,6b}$ = 12,5 Hz, 1H ; H-6a), 4,15-4,05 (m, 1H ; H-6b), 3,86 (ddd, $J_{3,4}$ = 9,5 Hz, $J_{5,6a}$ = 4,5 Hz, $J_{5,6b}$ = 2,0 Hz, 1H ; H-5), 3,72-3,64 (m, 1H ; H-2)

La RMN est conforme à celle de la littérature.¹¹⁶

**2-naphtylméthyl O-(2-acétamido-3,4,6-tri-O-acétyl-2-désoxy-α-D-glucopyranosyl)-
(1→4)-O-(méthyl 2,3-di-O-benzoyl-β-D-glucopyranosyluronate)-(1→3)-2-O-benzoyl-β-D-
galactopyranoside**
(C₅₉H₆₁NO₂₃, M = 1152,11 g.mol⁻¹)



Une solution de trisaccharide **175** (113 mg, 0,087 mmol, 1 éq.) et de 3HF.Et₃N (29 μL, 0,175 mmol, 2 éq.) dans du THF anhydre (2,5 mL) est agitée 3h30 à 0°C. La réaction est suivie par CCM (CH₂Cl₂ / MeOH 15 / 1). De l'eau est ensuite ajoutée et le milieu est décanté. La phase organique est ensuite lavée avec une solution saturée de NaHCO₃ puis avec de l'eau. Le résidu est purifié par colonne chromatographique (CH₂Cl₂ / MeOH 17 / 1) et le composé **167** est obtenu sous forme d'une mousse blanche (88 mg, 87%).

Rf : 0,38 (CH₂Cl₂ / MeOH 15 / 1)

[α]_D²⁰ = + 74,1 (c = 1,00, CHCl₃)

HRMS : m/z : calculée pour C₅₉H₆₂NO₂₃ [M+H]⁺ : 1152,370714 ; trouvée 1152,370483

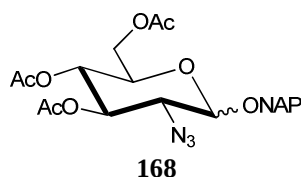
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 7,77-7,06 (m, 22H ; Ar-H), 5,57-5,54 (m, 2H ; H-2^I, H-3^{II}), 5,48 (d, $J_{2,NH}$ = 9,5 Hz, 1H ; NH), 5,34 (dd, $J_{1,2}$ = 7,5 Hz, $J_{2,3}$ = 9,5 Hz, 1H ; H-2^{II}), 5,08-5,07 (m, 2H ; H-3^{III}, H-4^{III}), 5,01 (d, $J_{1,2}$ = 3,5 Hz, 1H ; H-1^{III}), 4,97 (d, $J_{1,2}$ = 7,5 Hz, 1H ; H-1^{II}), 4,85 (ABq, 2H ; Ar-CH₂ (NAP)), 4,54-4,48 (m, 2H ; H-1^I, H-4^{II}), 4,26-4,24 (m,

¹¹⁶ Vasella, A., Witzig, C., Chiara, J.-L., Martin-Lomas, M., *Helv. Chim. Acta*, **1991**, 74, 2073-2077

^1H ; H-5^{II}), 4,20-4,10 (m, 4H ; H-4^I, H-2^{III}, H-6^{III}a,b), 4,08-4,03 (m, 1H ; H-6^Ia), 3,90-3,87 (m, 2H ; H-3^I, H-6^Ib), 3,83 (s, 3H ; COOCH_3), 3,77-3,74 (m, 1H ; H-5^{III}), 3,62-3,59 (m, 1H ; H-5^I), 3,28 (brs, 1H ; OH), 2,58-2,55 (m, 1H ; OH), 2,10, 2,00, 1,95 (3s, 9H ; 3 x OC(O)CH_3), 1,60 (s, 3H ; NHC(O)CH_3)

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 171,31, 170,92, 169,94, 169,17, 168,10, 165,93, 164,84, 164,80 (8C ; C=O, C-6^{II}), 134,52, 134,07, 133,12, 133,09, 133,00, 132,89, 129,84, 129,70, 129,59, 129,53, 128,74, 128,47, 128,29, 128,21, 128,14, 128,09, 127,94, 127,68, 126,80, 126,09, 125,99, 125,93 (28C ; Ar-C), 101,65 (1C ; C-1^{II}), 99,36 (1C ; C-1^I), 98,54 (1C ; C-1^{III}), 81,28 (1C ; C-3^I), 75,33 (1C ; C-4^{II}), 74,64 (1C ; C-5^{II}), 74,42 (1C ; C-5^I), 74,12 (1C ; C-2^I), 71,24 (1C ; C-2^{II}), 70,78 (1C ; C-3^{III}), 70,67 (1C ; C-3^{II}), 70,14 (1C ; Ar- CH_2), 69,11 (1C ; C-4^I), 69,01 (1C ; C-5^{III}), 67,72 (1C ; C-4^{III}), 62,36 (1C ; C-6^I), 61,48 (1C ; C-6^{III}), 53,36 (1C ; COOCH_3), 51,36 (1C ; C-2^{III}), 22,66 (1C ; NHC(O)CH_3), 20,84, 20,74, 20,67 (3C ; 3 x OC(O)CH_3)

2-naphtylméthyl O-3,4,6-tri-O-acétyl-2-azido-2-désoxy- α/β -D-glucopyranoside
($\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_8$, M = 471,46 g.mol⁻¹)



Une solution d'imidate **139** (247 mg, 0,519 mmol, 1 éq.) et de 2-naphtalèneméthanol (123 mg, 0,779 mmol, 1,5 éq.) avec une pointe de tamis moléculaire 4Å dans du CH_2Cl_2 anhydre (2 mL) est agitée sous argon à température ambiante pendant 1h. Du TMSOTf 1M (104 μL , 0,104 mmol, 0,2 éq.) est ajouté goutte à goutte à température ambiante. Après 1h, la réaction est terminée. La triéthylamine (0,5 mL) est ajoutée puis le mélange réactionnel est filtré, concentré puis purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (tol / AcOEt 3 / 1 + 0,1 % Et_3N) pour donner un mélange du composé souhaité et du produit de départ. Le résidu obtenu est engagé dans une réaction de silylation en présence d'HMDS (3 éq.) et de TMSCl (3 éq.) dans la pyridine, afin de silyler l'alcool de départ restant pour une bonne séparation entre ce composé et le produit souhaité. Une purification par chromatographie sur colonne de gel de silice (tol / AcOEt 3 / 1 + 0,1 % Et_3N) donne le composé **168** sous la forme d'une mousse blanchâtre (194 mg, 80%) dans un mélange α / β 2 / 1.

Rf : 0,36 (EP / AcOEt 3 / 1)

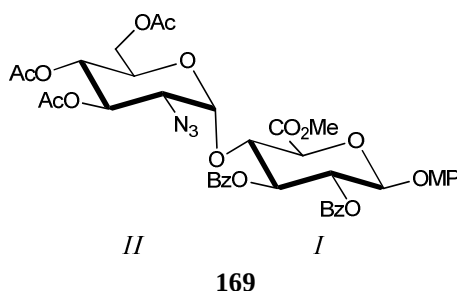
HRMS : m/z : calculée pour $\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{NaO}_8$ [$\text{M}+\text{Na}$]⁺ : 494,153385 ; trouvée : 494,153160

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 7,87-7,48 (m, 10,5H ; Ar-H), 5,55 (dd, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9,5$ Hz, 1H ; H-3 α), 5,11-5,07 (m, 1,5H ; H-1 α , H-4 β), 4,95 (ABq, 1H ; Ar- CH_2 (NAP β)), 5,04 (dd, $J_{3,4} = 9$ Hz, $J_{4,5} = 9,5$ Hz, 1H ; H-4 α), 5,01-4,93 (m, 0,5H ; H-3 β), 4,70 (ABq, 2H ; Ar- CH_2 (NAP α)), 4,48 (d, $J_{1,2} = 8,0$ Hz, 0,5H ; H-1 β), 4,29-4,25 (m, 1,5H ; H-6 $\alpha\alpha$, H-6 $\alpha\beta$), 4,16

(dd, $J_{5,6b} = 2,0$ Hz, $J_{6a,6b} = 12,5$ Hz, 0,5H ; H-6b β), 4,10-4,02 (m, 2H ; H-5 α , H-6b α), 3,64-3,57 (m, 1H ; H-2 β , H-5 β), 3,34 (dd, $J_{1,2} = 3,5$ Hz, $J_{2,3} = 10,5$ Hz, 1H ; H-2 α), 2,10, 2,09, 2,07, 2,02, 2,00 (6s, 13,5H ; 6 x OC(O)CH₃)

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 170,54, 169,96, 169,65 (6C ; C=O), 133,60, 133,43, 133,19, 133,14, 128,54, 128,46, 127,98, 127,95, 127,75, 127,36, 127,16, 126,38, 126,32, 126,31, 125,90, 125,79 (20C ; Ar-C), 100,36 (1C ; C-1 β), 96,65 (1C ; C-1 α), 72,50 (1C ; C-3 β), 71,85 (1C ; C-5 β), 71,43 (1C ; Ar-CH₂ (NAP β)), 70,48 (1C ; C-3 α), 70,20 (1C ; Ar-CH₂ (NAP α)), 68,58 (1C ; C-4 α), 68,46 (1C ; C-4 β), 67,86 (1C ; C-5 α), 63,77 (1C ; C-2 β), 61,92 (1C ; C-6 β), 61,83 (1C ; C-6 α), 60,92 (1C ; C-2 α), 20,74, 20,71, 20,69, 20,66, 20,58, 20,56 (6C ; OC(O)CH₃)

4-méthoxyphényl O-(3,4,6-tri-O-acétyl-2-azido-2-désoxy- α -D-glucopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-méthyl 2,3-di-O-benzoyl- β -D-glucopyranosyluronate
(C₄₀H₄₁N₃O₁₇, M = 835,76 g.mol⁻¹)



Une solution d'imidate **139** (91 mg, 0,192 mmol, 1,3 éq.) et de composé **141** (77 mg, 0,148 mmol, 1 éq.) avec une pointe de tamis moléculaire 4Å dans un mélange CH₂Cl₂ anhydre / Et₂O 1,5 / 2 (3,5 mL) est agitée sous argon à température ambiante pendant 1h. Du TMSOTf 1M (38 μ L, 0,038 mmol, 0,2 éq.) est ajouté goutte à goutte à température ambiante. Après 1h, la réaction est stoppée. La triéthylamine (0,3 mL) est ajoutée puis le mélange réactionnel est filtré, concentré puis purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (EP / AcOEt 2 / 1 + 0,1 % Et₃N) pour donner le composé **169** sous la forme d'une mousse blanchâtre (61 mg, 50%).

Rf : 0,26 (EP / AcOEt 2 / 1)

[α]_D²⁰ = + 74,9 ($c = 1,00$, CHCl₃)

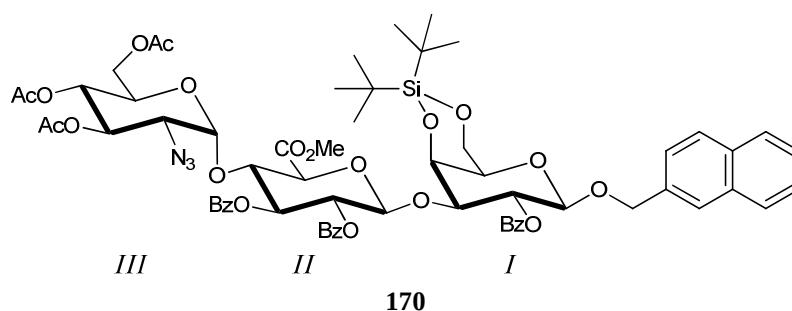
HRMS : m/z : calculée pour C₄₀H₄₂N₃O₁₇ [M+H]⁺ : 836,250873 ; trouvée : 836,249933

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 7,98-7,38 (m, 10H ; Ar-H (Bz)), 6,93-6,77 (m, 4H ; Ar-H (MP)), 5,85 (dd, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9,0$ Hz, 1H ; H-3^I), 5,56 (dd, $J_{1,2} = 6,5$ Hz, $J_{2,3} = 9,0$ Hz, 1H ; H-2^I), 5,32-5,25 (m, 3H ; H-1^I, H-1^{II}, H-3^{II}), 4,96 (dd, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9,5$ Hz, 1H ; H-4^{II}), 4,61 (dd, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9,0$ Hz, 1H ; H-4^I), 4,32-4,24 (m, 3H ; H-5^I, H-6^{II}a,b), 3,87 (ddd, $J_{4,5} =$

10,5 Hz, $J_{5,6a} = 2$ Hz, $J_{5,6b} = 5,0$ Hz, 1H ; H-5^{II}), 3,74 (2s, 6H ; OCH₃, COOCH₃), 3,26 (dd, $J_{1,2} = 3,5$ Hz, $J_{2,3} = 10,5$ Hz, 1H ; H-2^{II}), 2,08, 2,04, 2,01 (3s, 9H ; 3 x OC(O)CH₃)

¹³C (100 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 170,77, 169,86, 169,72, 167,95, 165,32, 165,29 (6C ; C=O, C-6^I), 155,90, 150,83 (2C ; Ar-C (MP)), 133,48, 133,42, 129,98, 129,75, 129,33, 19,09, 128,62, 128,54 (10C ; Ar-C), 118,70, 114,66 (4C ; Ar-C (MP)), 100,73 (1C ; C-1^{II}), 98,68 (1C ; C-1^I), 75,71 (1C ; C-4^I), 74,44 (1C ; C-5^I), 73,53 (1C ; C-3^I), 72,23 (1C ; C-2^I), 70,59 (1C ; C-3^{II}), 68,61 (1C ; C-5^{II}), 68,11 (1C ; C-4^{II}), 61,32 (1C ; C-6^{II}), 60,89 (1C ; C-2^{II}), 55,73 (1C ; OCH₃), 53,00 (1C ; COOCH₃), 20,82, 20,69 (3C ; OC(O)CH₃)

2-naphtylméthyl O-(3,4,6-tri-O-acétyl-2-azido-2-désoxy- α -D-glucopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(méthyl 2,3-di-O-benzoyl- β -D-glucopyranosyluronate)-(1 $\rightarrow$ 3)-2-O-benzoyl-4,6-O-di-*tert*-butylsilylène- β -D-galactopyranoside
(C₆₅H₇₃N₃O₂₂Si, M = 1276,37 g.mol⁻¹)



L'imide **139** (45 mg, 0,094 mmol, 1,3 éq.) ainsi que le disaccharide **160** (69 mg, 0,071 mmol, 1 éq.) sont dissous dans un mélange Et₂O / CH₂Cl₂ (2 / 1,5, 2 mL) avec une pointe de tamis moléculaire 4 Å sous argon et agités 1h. Le TMSOTf 1M (19 μ L, 0,019 mmol, 0,2 éq. / imide) est ajouté goutte à goutte à température ambiante. La solution est agitée 2h30. De la triéthylamine (0,5 mL) est ajoutée pour stopper la réaction. Le tamis est filtré et le filtrat est concentré. Le résidu est purifié par colonne chromatographique de gel de silice (EP / AcOEt 2 / 1 + 0,1 % Et₃N) pour donner un mélange du composé souhaité et du produit de départ. Le résidu obtenu est engagé dans une réaction de silylation en présence d'HMDS (3 éq.) et de TMSCl (3 éq.) dans la pyridine, afin de silyler l'alcool de départ restant pour une bonne séparation entre ce composé et le produit souhaité. Une purification par chromatographie sur colonne de gel de silice (EP / AcOEt 2 / 1 + 0,1 % Et₃N) donne le produit **170** sous la forme d'un solide blanc (33 mg, 36%).

Autre protocole :

L'imide **172** (118 mg, 0,135 mmol, 1,3 éq.) ainsi que le composé **138** (59 mg, 0,104 mmol, 1 éq.) sont dissous dans le CH₂Cl₂ (2 mL) avec une pointe de tamis moléculaire 4 Å sous argon. Le mélange est agité 1h. Le BF₃.Et₂O 1M (27 μ L, 0,027 mmol, 0,2 éq. / imide) est ajouté goutte à goutte à 0°C. La solution est agitée 2h à température ambiante. De la triéthylamine (0,1 mL) est ajoutée pour stopper la réaction. Le tamis est filtré et le filtrat est concentré. Le résidu est purifié par colonne chromatographique de gel de silice (EP / AcOEt 2 / 1 + 0,1% Et₃N) afin d'obtenir le produit **170** sous la forme d'un solide blanc (51 mg, 39%).

Autre protocole :

Le trifluoroimide **171** (62 mg, 0,123 mmol, 1,2 éq.) ainsi que le disaccharide **160** (102 mg, 0,106 mmol, 1 éq.) sont dissous dans un mélange Et₂O / CH₂Cl₂ (2 / 1,5, 2 mL) avec une pointe de tamis moléculaire 4 Å sous argon et agités 1h. Le TMSOTf 1M (25 µL, 0,025 mmol, 0,2 éq. / imide) est ajouté goutte à goutte à température ambiante. La solution est agitée 2h. De la triéthylamine (0,5 mL) est ajoutée pour stopper la réaction. Le tamis est filtré et le filtrat est concentré. Le résidu est purifié par colonne chromatographique de gel de silice (EP / AcOEt 2 / 1 + 0,1 % Et₃N) pour donner un mélange du composé souhaité et du produit de départ. Le résidu obtenu est engagé dans une réaction de silylation en présence d'HMDS (3 éq.) et de TMSCl (3 éq.) dans la pyridine, afin de silyler l'alcool de départ restant pour une bonne séparation entre ce composé et le produit souhaité. Une purification par chromatographie sur colonne de gel de silice (EP / AcOEt 2 / 1 + 0,1 % Et₃N) donne le produit **170** sous la forme d'un solide blanc (41 mg, 30%).

Rf : 0,23 (EP / AcOEt 2 / 1)

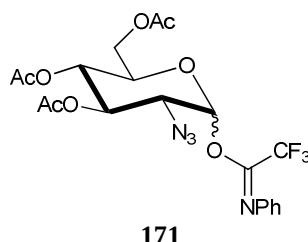
[α]_D²⁰ = + 67,8 (c = 1,00, CHCl₃)

HRMS : *m/z* : calculée pour C₆₅H₇₄N₃O₂₂Si [M+H]⁺ : 1276,452774 ; trouvée : 1276,452002

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 7,83-7,02 (m, 22H ; Ar-H), 5,66-5,60 (m, 2H ; H-2^I, H-3^{II}), 5,34-5,26 (m, 2H ; H-2^{II}, H-3^{III}), 5,12 (d, *J*_{1,2} = 3,5 Hz, 1H ; H-1^{III}), 5,06 (d, *J*_{1,2} = 7,5 Hz, 1H ; H-1^{II}), 4,95-4,92 (m, 1H ; H-4^{III}), 4,83 (ABq, 2H ; Ar-CH₂ (NAP)), 4,62 (dd, *J*_{3,4} = 3,0 Hz, *J*_{4,5} < 1,0 Hz, 1H ; H-4^I), 4,48 (d, *J*_{1,2} = 7,5 Hz, 1H ; H-1^I), 4,40 (dd, *J*_{3,4} = *J*_{4,5} = 9,5 Hz, 1H ; H-4^{II}), 4,29-4,28 (m, 2H ; H-6^Ia,b), 4,23 (dd, *J*_{5,6a} = 3,5 Hz, *J*_{6a,6b} = 12,5 Hz, 1H ; H-6^{III}a), 4,10-4,07 (m, 2H ; H-5^{II}, H-6^{III}b), 3,83-3,80 (m, 2H ; H-3^I, H-5^{III}), 3,78 (s, 3H ; COOCH₃), 3,41-3,39 (m, 1H ; H-5^I), 3,20 (dd, *J*_{1,2} = 3,5 Hz, *J*_{2,3} = 10,5 Hz, 1H ; H-2^{III}), 2,07, 2,00, 1,98 (3s, 9H ; 3 x OC(O)CH₃), 1,12, 1,07 (2s, 18H ; 2 x (CH₃)₃)

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 170,76, 169,85, 169,67, 167,71, 165,20, 164,91, 164,88 (7C ; C=O, C-6^{II}), 134,82, 133,23, 133,13, 132,95, 132,79, 132,76, 129,85, 129,84, 129,71, 129,66, 129,62, 129,29, 128,87, 128,48, 128,31, 128,04, 127,89, 127,71, 127,67, 126,54, 126,00, 125,87, 125,83 (28C ; Ar-C), 101,82 (1C ; C-1^{II}), 99,58 (1C ; C-1^I), 98,63 (1C ; C-1^{III}), 80,39, 68,54 (2C ; C-3^I, C-5^{III}), 76,49 (1C ; C-4^{II}), 74,53 (1C ; C-5^{II}), 73,98, 70,42 (2C ; C-2^I, C-3^{II}), 72,95 (1C ; C-4^I), 71,99 (1C ; C-2^{II}), 71,56 (1C ; C-5^I), 70,59 (1C ; C-3^{III}), 69,88 (1C ; Ar-CH₂ (NAP)), 68,06 (1C ; C-4^{III}), 67,11 (1C ; C-6^I), 61,23 (1C ; C-6^{III}), 60,68 (1C ; C-2^{III}), 52,99 (1C ; COOCH₃), 27,60 (6C ; 2 x (CH₃)₃), 23,53, 20,92 (2C ; 2 x C(CH₃)₃), 20,85, 20,82, 20,68 (3C ; 3 x OC(O)CH₃)

3,4,6-tri-*O*-acétyl-2-azido-2-désoxy-1-*O*-(*N*-phényl-trifluoroacétimidoyl)- α/β -D-glucopyranose
(C₂₀H₂₁F₃N₄O₈, M = 502,40 g.mol⁻¹)



Une solution du produit peracétylé **166** (362 mg, 0,970 mmol, 1 éq.) et d'acétate d'hydrazine (134 mg, 1,46 mmol, 1,5 éq.) dans le DMF est agitée à température ambiante pendant 30 min. Le mélange réactionnel est ensuite versé dans l'eau glacé et agité pendant 15 min. La phase aqueuse est extraite avec de l'AcOEt. Les phases organiques sont lavées avec une solution saturée de NaCl, de l'eau puis séchées et concentrées pour donner l'hémiacétal sous forme d'une huile jaune (292 mg, 91% sur deux étapes).

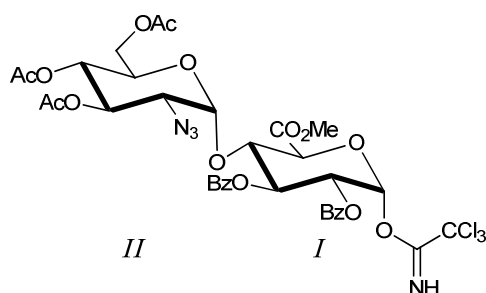
L'hémiacétal (390 mg, 1,18 mmol, 1 éq.) est dissous dans le CH₂Cl₂ (5 mL). Le K₂CO₃ (325 mg, 2,35 mmol, 2 éq.) et le chlorure de *N*-phényl trifluoroacétimidoyl (488 mg, 2,35 mmol, 2 éq.) sont ajoutés. Après 4h de réaction, celle-ci est stoppée puis filtrée et évaporée. Le résidu obtenu est purifié sur colonne chromatographique de gel de silice (éluant EP / AcOEt 5 / 1 + 0,2% Et₃N) pour donner le produit **171** (453 mg, 77%) sous forme d'une huile orangée.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 7,34-6,85 (m, 7H ; Ar-H), 6,52-6,42 (m, 0,4H ; H-1 α), 5,70-5,62 (m, 1H ; H-1 β), 5,50 (dd, $J_{2,3} = 9,5$ Hz, $J_{3,4} = 10,0$ Hz, 0,4H ; H-3 α), 5,17-5,05 (m, 2,4H ; H-4 α , H-3 β , H-4 β), 4,33-4,26 (m, 1,4H ; H-6 $\alpha\alpha$, H-6 $\alpha\beta$), 4,14-4,09 (m, 1,8H ; H-5 α , H-6 $\beta\alpha$, H-6 $\beta\beta$), 3,81-3,69 (m, 2,4H ; H-2 α , H-2 β , H-5 β)

La RMN est conforme à celle de la littérature.¹¹⁷

¹¹⁷ Thèse de M. T. C. Walvoort, Université de Leiden, **1983**

4-méthoxyphényl O-(3,4,6-tri-O-acétyl-2-azido-2-désoxy- α -D-glucopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-méthyl 2,3-di-O-benzoyl-1-O-trichloroacétimidoyl- β -D-glucopyranosyluronate
(C₃₆H₃₅Cl₃N₄O₁₆, M = 874,03 g.mol⁻¹)



172

Le disaccharide **169** (61 mg, 0,073 mmol, 1 éq.) est dissous dans un mélange de solvants toluène / acétonitrile / eau 1 / 2 / 1 (1 mL / 2 mL / 1 mL). Le CAN (201 mg, 0,367 mmol, 5 éq.) est ajouté et le mélange est agité à température ambiante. La réaction est stoppée après 1h. De l'eau glacée est ajoutée et la phase aqueuse est extraite avec de l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée avec une solution de NaCl saturée puis avec de l'eau, séchée sur MgSO₄, filtrée puis concentrée. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (EP / AcOEt 1 / 1 + 0,1% de Et₃N) pour donner l'hémiacétal correspondant sous forme d'une mousse rosâtre (45 mg, 84%).

