



HAL
open science

Synthèse stéréocontrôlée de dérivés, accepteurs potentiels des glycosyltransférases impliquées dans les voies de biosynthèse des protéoglycanes

Katia Ait-Mohand

► **To cite this version:**

Katia Ait-Mohand. Synthèse stéréocontrôlée de dérivés, accepteurs potentiels des glycosyltransférases impliquées dans les voies de biosynthèse des protéoglycanes. Autre. Université d'Orléans, 2012. Français. NNT : 2012ORLE2073 . tel-00843650

HAL Id: tel-00843650

<https://theses.hal.science/tel-00843650>

Submitted on 11 Jul 2013

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



UNIVERSITÉ D'ORLÉANS



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

Institut de Chimie Organique et Analytique

THÈSE présentée par :
Katia AIT-MOHAND

soutenue le : **20 Décembre 2012**

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

Discipline/ Spécialité : Chimie Organique

**Synthèse stéréocontrôlée de dérivés,
accepteurs potentiels des
glycosyltransférases impliquées dans les
voies de biosynthèse des protéoglycanes**

THÈSE dirigée par :

M. Jean-Claude JACQUINET Directeur de Recherches INSERM, Orléans

RAPPORTEURS :

M. José KOVENSKY

Professeur, Université de Picardie, Amiens

M. Sébastien VIDAL

Chargé de Recherches, Université de Lyon

JURY

M. Olivier MARTIN

Professeur, Orléans, Président du jury

M. José KOVENSKY

Professeur, Université de Picardie, Amiens

Mme. Christine Le Narvor

Chargée de recherches, Université d'Orsay

Mme. Chrystel LOPIN-BON

Maitre de Conférences, Université d'Orléans

M. Sébastien VIDAL

Chargé de Recherches, Université de Lyon

M. Jean-Claude JACQUINET

Directeur de Recherches INSERM, Orléans

*A mes chers parents,
A toute ma proche famille,
A tous ceux qui m'ont soutenue !*

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, je remercie le ministère de l'enseignement supérieur et l'ANR blanc « GlycoCart » pour le soutien financier apporté à ce projet.

Je remercie le Professeur José Kovensky et le Docteur Sébastien Vidal d'avoir aimablement accepté de juger mon travail de thèse en tant que rapporteurs. Je remercie également le Professeur Olivier Martin et le Docteur Christine Le Narvor d'avoir bien voulu faire partie de mon jury de thèse en tant qu'examineurs.

Je remercie le professeur Olivier Martin, directeur du laboratoire ICOA, de m'avoir accueillie au sein de son laboratoire.

Je tiens à remercier le Docteur Jean-Claude Jacquinet, directeur de recherches INSERM à l'Université d'Orléans, pour m'avoir permis d'effectuer cette thèse sous sa direction. Merci pour la qualité de l'encadrement, les encouragements, la patience et la pédagogie dont il a fait preuve du début à la fin.

Mes remerciements vont également à Mme Chrystel Lopin-Bon, Maitre de conférences à l'Université d'Orléans, pour avoir pleinement participé à mon encadrement, pour son dévouement, sa pédagogie, sa gentillesse, ses remarques et corrections rigoureuses et très constructives et aussi pour m'avoir apporté toute l'aide précieuse dont j'avais besoin tout au long de cette thèse.

Un grand merci à l'ensemble des stagiaires et personnel du labo 8 qui ont participé à la bonne ambiance au laboratoire : Angelika, Angeles, Anaïs, Helène, Florian, Mickaël, Quentin et Elodie.

Enfin, je remercie tous les doctorants, post-doctorants, ATER, stagiaires et permanents de l'ICOA : Kinga, Magali, Lucie, Sandrine, Mathieu, Jérémy, Jérôme, Christophe, Sophie, Stéphanie, Miriam, Nicolas, Ozkan, Elzbieta, Aleksandra, Marie, Marie-Aude, Pierre, Véronique, Franck, Arnaud, Frédéric, Thibault, Mickael, Chloé, Gaëlle, Christel, Mathieu, Emmanuelle, Rajaa, Audrey, Aziz, Ibtissam, Nathaly, Emilie, Laëtitia, Marie-Madeleine et Yann.

TABLE DES MATIERES

I.	INTRODUCTION BIOLOGIQUE	- 9 -
I-1	ARTHROSE.	- 1 -
I-2.	CARTILAGE.	- 2 -
I-2.1	GENERALITES.	- 2 -
I-2.2	FONCTIONNEMENT DE L'ARTICULATION.	- 4 -
I-2.3	COMPOSANTS PRINCIPAUX DU CARTILAGE.	- 4 -
A.	LE COLLAGENE.	- 4 -
B.	PROTEOGLYCANES (PGS).	- 5 -
B-1	LE SQUELETTE PEPTIDIQUE OU CORE PROTEINE.	- 5 -
B-2	LA ZONE DE LIAISON.	- 6 -
B-3	LES GLYCOSAMINOGLYCANES (GAGS).	- 6 -
B-4	L'AGGREGANE : PROTEOGLYCANE DU CARTILAGE.	- 7 -
I-3	PROCESSUS ARTHROSIQUE :	- 8 -
I-4	BIOSYNTHESE DES PROTEOGLYCANES (PGS).	- 10 -
I-5	CONCLUSION.	- 13 -
II.	TRAVAUX DECRITS DANS LA LITTERATURE SUR LA ZONE DE LIAISON.-	14
	-	
II-1	ZONE DE LIAISON TOTALE OU PARTIELLE.	- 16 -
II-2	ZONE DE LIAISON LIEE A DES PEPTIDES.	- 25 -
II-3	SYNTHESE CHIMIO-ENZYMATIQUE DE LA ZONE DE LIAISON.	- 42 -
II-4	ZONE DE LIAISON BIOTINYLEE.	- 45 -
II-5	ZONE DE LIAISON AVEC AMORCE DE CS.	- 47 -
III-	OBJECTIFS ET STRATEGIE DE SYNTHESE	- 49 -
III.	OBJECTIF DE RECHERCHE.	- 50 -
III-1	STRATEGIE DE SYNTHESE.	- 51 -
IV-	SYNTHESE	- 56 -
IV-1	SYNTHESE DES MONOSACCHARIDES CLES 227, 249 ET 250.	- 57 -
IV-1.1	PREPARATION DU PRECURSEUR D-GLUCURONYLE DONNEUR 227. .	- 57 -
IV-1.1.3	SYNTHESES REALISEES AU LABORATOIRE : RESULTATS.	- 61 -
IV-3	PREPARATION DES PRECURSEURS D-GALACTOSYLES 249 ET 250.	- 65 -
IV-3	PREPARATION DES BLOCS DISACCHARIDIQUES.	- 68 -
IV-5	TRISACCHARIDES DE LA ZONE DE LIAISON BIOTINYLES.	- 72 -

IV-5.1	TRISACCHARIDES NON SULFATE ET SULFATES SUR GAL1.....	- 73 -
IV-5.2	TRISACCHARIDES SULFATES SUR GAL2.....	- 79 -
IV-6	TETRASACCHARIDES : Zone de liaison et amorce de CS.....	- 95 -
IV-6.1	TETRASACCHARIDES NON SULFATE ET SULFATES SUR GAL1.....	- 95 -
IV-6.2	TETRASACCHARIDES SULFATE SUR GAL2.....	- 102 -
	V-PERSPECTIVES.....	- 108 -
V-1	PENTASACCHARIDES : zone de liaison et amorce disaccharidique de CS.	- 109 -
V-2	VERS LES HEPARANES SULFATES (HS).....	- 113 -
VI.	CONCLUSION GENERALE.....	- 115 -
VII.	PARTIE EXPERIMENTALE.....	- 118 -
VIII.	ANNEXES.....	- 212 -
IX.	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	- 224 -

ABBREVIATIONS

Ac	Acétyle
ACN	Acétonitrile
AIBN	a,a'-azobisisobutyronitrile
Ala	Alanine
Asn	Asparagine
Bu	Butyle
Bz	Benzoyle
BzCN	Cyanure de benzoyle
CAN	Nitrate d'ammonium cérique
CCM	Chromatographie sur couche mince
CDCl ₃	Chloroforme deutéré
ClAc	Chloroacétyle
CS	Sulfate de chondroïtine
CSA	(±) Acide camphre-10-sulfonique
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ène
DCC	1,3-dicyclohexylcarbodiimide
DDQ	2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone
DMAP	4-diméthylaminopyridine
DMF	<i>N,N</i> -Diméthylformamide
DMSO	Diméthylsulfoxyde
D ₂ O	Eau deutérée
DS	Sulfate de dermatane
EP	Ether de pétrole
eq	Equivalent molaire
Et ₃ N	Triéthylamine
Et ₂ O	Diéthyléter
GAG	Glycosaminoglycane
D-Gal	D-Galactose
D-GalN	D-Galactosamine
D-Glc	D-Glucose
D-GlcA	Acide-D-Glucuronique
h	heure
HA	Acide hyaluronique
Hep	Héparine
HS	Sulfate d'héparane
Hz	Hertz
L-IdoA	Acide-L-Iduronique
<i>J</i>	Constante de couplage
kDa	Kilodalton

KS	Sulfate de kératane
Lev	Lévulinoyle
Me	Méthyle
min	minute
MMP	Métalloprotéinase
MP	4-méthoxyphényle
NAP	2-Naphtylméthyle
NP	Nitropyridine
3NPy	3-Nitropyridine
NIS	<i>N</i> -iodosuccinimide
PF	Point de fusion
PG	Protéoglycane
Ph	Phényle
ppm	Partie par million
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
TA	Température ambiante
TBS	<i>tert</i> -Butyldiméthylsilyle
TCA	Trichloroacétyle
TDS	hexyl diméthylsilyle
TBDMS	<i>tert</i> -butyldiméthylsilyle
TFA	Acide trifluoroacétique
THF	Tétrahydrofurane
TMS	Triméthylsilyle
UDP	Uracilyldiphosphate
D-Xyl	D-Xylose
Z	Benzyloxy-carbonyle

I. INTRODUCTION BIOLOGIQUE

I-1 ARTHROSE.

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) : « L'arthrose est la résultante de phénomènes mécaniques et biologiques qui déstabilisent l'équilibre entre la synthèse et la dégradation du cartilage et de l'os sous-chondral. Ce déséquilibre peut être provoqué par de multiples facteurs : génétiques, congénitaux, métaboliques ou traumatiques. »¹

L'arthrose est une dégénérescence du cartilage articulaire suite à un déséquilibre entre l'anabolisme (construction) et le catabolisme (destruction) de ses constituants par les chondrocytes conduisant à l'usure du cartilage (figure 1).

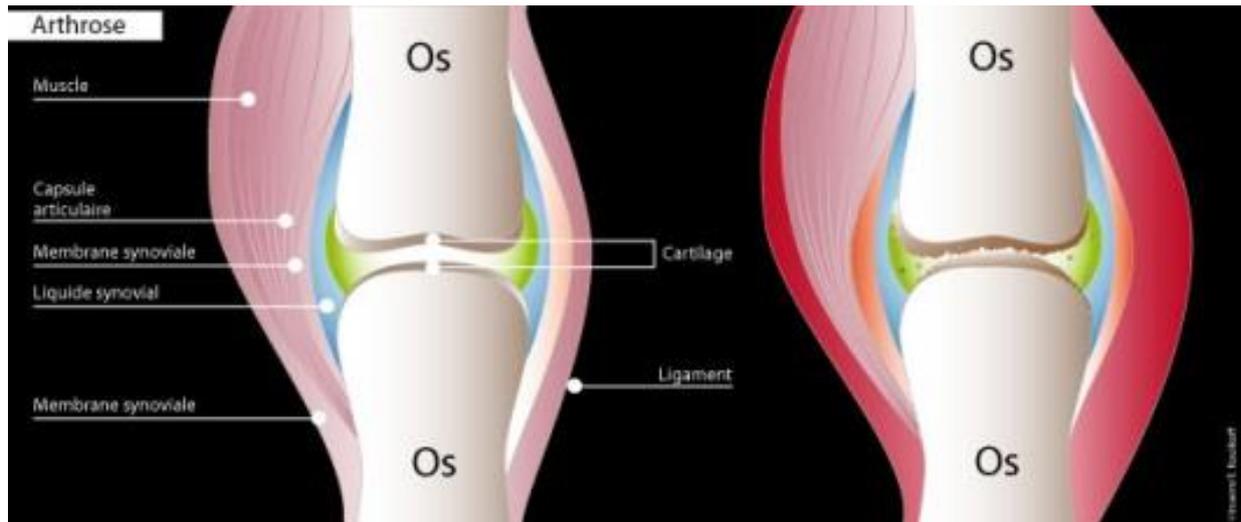


Figure 1. Exemple schématique d'une articulation saine (à gauche) et arthrosée (à droite).²

Toutes les articulations peuvent être atteintes mais ce sont surtout celles qui supportent le poids du corps qui sont les plus touchées³ :

- le genou (la plus fréquente) ;
- la hanche (survient en général après 60 ans) ;
- et la colonne vertébrale (fréquente mais ne se traduit souvent par aucun symptôme).

Certaines articulations non portantes peuvent également être touchées comme la main (le pouce et les extrémités des phalanges ; prédominante chez la femme après la ménopause). L'arthrose touchant l'épaule, le coude et la cheville sont souvent consécutives à des traumatismes. De nombreux facteurs de risque mènent à ce déséquilibre⁴ :

- L'âge : il constitue un facteur de risque majeur, au-delà de 65 ans la fréquence est de 68% pour les femmes et 58% pour les hommes⁵ ;
- L'obésité : la surcharge pondérale augmente significativement le risque d'arthrose et notamment celle de la hanche et du genou ;

¹ <http://www.bcr.uilg.ac.be/arthrose.html>

² <http://www.inserm.fr/thematiques/circulation-metabolisme-nutrition/dossiers-d-information/arthrose>

³ <http://www.arthrolink.com/maladie/connaitre-l-arthrose/les-articulations-concernees>

⁴ Buckwalter J.A.; Martin J.A. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2006**, *58*, 150-167

⁵ Chevalier X. *Rev. Rhum.* **2004**, *71*, 455-461

- Facteurs hormonaux : il y a une augmentation significative de la prévalence de l'arthrose chez les femmes après la ménopause ;
- Les facteurs génétiques : des études de jumeaux mono- ou dizygotes ont permis d'estimer l'influence des gènes à 50% pour les arthroses de la main, du genou et de la hanche⁶ ;
- Les traumatismes, les microtraumatismes répétés, les anomalies anatomiques de l'articulation (malformations congénitales ou acquises).

L'arthrose est la maladie articulaire la plus répandue chez l'adulte, plus de 70 millions de personnes sont touchées en Europe. Son coût s'élève à plus de 80 milliard d'Euros ce qui en fait un véritable problème de santé publique.⁷ Actuellement, il n'existe pas de traitement curatif ou stoppant la progression de l'arthrose et les approches pharmacologiques (anti-inflammatoires, antalgiques) sont limitées et sont utilisés pour soulager les symptômes de la maladie (inflammation et douleur). De plus, ils génèrent de nombreux effets secondaires qui limitent leur utilisation chronique.^{8,9}

Les mécanismes de dégénérescence du cartilage sont encore mal connus et font l'objet de recherches actives. Pour mieux comprendre le processus arthrosique nous décrivons d'abord le cartilage et ses principaux constituants.

I-2. CARTILAGE.

I-2.1 GENERALITES.

Le cartilage est un tissu conjonctif et de soutien non innervé et avasculaire composé principalement d'eau (70% du poids net) de fibres de collagène de type II (50% du poids sec) et de protéoglycanes (20% du poids sec) synthétisés par les chondrocytes.

Le cartilage apparait comme un tissu pauvre en cellules car les chondrocytes synthétisent une quantité telle de matrice cartilagineuse qu'elles s'écartent de plus en plus les unes des autres. Dans cette matrice, les fibres de collagène forment un solide réseau de mailles qui emprisonne et contient les agrégats de protéoglycanes (figure 2) qui, en raison de leur fort caractère hydrophile, confèrent au cartilage sa déformabilité et son élasticité nécessaire à son rôle de répartisseur de pression et d'amortisseur de chocs.^{5,9,10}

L'articulation se compose de la capsule articulaire qui isole l'articulation de son environnement et sa face interne est tapissée par une fine couche membranaire : la membrane synoviale riche en cellules et en vaisseaux. La cavité synoviale renferme le liquide synovial sécrété par la membrane synoviale. Il permet la lubrification de l'articulation et la nutrition du cartilage. Celui-ci tapisse les extrémités osseuses (os sous-chondral) de l'articulation évitant ainsi leur usure (figure 2).

⁶ Richette P. Appareil locomoteur, généralités sur l'arthrose **2008**, 14-003-c-20

⁷ <http://www.chu-montpellier.fr/fr/ADIPOA/index.html>

⁸ Venkatesan N. ; Magdalou J. ; Netter P., Fournel-Gigleux S. ; Ouazzine M. *Medecine/Science* **2005**, 21, 471-473

⁹ Hiroshi N. *Carbohydr. polymers* **2011**, 84, 835-839

¹⁰ Appareil locomoteur, abrégé d'anatomie fonctionnelle et biomécanique, François Bonnel, tome 1. Ed. Sauramps médical, **2002**

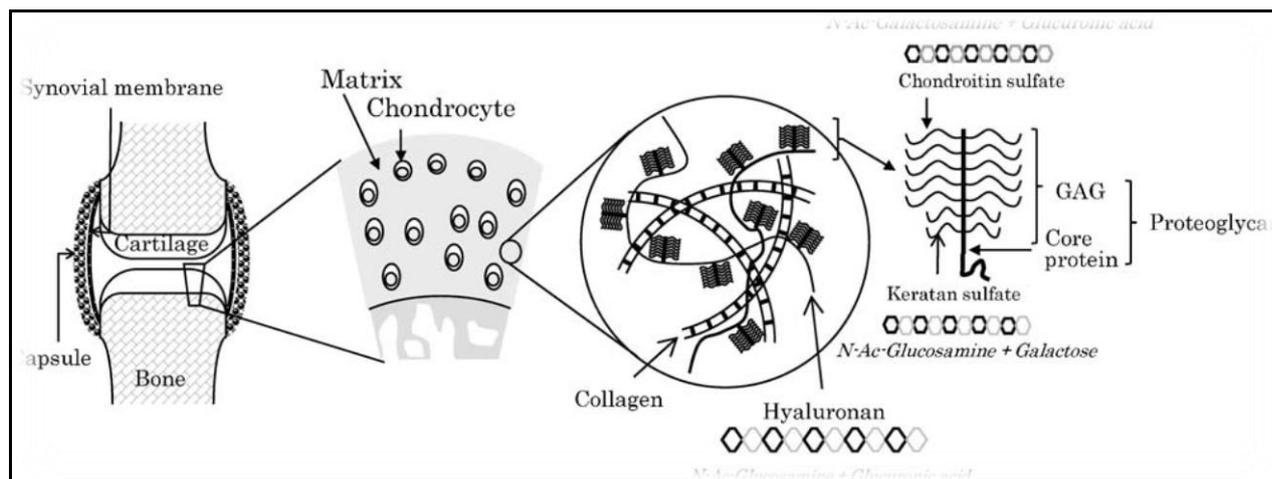


Figure 2. Organisation architecturale du cartilage articulaire.⁹

Le cartilage joue donc un rôle primordial dans le bon fonctionnement de l'articulation, en absorbant les chocs et en permettant, lors des mouvements, le geste fluide et le glissement des surfaces articulaires l'une sur l'autre.

La mobilité et la stabilité de l'articulation sont également assurées par les muscles qui, *via* leurs tendons s'insèrent sur la capsule et sur l'os péri-articulaire et supportent ainsi l'articulation (figure 3).

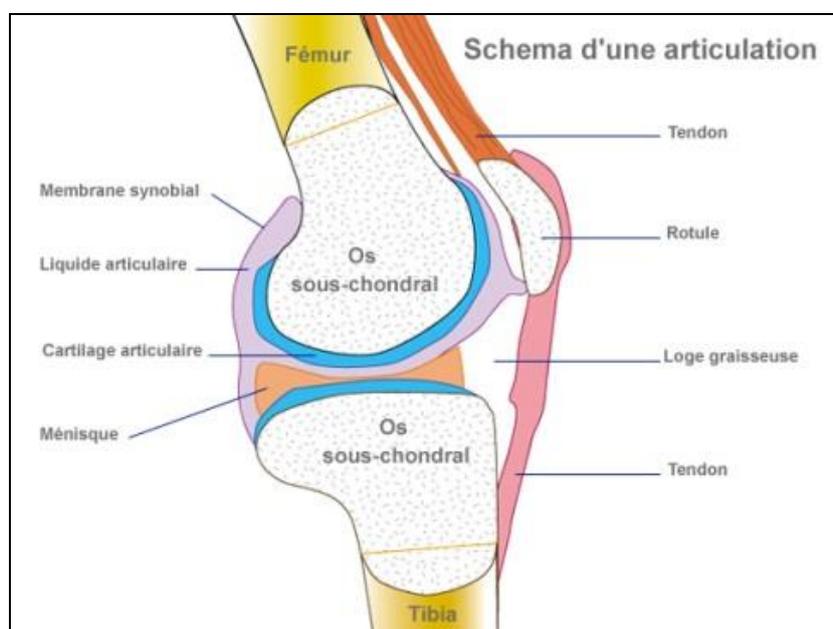


Figure 3. Schéma d'une articulation et de ses connexions musculo-tendineuses.¹¹

¹¹ http://www.rhumatologie.asso.fr/04-Rhumatismes/qu-est-ce-que-la-rhumato/06_articulation.asp

I-2.2 FONCTIONNEMENT DE L'ARTICULATION.

Le cartilage articulaire doit faire face à des contraintes mécaniques élevées. Lors de la compression du cartilage, sa déformation permet de répartir uniformément la pression sur toute la surface du cartilage articulaire.

La lubrification de l'articulation est assurée par le cartilage et surtout par le liquide synovial. C'est un mécanisme qui minimise au maximum le coefficient de friction entre les deux surfaces cartilagineuses. Lorsqu'une pression est exercée sur le cartilage, la déformation se fait en deux paliers. Le premier dit d'apparition instantanée, correspond à l'élasticité du tissu conjonctif. Le deuxième, d'apparition plus lente, correspond à la filtration du liquide interstitiel du cartilage vers la cavité articulaire.

Il existe différents modèles théoriques de lubrification articulaire. Le modèle dit de « weeping lubrication » dans lequel le cartilage se comporte comme une éponge (figure 4). Dans ce modèle, les protéoglycanes (PGs) présents dans la matrice extra-cellulaire (1) vont, sous l'effet d'une charge se comprimer chassant ainsi l'eau de la zone de compression vers la cavité articulaire (2) puis il y a retour à l'état initial dès que l'articulation se retrouve en décharge (3). De la même façon, l'épaisseur du liquide synovial présent entre les deux surfaces articulaires est diminuée au fur et à mesure qu'une charge est exercée sur l'articulation et son épaisseur augmente dès qu'il n'y a plus de charge.¹⁰

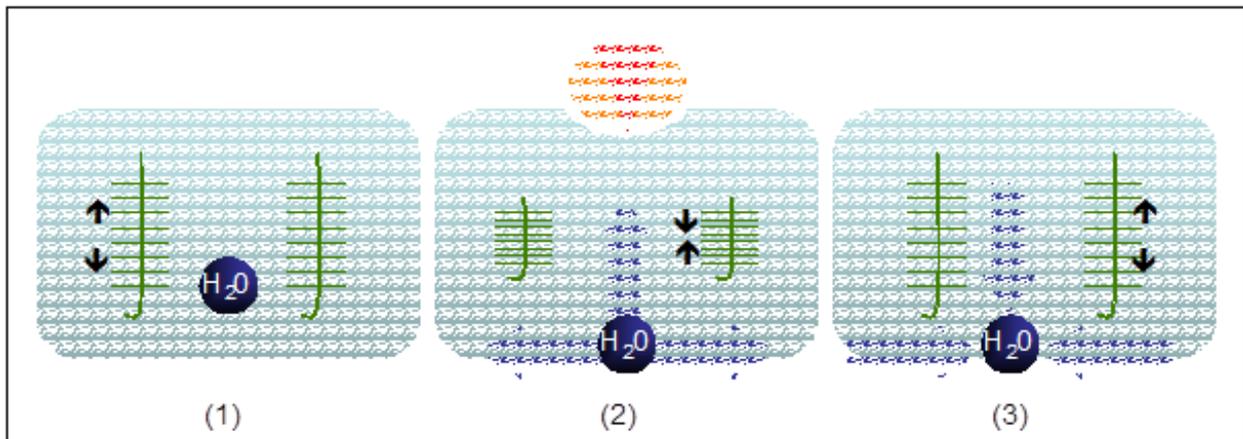


Figure 4. Effets de la charge sur le cartilage.¹²

I-2.3 COMPOSANTS PRINCIPAUX DU CARTILAGE.

Comme nous l'avons vu dans le chapitre I-2.1 (figure 2), le cartilage est principalement composé d'eau, de collagène et de protéoglycanes synthétisés par les chondrocytes.

A. LE COLLAGENE.

Le collagène majoritaire dans le cartilage est de type II (80 à 90%). Il est constitué d'une triple hélice de 3 chaînes α identiques qui s'associent *via* des liaisons intermoléculaires

¹² www.medecine.ups-tlse.fr/pcem2/physiologie/doc/cartilage.doc

en fibrilles. Ces fibrilles s'associent en formant un réseau dense permettent de résister à l'étirement provoqué par le gonflement des protéoglycanes chargés d'eau. Il joue ainsi un rôle primordial en assurant l'intégrité du cartilage¹³. La fréquence de renouvellement (turnover) du collagène cartilagineux étant de 400 ans, il n'est quasiment plus synthétisé chez l'adulte.¹⁰

B. PROTEOGLYCANES (PGS).

Les PGs sont des macromolécules ubiquitaires présentes sur les membranes cellulaires et dans les matrices extracellulaires. Ils interviennent dans d'importants processus physiologiques (croissance et différenciation cellulaire, reconnaissance cellulaire, infections virales et bactériennes)¹⁴ et pathologiques (athérosclérose, maladie d'Alzheimer, cancer et arthrose).¹⁵ Ils sont constitués d'un squelette peptidique sur lequel sont ancrés les glycosaminoglycanes (GAGs) par l'intermédiaire d'une zone de liaison tétrasaccharidique (figure 5).

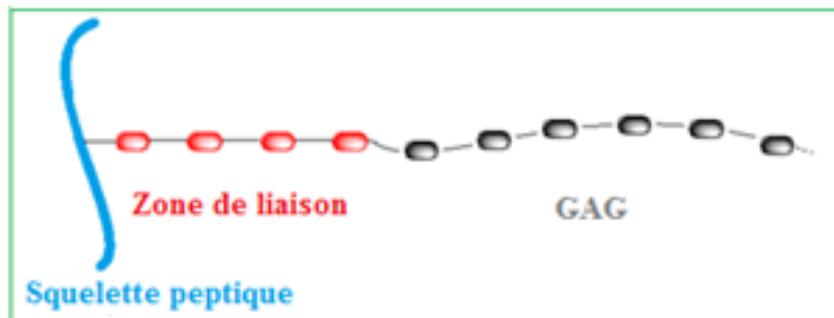


Figure 5. Protéoglycane schématisé.

B-1 LE SQUELETTE PEPTIDIQUE OU CORE PROTEINE.

La taille, la composition et la nature du squelette peptidique des PGs varient en fonction de sa localisation (cellulaire ou extracellulaire). Dans le cas du PG du cartilage, un motif « Ser-Gly-X-Gly » (où X représente n'importe quel autre acide aminé) a été retrouvé dans de nombreuses séquences clonées codant la protéine core. Cette séquence est indispensable pour l'initiation de la biosynthèse de la zone de liaison par les xylosyl transférase par transfert d'UDP-xylose sur le résidu L-Sérine.¹⁶

¹³ Billingham R. C.; Dahlberg L.; Lonescu M., Reiner A.; Bourne R., Rorabeck C.; Mitchell P.; Hambor J.; Diekmann O.; Tschesche H.; Chen J.; Van Wart H.; Poole A. R. *The American Society for Clinical Investigation* **1997**, *99*, 1534-1545

¹⁴ Pedersen L. C.; Tsuchida K.; Kitagawa H.; Sugahara K.; Darden T. A.; Negishi M. *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 34580-34585

¹⁵ Sugahara, K.; Miyami, T.; Uyuma, T.; Mizoguchi, S.; Nomura, K.; Kitagawa H. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2003**, *13*, 612-620

¹⁶ Thèse de Catherine Bui, Université Henri Poincaré, Nancy I, **2009**

B-2 LA ZONE DE LIAISON.

La zone de liaison des PGs est une partie tétrasaccharidique composée de l'enchainement successif d'un D-xylose, de deux D-galactoses et d'un acide D-glucuronique (figure 6). Elle sert d'encrage entre les GAGs et la protéine porteuse des PGs par l'intermédiaire d'une liaison O-covalente entre le D-xylose et un résidu L-sérine (Voir chapitre I-4 : Biosynthèse des PGs).

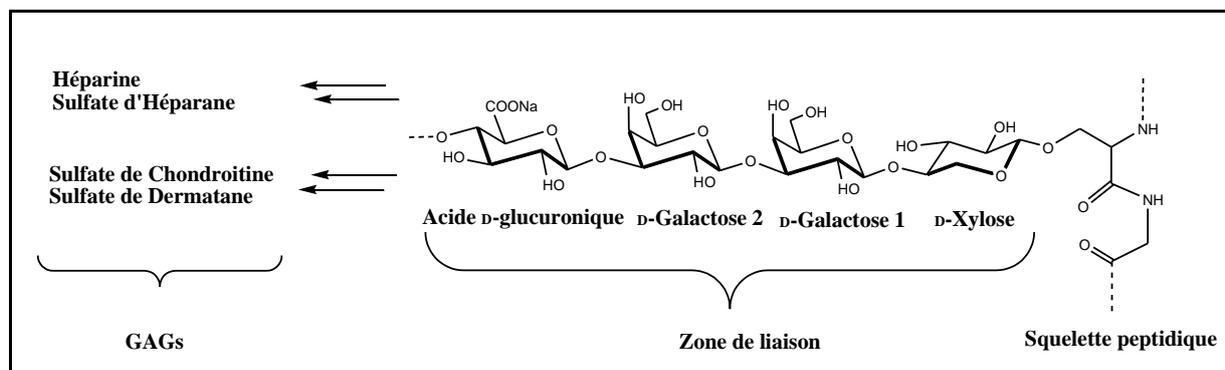
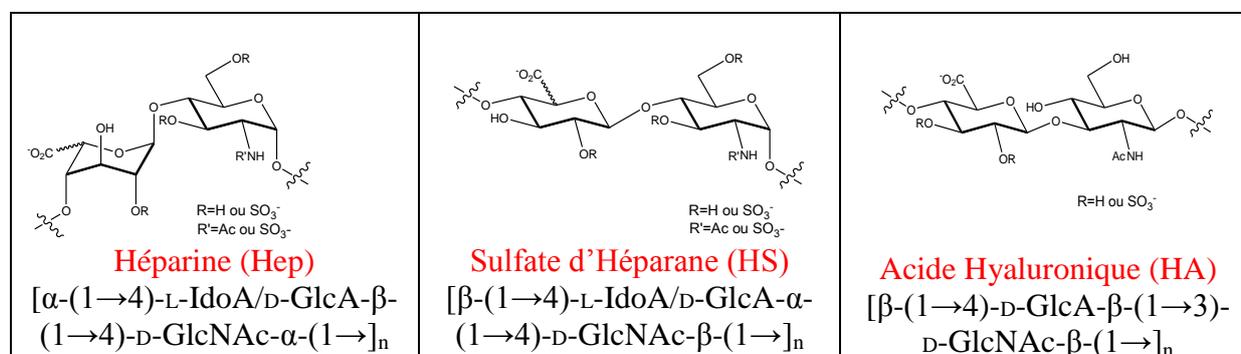


Figure 6 : Zone de liaison des protéoglycanes.

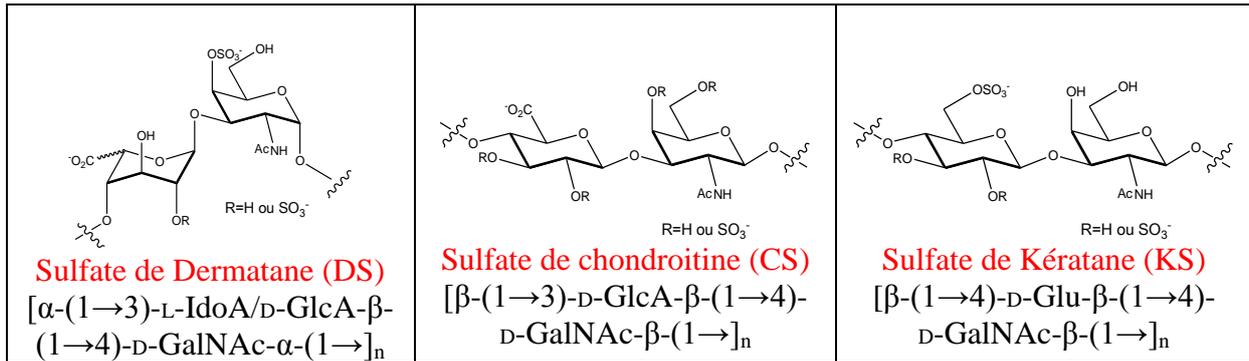
B-3 LES GLYCOSAMINOGLYCANES (GAGS).

Les GAGs sont des polysaccharides linéaires polyanioniques et hétérogènes d'un poids moléculaire de 10 à 40 kDa. Ils sont liés de façon covalente à un squelette peptidique (excepté l'acide hyaluronique (HA)) *via* l'intermédiaire d'une zone de liaison tétrasaccharidique. Ils sont constitués d'unités saccharidiques répétées formées d'une hexosamine (N-acétylglucosamine (D-GlcNAc) ou N-Acétylgalactosamine (D-GalNAc)) lié à un acide hexuronique (acides D-glucuronique (D-GlcA) ou L-iduronique (L-IdoA)) excepté le KS. La longueur et le nombre des chaînes de GAGs sont variables. De plus, mis à part l'acide hyaluronique (HA) ils portent de nombreux groupements sulfatés (N-sulfate et/ou O-sulfates)¹⁷ (tableau I).

Tableau I. Structure des unités disaccharidiques des GAGs.



¹⁷ Karst N. A.; Linhardt R. J. *Current Med. Chem.* **2003**, *10*, 1993-2031



B-4 L'AGGREGANE : PROTEOGLYCANE DU CARTILAGE.

On distingue deux sortes de PGs dans le cartilage, ceux de grande taille (aggrecane) et ceux de petite taille (decorine, biglycane, etc).¹⁸

L'aggrecane (figure 7) constitue un PG qui interagit avec l'acide hyaluronique pour former des agrégats de haut poids moléculaire. Chaque molécule d'aggrecane est constituée d'un squelette peptidique de 210-250 kDa auquel sont attachées les GAGs. Le GAG majoritaire de l'aggrecane est le sulfate de chondroïtine (CS) (environ 80%) mais on retrouve également du sulfate de kératane (KS).¹⁹

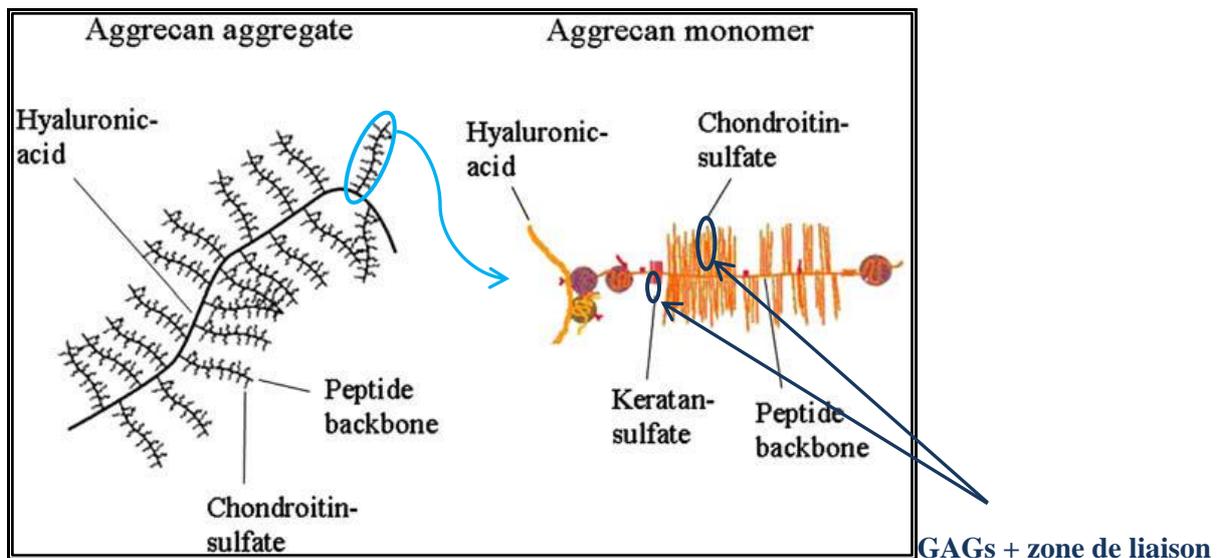


Figure 7. Monomère d'aggrecane et ses agrégats.¹⁹

Les charges électro-négatives des groupements carboxyliques et sulfatés de l'aggrecane confèrent à la matrice extracellulaire du cartilage son caractère hydrophile. Les PGs de petites tailles, interviennent quant à eux dans les liaisons entre macromolécules, entre les chondrocytes et leur milieu et dans la stabilité du collagène.¹⁸

¹⁸ Pertuiset E. *Rev. Rhum.* **2002**, 69, 157-70

¹⁹ Baeurle S.A.; Kiselev M.G.; Makarova E.S.; Nogovitsin E.A. *Polymer* **2009**, 50, 1805-1813

I-3 PROCESSUS ARTHROSIQUE : déséquilibre de la balance synthèse/dégradation.

Les mécanismes précis menant à une dégénérescence de l'arthrose sont encore peu connus. On sait que le cartilage est un tissu vivant au ralenti sans grande capacité de régénération et tout porte à croire que les phases précoces de l'arthrose sont caractérisées par un excès du catabolisme et une perte de structuration de l'aggrécane.^{20, 21} Ce défaut entraîne essentiellement des modifications quantitatives et qualitatives de ses chaînes de GAGs qui conduisent à une dégradation progressive et irréversible du reste des composants de la matrice cartilagineuse.⁸ (figure 8)

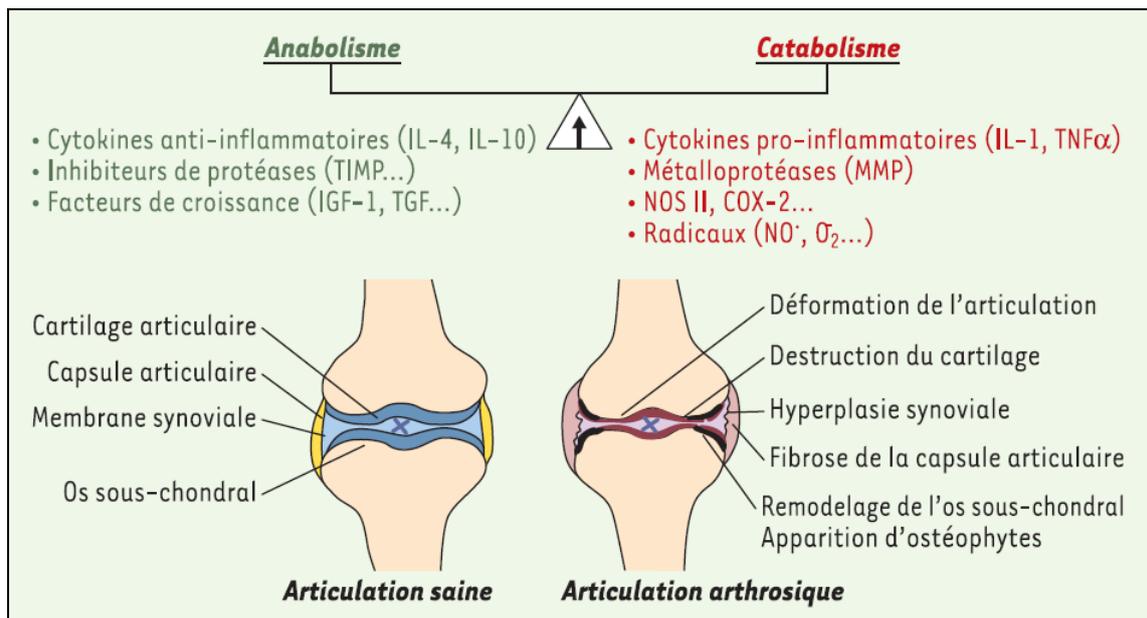


Figure 8. Rupture de l'homéostasie du cartilage.⁸

Ce déséquilibre entre processus anabolique et catabolique est caractérisé par l'augmentation de ces deux phénomènes dans le tissu en faveur du catabolisme. Ce processus physiopathologique peut être divisé en 3 grandes étapes :

Etape I : Dégénération du réseau matriciel au niveau moléculaire.

La taille de l'aggrécane diminue, le réseau de collagène est endommagé, il devient moins rigide, plus lâche, affaiblissant ainsi les propriétés biomécaniques du cartilage indispensable à la répartition des charges. Les chondrocytes augmentent leur synthèse du collagène de type I au détriment du collagène de type II.²² De plus, l'augmentation de la synthèse des KS au détriment des CS engendre une moins bonne rétention des molécules

²⁰ Caterson B.; Flannery C. R.; Hugues C. E.; Little C. B. *Matrix Biol.* **2000**, *19*, 333-344

²¹ Wheaton A. J.; Dodge G. R.; Borthakur A.; Kneeland J. B.; Schumacher H. R.; Reddy R. *J. Orthopaedic Res.* **2005**, *23*, 102-108

²² Lorenz H.; Richter W. *Progress in Histochemistry and Cytochemistry* **2006**, *40*, 135-163

d'eau. Ainsi, le cartilage s'appauvrit en eau, ce qui altère également ses propriétés biomécaniques²³ (tableau II).