Une solution de cet hémiacétal (45 mg, 0,061 mmol, 1 éq.) dans du CH₂Cl₂ anhydre (1 mL) est agitée à température ambiante et sous argon. Après dissolution, le trichloroacétonitrile (61,2 μ L, 0,618 mmol, 10 éq.) et la DBU (1 goutte, 0,2 éq.) sont ajoutés. La réaction est suivie par CCM (EP / AcOEt 2 / 1) et terminée après 1h30. Le milieu est concentré et directement purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (EP / AcOEt 2 / 1 + 0,1% Et₃N). L'imide **172** est obtenu sous l'apparence d'une mousse jaunâtre (53 mg, 56%).

Rf : 0,61 (EP / AcOEt 2 / 1 + Et₃N 0,1%)

[α]_D²⁰ = + 112,2 (*c* = 1,00, CHCl₃)

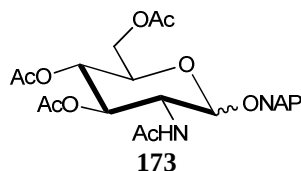
HRMS : *m/z* : calculée pour C₃₅H₃₅Cl₃N₄NaO₁₆ [M+Na]⁺ : 895,100585 ; trouvée : 895,100519

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 8,65 (s, 1H ; NH), 7,98-7,33 (m, 10H ; Ar-H), 6,75 (d, *J*_{1,2} = 3,0 Hz, 1H ; H-1^I), 6,21 (dd, *J*_{2,3} = *J*_{3,4} = 10,0 Hz, 1H ; H-3^I), 5,42 (dd, *J*_{1,2} = 3,0 Hz, *J*_{2,3} = 10,0 Hz, 1H ; H-2^I), 5,34 (dd, *J*_{2,3} = *J*_{3,4} = 10,0 Hz, 1H ; H-3^{II}), 5,27 (d, *J*_{1,2} = 3,5 Hz, 1H ; H-1^{II}), 4,95 (dd, *J*_{3,4} = *J*_{4,5} = 10,0 Hz, 1H ; H-4^{II}), 4,61 (d, *J*_{4,5} = 9,5 Hz, 1H ; H-5^I), 4,51 (dd, *J*_{3,4} = *J*_{4,5} = 9,5 Hz, 1H ; H-4^I), 4,26 (dd, *J*_{5,6a} = 3 Hz, *J*_{6a,6b} = 12,5 Hz, 1H ; H-6^{II}a), 4,11-4,08 (m, 1H ; H-6^{II}b), 3,87-3,86 (m, 1H ; H-5^{II}), 3,84 (s, 3H ; COOCH₃), 3,32 (dd, *J*_{1,2} = 3,5 Hz, *J*_{2,3} = 10,0 Hz, 1H ; H-2^{II}), 2,08, 2,01, 2,00 (3s, 9H ; 3 x OC(O)CH₃)

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 170,75, 169,69, 169,72, 167,97, 165,09, 160,62 (6C ; C-6^I, C=O), 133,73, 133,47, 130,09, 129,67, 129,35, 128,70, 128,58, 128,52 (12C ; Ar-C),

99,07 (1C ; C-1^H), 92,95 (1C ; C-1^L), 76,18 (1C ; C-4^L), 72,38 (1C ; C-5^L), 71,28 (1C ; C-3^L), 70,51 (2C ; C-2^L, C-3^H), 68,64 (1C ; C-5^H), 68,10 (1C ; C-4^H), 61,25 (1C ; C-6^H), 60,80 (1C ; C-2^H), 53,21 (1C ; COOCH₃), 20,83, 20,72, 20,70 (3C ; OC(O)CH₃)

2-naphtylméthyl 3,4,6-tri-O-acétyl-2-acétamido-2-désoxy- α/β -D-glucopyranoside
(C₂₅H₂₉NO₉, M = 487,50 g.mol⁻¹)



Une solution du composé **168** (87 mg, 0,184 mmol, 1 éq.) dans la pyridine (1 mL) est agitée à 5°C. L'acide thioacétique (0,60 mL) est alors ajouté goutte à goutte puis le mélange est agité à température ambiante pendant 6h. Le milieu réactionnel prend une couleur jaune poussin. Le mélange est ensuite évaporé puis coévaporé au toluène. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (CH₂Cl₂ / Acétone 12 / 1) et le produit **173** est obtenu sous forme de solide amorphe blanc (66 mg, 73%).

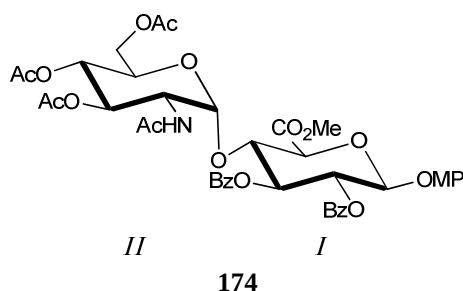
Rf : 0,29 (CH₂Cl₂ / Acétone 12 / 1)

HRMS : *m/z* : calculée pour C₂₅H₃₀NO₉ [M+H]⁺ : 488,191508 ; trouvée : 488,191764

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 7,87-7,40 (m, 10,5H ; Ar-*H*), 5,75 (d, *J*_{NH,2} = 9,0 Hz, 1H ; NH α), 5,63 (d, *J*_{NH,2} = 9,0 Hz, 0,5H ; NH β), 5,29-5,24 (m, 1H ; H-3 α), 5,22-5,08 (m, 1,5H ; H-4 α , H-3 β , H-4 β), 4,90 (ABq, 1H ; Ar-CH₂ (NAP β)), 4,98 (d, *J*_{1,2} = 3,5 Hz, 1H ; H-1 α), 4,78 (ABq, 2H ; Ar-CH₂ (NAP α)), 4,70-4,68 (m, 0,5H ; H-1 β), 4,35 (ddd, *J*_{1,2} = 3,5 Hz, *J*_{NH,2} = 9,0 Hz, *J*_{2,3} = 12,0 Hz, 1H ; H-2 α), 4,28-4,17 (m, 2H ; H-6 α , H-6 α , β), 4,08-4,01 (m, 2,5H ; H-2 β , H-5 α , H-6 β), 3,70-3,66 (m, 0,5H ; H-5 β), 2,10, 2,09, 2,02, 2,01, 2,00, 1,90, 1,87 (8s, 18H ; 3 x OC(O)CH₃ α , 3 x OC(O)CH₃ β , NHC(O)CH₃ α , NHC(O)CH₃ β)

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 171,38, 170,76, 169,94, 169,36 (4C ; C=O α), 170,92, 170,80, 170,22, 169,43 (4C ; C=O β), 134,44, 133,88, 133,23, 133,21, 133,14, 128,65, 128,34, 127,95, 127,92, 127,84, 127,80, 127,44, 127,04, 126,62, 126,51, 126,40, 125,86, 125,83 (20C ; Ar-C), 99,60 (1C ; C-1 β), 96,68 (1C ; C-1 α), 72,53 (1C ; C-3 β), 71,95 (1C ; C-5 β), 71,38 (1C ; C-3 α), 70,85 (1C ; Ar-CH₂ (NAP β)), 70,41 (1C ; Ar-CH₂ (NAP α)), 68,71 (1C ; C-4 β), 68,23, 68,14 (2C ; C-4 α , C-5 α), 62,23 (1C ; C-6 β), 62,01 (1C ; C-6 α), 54,56 (1C ; C-2 β), 51,90 (1C ; C-2 α), 23,36, 23,16, 20,84, 20,80, 20,73, 20,67 (8C ; OC(O)CH₃, NHC(O)CH₃)

**4-méthoxyphényl O-(3,4,6-tri-O-acétyl-2-acétamido-2-désoxy- α -D-glucopyranosyl)-
(1 $\rightarrow$ 4)-O-méthyl 2,3-di-O-benzoyl- β -D-glucopyranosyluronate
(C₄₂H₄₅NO₁₈, M = 851,80 g.mol⁻¹)**



Une solution du composé **169** (158 mg, 0,189 mmol, 1 éq.) dans la pyridine (1 mL) est agitée à 5°C. L'acide thioacétique (0,62 mL) est alors ajouté goutte à goutte puis le mélange est agité à température ambiante pendant 23h. Le mélange est ensuite évaporé puis coévaporé au toluène. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant CH₂Cl₂ / Acétone 12 / 1) et le produit **174** est obtenu sous forme d'une mousse blanche (85 mg, 53%).

Rf : 0,31 (CH₂Cl₂ / Acétone 12 / 1)

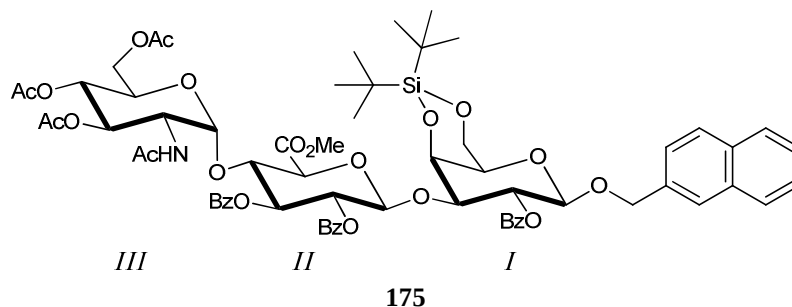
[α]_D²⁰ = + 74,8 (*c* = 1,00, CHCl₃)

HRMS : *m/z* : calculée pour C₄₂H₄₆NO₁₈ [M+H]⁺ : 852,270940 ; trouvée : 852,270372

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 7,93-7,36 (m, 10H ; Ar-*H* (Bz)), 6,92-6,77 (m, 4H ; Ar-*H* (MP)), 5,82 (dd, *J*_{2,3} = *J*_{3,4} = 9,0 Hz, 1H ; H-3^I), 5,57 (dd, *J*_{1,2} = 6,5 Hz, *J*_{2,3} = 9,0 Hz, 1H ; H-2^I), 5,43 (d, *J*_{NH-2} = 9,5 Hz, 1H ; NH), 5,27 (d, *J*_{1,2} = 6,5 Hz, 1H ; H-1^I), 5,12-5,08 (m, 3H ; H-1^{II}, H-3^{II}, H-4^{II}), 4,66 (dd, *J*_{3,4} = *J*_{4,5} = 9,0 Hz, 1H ; H-4^I), 4,32 (d, *J*_{4,5} = 9,0 Hz, 1H ; H-5^I), 4,22-4,12 (m, 3H ; H-2^{II}, H-6^{II}_{a,b}), 3,80-3,78 (m, 1H ; H-5^{II}), 3,74 (s, 3H ; OCH₃), 3,72 (s, 3H ; COOCH₃), 2,09, 2,01, 1,95 (3s, 9H ; 3 x OC(O)CH₃), 1,61 (s, 3H ; NHC(O)CH₃)

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 171,28, 170,88, 169,86, 169,17, 167,93, 165,98, 165,12 (7C ; C-6^I, C=O), 155,94, 150,74 (2C ; Ar-C (MP)), 134,10, 133,55, 129,96, 129,83, 128,96, 128,82, 128,56, 128,36 (12C ; Ar-C), 118,69, 114,66 (4C ; Ar-C (MP)), 100,71 (1C ; C-1^I), 98,47 (1C ; C-1^{II}), 74,69, 74,60 (2C ; C-4^I, C-5^I), 74,01 (1C ; C-3^I), 72,11 (1C ; C-2^I), 70,84, 67,61 (2C ; C-3^{II}, C-4^{II}), 69,02 (1C ; C-5^{II}), 61,39 (1C ; C-6^{II}), 55,72 (1C ; OCH₃), 52,99 (1C ; COOCH₃), 51,41 (1C ; C-2^{II}), 22,66 (1C ; NHC(O)CH₃), 20,83, 20,73, 20,68 (3C ; OC(O)CH₃)

**2-naphtylméthyl O-(2-acétamido-3,4,6-tri-O-acétyl-2-désoxy- α -D-glucopyranosyl)-
(1 $\rightarrow$ 4)-O-(methyl 2,3-di-O-benzoyl- β -D-glucopyranosyluronate)-(1 $\rightarrow$ 3)-2-O-benzoyl-4,6-
O-di-*tert*-butylsilylène- β -D-galactopyranoside
(C₆₇H₇₇NO₂₃Si, M = 1292,41 g.mol⁻¹)**



Une solution du composé **170** (113 mg, 0,088 mmol, 1 éq.) dans la pyridine (1 mL) est agitée à 5°C. L'acide thioacétique (0,3 mL) est alors ajouté goutte à goutte puis le mélange est agité à température ambiante pendant 53h. Le mélange est ensuite évaporé puis coévaporé au toluène. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant EP / AcOEt 1 / 1) et le produit **175** est obtenu sous forme d'une mousse blanche (88 mg, 77%).

Rf : 0,12 (EP / AcOEt 1 / 1)

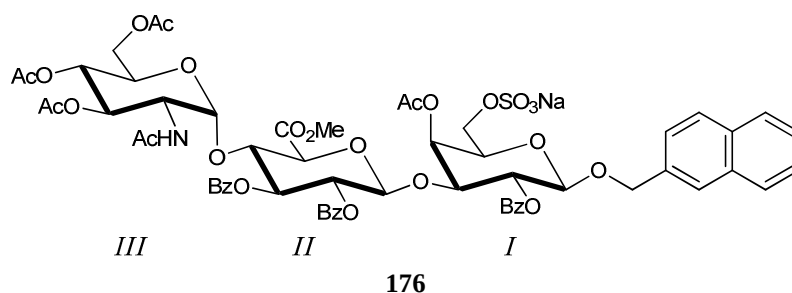
$[\alpha]_D^{20} = + 73,0$ (c = 1,00, CHCl₃)

HRMS : m/z : calculée pour C₆₇H₇₈NO₂₃Si [M+H]⁺ : 1292,472841 ; trouvée : 1292,472039

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 7,77-7,03 (m, 22H ; Ar-H), 5,65-5,56 (m, 2H ; H-2^I, H-3^{II}), 5,35-5,29 (m, 2H ; H-2^{II}, NH), 5,07-5,03 (m, 3H ; H-1^{II}, H-3^{III}, H-4^{III}), 4,98 (d, $J_{1,2} = 3,5$ Hz, 1H ; H-1^{III}), 4,84 (ABq, 2H ; Ar-CH₂ (NAP)), 4,60 (dd, $J_{3,4} = 3,0$ Hz, $J_{4,5} < 1,0$ Hz, 1H ; H-4^I), 4,49 (d, $J_{1,2} = 8,0$ Hz, 1H ; H-1^I), 4,44 (dd, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9,0$ Hz, 1H ; H-4^{II}), 4,29-4,28 (m, 2H ; H-6^Ia,b), 4,19-4,11 (m, 2H ; H-2^{III}, H-6^{III}a,b), 4,09-4,06 (m, 2H ; H-5^{II}), 3,82 (dd, $J_{2,3} = 10,0$ Hz, $J_{3,4} = 3,0$ Hz, 1H ; H-3^I), 3,78 (s, 3H ; COOCH₃), 3,69-3,67 (m, 1H ; H-5^{III}), 3,41-3,40 (m, 1H ; H-5^I), 2,09, 1,99, 1,94 (3s, 9H ; 3 x OC(O)CH₃), 1,54 (s, 3H ; NHC(O)CH₃), 1,10, 1,06 (2s, 18H ; 2 x (CH₃)₃)

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 171,31, 170,95, 169,91, 169,16, 167,60, 165,98, 164,88, 164,80 (8C ; C=O, C-6^{II}), 134,81, 133,99, 133,14, 132,98, 132,87, 129,89, 129,77, 129,58, 128,78, 128,72, 128,35, 128,31, 128,10, 128,06, 127,91, 127,70, 126,61, 126,04, 125,91, 125,89 (28C ; Ar-C), 101,49 (1C ; C-1^{II}), 99,47 (1C ; C-1^I), 98,54 (1C ; C-1^{III}), 79,97 (1C ; C-3^I), 75,42 (1C ; C-4^{II}), 74,71, 74,52 (2C ; C-2^I, C-5^{II}), 72,93 (1C ; C-4^I), 71,94 (1C ; C-2^{II}), 71,59 (1C ; C-5^I), 70,81 (1C ; C-3^{III}), 70,66 (1C ; C-3^{II}), 69,89 (1C ; Ar-CH₂ (NAP)), 68,96 (1C ; C-5^{III}), 67,57 (1C ; C-4^{III}), 67,09 (1C ; C-6^I), 61,26 (1C ; C-6^{III}), 53,03 (1C ; COOCH₃), 27,60, 27,59 (6C ; 2 x (CH₃)₃), 23,53, 20,86 (2C ; C(CH₃)₃), 22,61 (1C ; NHC(O)CH₃), 20,88, 20,75, 20,70 (3C ; 3 x OC(O)CH₃)

**2-naphtylméthyl O-(2-acétamido-3,4,6-tri-O-acétyl-2-désoxy- α -D-glucopyranosyl)-
(1 $\rightarrow$ 4)-O-(methyl 2,3-di-O-benzoyl- β -D-glucopyranosyluronate)-(1 $\rightarrow$ 3)-sodium 4-O-
acétyl-2-O-benzoyl-6-O-sulfonato- β -D-galactopyranoside
(C₆₁H₆₂NNaO₂₇S, M = 1296,19 g.mol⁻¹)**



Une solution du diol **167** (44 mg, 0,038 mmol, 1 éq.) et de Me₃N.SO₃ (13,1 mg, 0,095 mmol, 2,5 éq.) dans le DMF (1 mL) est agitée pendant 5h à 40°C sous argon. La réaction est suivie par CCM (CH₂Cl₂ / MeOH 9 / 1). Le mélange est ensuite refroidi à température ambiante puis 1 mL de MeOH est ajouté. Le mélange est ensuite agité 40 min sous argon puis il est concentré. Le résidu est directement engagé dans une réaction d'acétylation en présence d'anhydride acétique (1 mL) et de pyridine (2 mL). Après une nuit, le milieu est concentré et coévaporé au toluène. Une chromatographie sur colonne de gel de silice est effectuée (CH₂Cl₂ / MeOH 9 / 1). Enfin une colonne de résine échangeuse d'ions Sephadex SP C25 [Na⁺] (CH₂Cl₂ / MeOH / H₂O 9 / 5 / 1) permet d'obtenir le trisaccharide sulfaté **176** sous forme d'un film blanchâtre (20 mg, 40%).

Rf : 0,29 (CH₂Cl₂ / MeOH 9 / 1)

[α]_D²⁰ = + 116,1 (c = 1,00, MeOH)

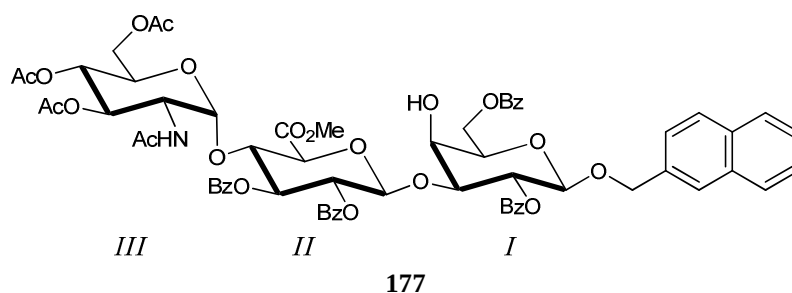
HRMS : *m/z* : calculée pour C₆₁H₆₂NO₂₇S [M-Na]⁻ : 1272,323540 ; trouvée 1272,323707

¹H NMR (250 MHz, MeOD) : δ (ppm) 7,73-7,02 (m, 22H ; Ar-H), 5,79 (dd, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9,0$ Hz, 1H ; H-3^{II}), 5,53 (dd, $J_{3,4} = 3,5$ Hz, $J_{4,5} < 1,0$ Hz, 1H ; H-4^I), 5,36 (dd, $J_{1,2} = 8,0$ Hz, $J_{2,3} = 10,0$ Hz, 1H ; H-2^I), 5,20-5,03 (m, 4H ; H-1^{II}, H-2^{II}, H-1^{III}, H-3^{III}), 4,95 (dd, $J_{3,4} = 2,5$ Hz, $J_{4,5} < 1,0$ Hz, 1H ; H-4^{III}), 4,80 (ABq, 2H ; Ar-CH₂ (NAP)), 4,67 (d, $J_{1,2} = 8,0$ Hz, 1H ; H-1^I), 4,45-4,30 (m, 2H ; H-4^{II}, H-5^{II}), 4,27-4,24 (m, 1H ; H-3^I), 4,22-4,18 (m, 3H ; H-6^Ia, H-6^{III}a,b), 4,14-4,10 (m, 1H ; H-5^I), 4,05-3,97 (m, 2H ; H-6^Ib, H-2^{III}), 3,89 (s, 3H ; COOCH₃), 3,73-3,67 (m, 1H ; H-5^{III}), 2,16, 2,08, 1,99, 1,89 (4s, 12H ; 4 x OC(O)CH₃), 1,75 (s, 3H ; NHC(O)CH₃)

¹³C NMR (62,5 MHz, MeOD) : δ (ppm) 173,27, 172,44, 171,97, 171,83, 171,13, 169,84, 166,62, 166,54, 166,11 (9C ; C=O, C-6^{II}), 135,78, 134,72, 134,52, 134,34, 134,16, 130,59, 130,53, 130,41, 129,83, 129,59, 129,37, 129,13, 128,95, 128,50, 127,82, 126,93, 126,86, 121,38 (28C ; Ar-C), 102,08 (1C ; C-1^{II}), 100,83 (1C ; C-1^I), 98,34 (1C ; C-1^{III}), 79,77 (1C ; C-3^I), 76,17 (1C ; C-3^{II}), 74,85, 74,49 (2C ; C-4^{II}, C-5^{II}), 73,70 (1C ; C-5^I), 73,16 (1C ; C-2^{II}), 72,34 (1C ; C-2^I), 71,77 (1C ; C-3^{III}), 71,62 (1C ; Ar-CH₂ (NAP)), 71,00 (1C ; C-4^I), 69,80,

69,70 (2C ; C-4^{III}, C-5^{III}), 68,01 (1C ; C-6^I), 62,73 (1C ; C-6^{III}), 53,65 (1C ; COOCH₃), 52,12 (1C ; C2^{III}), 22,51 (1C ; NHC(O)CH₃), 20,83, 20,69, 20,55, 20,49 (4C ; 4 x OC(O)CH₃)

**2-naphtylméthyl O-(2-acétamido-3,4,6-tri-O-acétyl-2-désoxy- α -D-glucopyranosyl)-
(1 $\rightarrow$ 4)-O-(méthyl 2,3-di-O-benzoyl- β -D-glucopyranosyluronate)-(1 $\rightarrow$ 3)-2,6-di-O-benzoyl-
 β -D-galactopyranoside
(C₆₆H₆₅NO₂₄, M = 1256,21 g.mol⁻¹)**



Sous argon, le diol **167** (46 mg, 0,039 mmol, 1 éq.) est dissous dans la pyridine et le cyanure de benzoyle (11 mg, 0,084 mmol, 2 éq.) est ajouté. Le mélange est agité pendant 27h à température ambiante. La réaction est stoppée en ajoutant du méthanol et laissée agiter pendant 30 min sous argon. Des lavages à l'eau puis au NaHCO₃ et une fois supplémentaire à l'eau sont effectués. La phase organique est séchée, évaporée puis coévaporée au toluène. Le résidu obtenu est purifié sur colonne chromatographique (éluant CH₂Cl₂ / MeOH 17 / 1) et le produit **177** est obtenu sous forme d'un solide blanchâtre (41 mg, 81%).

Rf : 0,58 (CH₂Cl₂ / MeOH 17 / 1)

[α]_D²⁰ = + 63,4 (c = 1,00, CHCl₃)

F = dégradation (AcOEt / EP)

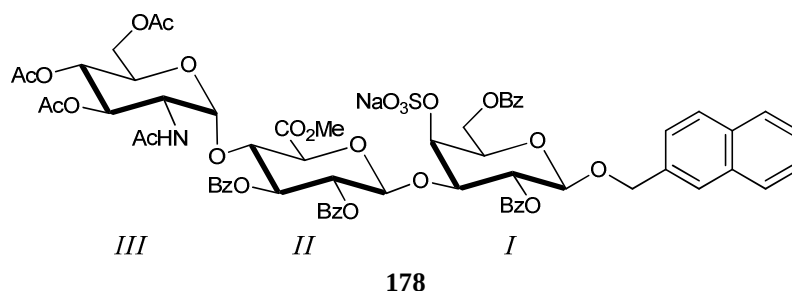
HRMS : m/z : calculée pour C₆₆H₆₆NO₂₄ [M+H]⁺ : 1256,396928 ; trouvée 1256,397059

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 8,13-7,08 (m, 27H ; Ar-H), 5,59-5,54 (m, 2H ; H-2^I, H-3^{II}), 5,42 (d, $J_{2,NH}$ = 9,5 Hz, 1H ; NH), 5,31 (dd, $J_{1,2}$ = 7,0 Hz, $J_{2,3}$ = 9,5 Hz, 1H ; H-2^{II}), 5,07-5,04 (m, 2H ; H-3^{III}, H-4^{III}), 5,01 (d, $J_{1,2}$ = 3,5 Hz, 1H ; H-1^{III}), 4,95 (d, $J_{1,2}$ = 7,0 Hz, 1H ; H-1^{II}), 4,84 (ABq, 2H ; Ar-CH₂ (NAP)), 4,72-4,69 (m, 2H ; H-6^Ia,b), 4,50-4,46 (m, 2H ; H-1^I, H-4^{II}), 4,23-4,16 (m, 4H ; H-4^I, H-5^{II}, H-2^{III}, H-6^{III}a), 4,09 (dd, $J_{5,6}$ = 12,5 Hz, $J_{6a,6b}$ = 2,5 Hz, 1H ; H-6^{III}b), 3,89-3,85 (m, 2H ; H-3^I, H-5^I), 3,75 (s, 3H ; COOCH₃), 3,74-3,71 (m, 1H ; H-5^{III}), 3,06 (brs, 1H ; OH), 2,10, 2,00, 1,95 (3s, 9H ; 3 x OC(O)CH₃), 1,61 (s, 3H ; NHC(O)CH₃)

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 171,32, 170,90, 169,89, 169,16, 168,02, 166,52, 165,90, 164,77, 164,71 (9C ; C=O, C-6^{II}), 133,44, 133,11, 130,08, 129,97, 129,72, 129,61, 128,77, 128,68, 128,30, 128,23, 128,16, 127,91, 127,67, 127,00, 126,08, 126,01, 125,99 (34C ; Ar-C), 101,62 (1C ; C-1^{II}), 98,75 (1C ; C-1^I), 98,51 (1C ; C-1^{III}), 81,17 (1C ; C-3^I),

75,17 (1C ; C-4^{II}), 74,60 (1C ; C-5^{II}), 74,03 (1C ; C-2^I), 72,19 (1C ; C-5^I), 71,33 (1C ; C-2^{II}), 70,77 (1C ; C-3^{III}), 70,61 (1C ; C-3^{II}), 69,77 (1C ; Ar-CH₂ (NAP)), 69,05 (1C ; C-5^{III}), 68,59 (1C ; C-4^I), 67,66 (1C ; C-4^{III}), 63,65 (1C ; C-6^I), 61,44 (1C ; C-6^{III}), 53,29 (1C ; COOCH₃), 51,35 (1C ; C-2^{III}), 31,35 (1C ; NHC(O)CH₃), 22,69, 20,85, 20,75, 20,69 (4C ; 4 x OC(O)CH₃)

2-naphtylméthyl O-(2-acétamido-3,4,6-tri-O-acétyl-2-désoxy- α -D-glucopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(méthyl-2,3-di-O-benzoyl- β -D-glucopyranosyluronate)-(1 $\rightarrow$ 3)-sodium 2,6-di-O-benzoyl-4-O-sulfonato- β -D-galactopyranoside
(C₆₆H₆₄NNaO₂₇S, M = 1358,26 g.mol⁻¹)



Une solution du composé **177** (41 mg, 0,033 mmol, 1 éq.) et de Me₃N.SO₃ (47 mg, 0,33 mmol, 10 éq.) dans la DMF (1,5 mL) est agitée à 60°C sous argon. La réaction est suivie par CCM (CH₂Cl₂ / MeOH 17 / 1). Après 48h, la réaction étant incomplète, du Me₃N.SO₃ (23 mg, 0,165 mmol, 5 éq.) est ajouté et l'agitation est laissée à 60°C pendant 24h. La réaction n'étant toujours pas complète, du Me₃N.SO₃ (23 mg, 0,165 mmol, 10 éq.) est encore ajouté et la réaction est laissée 24h de plus. Le même protocole est alors répété car la réaction n'est pas complète. Après un total de 7 jours, l'excès de réactif est hydrolysé à température ambiante par du MeOH (0,5 mL) pendant 30 min. Le mélange est directement purifié sur colonne Sephadex LH-20 (CH₂Cl₂ / MeOH 1 / 1) puis une colonne de résine échangeuse d'ions Sephadex SP C25 [Na⁺] (CH₂Cl₂ / MeOH / H₂O 9 / 5 / 1) donne le produit désiré **178** (42 mg, 95%) sous forme d'un film blanchâtre.

Rf : 0,29 (CH₂Cl₂ / MeOH 17 / 1)

[α]_D²⁰ = + 53,7 (c = 1,00, CHCl₃)

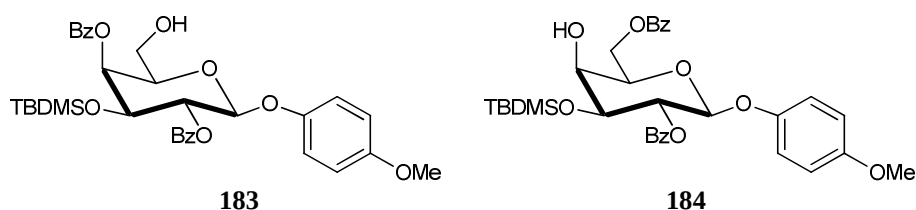
HRMS : m/z : calculée pour C₆₆H₆₄NO₂₇S [M-Na]⁺ : 1334,339190 ; trouvée 1334,338801

¹H NMR (400 MHz, MeOD) : δ (ppm) 8,14-7,07 (m, 27H ; Ar-H), 5,84-5,79 (m, 1H ; H-3^{II}), 5,46-5,39 (m, 2H ; H-2^I, H-2^{II}), 5,13 (d, $J_{1,2}$ = 7,5 Hz, 1H ; H-1^{II}), 5,11-5,06 (m, 3H ; H-4^I, H-1^{III}, H-3^{III}), 4,91 (dd, $J_{3,4}$ = $J_{4,5}$ = 9,5 Hz, 1H ; H-4^{III}), 4,72 (ABq, 2H ; Ar-CH₂ (NAP)), 4,77-4,75 (m, 2H ; H-6^Ia,b), 4,64 (d, $J_{1,2}$ = 7,5 Hz, 1H ; H-1^I), 4,56 (dd, $J_{3,4}$ = $J_{4,5}$ = 7,5 Hz, 1H ; H-4^{II}), 4,40-4,38 (m, 1H ; H-5^{II}), 4,27 (dd, $J_{2,3}$ = 10,0 Hz, $J_{3,4}$ = 3,5 Hz, 1H ; H-3^I), 4,20-4,18 (m, 2H ; H-6^{III}a,b), 4,11-4,09 (m, 1H ; H-5^I), 4,02 (dd, $J_{1,2}$ = 3,5 Hz, $J_{2,3}$ = 11,0 Hz, 1H ; H-2^{III}),

3,83 (s, 3H ; COOCH₃), 3,78-3,74 (m, 1H ; H-5^{III}), 2,06, 1,97, 1,89 (3s, 9H ; 3 x OC(O)CH₃), 1,74 (s, 3H ; NHC(O)CH₃)

¹³C NMR (100 MHz, MeOD) : δ (ppm) 174,11, 173,33, 172,74, 171,97, 171,06, 168,66, 167,64, 167,54, 167,50 (9C ; C=O, C-6^{II}), 136,56, 135,59, 135,30, 135,22, 135,19, 135,01, 132,38, 131,65, 131,62, 131,56, 131,54, 131,48, 130,87, 130,78, 130,54, 130,46, 130,37, 130,03, 129,83, 129,60, 129,41, 128,49, 127,86, 127,79, 127,57 (34C ; Ar-C), 103,90 (1C ; C-1^{II}), 101,61 (1C ; C-1^I), 99,19 (1C ; C-1^{III}), 80,07 (1C ; C-3^I), 78,03, 72,65 (1C ; C-4^I, C-3^{III}), 77,28 (1C ; C-3^{II}), 75,78 (1C ; C-5^{II}), 75,19 (1C ; C-4^{II}), 74,78, 74,63, 73,38 (3C ; C-2^I, C-5^I, C-2^{II}), 72,10 (1C ; Ar-CH₂ (NAP)), 70,69, 70,54 (2C ; C-4^{III}, C-5^{III}), 66,27 (1C ; C-6^I), 63,61 (1C ; C-6^{III}), 54,51 (1C ; COOCH₃), 53,02 (1C ; C-2^{III}), 23,39 (1C ; NHC(O)CH₃), 21,58, 21,41, 21,36 (3C ; OC(O)CH₃)

4-méthoxyphényl 2,4-di-O-benzoyl-3-O-tert-butyltriméthylsilyl-β-D-galactopyranoside et 4-méthoxyphényl 2,6-di-O-benzoyl-3-O-tert-butyltriméthylsilyl-β-D-galactopyranoside
(C₃₃H₄₀O₉Si, M = 608,75 g.mol⁻¹)



Dans un ballon contenant le diol **185** (1 g, 1,98 mmol, 1 éq) dans le CH₂Cl₂ (16 mL) anhydre et le toluène anhydre (8 mL), sont successivement ajoutés le CSA (300 mg, 2,13 mmol, 1 éq) et le triméthylorthobenzoate (3 mL, 11,9 mmol, 6 éq). Le mélange réactionnel est agité une heure à température ambiante sous argon, puis est neutralisé avec de la triéthylamine (500 μL). La solution est diluée dans du CH₂Cl₂, lavée successivement avec de l'eau puis avec une solution de NaHCO₃ saturée et enfin avec de l'eau. Elle est ensuite séchée sur MgSO₄ puis concentrée. Le produit ainsi obtenu est alors hydrolysé avec de l'AcOH (16 mL) à 80% pendant 15 min à température ambiante. De l'eau est ensuite ajoutée au mélange, puis la solution est évaporée et coévaporée avec de l'eau, de l'éthanol et du toluène (1 fois). Une purification par chromatographie sur colonne de silice (AcOEt / EP 1 / 1 puis 3 / 2) donne les composés **183** (600 mg, 50%) et **184** (290 mg, 24%).

Analyses de 183 :

R_f : 0,56 (EP / AcOEt 1 / 1)

[α]_D²⁰ = + 75,6 (c = 1,00, CHCl₃)

HRMS : m/z : calculée pour C₃₃H₄₁O₉Si [M+H]⁺ : 609,251436 ; trouvée 631,251637

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 8,12-7,39 (m, 10H ; Ar-H), 6,95-6,70 (m, 4H ; Ar-H (MP)), 5,81 (dd, J_{1,2} = 8,0 Hz, J_{2,3} = 9,5 Hz, 1H ; H-2), 5,51 (dd, J_{3,4} = 3,5 Hz, J_{4,5} < 1 Hz,

1H ; H-4), 5,09 (d, $J_{1,2} = 8,0$ Hz, 1H ; H-1), 4,19 (dd, $J_{2,3} = 9,5$ Hz, $J_{3,4} = 3,5$ Hz, 1H ; H-3), 3,97-3,94 (m, 1H ; H-5), 3,83-3,79 (m, 1H ; H-6a), 3,73 (s, 3H ; OCH₃), 3,69-3,64 (m, 1H ; H-6b), 2,84 (brs, 1H, OH), 0,63 (s, 9H ; C(CH₃)₃), 0,03, -0,12 (2s, 6H ; Si(CH₃)₂)

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 167,46, 165,02, 155,39, 151,13, 133,48, 132,96, 130,03, 129,73, 129,53, 128,83, 128,39, 128,23, 118,53, 114,34 (18C ; Ar-C), 101,12 (1C ; C-1), 73,92 (1C ; C-5), 72,44 (1C ; C-2), 71,33 (1C ; C-3), 70,99 (1C ; C-4), 60,37 (1C ; C-6), 55,41 (1C ; OCH₃), 25,01 (3C ; (CH₃)₃), 17,39 (1C, C(CH₃)₃), -4,97, -5,27 (2C ; Si(CH₃)₂)

Analyses de 184 :

Rf : 0,74 (EP / AcOEt 1 / 1)

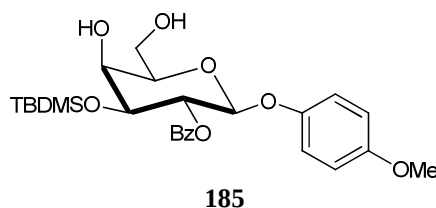
[α]_D²⁰ = + 22,5 (c = 1,00, CHCl₃)

HRMS : *m/z* : calculée pour C₃₃H₄₀NaO₉Si [M+Na]⁺ : 631,233380 ; trouvée 631,232780

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 8,20-7,39 (m, 10H ; Ar-H), 6,96-6,68 (m, 4H ; Ar-H (MP)), 5,81 (dd, $J_{1,2} = 8,0$ Hz, $J_{2,3} = 9,5$ Hz, 1H ; H-2), 4,94 (d, $J_{1,2} = 8,0$ Hz, 1H ; H-1), 4,82-4,65 (m, 2H ; H-6a,b), 4,10-3,97 (m, 3H ; H-3, H-4, H-5), 3,71 (s, 3H ; OCH₃), 2,80 (s, 1H ; OH), 0,62 (s, 9H ; C(CH₃)₃), 0,13, -0,12 (2s, 6H ; Si(CH₃)₂)

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 167,46, 165,02, 155,39, 151,13, 133,48, 132,96, 130,03, 129,73, 129,53, 128,83, 128,39, 128,23, 118,53, 114,34 (18C ; Ar-C), 101,12 (1C ; C-1), 73,92 (1C ; C-5), 72,44 (1C ; C-2), 71,33 (1C ; C-3), 70,99 (1C ; C-4), 60,37 (1C ; C-6), 55,41 (1C ; OCH₃), 25,01 (3C ; (CH₃)₃), 17,39 (1C ; C(CH₃)₃), -5,12 (2C ; Si(CH₃)₂)

4-méthoxyphényl 2-O-benzoyl-3-O-tert-butyldiméthylsilyl-β-D-galactopyranoside (C₂₆H₃₆O₈Si, M = 504,64 g.mol⁻¹)



Le produit **187** (200 mg, 0,41 mmol, 1 éq) est dissous dans la pyridine (4 mL) et du chlorure de benzoyle (150 μL, 1,29 mmol, 3 éq) est ajouté goutte à goutte à température ambiante et sous argon. Le mélange réactionnel est laissé agiter pendant 48 heures puis une neutralisation est réalisée avec du MeOH (10 mL). Le milieu est dilué avec du CH₂Cl₂, lavé à l'eau, au NaHCO₃ saturé puis de nouveau à l'eau avant d'être séché sur MgSO₄, concentré et purifié par colonne chromatographique sur gel de silice (EP / AcOEt 2 / 1) pour donner le composé tout protégé sous forme d'une poudre blanche (156 mg, 64%).

Rf : 0,31 (EP / AcOEt 3 / 1)

[α]_D²⁰ = + 29,7 (*c* = 1,00, CHCl₃)

F = 187°C (AcOEt / EP)

HRMS : *m/z* : calculée pour C₃₃H₄₁O₈Si [M+Na]⁺ : 593,256521 ; trouvée 593,256827

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 7,63-7,49 (m, 10H ; Ar-*H*), 6,97-6,70 (m, 4H ; Ar-*H* (*MP*)), 5,73 (dd, *J*_{1,2} = 8,0 Hz, *J*_{2,3} = 9,5, 1H ; H-2), 5,58 (s, 1H ; Ph-CH), 5,02 (d, *J*_{1,2} = 8,0 Hz, 1H ; H-1), 4,49-4,35 (m, 1H ; H-6a), 4,15-4,04 (m, 3H ; H-3, H-5, H-6b), 3,73 (s, 3H ; OCH₃), 3,61-3,60 (m, 1H ; H-4), 0,77 (s, 9H ; C(CH₃)₃), 0,06, -0,10 (2s, 6H ; Si(CH₃)₂)

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 165,56, 162,81, 155,85, 151,99, 138,22, 135,01, 133,30, 130,96, 130,07, 129,20, 128,72, 126,68, 119,72, 114,73 (18C ; Ar-C), 101,89 (1C ; C-1), 101,30 (1C ; Ph-CH), 76,72, 72,68 (2C ; C-3, C-5), 72,44 (1C ; C-2), 69,47 (1C ; C-6), 67,26 (1C ; C-4), 55,96 (1C ; OCH₃), 25,88 (3C ; (CH₃)₃), 18,34 (1C ; C(CH₃)₃), -3,94, -4,24 (2C ; Si(CH₃)₂)

Dans un ballon contenant le produit tout protégé (0,15 g, 0,306 mmol, 1 éq) dissous dans le CH₂Cl₂ (2 mL) à 0°C, on ajoute goutte à goutte 125 μ L d'une solution préparée au préalable de TFA / CH₂Cl₂ / H₂O dans les proportions (1 / 10 / 0,5). La réaction est suivie par CCM (CH₂Cl₂ / MeOH 19 / 1). Un deuxième ajout est effectué au bout d'une heure et demi. La réaction est arrêtée au bout de 5h. Le milieu est ensuite lavé à l'eau, au NaHCO₃ saturé puis de nouveau à l'eau avant d'être séché sur MgSO₄, concentré et purifié par colonne chromatographique sur gel de silice (EP / AcOEt 2 / 1) pour donner le produit **185** sous forme d'une poudre blanche (81 mg, 64%).

Rf : 0,41 (CH₂Cl₂ / MeOH 19 / 1)

[α]_D²⁰ = + 25,0 (*c* = 1,00, CHCl₃)

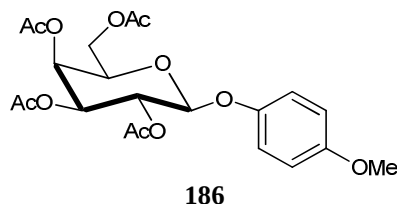
F = 166°C (AcOEt / EP)

HRMS : *m/z* : calculée pour C₂₆H₃₆NaO₈Si [M+Na]⁺ : 527,207165 ; trouvée 527,206849

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 8,08-7,43 (m, 5H ; Ar-*H*), 6,91-6,69 (m, 4H ; Ar-*H* (*MP*)), 5,62 (dd, *J*_{1,2} = 8,0 Hz, *J*_{2,3} = 9,5 Hz, 1H ; H-2), 4,98 (d, *J*_{1,2} = 8,0 Hz, 1H ; H-1), 4,07-3,95 (m, 4H ; H-4, H-5, H-6a,b), 3,78-3,73 (m, 1H ; H-3), 3,70 (s, 3H ; OCH₃), 2,88 (s, 1H ; OH-4), 2,53 (s, 1H ; OH-6), 0,81 (s, 9H ; C(CH₃)₃), 0,08, -0,09 (2s, 6H ; Si(CH₃)₂)

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 165,34, 155,49, 151,50, 133,19, 130,07, 129,81, 128,49, 118,76, 114,67 (12C ; Ar-C), 101,08 (1C ; C-1), 74,85 (1C ; C-3), 73,17 (2C ; C-6), 72,37 (1C ; C-2), 70,03 (1C ; C-5), 62,26 (1C ; C-4), 55,67 (1C ; OCH₃), 25,59 (3C ; (CH₃)₃), 17,91 (1C, C(CH₃)₃), -4,66 (2C ; Si(CH₃)₂)

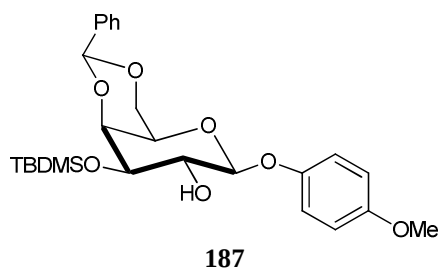
4-méthoxyphényl 2,3,4,6-tétra-O-acétyl-β-D-galactopyranoside
(C₂₁H₂₆O₁₁, M = 454,42 g.mol⁻¹)



Dans un ballon de 500 mL, le 1,2,3,4,6-penta-O-acétyl-β-D-galactopyranoside **8** (35,5 g, 90,9 mmol, 1 éq) et le 4-méthoxyphénol (22,5 g, 181,2 mmol, 2 éq) sont mis en solution avec 160 mL de CH₂Cl₂ anhydre en présence de tamis moléculaire activé. Le mélange réactionnel est agité à température ambiante et sous argon pendant 45 min, puis refroidi à 0°C. Le TMSOTf est ensuite ajouté et le mélange réactionnel est agité pendant 3 heures à 0°C. L'excès de réactif est neutralisé avec Et₃N (7 mL, 50,4 mmol). Le tamis est filtré et rincé avec du CH₂Cl₂ anhydre, le filtrat est lavé avec du NaOH 1M, du NaCl, de l'eau, séché et concentré sous pression réduite. Le résidu est cristallisé dans l'isopropanol à chaud pour donner le produit **186** sous la forme de cristaux blancs (35,7 g, 86%).

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 7,02–6,72 (m, 4H ; Ar-H (MP)), 5,49-5,39 (m, 2H ; H-2, H-4), 5,08 (dd, *J*_{2,3} = 10,5 Hz, *J*_{3,4} = 3,5 Hz, 1H ; H-3), 4,91 (d, *J*_{1,2} = 8,0 Hz, 1H ; H-1), 4,29-4,07 (m, 2H ; H-6a,b), 4,03-3,98 (m, 1H ; H-5), 3,76 (s, 3H ; OCH₃), 2,17, 2,07, 2,04, 1,99 (4s, 12H ; OC(O)CH₃)

4-méthoxyphényl 4,6-O-benzylidène-3-O-tert-butyldiméthylsilyl-β-D-galactopyranoside
(C₂₆H₃₆O₇Si, M = 488,65 g.mol⁻¹)



Dans un ballon de 10 mL, on introduit le produit **57** (200 mg, 0,53 mmol, 1 éq), le TBDMSCl (87 mg, 0,57 mmol, 1,1 éq) et l'imidazole (218 mg, 3,20 mmol, 6 éq) ainsi que la pyridine. Le mélange réactionnel est agité sous argon et à température ambiante pendant 4 heures. Le mélange est ensuite concentré directement et co-évapouré au toluène. Une purification par flash chromatographie sur colonne de gel de silice est faite (toluène / AcOEt 6 / 1). On obtient le produit **187** sous forme d'une poudre blanche (220 mg, 84%).

Rf : 0,5 (toluène / AcOEt 6 / 1)

$[\alpha]_D^{20} = -22,4$ ($c = 1,00$, CHCl_3)

$F = 123^\circ\text{C}$ (AcOEt / EP)

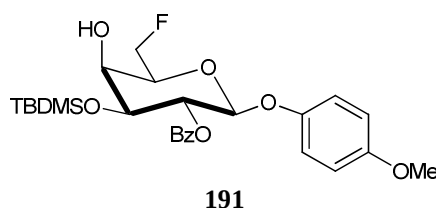
HRMS : m/z : calculée pour $\text{C}_{26}\text{H}_{37}\text{O}_7\text{Si}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 489,230306 ; trouvée 489,230555

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 7,57-6,74 (m, 9H ; Ar-*H*), 5,54 (s, 1H ; Ph-*CH*), 4,79 (d, $J_{1,2} = 7,5$ Hz, 1H ; H-1), 4,36 (dd, $J_{2,3} = 12,0$, $J_{3,4} = 1,5$ Hz, 1H ; H-3), 4,11-4,03 (m, 3H ; H-4, H-6a,b), 3,81-3,78 (m, 1H ; H-5), 3,77 (s, 3H ; OCH_3), 3,52-3,51 (m, 1H ; H-2), 2,35 (s, 1H ; OH), 0,93 (s, 9H ; $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 0,24, -0,08 (2s, 6H ; $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$)

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 155,24, 151,19, 137,70, 134,28, 129,57, 128,57, 127,87, 126,07, 119,02, 114,42 (12C ; Ar-C) 102,52 (1C ; C-1), 100,71 (1C ; Ph-*CH*), 76,16 (1C ; C-4), 74,28 (1C ; C-5), 70,95 (1C ; C-6a,b), 69,03 (1C ; C-2), 66,65 (1C ; C-3), 55,45 (1C ; OCH_3), 25,57 (3C ; $(\text{CH}_3)_3$), 18,09 (1C ; $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), -4,52, -4,78 (2C ; $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$)

4-méthoxyphényl 2-O-benzoyl-3-O-tert-butyldiméthylsilyl-6-désoxy-6-fluoro- β -D-galactopyranoside

($\text{C}_{26}\text{H}_{35}\text{FO}_7\text{Si}$, $M = 506,64 \text{ g.mol}^{-1}$)



Dans un ballon le diol **185** (100 mg, 0,20 mmol, 1 éq.) est introduit avec 2,5 ml de CH_2Cl_2 sous argon à -40°C . Le DAST (52 μL , 0,40 mmol, 2 éq.) est ensuite ajouté goutte à goutte et laissé agiter 3 minutes à cette température. Le mélange réactionnel est ensuite laissé remonter à température ambiante. Après une heure, la réaction est refroidie à -20°C , le MeOH est doucement ajouté puis les solvants sont évaporés. Une purification par chromatographique sur colonne de gel de silice est faite (EP / AcOEt 4 / 1). Le produit **191** est obtenu sous forme d'une poudre blanche (40 mg, 40%).