Composant	Augmentation	Diminution
Eau		X
Chondroïtines sulfates		X
Kératane sulfate	X	
Acide hyaluronique	X	
Collagène type II		X
Protéines non collagéniques (fibronectine, etc.)	X	

Tableau II. Modifications des contenus observés dans des cartilages de patients âgés atteints d'arthrose.⁵

Ce mécanisme de dégradation fait suite à une production locale par les chondrocytes et la synoviocyte de médiateurs pro-inflammatoires [cytokines (l'interleukine-1 (IL-1)), prostaglandines (PGE2), radicaux libres (NO)] qui favorisent à la fois la dégradation des constituants matriciels et l'inhibition de leur biosynthèse. Ces cellules en inflammation surexpriment également des métalloprotéinases matricielles (MMP) et des aggrecanases qui vont spécifiquement dégrader le collagène et les PGs, respectivement.^{22,24} De plus, les fragments de la dégradation des constituants de la matrice semblent également contribuer à l'activation des chondrocytes conduisant à l'augmentation de la synthèse des métalloprotéases et des cytokines pro-inflammatoires.²³

Tous ces phénomènes contribuent à maintenir un état inflammatoire menant à la destruction progressive du cartilage articulaire.

Etape II : Tentative de réparation du cartilage.

A ce stade, les chondrocytes tentent de compenser les dommages causés par l'inflammation en augmentant la synthèse de facteurs anaboliques tels que :

- des cytokines anti-inflammatoires (IL-1RA, IL-4, IL-10, IL-13) qui agissent en empêchant la sécrétion de certaines métalloprotéases de la matrice extracellulaire (MMP) et en s'opposant à l'effet catabolique de l'IL-1 (IL4 et IL-13).²³

- des facteurs de croissance (l'IGF-1(l'Insuline-like Growth Factor), le TGF- β (Transforming Growth Factor), le FGF (Fibroblast Growth Factor). Ces facteurs stimulent à leur tour la prolifération des chondrocytes et donc la production des composants de la matrice extracellulaire du cartilage.²²

²³ Berenbaum F. *Rev. Rhum.* **2000**, 67, 119-25

²⁴ Nakamura H. *Carbohydr. Polymers* **2011**, 84, 835-839

Cet accroissement de la synthèse des composants matriciels ne suffit pas à rétablir l'équilibre homéostatique du cartilage. D'une part, car le « néocollagène » formé, de type I, présente de moins bonnes propriétés biomécaniques que le type II. De plus, la quantité de facteurs de croissance et de cytokines anti-inflammatoires synthétisés n'est pas suffisante pour contrecarrer les effets délétères des protéases et des cytokines pro-inflammatoires. Enfin, l'excès de production de certaines protéines porteuses (comme l'IGF-binding protein) diminue la biodisponibilité de certains facteurs de croissance (comme l'IGF-I) en les rendant inactifs.²³

Ainsi, seuls des dommages associés à de petites pertes de composants de la matrice peuvent être régénérés par le cartilage. Des dommages plus importants sont irréversibles.²²

Etape III : Stade ultime de la maladie.

A ce stade les chondrocytes ne sont plus capables de suivre leur activité de réparation. Il s'en suit une usure et un amincissement quasi total du cartilage, des lésions synoviales et capsulaires. L'os subchondral développe alors des ostéophytes (excroissances osseuses) et des nodules ostéochondraux (kystes osseux et cartilagineux) qui entravent le mouvement articulaire.^{22, 23}

I-4 BIOSYNTHESE DES PROTEOGLYCANES (PGS).

L'assemblage des PGs se fait dans l'appareil de Golgi par l'attachement d'un D-xylose sur un résidu L-sérine de la protéine catalysé par la D-xylosyl transférase I (XylT-I). Il s'en suit une addition séquentielle de deux résidus D-galactose et d'un acide D-glucuronique catalysés par la β-D-1,4-Galactosyltransférase 7 (GalT-I), la β-D-1,3-Galactosyltransférase 6 (GalT-II) et la β-D-1,3-Glucuronosyltransférase I (GlcAT-I), respectivement. Ainsi, l'action séquentielle de ses O-glycosyltransférases spécifiques permet la formation de la zone de liaison tétrasaccharidique : « **GlcA-β1,3Gal-β1,3Gal-β1,4Xyl-β1-O-Ser** »²⁵, commune aux deux principaux types de GAGs (figure 9).

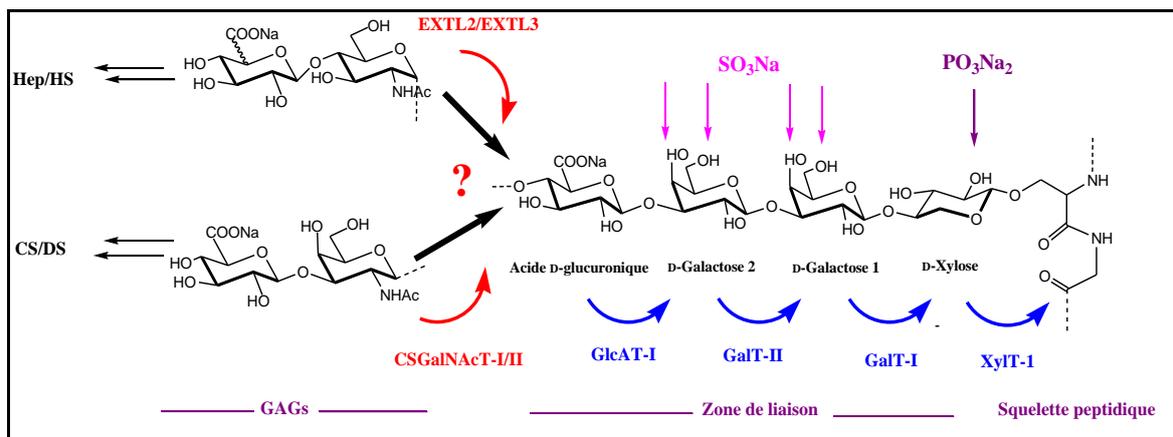


Figure 9. Zone de liaison et bifurcation des GAGs avec les sites potentiels de sulfatations et phosphorylation de la zone de liaison.

²⁵ Gulberti S. ; Lettard V. ; Fondeur M. ; Jacquet J.-C. ; Mulliert G. ; Netter P. ; Magdalou J. ; Ouzzine M. ; Fournel-Gigleux S. *The Scientific World Journal* **2005**, 5, 510-514

A ce niveau, en fonction de l'UDP-sucre transféré sur l'unité acide glucuronique de la zone de liaison, il y a divergence des GAGs en 2 grandes familles :

- Les Héparine (Hep)/Héparane Sulfaté (HS), si le sucre transféré est la N-Acétyl D-glucosamine ;
- Les Chondroïtine Sulfaté (CS)/Dermatane Sulfaté (DS), si le sucre transféré est la N-Acétyl D-galactosamine.

Ainsi, la nature du résidu transféré est une étape déterminante dans l'initiation et l'élongation des GAGs durant la biosynthèse des PGs. Alors, quels sont les éléments biochimiques qui déterminent la nature du sucre transféré ?

De nombreuses études structurales de la zone de liaison ont démontré la présence d'un groupement phosphate en position 2 du D-xylose, tandis que les deux D-galactoses (D-Gal1 et D-Gal2) peuvent être sulfatés en position 4 ou 6. Le D-xyl-2-*O*-phosphate se retrouve aussi bien sur les chaînes d'héparine/HS que sur les CS/DS. Toutefois, il semblerait que la présence de ce groupement empêcherait l'activité de la GalT-I, suggérant que cette modification survient une fois que le premier galactose (D-Gal1) de la zone de liaison est ajouté.²⁶

Des groupements sulfates sont également retrouvés en position 4 et/ou 6 des deux D-galactoses (D-Gal1 et D-Gal2) de la zone de liaison des chaînes de CS et DS mais n'ont pas encore été identifiés sur les chaînes d'héparine et HS.^{25, 26}

Les positions de sulfatations sur Gal1 et Gal2 influencent l'activité de la GlcAT-I. En effet, en présence de groupements sulfates en position 4-*O* du Gal1 ou en position 4-*O* ou 6-*O* du Gal2, ou en position 6-*O* de Gal1 et Gal2, aucune activité de la GlcAT-I n'est observée. Seule la sulfatation en 6-*O* du Gal1 montre une activité significative de l'enzyme comparée au disaccharide (Gal1-Gal2) non sulfaté.²⁵

Ainsi, il semble évident que la position de ces groupements sulfate sur les deux galactoses de la zone de liaison influence également l'activité des enzymes responsables de l'initiation et probablement de l'élongation des chaînes de GAGs. Au niveau de la bifurcation, les *O*-glycosyltransférases (EXTL2/EXTL3 pour les héparanes/HS) et (CS-GalNAcT-1/2 pour les CS/DS) vont reconnaître spécifiquement leur substrat pour polymériser dans l'une ou l'autre voie.

En 2012, Gulberti S. et al²⁶ se sont intéressés à l'étude de l'activité et de la spécificité de la CSGalNAcT-1 envers des substrats accepteurs différemment sulfatés de la zone de liaison. Ils ont démontré que le motif trisaccharidique Gal1-Gal2-GlcA est la structure minimale pouvant être utilisée comme substrat pour l'activité N-Acétalgalactosyl transférase de la CSGalNAcT-1. Ainsi, en soumettant l'enzyme à divers substrats trisaccharidiques sulfatés (figure 10), les oligosaccharides monosulfatés se sont avérés être de meilleurs substrats comparés à leurs homologues non sulfatés. Les composés monosulfatés en 6-*O* du Gal1, en 6-*O* du Gal2 et en 4-*O* du Gal1 stimulent l'activité de l'enzyme tandis que le composé monosulfaté en 4-*O* du Gal2 et disulfatés en position 6-*O* sur les 2 Gal n'induisent

²⁶ Gulberti S. ; Jacquinet J.-C. ; Chabel M. ; Ramalanjaona N. ; Magdalou J. ; Netter P. ; Coughtrie M. W. H. ; Ouzzine M. ; Fournel-Gigleux S. *Glycobiology* **2012**, 22, 561-571

aucune activité de la CSGalNAcT-1. Ceci suggère que le site actif de l'enzyme ne peut pas admettre la présence simultanée de deux groupements sulfates sur les D-galactoses de la zone de liaison.

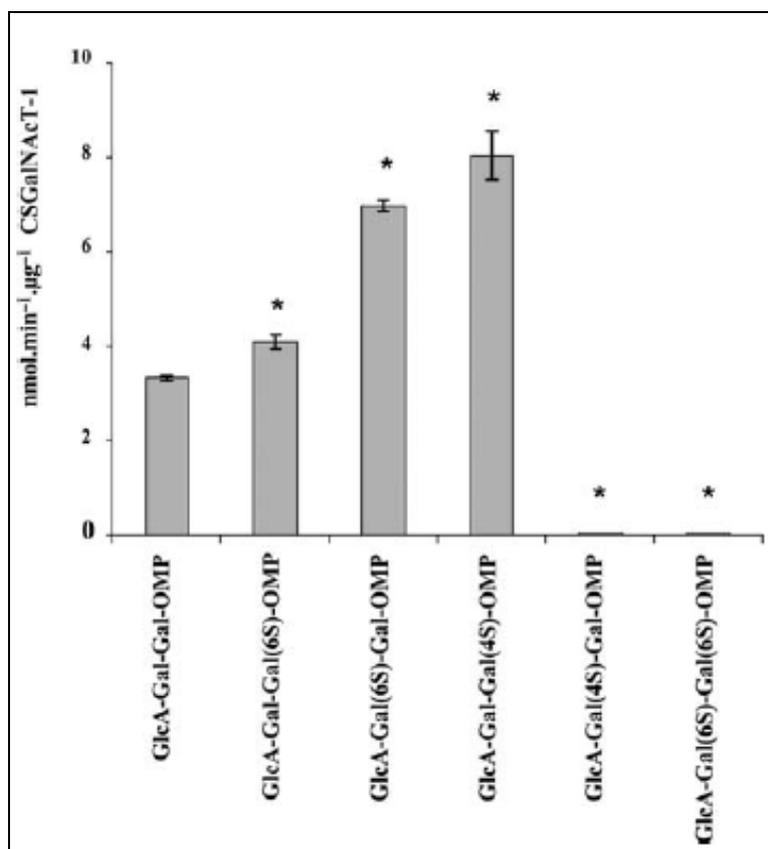


Figure 10. Activité N-Acétylgalactosyl transférase de la CSGalNAcT-1 recombinante.

Ces résultats traduisent l'importante influence de la position des sulfatations sur l'activité catalytique de la CSGalNAcT-1 dans l'initiation de la biosynthèse des CS. Ainsi, le transfert de la première N-acétyl D-galactosamine est une étape critique et limitante dans les étapes ultérieures de polymérisation des CS. Cependant, une autre étude de l'enzyme, toujours dans la même équipe, a démontré que la CSGalNAcT-1 ne catalysait pas la réaction d'élongation des CSs.

I-5 CONCLUSION.

Les mécanismes de dégradation du cartilage menant à l'arthrose sont à ce jour mal connus. Les nombreuses études effectuées dans ce domaine révèlent que les premiers changements qualitatifs touchent les GAGs. Ainsi, il est nécessaire, dans un premier temps, de comprendre le mécanisme de biosynthèse des GAGs et plus particulièrement celle des CSs par les glycosyltransférases afin de mieux comprendre leur mécanisme de dégradation et pouvoir, ainsi, stimuler cette biosynthèse dans le but de rétablir l'intégrité du cartilage.

Comme nous l'avons vu au chapitre biosynthèse des PGs (I-4), la ou les position(s) de sulfatation des résidus D-galactosyles de la zone de liaison revêt une importance majeure dans la détermination de la biosynthèse des CSs par les glycosyltransférases.

Cette zone de liaison, porteuse de groupements sulfatés, est difficilement isolable intacte pour pouvoir l'étudier, en raison de la labilité des groupements sulfates, il est donc nécessaire de la synthétiser chimiquement avec différentes combinaisons de mono-sulfatations (objectif de notre travail). Et ce, afin de les soumettre aux glycosyltransférases (CSGalNacT-1 et EXTL2 /3) et de déterminer ainsi la nature du ou des substrat(s) reconnu(s) par ces enzymes.

Un grand nombre de travaux sur la zone de liaison ont été réalisés et publiés. Le chapitre suivant montre quelques exemples décrits dans la littérature depuis les 20 dernières années.

**II. TRAVAUX DECRITS DANS LA
LITTERATURE SUR LA ZONE DE LIAISON.**

De nombreuses équipes se sont intéressées et s'intéressent encore à la synthèse de la zone de liaison des PGs. Que ce soient des synthèses totales concernant l'ensemble des tétrasaccharides composant cette zone de liaison ou juste certains de ses sucres. Nous décrivons ici, un aperçu non exhaustif de travaux décrits ces 20 dernières années.

Le présent chapitre expose des exemples de synthèses de la zone de liaison, phosphorylée ou non, sulfatée ou non. Cette zone de liaison a également été décrite avec des parties peptidiques de longueurs et natures différentes ancrées sur le dérivé D-xylose. Des synthèses décrivant la zone de liaison liée à des amorces de GAGs (CS, DS) ont également été rapportées.

De plus, selon l'objectif biologique visé, différents aglycones ont été condensés sur l'extrémité réductrice des mono- ou oligosaccharides de la zone de liaison (dérivés biotinylés, différents fluorophores ou encore de simples groupements protecteurs).

Tous les travaux décrits dans ce chapitre montrent des stratégies de synthèses qui convergent vers l'obtention régio- et stéréocontrôlée de composés avec le moins d'étapes possibles et la difficulté la plus rencontrée consiste essentiellement en la formation de mélanges α/β lors des réactions de glycosylations avec des donneurs D-glucuronyles et D-xylosyles, et ce, malgré la présence de groupements participants en C-2.

II-1 ZONE DE LIAISON TOTALE OU PARTIELLE.

En 1993, Nilsson M. et al.²⁷ ont rapporté la synthèse totale de méthyl glycosides de tri- et tétrasaccharides de la zone de liaison **1** et **3**, ainsi que leurs formes phosphorylées en 2 du D-xylose **2** et **4** (Schéma II-1).

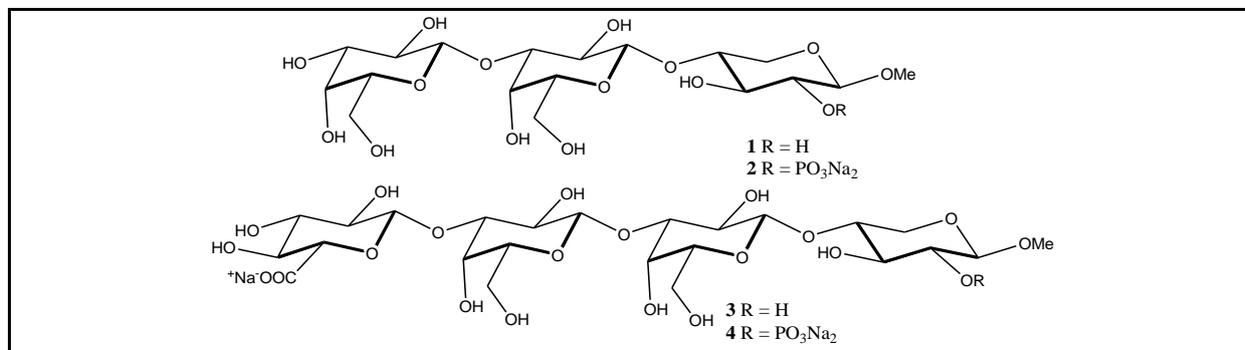


Schéma II- 1

Afin de synthétiser les trisaccharides cibles **1** et **2** (Schéma II-2), une addition successive d'unités monosaccharidiques en partant de l'extrémité réductrice a été adoptée.

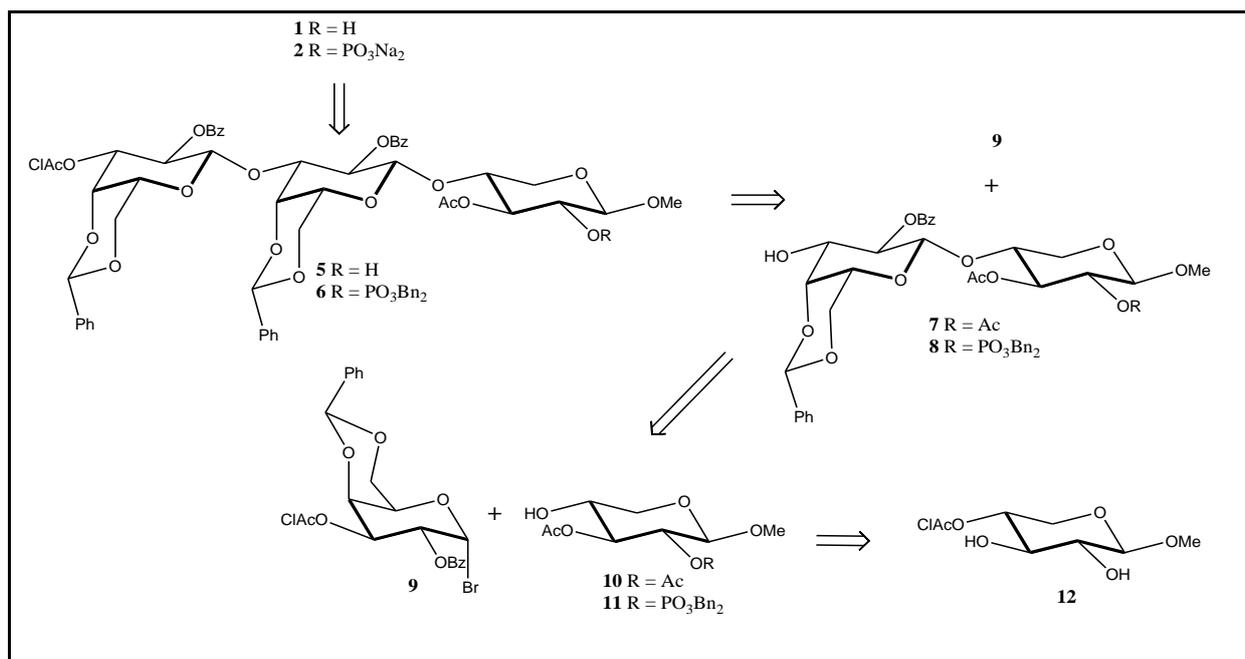


Schéma II- 2

Ainsi, en partant du Méthyl β-D-xylopyranoside **12** sélectivement chloroacétylé en position 4, une acétylation avec du chlorure d'acétyle en présence de pyridine suivie d'une déchloroacétylation avec de l'acétate d'hydrazine a donné l'accepteur **10** nécessaire à l'allongement de la chaîne des composés non phosphorylés.

²⁷ Nilsson M.; Westman J.; Svahn C.-M. *J. Carbohydr. Chem.* **1993**, *12*, 23-37

Dans le but d'accéder aux composés phosphorylés, le composé **12** a été sélectivement acétylé sur la position 3 avec du chlorure d'acétyle en présence de pyridine à 0°C dans le CH₂Cl₂, puis phosphorylé en 2 avec du trichlorure de phosphore en présence d'imidazole suivie d'un traitement avec de l'alcool benzylique et oxydation avec l'acide métachloroperbenzoïque (mCPBA). Enfin, la déchloroacétylation en 4 dans les mêmes conditions que **12** a donné l'accepteur **11** nécessaire à l'allongement de la chaîne des composés phosphorylés.

La glycosylation du donneur bromé **9** avec les accepteurs **10** ou **11** en présence de triflate d'argent et de collidine suivie d'une déchloroacétylation a donné les disaccharides accepteurs **7** (74 %) ou **8** (52 %), respectivement. La glycosylation de ces derniers dans les mêmes conditions avec **9** a donné les trisaccharides **5** (85%) ou **6** (79%). Une déprotection a alors donné les trisaccharides cibles **1** (82%) et **2** (67%).

En ce qui concerne les tétrasaccharides **3** et **4** (Schéma II-3), une stratégie d'addition par blocs disaccharidiques a été adoptée utilisant les blocs **7** et **8** obtenus précédemment (schéma II-2) et le bloc **15** obtenu après glycosylation entre l'accepteur **17** et le donneur glucuronique **16** en présence de triflate d'argent (50%).

Une glycosylation de **15** avec **7** ou **8** en présence de triflate de diméthyl(méthylthio)sulfonium (DMTST) et de 2,6-di-*tert*-butylpyridine a donné les tétrasaccharides **13** (64%) ou **14** (58%), respectivement, qui après déprotection totale ont conduit aux tétrasaccharides cibles non phosphorylé **3** (90%) et phosphorylé **4** (65%).

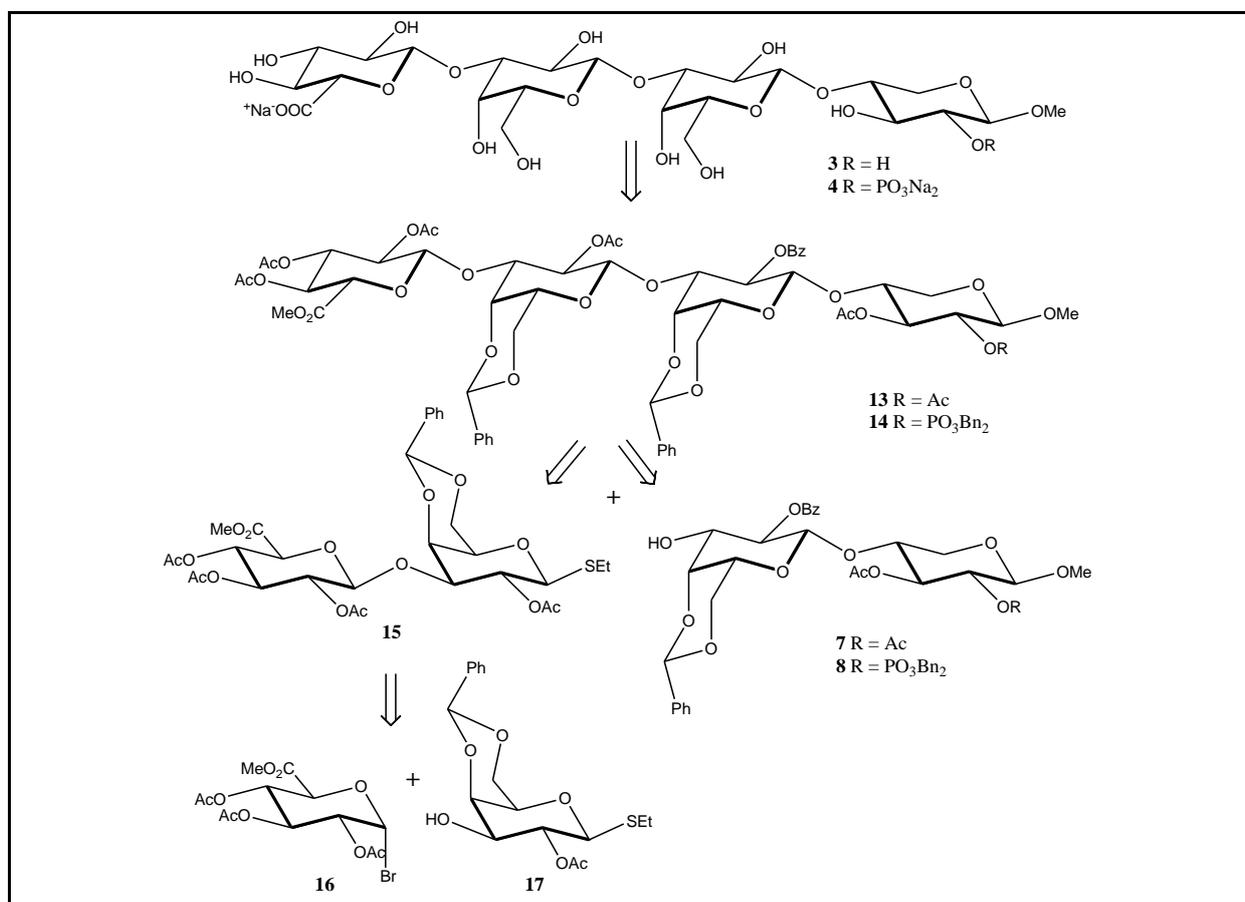


Schéma II- 3

En 2002, **Chen L. et Kong F.**²⁸ ont également publié la synthèse totale du tétrasaccharide déprotégé de la zone de liaison des PGs **3** (Schéma II-4). Leur première stratégie a consisté à préparer le disaccharide digalactosyle **21** puis à l'allonger en ajoutant les sucres des extrémités, à savoir d'abord, le D-xylose puis le D-GlcA.

Le disaccharide désiré **21** a été obtenu par glycosylation entre le donneur acétimide **23** et l'accepteur **24** (tous les deux issus de **25**) en présence de TMSOTf catalytique avec 54% de rendement (et 31% d' α -disaccharide). Le composé **21** a ensuite été activé en donneur acétimide puis glycosylé avec l'accepteur D-xyloside **22** pour donner le β -trisaccharide désiré **20** avec 40% de rendement mais également 40% d'isomère α .

La déallylation de **20** a libéré l'accepteur correspondant qui a pu être glycosylé avec le donneur glucuronique **19** pour donner le β -tétrasaccharide **18** avec 31% de rendement accompagné de 31% de son isomère α .

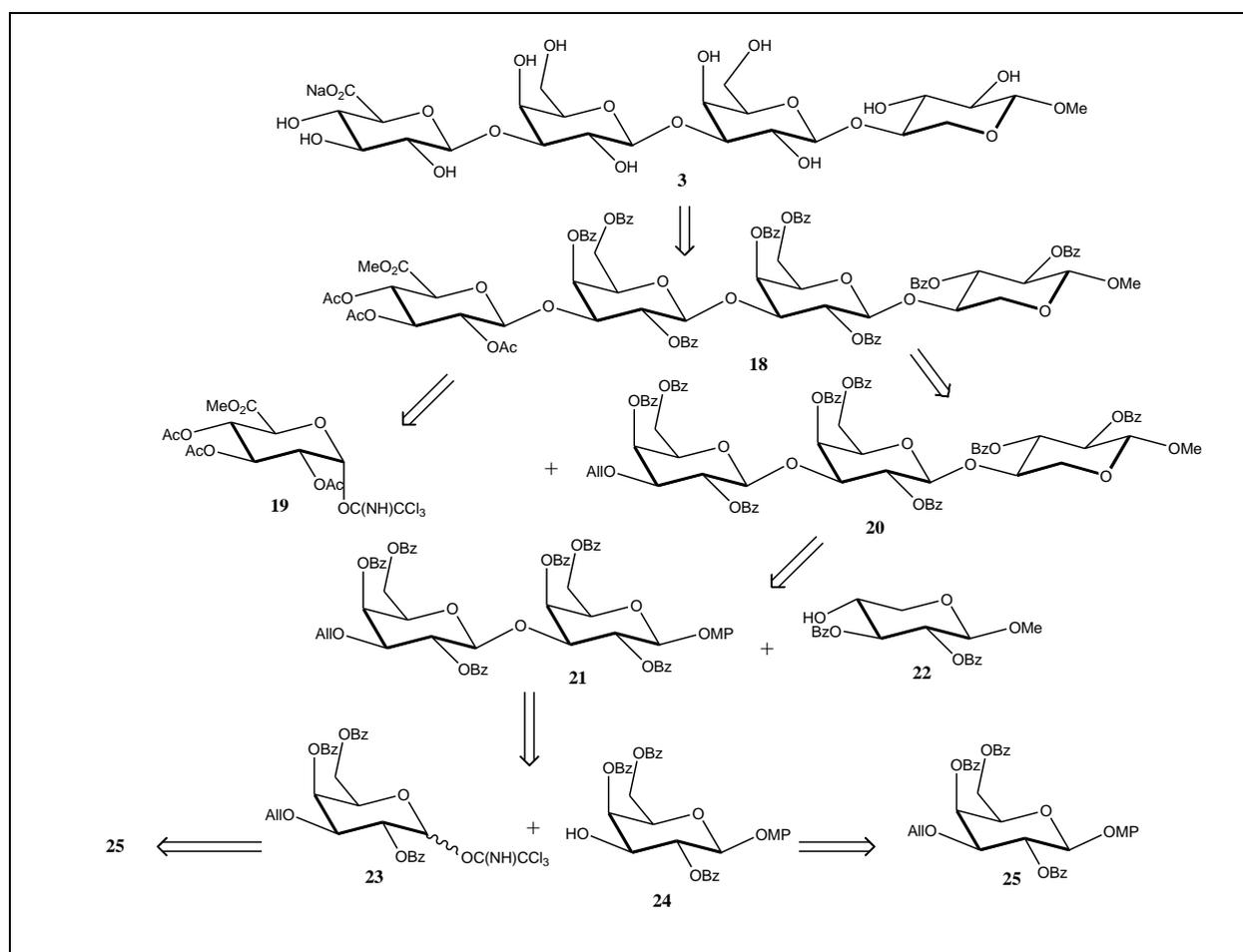


Schéma II- 4

²⁸ Chen L.; Kong F. *Carbohydr. Res.* **2002**, 337, 1373-1380

Malgré la présence du groupement participant benzoyle sur tous les donneurs utilisés, il s'est formé à chaque fois une grande quantité d'isomère α . Une seconde voie de synthèse a alors été envisagée (Schéma II-5) consistant, cette fois-ci, à changer l'ordre d'introduction des monosaccharides sur le bloc **21**. Ainsi, le donneur glucuronique **19** a d'abord été introduit après déallylation de **21** (55%). L'accepteur xyloside **22** a ensuite été introduit par glycosylation avec le trisaccharide donneur **26** pour donner majoritairement le tétrasaccharide **18** (40%). Ainsi, l'ajout successif des unités monosaccharidiques dans cet ordre a permis de minimiser la formation des isomères α .

L'étape finale de cette synthèse a consisté à cliver tous les groupements protecteurs de **18** avec de la soude dans le MeOH/H₂O donnant ainsi le sel de sodium cible **3**.

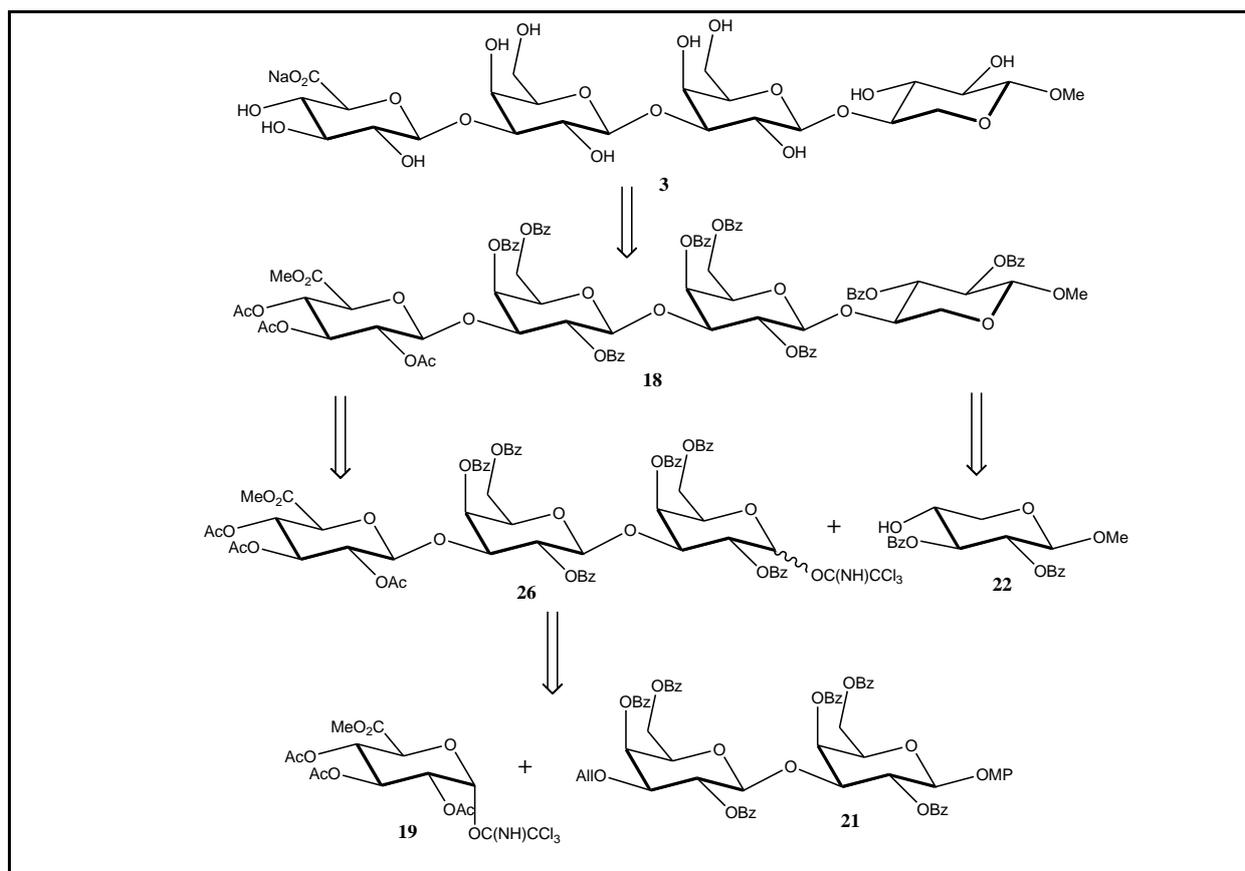


Schéma II- 5

En 2004, **Jacquinet J.-C.**²⁹ a rapporté la première synthèse d'un disaccharide digalactosyle dérivé de la zone de liaison des PGs, le 4-méthoxyphényl *O*-(β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)- β -D-galactopyranoside **27** et ses dérivés 4 ou 6 monosulfatés sur les Gal1 ou Gal2 **29-32** et 6-*O*-disulfatés sur le Gal1 et le Gal2 **28** (Schéma II-6).

Le but était de déterminer le rôle de ces sulfatations dans la biosynthèse des Chondroitines sulfates (principal GAG du cartilage). Ainsi, la synthèse de ces composés

²⁹ Jacquinet J.-C. *Carbohydr. Res.* **2004**, 339, 349-359

cibles a nécessité dans un premier temps la préparation d'un intermédiaire disaccharidique commun **35** comportant en position C-4 et C-6 des D-Gal1 et D-Gal2, des groupements protecteurs orthogonaux (groupement levulinoyle et acétal benzylidène), favorisant des déprotections régiosélectives et donc le contrôle des positions à sulfater par la suite.

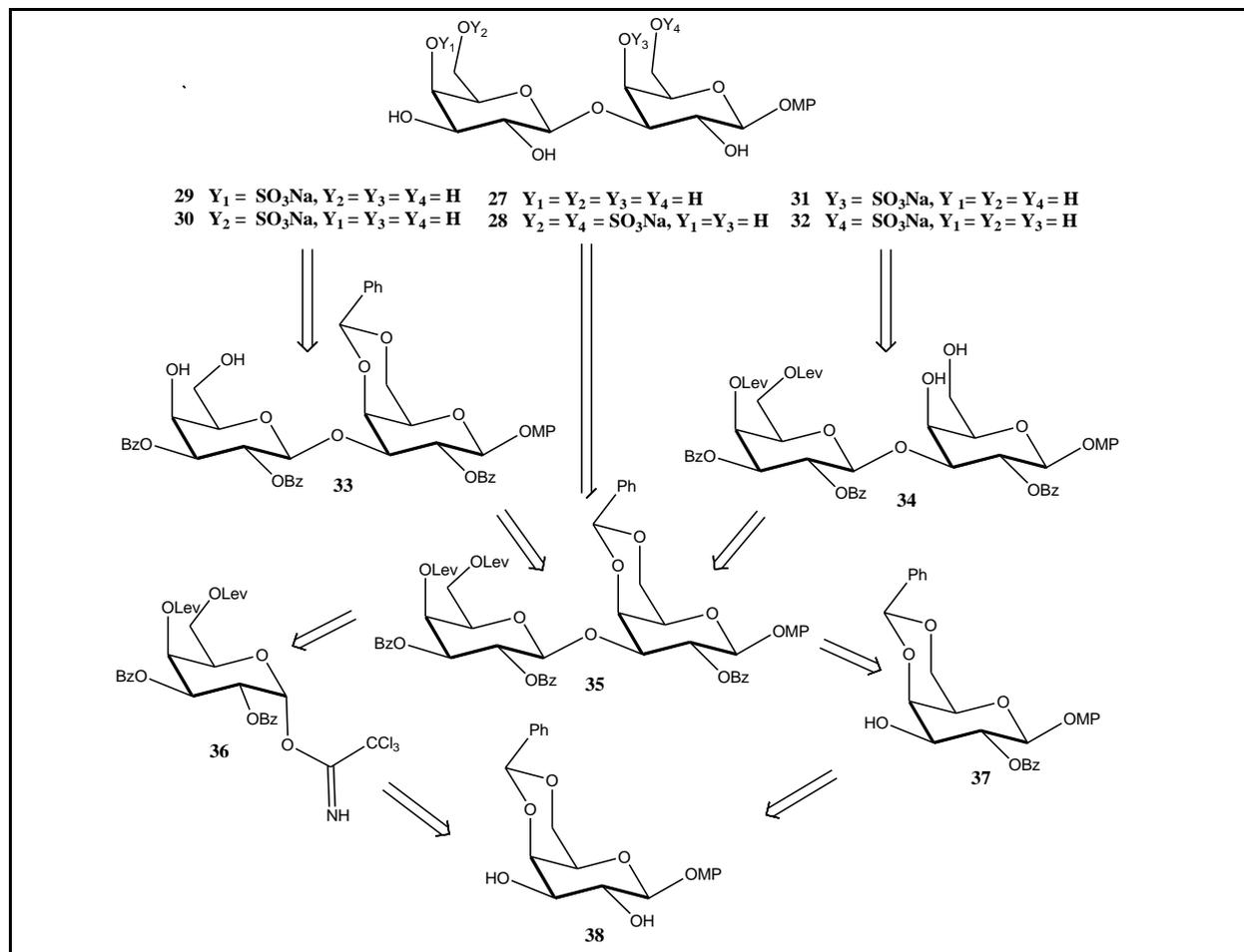


Schéma II- 6

Le disaccharide **35** a été obtenu avec 70% de rendement après couplage entre l'imidate **36** et l'accepteur **37**. Ces 2 derniers sont issus du même précurseur D-galactosyle **38**.

A partir de cet intermédiaire clé **35**, tous les composés cibles ont été obtenus (Schéma II-6). La déprotection sélective des groupements *O*-levulinoyle avec de l'acétate d'hydrazine a donné le diol **33**, précurseur des composés monosulfatés **29** et **30**, tandis que la déprotection sélective du *O*-benzylidène avec du TFA (90%) a donné le diol **34**, précurseur des composés monosulfatés **31** et **32**. La déprotection totale des 2 groupements protecteurs a donné le tétrol correspondant, précurseur des composés non sulfatés **27** et 6-*O* disulfatés **28**.

Les sulfatations régiosélectives en position 6 ont été réalisées avec 1,5 équivalents de $\text{Me}_3\text{N}.\text{SO}_3$ dans le DMF à 40°C suivies d'un échange d'ions (résine Na^+). Les sulfatations en position 4 ont d'abord impliqué la protection régiosélective du 6-OH, plus réactif, par du cyanure de benzoyle dans la pyridine puis une sulfatation avec 10 équivalents de $\text{Me}_3\text{N}.\text{SO}_3$ dans le DMF à 60°C. Une saponification avec de la soude 4M dans le MeOH a donné les composés cibles **27-32**.

En **2004**, **Thollas B. et Jacquinet J.-C.**³⁰ ont préparé différentes sulfoformes du trisaccharide de la zone de liaison **39**. Des formes monosulfatées sur les positions 4 ou 6 des Gal1 ou Gal2 **41-44**, ainsi qu'une forme disulfatées sur les positions 6 des Gal1 et Gal2 **40** ont été obtenues (Schéma II-7).

Les étapes clés ont consisté en la préparation du précurseur trisaccharidique **45** commun sur lequel les Gal1 et Gal2 ont été différenciés par l'introduction de groupements protecteurs orthogonaux (acétals 4-6-di-*tert*-butylsilylène et 4,6-benzylidène), respectivement, permettant d'effectuer, après déprotections sélectives, les différentes sulfatations menant aux composés désirés.

Le trisaccharide **45**, précurseur des trisaccharides cibles (**39-44**) a été obtenu après glycosylation de **46** et **47** avec 70% de rendement. Le disaccharide **47** a été préparé par glycosylation entre le donneur **48** et l'accepteur **37** suivie d'une délévulinoylation et d'une acétalation avec du triflate de di-*tert*-butylsilyle (DTBS diOTf) (33%).

Le trisaccharide **45** a alors été déprotégé sélectivement avec soit le complexe triéthylamine trihydrofluorure ($\text{Et}_3\text{N}.\text{3HF}$) pour donner le diol précurseur des composés **41** et **42**, soit avec le TFA (80%) pour donner le diol précurseur des composés **43** et **44**. Une déprotection des deux groupements donne le tétrol précurseur des composés **39** et **40**.

Comme pour la synthèse des disaccharides (schéma II-6), les composés 6-*O*-sulfatés ont été obtenus après sulfatation régiosélective tandis que les composés 4-*O*-sulfatés ont été obtenus par benzylation régiosélective suivie de sulfatation.

Une saponification donne alors les composés cibles **39-44** (entre 89% et 92% de rendement).

³⁰ Thollas B. ; Jacquinet J.-C. *Org. Biomol. Chem.* **2004**, 2, 434-442

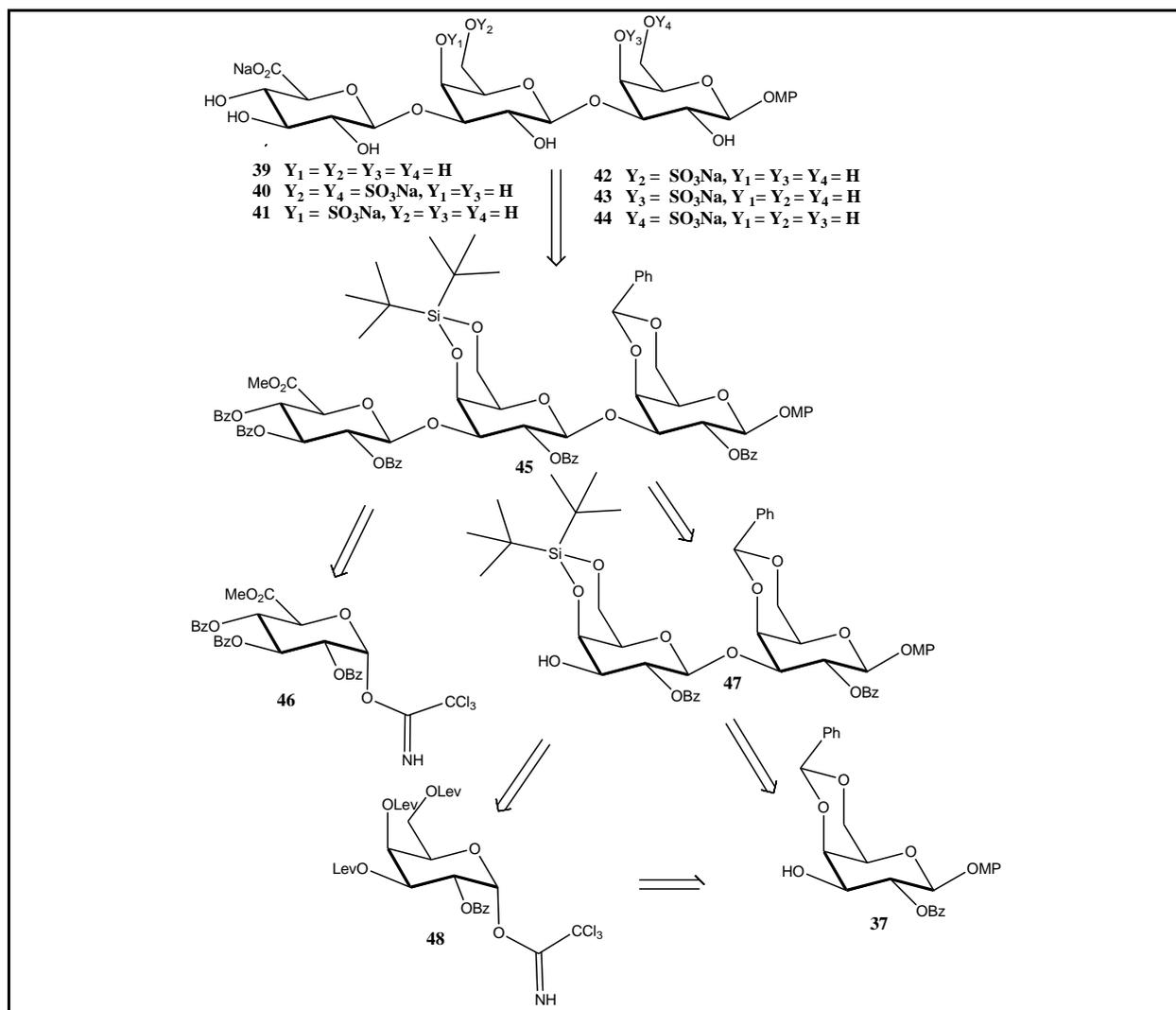


Schéma II-7

En 2006, **Jacquinet J.-C.**³¹ a publié la synthèse d'une série de 10 composés dérivés de la zone de liaison des PGs sulfatés et/ou phosphorylés comprenant un, deux ou trois sucres (D-Xyl-D-Gal1-D-Gal2) dans le but d'étudier l'importance biologique de ces substitutions sur les glycosyltransférases et leur spécificité de substrat. Tous les composés ont été préparés sous forme de glycosides liés au 7-méthoxy-2-naphtol (MN), utilisé comme marqueur fluorescent pour la détection de l'activité enzymatique (schémas II-8, 9 et 10).

Le monosaccharide non phosphorylé **49** a été obtenu directement à partir de **51** par simple transestérification (94%) (schéma II-8). L'analogue phosphorylé **50** a, pour sa part, été synthétisé par hydrogénation catalytique du dérivé 3,4-isopropylidène phosphorylé **54** (80%), lui-même obtenu après phosphorylation de **53**, sous-produit minoritaire obtenu en marge du 2,3-isopropylidène **52** lors de l'acétalation du triol **49**. Le xyloside **52** servira, quant à lui, d'accepteur lors de la synthèse des di- et trisaccharides.

³¹ Jacquinet J.-C. *Carbohydr. Res.* **2006**, *341*, 1630-1644

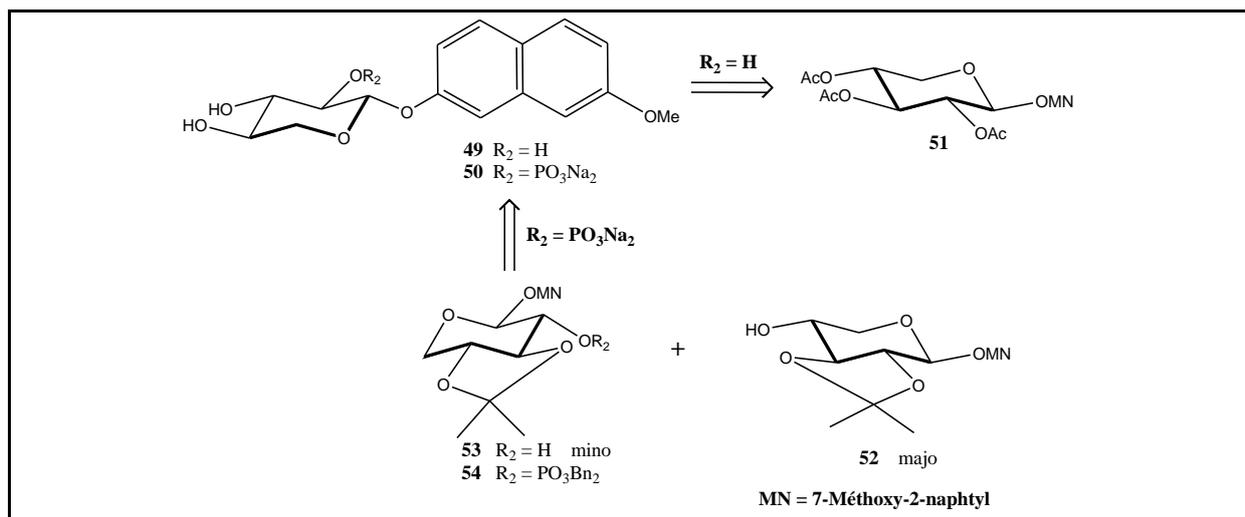


Schéma II- 8

La préparation des disaccharides **55-58** (schéma II-9) a requis la préparation du disaccharide commun **59** possédant un groupement lévulinoyle en 6 du D-Gal. Ce dernier a été obtenu à partir du dérivé D-galactosyle activé **60** glycosylé avec l'alcool **52** en présence de TMSOTf suivie d'une hydrolyse acide du groupement acétal 2,3-isopropylidène (71%).

A partir de cet intermédiaire **59**, le composé **55** (non phosphorylé et non sulfaté) a été obtenu après hydrazinolyse du groupement lévulinique suivie d'une transestérification avec du MeONa (83%). Le composé **57** (6-O-sulfaté) a, quant à lui, été obtenu après déprotection du groupement lévulinoyle suivie d'une sulfatation avec du $Me_3N.SO_3$ dans le DMF à 60°C et d'une saponification avec de la soude 4M (73%). Le composé **56** (phosphorylé) a été obtenu après la formation d'un acétal 2,3-dibutylstannylène traité par de l'anhydride acétique puis phosphorylation de la position 2 libre du xyloside et déprotection totale (48%). Afin d'accéder au composé **58**, phosphorylé et sulfaté, une phosphorylation en 2 suivie d'une sulfatation en 6 et d'une déprotection totale ont été nécessaires (45%).

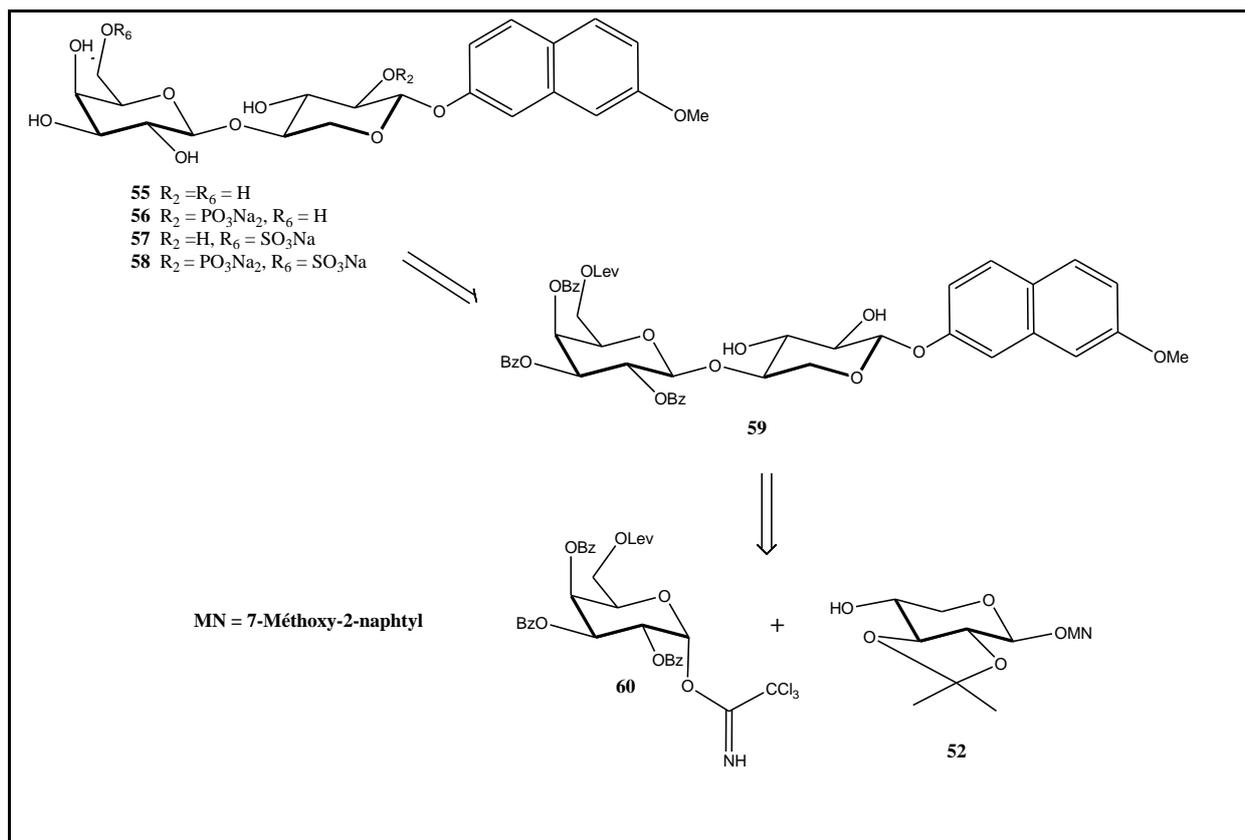


Schéma II- 9

La préparation des trisaccharides cibles **61-64** (schéma II-10) a impliqué la synthèse du précurseur trisaccharidique commun **65** possédant également un groupement lévulinoyle en 6 du D-Gall. Celui-ci a été obtenu par glycosylation de **66** et **52** suivie d'une hydrolyse de l'acétal isopropylidène (74%). L'acétimidate **66** provient, quant à lui, des précurseurs clé **67** et **68**. Enfin, avec les mêmes procédures que pour les disaccharides **55-58** (schéma II-9), les composés cibles **61**, **62**, **63** et **64** ont été obtenus avec 82%, 72%, 69% et 57%, respectivement.

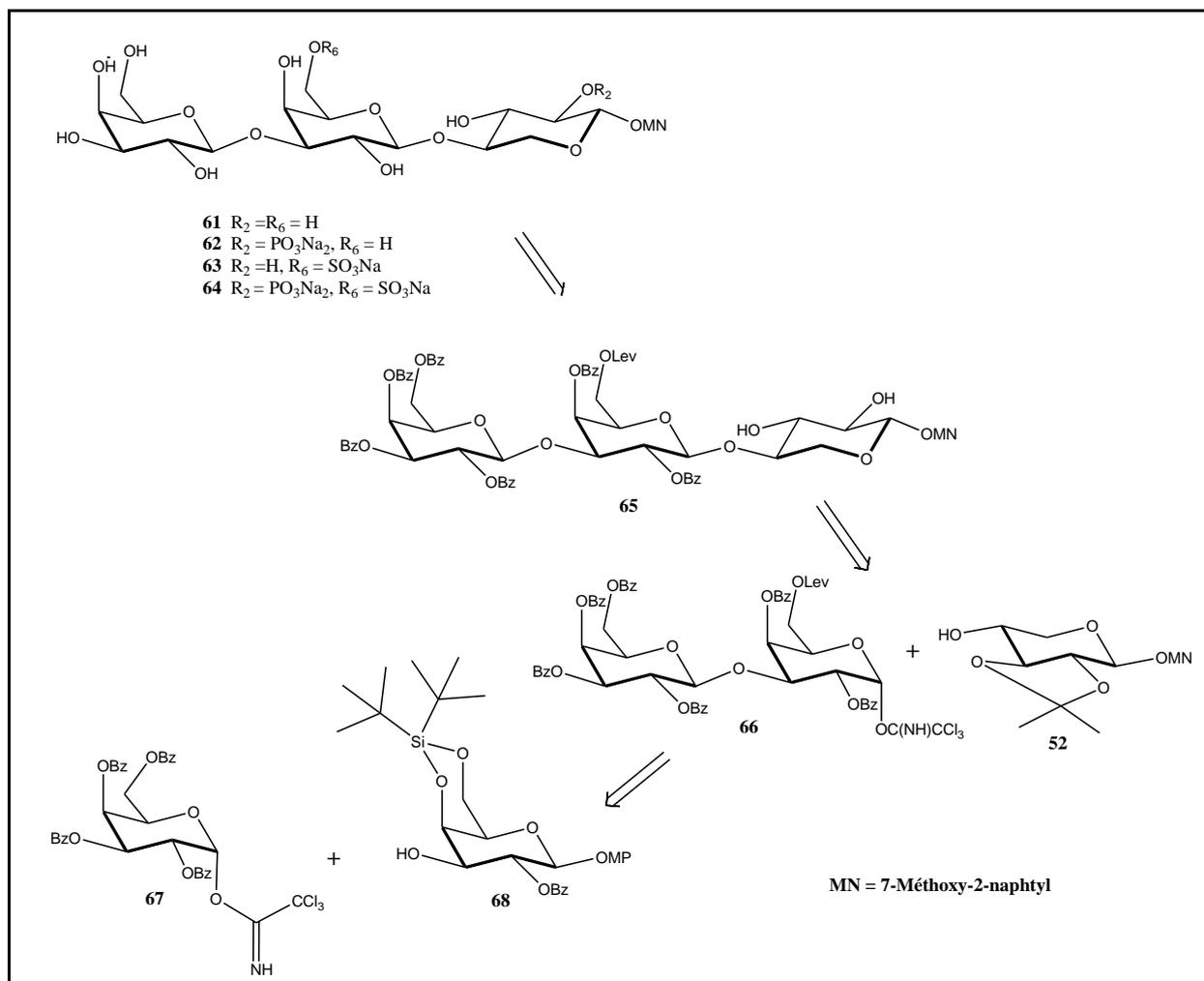


Schéma II- 10

II-2 ZONE DE LIAISON LIEE A DES PEPTIDES.

La partie peptidique des PGs se compose principalement d'une séquence de résidus L-sérine et glycine alternés le long de la chaîne peptidique. Certains résidus L-sérine sont liés de façon O-covalente au résidu D-xylose de la zone de liaison tétrasaccharidique des PGs. Le nombre de résidus sérine substitués n'est pas encore bien déterminé (environ 2/3 pour les héparines et bien moins pour les CSs). Pour ce faire, la synthèse chimique de ces composés semble être une alternative évidente.

Dans ce but, la synthèse de différents fragments peptidiques glycosylés de la zone de des PGs a été entreprise par **Rio S. et al. en 1991**.³² Leur stratégie a consisté à préparer un bloc disaccharidique activé **71** utilisé comme donneur glycosyle pour les condensations ultérieures avec les dipeptides L-séryl-glycine **74-81**, adéquatement protégés (Schéma II-11).

³² Rio S. ; Beau J.-M. ; Jacquinet J.-C. *Carbohydr. Res.* **1991**, 219, 71-90

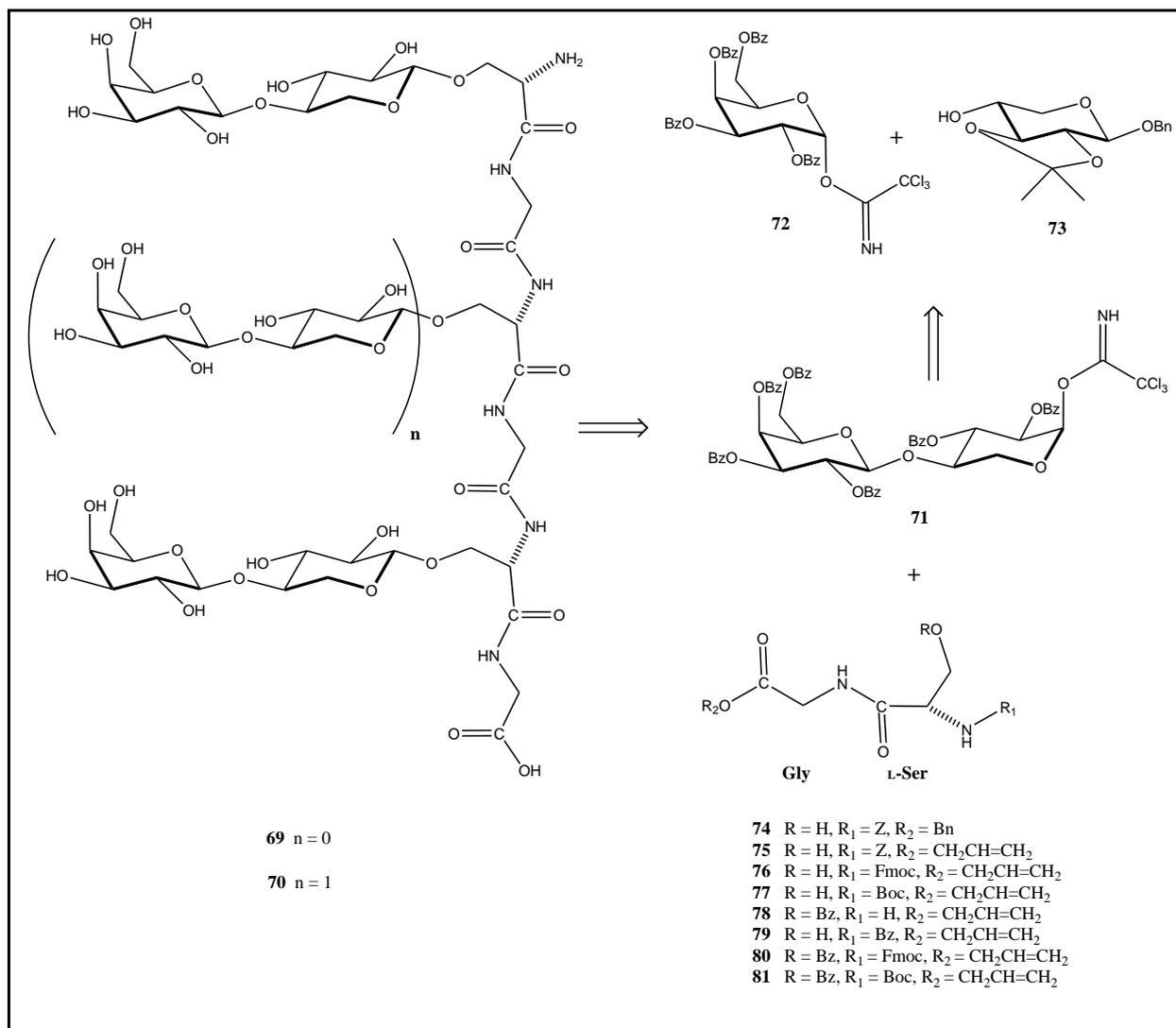


Schéma II- 11

Les groupements protecteurs des dipetides (**74-81**) ont été choisis de façon à être clivables dans des conditions n'affectant pas les groupements protecteurs du disaccharide utilisé (ni acides, ni basiques). Ainsi, le benzyloxycarbonyle (Z) a été choisi comme groupement permanent, déprotégé par hydrogénation catalytique. Le Fmoc a été utilisé comme groupement temporaire des fonctions amines, déprotégé par la morpholine, base faible. Le groupement allyle a été utilisé comme groupement temporaire des fonctions carboxyles, déprotégé par réaction palladocatalysées dans des conditions neutres.

La glycosylation du disaccharide donneur **71** (obtenu à partir de **72** et **73**, 36%) avec les peptides accepteurs **74-81** (eux-mêmes synthétisés dans des conditions standards avec du DCC et du HOBt), a été réalisée à -20°C dans le chloroforme en présence de TMSOTf pour donner les glycopeptides correspondants avec de très bons rendements ($>90\%$). Le disaccharide dipeptide formé avec **74** a été complètement déprotégé (90%). Les autres glycopeptides ont été utilisés pour l'élongation de chaîne soit en C- ou en N- terminal permettant les couplages de ces extrémités et l'obtention, après une déallylation suivie d'une déprotection totale par hydrogénation catalytique et d'un traitement à l'hydrazine

méthanolique, de l'oligopeptide cible partiellement substitué **69** (81%) et de l'oligopeptide cible complètement substitué **70** (80%).

Dans la même optique, en **1993**, la même équipe³³ a rapporté la synthèse totale d'un trisaccharide-dipeptide **82**, d'un tétrasaccharide dipeptide **83** ainsi que d'un octasaccharide hexapeptide **84**, plus complexe (Schéma II-12).

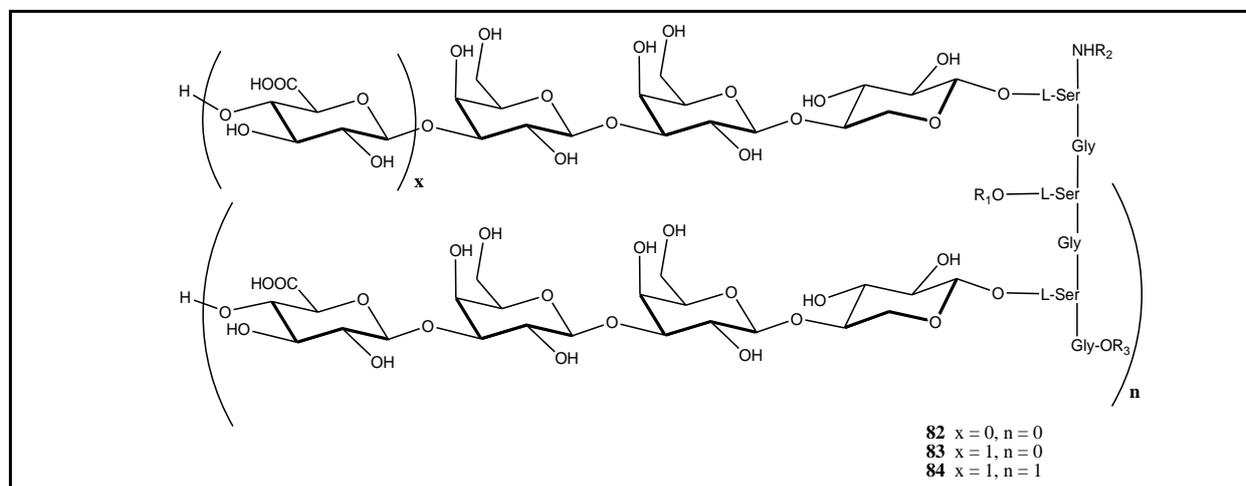


Schéma II- 12

La stratégie a consisté en la préparation de donneurs tri- et tétrasaccharidiques qui ont été glycosylés avec des accepteurs dipeptides L-sérylglycine convenablement protégés (schémas II-13 et 14), comme décrit en 1991 par la même équipe.

Afin de préparer le trisaccharide dipeptide **82** (schéma II-13), il a été nécessaire de construire le bloc trisaccharidique **86** par additions successives de monosaccharides en partant de l'extrémité non réductrice. Dans un premier temps, la glycosylation des précurseurs **67** et **88** suivie d'une hydrogénation catalytique et d'une activation en acétimide a donné **87** (88%). Une condensation de ce dernier avec **73** en présence de TMSOTf dans le toluène à -20°C puis une hydrolyse acide douce du groupement *O*-isopropylidène suivie d'une benzoylation classique ont donné le trisaccharide désiré, qui a ensuite été activé en acétimide **86** (74%). La glycosylation de ce dernier avec le dipeptide accepteur **85a** en présence de TMSOTf suivie d'une déprotection finale par hydrogénation catalytique avec du Pd/C ont donné le composé cible **82** (82%).

³³ Rio S. ; Beau J.-M. ; Jacquinet J.-C. *Carbohydr. Res.* **1993**, 244, 295-313

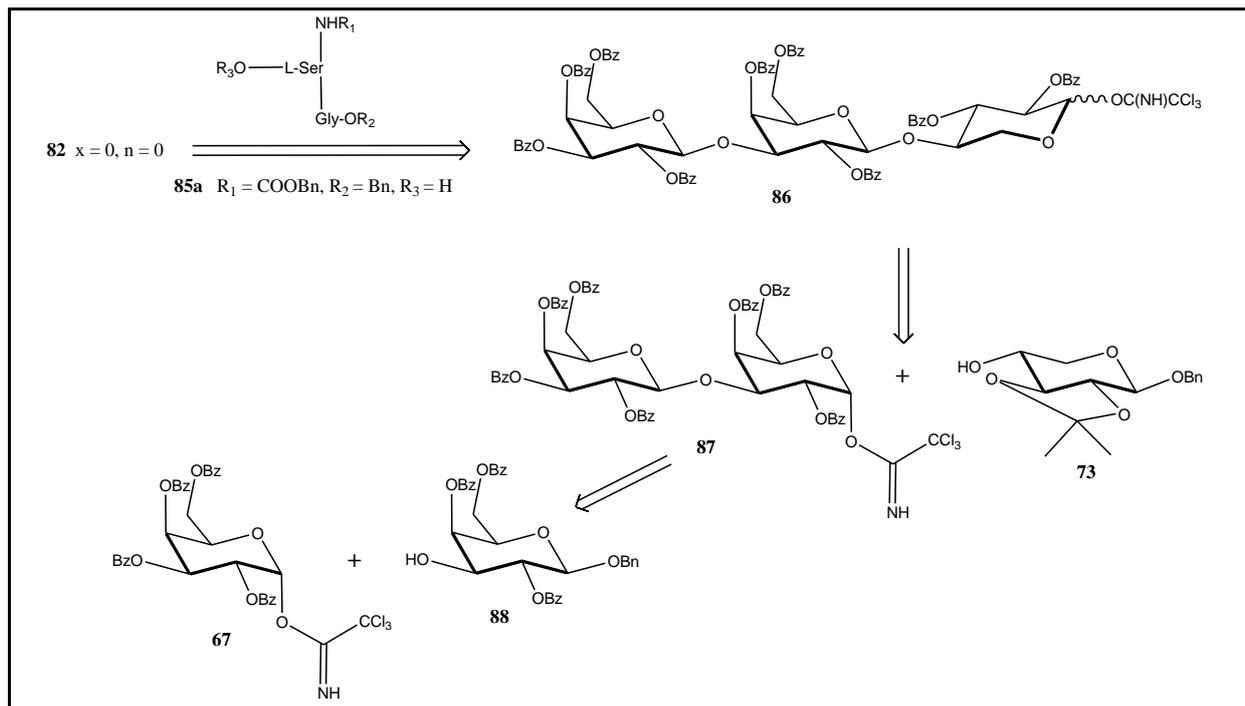


Schéma II- 13

Afin d'accéder aux composés cibles **83** et **84** (schéma II-14), la préparation du précurseur tétrasaccharidique donneur **90** a été nécessaire. Celui-ci a été préparé par addition successive des monosaccharides (**92**, **93**, **88** et **73**) en partant de l'extrémité non réductrice. Le disaccharide **91** a été obtenu à partir du donneur **92** et de l'accepteur **93**. Puis, dans la même logique et dans les mêmes conditions que pour la construction du trisaccharide **86**, l'ajout successif des accepteurs **88** puis **73** a mené à la formation du donneur désiré **90** (46%).

Le couplage entre **90** et le dipeptide **85a** en présence de TMSOTf a donné le glycopeptide **89a** (90%) qui, après une déprotection totale a donné le composé cible **83** (50%).

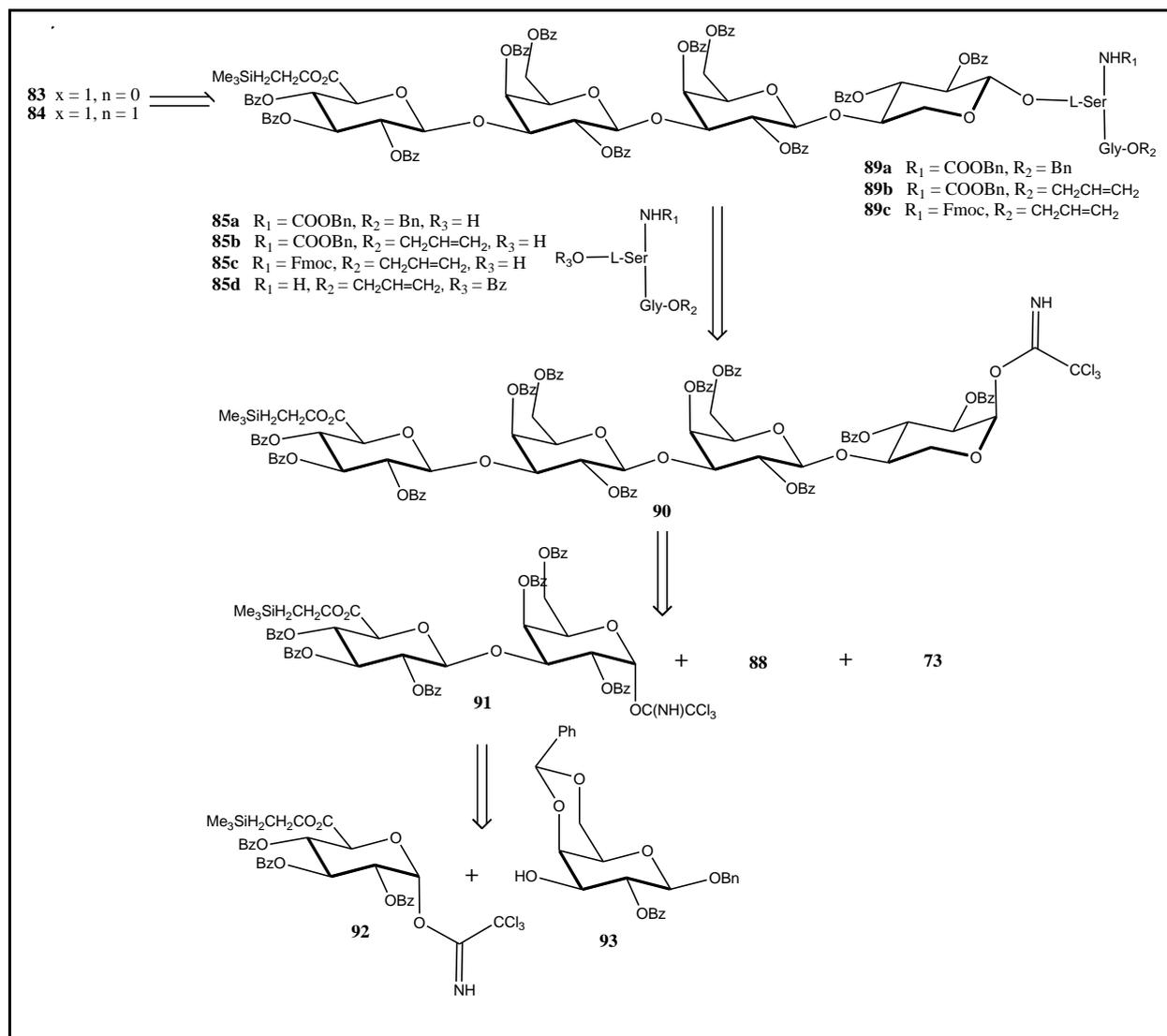


Schéma II- 14

Afin d'obtenir le dernier composé cible **84** (schéma II-14), il a d'abord fallu coupler le tétrasaccharide donneur **90** avec les dipeptides **85b** et **85c** donnant ainsi les tétrasaccharides dipeptides **89b** (92%) et **89c** (82%). Puis, les couplages successifs de **89b** avec le dipeptide **85d** puis avec le tétrasaccharide dipeptide **89c** ont donné l'octasaccharide-hexapeptide correspondant qui après déprotection totale a donné le composé cible **84** (61%).

Toujours, dans la même optique, en 1994, la même équipe³⁴ s'est intéressée à la synthèse de tétrasaccharides dipeptides de la zone de liaison comportant soit, un groupement phosphorylé en 2 sur le D-xylose, soit un groupement sulfaté en 4 sur la deuxième unité galactose (Gal2) (Schémas II-15 et II-16).

³⁴ Rio S. ; Beau J.-M. ; Jacquinet J.-C. *Carbohydr. Res.* **1994**, 255, 103-124

Afin d'accéder au tétrasaccharide dipeptide 4-*O* sulfaté sur l'unité Gal2 **94** (Schéma II-15), une stratégie similaire à celle employée en 1993 pour la synthèse de l'analogue non sulfaté **83** a été réalisée. Cette fois-ci, les auteurs ont synthétisé le bloc tétrasaccharidique donneur **96** (à partir des précurseurs clés **98**, **88** et **73**) possédant un groupement temporaire chloroacétyle en 4 du Gal2 pour la sulfatation ultérieure.

Une condensation de ce tétrasaccharide chloroacétylé avec le dipeptide *L*-sérylglycine convenablement protégé **97** puis une déchloroacétylation de la position 4 a permis la sulfatation de cette position avec le complexe sulfure trioxyde-triméthylamine ($\text{SO}_3\cdot\text{NMe}_3$). Le composé cible **94** a ensuite été obtenu après une déprotection totale.

Il est à noter qu'en 1992, Goto et Ogawa³⁵ ont publié la synthèse d'un mono-peptide tétrasaccharide 4-*O* sulfaté similaire avec comme partie peptidique le résidu *L*-sérine, en utilisant la même stratégie de synthèse (préparation du tétrasaccharide donneur par addition successive de monosaccharides en partant de l'extrémité non réductrice puis couplage avec la partie peptidique, sulfatation et déprotection), la différence résidait dans la nature des groupements protecteurs.

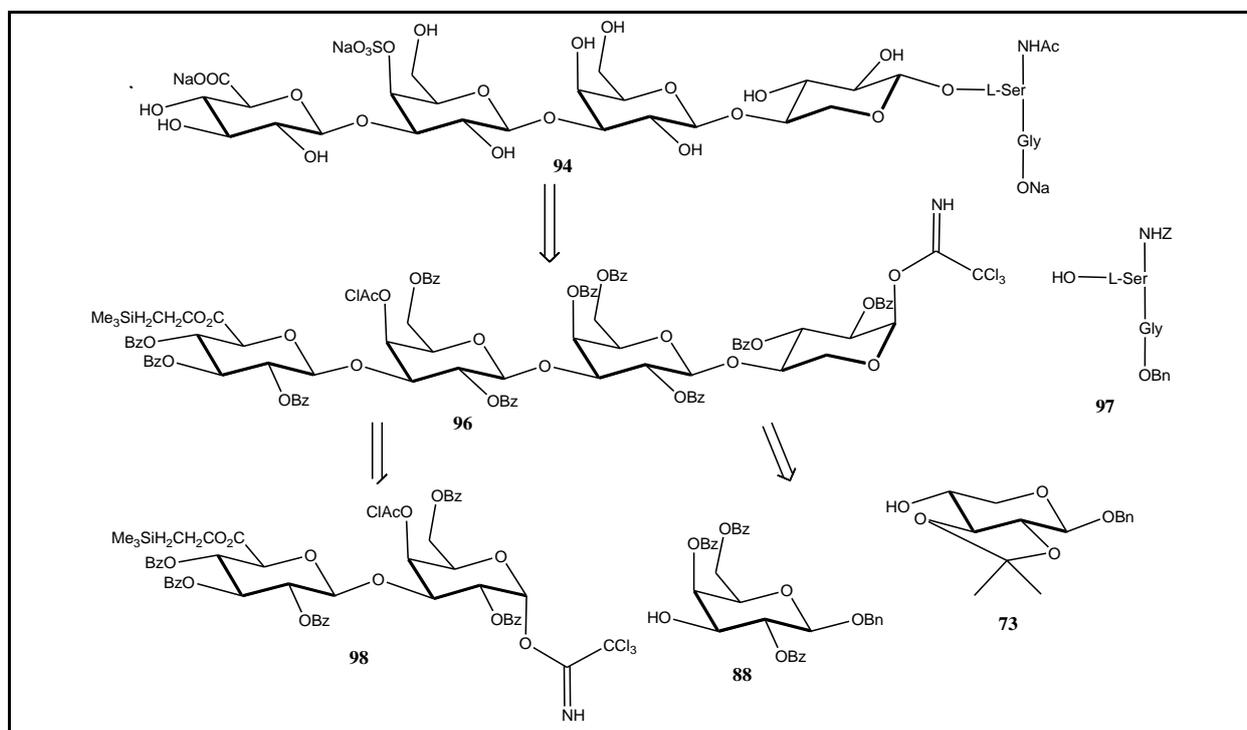


Schéma II- 15

Le tétrasaccharide dipeptide phosphorylé **95** (Schéma II-16) a été synthétisé avec une stratégie différente puisque, contrairement aux synthèses précédentes, le dipeptide est introduit dès le début de la synthèse *via* le synthon **101** protégé en 2,3 par un acétal isopropylidène. Ainsi, le tétrasaccharide phosphorylé **99** a été construit à partir des précurseurs **100**, **88** et **101** en partant de l'extrémité non réductrice. L'hydrolyse acide de

³⁵ Goto F.; Ogawa T. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 5099-5102

l'acétal isopropyldène, l'acétylation régiosélective en 3 suivie de la phosphorylation en 2 et d'une déprotection totale ont ensuite donné le composé cible désiré **95**.

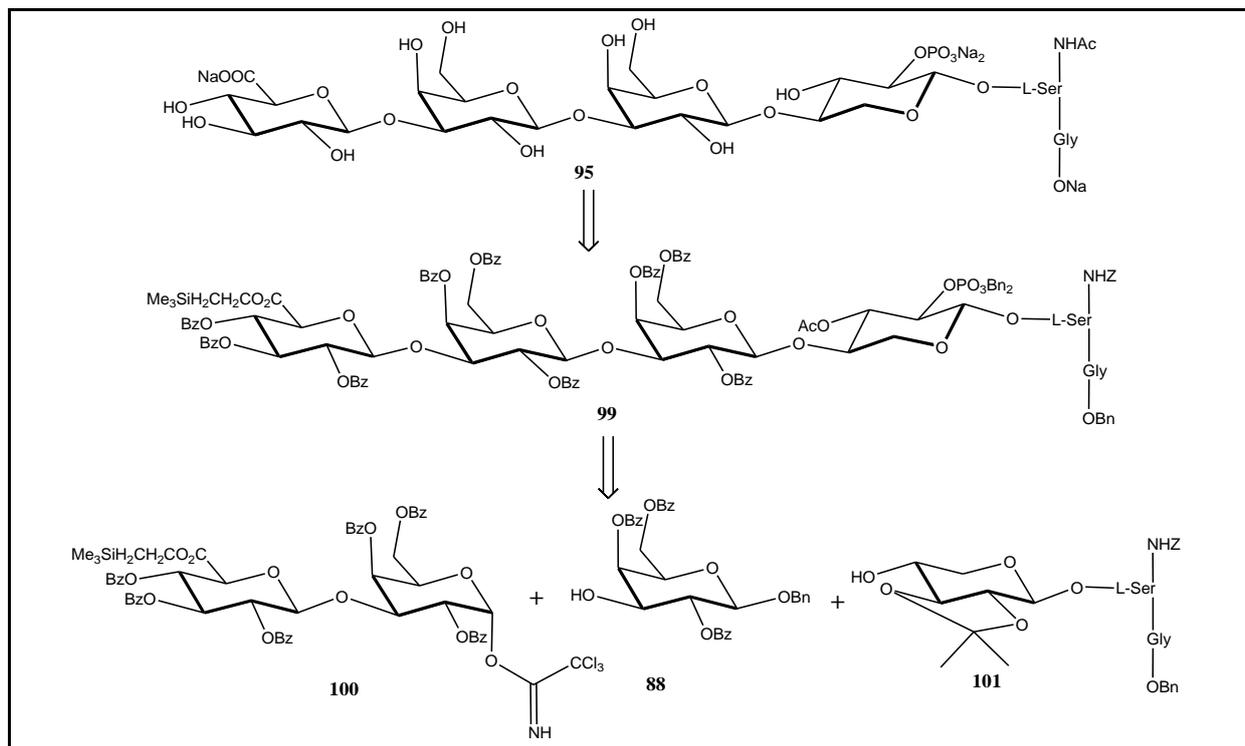


Schéma II- 16

En 1995, Neumann et al.³⁶ ont publié la synthèse d'un tétrasaccharide-térapeptide **102** (Schéma II-17) à partir du térapeptide protégé **103** et des tétrasaccharides donneurs **104a** et **104b**. Ces derniers ont été obtenus par glycosylations successives des monosaccharides clés **107**, **106** et **105a** ou **105b** en partant de l'extrémité réductrice.