Rf : 0,46 (EP / AcOEt 4 / 1)

HRMS : m/z : calculée pour $\text{C}_{26}\text{H}_{33}\text{O}_7\text{Si}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 529,202829 ; trouvée 529,202478

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 8,10-7,39 (m, 5H, Ar-*H*), 6,98-6,70 (m, 4H ; Ar-*H* (MP)), 5,63 (dd, $J_{1,2} = 8,0$ Hz, $J_{2,3} = 9,5$ Hz, 1H ; H-2), 4,98 (d, $J_{1,2} = 8,0$ Hz, 1H ; H-1), 4,87-4,70 (dd, $J_{5,6} = 6,5$ Hz, $J_{6,F} = 48,0$ Hz, 2H ; H-6a,b), 4,09-3,99 (m, 1H ; H-3), 4,00-3,90 (m, 2H ; H-4, H-5), 3,75 (s, 3H ; OCH_3), 0,84 (s, 9H ; $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 0,10, -0,06 (2s, 6H ; $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$)

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 165,01, 155,36, 151,31, 132,95, 129,75, 129,53, 128,24, 127,96, 118,76, 114,26 (12C ; Ar-C), 100,96 (1C ; C-1), 81,83 (d, $J_{F,C} = 168$ Hz, 1C ;

C-6), 73,04, 72,82 (2C ; C-4, C-5), 72,67 (1C ; C-2), 68,93 (1C ; C-3), 55,40 (1C ; OCH₃), 25,30 (3C ; 3 x (CH₃)₃), 17,60 (1C ; C(CH₃)₃), -4,98 (2C ; 2 x (CH₃)₂)

¹⁹F NMR (376 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) -196,54 (dt, $J_{5,F} = 14,0$ Hz, $J_{6,F} = 48,0$ Hz, 1F)

Protocoles généraux pour les sulfatations

Procédure générale pour les sulfatations exhaustives (4-sulfation et 4,6-sulfation) (A)

Une solution de sucre (10 éq.) et de $\text{SO}_3\cdot\text{NMe}_3$ (2,5 éq. pour la 4-sulfation ou 4 éq. pour la disulfation) dans le DMF est chauffée à 60-65°C pendant plusieurs heures ou jours sous argon et suivie par CCM. 1 éq. de réactif sulfaté est ajouté régulièrement jusqu'à obtenir une réaction complète. L'excès de réactif est hydrolysé par du MeOH. Le mélange réactionnel est concentré sous pression réduite et le résidu est purifié par colonne d'exclusion stérique (Sephadex LH-20, CH_2Cl_2 / MeOH 1 / 1) puis par chromatographie sur gel de silice (CH_2Cl_2 / MeOH 12 / 1 ou 9 / 1). Une résine échangeuse d'ions (Sephadex SP C25, CH_2Cl_2 / MeOH / H_2O 9 / 5 / 1) permet d'obtenir le sel de sodium.

Procédure générale pour la 6-sulfation régiosélective (B)

Une solution de sucre (1,0 éq.) et de $\text{SO}_3\cdot\text{NMe}_3$ (2,5 éq.) dans le DMF (2 mL) est chauffée à 40°C pendant plusieurs heures sous argon et suivie par CCM. L'excès de réactif est hydrolysé par du MeOH. Le mélange réactionnel est concentré sous pression réduite et le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (CH_2Cl_2 / MeOH 9 / 1). Une résine échangeuse d'ions (Sephadex SP C25, CH_2Cl_2 / MeOH / H_2O 9 / 5 / 1) permet d'obtenir le sel de sodium.

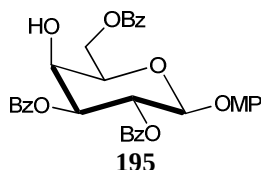
Procédure représentative pour la sulfatation assistée par MW (C)

Une solution de sucre (1,0 éq.) et de $\text{SO}_3\cdot\text{NMe}_3$ (2,5 éq.) dans le DMF (4 mL) est préparée dans un tube MW. Celui-ci est scellé et placé sous irradiations MW pendant 20 min. à 100°C. L'excès de réactif est hydrolysé par du MeOH. Le mélange réactionnel est concentré sous pression réduite et le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (CH_2Cl_2 / MeOH 9 / 1). Une résine échangeuse d'ions (Sephadex SP C25, CH_2Cl_2 / MeOH / H_2O 9 / 5 / 1) permet d'obtenir le sel de sodium.

Procédure représentative pour la sulfatation par la chimie en flux continu (D)

Une solution A de sucre (1,0 éq.) dans le DMF (2 mL) est injectée dans l'appareil de flux avec un débit de 0,25 mL.min⁻¹; une seconde solution B contenant du $\text{SO}_3\cdot\text{NMe}_3$ (2,5 éq.) dans le DMF (2mL) est également injectée. Celles-ci sont alors mélangées et ce mélange passe ainsi dans un réacteur linéaire de 10 mL avec un temps de résidence de 20 min à 100°C. A la sortie du réacteur, le mélange est alors collecté dans un ballon contenant du MeOH. Le mélange réactionnel est concentré sous pression réduite et le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (CH_2Cl_2 / MeOH 9 / 1). Une résine échangeuse d'ions (Sephadex SP C25, CH_2Cl_2 / MeOH / H_2O 9 / 5 / 1) permet d'obtenir le sel de sodium.

4-méthoxyphényl 2,3,6-tri-O-benzoyl-β-D-galactopyranoside
(C₃₄H₃₀O₁₀, M = 598,60 g.mol⁻¹)



Sous argon, le 4-méthoxyphényl-2,3-di-O-benzoyl-β-D-galactopyranoside **192** (500 mg, 1,01 mmol, 1 éq.) est dissous dans la pyridine et le BzCN (265 mg, 2,02 mmol, 2 éq.) est ajouté. Le mélange est agité pendant 4h20 à température ambiante. La réaction est suivie par CCM (CH₂Cl₂ / MeOH 9 / 1). 5 mL de méthanol sont ajoutés et la réaction est laissée agiter pendant 40 min sous argon. Des lavages à l'eau, avec une solution saturée de NaHCO₃ et une nouvelle fois à l'eau sont effectués. La phase organique est séchée, évaporée puis coévaporée au toluène. Le résidu obtenu est purifié sur colonne chromatographique (éluant CH₂Cl₂ / Acétone 98 / 2) et le produit **195** est obtenu sous forme d'une mousse blanchâtre (501 mg, 83%).

Rf : 0,31 (CH₂Cl₂ / Acétone 98 / 2)

[α]_D²⁰ = + 81,9 (*c* = 1,00, CHCl₃)

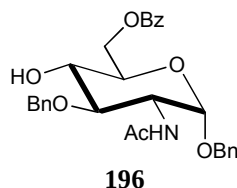
F = 174-179°C (AcOEt à chaud / EP)

HRMS : *m/z* : calculée pour C₃₄H₃₁O₁₀ [M+H]⁺ : 599,191174 ; trouvée : 599,191795

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 8,01-7,36 (m, 15H ; Ar-*H*), 6,96-6,64 (m, 4H ; Ar-*H* (MP)), 6,01 (dd, *J*_{1,2} = 8,0 Hz, *J*_{2,3} = 9,5 Hz, 1H ; H-2), 5,41 (dd, *J*_{2,3} = 9,5 Hz, *J*_{3,4} = 2,5 Hz, 1H ; H-3), 5,14 (d, *J*_{1,2} = 8,0 Hz, 1H ; H-1), 4,73 (dd, *J*_{5,6a} = 5,5 Hz, *J*_{6a,6b} = 11, 5 Hz, 1H ; H-6a), 4,66 (dd, *J*_{5,6b} = 7,5 Hz, *J*_{6a,6b} = 11,5 Hz, 1H ; H-6b), 4,43-4,41 (m, 1H ; H-4), 4,20-4,17 (m, 1H ; H-5), 3,70 (s, 3H ; OCH₃)

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 166,56, 166,04, 165,57 (3C ; C=O), 155,84, 151,39, 133,77, 133,54, 133,43, 130,12, 130,00, 129,94, 129,60, 129,09, 128,72, 128,67, 128,60, 119,17, 114,61 (24C ; Ar-C), 101,42 (1C ; C-1), 74,37 (1C ; C-3), 72,91 (1C ; C-5), 69,62 (1C ; C-2), 67,52 (1C ; C-4), 63,13 (1C ; C-6), 55,76 (1C ; OCH₃)

benzyl 2-acétamido-6-O-benzoyl-3-O-benzyl-2-désoxy- α -D-glucopyranoside
(C₂₉H₃₁NO₇, M = 505,56 g.mol⁻¹)



Le benzyl 2-acétamido-3-O-benzyl- α -D-glucopyranoside **193** (300 mg, 0,75 mmol, 1 éq.) et le cyanure de benzoyle (197 mg, 1,50 mmol, 2 éq.) sont dissous dans la pyridine. Le mélange est agité pendant 5h à température ambiante. La réaction est suivie par CCM (CH₂Cl₂ / MeOH 9 / 1). Du méthanol est ajouté et la réaction est laissée agiter pendant 30 min sous argon. Des lavages à l'eau puis avec une solution saturée de NaHCO₃ et une fois supplémentaire à l'eau sont effectués. La phase organique est séchée, évaporée puis coévaporée au toluène. Une purification par chromatographie sur colonne de gel de silice (DCM / Acétone 19 / 1) permet d'obtenir le produit **196** sous forme d'un solide blanc (268 mg, 71%).

R_f : 0,16 (CH₂Cl₂ / Acétone 19 / 1)

[α]_D²⁰ = + 98,5 (*c* = 1,03, CHCl₃)

F = 195°C (MeOH)

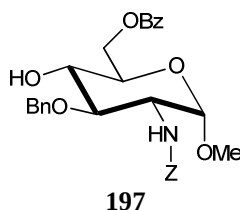
HRMS : *m/z* : calculée pour C₂₉H₃₂NO₇ [M+H]⁺ : 506,217329 ; trouvée : 506,217527

Analyse élémentaire : calculée pour C₂₉H₃₁NO₇ : C, 68.90 ; H, 6.18 ; N, 2.77 ; trouvée C, 68.33 ; H, 6.24 ; N, 2.82

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 8,06-7,29 (m, 15H ; Ar-*H*), 5,44 (d, *J*_{NH,2} = 9,5 Hz, 1H ; NH), 4,90 (d, *J*_{1,2} = 3,5 Hz, 1H ; H-1), 4,78-4,71 (m, 3H ; H-6a, Ar-CH₂), 4,60 (ABq, 2H ; Ar-CH₂), 4,44-4,40 (m, 1H ; H-6b), 4,27 (ddd, *J*_{1,2} = 3,5 Hz, *J*_{2,3} = *J*_{NH,2} = 9,5 Hz, 1H ; H-2), 3,94-3,90 (m, 1H ; H-5), 3,72-3,62 (m, 2H ; H-3, H-4), 2,99 (m, 1H ; OH), 1,86 (s, 3H ; OC(O)CH₃)

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 169,91, 167,28 (2C ; C=O), 138,47, 137,11, 133,47, 129,95, 129,68, 128,76, 128,72, 128,60, 128,36, 128,22, 128,12, 128,05 (18C ; Ar-C), 97,46 (1C ; C-1), 80,08 (1C ; C-3), 74,54 (1C ; Ar-CH₂), 70,74 (1C ; C-5), 70,55 (1C ; C-4), 69,97 (1C ; Ar-CH₂), 63,54 (1C ; C-6), 52,21 (1C ; C-2), 23,51 (1C ; OC(O)CH₃)

méthyl 6-O-benzoyl-3-O-benzyl-2-benzyloxycarbonylamino-2-désoxy- α -D-glucopyranoside
(C₂₉H₃₁NO₈, M = 521,56 g.mol⁻¹)



Le méthyl 3-O-benzyl-2-benzyloxycarbonylamino- α -D-glucopyranoside **194** (300 mg, 0,72 mmol, 1 éq.) et le cyanure de benzoyle (188 mg, 1,44 mmol, 2 éq.) sont dissous dans la pyridine. Le mélange est agité pendant 6h à température ambiante. La réaction est suivie par CCM (CH₂Cl₂ / MeOH 9 / 1). Du méthanol est ajouté et la réaction est laissée agiter pendant 40 min sous argon. Des lavages à l'eau puis avec une solution saturée de NaHCO₃ et une fois supplémentaire à l'eau sont effectués. La phase organique est séchée, évaporée puis coévaporée au toluène. Une purification par chromatographie sur colonne de gel de silice (DCM / Acétone 19 / 1) permet d'obtenir le produit **197** sous forme d'un solide blanc (258 mg, 69%).

Rf : 0,51 (CH₂Cl₂ / Acétone 19 / 1)

[α]_D²⁰ = + 74,8 (c = 1,04, CHCl₃)

F = 149°C (MeOH)

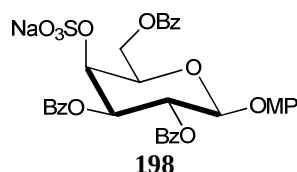
HRMS : *m/z* : calculée pour C₂₉H₃₂NO₈ [M+H]⁺ : 522,212243 ; trouvée : 522,212184

Analyse élémentaire : calculée pour C₂₉H₃₁NO₈: C, 66.78 ; H, 5.99 ; N, 2.69 ; trouvée C, 66.46 ; H, 6.10 ; N, 2.70

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 8,04-7,29 (m, 15H ; Ar-*H*), 5,11 (ABq, 2H ; Ar-CH₂), 4,95 (d, *J*_{NH,2} = 10,0 Hz, 1H ; NH), 4,76-4,68 (m, 4H ; H-1, H-6a, Ar-CH₂), 4,49 (dd, *J*_{5,6b} = 2,0 Hz, *J*_{6a,6b} = 12,0 Hz, 1H ; H-6b), 3,99 (ddd, *J*_{1,2} = 3,5 Hz, *J*_{2,3} = *J*_{NH-2} = 10,0 Hz, 1H ; H-2), 3,85-3,82 (m, 1H ; H-5), 3,64 (ddd, *J*_{4,OH} = 3,0 Hz, *J*_{3,4} = *J*_{4,5} = 10,0 Hz, 1H ; H-4), 3,58-3,53 (m, 1H ; H-3), 3,37 (s, 3H ; OCH₃), 2,80 (m, 1H ; OH)

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 167,14, 156,05 (2C ; C=O), 138,34, 136,44, 133,40, 129,92, 129,77, 128,67, 128,57, 128,41, 128,36, 128,10, 128,01 (18C ; Ar-C), 99,30 (1C ; C-1), 80,64 (1C ; C-3), 74,89 (1C ; Ar-CH₂ (OBn)), 70,48 (1C ; C-5), 70,22 (1C ; C-4), 67,17 (1C ; Ar-CH₂ (OCH₂Ph)), 63,66 (1C ; C-6), 55,36 (1C ; OCH₃), 54,56 (1C ; C-2)

4-méthoxyphényl sodium 2,3,6-tri-O-benzoyl-4-O-sulfonato-β-D-galactopyranoside
(C₃₄H₂₉NaO₁₃S, M = 700,64 g.mol⁻¹)



Suivant la procédure A : Une solution du composé **195** (100 mg, 0,167 mmol, 1 éq.) avec 9 éq. de SO₃.NMe₃ (209 mg, 1,50 mmol) donne le composé **198** (90 mg, 77%) à 60°C en 5 j.

Suivant la procédure C : Une solution du composé **195** (51 mg, 0,085 mmol, 1,0 éq.) avec 2,5 éq. de SO₃.NMe₃ (29 mg, 0,208 mmol) donne le composé **198** (45 mg, 75%) à 100°C pendant 20 min.

Suivant la procédure D : Une solution du composé **195** (50 mg, 0,084 mmol, 1,0 éq.) avec 2,5 éq. de SO₃.NMe₃ (29 mg, 0,208 mmol) donne le composé **198** (42 mg, 72%) à 100°C pendant 20 min.

Rf : 0,22 (CH₂Cl₂ / MeOH 12 / 1)

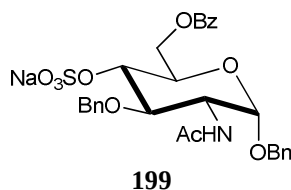
[α]_D²⁰ = + 72,7 (c = 0,98, CHCl₃ / MeOH 1/1)

HRMS : m/z : calculée pour C₃₄H₂₉O₁₃S [M-Na]⁻ : 677,133436 ; trouvée : 677,133900

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃ / MeOD 1/1) : δ (ppm) 8,09-6,53 (m, 19H ; Ar-H), 5,90 (dd, J_{1,2} = 8,0 Hz, J_{2,3} = 10,0 Hz, 1H ; H-2), 5,54 (dd, J_{2,3} = 10,0 Hz, J_{3,4} = 3,0 Hz, 1H ; H-3), 5,26 (d, J_{1,2} = 8,0 Hz, 1H ; H-1), 5,20 (dd, J_{3,4} = 3,0 Hz, J_{4,5} < 1,0 Hz, 1H ; H-4), 4,85 (dd, J_{5,6a} = 8,5 Hz, J_{6a,6b} = 11,5 Hz, 1H ; H-6a), 4,78-4,74 (m, 1H ; H-6b), 4,44-4,40 (m, 1H ; H-5), 3,65 (s, 3H ; OCH₃)

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃ / MeOD 1/1) : δ (ppm) 167,44, 166,65 (3C ; C=O), 156,49, 152,23, 134,20, 134,04, 133,80, 131,04, 130,80, 130,69, 130,65, 130,60, 130,55, 130,40, 129,29, 128,94, 119,33, 115,10 (24C ; Ar-C), 101,57 (1C ; C-1), 73,73 (1C ; C-5), 73,31, 73,28 (2C ; C-3, C-4), 70,90 (1C ; C-2), 65,10 (1C ; C-6), 55,88 (1C ; OCH₃)

benzyl sodium 2-acétamido-6-O-benzoyl-3-O-benzyl-2-désoxy-4-O-sulfonato- α -D-glucopyranoside
(C₂₉H₃₀NNaO₁₀S, M = 607,60 g.mol⁻¹)



Suivant la procédure A : Une solution du composé **196** (50 mg, 0,099 mmol, 1 éq.) avec 3,5 éq. de SO₃.NMe₃ (48 mg, 0,345 mmol) donne le composé **199** (43 mg, 71%) à 60°C en 23h.

Suivant la procédure C : Une solution du composé **196** (44 mg, 0,087 mmol, 1,0 éq.) avec 2,5 éq. de SO₃.NMe₃ (30 mg, 0,216 mmol) donne le composé **199** (43 mg, 71%) à 100°C pendant 20 min.

Suivant la procédure D : Une solution du composé **196** (50 mg, 0,084 mmol, 1,0 éq.) avec 2,5 éq. de SO₃.NMe₃ (35 mg, 0,251 mmol) donne le composé **199** (35 mg, 59%) à 100°C pendant 20 min.

Rf : 0,22 (CH₂Cl₂ / MeOH 9 / 1)

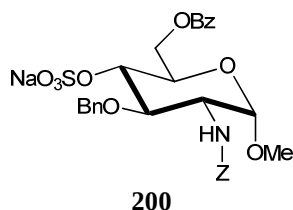
[α]_D²⁰ = + 81,1 (c = 0,99, MeOH)

HRMS : m/z : calculée pour C₂₉H₃₂NO₁₀S [M+2H-Na]⁺ : 586,174144 ; trouvée : 586,174224

¹H NMR (400 MHz, MeOD) : δ (ppm) 8,08-7,20 (m, 15H ; Ar-H), 4,90-4,86 (m, 1H ; H-6a), 4,84 (ABq, 1H ; Ar-CH₂ (OBn)), 4,83-4,82 (m, 1H ; H-1), 4,60 (ABq, 1H ; Ar-CH₂ (OBn)), 4,63-4,47 (m, 4H ; H-4, H-6b, Ar-CH₂), 4,19-4,14 (m, 2H ; H-2, H-5), 3,88 (dd, J_{2,3} = 8,5 Hz, J_{3,4} = 11 Hz, 1H ; H-3), 1,88 (s, 3H ; OC(O)CH₃)

¹³C NMR (100 MHz, MeOD) : δ (ppm) 173,24, 167,90 (2C ; C=O), 140,36, 138,47, 134,17, 131,57, 130,64, 129,53, 129,45, 129,27, 129,05, 128,98, 128,36 (18C ; Ar-C), 97,25 (1C ; C-1), 80,07 (1C ; C-3), 78,58 (1C ; C-4), 75,97 (1C ; Ar-CH₂ (OBn)), 70,57 (1C ; C-5), 70,26 (1C ; Ar-CH₂ (OBn)), 65,28 (1C ; C-6), 54,21 (1C ; C-2), 22,58 (1C ; OC(O)CH₃)

méthyl sodium 6-O-benzoyl-3-O-benzyl-2-benzyloxycarbonylamino-2-désoxy-4-O-sulfonato- α -D-glucopyranoside
(C₂₂H₃₀NNaO₁₁S, M = 521,56 g.mol⁻¹)



Suivant la procédure A : Une solution du composé **197** (50 mg, 0,096 mmol, 1 éq.) avec 2,5 éq. de SO₃.NMe₃ (33 mg, 0,237 mmol) donne le composé **200** (26 mg, 43%) à 60°C en 7h.

Suivant la procédure C : Une solution du composé **197** (50 mg, 0,096 mmol, 1,0 éq.) avec 2,5 éq. de SO₃.NMe₃ (33 mg, 0,237 mmol) donne le composé **200** (22 mg, 36%) à 100°C pendant 20 min.

Suivant la procédure D : Une solution du composé **197** (100 mg, 0,192 mmol, 1,0 éq.) avec 2,5 éq. de SO₃.NMe₃ (67 mg, 0,481 mmol) donne le composé **200** (50 mg, 42%) à 100°C pendant 20 min.

Rf : 0,36 (CH₂Cl₂ / MeOH 9 / 1)

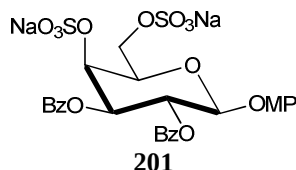
[α]_D²⁰ = + 84,2 (c = 1,00, MeOH)

HRMS : m/z : calculée pour C₂₉H₃₀NO₁₁S [M-Na]⁻ : 600,154505 ; trouvée 600,154625

¹H NMR (400 MHz, MeOD) : δ (ppm) 8,07-7,19 (m, 15H ; Ar-H), 5,05 (ABq, 2H ; Ar-CH₂), 4,88 (dd, $J_{5,6a}$ = 2,0 Hz, $J_{6a,6b}$ = 12,0 Hz, 1H ; H-6a), 4,85 (ABq, 2H ; Ar-CH₂), 4,66 (d, $J_{1,2}$ = 3,5 Hz, 1H ; H-1), 4,60-4,56 (m, 1H ; H-6b), 4,50 (dd, $J_{3,4}$ = $J_{4,5}$ = 8,5 Hz, 1H ; H-4), 4,06-4,03 (m, 1H ; H-5), 3,86 (dd, $J_{1,2}$ = 3,5 Hz, $J_{2,3}$ = 10,5 Hz, 1H ; H-2), 3,78 (dd, $J_{2,3}$ = 10,5 Hz, $J_{3,4}$ = 8,5 Hz, 1H ; H-3), 3,37 (s, 3H ; OCH₃)

¹³C NMR (100 MHz, MeOD) : δ (ppm) 167,92, 158,69 (2C ; C=O), 140,15, 138,21, 134,12, 131,58, 130,60, 129,60, 129,51, 129,46, 129,03, 128,97, 128,88, 128,35 (18C ; Ar-C), 100,00 (1C ; C-1), 80,20 (1C ; C-3), 78,59 (1C ; C-4), 76,21 (1C ; Ar-CH₂), 70,16 (1C ; C-5), 67,62 (1C ; Ar-CH₂), 65,30 (1C ; C-6), 56,29 (1C ; C-2), 55,59 (1C ; OCH₃)

4-méthoxyphényl sodium 2,3-tri-O-benzoyl-4,6-di-O-sulfonato-β-D-galactopyranoside
(C₂₇H₂₄Na₂O₁₅S₂, M = 698,58 g.mol⁻¹)



Suivant la procédure A : Une solution du 4-méthoxyphényl 2,3-di-O-benzoyl-β-D-galactopyranoside **192** (100 mg, 0,202 mmol, 1 éq.) avec 8,0 éq. de SO₃.NMe₃ (225 mg, 1,62 mmol) donne le composé **201** (83 mg, 59%) à 65°C en 96h.