La partie peptidique **103** a ensuite été ajoutée en dernier par glycosylation. Une déprotection totale a alors donné le tétrasaccharide dipeptide cible **102**.

³⁶ Neumann K. W.; Tamura J.-I.; Ogawa T. *Bioorg. Med. Chem.* **1995**, 3, 1637-1650

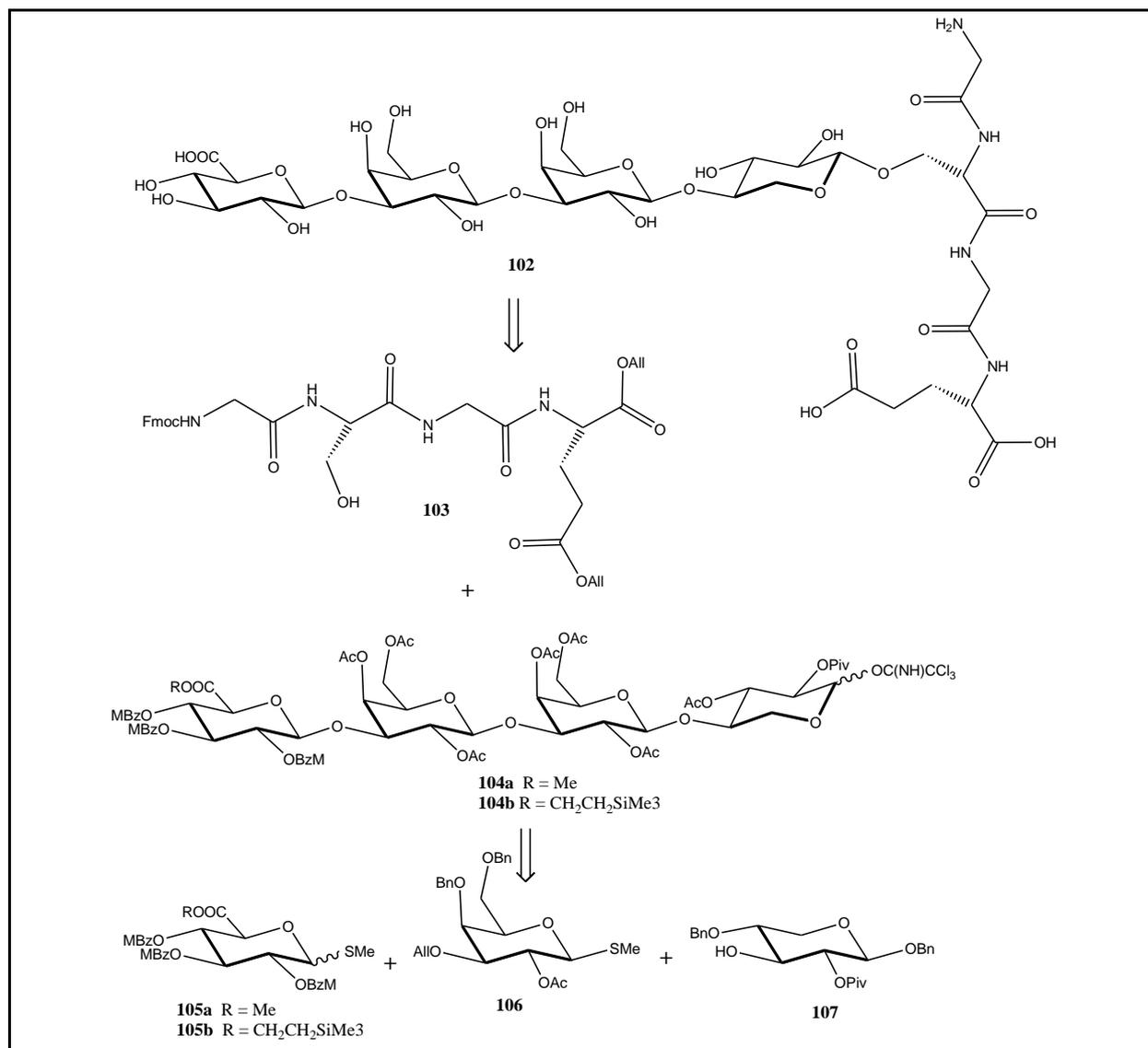


Schéma II- 17

En 1999, Allen J. G. et Fraser-Reid B.³⁷ ont synthétisé un tétrasaccharide L-sérine protégé de la zone de liaison **108**. Leur stratégie s'est basée sur la construction de blocs disaccharidiques clés **110** et **111** et leur synthèse est basée sur la chimie des *n*-pentenyl glycosides (Schéma II-18).

Ainsi, le bloc disaccharidique **110** a été construit à partir du donneur **112** et de l'accepteur *n*-pentenyl D-galactosyle **113a** en présence de TESOTf. Le bloc disaccharidique **111** a, quant à lui, été obtenu par glycosylation entre le donneur *n*-pentenyl D-galactosyle **113b** et l'accepteur *n*-pentenyl D-xylosyle **114** en présence de NIS-TESOTf. Une glycosylation 2+2 a ensuite été réalisée entre **110** et **111** déchloroacétylé puis, une

³⁷ Allen J. G.; Fraser-Reid B. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 468-469

débromation réductrice douce avec un excès d'iodure de sodium (NaI) dans la méthyléthylcétone (MEK) a permis l'activation du *n*-pentenyl qui a alors pu être couplé au résidu L-sérine accepteur protégé **109** pour donner le composé final **108** avec un rendement de 80%.

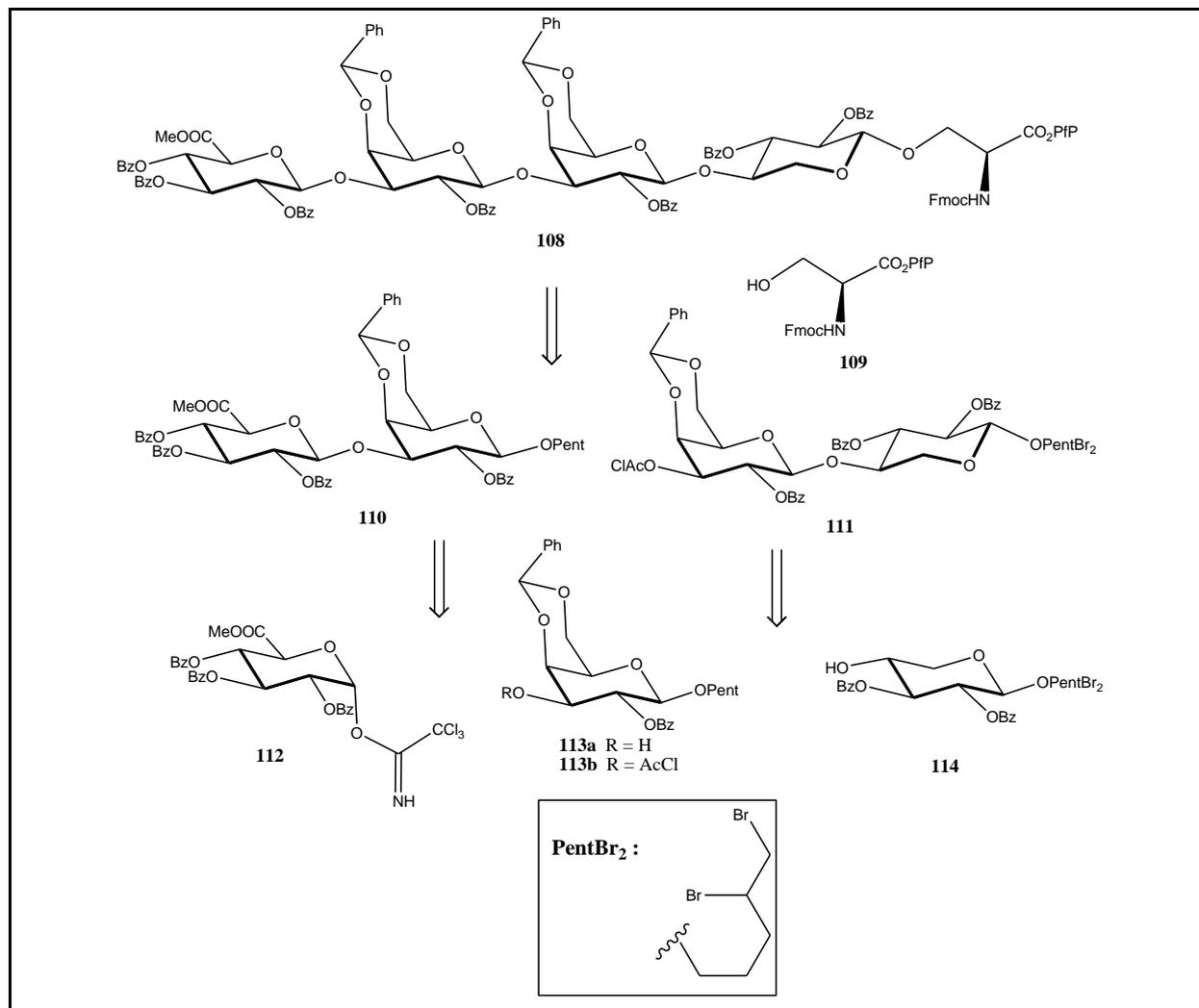


Schéma II- 18

En 1999, Tamura J.-I. et Nishihara J.³⁸ ont rapporté pour la première fois la synthèse de composés glycosylsérines mono- et disaccharidiques de la zone de liaison phosphorylés avec ou sans groupements sulfates **115**, **116** et **117**, dans le but de comprendre les mécanismes biochimiques de l'élongation des GAGs (Schéma II-19). Dans leur stratégie de synthèse, la liaison Ser-Xyl est formée avant l'élongation de la chaîne glycanique par un résidu galactosyle.

³⁸ Tamura J.-I.; Nishihara J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, 9, 1911-1914

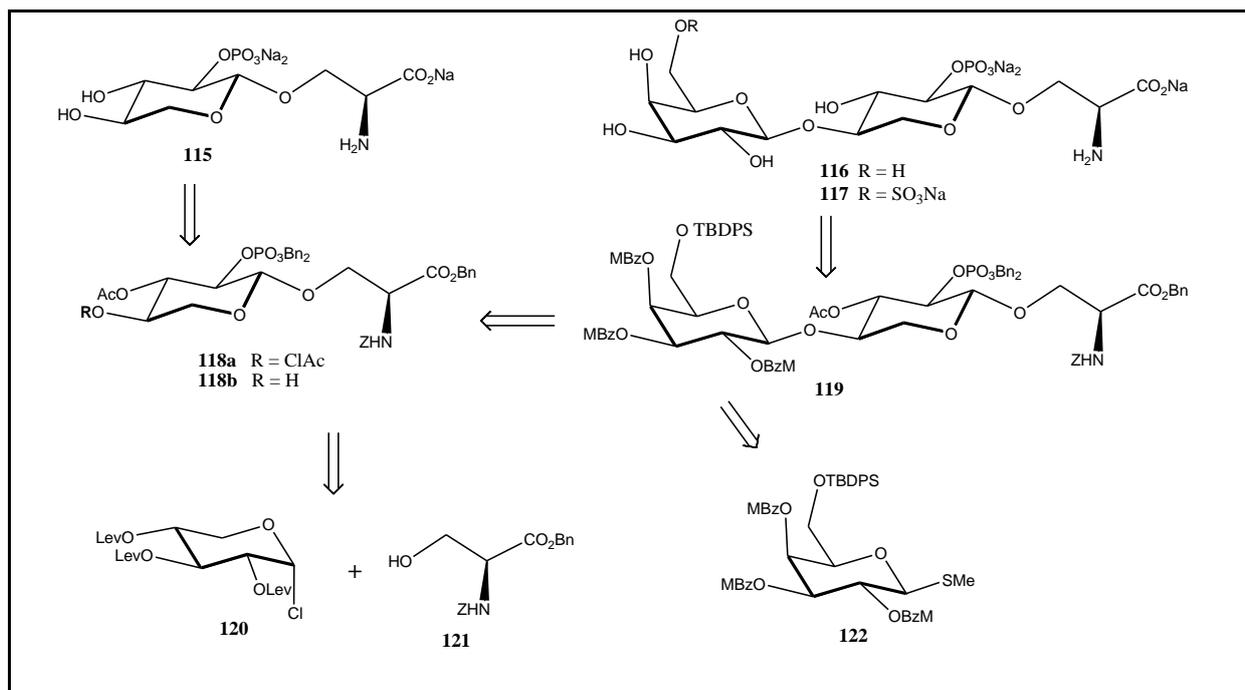


Schéma II- 19

Le glycopeptide **115** a été obtenu par déprotection du composé **118a**. Celui-ci est issu du couplage entre le donneur **120** et le benzyle ester N-Z-sérine **121** en présence de triflate d'argent (AgOTf). Le précurseur **118a** a ensuite été obtenu après délévulinoylation, chloroacétylation régiosélective en 4, acétylation régiosélective en 3 en présence de chlorure d'acétyle, phosphorylation en présence de dibenzyl *N,N*-diisopropylphosphoramidite et oxydation avec le mCPBA. Une hydrogénéolyse (Pd/C) et une saponification ont alors fourni composé cible **115**.

Afin d'allonger la chaîne glycanique et obtenir les peptides disaccharides **116** et **117**, le composé **118a** a été déchloroacétylé pour donner l'accepteur **118b** avec 88% de rendement. Une glycosylation de ce dernier avec **122** en présence de NIS-TfOH a donné le β -disaccharide désiré **119** avec 52% de rendement mais également 18% de son isomère α . Le composé **119** a ensuite été désilylé puis soit directement déprotégé pour donner le composé cible phosphorylé **116** soit d'abord, sulfaté en 6 avec du $\text{Me}_3\text{N}.\text{SO}_3$, puis déprotégé totalement pour donner le composé cible phosphorylé et sulfaté **117**.

En 2001, Tamura J.-I. et Nishihara J.³⁹ ont complété leur travail décrit en 1999 en synthétisant des glycopeptides L-sérine trisaccharidiques de la zone de liaison portant des groupements phosphates et sulfates sur l'un ou l'autre des Gal, **123-125** (Schéma II-20 et II-21). Le but était de comprendre les mécanismes biochimiques de l'élongation de la chaîne glycanique des PGs.

³⁹ Tamura J.-I. ; Nishihara J. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 3074-3083

Les trisaccharides cibles **123** (phosphorylé) et **124** (phosphorylé et sulfaté sur Gal2) (schéma II-19) ont été obtenus à partir du trisaccharide commun **126**. D'abord, le D-xylosyle sérine **118a** (portant déjà la partie peptidique) synthétisé précédemment (schéma II-19) a été glycosylé avec le D-galactosyle **128** pour donner le β -disaccharide désiré **127a** avec 37% de rendement mais également 41% de disaccharide α . Cette glycosylation peu stéréosélective est probablement due à l'encombrement stérique de l'acétal benzylidène gênant la face β du donneur.

Une déallylation de **127a** a permis de libérer l'accepteur **127b** qui a pu être glycosylé avec le donneur D-galactosyle **122** donnant un mélange α/β inséparables à ce niveau. Les deux isomères ont tout de même pu être séparés après désilylation de la position 6 et le trisaccharide désiré **126** a été isolé avec 31% de rendement sur les 2 étapes. Ensuite, ce dernier a été soit déprotégé complètement pour donner le composé cible **123** soit d'abord sulfaté puis déprotégé pour donner le composé cible **124**.

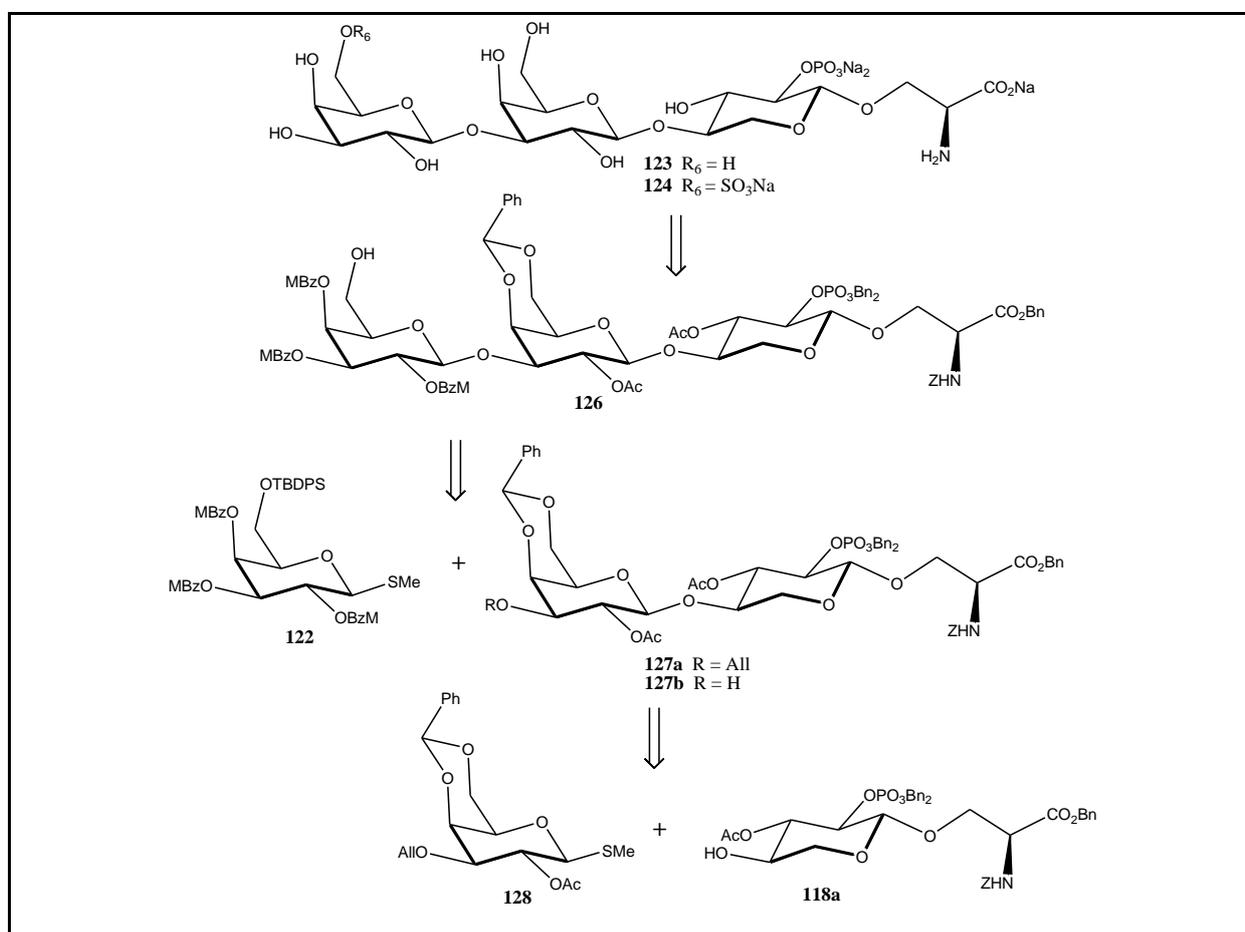


Schéma II- 20

En ce qui concerne la synthèse du trisaccharide **125** (phosphorylé et sulfaté sur Gal1), la stratégie élaborée était différente (schéma II-21). En effet, les auteurs ont d'abord construit un bloc digalactosyle donneur **130** portant un groupement orthogonal en C-6 du Gal1 (obtenu à partir de **131** et **132**) puis une glycosylation avec l'accepteur **136a** a donné le β -trisaccharide désiré **129** (17% en tout). Celui-ci a ensuite subi la même série de réactions que pour le composé cible **124** pour donner le composé cible **125** avec 49% de rendement.

La difficulté rencontrée dans cette synthèse a été la formation de mélanges α/β à chaque étape de glycosylation. Seuls les stéréoisomères β ont été engagés dans les étapes ultérieures de cette synthèse.

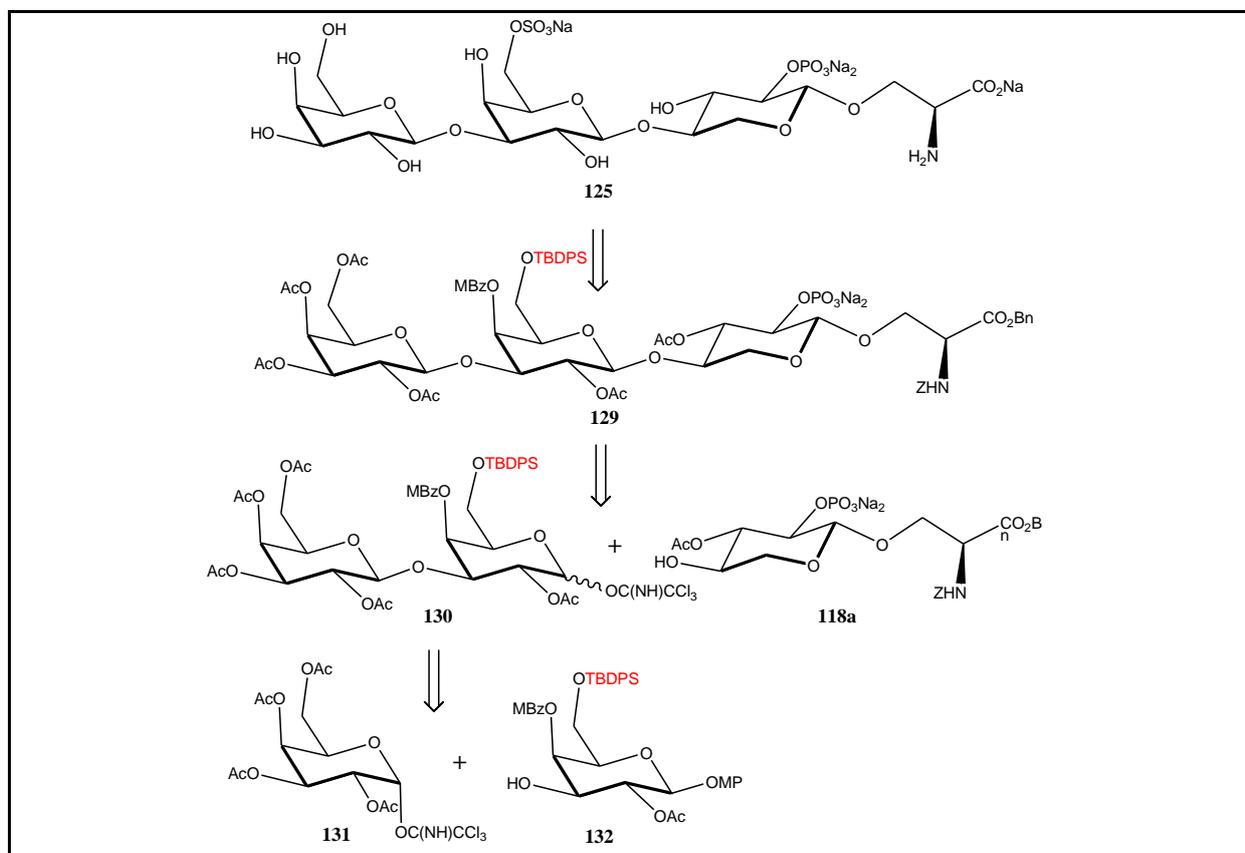


Schéma II- 21

En 2002, Tamura J.-I. et *al.*⁴⁰ ont publié la première synthèse du tétrasaccharide hexapeptide **133** (Schéma II-22). Leur démarche était motivée par le fait que la biosynthèse des GAGs et plus particulièrement les héparanes sulfates (HS) pouvait être influencée par la nature des acides aminés reliés au résidu sérine du squelette peptidique des PGs sur lequel est liée de façon covalente par une liaison *O*-glycosidique, le résidu D-xylose. Des résidus hydrophobes semblent d'ailleurs favoriser cette biosynthèse en faveur des HS.

L'analyse rétrosynthétique du composé cible **133** le divise en 3 parties (schéma II-22) : le glycane (zone de liaison), le L-sérylglycine et le térapeptide.

⁴⁰ Tamura J.-I. ; Yamaguchi A. ; Tanaka J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 1901-1903

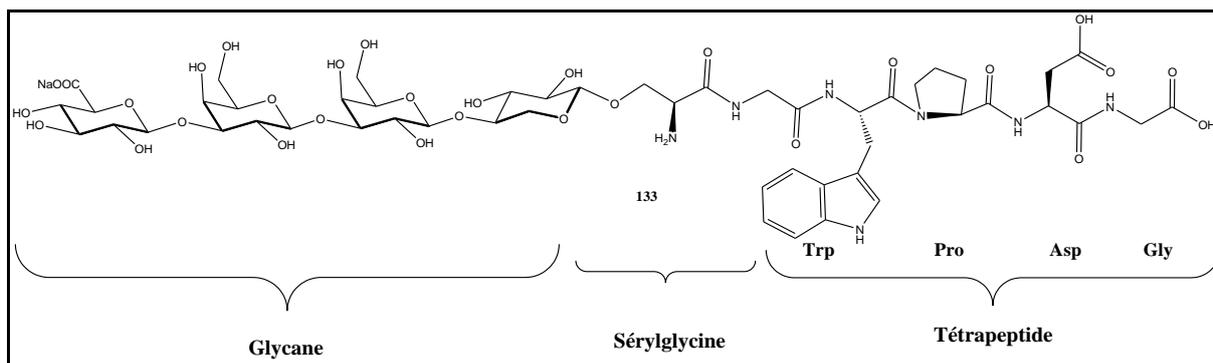


Schéma II- 22

La partie glycane (schéma II-23) est issue du tétrasaccharide donneur **134** dont la synthèse a débuté par le couplage des précurseurs **138** et **139** en présence de TMSOTf à -20°C . Une déprotection de l'isopropylidène suivie d'une protection avec du chlorure de méthylbenzoyle et d'une déallylation a conduit à l'accepteur **137** (49%) qui a alors été glycosylé avec le même donneur D-galactosyle **138**, puis, dé-allylé dans les mêmes conditions pour donner le trisaccharide désiré **136** (73%). Ce dernier a alors pu être couplé au donneur glucuronique **135** pour donner le tétrasaccharide correspondant avec 31% de rendement. Une activation par trichloroacétimidoylation a alors fourni le donneur cible **134** (79% sur les 2 étapes).

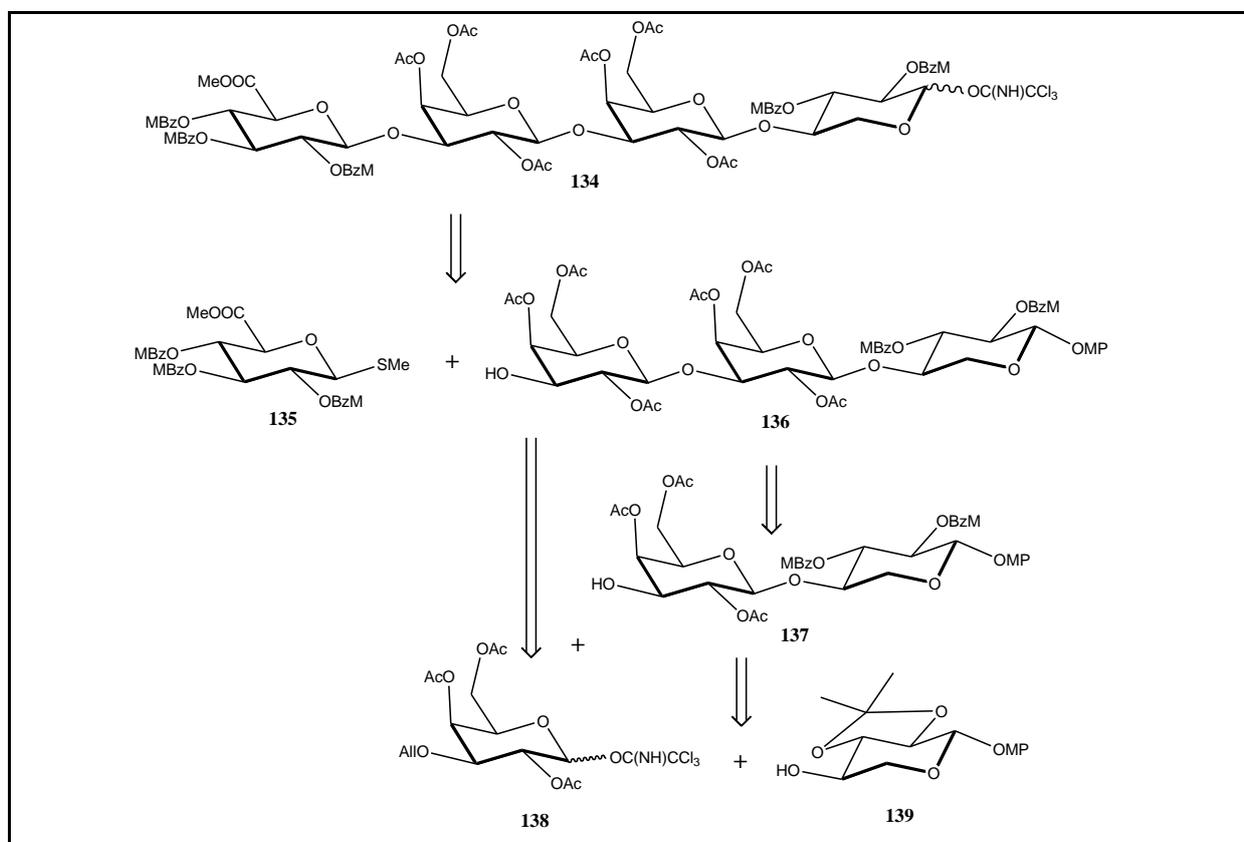


Schéma II- 23

La synthèse de la partie peptidique, sérylglycine et térapeptide **142** et **140**, respectivement, a été réalisée dans des conditions classiques de couplage peptidique en partant de dérivés d'acides aminés commerciaux ou décrits.

La glycosylation de l'accepteur L-sérylglycine adéquatement protégé **142** avec le donneur tétrasaccharidique **134** en présence de TMSOTf à -20°C (schéma II-24) a donné le tétrasaccharide dipeptide **141** avec 72% de rendement, puis une déallylation de ce dernier suivie d'un couplage peptidique avec le térapeptide (Trp-Pro-Asp-Gly) convenablement protégé **140** a fourni le composé glycoside hexapeptide protégé (63%). Finalement, une déprotection des groupements *tert*-Bu et Boc suivie d'une saponification avec du méthanolate de sodium a donné le composé cible **133** avec 91% de rendement sur les 2 étapes.

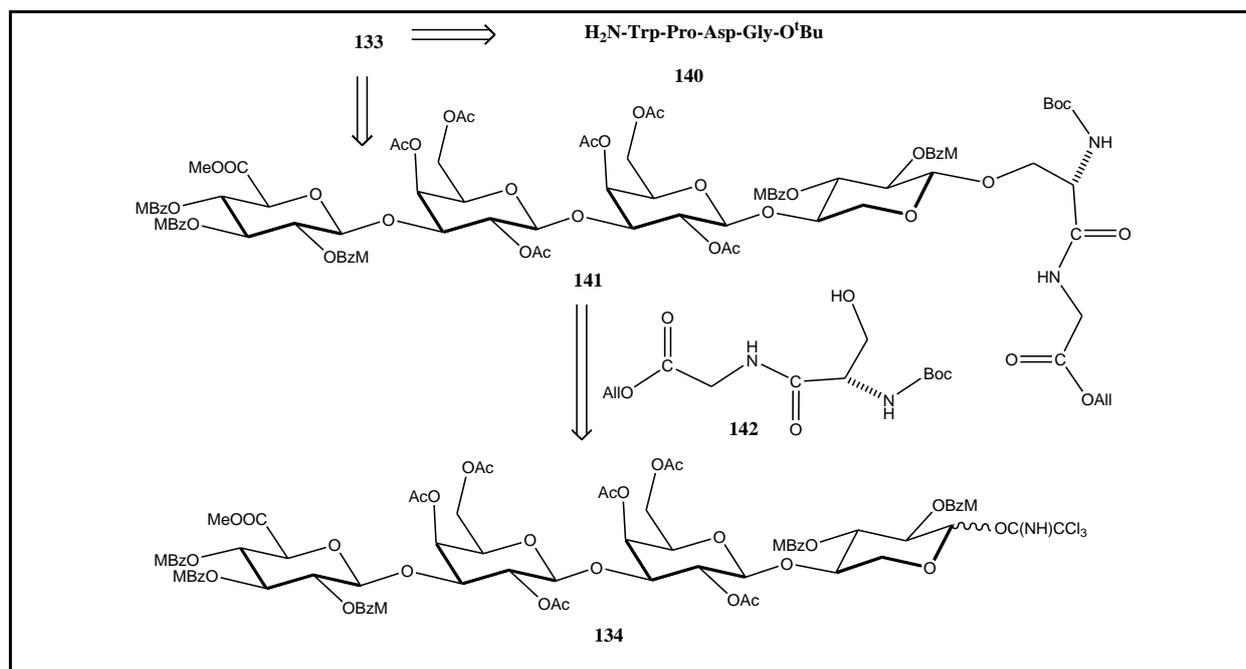


Schéma II- 24

Toujours, dans l'optique d'étudier l'influence du squelette peptidique sur la biosynthèse des GAGS, **Tamura J.-I. et al.** ont publié en 2010⁴¹ la synthèse du tétrasaccharide de la zone de liaison non sulfaté et déprotégé relié à trois peptides de longueurs différentes **143-145** (Schéma II-25).

⁴¹ Tamura J.-I.; Nakamura-Yamamoto T.; Nishimura Y.; Mizumoto S.; Takahashi J.; Sugahara K.. *Carbohydr. Res.* **2010**, *345*, 2115-2123

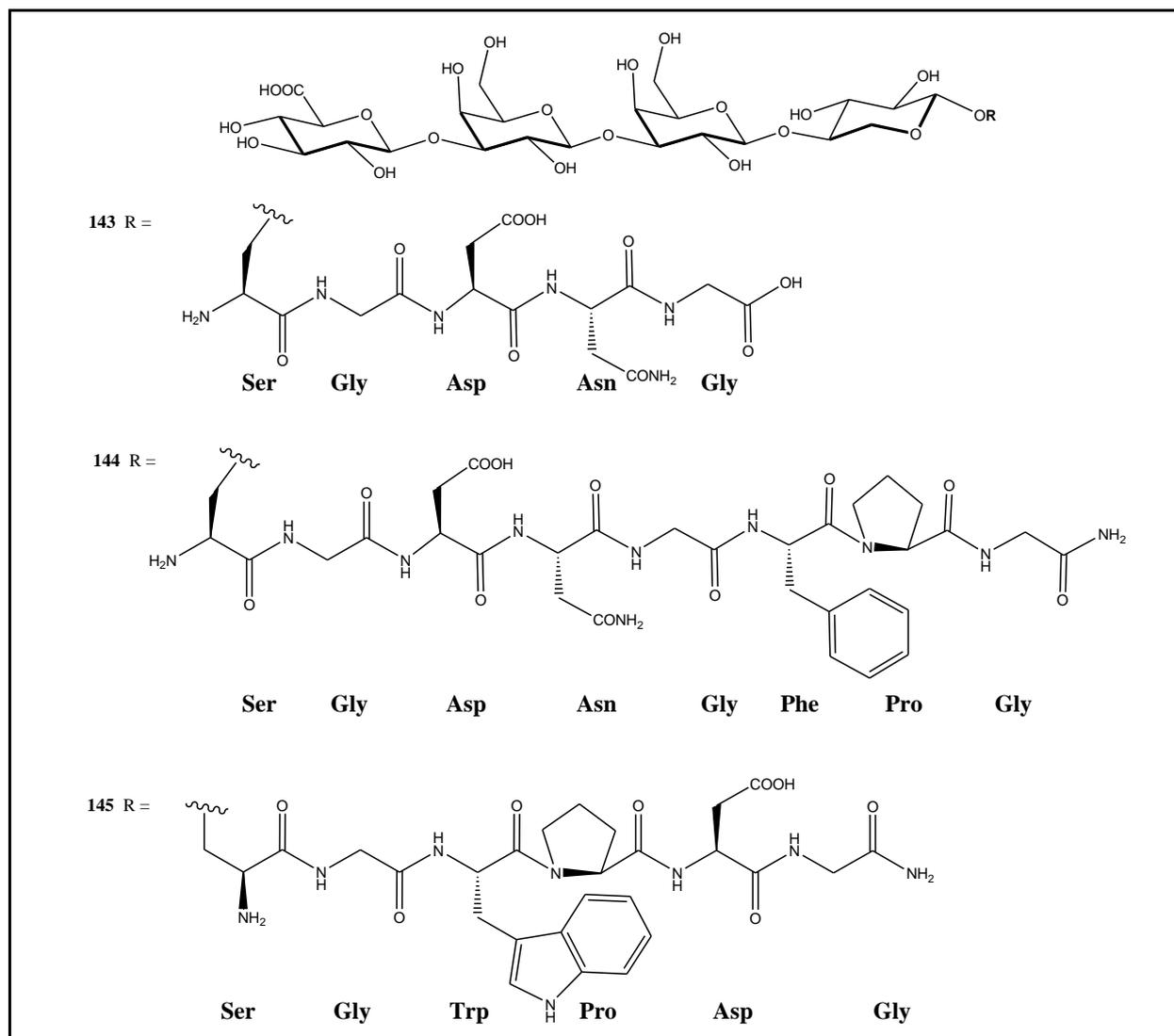


Schéma II- 25

La charpente tétrasaccharidique a été obtenue par glycosylation de deux blocs disaccharidiques (Schéma II-26), les blocs D-GlcA-D-Gal **149** et D-Gal-D-Xyl **137**, décrits précédemment.

Le premier bloc disaccharidique **149** a été préparé par glycosylation du donneur D-glucuronique **150** avec l'accepteur D-galactosyle **151** en présence de TMSOTf avec seulement 24% de rendement en récupérant 60% d'accepteur **151**. Malgré ce mauvais rendement, il n'a pas été envisagé de l'améliorer en modifiant la nature de l'accepteur D-galactosyle. Une activation de la position anomère par trichloroacétimidoylation a ensuite donné le disaccharide donneur **149**.

La condensation des blocs **149** et **137** suivie d'une activation par trichloroacétimidoylation a donné le tétrasaccharide donneur **148** qui a été glycosylé avec le résidu sérylglycine allyl ester protégé **147**, en présence de TMSOTf pour donner le composé **146** avec 92% de rendement.

Suite à cela, une série de couplages peptidiques avec différents acides aminés suivis de saponifications ont permis d'obtenir les composés cibles **143**, **144** et **145**. Ces composés ont alors été testés sur les glycosyltransférases responsables de l'initiation des chaînes de GAGs et

ont démontré que les composés **143** et **144** étaient de meilleurs accepteurs pour le transfert de β -GalNAc (premier sucre des CSS) comparé à l' α -GlcNAc (premier sucre des HS/Hep).

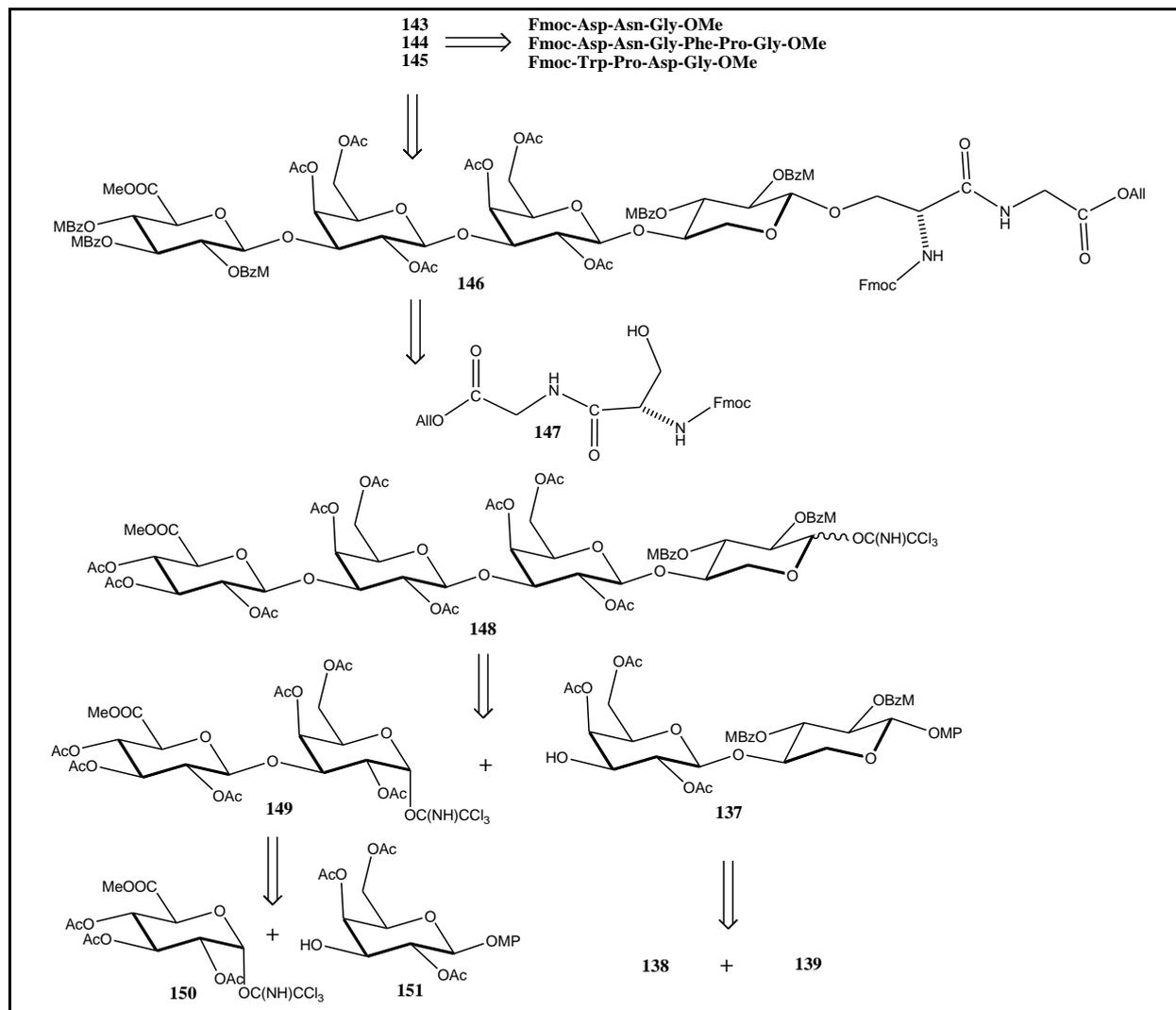


Schéma II- 26

En 2000, Nakahara Y. et al.⁴² ont publié une synthèse en phase solide de xylopeptides (Schéma II-27). Des fragments Serglycine- β -D-xylosyle ont été choisis comme molécules cibles dont le plus long est un hexadécapeptide **152**. Leur synthèse, a été effectuée en suivant un protocole de synthèse sur résine en phase solide avec l'utilisation de groupements Fmoc et d'un bras allyl.

⁴² Nakahara Y.; Ando S.; Itakura M.; Kumabe N.; Hojo H.; Ito Y.; Nakahara Y. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 6489-6493

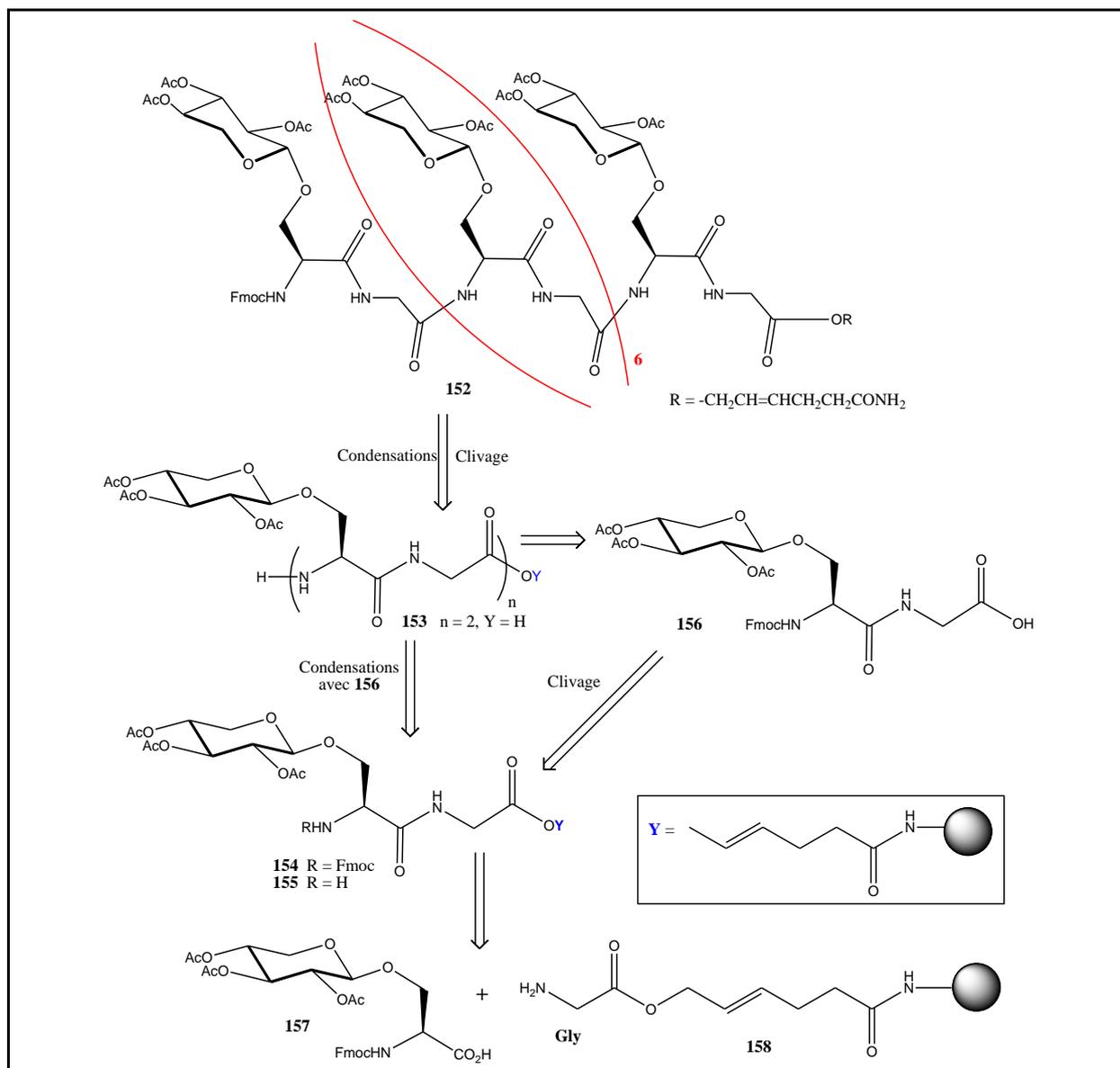


Schéma II- 27

En partant du D-xylosyl sérine **157**, une condensation avec la glycine N-déprotégée **158** a été effectuée avec du HBTU/HOBt/DIEA. Le dipeptide **154** résultant a alors été, soit clivé de la résine par déallylation catalysée avec du Pd(0) pour donner quantitativement **156**, soit libérée du groupement Fmoc pour donner le composé **155**. Une condensation de ce dernier avec **156**, dans les mêmes conditions a donné le térapeptide diglycoside **153**. Ce dernier a également été détaché de la résine et utilisé pour la synthèse d'octapeptides. Cette procédure ainsi répétée, l'octaxylosyl hexadécapeptide **152** a alors été synthétisé sur le support solide.

Un traitement acide de la résine a permis le clivage de **152** qui a été purifié par HPLC préparative (79%). Des oligomères intermédiaires comme **153** ont également été obtenus, avec de bons rendements (>95%).

II-3 SYNTHÈSE CHIMIO-ENZYMATIQUE DE LA ZONE DE LIAISON.

Des synthèses chimioenzymatiques de la zone de liaisons ont également été réalisées. Ainsi, l'équipe de **Kusumoto** a publié en **1996**⁴³ et **1999**⁴⁴ la synthèse chimioenzymatique d'un trisaccharide de la zone de liaison lié à un résidu L-sérine **159** (Schéma II-28) en partant soit des paranitrophényl glycosides PNP-Xyl **176a** et PNP-Gal **173a**, soit des 3-Nitro-2-pyridyl 3NPy-Xyl **176b** et 3NPy-Gal **173b**. L'intérêt de la synthèse enzymatique est de contrôler grâce aux enzymes utilisées la stéréochimie des liaisons glycosidiques formées et d'éviter les nombreuses étapes de protections/déprotections régiosélectives.

Dans un premier temps, la transglycosylation enzymatique des β -D-Xyl **176a** et **176b** avec les β -D-Gal **173a** et **173b** avec la β -D-galactosidase (E. Coli) a été réalisée dans un tampon phosphate à 32°C pour donner respectivement les disaccharides $\beta(1\rightarrow4)$ **174a** (21%) et **174b** (36%) (Schéma II-28).

Ainsi, afin de synthétiser les trisaccharides **172**, les auteurs ont protégé la position 6 très réactive par un groupement acétyle. Dans le cas du PNP, cette protection a été réalisée chimiquement avec du chlorure d'acétyle en présence d'éthyl-diisopropylamine dans le DMF pour donner le disaccharidique **175a** (65%). Dans le cas du 3NPy, l'acétylation en 6 a été réalisée de façon enzymatique avec une lipase immobilisée donnant **175b**. Cette acétylation enzymatique a donné un meilleur rendement (92%) comparée à l'acétylation chimique.

Puis, les disaccharides **175a** et **175b** ont alors été glycosylés avec les donneurs **173** en présence de la β -D-galactosidase (E. Coli) en milieu tamponné (0,05 M, pH 7,3) pour donner les trisaccharides $\beta(1\rightarrow4)$ désiré **172a** (23%) et **172b** (29%) avec 73% et 54% d'accepteurs **175a** et **175b** récupérés, respectivement.

Les trisaccharides **172** ont ensuite été complètement acétylés chimiquement pour donner **171a** et **171b**. Puis, une glycosylation chimique directe (sans activation) de **171b** et indirecte (après activation en acétimidate) de **171a** avec le dérivé sérine protégé **160** suivie d'une hydrogénation catalytique et d'une hydrazinolyse ont ensuite donné le composé cible **159**. Les auteurs ont ainsi obtenus de meilleurs résultats en utilisant les 3NPy-glycosides comparés aux PNP-glycosides.

⁴³ Fukase K.; Takashi Y.; Suda Y.; Yoshida M.; Kusumoto S. *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 6763-6766

⁴⁴ Yasukoshi T.; Fukase K.; Kusumoto S. *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 6591-6593

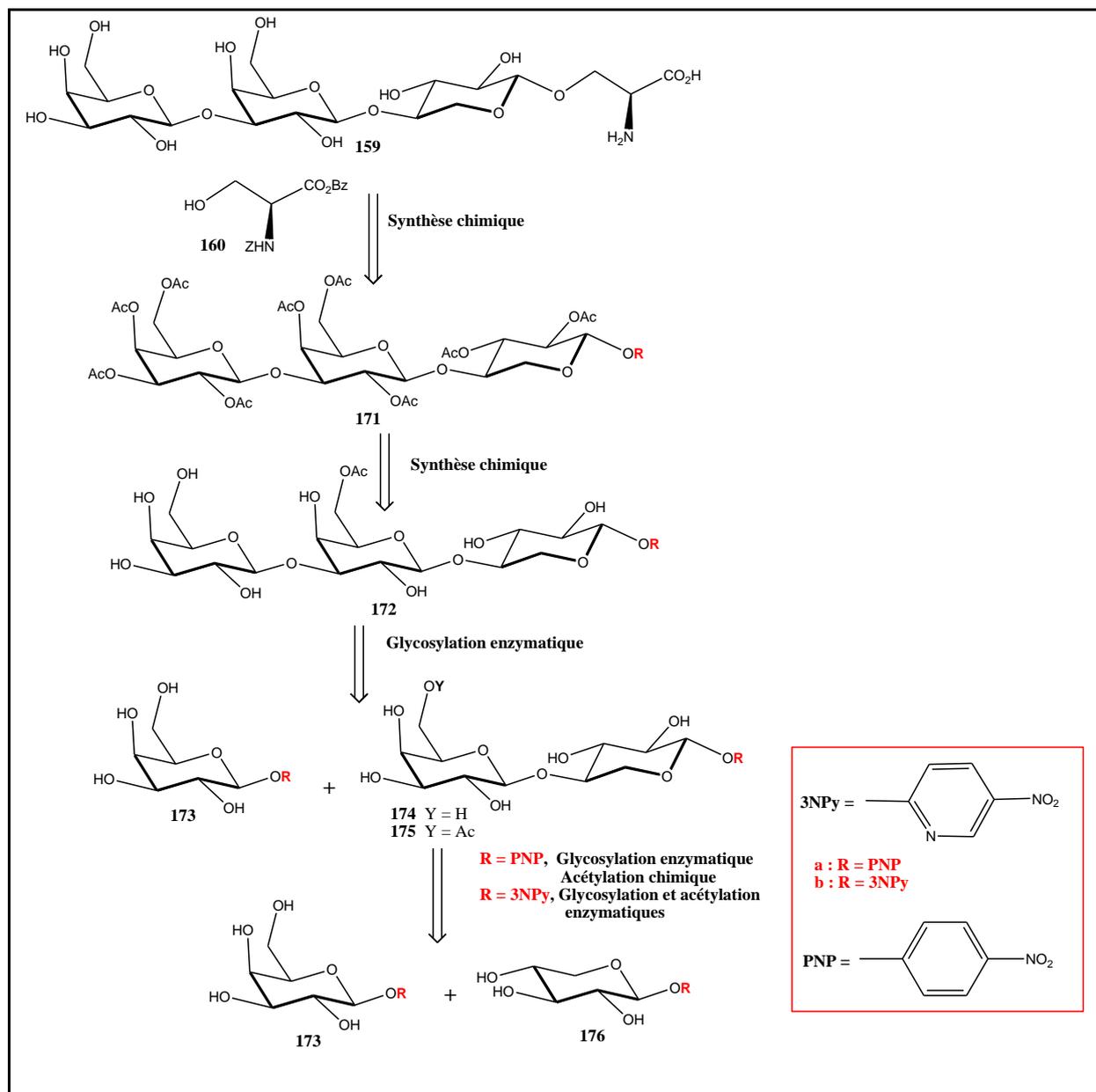


Schéma II- 28

En 1996⁴³ la même équipe a rapporté la synthèse chimioenzymatique d'un trisaccharide portant, cette fois-ci, un groupement fluorescent 4-méthylumbelliferyl (MU) **177** (Schéma II-29). Ce groupement a été choisi en raison de l'utilisation du 4-méthylumbelliferyl β -D-xyloside (Xyl-MU) comme initiateur de la biosynthèse des GAGs en cultures cellulaires.

La synthèse du composé cible **177** a été plus laborieuse. En effet, des difficultés ont été rencontrées lors de la transglycosylation de D-Xyl-MU **180** avec Gal-PNP **173a** en présence de la β -D-galactosidase (E. Coli) à cause du manque de solubilité du groupement MU dans le tampon phosphate (3,5% de produit formé). Ainsi, les meilleures conditions ont consisté en une transglycosylation dans un tampon phosphate avec du DMSO (3% (v/v), du détergent (1% (v/v) de Triton X-100) solubilisant le groupement MU, avec 2 équivalents de donneur **173a** et le disaccharide désiré **179a** a été obtenu avec 17% de rendement.

La protection de la position 6 réactive a ensuite été réalisée avec du chlorure de méthoxyméthyle (MOMCl), le MOM étant plus hydrophile qu'un acétate, puis le composé **179b** obtenu (16%) a été soumis avec le donneur **173a** à la β -D-galactosidase (E. Coli) en milieu tampon phosphate (0,05 M, pH 7,3) à 32°C pour donner le trisaccharide désiré **178** (11%) avec 83% de **173a** récupérés. Finalement, un clivage du groupement MOM avec du HCl aqueux 0,1% (v/v) dans le MeOH a donné le composé cible **177** (86%).

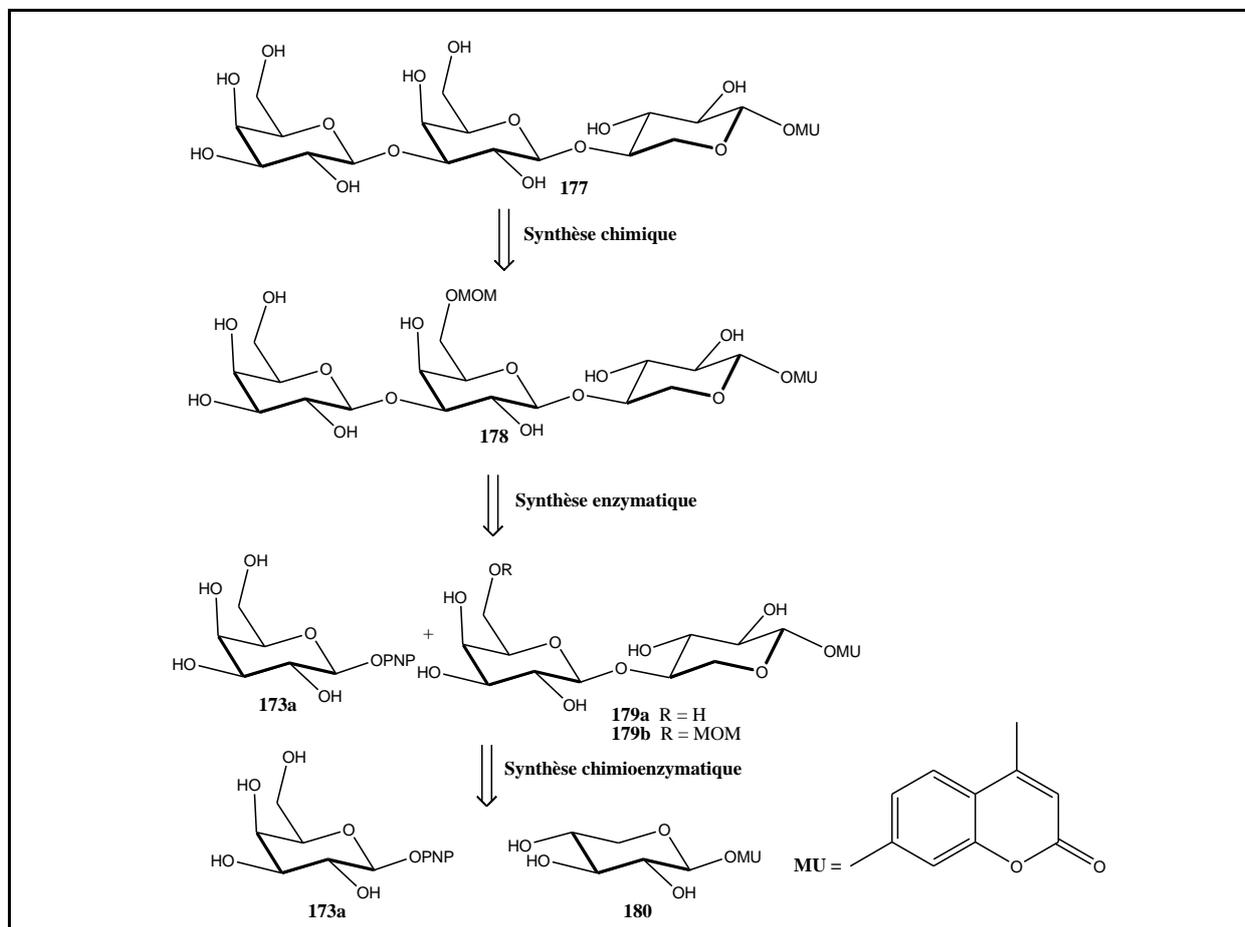


Schéma II- 29

II-4 ZONE DE LIAISON BIOTINYLEE.

En 1999, Tamura J.-I. et al.⁴⁵ ont rapporté la synthèse d'oligosaccharides biotinylés dans le but de produire des anticorps monoclonaux spécifiques. Ainsi, un disaccharide de la zone de liaison **181** et un trisaccharide **182** (disaccharide de la zone de liaison + amorce N-acétylgalactosamine de sulfate de dermatane (DS) ont été obtenus à partir des composés **183** et **184**, respectivement, comportants à leur extrémité réductrice un bras 2-aminoéthyle, permettant la liaison au dérivé biotinylé (schéma II-30).

Le disaccharide cible **183** provient du disaccharide précurseur **185**. Ce dernier est issu de la glycosylation entre le donneur D-glucuronique **186** et de l'accepteur D-galactosyle **187** en présence de BF₃.Et₂O (39%). Le bras 2-aminoéthyle accepteur **189** a été introduit sur l'extrémité réductrice du précurseur D-galactosyle **188** par glycosylation en présence de NIS et d'acide trifluorométhanesulfonique. Une déprotection totale de **185** a ensuite donné le précurseur **183** (70%).

Le trisaccharide cible **184** est, quant à lui, issu du trisaccharide précurseur **190**. Ce dernier a été synthétisé par glycosylation entre le donneur disaccharidique **191** et l'accepteur **187** (44%). Une réduction du groupement azido avec de l'acide thioacétique suivie d'une déprotection totale a donné le trisaccharide précurseur **184** (63%).

Enfin, les composés **183** et **184** ont été couplés au dérivé biotinylé en présence de carbonate de sodium (NaHCO₃) et d'acide acétique pour donner quantitativement les composés biotinylés **181** et **182**, respectivement.

⁴⁵ Tamura J.-I.; Miura Y. ; Freeze H. H. *J. Carbohydr. Chem.* **1999**, *18*, 1-14

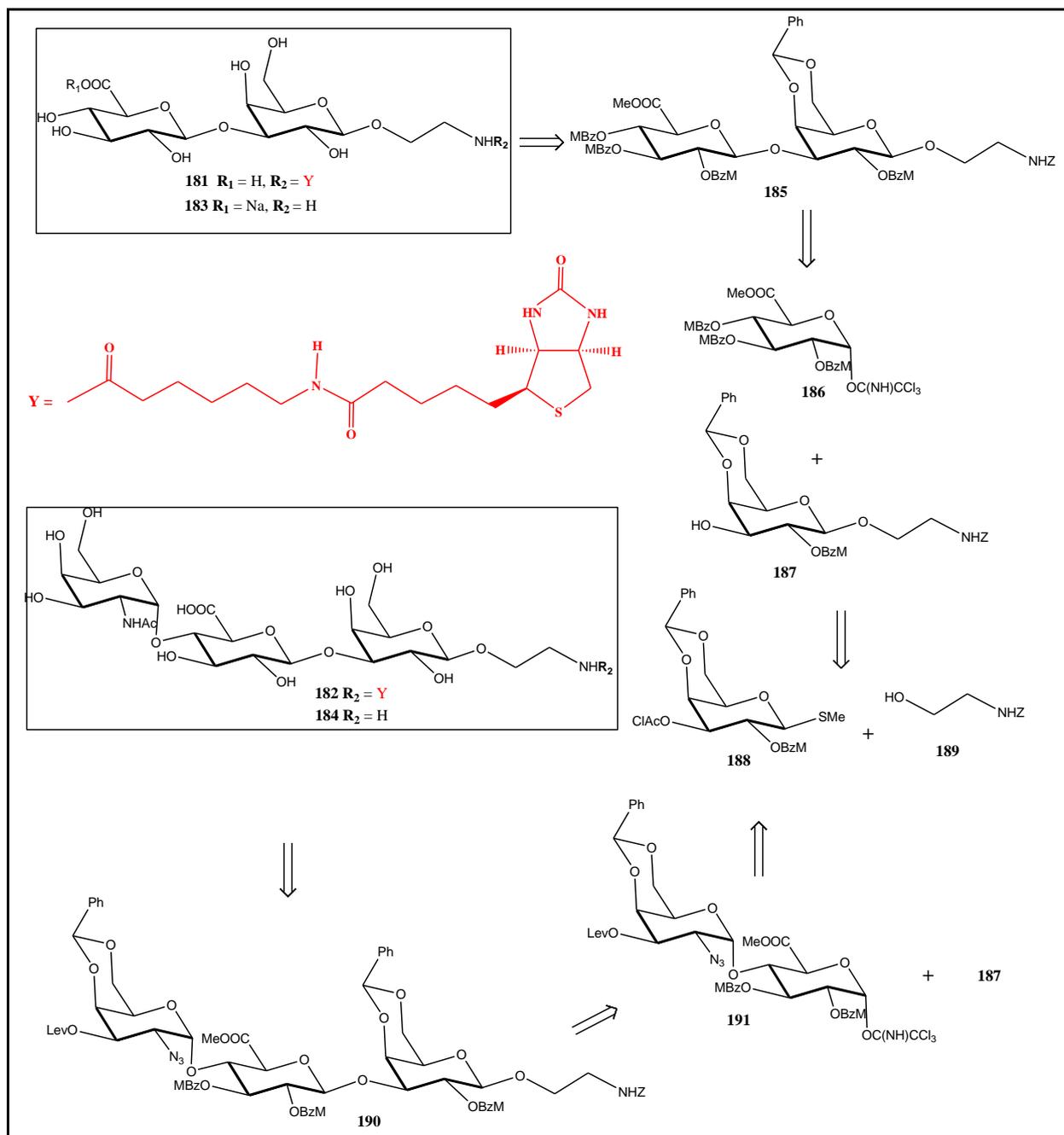


Schéma II- 30

II-5 ZONE DE LIAISON AVEC AMORCE DE CS.

En 1992, Goto F. et Ogawa T.⁴⁶ ont publié la synthèse totale d'un hexasaccharide déprotégé **192** correspondant au tétrasaccharide de la zone de liaison des PGs reliée à l'unité disaccharidique de base des CSs ainsi que son dérivé 4-sulfaté sur le sucre aminé **193** (Schéma II-34). Leur stratégie a consisté en la préparation de 2 trisaccharides, le premier donneur **194**, correspondant au dernier sucre de la zone de liaison lié à l'unité CS (D-GlcA-D-GalNAc-D-GlcA) et le second accepteur **195**, correspondant aux 3 premiers sucres de la zone de liaison (D-Xyl-D-Gal1-D-Gal2).

Le bloc donneur **194** a été construit par addition successive des précurseurs monosaccharidiques **201**, **200** et **196** en partant de l'extrémité réductrice. D'abord, **200** et **201** ont été glycosylés en présence de TMSOTf entre -78°C et -40°C pour donner le β -disaccharide correspondant (62%) et 28% d'anomère α , puis l'unité D-glucosyle a été transformée en unité D-glucuronique par oxydation. Une déacétylation a ensuite donné l'accepteur **197** (73%). Ce dernier a pu ainsi être glycosylé avec le donneur D-glucuronique **196** à -25°C en présence de BF₃.Et₂O sous micro-ondes et une série de réactions de protections/déprotection suivie d'une activation en acétimidate ont fourni le bloc donneur **194**.

Le bloc accepteur **195** (D-Xyl-D-Gal-D-Gal) a été obtenu par l'ajout successif des monosaccharides précurseurs **203**, **202** et **198** en partant de l'extrémité réductrice. D'abord, le disaccharide **199** a été obtenu après glycosylation de l'accepteur **203** avec le donneur D-galactosyle **202** en présence de triflate d'argent (AgOTf) (63%). L'acétate en 2 du précurseur D-galactosyle a ensuite été remplacé par un groupement benzyle puis une déallylation a fourni l'accepteur (91%) correspondant qui a alors été glycosylé avec le donneur D-galactosyle **198** en présence de CuBr₂-n-Bu₄NBr-AgOTf pour donner le trisaccharide correspondant (97%) qui a été transformé en accepteur **195** avec 83% de rendement en 3 étapes ; déacétylation, benzylation et déallylation.

L'étape délicate de glycosylation des deux intermédiaires clé **194** et **195** a été réalisée entre -20°C et -30°C en présence de BF₃.Et₂O dans le mélange toluène/CH₂Cl₂ donnant l'hexasaccharide désiré avec 47% de rendement. Ce dernier a ensuite été, soit, entièrement déprotégé pour donner à 83% le composé cible **192** non sulfaté, soit, d'abord délévulinoylé sélectivement puis sulfaté en 4 avec du Me₃N.SO₃ dans le DMF à 60°C, et enfin déprotégé totalement pour donner le composé cible **193** avec 17% de rendement en tout.

⁴⁶ Goto F.; Ogawa T. *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 6841-6844

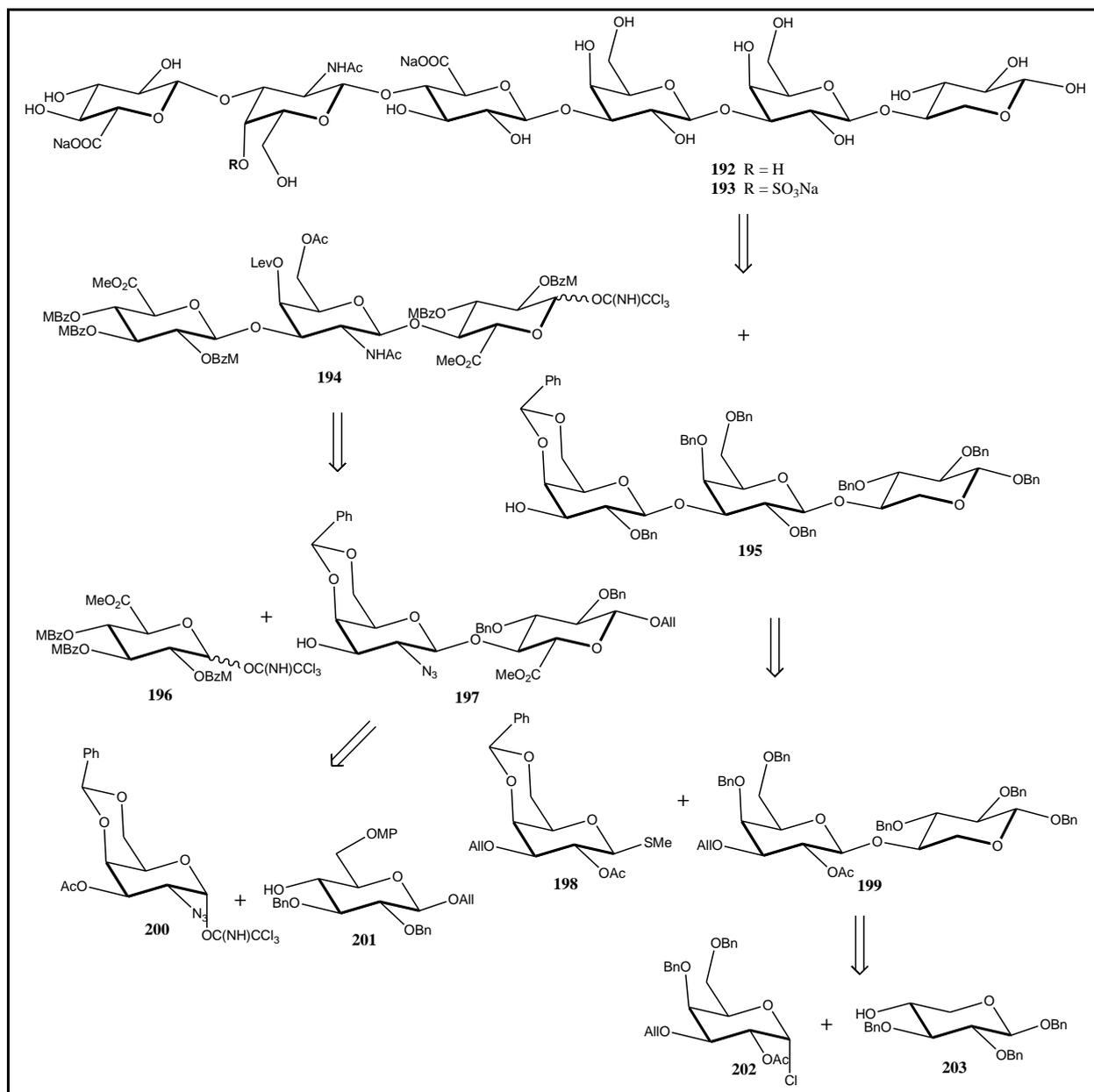


Schéma II- 31

Ainsi, un grand nombre de travaux ont été décrits mais aucun n'a rapporté la synthèse totale de toutes les sulfoformes possibles d'oligosaccharides biotinylés de la zone de liaison. Dans le chapitre suivant, nous présentons notre travail qui, pour la première fois, rapporte la synthèse chimique d'une collection complète d'oligosaccharides diversément monosulfatés et biotinylés de la zone de liaison.

III- OBJECTIFS ET STRATEGIE DE SYNTHESE

III. OBJECTIF DE RECHERCHE.

Comme présenté dans le chapitre II, différentes synthèses de la zone de liaison ont été réalisées. L'objectif de notre travail, qui s'inscrit dans le programme ANR Blanc 2009 « GlycoCart », a été de synthétiser pour la première fois (schéma III-1) une collection complète de trisaccharides biotinylés diversement monosulfatés ou non de la zone de liaison des PGs ainsi que des tétrasaccharides biotinylés (zone de liaison et CS) afin de comprendre le rôle des diverses sulfatations de Gal1 et Gal2 sur le mécanisme de biosynthèse des GAGs par les glycosyltransférases (CS-GlcNAcA-1 (CS) et EXTL2 et 3 (HS)).

Dans le but de déterminer le rôle de ces monosulfatations, nous synthétiserons dans un premier temps, une série de trisaccharides de la zone de liaison biotinylés, non sulfatés **204** et monosulfatés régiosélectivement sur les positions 4 ou 6 de Gal1 ou Gal2 **205**, **206**, **207** et **208** (Schéma III-2). Puis, dans un deuxième temps, nous synthétiserons des tétrasaccharides biotinylés, non sulfatés **209** et monosulfatés régiosélectivement sur les positions 4 ou 6 de Gal1 ou Gal2 **210**, **211**, **212** et **213** composés des trois derniers sucres de la zone de liaison liés à une amorce de CS.

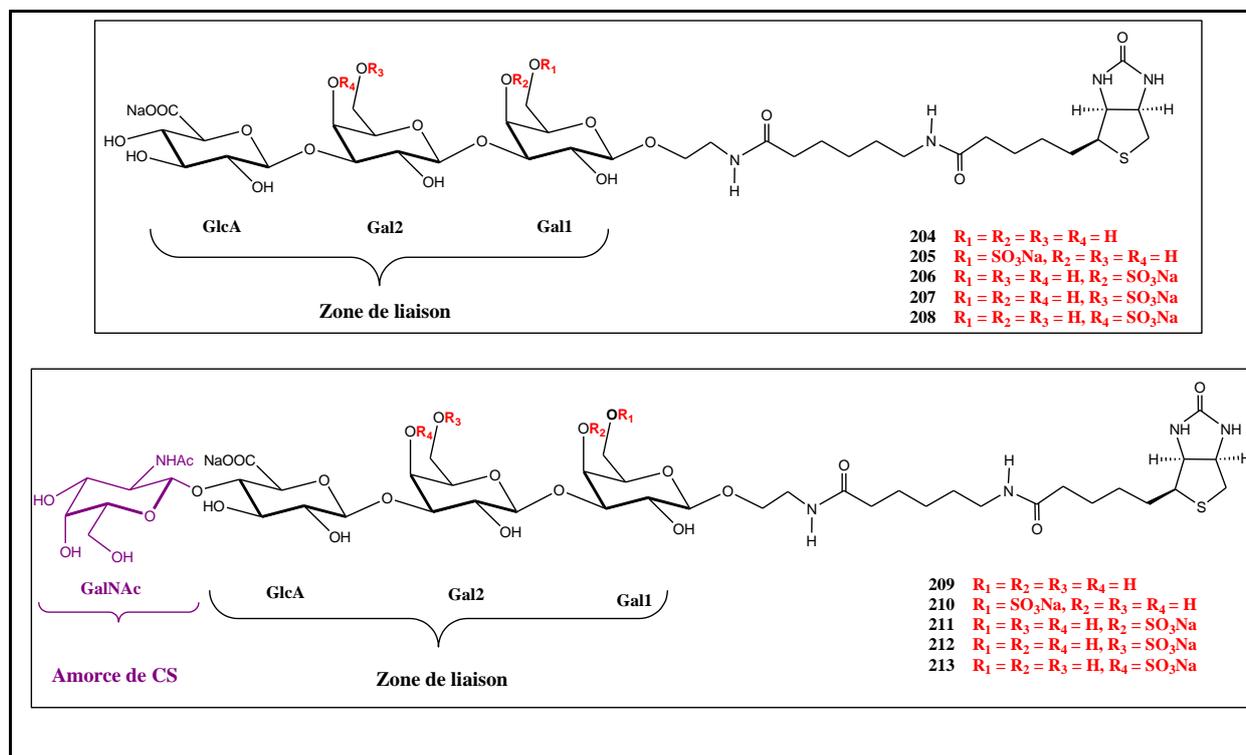


Schéma III- 1

III-1 STRATEGIE DE SYNTHÈSE.

Notre stratégie de synthèse consistera en la préparation de deux trisaccharides communs **273** et **284** obtenus à partir des trois précurseurs monosaccharidiques clés communs: le précurseur D-glucuronique **227**, les précurseurs Gal2 **249** et Gal1 **250**, portant l'amorce de la biotine. L'assemblage des précurseurs **227** et **249**, nous permettra d'accéder aux imidates disaccharidiques **271** (benzoylé) et **272** (chloroacétylé).

La glycosylation de **250** avec **271** conduira au trisaccharide intermédiaire **273** benzoylé sur le Gal2 et silylé sur Gal1, précurseur des tri- et tétrasaccharides non sulfatés et monosulfatés sur le Gal1, tandis que la glycosylation de **250** avec **272** conduira aux trisaccharides intermédiaire **284**, chloroacétylé sur Gal2, précurseur des tri- et tétrasaccharides monosulfatés sur Gal2. La construction des tétrasaccharides nécessitera, en plus, la synthèse d'une amorce monosaccharidique de CS, le trichloroacétimidate **302**.

Le couplage avec le réactif biotinylé permettra à nos partenaires biologistes de Nancy (UMR 7561) d'effectuer des tests d'affinité enzymatique en Biacore.

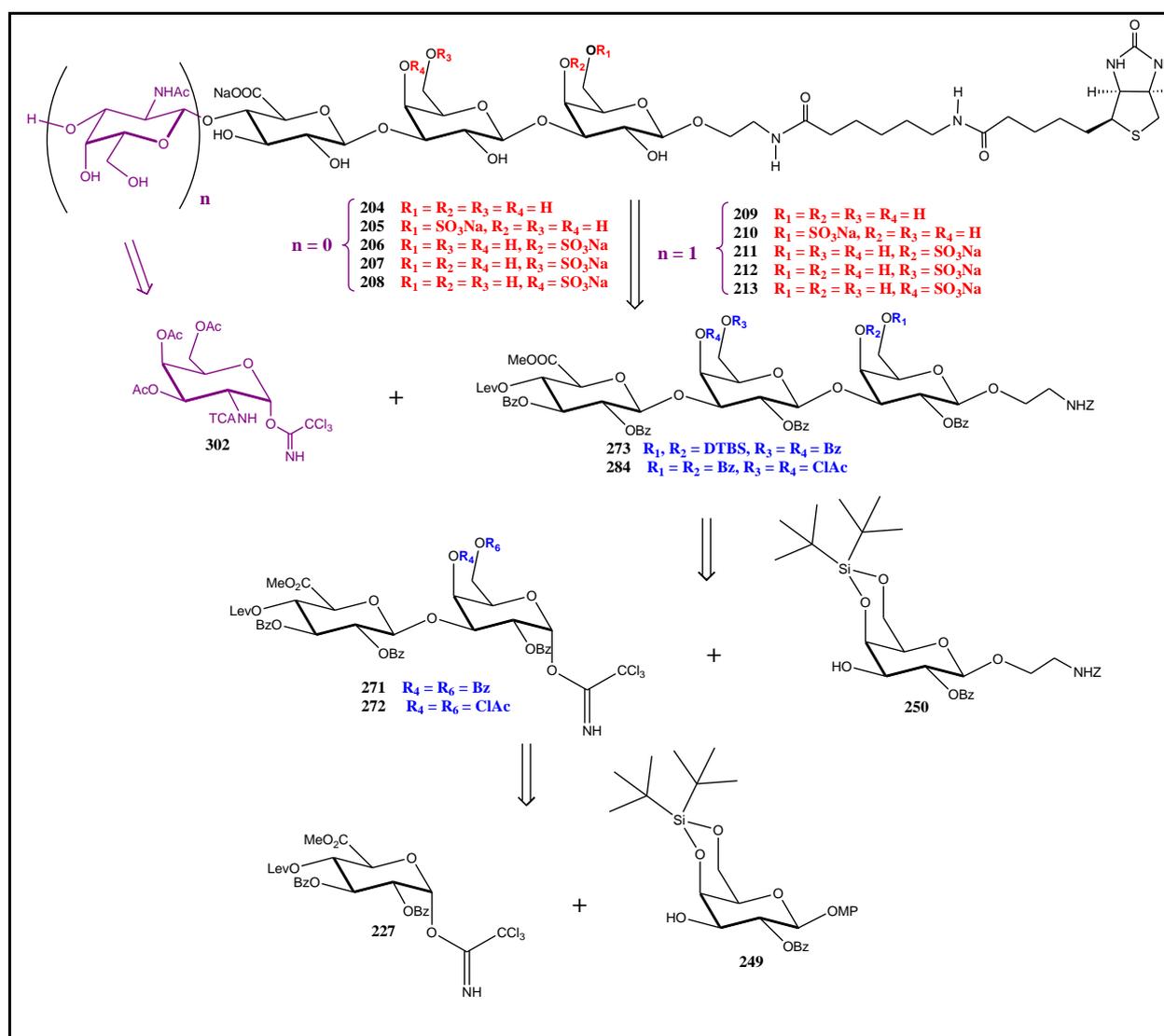


Schéma III- 2

III-2 CHOIX DES GROUPEMENTS PROTECTEURS : TEMPORAIRES ET PERMANENTS.

Les groupements protecteurs permanents utilisés pour nos synthèses sont des groupements benzoyles (Bz). Les groupements temporaires choisis sont orthogonaux entre eux et avec les groupements permanents (schéma III-3).