Suivant la procédure C : Une solution du 4-méthoxyphényl 2,3-di-O-benzoyl-β-D-galactopyranoside **192** (51 mg, 0,103 mmol, 1,0 éq.) avec 4,0 éq. de SO₃.NMe₃ (57 mg, 0,409 mmol) donne le composé **201** (48 mg, 68%) à 100°C pendant 30 min.

Suivant la procédure D : Une solution du 4-méthoxyphényl 2,3-di-O-benzoyl-β-D-galactopyranoside **192** (100 mg, 0,202 mmol, 1,0 éq.) avec 4,0 éq. de SO₃.NMe₃ (112 mg, 0,804 mmol) donne le composé **201** (83 mg, 59%) à 100°C pendant 20 min.

Rf : 0,1 (CH₂Cl₂ / MeOH 9 / 1)

[α]_D²⁰ = + 68,6 (*c* = 1,01, CHCl₃ / MeOH 1/1)

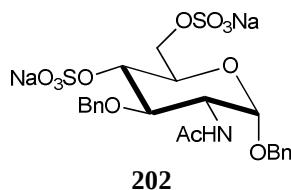
HRMS : *m/z* : calculée pour C₂₇H₂₄O₁₅S₂ [M-2Na]²⁻ : 326,028380 ; trouvée : 326,028470

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃/ MeOD 1/1) : δ (ppm) 7,99-7,90 (m, 4H ; Ar-*H*), 7,51-7,28 (m, 6H ; Ar-*H*), 6,97-6,73 (m, 4H ; Ar-*H* (MP)), 5,85 (dd, *J*_{1,2} = 8,0 Hz, *J*_{2,3} = 10,5 Hz, 1H ; H-2), 5,45 (dd, *J*_{2,3} = 10,5 Hz, *J*_{3,4} = 3,5 Hz, 1H ; H-3), 5,25 (d, *J*_{1,2} = 8,0 Hz, 1H ; H-1), 5,13 (dd, *J*_{3,4} = 3,5 Hz, *J*_{4,5} < 1,0 Hz, 1H ; H-4), 4,53-4,82 (m, 1H ; H-6a), 4,38-4,28 (m, 2H ; H-5, H-6b), 3,69 (s, 3H ; OCH₃)

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃/ MeOD 1/3) : δ (ppm) 167,44, 166,66 (2C ; C=O), 156,51, 152,41, 134,15, 133,75, 130,71, 130,56, 130,33, 130,25, 129,22, 128,88, 119,29, 115,28 (18C ; Ar-C), 101,85 (1C ; C-1), 73,86 (1C ; C-5), 73,51 (1C ; C-4), 73,35 (1C ; C-3), 70,88 (1C ; C-2), 67,67 (1C ; C-6), 55,92 (1C ; OCH₃)

benzyl sodium 2-acétamido-6-O-benzoyl-3-O-benzyl-2-désoxy-4,6-di-O-sulfonato- α -D-glucopyranoside

($C_{22}H_{25}NNa_2O_{12}S_2$, $M = 605,54 \text{ g.mol}^{-1}$)



Suivant la procédure A : Une solution du benzyl 2-acétamido-3-O-benzyl- α -D-glucopyranoside **193** (50 mg, 0,124 mmol, 1 éq.) avec 5,5 éq. de $SO_3.NMe_3$ (95 mg, 0,68 mmol) donne le composé **202** (25 mg, 34%) à 65°C en 31h.

Suivant la procédure C : Une solution du benzyl 2-acétamido-3-O-benzyl- α -D-glucopyranoside **193** (50 mg, 0,124 mmol, 1,0 éq.) avec 4,0 éq. de $SO_3.NMe_3$ (70 mg, 0,503 mmol) donne le composé **202** (40 mg, 55%) à 100°C pendant 30 min.

Suivant la procédure D : Une solution du benzyl 2-acétamido-3-O-benzyl- α -D-glucopyranoside **193** (50 mg, 0,124 mmol, 1,0 éq.) avec 4,0 éq. de $SO_3.NMe_3$ (69 mg, 0,496 mmol) donne le composé **202** (38 mg, 51%) à 100°C pendant 20 min.

Rf : 0,15 (DCM / MeOH 8 / 2)

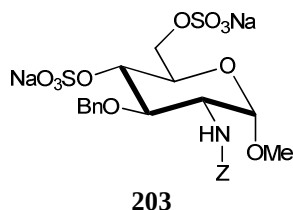
$[\alpha]_D^{20} = + 102,1$ ($c = 1,02$, MeOH)

HRMS : m/z : calculée pour $C_{22}H_{25}NO_{12}S_2 [M-2Na]^{2-}$: 279,541457 ; trouvée 279,542105

1H NMR (400 MHz, MeOD) : δ (ppm) 7,44-7,21 (m, 10H ; Ar-H), 4,82 (ABq, 2H ; Ar-CH₂), 4,80 (d, $J_{1,2} = 3,0$ Hz, 1H ; H-1), 4,72-4,70 (m, 1H ; H-6a), 4,65 (ABq, 2H ; Ar-CH₂), 4,32 (dd, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9,0$ Hz, 1H ; H-4), 4,15-4,12 (m, 3H ; H-2, H-5, H-6b), 3,83 (dd, $J_{2,3} = 11,0$ Hz, $J_{3,4} = 9,0$ Hz, 1H ; H-3), 1,88 (s, 3H ; OC(O)CH₃)

^{13}C NMR (100 MHz, MeOD) : δ (ppm) 173,17 (1C ; C=O), 140,20, 138,61 (2C ; Ar-C), 129,68, 129,43, 129,36, 129,05, 128,89, 128,42 (10C ; Ar-C), 96,85 (1C ; C-1), 80,16 (1C ; C-3), 78,58 (1C ; C-4), 75,99 (1C ; Ar-CH₂ (OBn)), 70,91 (1C ; C-5), 70,10 (1C ; Ar-CH₂ (OBn)), 68,76 (1C ; C-6), 54,15 (1C ; C-2), 22,60 (1C ; OC(O)CH₃)

méthyl sodium 3-O-benzyl-2-benzyloxycarbonylamino-2-désoxy-4,6-di-O-sulfonato- α -D-glucopyranoside
(C₂₂H₂₅NNa₂O₁₃S₂, M = 521,56 g.mol⁻¹)



Suivant la procédure A : Une solution du méthyl 3-O-benzyl-2-benzyloxycarbonylamino- α -D-glucopyranoside **194** (51 mg, 0,122 mmol, 1 éq.) avec 4,5 éq. de SO₃.NMe₃ (76 mg, 0,546 mmol) donne le composé **203** (42 mg, 56%) à 65°C en 32h.

Suivant la procédure C : Une solution du méthyl 3-O-benzyl-2-benzyloxycarbonylamino- α -D-glucopyranoside **194** (50 mg, 0,120 mmol, 1,0 éq.) avec 4,0 éq. de SO₃.NMe₃ (67 mg, 0,481 mmol) donne le composé **203** (47 mg, 57%) à 100°C pendant 30 min.

Suivant la procédure D : Une solution du méthyl 3-O-benzyl-2-benzyloxycarbonylamino- α -D-glucopyranoside **194** (50 mg, 0,120 mmol, 1,0 éq.) avec 4,0 éq. de SO₃.NMe₃ (70 mg, 0,502 mmol) donne le composé **203** (33 mg, 44%) à 100°C pendant 20 min.

Rf : 0,6 (AcOEt / MeOH / H₂O 6 / 2 / 1)

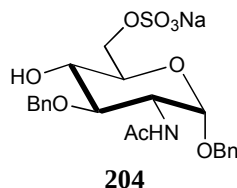
[α]_D²⁰ = + 71,4 (c = 1,01, MeOH)

HRMS : m/z : calculée pour C₂₂H₂₅NO₁₃S₂ [M-2Na]²⁻ : 287,538915 ; trouvée 287,539633

¹H NMR (400 MHz, MeOD) : δ (ppm) 7,35-7,19 (m, 10H ; Ar-H), 5,06 (ABq, 2H ; Ar-CH₂), 4,83 (ABq, 2H ; Ar-CH₂), 4,68 (dd, $J_{5,6a}$ = 2,5 Hz, $J_{6a,6b}$ = 11,0 Hz, 1H ; H-6a), 4,65 (d, $J_{1,2}$ = 3,5 Hz, 1H ; H-1), 4,26 (dd, $J_{3,4}$ = $J_{4,5}$ = 8,5 Hz, 1H ; H-4), 4,08 (dd, $J_{5,6b}$ = 8,0 Hz, $J_{6a,6b}$ = 11,0 Hz, 1H ; H-6b), 4,00-3,95 (m, 1H ; H-5), 3,83 (dd, $J_{1,2}$ = 3,5 Hz, $J_{2,3}$ = 10,5 Hz, 1H ; H-2), 3,77-3,72 (m, 1H ; H-3), 3,40 (s, 3H ; OCH₃)

¹³C NMR (100 MHz, MeOD) : δ (ppm) 158,67 (1C ; C=O), 140,06, 138,2 (2C ; Ar-C), 129,68, 129,46, 129,03, 128,97, 128,88, 128,38 (10C ; Ar-C), 99,73 (1C ; C-1), 80,37 (1C ; C-3), 78,62 (1C ; C-4), 76,25 (1C ; Ar-CH₂), 70,56 (1C ; C-5), 68,80 (1C ; C-6), 67,60 (1C ; Ar-CH₂), 56,31 (1C ; C-2), 55,69 (1C ; OCH₃)

benzyl sodium 2-acétamido-3-O-benzyl-2-désoxy-6-O-sulfonato- α -D-glucopyranoside
(C₂₂H₂₆NNaO₉S, M = 503,50 g.mol⁻¹)



Suivant la procédure B : Une solution du benzyl 2-acétamido-3-O-benzyl- α -D-glucopyranoside **193** (70 mg, 0,174 mmol, 1 éq.) avec 2,5 éq. de SO₃.NMe₃ (61 mg, 0,438 mmol) donne le composé **204** (43 mg, 51%) à 40°C en 3,5h.

Suivant la procédure C : Une solution du benzyl 2-acétamido-3-O-benzyl- α -D-glucopyranoside **193** (50 mg, 0,124 mmol, 1,0 éq.) avec 2,5 éq. de SO₃.NMe₃ (43 mg, 0,308 mmol) donne le composé **204** (34 mg, 57%) à 60°C pendant 10 min.

Suivant la procédure D : Une solution du benzyl 2-acétamido-3-O-benzyl- α -D-glucopyranoside **193** (100 mg, 0,249 mmol, 1,0 éq.) avec 2,5 éq. de SO₃.NMe₃ (87 mg, 0,625 mmol) donne le composé **204** (86 mg, 69%) à 60°C pendant 10 min.

Rf : 0,1 (CH₂Cl₂ / MeOH 9 / 1)

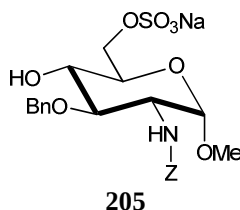
[α]_D²⁰ = + 111,2 (c = 0,93, MeOH)

HRMS : m/z : calculée pour C₂₂H₂₈NO₉S [M+2H-Na]⁺ : 482,147929 ; trouvée : 482,148040

¹H NMR (400 MHz, MeOD) : δ (ppm) 7,43-7,23 (m, 10H ; Ar-H), 4,80 (d, $J_{1,2}$ = 3,5 Hz, 1H ; H-1), 4,78 (ABq, 2H ; Ar-CH₂ (OBn)), 4,66 (ABq, 2H ; Ar-CH₂ (OBn)), 4,32 (dd, $J_{5,6a}$ = 2,0 Hz, $J_{6a,6b}$ = 11,0 Hz, 1H ; H-6a), 4,18 (dd, $J_{5,6b}$ = 6,0 Hz, $J_{6a,6b}$ = 11,0 Hz, 1H ; H-6b), 4,08 (dd, $J_{1,2}$ = 3,5 Hz, $J_{2,3}$ = 10,5 Hz, 1H ; H-2), 3,94-3,90 (m, 1H ; H-5), 3,75-3,70 (m, 1H ; H-3), 3,63-3,58 (m, 1H ; H-4), 1,90 (s, 3H ; OC(O)CH₃)

¹³C NMR (100 MHz, MeOD) : δ (ppm) 173,20 (1C ; C=O), 140,40, 138,79, 129,57, 129,38, 129,16, 128,89, 128,65, 128,35 (12C ; Ar-C), 97,66 (1C ; C-1), 81,38 (1C ; C-3), 75,68 (1C ; Ar-CH₂ (OBn)), 72,32 (1C ; C-5), 72,11 (1C ; C-4), 70,30 (1C ; Ar-CH₂ (OBn)), 68,23 (1C ; C-6), 54,15 (1C ; C-2), 22,58 (1C ; OC(O)CH₃)

méthyl sodium 3-O-benzyl-2-benzyloxycarbonylamino-2-désoxy-6-O-sulfonato- α -D-glucopyranoside
(C₂₂H₂₆NNaO₁₀S, M = 519,50 g.mol⁻¹)



Suivant la procédure B : Une solution du méthyl 3-O-benzyl-2-benzyloxycarbonylamino- α -D-glucopyranoside **194** (70 mg, 0,167 mmol, 1 éq.) avec 2,5 éq. de SO₃.NMe₃ (58 mg, 0,416 mmol) donne le composé **205** (27 mg, 31%) à 40°C en 5,5h.

Suivant la procédure C : Une solution du méthyl 3-O-benzyl-2-benzyloxycarbonylamino- α -D-glucopyranoside **194** (50 mg, 0,120 mmol, 1,0 éq.) avec 2,5 éq. de SO₃.NMe₃ (42 mg, 0,302 mmol) donne le composé **205** (36 mg, 57%) à 60°C pendant 10 min.

Suivant la procédure D : Une solution du méthyl 3-O-benzyl-2-benzyloxycarbonylamino- α -D-glucopyranoside **194** (50 mg, 0,120 mmol, 1,0 éq.) avec 2,5 éq. de SO₃.NMe₃ (48 mg, 0,344 mmol) donne le composé **205** (48 mg, 78%) à 60°C pendant 10 min.

Rf : 0,1 (CH₂Cl₂ / MeOH 9 / 1)

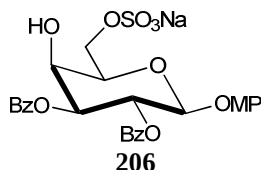
[α]_D²⁰ = + 76,1 (c = 1,00, MeOH)

HRMS : m/z : calculée pour C₂₂H₂₈NO₁₀S [M+2H-Na]⁺ : 498,142844 ; trouvée 498,142808

¹H NMR (400 MHz, MeOD) : δ (ppm) 7,33-7,22 (m, 10H ; Ar-H), 5,11 (ABq, 2H ; Ar-CH₂), 4,75 (ABq, 2H ; Ar-CH₂), 4,64 (d, $J_{1,2}$ = 3,5 Hz, 1H ; H-1), 4,32 (dd, $J_{5,6a}$ = 2,0 Hz, $J_{6a,6b}$ = 11,0 Hz, 1H ; H-6a), 4,16 (dd, $J_{5,6b}$ = 5,5 Hz, $J_{6a,6b}$ = 11,0 Hz, 1H ; H-6b), 3,79-3,77 (m, 2H ; H-2, H-5), 3,64-3,54 (m, 2H ; H-3, H-4), 3,39 (s, 3H ; OCH₃)

¹³C NMR (100 MHz, MeOD) : δ (ppm) 158,67 (1C ; C=O), 140,23, 138,30 (2C ; Ar-C), 129,44, 129,13, 128,95, 128,85, 128,36 (10C ; Ar-C), 100,40 (1C ; C-1), 81,73 (1C ; C-3), 75,96 (1C ; Ar-CH₂ (OBn)), 72,04 (1C ; C-4), 71,96 (1C ; C-5), 68,23 (1C ; C-6), 67,54 (1C ; Ar-CH₂ (OCH₂Ph)), 56,25 (1C ; C-2), 55,64 (1C ; OCH₃)

4-méthoxyphényl sodium 2,3-di-O-benzoyl-6-O-sulfonato-β-D-galactopyranoside
(C₂₇H₂₅NaO₁₂S, M = 596,53 g.mol⁻¹)



Suivant la procédure B : Une solution du 4-méthoxyphényl 2,3-di-O-benzoyl-β-D-galactopyranoside **192** (100 mg, 0,202 mmol, 1 éq.) avec 2,5 éq. de SO₃.NMe₃ (70 mg, 0,502 mmol) donne le composé **206** (101 mg, 85%) à 40°C en 6,5h.

Suivant la procédure C : Une solution du 4-méthoxyphényl 2,3-di-O-benzoyl-β-D-galactopyranoside **192** (100 mg, 0,202 mmol, 1,0 éq.) avec 2,5 éq. de SO₃.NMe₃ (70 mg, 0,502 mmol) donne le composé **206** (101 mg, 84%) à 80°C pendant 10 min.

Suivant la procédure D : Une solution du 4-méthoxyphényl 2,3-di-O-benzoyl-β-D-galactopyranoside **192** (100 mg, 0,202 mmol, 1,0 éq.) avec 2,5 éq. de SO₃.NMe₃ (70 mg, 0,502 mmol) donne le composé **206** (94 mg, 78%) à 80°C pendant 10 min.

Rf : 0,26 (CH₂Cl₂ / MeOH 9 / 1)

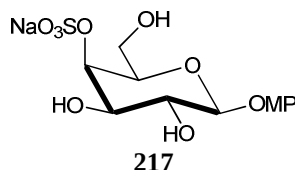
[α]_D²⁰ = + 84,3 (c = 1,00, MeOH)

HRMS : m/z : calculée pour C₂₇H₂₅O₁₂S [M-Na]⁻ : 573,107221 ; trouvée : 573,107394

¹H NMR (250 MHz, MeOD) : δ (ppm) 7,99-7,39 (m, 10H ; Ar-H), 6,99-6,78 (m, 4H ; Ar-H (MP)), 5,90 (dd, J_{1,2} = 8,0 Hz, J_{2,3} = 10,5 Hz, 1H ; H-2), 5,42 (dd, J_{2,3} = 10,5 Hz, J_{3,4} = 3,5 Hz, 1H ; H-3), 5,30 (d, J_{1,2} = 8,0 Hz, 1H ; H-1), 4,39 (dd, J_{3,4} = 3,5 Hz, J_{4,5} < 1,0 Hz, 1H ; H-4), 4,31-4,25 (m, 3H ; H-5, H-6a,b), 3,71 (s, 3H ; OCH₃)

¹³C NMR (100 MHz, MeOD) : δ (ppm) 167,15 (2C ; C=O), 156,99, 152,89, 134,45, 130,88, 130,74, 130,58, 129,58, 129,45 (18C ; Ar-C), 119,51, 115,55 (2C ; Ar-C (MP)) 102,13 (1C ; C-1), 75,79 (1C ; C-3), 74,60 (1C ; C-5), 71,52 (1C ; C-2), 67,74 (1C ; C-4), 67,21 (1C ; C-6), 56,00 (1C ; OCH₃)

4-méthoxyphényl sodium 4-O-sulfonato-β-D-galactopyranoside
(C₁₃H₁₇NaO₉S, M = 388,32 g.mol⁻¹)



Une solution du composé **198** (50 mg, 0,072 mmol, 1 éq.) dans le MeOH (2 mL) est traitée pendant 2h avec une solution de NaOH (4M, 0,35 mL) puis elle est diluée avec de l'eau (4 mL). Le pH de la solution est abaissé jusqu'à 3,3 (contrôlé par un pH-mètre) avec de la résine amberlite IR-120 [H⁺] puis le mélange est filtré, concentré et séché sous vide. Il est alors lavé avec de l'éther diéthylique. Le résidu est alors solubilisé dans l'eau puis une solution de NaOH 0,1M est ajoutée jusqu'à un pH de 7,2. Le milieu est ensuite concentré et le produit est purifié par colonne d'exclusion stérique Sephadex LH-20 avec de l'eau pour donner le produit sulfaté **217** déprotégé (20 mg, 71%).

Rf : 0,55 (EtOAc / MeOH / H₂O 6 / 2 / 1)

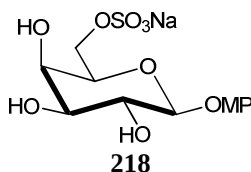
[α]_D²⁰ = - 24,0 (c = 1,00, H₂O)

HRMS : m/z : calculée pour C₁₃H₁₇O₁₀S [M-Na]⁻ : 365,054791 ; trouvée : 365,055390

¹H NMR (400 MHz, D₂O) : δ (ppm) 7,16-6,98 (m, 4H ; Ar-H), 5,00 (d, *J*_{1,2} = 7,5 Hz, 1H ; H-1), 4,77 (dd, *J*_{3,4} = 3,0 Hz, *J*_{4,5} < 1,0 Hz, 1H ; H-4), 3,98-3,81 (m, 5H ; H-2, H-3, H-5, H-6a,b), 3,83 (s, 3H ; OCH₃)

¹³C NMR (100 MHz, D₂O) : δ (ppm) 155,35, 151,57 (2C ; Ar-C), 118,87, 115,68 (4C ; Ar-C), 102,30 (1C ; C-1), 77,02 (1C ; C-4), 75,26, 72,28, 71,32 (3C ; C-2, C-3, C-5), 61,38 (1C ; C-6), 56,44 (1C ; OCH₃)

4-méthoxyphényl sodium 6-O-sulfonato-β-D-galactopyranoside
(C₁₃H₁₇NaO₁₀S, M = 388,32 g.mol⁻¹)



Une solution du composé **206** (52 mg, 0,081 mmol, 1 éq.) dans le MeOH (2 mL) est traitée pendant 2h avec une solution de NaOH (4M, 0,45 mL) puis elle est diluée avec de l'eau (4 mL). Le pH de la solution est abaissé jusqu'à 3,1 (contrôlé par un pH-mètre) avec de la résine amberlite IR-120 [H⁺] puis le mélange est filtré, concentré et séché sous vide. Il est alors lavé avec de l'éther diéthylique. Le résidu est ensuite solubilisé dans l'eau puis une solution de

NaOH 0,1M est ajouté jusqu'à un pH de 9,3. Le milieu est alors concentré et le produit est purifié par colonne d'exclusion stérique Sephadex LH-20 avec de l'eau pour donner le produit sulfaté **218** déprotégé (27 mg, 85 %).

Rf : 0,51 (AcOEt / MeOH / H₂O 6 / 2 / 1)

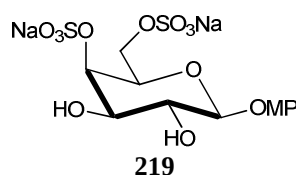
$[\alpha]_D^{20} = -32,7$ ($c = 1,01$, H₂O)

HRMS : m/z : calculée pour C₁₃H₁₇O₁₀S [M-Na]⁻ : 365,054791 ; trouvée : 365,055471

¹H NMR (400 MHz, D₂O) : δ (ppm) 7,18-7,00 (m, 4H ; Ar-H), 4,96 (d, $J_{1,2} = 7,5$ Hz, 1H ; H-1), 4,29-4,21 (m, 2H ; H-6a,b), 4,12-4,08 (m, 1H ; H-5), 4,7 (dd, $J_{3,4} = 2,5$ Hz, $J_{4,5} < 1,0$ Hz, 1H ; H-4), 3,84 (s, 3H ; OCH₃), 3,84-3,80 (m, 2H ; H-2, H-3)

¹³C NMR (100 MHz, D₂O) : δ (ppm) 155,27, 151,76 (2C ; Ar-C), 118,76, 115,70 (4C ; Ar-C), 102,37 (1C ; C-1), 73,53 (1C ; C-5), 73,05 (1C ; C-3), 71,15 (1C ; C-2), 68,90 (1C ; C-4), 67,64 (1C ; C-6), 56,45 (1C ; OCH₃)

4-méthoxyphényl sodium 4,6-di-O-sulfonato- β -D-galactopyranoside
(C₁₃H₁₆Na₂O₁₃S₂, M = 490,37 g.mol⁻¹)



Une solution du composé **201** (123 mg, 0,177 mmol, 1 éq.) dans le MeOH (5 mL) est traitée pendant 1h30 avec une solution de NaOH (4M, 0,9 mL) puis elle est diluée avec de l'eau (5 mL). Le pH de la solution est abaissé jusqu'à 1,3 (contrôlé par un pH-mètre) avec de la résine amberlite IR-120 [H⁺] puis le mélange est filtré, concentré et séché sous vide. Il est alors lavé avec de l'éther diéthylique. Le résidu est ensuite solubilisé dans l'eau puis une solution de NaOH 0,1M est ajoutée jusqu'à un pH de 6,9. Le milieu est ensuite concentré et le produit est purifié par colonne d'exclusion stérique Sephadex LH-20 avec de l'eau pour donner le produit sulfaté **219** déprotégé (62 mg, 72 %).