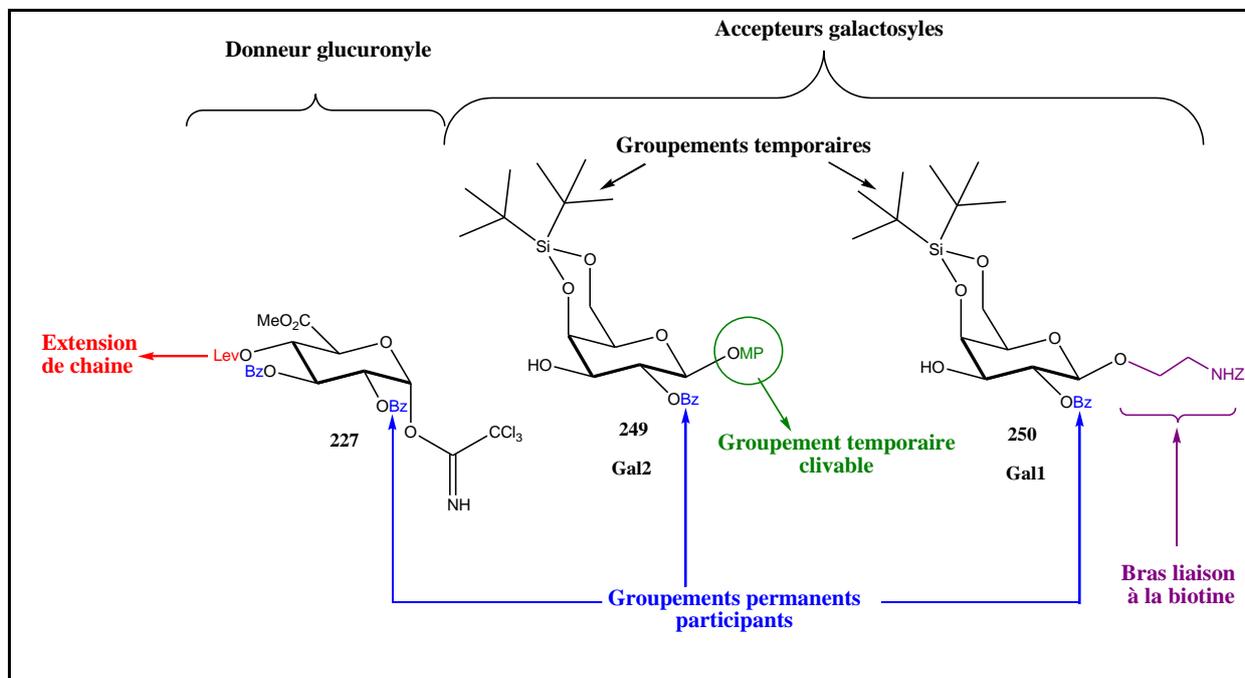


Schéma III- 3

Ainsi, nous avons utilisé le groupement lévulinyle (Lev) uniquement en bout de chaîne, sur la position 4 du précurseur D-glucuronyle pour permettre la déprotection sélective de cette position et ainsi, l'allongement de la chaîne d'oligosaccharide.

Les groupements silylène (DTBS) et chloroacétyle (ClAc), également orthogonaux, ont permis les déprotections sélectives permettant l'accès aux composés sulfatés ou non (schéma III-1 composés **273** et **284**).

Le groupement 4-méthoxyphényle (MP) a été utilisé pour la protection de la position anomère des monosaccharides précurseurs D-glucuronyle et D-galacturonyle central (Gal2), facilement clivable avant l'activation de ces composés en trichloroacétimides donneurs. Tandis que la position anomérique du précurseur D-galactosyle terminal (Gal1) a été glycosylée avec le bras 2-benzyloxy-carbonyl-aminoéthyle servant d'amorce au dérivé biotinylé.

III-3 GROUPEMENT PARTICIPANT EN C-2.

Afin d'assurer la sélectivité β lors des réactions de glycosylation et de contrer l'effet anomère de l'oxygène cyclique, nous avons protégé les positions C-2 des précurseurs monosaccharidiques clés par un groupement participant assez volumineux, le benzoyle (Bz).

Ce choix permettra une très bonne sélectivité pour l'obtention de β -glycosides lors des réactions de glycosylations (schéma III-4).

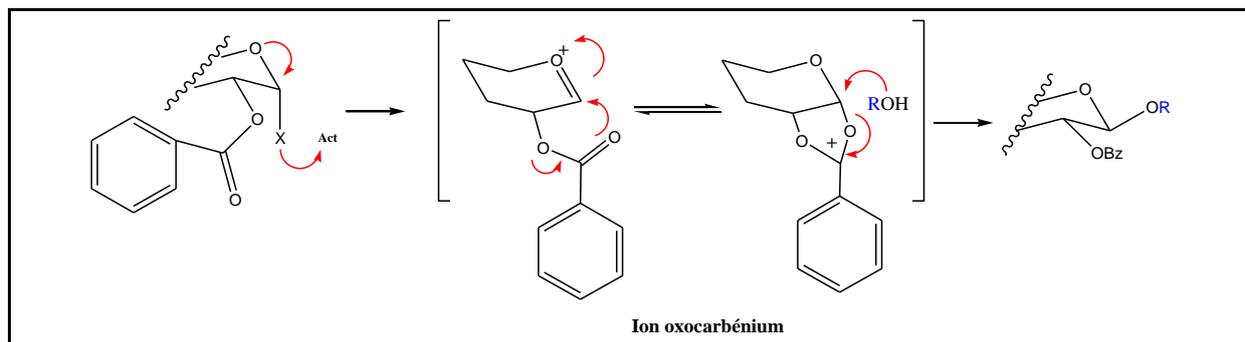


Schéma III- 4

III-4 LA BIOTINE.

Afin que nos collaborateurs biologistes de l'UMR-7561 à Nancy puissent effectuer des tests d'affinité enzymatique en Biacore avec les oligosaccharides synthétisés au sein de notre laboratoire pour déterminer le ou les substrat(s) des glycosyltransférases en se basant sur les constantes d'affinité enzyme-substrat, nous avons greffé sur l'extrémité réductrice de tous nos oligosaccharides, un dérivé biotinylé (schéma III-5).

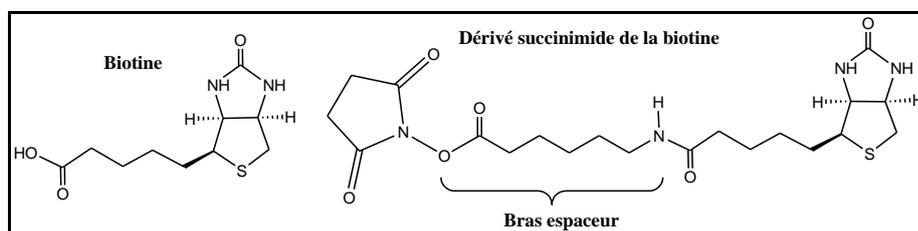


Schéma III- 5

La biotine, petite molécule organique, a été choisie en raison de sa forte affinité pour la streptavidine (protéine homotétramérique capable de lier 4 molécules de biotine). Le principe de la technique Biacore repose sur la mesure des constantes d'affinité des couples ligand-récepteur (ici, substrat-enzyme) grâce au signal de résonance plasmonique de surface (SPR).⁴⁷

Sur une surface solide en verre recouverte d'une couche d'or, est fixée une matrice en dextrane tapissée de streptavidine. L'ensemble est contenu dans une cellule de microfluides et un prisme (figure 11a). Un flux circulant contenant les oligosaccharides biotinylés est alors introduit dans le canal de la cellule. Puis, un faisceau de lumière polarisée est introduit à travers le prisme. A la sortie, un détecteur permet de mesurer en continu le signal de plasmons de surface⁴⁷. Après cela, un deuxième flux contenant cette fois-ci les glycosyltransférases à tester et les UDP-sucre est injecté dans le canal, et une deuxième mesure du signal est effectuée. En fonction de la reconnaissance, par les enzymes, des oligosaccharides fixés

⁴⁷ O'Shannessy D. J.; Brighman-Burke M.; Peck K. *Anal. Biochem.* **1992**, 205, 132-136

comme étant substrat ou pas, il y aura transfert des UDP-sucre sur les oligosaccharides ou pas, et l'activité enzymatique sera mesurée grâce aux fréquences d'émission donnant ainsi des valeurs de constantes cinétiques interprétables par nos collègues biologistes.

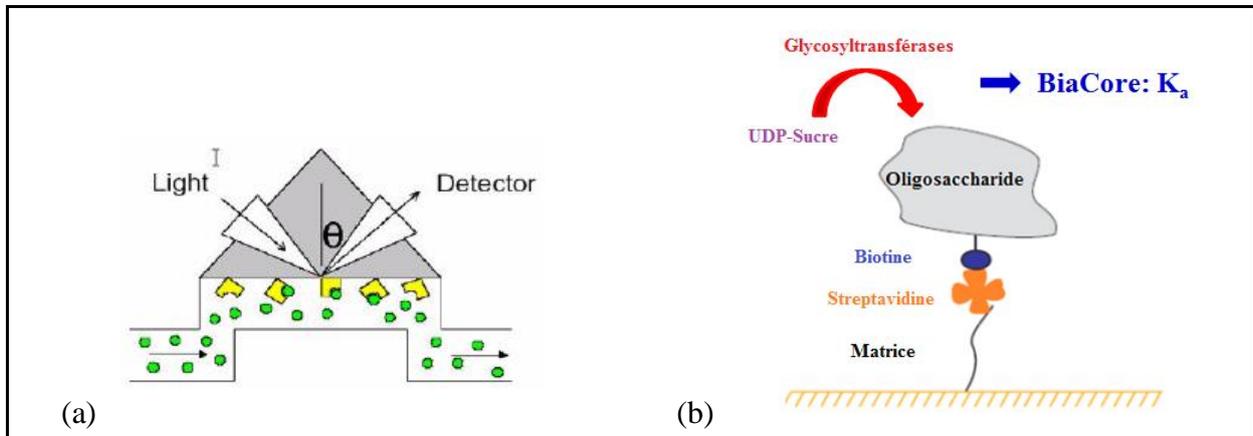


Figure 11. Erreur ! Signet non défini.,48

Afin de greffer nos oligosaccharides (ligands) sur le dérivé succinimide de la biotine, nous avons opté pour un bras 2-aminoéthyle N-protégé, sur l'extrémité réductrice de nos oligosaccharides (schéma III-6).

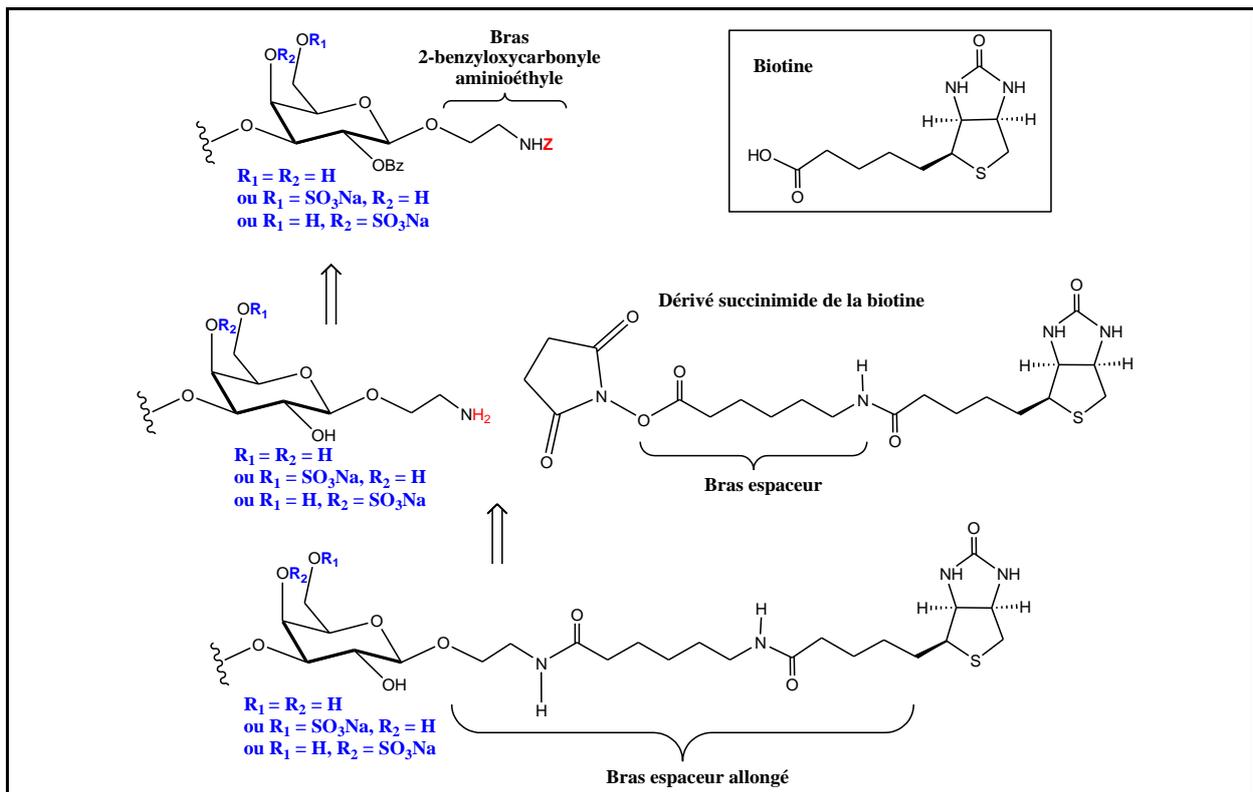


Schéma III- 6

Ainsi, une hydrogénolyse du groupement benzyloxycarbone (Z), libérera l'amine primaire, permettant le couplage au dérivé biotinylé (schéma III-6). Nos oligosaccharides seront ainsi séparés de la biotine par un long bras espaceur permettant la bonne exposition des oligosaccharides dans le canal de l'appareil et la fixation, *via* la biotine, à la matrice de dextrane recouverte de streptavidine (figure 11b).

IV-SYNTHESE

Afin de construire les trisaccharides précurseurs communs **273** et **284** (schéma IV-1), il a été nécessaire de préparer, dans un premier temps, les trois blocs monosaccharidiques clés **227**, **249** et **250**. Dans ce chapitre, nous présenterons d'abord la synthèse de ces monosaccharides clés puis, nous décrirons tour à tour la construction des di- tri- et tétrasaccharides.

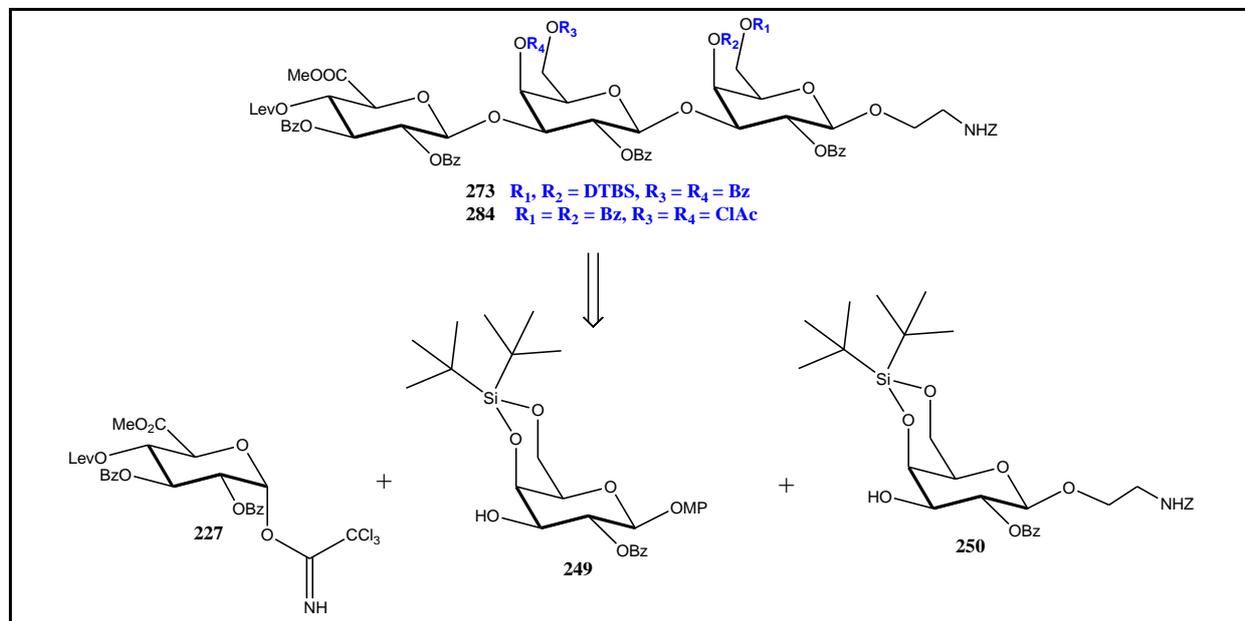


Schéma IV- 1

IV-1 SYNTHÈSE DES MONOSACCHARIDES CLÉS 227, 249 ET 250.

IV-1.1 PRÉPARATION DU PRÉCURSEUR D-GLUCURONYLE DONNEUR 227.

Dans la littérature, il existe différentes méthodes de préparation des unités saccharidiques activées, comme les thioglycosides⁴⁹, les *n*-pentenyl glycosides^{50,37}, les bromures⁵¹ et les fluorures⁵². La méthode la plus communément utilisée pour activer le carbone anomère est la préparation des donneurs trichloroacétimidates de Schmidt⁵³ (schéma IV-2).

⁴⁹ Fügedi P.; Garegg P.J.; Lönn H.; Norberg T. *Glycoconjugate J.* **1987**, 4, 97-108

⁵⁰ Mootoo D. R.; Konradsson P.; Udodong U.; Fraser-Reid B. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 5583-4

⁵¹ Goebel W. F.; Babers F. H. *J. Biol. Chem.* **1935**, 111, 347-353

⁵² Nicolaou K. C.; Hummel C. W.; Bokovich N. J.; Wong C. H. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1991**, 13, 870-872

⁵³ Schmidt R. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1986**, 25, 212-235

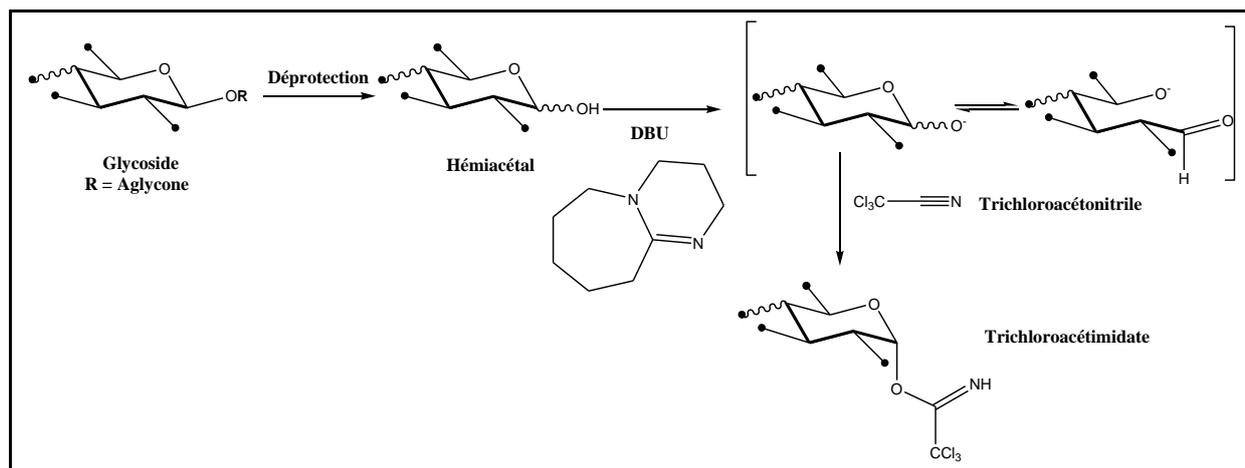


Schéma IV- 2

Les donneurs trichloroacétimides sont obtenus après coupure oxydante des glycosides *O*-R donnant l'hémicétal correspondant, puis la trichloroacétimidoylation est effectuée en présence de trichloroacétonitrile (Cl_3CCN) et d'une base volumineuse, la 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène (DBU) donnant ainsi, majoritairement les trichloroacétimides α .

Nous avons adopté cette méthode pour la préparation de tous les donneurs utilisés lors de nos synthèses (D-glucosyles et D-galactosyles).

La préparation de **227** a également nécessité l'obtention de la fonction uronique. Il existe différentes méthodes pour obtenir un acide D-glucuronique, composé non commercial :

IV-1.1.1 A PARTIR DE LA D-GLUCURONO-6,3-LACTONE.

En 1955, Bollenback G. N.⁵⁴ et *al.* ont publié la synthèse du méthyl (2,3,4-tri-*O*-acétyl- β -D-glucopyranosyluronate **215** en partant de la D-glucurono-6,3-lactone (schéma IV-3). En présence de méthanol et de soude en quantité catalytique, la lactone subit une attaque nucléophile sur la position 6, son ouverture est suivie d'un réarrangement du sucre sous sa forme pyranique, thermodynamiquement plus stable. L'acétylation est alors réalisée avec de l'anhydride acétique dans la pyridine et le β -tétracétate **215b** est isolé par cristallisation fractionnée.

⁵⁴ Bollenback G. N.; Long J. W.; Benjamin D. G.; Lindquist J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, 77, 3310-3315

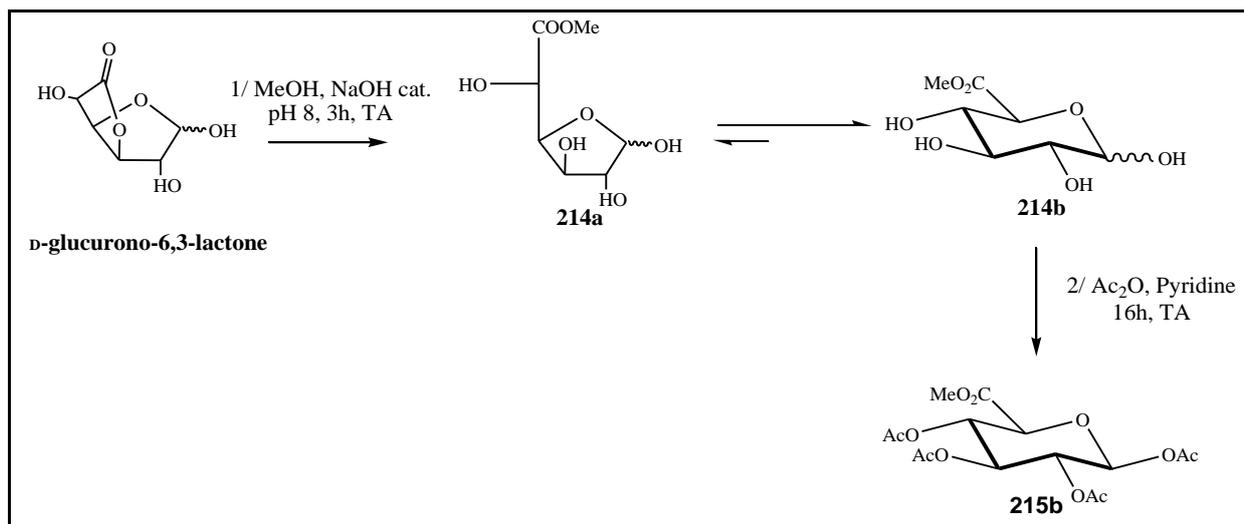


Schéma IV- 3

IV-1.1.2 PAR OXYDATION DE DERIVES D-GLUCOSE.

D'autres méthodes d'obtention d'acides D-glucuroniques en partant de dérivés D-glucosyles ont été utilisées. Elles sont basées sur l'oxydation de l'alcool primaire en acide carboxylique par l'utilisation d'agents oxydants (schéma IV-4):

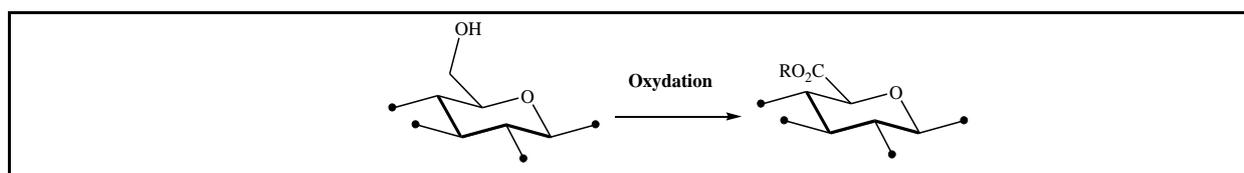


Schéma IV- 4

Ainsi, Clingman A. L. et Richtmyer N. K.⁵⁵ ont publié en 1964 l'oxydation d'un dérivé thio-β-D-glucopyranoside **216** en thio-β-D-glucuronique **217** (schéma IV-5) en utilisant une oxydation avec du chlorochromate de pyridinium (PDC) dans le DMF suivie d'une méthylation avec du diazométhane (CH₂N₂) dans le CH₂Cl₂ donnant l'ester méthylique.

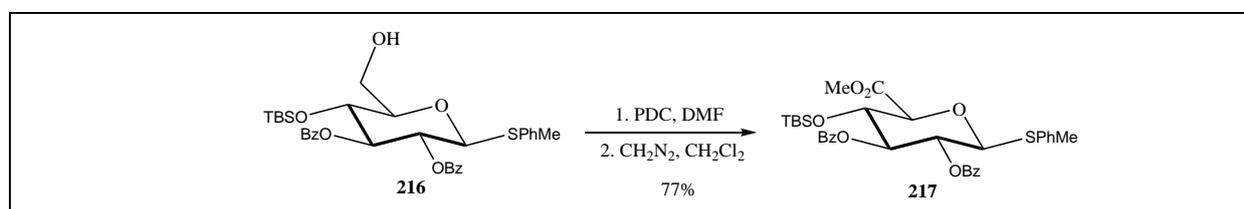


Schéma IV- 5

En 1993, Rio S. et *al.*³³ ont obtenu l'unité D-glucuronique **219** à partir du dérivé D-glucose **218** (schéma IV-6) en utilisant une oxydation de Jones avec du trioxyde de chrome

⁵⁵ Clingman A. L.; Richtmyer N. K. *J. Org. Chem.* **1964**, 29, 1782-1787

dans l'acide sulfurique aqueux, l'acide carboxylique obtenu a alors été converti en chlorure d'acide avec du chlorure d'oxalyle (COCl)₂ puis estérifié avec du 2-(triméthylsilyl)éthanol.

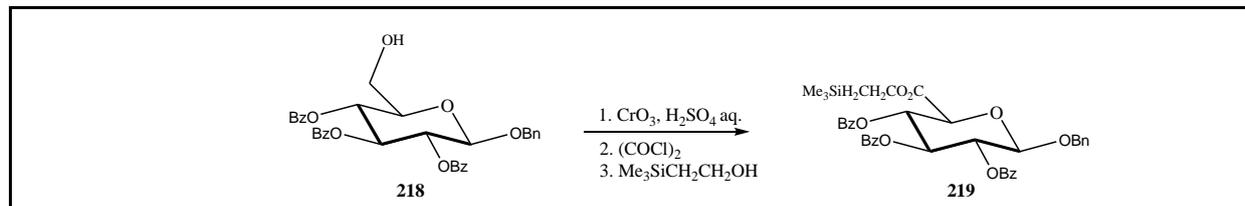


Schéma IV- 6

Flitsch S. L. et Davis N. J.⁵⁶ ont publié en 1993 la synthèse d'acides D-glucuroniques **222** et **223** à partir des dérivés **220** et **221**, respectivement, en utilisant le TEMPO et l'hypochlorite de sodium (NaOCl) comme agents oxydants (schéma IV-7). L'acide carboxylique résultant est alors estérifié avec du MeOH.

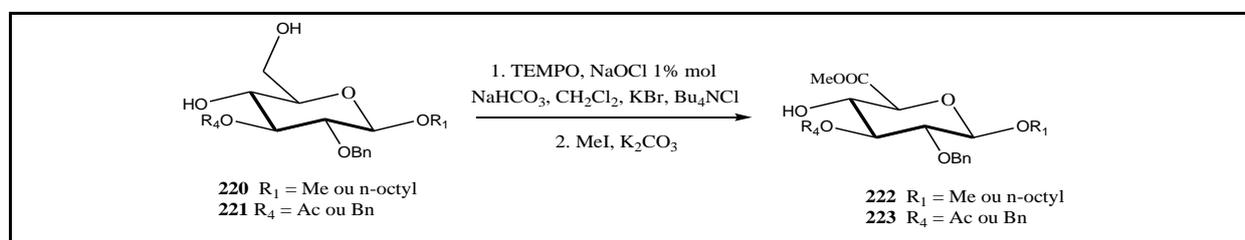


Schéma IV- 7

En 2004, van der Marel et *al.*^{Erreur ! Signet non défini.} ont publié la synthèse d'acides thio-β-glucuroniques **225** en partant de dérivés thio-β-D-glucopyranosides **224** (schéma IV-8) en utilisant une quantité catalytique de TEMPO et un excès de BAIB dans un mélange eau/DCM suivie d'une méthylation de l'acide carboxylique formé avec du diazométhane (CH₂N₂) dans le DMF.

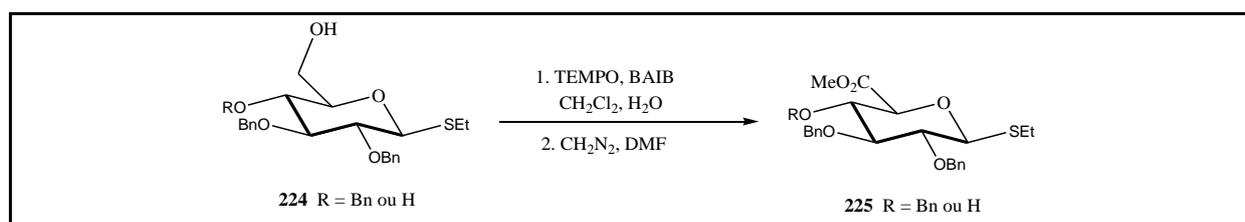


Schéma IV- 8

⁵⁶ Flitsch S. L.; Davis N. J. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 1181-1184

IV-1.1.3 SYNTHÈSES RÉALISÉES AU LABORATOIRE : RESULTATS.

Le précurseur D-glucuronique **227** que nous avons synthétisé a déjà été décrit par Seeberger et al.⁵⁷ (schéma IV-9) en deux étapes à partir du thioglycoside **226**.

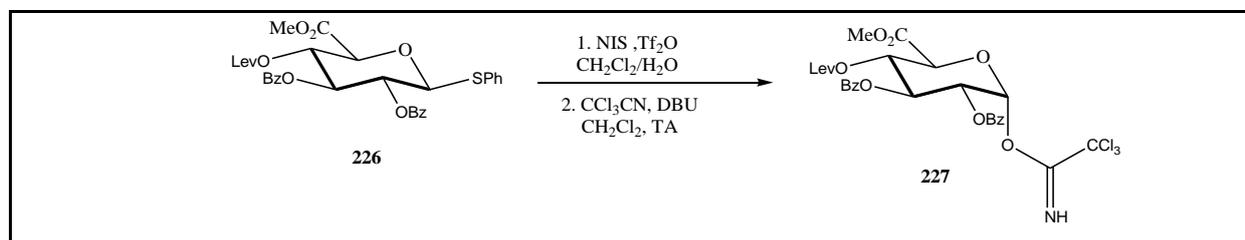


Schéma IV- 9

Nous développons ici, pour la première fois, la synthèse du précurseur D-glucuronique **227** en partant de la 6,3-D-glucuronolactone commerciale⁵⁴ (schéma IV-10). Ainsi, pour accéder au donneur **227**, nous avons protégé l'oxygène anomérique par différents aglycones **R** : le 4-méthoxyphényle (MP)⁵⁸, le di-*tert*-butyl-diméthylsilane (DTBMS), le diméthylthexylsilane (TDS)⁵⁹ et le 2-Naphtylméthyl (NAP) couramment utilisé au laboratoire sur d'autres structures. Le but étant de comparer ces différentes voies et d'adopter la meilleure pour notre synthèse. Un clivage des aglycones sera alors nécessaire avant l'activation en donneur **227**.

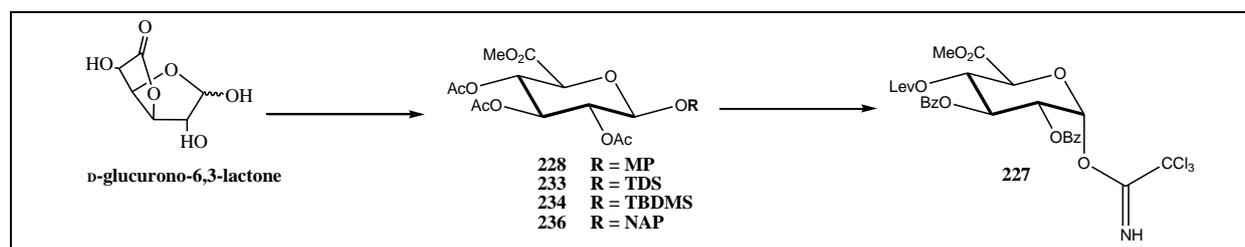


Schéma IV- 10

Après ouverture et acétylation de la lactone (schéma IV-11), nous avons obtenu le mélange α/β -tétracétate **215** (52%) et nous avons isolé le β -tétracétate **215b** après cristallisation fractionnée (31%). Une glycosylation directe de **215b** avec le 4-méthoxyphénol (MPOH) en présence de triflate de triméthylsilyle (TMSOTf) et de tamis moléculaire 4Å afin de capter l'eau résiduelle nous a alors donné accès au Méthyl 4-méthoxyphényl 2,3,4-tri-*O*-acétyl- β -D-glucopyranosiduronate **228** avec 63% de rendement.

Une transestérification avec du méthanolate de sodium (MeONa) dans le méthanol a alors donné le triol **229** (69%). Ce dernier a été dibenzoylé régiosélectivement⁵⁸ en présence d'oxyde de dibutylétain (Bu₂SnO) dans le toluène à reflux (Dean-Stark), puis de chlorure de benzoyle (BzCl) et de triéthylamine (Et₃N), et le composé 2,3-di-*O*-benzoylé **230** a été obtenu majoritairement avec des sous-produits tri-*O*-benzoylés et 2,4- et 3,4-di-*O*-benzoylés pouvant être recyclés par une transestérification (42% de **230** obtenu après un recyclage).

⁵⁷ Bindschädler P.; Noti C.; Castagnetti E.; Seeberger P. H. *Helv. Chim. Acta* **2006**, 89, 2591-2610

⁵⁸ Blatter G. ; Jacquet J.-C. *Carbohydr. Res.* **1996**, 288, 109-125

⁵⁹ Mar Kayser M. ; De Paz J.L. ; Nieto P.M. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 2138-2147

Une lévulinoylation de l'hydroxyle libre avec de l'acide lévulinique en présence de 1,3-Dicyclohexylcarbodiimide (DCC) et de 4-diméthylaminopyridine (DMAP) donne alors le composé **231** avec 93% de rendement. Enfin, une coupure oxydante du 4-méthoxyphényl glycoside avec du Nitrate d'Ammonium Cérique (CAN : $(\text{NH}_4^+)_2\text{Ce}^{4+}(\text{NO}_3^-)_6$)⁶⁰ nous a permis d'obtenir l'hémiacétal intermédiaire puis, une trichloroacétimidoylation de Schmidt a fourni le précurseur D-glucuronique donneur désiré **227** (79% sur les 2 étapes).

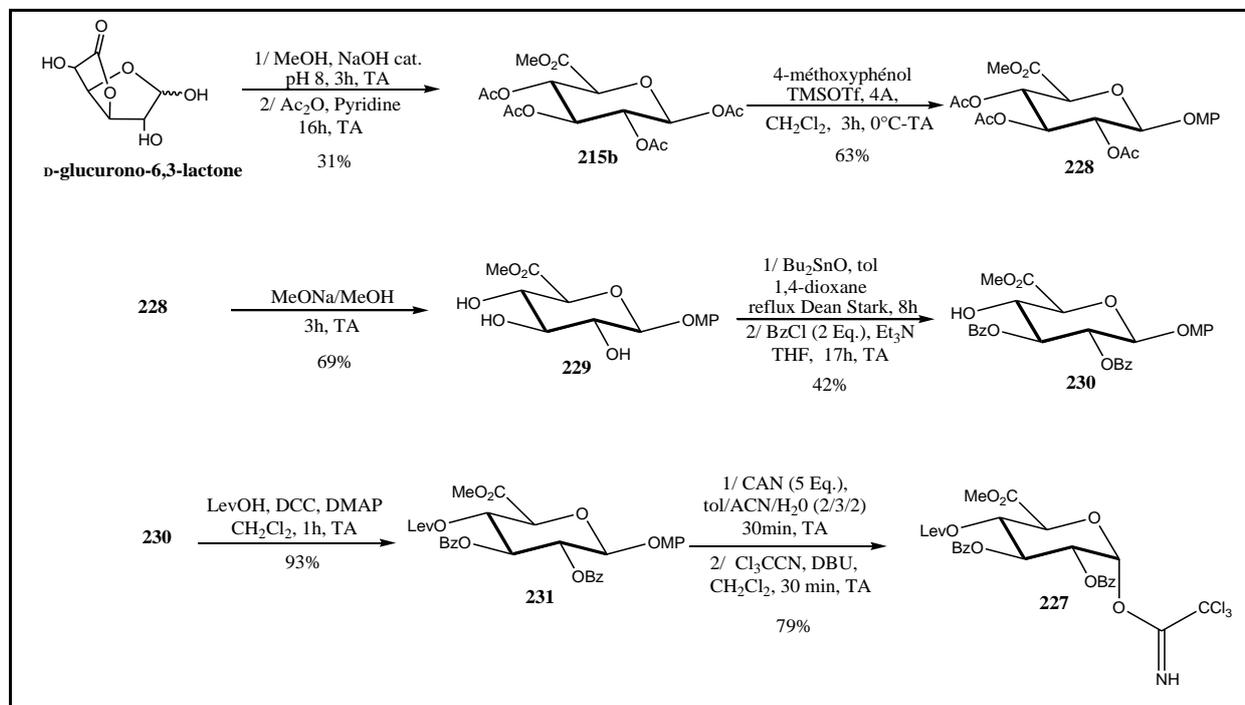


Schéma IV- 11

A la première étape de synthèse, une quantité non négligeable de mélange α/β -tétracétyl-D-glucopyranosyluronate **215** (schéma IV-12) s'étant formé à partir de la D-glucurono-6,3-lactone, et afin d'exploiter au mieux ces composés, nous avons procédé à une glycosylation « indirecte », avec différents accepteurs aglycones : le chlorure de di-*tert*-butyl-diméthylsilane (TBDMSCl), le chlorodiméthylthexylsilane (TDSCl) et le 2-Naphtalène méthanol (NAPOH).

Pour ce faire, il a fallu déprotéger la position anomérique du mélange α/β tétracétyl-D-glucopyranosyluronate (schéma IV-11). Ainsi, une *O*-déacylation sélective de l'acétate anomère avec de l'acétate d'hydrazine⁶¹ dans le DMF anhydre a donné l'hémiacétal intermédiaire **232** (67%). Celui-ci a été, soit protégé en présence d'imidazole à -20°C dans le CH_2Cl_2 avec le DTBDMSCl ou le TDSCl pour donner les glycosides **233** (84%) et **234** (62%), respectivement. Soit, l'hémiacétal **232** a subi une activation de la position anomérique avec du trichloroacétonitrile (Cl_3CCN) en présence de DBU dans le CH_2Cl_2 pour conduire au trichloroacétimide **235** (75%). Puis, la glycosylation avec le 2-Naphtalène méthanol (NAPOH), en présence de triflate de triméthylsilyle (TMSOTf), a donné le glycoside désiré **236** avec 47% de rendement.

⁶⁰ Fukayama T.; Laird A. A.; Hotchkiss L. M. *Tetrahedron Lett.* **1985**, 26, 6291-6292

⁶¹ Excoffier G.; Gagnaire D.; Uille J.-P. *Carbohydr. Res.* **1975**, 39, 368-373

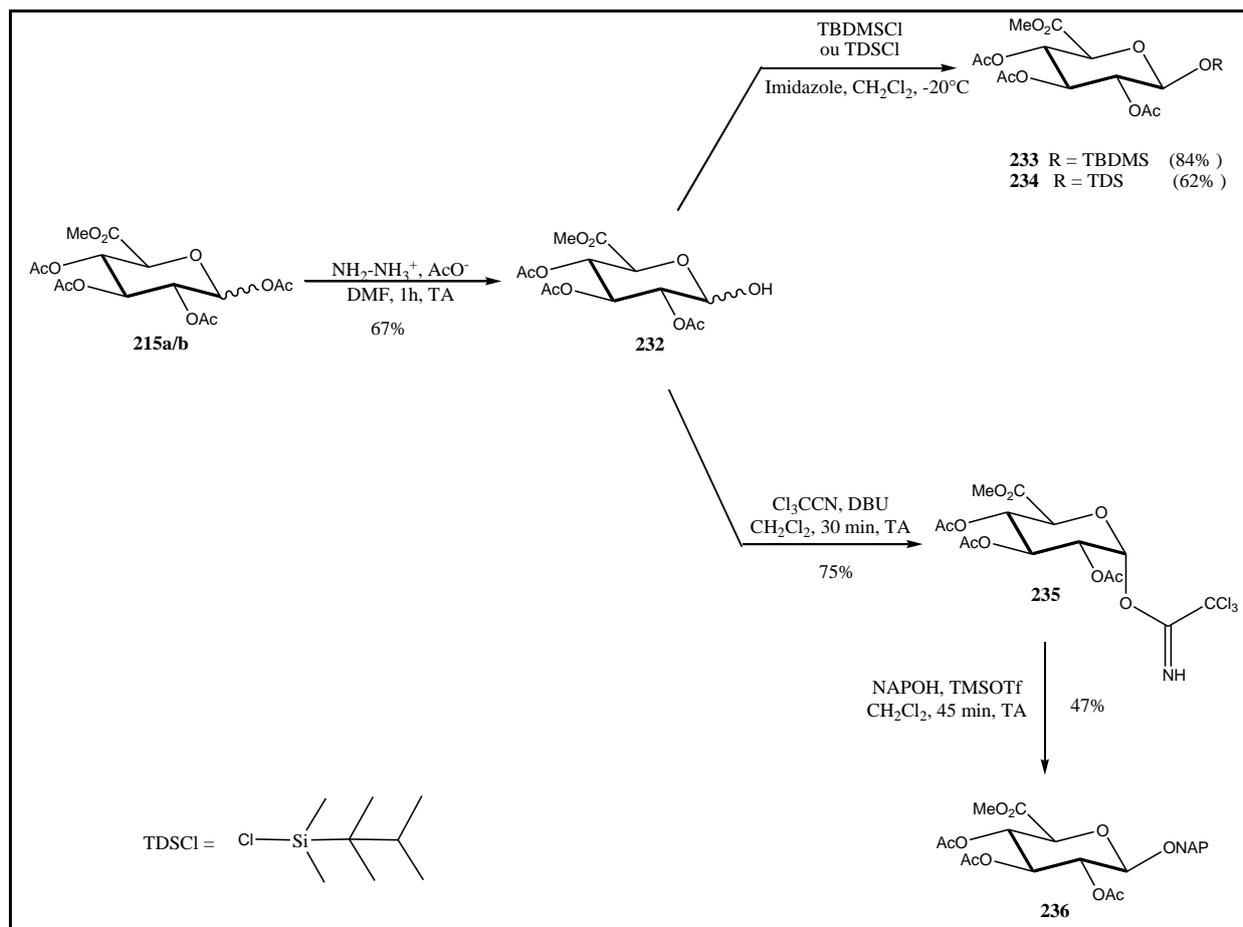


Schéma IV- 12

La transestérification des composés **233** et **234** n'a pas montré de résultats concluants (schéma IV-13). En effet, le rendement était faible dans le cas du TDS *O*-glycoside (32% de **238** formé) et il s'est formé un mélange α/β **237** inexplicé, dans le cas du TBDMS *O*-glycoside et ce, même dans des conditions douces (K_2CO_3 à 0°C).

Ainsi, bien que décrite dans la littérature⁵⁹, cette voie ne s'est pas montrée reproductible, nous l'avons donc abandonnée et poursuivi la synthèse du précurseur D-glucuronique **227** avec la série NAP.

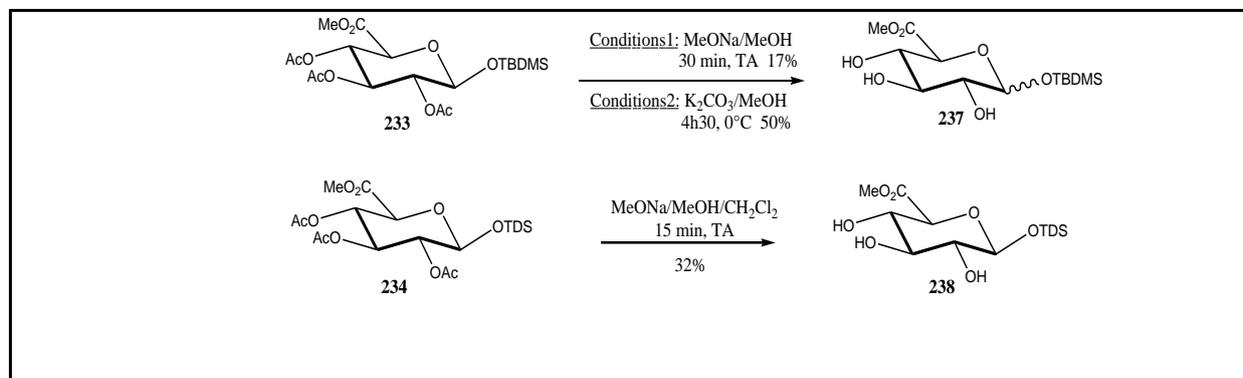


Schéma IV- 13

La même procédure de synthèse réalisée pour la série *O*-MP a été appliquée pour le glycoside *O*-NAP (schéma IV-14), la différence consistant en la coupure oxydante du *O*-NAP glycoside libérant la position anomérique. Pour ce faire, nous avons utilisé du 2,3-Dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone (DDQ)⁶², puis une trichloroacétimidoylation de Schmidt a permis d'activer la position anomérique donnant le précurseur glucuronique **227** (50% sur les 2 étapes).

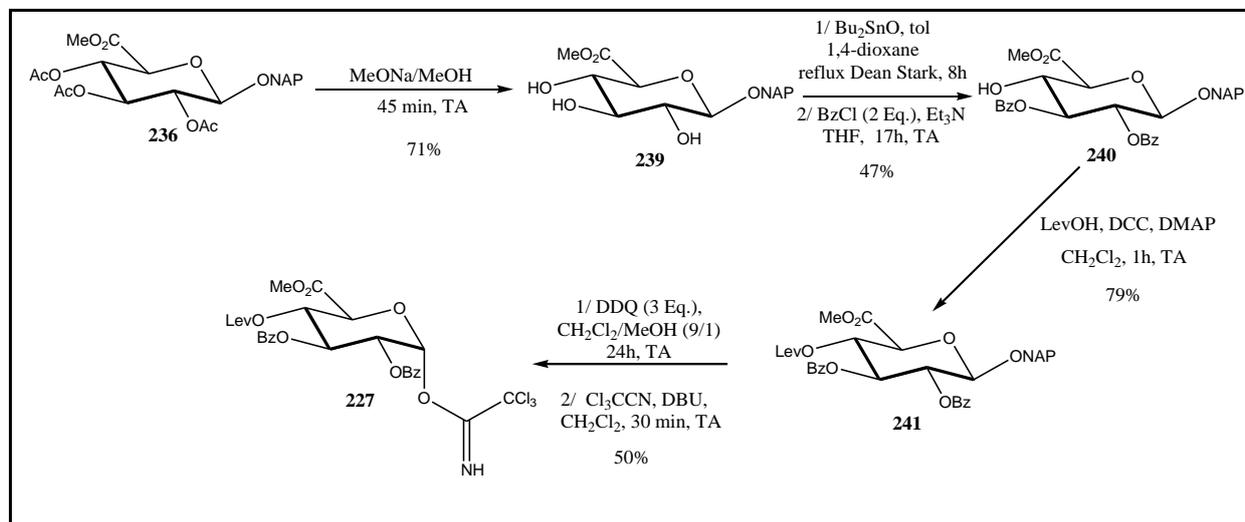


Schéma IV- 14

Nous avons ainsi obtenu le précurseur *D*-glucuronique **227** en 7 et 9 étapes avec un rendement global de 5% et 2% pour les séries MP et NAP, respectivement.

Le précurseur *D*-glucuronique **227** a également été synthétisé par une autre méthode (schéma IV-15) par Anaïs Mirault, stagiaire de Master 1 au laboratoire. Ainsi, en partant du *D*-glucose, une peracétylation en présence d'acétate de sodium a fourni le β -peracétate **242** (52%). Une glycosylation directe avec le MPOH en présence de TMSOTf a alors conduit au glycoside **243** avec 72% de rendement. Une transestérification de **243** avec du MeONa a donné le tétrol **244** (98%) qui a subi une transacétalation régiosélective en présence de diméthoxytoluène $\text{PhC}(\text{OMe})_2$ et de CSA conduisant à l'acétal benzylidène **245** (93%) dont les positions 2 et 3 ont été benzoylées avec du BzCl dans la pyridine (83%). Une hydrolyse acide a alors conduit au diol **247** (83%). L'alcool primaire a ensuite été oxydé sélectivement avec du TEMPO et du BAIB ($\text{PhI}(\text{OAc})_2$)⁵⁶ pour donner l'acide **248** (61%).

L'acide **248** est alors estérifié avec de l'iodure de méthyle (MeI) en présence de K_2CO_3 dans le DMF donnant ainsi l'alcool **230** (87%). A partir de là, le composé **230** est soumis aux mêmes réactions décrites précédemment (lévulinoylation, coupure oxydante du MP *O*-glycoside et trichloroacétimidoylation) pour aboutir au précurseur *D*-glucuronique **227** désiré.

⁶² Xia J.; Abbas S. A.; Locke R. D.; Piskorz C. F.; Alderfer J. L.; Matta K. L. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 169-173

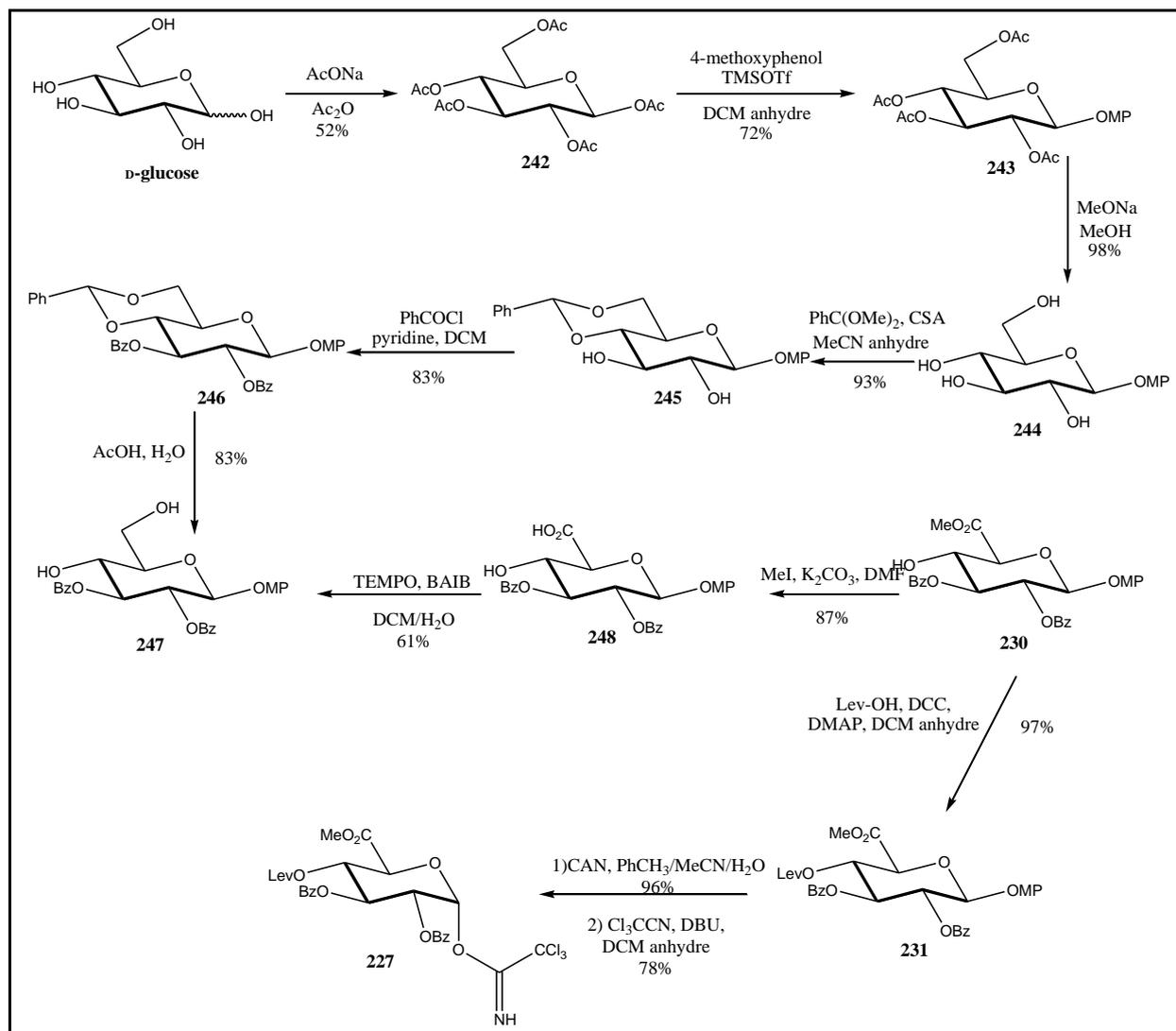


Schéma IV- 15

Ainsi, cette voie de synthèse partant du D-glucose conduit au précurseur D-glucuronique **227** en 11 étapes avec 9% de rendement. Comparativement à la voie de synthèse partant de la 6,3-D-glucuronolactone (5% en 7 étapes), nous obtenons un rendement global relativement meilleur malgré un nombre d'étapes supérieures, cette voie de synthèse semble donc être meilleure pour l'obtention du précurseur D-glucuronique **227**.

IV-3 PREPARATION DES PRECURSEURS D-GALACTOSYLES 249 ET 250.

Les précurseurs D-galactosyles **249** et **250** portent les mêmes groupements protecteurs sur les positions 2, 4 et 6 (figure IV-1). La position anomérique de ces composés comporte cependant deux groupements différents. Le groupement MP de Gal2 **249** central a été choisi pour une protection temporaire, clivable. Le bras éthanolamine de Gal1 **250** servira d'amorce à la biotine sur l'extrémité réductrice des oligosaccharides cibles.

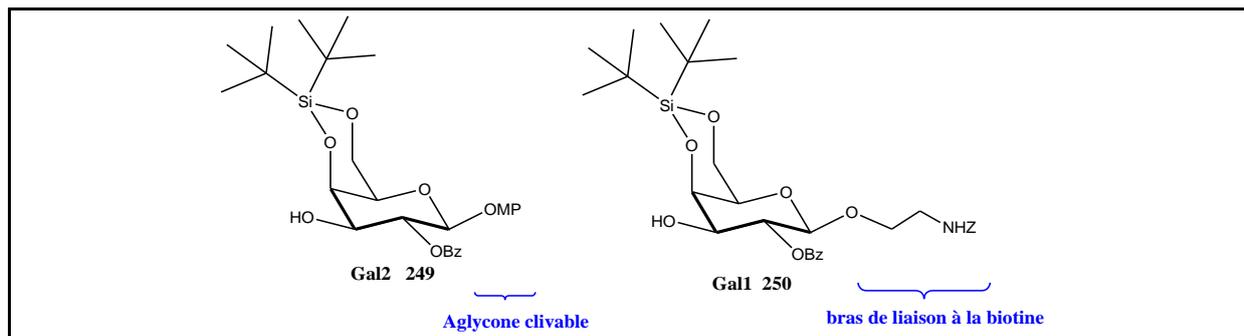


Figure IV- 1

La préparation des précurseurs D-galactosyles Gal1⁶³ **250** et Gal2³¹ **249** a été réalisée à partir du D-Gal commercial (schéma IV-16). Une peracétylation avec de l'anhydride acétique en présence d'acétate de sodium à 100°C a fourni le β-pentacétate **251** (41%). Celui-ci a alors été soit directement glycosylé avec le 4-méthoxyphénol en présence de TMSOTf de 0°C à TA, pour donner le composé **252** (81%), précurseur de Gal2, soit O-déacétylé sélectivement sur l'acétate anomère avec de l'acétate d'hydrazine dans le DMF anhydre pour conduire à l'hémiacétal intermédiaire qui a été activé en trichloroacétimidate **253** en présence de Cl₃CCN et de DBU (78% sur les deux étapes). Une glycosylation en présence TMSOTf avec l'éthanolamine N-protégée par le groupement benzyloxycarbonyle a alors mené au composé **254** (70%), précurseur de Gal1.

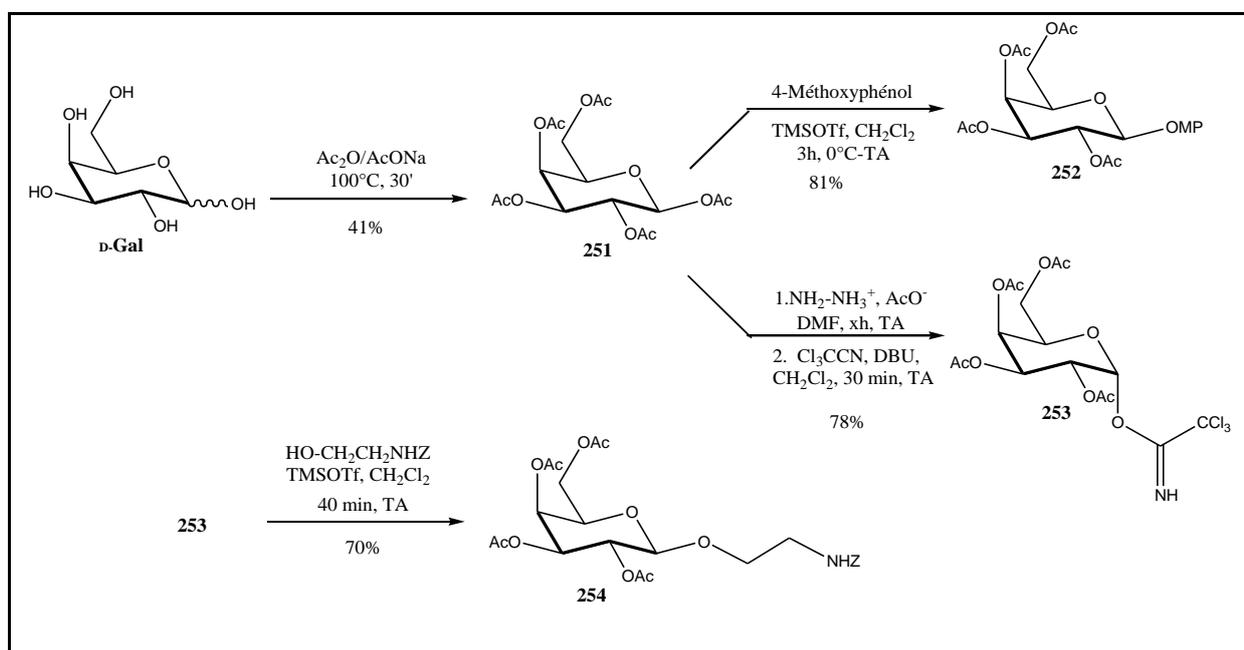


Schéma IV- 16

Une transestérification de **252** et **254** (schéma IV-17) a ensuite libéré les tétrols **255** (100%) et **256** (97%). Puis, une protection des hydroxyles 3,4 et 6 a été réalisée avec le 2,2-diméthoxypropane en présence d'acide 10-camphoresulfonique (CSA)⁶⁴ pour donner

⁶³ Ait-Mohand K. ; Lopin-Bon C. ; Jacquinet J.-C. *Carbohydr. Res.* **2012**, 353, 33-48

⁶⁴ Catelani G.; Colonna F.; Marra A. *Carbohydr. Res.* **1988**, 182, 197-300

directement les diacétals désirés **259** (65 %) et **260** (70%) et les 2,6-diol **257** (16%) et **258** (10%), qui sont retraités dans les mêmes conditions pour reconduire aux diacétals correspondants, ce qui augmente le rendement à 75% et 76%.

Une benzylation de la position 2 libre avec du chlorure de benzoyle dans le mélange pyridine/CH₂Cl₂ à 0°C a fourni les composés **261** (90%) et **262** (87%), puis une hydrolyse acide avec de l'acide acétique à reflux a libéré les triols désirés **263** (82%) et **264** (70%). Un traitement avec le ditriflate de di-*tert*-butylsilyl (DTBS diOTf) et la 2,6-lutidine dans le CH₂Cl₂ a alors donné les accepteurs **249** (89%) et **250** (69%), précurseurs de Gal2 et Gal1, respectivement.

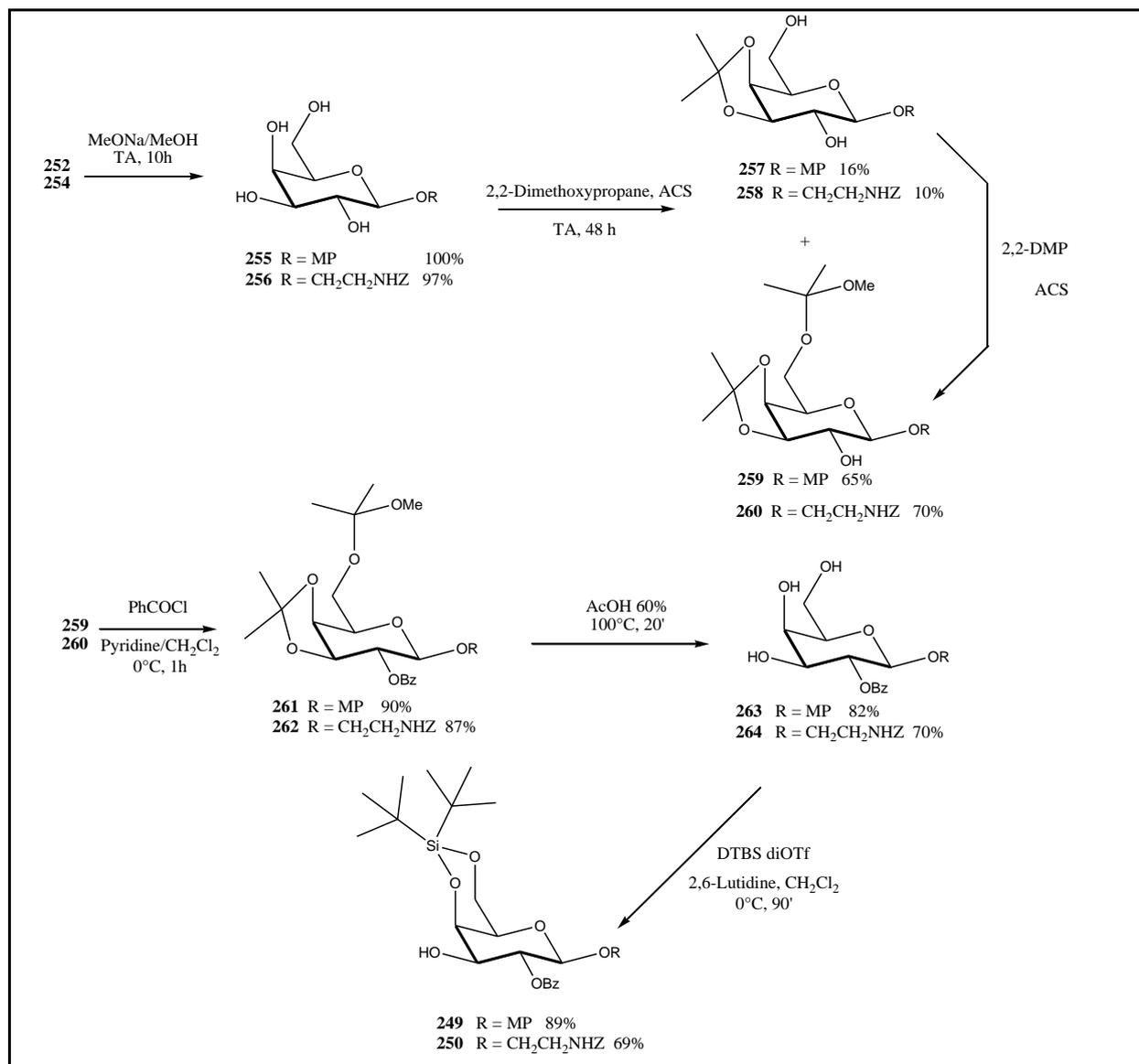


Schéma IV- 17

Ainsi, les précurseurs clé de Gal1 **250** et Gal2 **249** ont été obtenus en 9 et 7 étapes, respectivement avec des rendements globaux de 7 % et 16 %.

IV-3 PREPARATION DES BLOCS DISACCHARIDIQUES.

Une fois obtenus, les monosaccharides précurseurs clés **227**, **249** et **250** ont servi à la construction du squelette oligosaccharidique. Dans un premier temps, les précurseurs **227** et **249** ont été utilisés pour la construction des disaccharides (schéma IV-18). Une glycosylation de ces deux précurseurs en présence de TMSOTf dans le CH_2Cl_2 a donné le premier disaccharide **265** (92%). Une déprotection sélective de l'acétal silylène avec le complexe de triéthylamine trihydrofluorure ($\text{Et}_3\text{N}\cdot 3\text{HF}$) à 0°C dans le THF a fourni le bloc disaccharidique commun **266** (83%) aux deux séries de composés finaux : les oligosaccharides non sulfatés et monosulfatés en 4 ou 6 de Gal1 et les oligosaccharides monosulfatés en 4 ou 6 de Gal2.

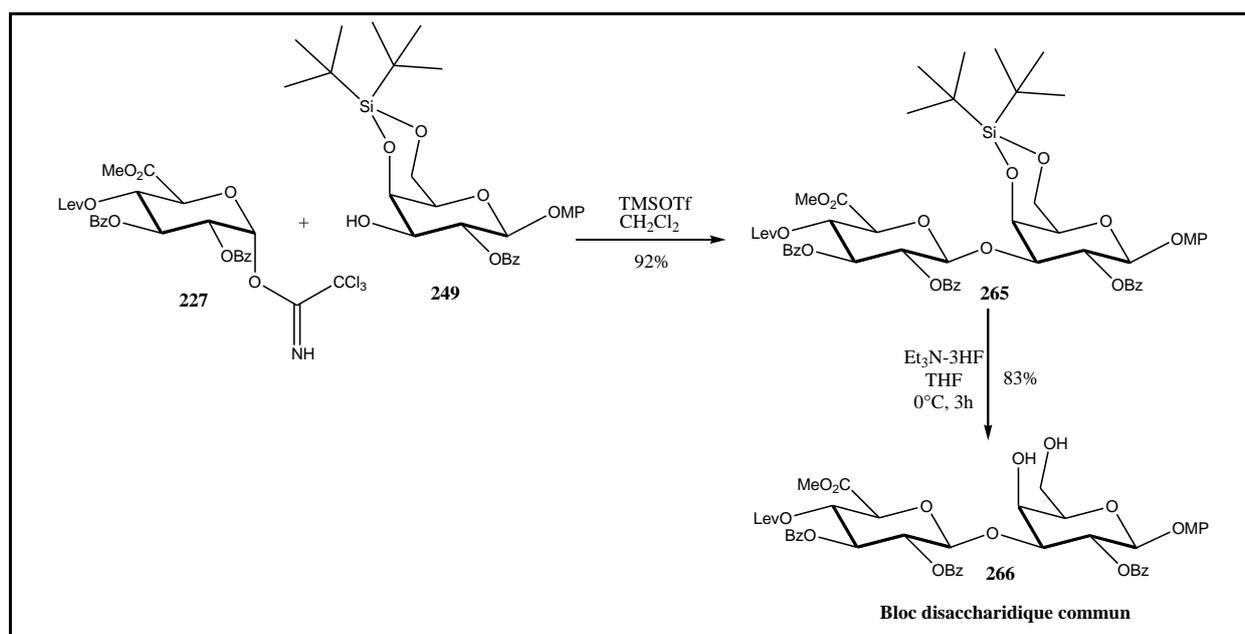


Schéma IV- 18

Afin d'accéder aux composés non sulfatés et sulfatés sur Gal1, le diol **266** a été protégé avec le groupement permanent benzoyle, tandis que la protection de **266** avec le groupement temporaire chloroacétyle, permettra l'accès aux oligosaccharides sulfatés sur Gal2 (schéma IV-19).

Ainsi, la benzylation en présence de chlorure de benzoyle dans le mélange pyridine/ CH_2Cl_2 à 0°C a donné le disaccharide **267** (94%). Une coupure oxydante du MP *O*-glycoside avec du CAN dans le mélange ternaire toluène/acétonitrile/eau a donné l'hémiacétal intermédiaire **270** (85%). Puis, une trichloroacétimidoylation de Schmidt a permis d'aboutir au disaccharide donneur **271** (76%).

La protection du diol **266** avec du $(\text{ClAc})_2\text{O}$ dans le mélange pyridine/ CH_2Cl_2 à 0°C a donné le disaccharide **268** (90%), puis une coupure oxydante du MP *O*-glycoside suivie d'une trichloroacétimidoylation dans les mêmes conditions que pour **267** a alors donné le disaccharide donneur chloroacétylé **272** (57% sur les deux étapes).

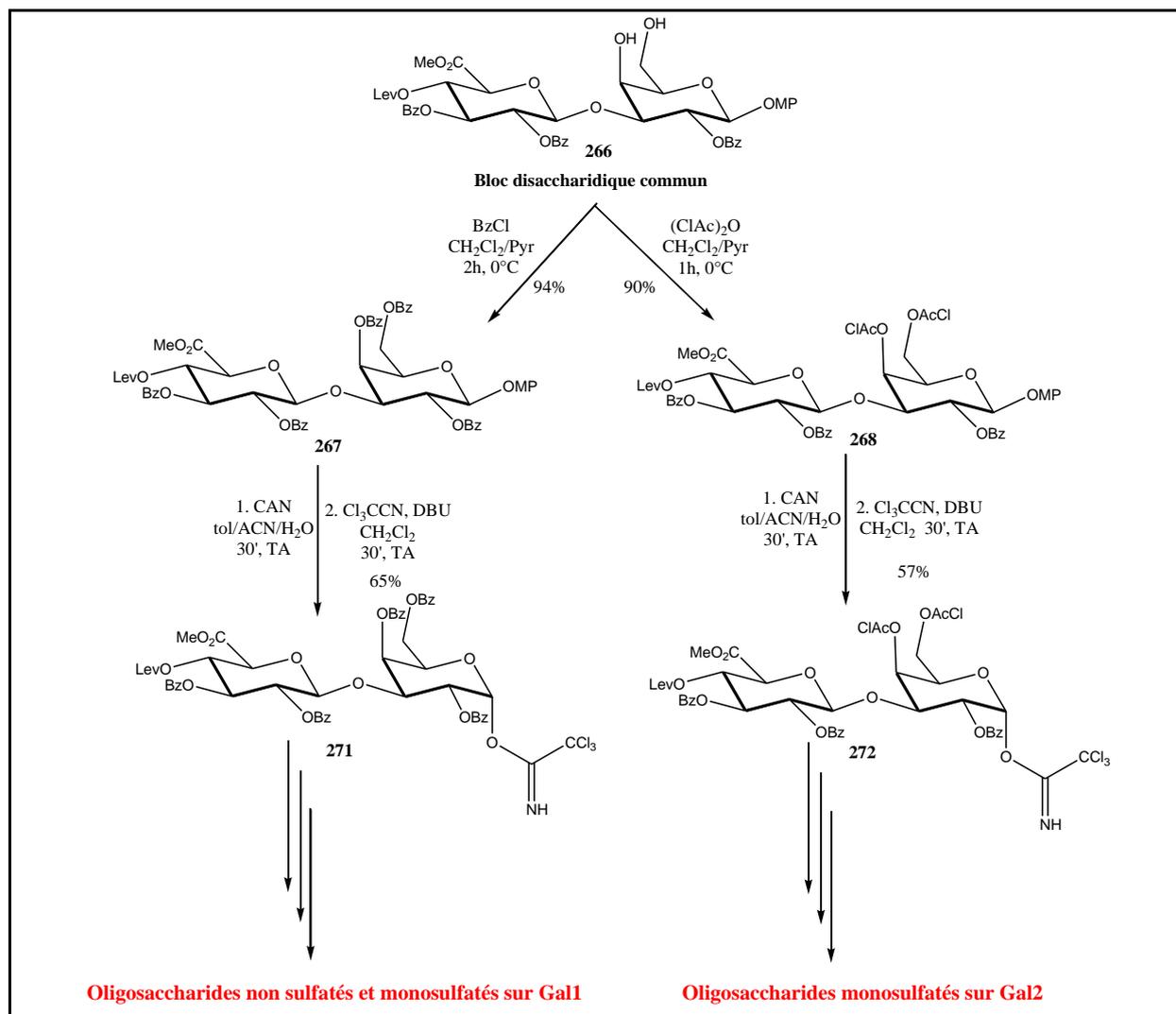


Schéma IV- 19

Lors de la coupure oxydante du MP *O*-glycoside du disaccharide **267** avec le CAN, l'hémicétal **270** a été obtenu avec 60% de rendement et nous avons observé la migration du 2-OBz en position 1 formant ainsi le disaccharide **269** (30%) (schéma IV-20) dont la structure a été confirmée par RMN avec un doublet à 6,62 ppm et une constante de couplage $J_{1,2} = 2,25$ Hz, correspondant à la présence d'un groupement électroattracteur en 1 et d'anomérie α (figure IV-2).

Il est cependant possible de faire migrer le groupement Bz en présence d'une base, la DBU, de la position 1 à la position 2 (schéma IV-20), ce qui remonte le rendement à 85%.

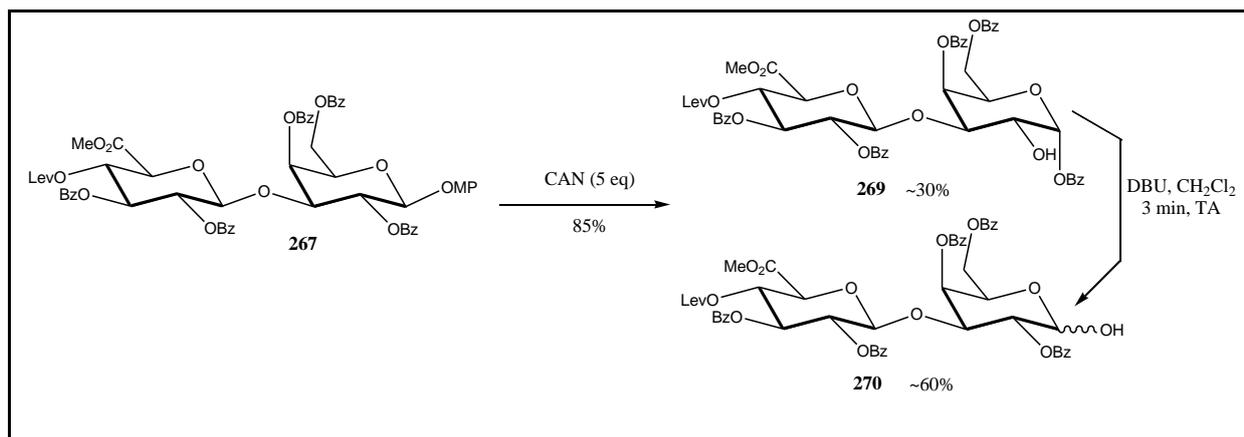


Schéma IV- 20

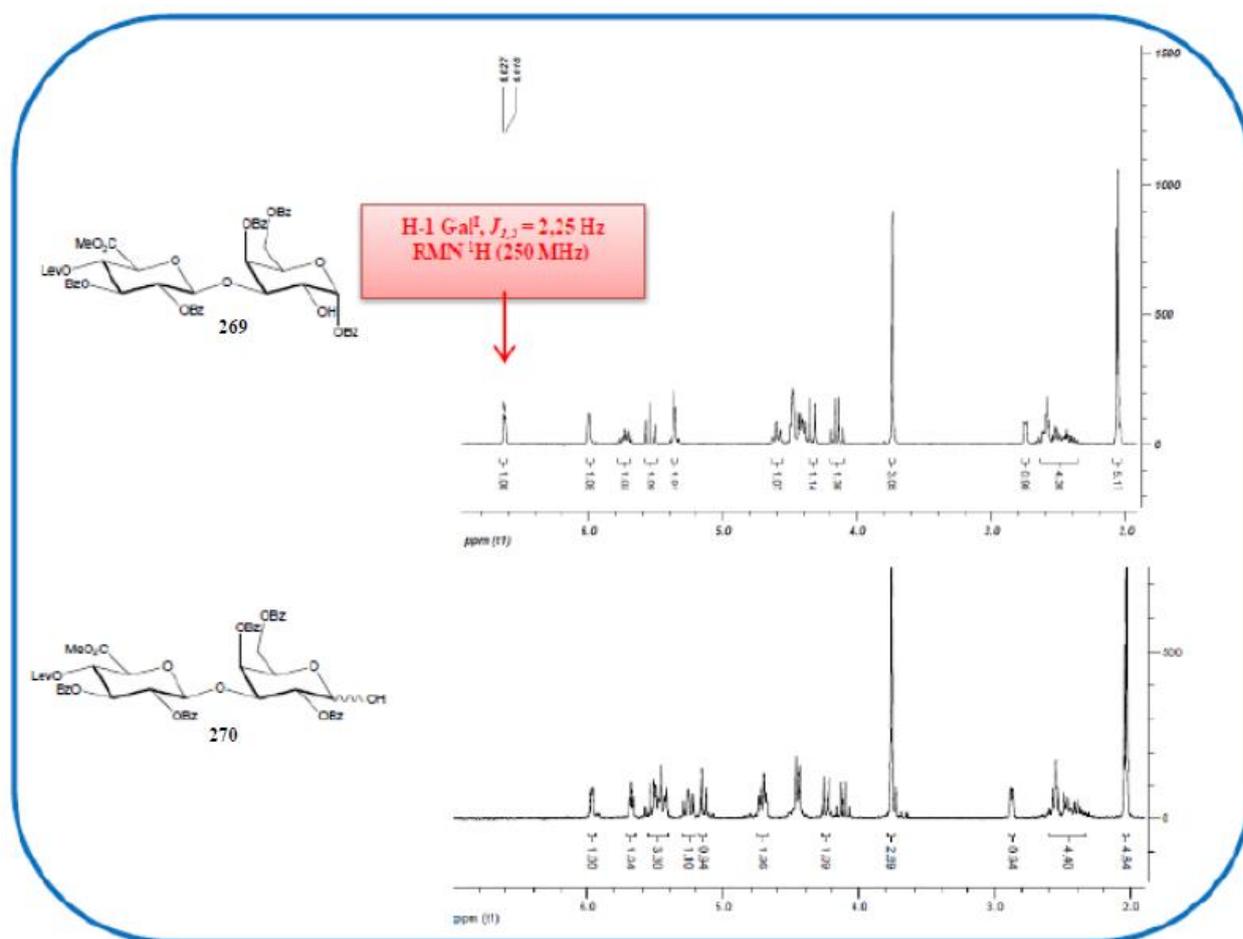


Figure IV- 2

Ce phénomène s'explique de la manière suivante : la coupure oxydante au CAN génère la formation d'un di-cation (schéma IV-21). Ce dernier est soit attaqué par l'eau présente dans le milieu pour former l'hémiacétal désiré **270**, soit le carbone anomère du di-cation est attaqué par l'oxygène du groupement participant Bz en position 2, formant un

hémiorthoester qui en milieu acide peut se réarranger en composé **269**⁶⁵. En présence de DBU, le groupement Bz migre cette fois-ci de la position 1 axiale à la position 2 équatoriale, plus stable, et redonne ainsi l'hémiacétal **270**.

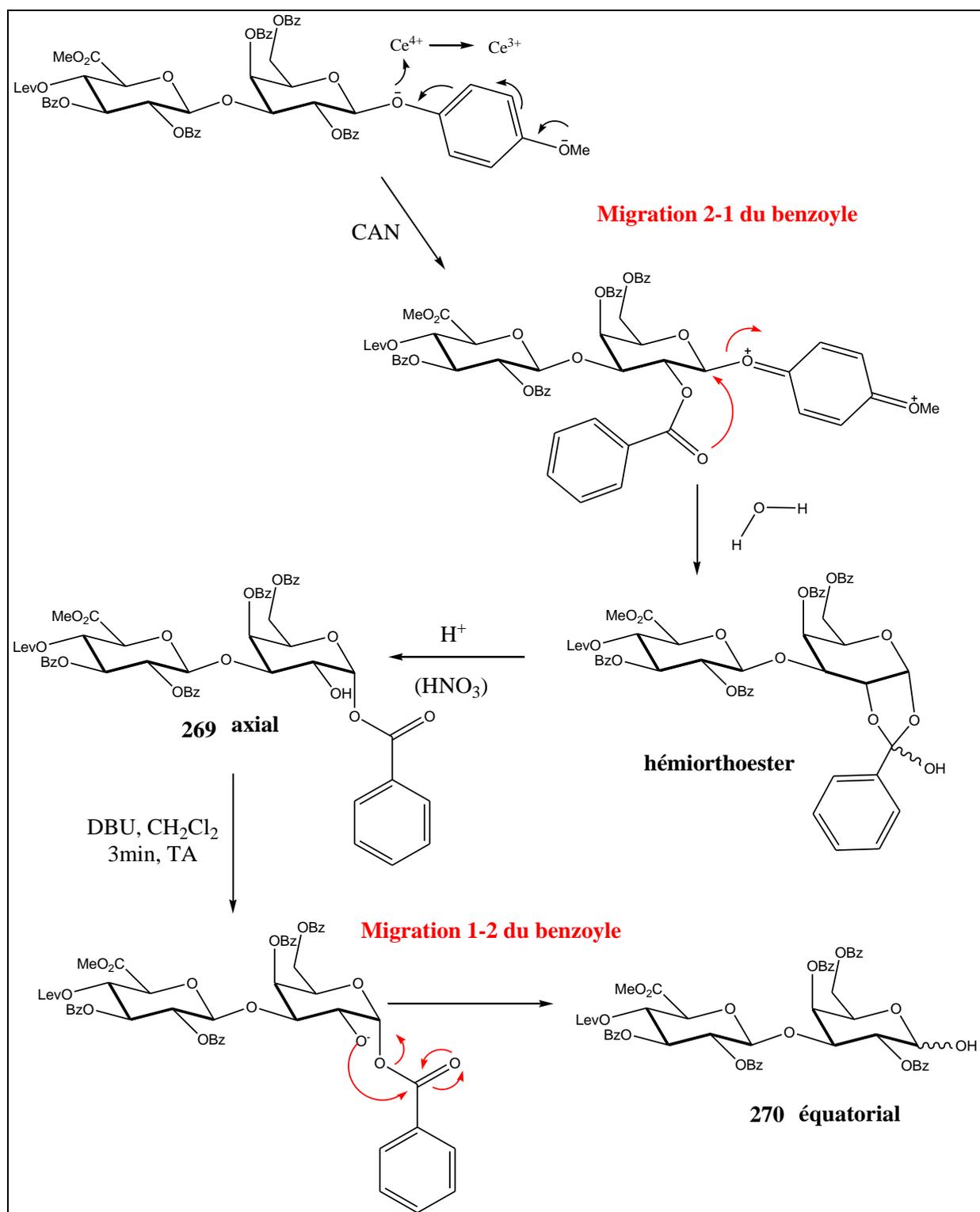


Schéma IV- 21

⁶⁵ King J. F.; Allbutt A. D. *Can. J. Chem.* **1970**, *48*, 1754-1769

Cette migration ayant lieu systématiquement, nous avons donc adapté le protocole pour faire migrer le benzoyle en position 1, sans étape de purification intermédiaire. Ainsi, après extraction et séchage, la DBU est ajoutée au mélange réactionnel pendant 3 min dans des conditions anhydres. L'hémiacétal ainsi obtenu a été purifié, isolé et engagé dans une étape de trichloroacétymidoylation de Schmidt pour donner l'imidate **271**.

Cette migration du benzoyle en 2 sur la position 1, n'a cependant pas été observée dans le cas du disaccharide acétylé **268** et du monosaccharide D-GlcA **231**.

Nous avons ainsi obtenu, à partir des monosaccharides **227** et **249**, les disaccharides donneurs **271** et **272** en 5 étapes avec respectivement 47% et 39% de rendements globaux.