Rf : 0,36 (CH₂Cl₂ / MeOH / H₂O 6 / 4 / 1)

$[\alpha]_D^{20} = -25,2$ ($c = 0,98$, H₂O)

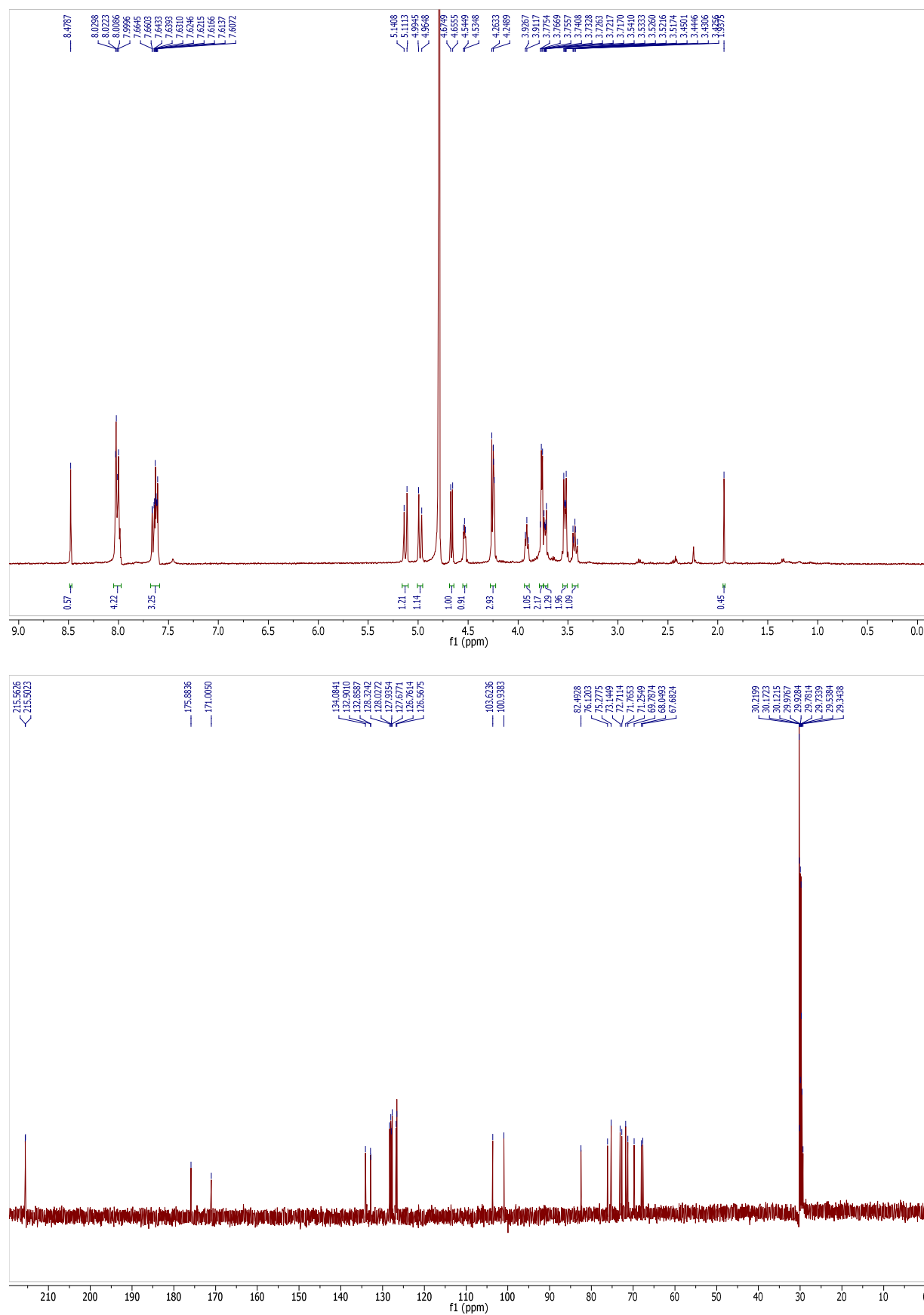
HRMS : m/z : calculée pour C₁₃H₁₇NO₁₃S₂ [M+H-2Na]⁻ : 445,011606 ; trouvée : 445,011967

¹H NMR (400 MHz, D₂O) : δ (ppm) 7,21-7,02 (m, 4H ; Ar-H), 5,01 (d, $J_{1,2} = 8,0$ Hz, 1H ; H-1), 4,82 (dd, $J_{3,4} = 3,0$ Hz, $J_{4,5} < 1,0$ Hz, 1H ; H-4), 4,44-4,38 (m, 1H ; H-6a), 4,29-4,27 (m, 2H ; H-5, H-6b), 3,97 (dd, $J_{2,3} = 10,0$ Hz, $J_{3,4} = 3,0$ Hz, 1H ; H-3), 3,87 (dd, $J_{1,2} = 8,0$ Hz, $J_{2,3} = 10,0$ Hz, 1H ; H-2), 3,85 (s, 3H ; OCH₃)

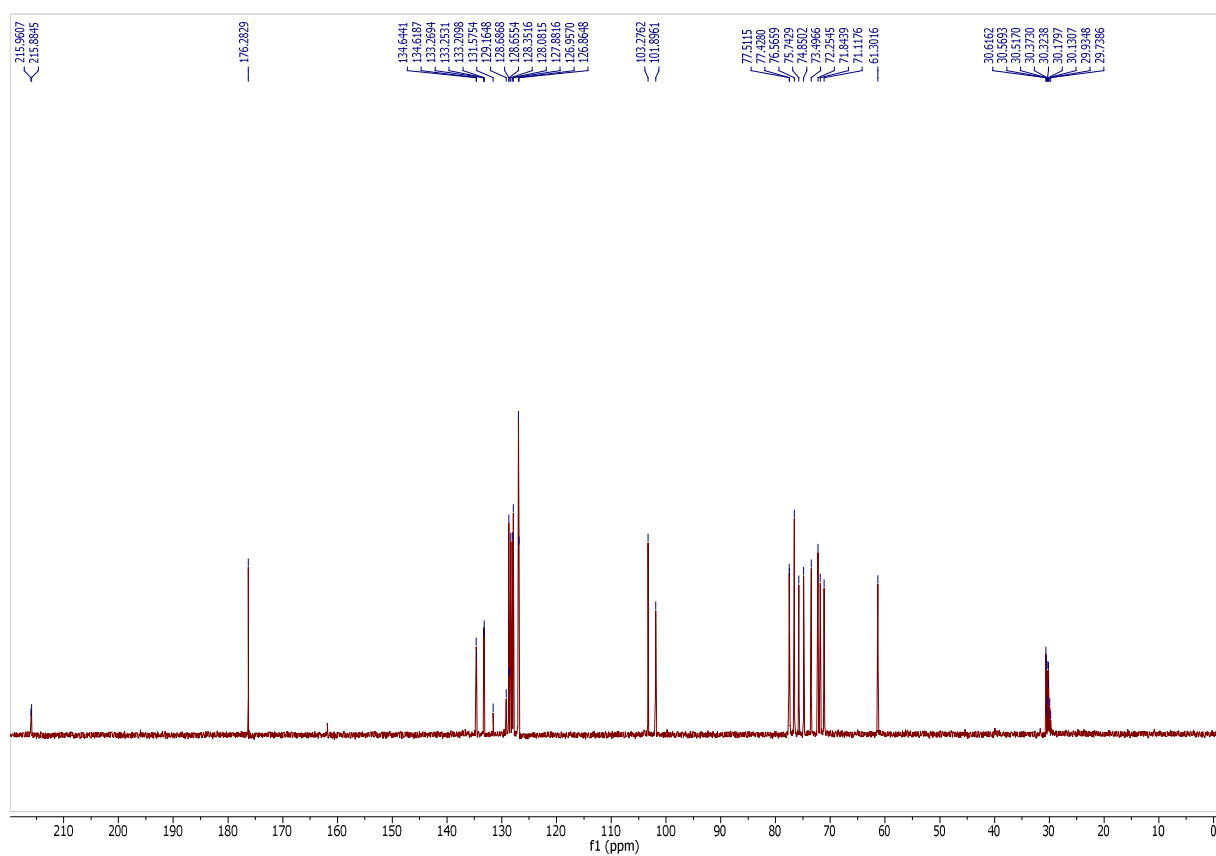
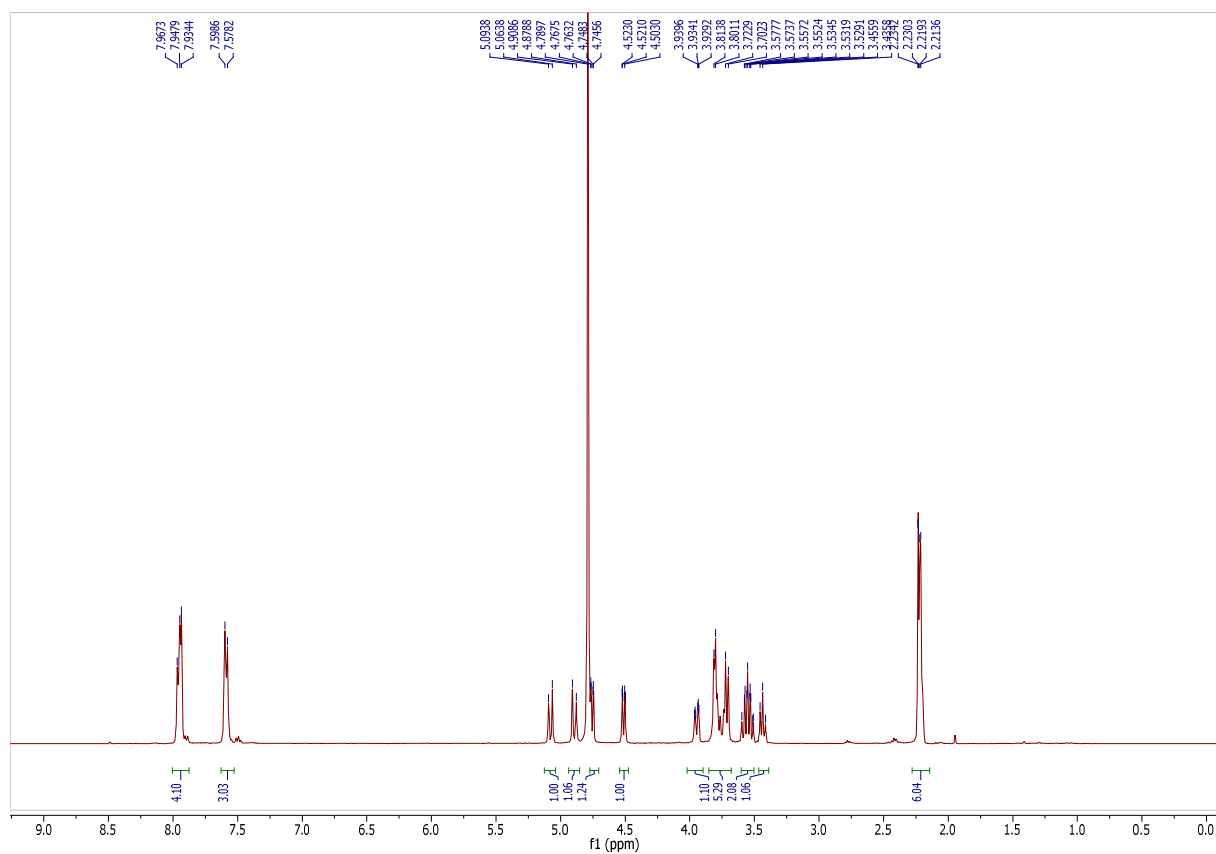
^{13}C NMR (100 MHz, D_2O) : δ (ppm) 155,30, 151,68 (2C ; Ar-C), 118,76, 115,68 (4C ; Ar-C), 102,23 (1C ; C-1), 76,85 (1C ; C-4), 73,02 (1C ; C-5), 72,14 (1C ; C-3), 71,18 (1C ; C-2), 68,27 (1C ; C-6), 56,44 (1C ; OCH_3)

IX- ANNEXES

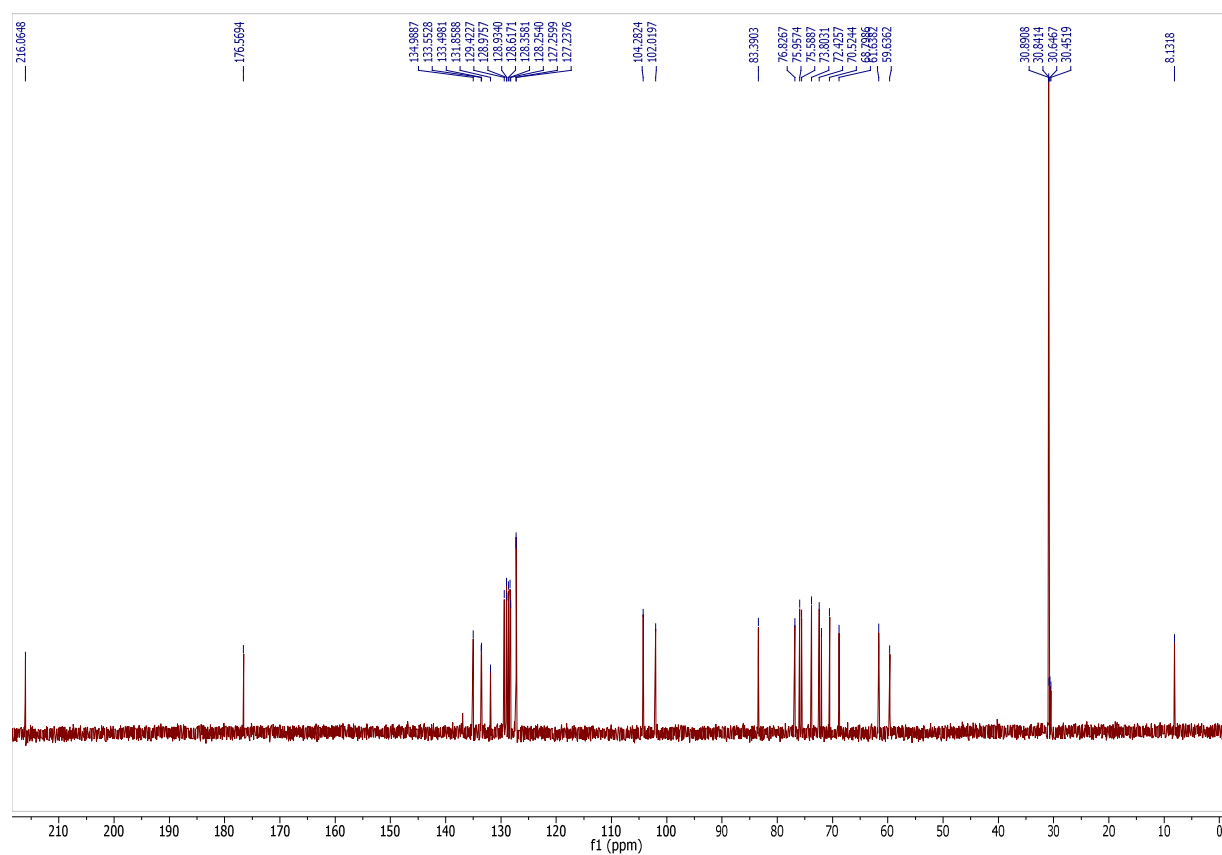
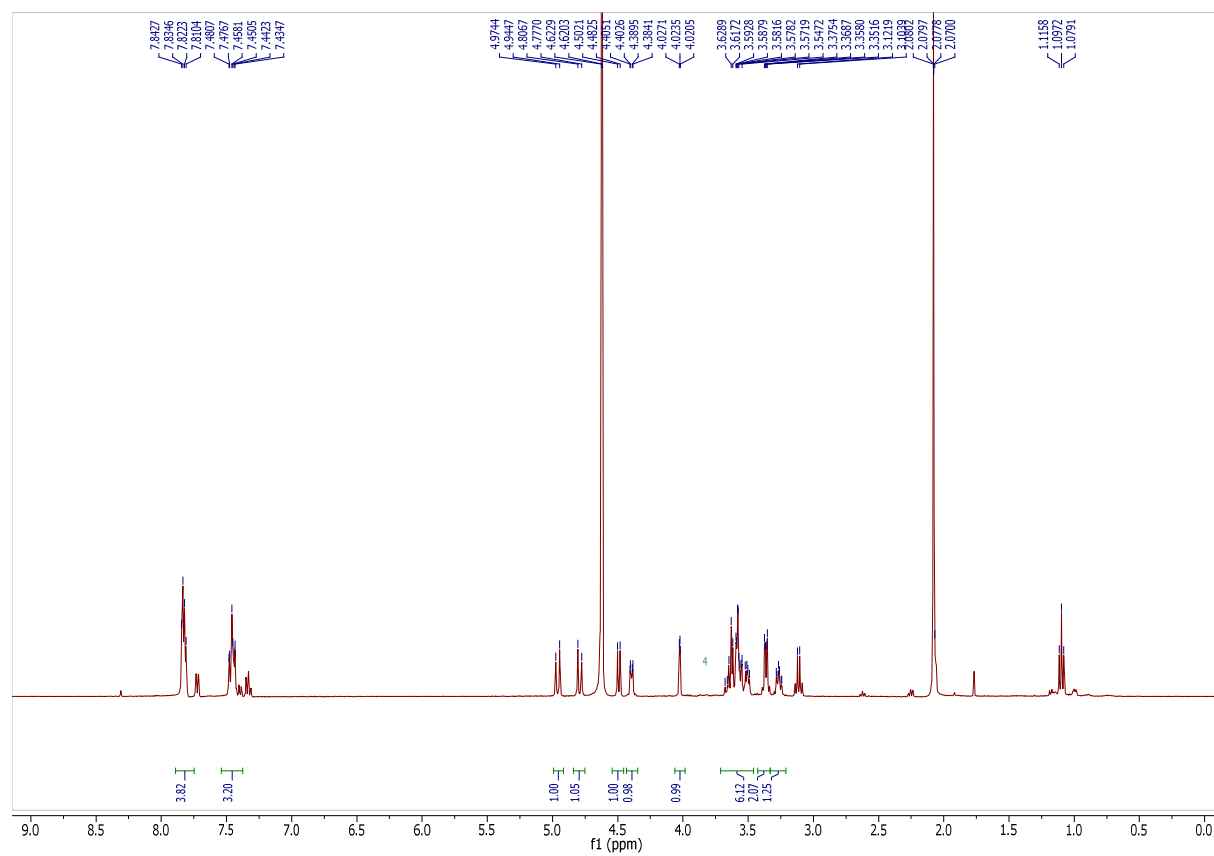
Annexe 1 : RMN ^1H et ^{13}C (D_2O) du disaccharide 6-sulfaté 129



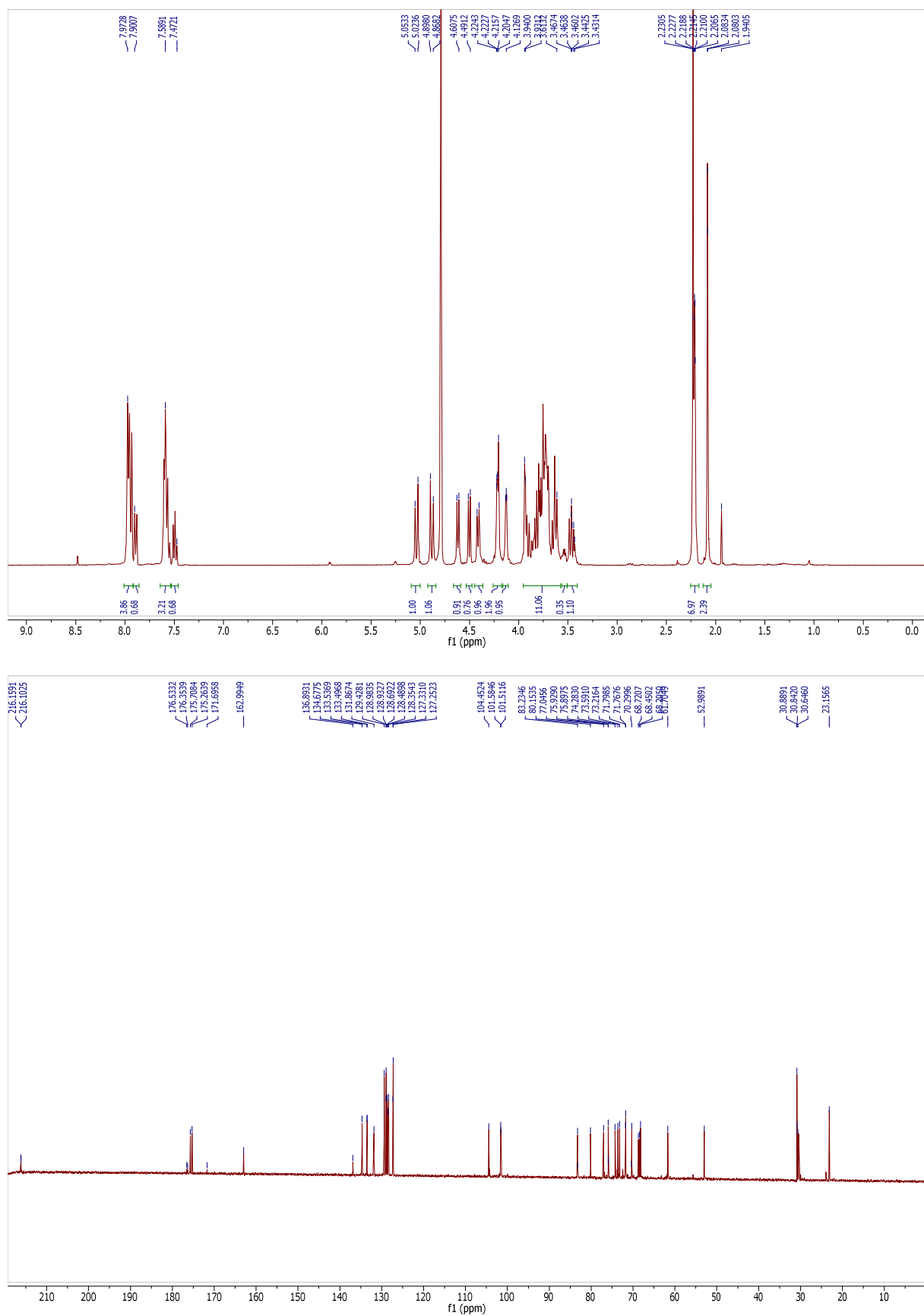
Annexe 2 : RMN ^1H et ^{13}C (D_2O) du disaccharide 4-sulfaté 130



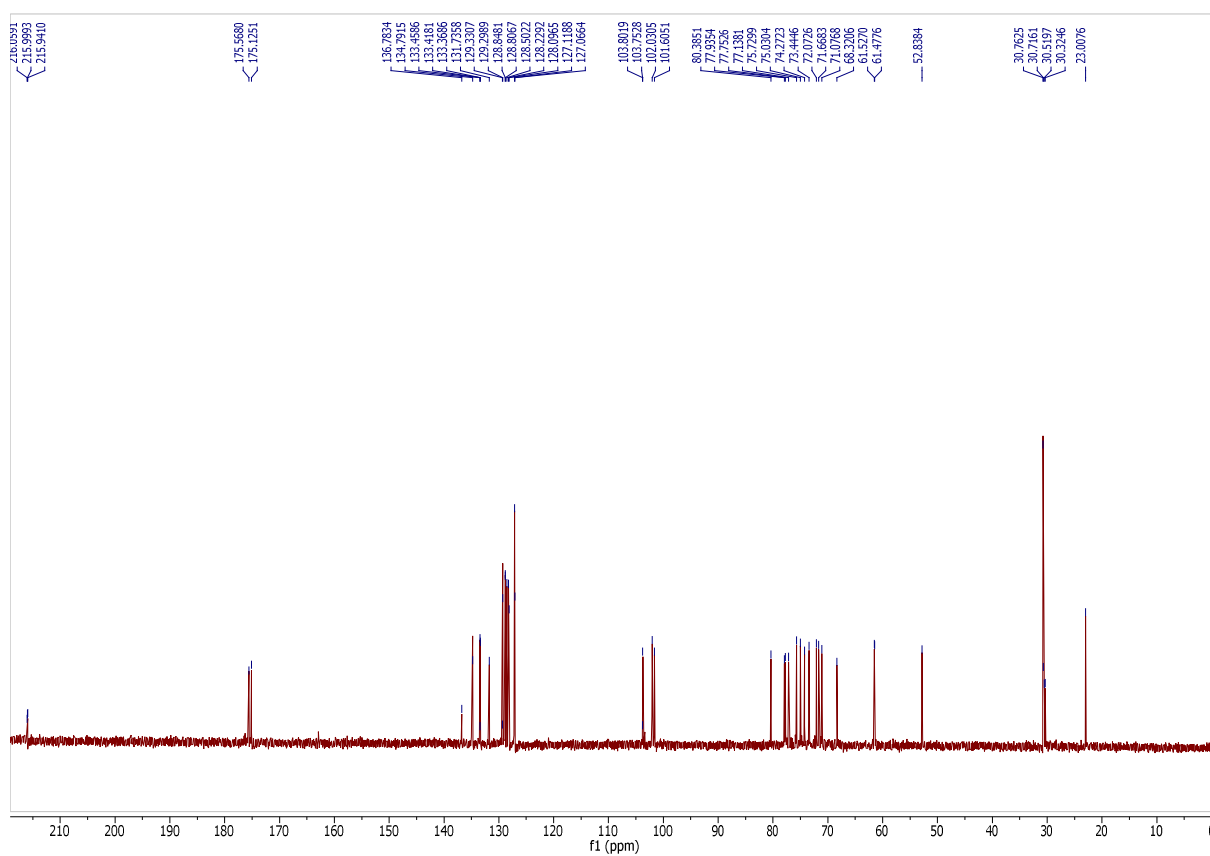
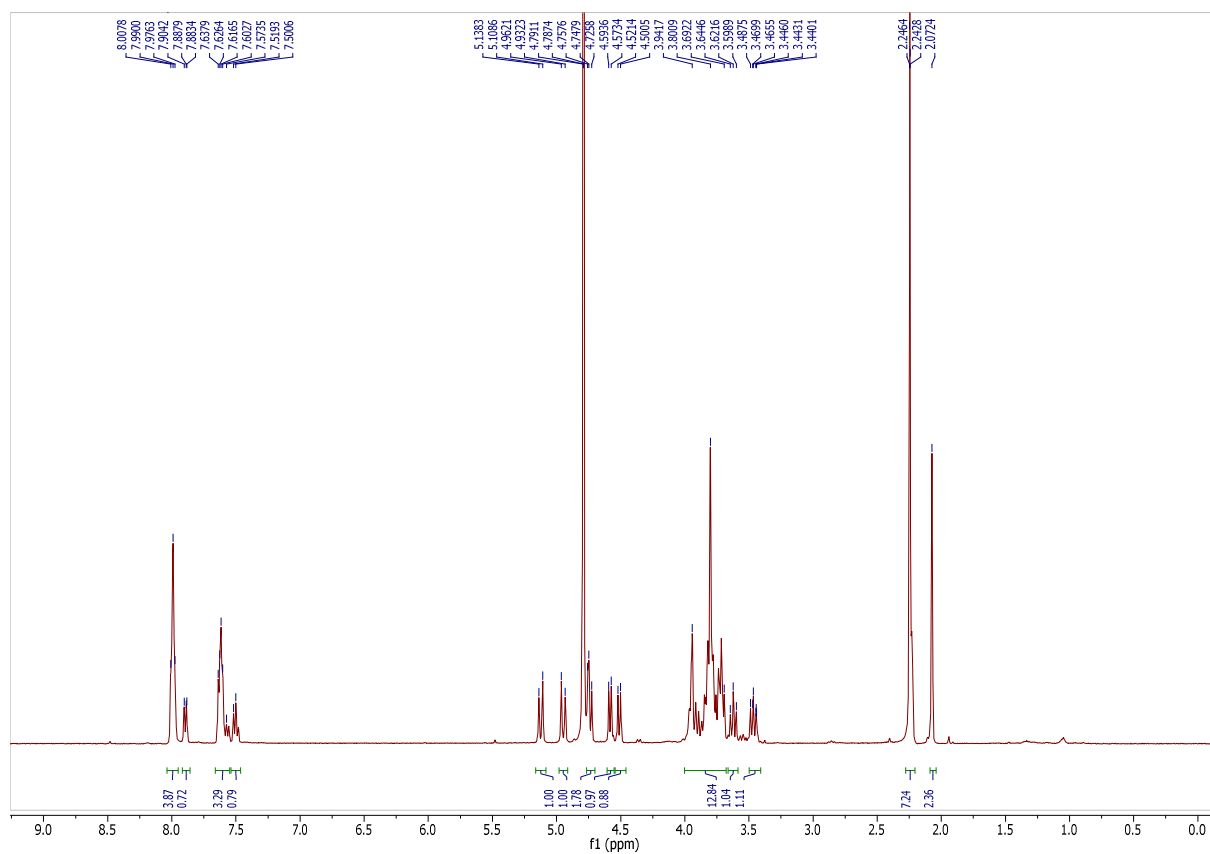
Annexe 3 : RMN ^1H et ^{13}C (D_2O) du disaccharide non sulfaté 128



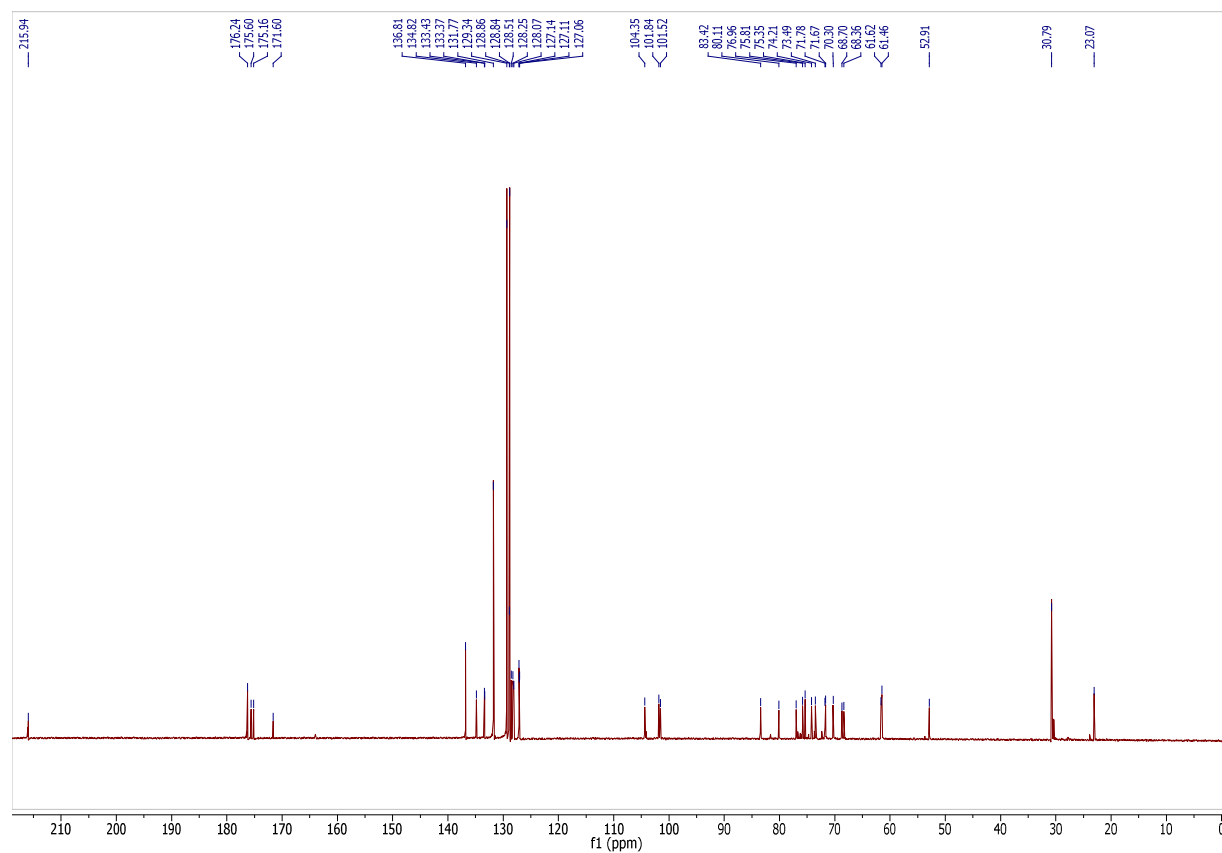
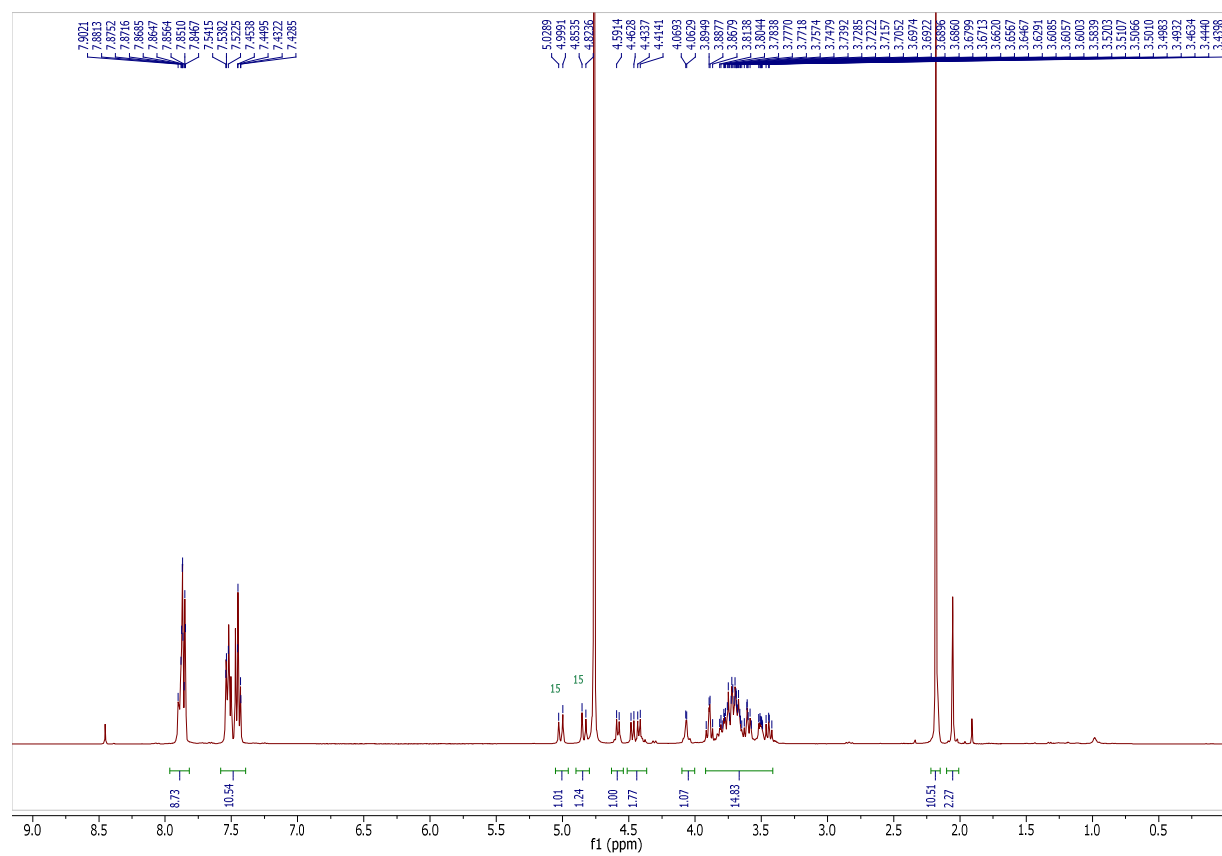
Annexe 4 : RMN ^1H et ^{13}C (D_2O) du trisaccharide 6-sulfaté 132



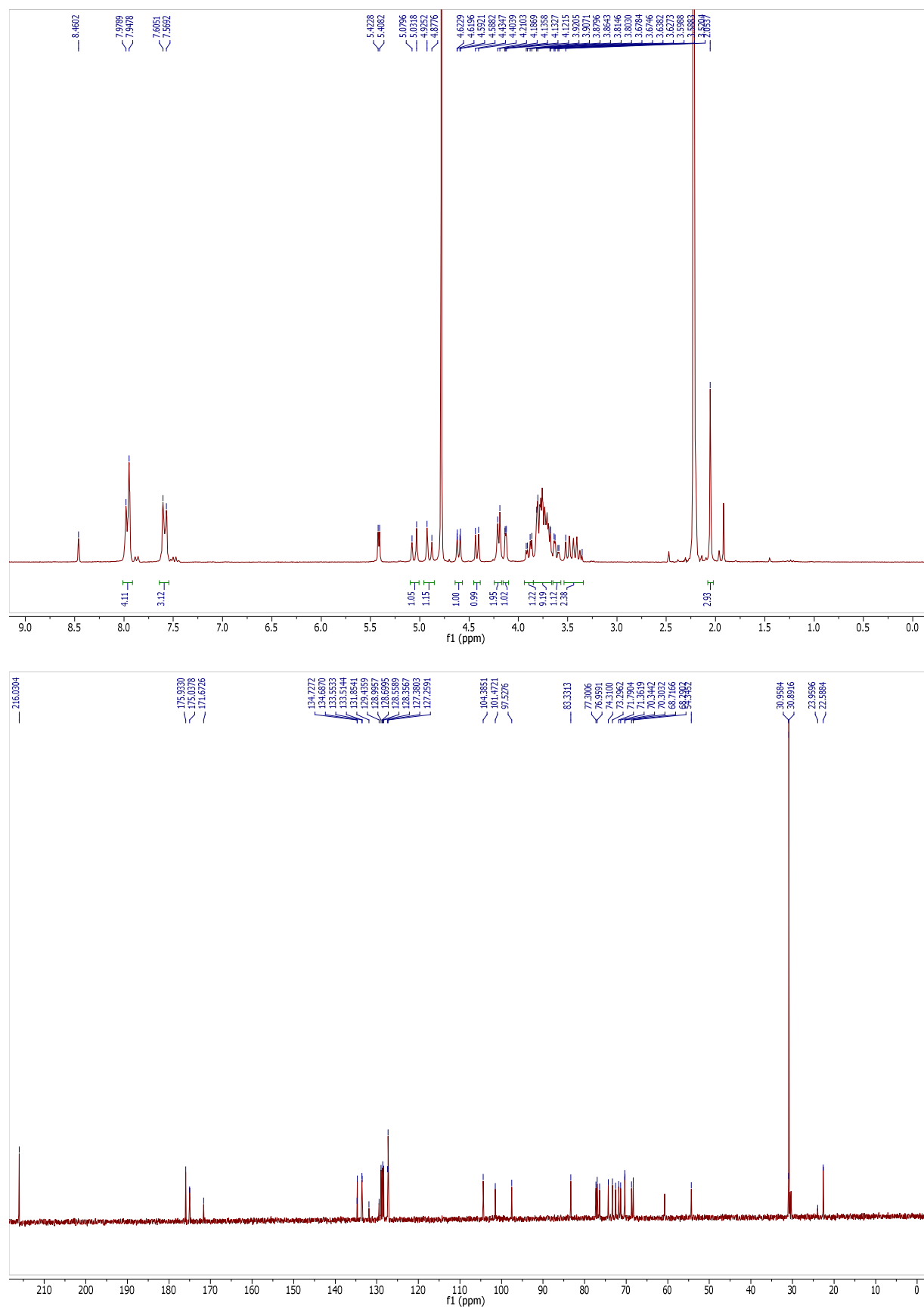
Annexe 5 : RMN ^1H et ^{13}C (D_2O) du trisaccharide 4-sulfaté 133



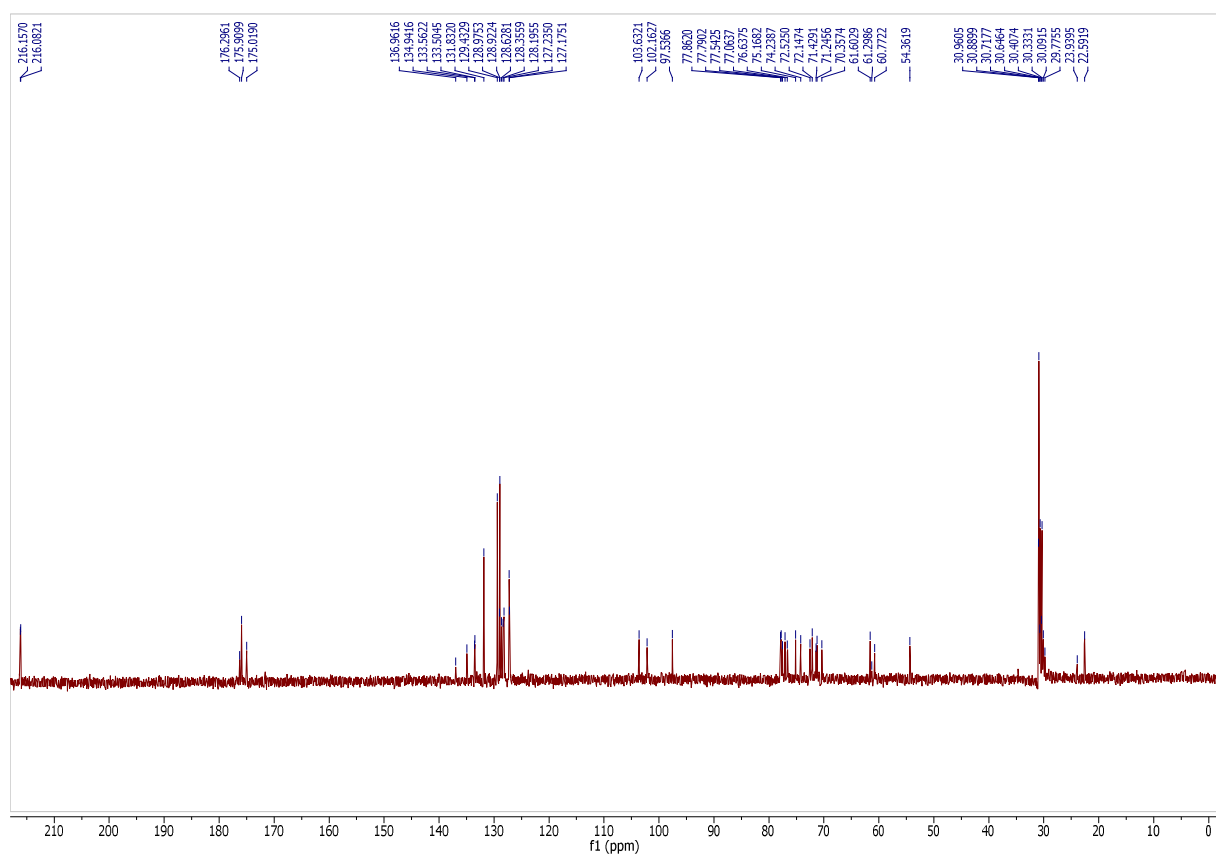
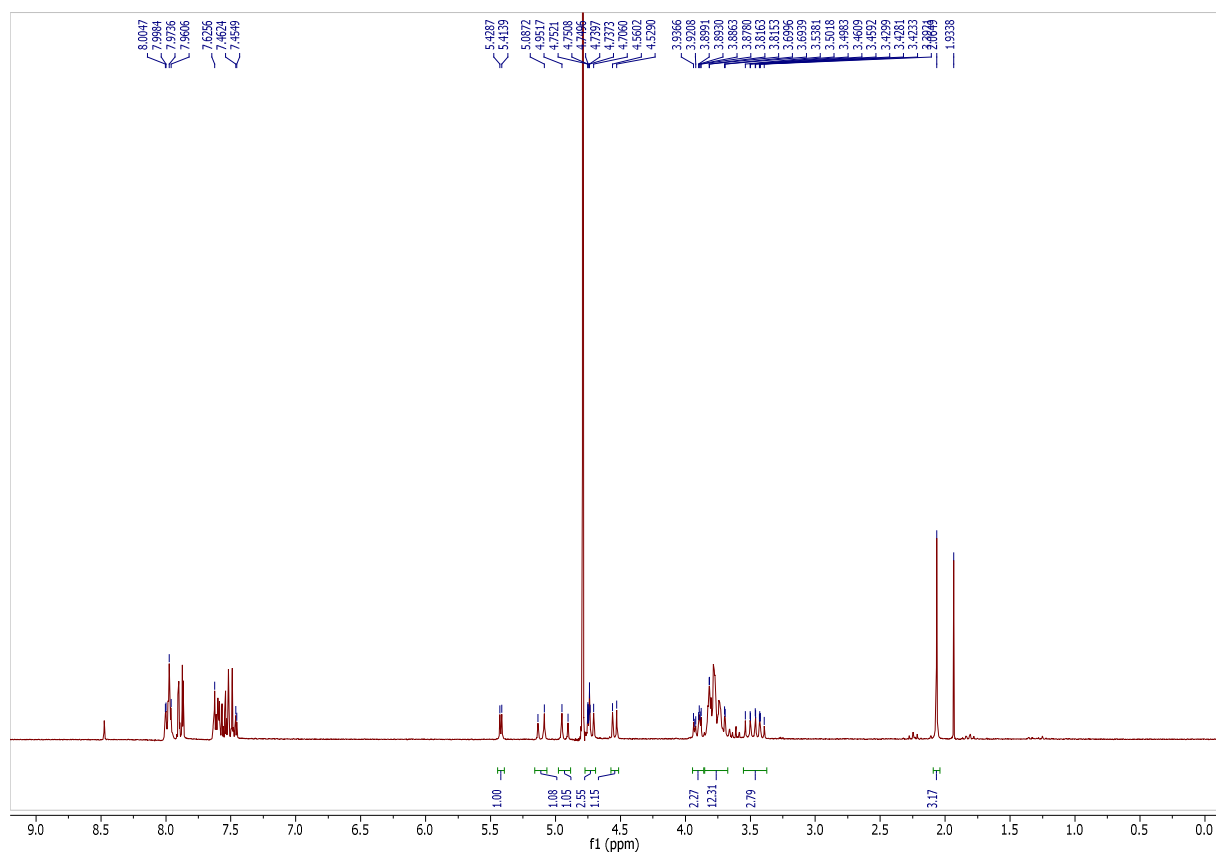
Annexe 6 : RMN ^1H et ^{13}C (D_2O) du trisaccharide non sulfaté 131



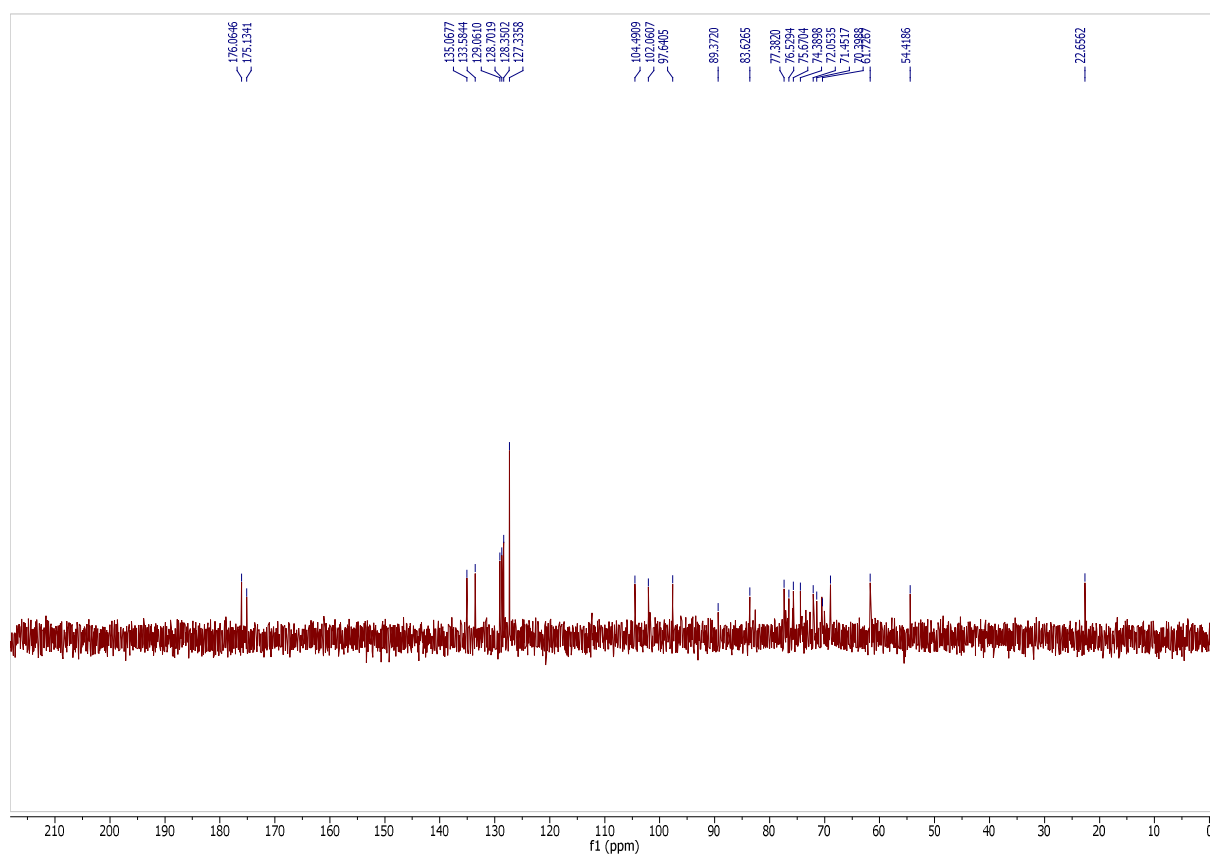
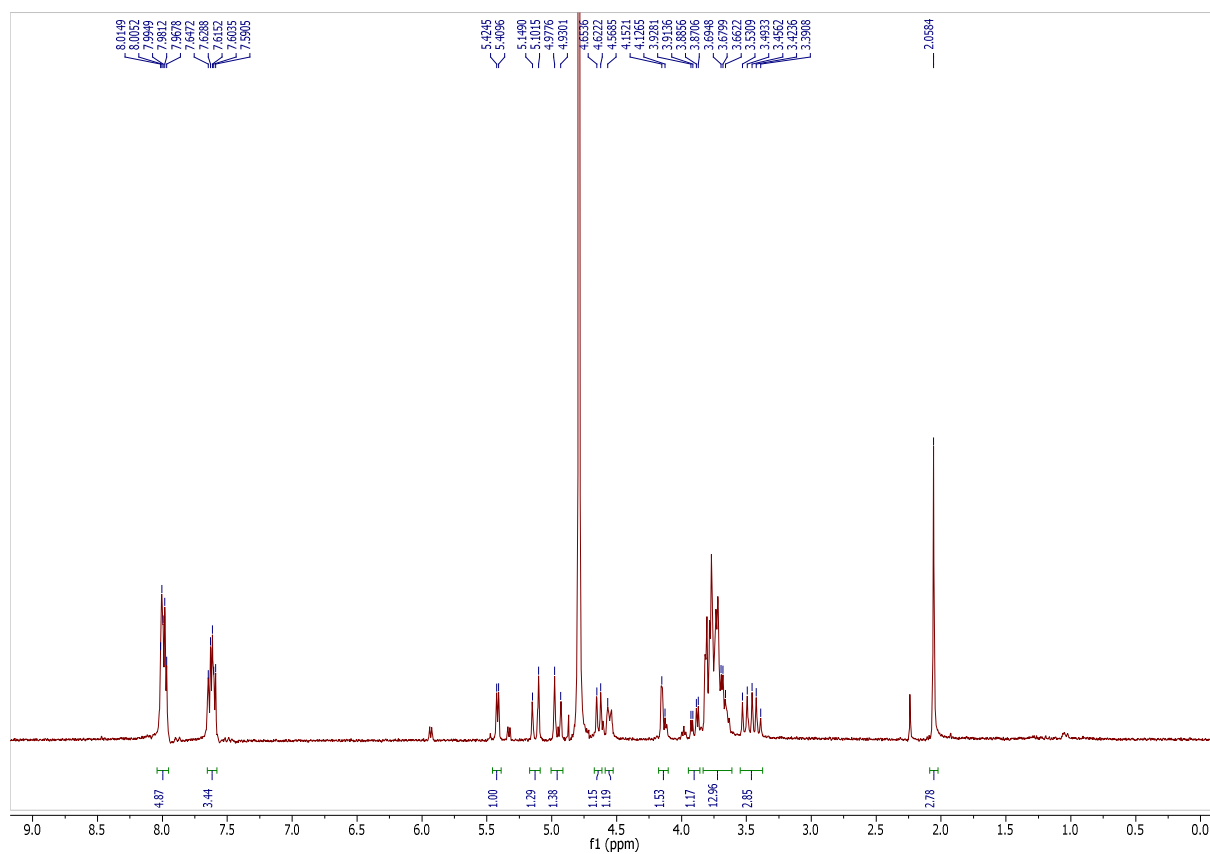
Annexe 7 : RMN ^1H et ^{13}C (D_2O) du trisaccharide 6-sulfaté 135



Annexe 8 : RMN ^1H et ^{13}C (D_2O) du trisaccharide 4-sulfaté 136



Annexe 9 : RMN ^1H et ^{13}C (D_2O) du trisaccharide non sulfaté 134



X- RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Kjellen, L., Lindahl, U., *Annu. Rev. Biochem.*, **1991**, 60, 443-475
- [2] Pedersen, L. C., Tsuchida, K., Kitagawa, H., Sugahara, K., Darden, T. A., Nigishi, M., *J. Biol. Chem.*, **2000**, 275, 34580-34585
- [3] Sugahara, K., Mikami, T., Uyama, T., Mizuguchi, S., Nomura, K., Kitagawa, H., *Current Opinion Struct. Biol.*, **2003**, 13, 612-620
- [4] Wegrowski, Y., Maquart, F.-X., *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, **2004**, 49, 259-268
- [5] Praillet, C., Lortat-Jacob, H., Grimaud, J.-A., *medecine/sciences*, **1998**, 14, 421-428
- [6] Thèse de Catherine Bui, Université Henry Poincaré, Nancy I, **2009**
- [7] Lindhardt, R. J., Toida, T., *Acc. Chem. Res.*, **2004**, 37, 431-438
- [8] Lindahl, U., Höök, M., *Ann. Rev. Biochem.*, **1978**, 47, 385-417
- [9] Mende, M., Bednarek, C., Wawrystyn, M., Sauter, P., Biskup, M. B., Schepers, U., Bräse, S., *Chem. Rev.*, **2016**, 116, 8193-8255
- [10] www.inserm.fr/thematiques/physiopathologie-metabolisme-nutrition/dossiers-d-information/arthrose
- [11] www.vulgaris-medical.com
- [12] public.larhumatologie.fr/grandes-maladies/arthrose
- [13] Pertuiset, E., *Rev. Rhum.*, **2002**, 69, 157-170
- [14] Caterson, B., Flannery, C. R., Hugues, C. E., Little, C. B., *Matrix Biology*, **2000**, 19, 333-344
- [15] <http://www.e-cancer.fr/>
- [16] Sasisekharan, R., Shriver, Z., Venkataram, G., Narayanasami, U., *Nat. Rev. Cancer*, **2002**, 2, 521-528
- [17] Raman, K., Kuberan, B., *Curr. Chem. Biol.*, **2010**, 4, 20-31
- [18] Sugahara, K., Kitagawa, H., *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **2000**, 10, 518-527
- [19] Götting, C., Kuhn, J., Zahn, R., Brinkmann, T., Kleesiek, K., *J. Mol. Biol.*, **2000**, 304, 417-528
- [20] Almeida, R., Levery, S. B., Mandel, U., Kresse, H., Schwientek, T., Bennett, E. P., Clausen, H., *J. Biol. Chem.*, **1999**, 274, 26165-26171
- [21] Bai, X., Zhou, D., Brown, J. R., Crawford, B. E., Hennet, T., Esko, J. D., *J. Biol. Chem.*, **2001**, 276, 48186-48195
- [22] Kitagawa, H., Tone, Y., Tamura, J.-I., Neumann, K. W., Ogawa, T., Oka, S., Kawasaki, T., Sugahara, K., *J. Biol. Chem.*, **1998**, 273, 6615-6618
- [23] Busse, M., Feta, A., Presto, J., Wilén, M., Grønning, M., Kjellén, L., Kusche-Gullberg, M., *J. Biol. Chem.*, **2007**, 282, 32802-32810
- [24] Habuchi, O., *Biochim. Biophys. Acta*, **2000**, 1474, 115-127
- [25] Nadanaka, S., Kitagawa, H., Goto, F., Tamura, J.-I., Neumann, K. W., Ogawa, T., Sugahara, K., *Biochem. J.*, **1999**, 340, 353-357
- [26] Lairson, L. L., Henrissat, B., Davies, G. J., Withers, S. G., *Annu. Rev. Biochem.*, **2008**, 77, 521-555
- [27] Breton, C., Fournel-Gigleux, S., Palcic, M. M., *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **2012**, 22, 540-549
- [28] Ardèvol, A., Iglesias-Fernández, J., Rojas-Cervellera, V., Rovira, C., *Biochem. Soc. Trans.*, **2016**, 44, 51-60
- [29] Fritz, T. A., Lugemwa, F. N., Sarkar, A. K., Esko, J. D., *J. Biol. Chem.*, **1994**, 269, 300-307
- [30] Wise, C. A., Clines, G. A., Massa, H., Trask, B. J., Lovett, M., *Genome Res.*, **1997**, 7, 10-16
- [31] Van Hul, W., Wuyts, W., Hendrickx, J., Speleman, F., Wauters, J., De Boulle, K., Van Roy, N., Bossuyt, P., Willems, P. J., *Genomics*, **1998**, 47, 230-237
- [32] Kitagawa, H., Shimakawa, H., Sugahara, K., *J. Biol. Chem.*, **1999**, 274, 13933-13937
- [33] Pedersen, L. C., Dong, J., Taniguchi, F., Kitagawa, H., Krahn, J. M., Pedersen, L. G., Sugahara, K., Nigishi, M., *J. Biol. Chem.*, **2003**, 278, 14420-14428
- [34] Kim, B.-T., Kitagawa, H., Tamura, J.-I., Saito, T., Kusche-Gullberg, M., Lindahl, U., Sugahara, K., *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, **2001**, 98, 7176-7181
- [35] Busse-Wicher, M., Wicher, K. B., Kusche-Gullberg, M., *Matrix Biology*, **2014**, 35, 25-33
- [36] Oegema, T. R., Kraft, E. L., Jourdain, G. W., Van Valen, T. R., *J. Biol. Chem.*, **1984**, 259, 1720-1726
- [37] Fransson, L.-A., Silveberg, I., Carlstedt, I., *J. Biol. Chem.*, **1985**, 260, 14722-14726
- [38] Tone, Y., Pederson, L. C., Yamamoto, T., Izumikawa, T., Kitagawa, H., Nishihara, J., Tamura, J.-I., Nigishi, M., Sugahara, K., *J. Biol. Chem.*, **2008**, 283, 16801-16807
- [39] Gulberti, S., Lattard, V., Frondeur, M., Jacquinet, J.-C., Mulliert, G., Netter, P., Magdalou, J., Ouzzine, M., Fournel-Gigleux, S., *The Scientific World Journal*, **2005**, 5, 510-514
- [40] Izumikawa, T., Sato, B., Mikami, T., Tamura, J.-I., Igarashi, M., Kitagawa, H., *J. Biol. Chem.*, **2015**, 290, 5438-5448
- [41] Sugahara, K., Yamashita, I., De Waard, P., Van Halbeek, H., Vliegthart, J. F. G., *J. Biol. Chem.*, **1988**, 263, 10168-10174
- [42] Yamada, S., Oyama, M., Yuki, Y., Kato, K., Sugahara, K., *Eur. J. Biochem.*, **1995**, 233, 687-693
- [43] Kitagawa, H., Oyama, M., Masayama, K., Yamaguchi, Y., Sugahara, K., *Glycobiology*, **1997**, 7, 1175-1180

- [44] Gulberti, S., Lattard, V., Frondeur, M., Jacquinet, J.-C., Mulliert, G., Netter, P., Magdalou, J., Ouzzine, M., Fournel-Gigleux, S., *J. Biol. Chem.*, **2005**, 280, 1417-1425
- [45] Gulberti, S., Jacquinet, J.-C., Chabel, M., Ramalanjoana, N., Magdalou, J., Netter, P., Coughtrie, M. W. H., Ouzzine, M., Fournel-Gigleux, S., *Glycobiology*, **2012**, 22, 561-571
- [46] Goto, F., Ogawa, T., *Tetrahedron Lett.*, **1992**, 33, 5099-5102
- [47] Nakano, T., Ito, Y., Ogawa, T., *Tetrahedron Lett.*, **1990**, 31, 1597-1600
- [48] Rio, S., Beau, J.-M., Jacquinet, J.-C., *Carbohydr. Res.*, **1994**, 255, 103-124
- [49] Rio, S., Beau, J.-M., Jacquinet, J.-C., *Carbohydr. Res.*, **1993**, 244, 295-313
- [50] Tamura, J.-I., Nishihara, J., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1999**, 9, 1911-1914
- [51] Tamura, J.-I., Nishihara, J., *J. Org. Chem.*, **2001**, 66, 3074-3083
- [52] Jacquinet, J.-C., *Carbohydr. Res.*, **2006**, 341, 1630-1644
- [53] Jacquinet, J.-C., *Carbohydr. Res.*, **2004**, 339, 349-359
- [54] Thollas, B., Jacquinet, J.-C., *Org. Biomol. Chem.*, **2004**, 2, 434-442
- [55] Aït-Mohand, K., Lopin-Bon, C., Jacquinet, J.-C., *Carbohydr. Res.*, **2012**, 353, 33-48
- [56] Goto, F., Ogawa, T., *Tetrahedron Lett.*, **1992**, 33, 6841-6844
- [57] Goto, F., Ogawa, T., *Pure & Appl. Chem.*, **1993**, 65, 793-801
- [58] Aït-Mohand, K., Mirault, A., Jacquinet, J.-C., Lopin-Bon, C., *Org. Biomol. Chem.*, **2016**, 14, 7962-7971
- [59] Lopin, C., Jacquinet, J.-C., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2006**, 45, 2574-2578
- [60] Blatter, G., Beau, J.-M., Jacquinet, J.-C., *Carbohydr. Res.*, **1994**, 260, 189-202
- [61] Nilsson, M., Svahn, C.-M., Westman, J., *Carbohydr. Res.*, **1993**, 246, 161-172
- [62] Manzi, A., Salimath, P. V., Spiro, R. C., Keifer, P. A., Freeze, H. H., *J. Biol. Chem.*, **1995**, 270, 9154-9163
- [63] Kitagawa, H., Tanaka, Y., Tsuchida, K., Goto, F., Ogawa, T., Lidholt, K., Lindahl, U., Sugahara, K., *J. Biol. Chem.*, **1995**, 270, 22190-22195
- [64] Neumann, K. W., Tamura, J.-I., Ogawa, T., *Glycoconj. J.*, **1996**, 13, 933-936
- [65] Tamura, J.-I., Miura, Y., Freeze, H. H., *J. Carbohydr. Chem.*, **1999**, 18, 1-14
- [66] Schmidt, R. R., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1986**, 25, 212-235
- [67] Bindschädler, P., Noti, C., Castagnetti, E., Seeberger, P. H., *Helv. Chim. Acta*, **2006**, 89, 2591-2610
- [68] Yang, S., Wang, A., Zhang, G., Di, X., Zhao, Z., Lei, P., *Tetrahedron*, **2016**, 72, 5659-5670
- [69] Blatter, G., Jacquinet, J.-C., *Carbohydr. Res.*, **1996**, 288, 109-125
- [70] Van den Bos, L., Codée, J. D. C., van der Toorn, J. C., Boltje, T. J., van Boom, J. H., Overkleeft, H. S., van der Marel, G. A., *Org. Lett.*, **2004**, 6, 2165-2168
- [71] Excoffier, G., Gagnaire, D., Utile, J.-P., *Carbohydr. Res.*, **1975**, 39, 368-373
- [72] Belen Cid, M., Alfonso, F., Alonso, I., Martin-Lomas, M., *Org. Biomol. Chem.*, **2009**, 7, 1471-1481
- [73] Evans, D. A., Britton, T. C., Ellman, J. A., *Tetrahedron Lett.*, **1987**, 28, 6141-6144
- [74] Bélot, F., Jacquinet, J.-C., *Carbohydr. Res.*, **2000**, 325, 93-106
- [75] Vibert, A., Lopin-Bon, C., Jacquinet, J.-C., *Tetrahedron Lett.*, **2010**, 51, 1867-1869
- [76] Grundler, G., Schmidt, R. R., *Liebigs Ann. Chem.*, **1984**, 1826-1847
- [77] Wulff, G., Röhle, G., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1974**, 13, 157-170
- [78] Demchenko, A., Stauch, T., Boons, G.-J., *Synlett.*, **1997**, 818-820
- [79] Lucas, R., Hamza, D., Lubineau, A., Bonnaffé, D., *Eur. J. Org. Chem.*, **2004**, 2107-2117
- [80] Yu, B., Tao, H., *Tetrahedron Lett.*, **2001**, 42, 2405-2407
- [81] Li, M., Han, X., Yu, B., *J. Org. Chem.*, **2003**, 68, 6842-6845
- [82] Lian, G., Gao, Q., Lin, F., *Carbohydr. Res.*, **2008**, 343, 2992-2996
- [83] Takahashi, S., Kuzuhara, H., Nakajima, M., *Tetrahedron*, **2001**, 57, 6915-6926
- [84] Shangguan, N., Katukojlana, S., Greenberg, R., Williams, L. J., *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, 7754-7755
- [85] Lu, L.-D., Shie, C.-R., Kulkarni, S. S., Pan, G.-R., Lu, X.-A., Hung, S.-C., *Org. Lett.*, **2006**, 8, 5995-5998
- [86] Hu, Y.-P., Zhong, Y.-Q., Chen, Z.-G., Chen, C.-Y., Shi, Z., Zulueta, M. M. L., Ku, C.-C., Lee, P.-Y., Wang, C.-C., Hung, S.-C., *J. Am. Chem. Soc.*, **2012**, 134, 20722-20727
- [87] Ohlsson, J., Magnusson, G., *Carbohydr. Res.*, **2000**, 329, 49-55
- [88] Yokoyama, M., *Carbohydr. Res.*, **2000**, 327, 5-14
- [89] Dax, K., Albert, M., Ortner, J., Paul, B. J., *Carbohydr. Res.*, **2000**, 327, 47-86
- [90] www.esa.int
- [91] Bhatre, M., Phadke, S., *World J. Pharm. Res.*, **2015**, 4, 2294-2314
- [92] Gupta, M., Paul, S., Gupta, R., *Acta Chim. Slov.*, **2009**, 56, 749-764
- [93] Gedye, R., Smith, F., Westaway, K., Ali, H., Baldisera, L., Laberge, L., Roussel, J., *Tetrahedron Lett.*, **1986**, 27, 279-282

- [94] Kappe, C. O., Dallinger, D., *Nat. Rev. Drug Disc.*, **2006**, 5, 51-63
- [95] Kyota, H., Dixon, D. J., Luscombe, C. K., Hettstedt, S., Ley, S. V., *Org. Lett.*, **2002**, 4, 3223-3226
- [96] Raghuraman, A., Riaz, M., Hindle, M., Desai, U. M., *Tetrahedron Lett.*, **2007**, 48, 6754-6758
- [97] Maza, S., de Paz, J. L., Nieto, P. M., *Tetrahedron Lett.*, **2011**, 52, 441-443
- [98] Maccione, G., Maza, S., Kayser, M. M., de Paz, J. L., Nieto, P. M., *Eur. J. Org. Chem.*, **2014**, 3868-3884
- [99] Chen, X., Shao, X., Li, W., Zhang, X., Yu, B., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2017**, 56, 7648-7652
- [100] Miller, G. J., Hansen, S. U., Avizienyte, E., Rushton, G., Cole, C., Jayson, G. C., Gardiner, J. M., *Chem. Sci.*, **2013**, 4, 3218-3222
- [101] Sankaranarayanan, N. V., Strebel, T. R., Boothello, R. S., Sheerin, K., Raghuraman, A., Sallas, A. F., Mosier, P. D., Watermeyer, N. D., Oscarson, S., Desai, U. R., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2017**, 56, 2312-2317
- [102] Xu, P., Laval, S., Guo, Z., Yu, B., *Org. Chem. Front.*, **2016**, 3, 103-109
- [103] Plutschack, M. B., Pieber, B., Gilmore, K., Seeberger, P. H., *Chem. Rev.*, 10.1021/acs.chemrev.7b00183
- [104] D'Attoma, J., Cozien, G., Brun, P. L., Robin, Y., Bostyn, S., Buron, F., Routier, S., *ChemistrySelect*, **2016**, 3, 338-342
- [105] Porta, R., Benaglia, M., Chiroli, V., Coccia, F., Puglisi, A., *Organocatalysts. Isr. J. Chem.*, **2014**, 54, 381 – 394
- [106] Porta, R., Benaglia, M., Puglisi, A., *Org. Process. Res. Dev.*, **2016**, 20, 2-25
- [107] Murray, P. R. D., Browne, D. L., Pastre, J. C., Butters, C., Guthrie, D., Ley, S. V., *Org. Process Res. Dev.*, **2013**, 17, 1192
- [108] Ledru, H., D'Attoma, J., Bostyn, S., Routier, S., Buron, F., Lopin-Bon, C., *ChemistrySelect*, **2017**, 2, 9637-9641
- [109] Hanson, S. R., Best, M. D., Wong, C.-H., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2004**, 43, 5736-5763
- [110] <http://www.brenda-enzymes.org>
- [111] Uzawa, H., Toba, T., Nishida, Y., Kobayashi, K., Minoura, N., Hiratani, K., *Chem. Commun.*, **1998**, 2311-2312
- [112] Uzawa, H., Nishida, Y., Sasaki, K., Minoura, N., Kobayashi, K., *ChemBioChem*, **2003**, 4, 640-647
- [113] Uzawa, H., Nishida, Y., Sasaki, K., Nagatsuka, T., Hiramatsu, H., Kobayashi, K., *Carbohydr. Res.*, **2004**, 339, 1597-1602
- [114] Malleron, A., Benjdia, A., Berteau, O., Le Narvor, C., *Carbohydr. Res.*, **2012**, 353, 96-99
- [115] Bartek, J., Müller, R., Kosma, P., *Carbohydr. Res.*, **1998**, 308, 259-273
- [116] Vasella, A., Witzig, C., Chiara, J.-L., Martin-Lomas, M., *Helv. Chim. Acta*, **1991**, 74, 2073-2077
- [117] Thèse de M. T. C. Walvoort, Université de Leiden, **1983**

Hélène LEDRU

Synthèse chimique d'oligosaccharides de la zone de liaison des protéoglycanes et nouvelles méthodes d'activation pour l'obtention de sucres sulfatés

Résumé :

Les protéoglycanes sont des macromolécules composées de glycosaminoglycanes (GAGs), liés de manière covalente à une protéine porteuse. Les GAGs sont impliqués dans de nombreux processus biologiques, comme la croissance et la prolifération des cellules, et également dans de nombreuses pathologies, incluant l'arthrose, la maladie d'Alzheimer et des cancers. Leur biosynthèse fait intervenir des O-glycosyltransférases et commence par la formation de la zone de liaison tétrasaccharidique. Celle-ci initie la formation de deux types de chaînes de GAGs, les héparines / sulfates d'héparine avec l'action de l'EXTL3 et les sulfates de chondroïtines ou de dermatanes avec l'action de la CSGalNAcT-1. Dans cette biosynthèse, la zone de liaison peut être sulfatée mais le rôle de ces sulfatations est encore peu connu.

L'objectif de ce travail était de synthétiser des disaccharides de la zone de liaison ainsi que les trisaccharides de transfert, avec le premier sucre aminé des chaînes de GAGs, diversement monosulfatés ou non, dans le but de comprendre le rôle de ces sulfatations sur les enzymes de bifurcation.

Différentes méthodes d'activation, micro-ondes et chimie en flux continu, ont également été testées pour sulfater des mono-, di- et trisaccharides.

Mots clés : sulfatation, protéoglycanes, zone de liaison, CSGalNAcT-1, EXTL3, micro-ondes, chimie en flux continu

Chemical synthesis of oligosaccharides of the linkage region of proteoglycans and new activation methods for sulfated saccharides

Summary :

Proteoglycans are macromolecules composed of glycosaminoglycans chains (GAGs) covalently linked to a core protein. GAGs are implicated in many biological processes, such as cells growth and proliferation, and they are also involved in several diseases including osteoarthritis, Alzheimer's disease and cancers. Their biosynthesis involves the action of O-glycosyltransferases and starts with the formation of a tetrasaccharidic linkage region. This GAGs linkage region initiates the formation of two types of GAGs chains, heparin/heparan sulfates with the action of EXTL3 and chondroitin sulfates/dermatan sulfates with the action of CSGalNAcT-1. In this biosynthesis, the linkage region may be sulfated, but the role of these sulfations is still poorly understood.

The objective of this work was to synthesize disaccharides of the linkage region and transfer trisaccharides, with the first aminosugar of the GAGs chains, variously monosulfated or not, in order to study the role of sulfations on the bifurcation enzymes.

Different activation methods, microwaves and flow chemistry, were also tested to sulfate mono-, di- and trisaccharides.

Keywords : sulfation, proteoglycans, linkage region, CSGalNAcT-1, EXTL3, microwaves, flow chemistry



**Institut de Chimie Organique et
Analytique
Université d'Orléans, Pôle chimie
BP 6759, rue de Chartres
45067 Orléans**