IV-5 TRISACCHARIDES DE LA ZONE DE LIAISON BIOTINYLES.

Nous présentons ici la synthèse des trisaccharides biotinylés de la zone de liaison non sulfatés et monosulfatés sur Gal1 ou Gal2 (figure IV-3).

Nous développerons dans un premier temps, les synthèses menant au trisaccharide cible non sulfaté **204** et celles menant aux trisaccharides cibles **205** et **206**, monosulfatés en 4 ou 6 sur l'unité Gal1, puis nous décrirons les synthèses menant aux trisaccharides cibles **207** et **208**, monosulfatés en 4 ou 6 sur l'unité Gal2.

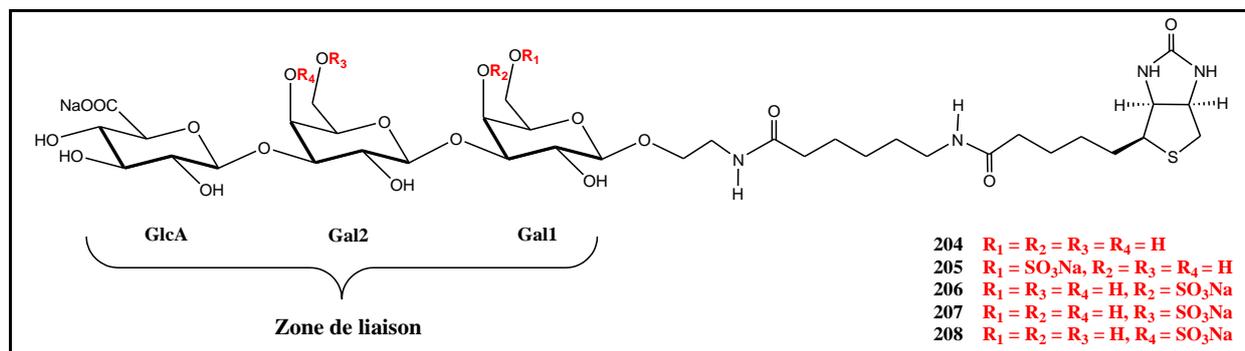


Figure IV- 3

IV-5.1 TRISACCHARIDES NON SULFATE ET SULFATES SUR GAL1.

A. PREPARATION DU TRISACCHARIDE CLÉ **273**.

Afin d'obtenir les oligosaccharides finaux non sulfaté et monosulfatés en 4 ou 6 sur Gal1 **204**, **205** et **206** (schéma IV-22), nous devons d'abord construire le trisaccharide clé **273**, précurseur du diol **274**, commun à ces trois composés finaux.

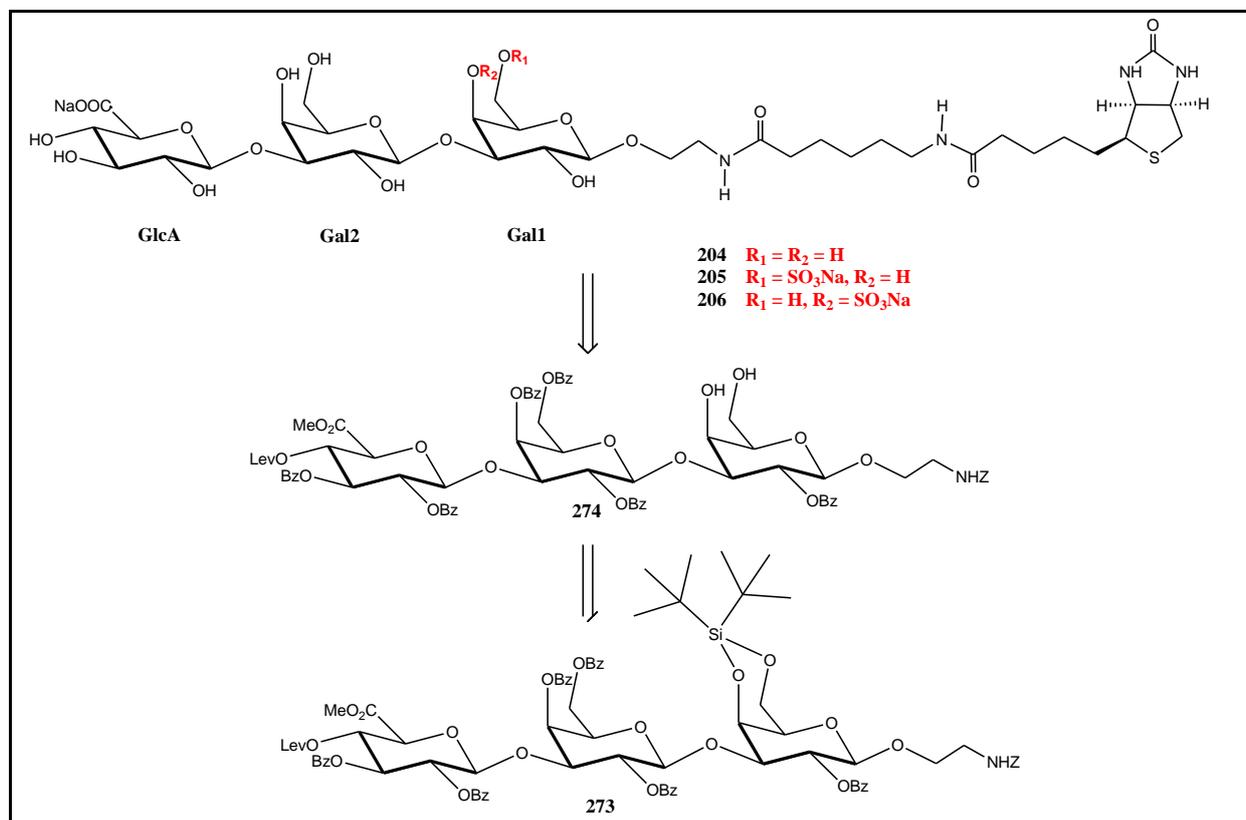


Schéma IV- 22

Pour ce faire, nous sommes partis du bloc donneur benzoylé **271** (schéma IV-23) que l'on a glycosylé avec le précurseur Gal1 **250** en présence de TMSOTf, nous avons ainsi obtenu le trisaccharide **273** (67%). Une désilylation sélective avec le complexe $Et_3N.3HF$ dans le THF a alors libéré le diol **274**, précurseur commun (99%).

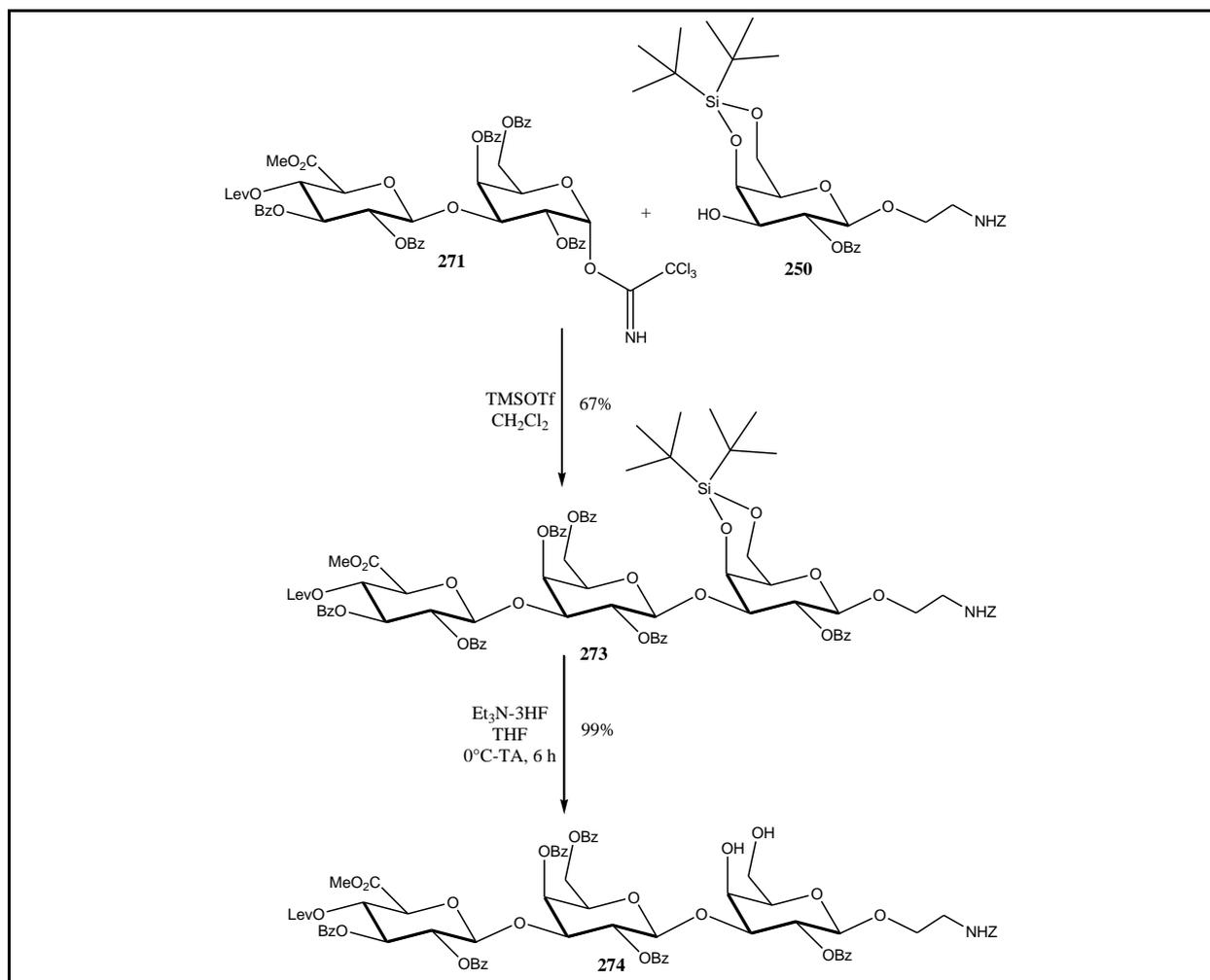


Schéma IV- 23

B. PREPARATION DU TRISACCHARIDE BIOTINYLE, NON SULFATE 204.

Afin d'obtenir le trisaccharide non sulfate (schéma IV-24), nous avons effectué une saponification du précurseur **274** afin de déprotéger les esters du sucre. En raison de la présence de l'ester méthylique sur l'unité D-GlcA, un risque de β -élimination était prévisible par l'utilisation de soude 4M. Il a donc fallu effectuer une saponification en deux temps^{66,67}. D'abord, une saponification sélective de l'ester méthylique par une solution de lithine et d'eau oxygénée (LiOH + H₂O₂ qui en solution donne LiOOH + H₂O). En effet, HOO⁻ avec un pKa de 11,6 est plus nucléophile et moins basique que HO⁻ (pKa = 15,8), ce qui permet d'éviter les risques de β -élimination. Ce risque étant éloigné, les autres esters ont été saponifiés par une solution de soude 4M et nous avons ainsi obtenu après purification sur LH-20 dans l'eau le trisaccharide déprotégé **275** (69%).

⁶⁶ Evans D. A.; Britton T. C.; Ellman J. A. *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 6141-6144

⁶⁷ Lucas H.; Basten J. E. M.; van Dinther Th. G.; Meuleman D. G.; van Aelst S. F.; van Boeckel C. A. A. *Tetrahedron* **1990**, 46, 8207-8228

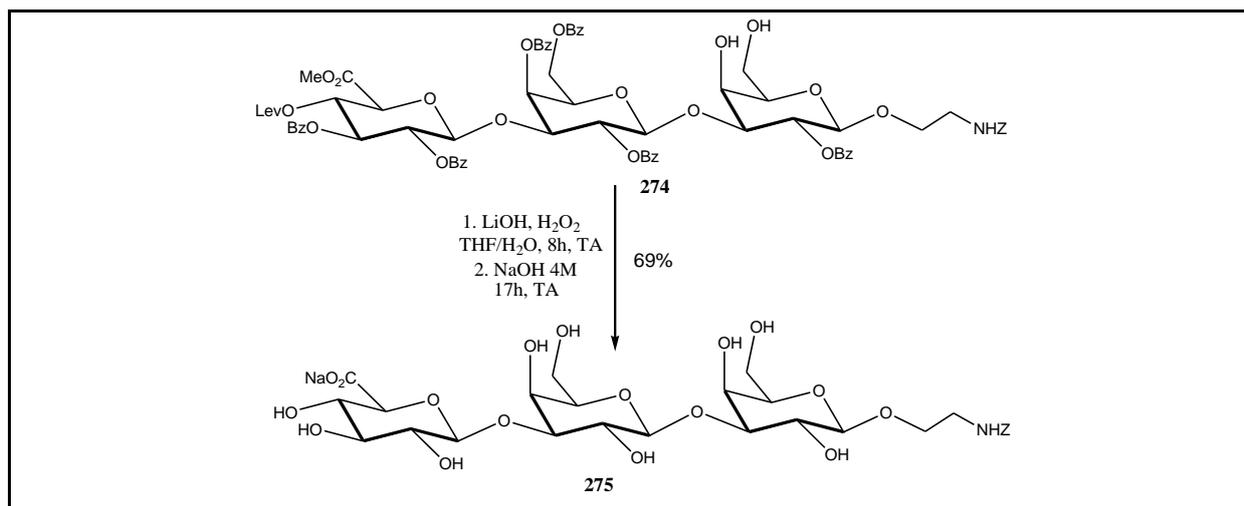


Schéma IV- 24

Le groupement benzyloxycarbonyl (Z) de **275** a ensuite été clivé par hydrogénolyse en présence de Pd/C libérant ainsi l'amine primaire non isolée (schéma IV-25). Nous avons ensuite réalisé une réaction de couplage avec un dérivé succinimide de la biotine dans un mélange eau/DMF/Et₃N. L'eau permet de dissoudre le sucre tandis que le DMF solubilise le dérivé biotinylé. Au contact de l'eau, ce dernier s'hydrolyse en sa forme acide. Ainsi, afin d'éviter la protonation de l'amine par l'acide libéré, nous avons ajouté la triéthylamine et nous avons obtenu le premier trisaccharide cible **204** avec 64% de rendement après purification (annexe 1).

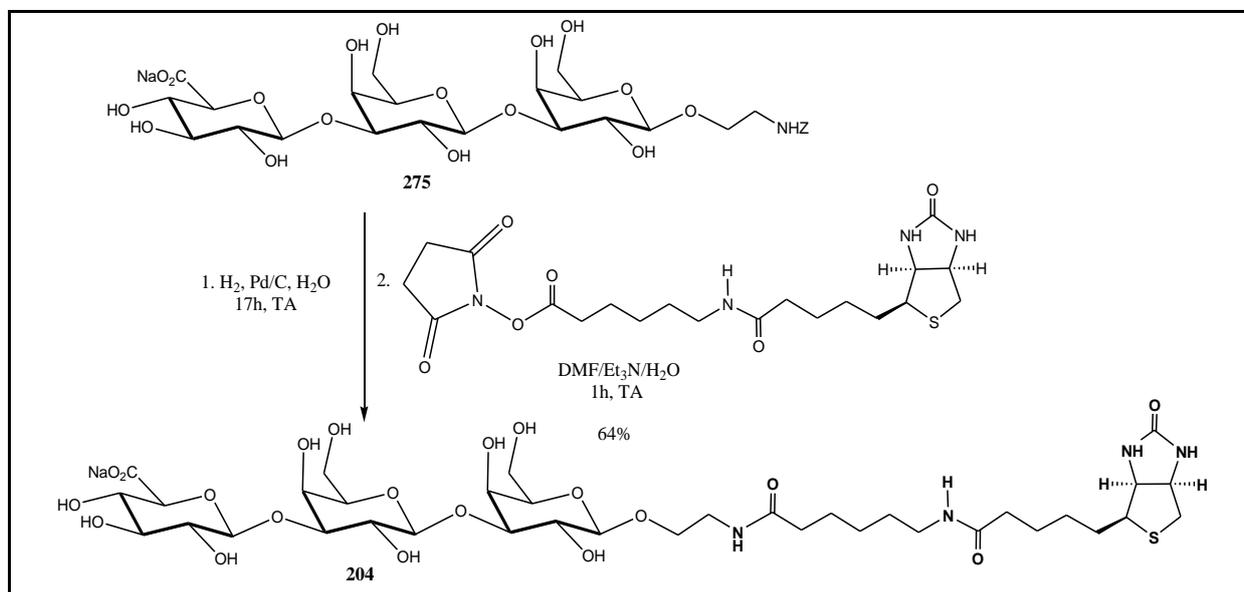


Schéma IV- 25

Le trisaccharide cible **204** a ainsi été obtenu en 5 étapes à partir de **271** et **250** avec un rendement global de 29%.

C. PREPARATION DU TRISACCHARIDE BIOTINYLE 6 SULFATE SUR GAL1 205.

La synthèse du trisaccharide cible **205**, sulfaté en 6 (schéma IV-26), a nécessité une sulfatation régiosélective du diol **274** avec le complexe d'anhydride sulfurique-triméthylamine ($\text{Me}_3\text{N}.\text{SO}_3$) dans le DMF à 40°C. Il est important de ne pas dépasser 40°C en température pour éviter les risques de sulfatation de la position 4. Nous avons ensuite réalisé une acétylation directe dans le but de confirmer la structure par RMN et un échange d'ion sur colonne sephadex SP-C25 [Na^+] a ensuite donné le sel de sodium **276** (71%).

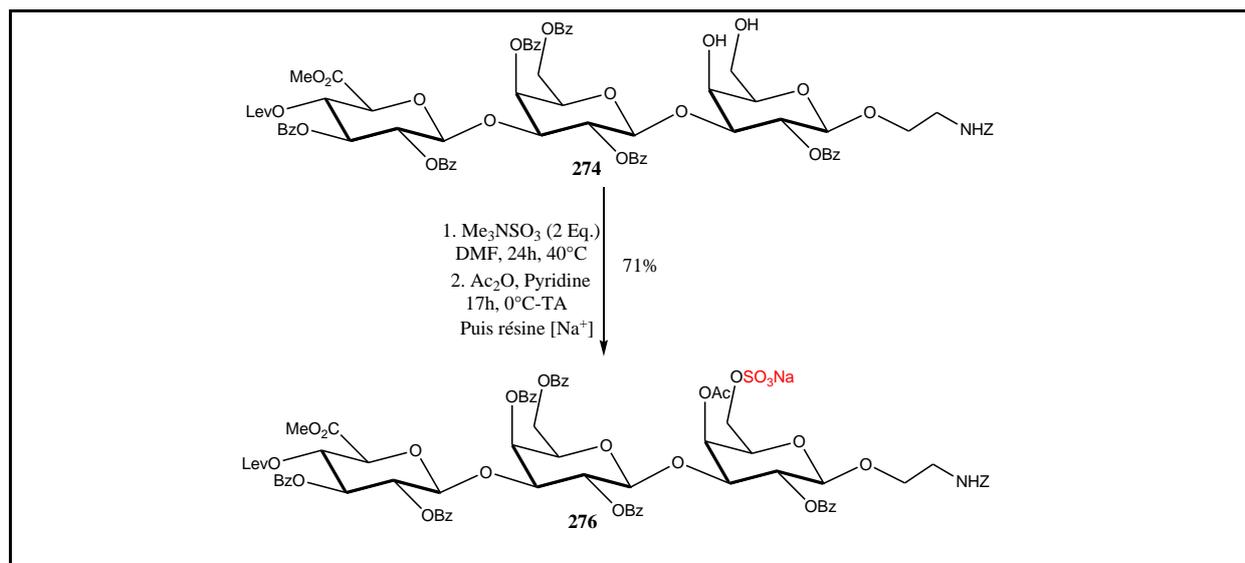


Schéma IV- 26

La sulfatation en 6 et l'acétylation en 4 ont été confirmées par la HRMS et par les spectres RMN ^1H et ^{13}C de **276** (tableau IV-1), et nous avons également observé un singulet intégrant pour trois protons à 2.06 ppm correspondant au groupement acétyle. Ainsi, comparativement aux protons 4 et 6 du diol **274**, il y a un déplacement vers des valeurs déblindées, ce qui prouve que ces hydroxyles portent des groupements électroattracteurs.

Trisaccharide	274	276
Protons Gal1 et δ (ppm)	H-4 (4,05-4,03)	H-4 (5,57)
	H-6 (3,82-3,47)	H-6 (4,12-3,90)
Carbones Gal1 et δ (ppm)	C-4 (68,79)	C-4 (71,11-71,01)
	C-6 (62,03)	C-6 (67,09)

Tableau IV- 1

Nous avons alors effectué une saponification de **276** en deux temps (schéma IV-27) comme décrit pour le diol **274** afin de déprotéger les esters du sucre (86%). Le groupement benzyloxycarbonyle (Z) de **277** a ensuite été clivé par hydrogénolyse en présence de Pd/C libérant ainsi l'amine primaire non isolée (schéma IV-27). Nous avons ensuite réalisé une réaction de couplage avec le dérivé succinimide de la biotine dans un mélange eau/DMF/ Et_3N

et nous avons obtenu, après purification, le trisaccharide cible 6 sulfaté et biotinylé **205** (71%) (annexe 2).

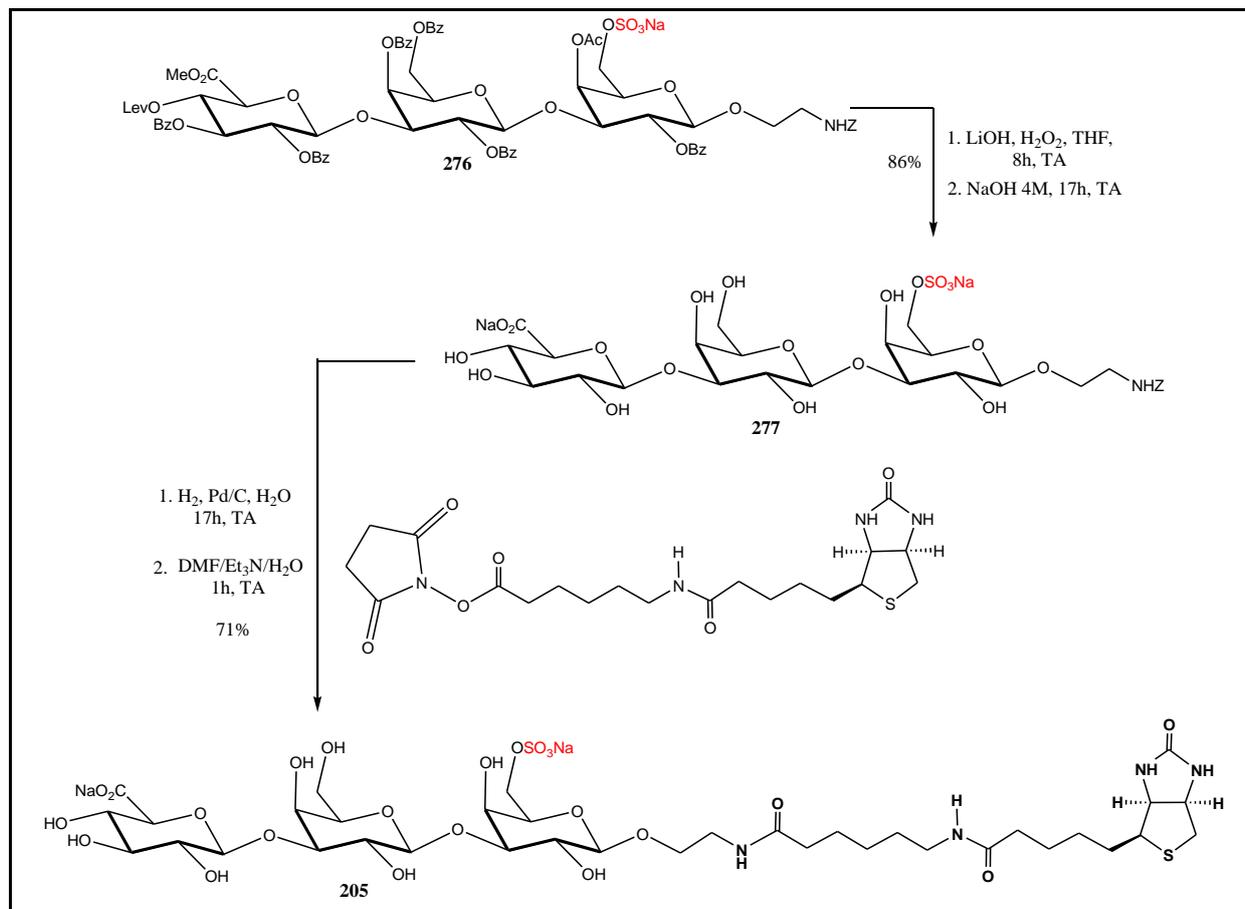


Schéma IV- 27

Le tétrasaccharide cible **205** a ainsi été obtenu en 7 étapes à partir de **271** et **250** avec un rendement global de 29%.

D. PREPARATION DU TRISACCHARIDE BIOTINYLE 4 SULFATE SUR GAL1 206.

La préparation des composés sulfatés en 4 (schéma IV-28) a nécessité la protection préalable de la position 6 réactive du diol **274**. Ainsi, une benzylation régiosélective a été réalisée avec du cyanure de benzyle (BzCN) dans la pyridine donnant le trisaccharide **278** avec 77% de rendement. Une sulfatation en position 4 avec un large excès de Me₃N.SO₃ à 60°C dans le DMF suivie d'une purification sur LH : 20 pour éliminer l'excès de réactif et de DMF et un échange d'ion ont alors été nécessaires pour obtenir le sel de sodium **279** (83%).

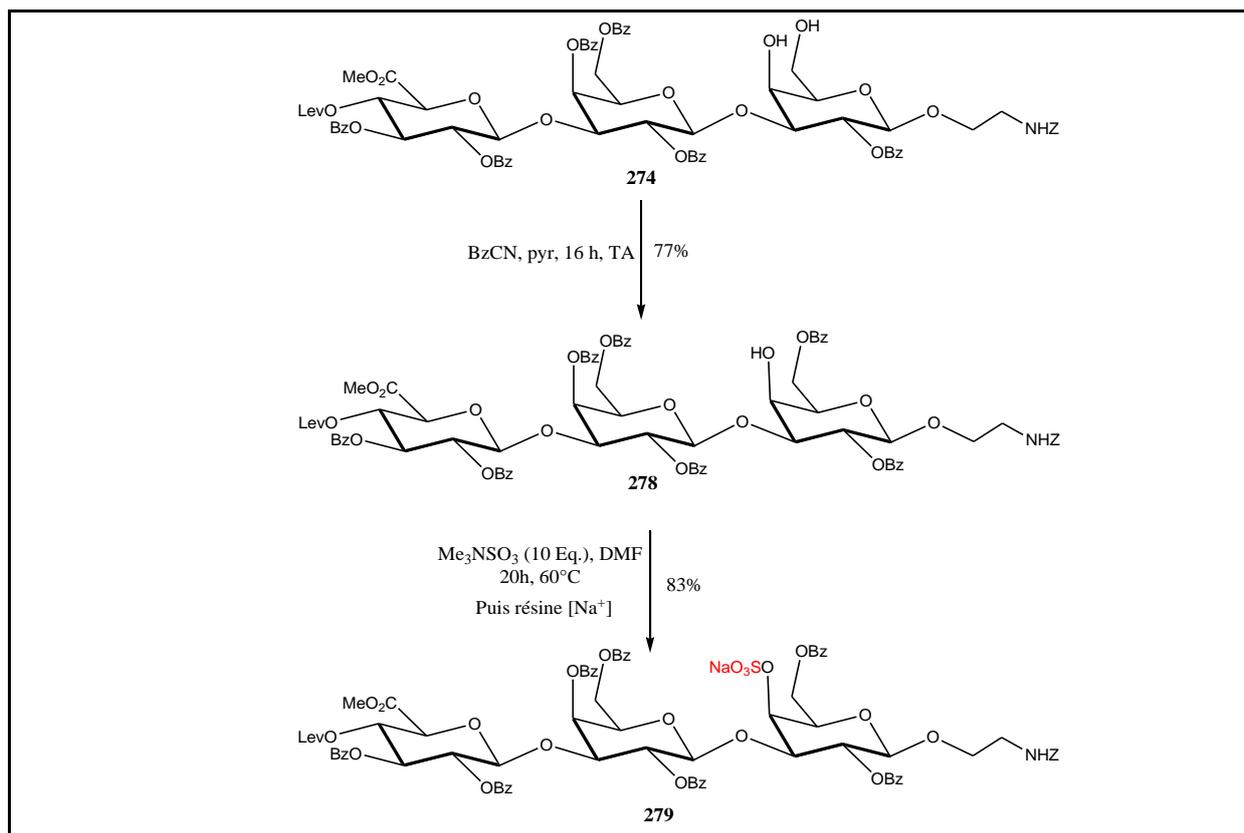


Schéma IV- 28

La sulfatation en 4 et la benzoylation en 6 ont été confirmées par la HRMS et par les spectres RMN ¹H et ¹³C de **279** (tableau IV-2). Comparativement aux protons 4 et 6 du diol **274**, il y a un déplacement vers des valeurs déblindées, ce qui prouve que ces hydroxyles portent des groupements électroattracteurs.

Trisaccharides	274	279
Protons Gal1 et δ (ppm)	H-4 (4,05-4,03) H-6 (3,82-3,47)	H-4 (5,14-5,10) H-6 (4,69-4,52)
Carbones Gal1 et δ (ppm)	C-4 (68,79) C-6 (62,03)	C-4 (75,49) C-6 (63,38)

Tableau IV- 2

Nous avons ensuite réalisé une saponification de **279** en deux temps (schéma IV-29) comme décrit pour le diol **274** afin de déprotéger les esters du sucre (80%). Le groupement benzyloxycarbonyl (Z) de **280** a ensuite été clivé par hydrogénolyse en présence de Pd/C libérant ainsi l'amine primaire non isolée (schéma IV-29). Nous avons ensuite réalisé une réaction de couplage avec le dérivé succinimide de la biotine dans un mélange eau/DMF/Et₃N suivie d'une purification menant au trisaccharide cible 4 sulfaté et biotinylé **206** (79%) (annexe 3).

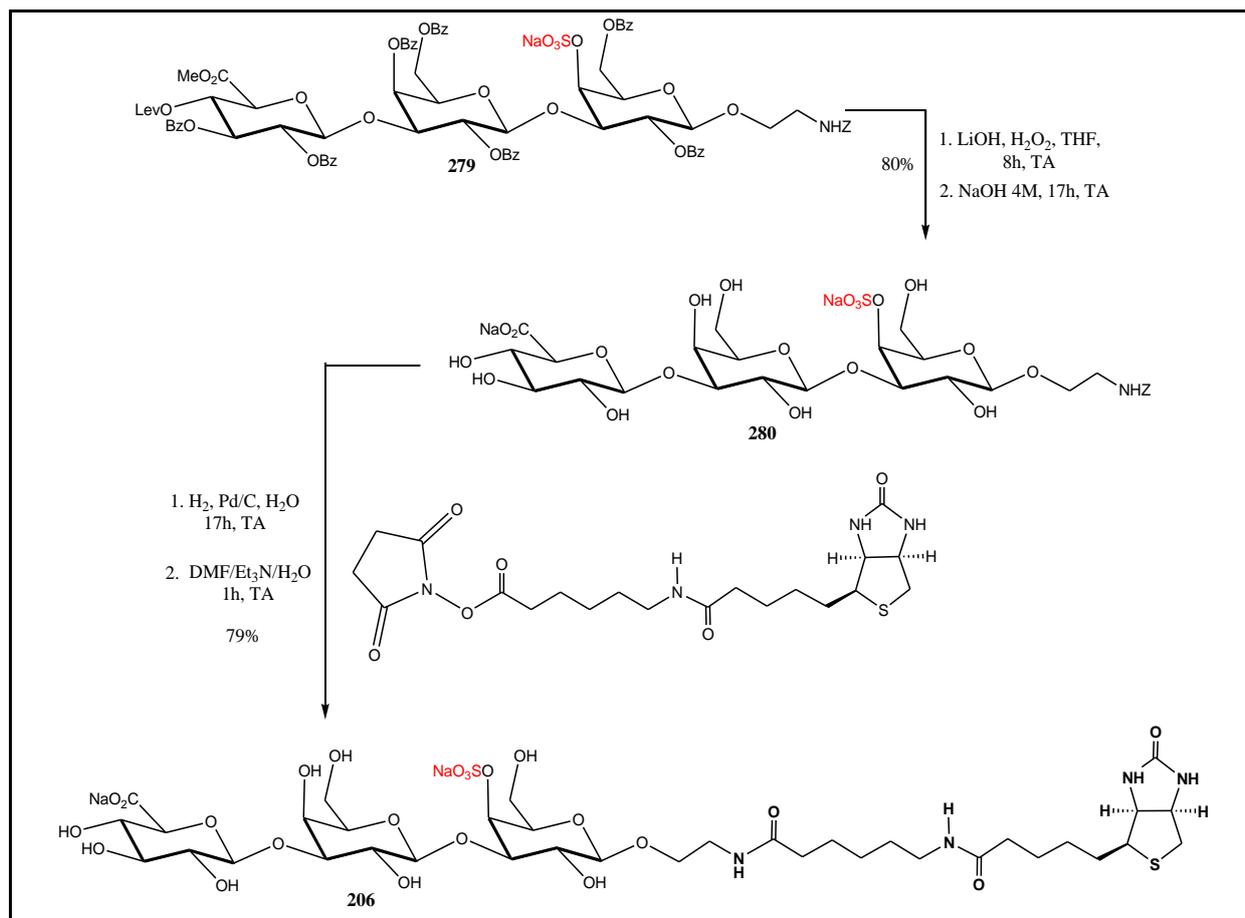


Schéma IV- 29

Le trisaccharide cible **206** a ainsi été obtenu à partir de **271** et **250** en 7 étapes avec 27% de rendement global.

Nous avons ainsi obtenu les composés cibles non sulfaté **204**, monosulfaté en 4 sur Gal1 **205** et monosulfaté en 6 sur Gal1 **206**, nous allons maintenant présenter la synthèse des composés cibles **207** et **208**, monosulfatés en 4 ou en 6 sur Gal2.

IV-5.2 TRISACCHARIDES SULFATES SUR GAL2.

A. PREPARATION DU TRISACCHARIDE CLE **284**.

Dans le but d'obtenir les oligosaccharides finaux monosulfatés en 4 ou 6 sur Gal2 **207** et **208** (schéma IV-30), nous construirons d'abord le trisaccharide clé **284**, précurseur du diol **285**, commun à ces deux composés finaux.

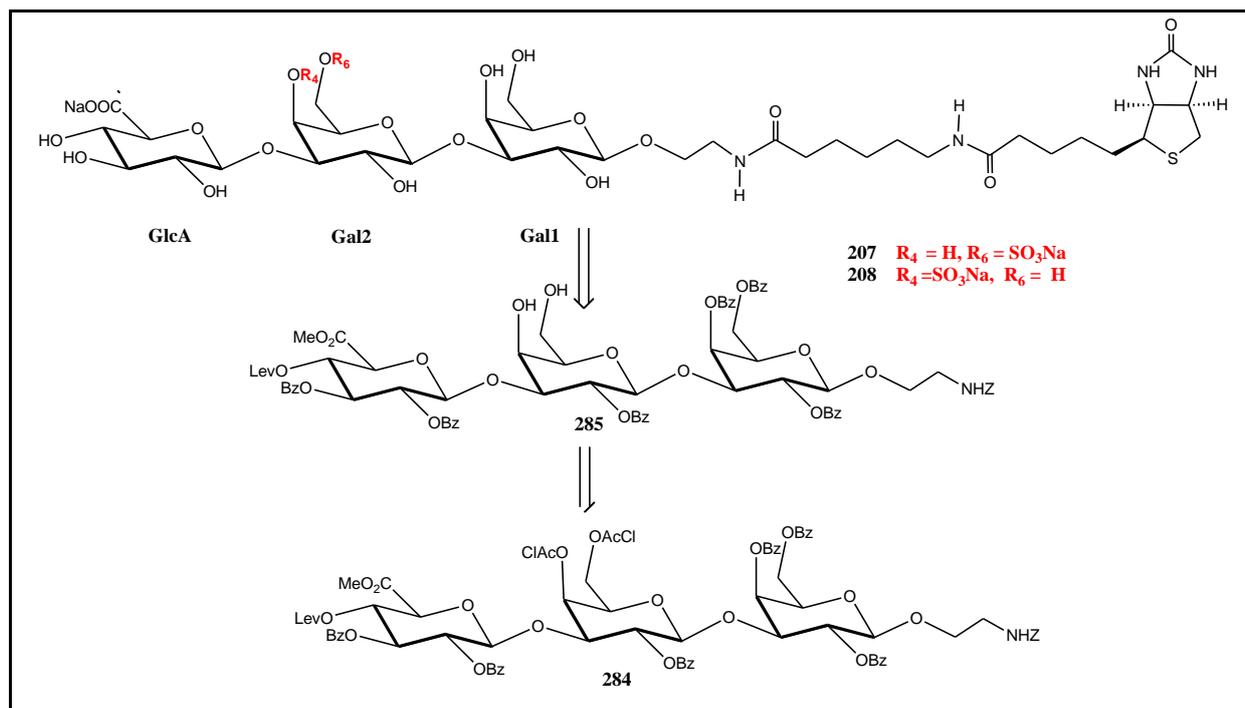


Schéma IV- 30

Afin d'aboutir aux trisaccharides monosulfatés en 4 ou 6 sur Gal2 (schéma IV-31), nous sommes partis cette fois-ci du bloc donneur chloroacétylé **272** que l'on a glycosylé avec le précurseur Gal1 **250** en présence de TMSOTf, nous avons ainsi obtenu le trisaccharide **281** (49%). Nous avons également observé la formation de l'orthoester **282** (entre 14% et 22%). L'orthoester ainsi formé, semble stable car même en présence de 1 équivalent de TMSOTf, il ne se produit pas de réarrangement. La présence des groupements chloroacétyles pourraient en être la cause en créant un environnement électronégatif sur la face supérieure de l'ion oxocarbénium favorisant l'approche de l'accepteur **250** par la face inférieure.

Une désilylation sélective de **281** avec le complexe $Et_3N \cdot 3HF$ dans le THF a alors permis l'obtention du diol **283** (81%).

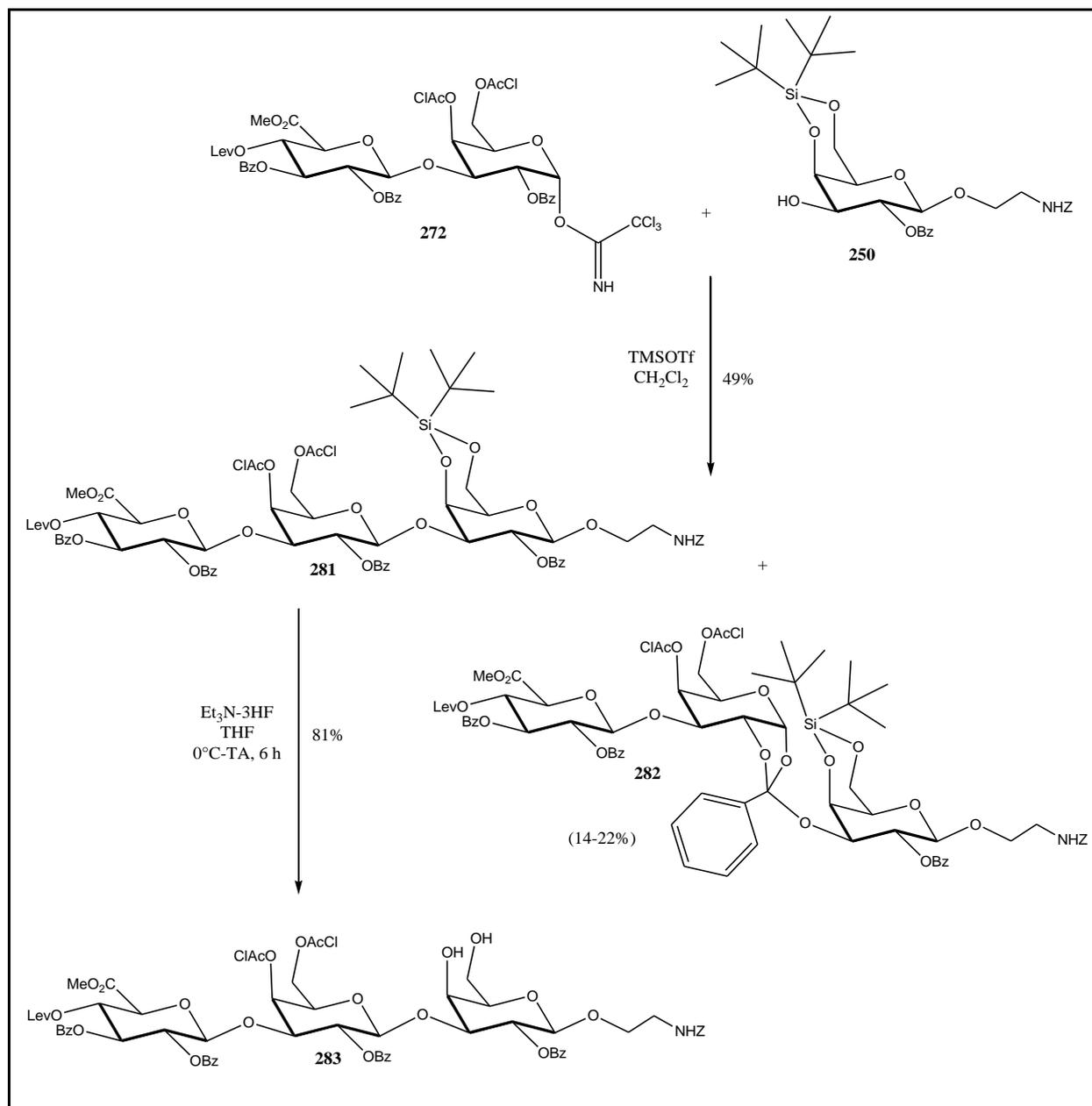


Schéma IV- 31

Nous avons alors voulu réaliser une benzylation du diol **283** (schéma IV-32) pour obtenir le trisaccharide **284** (chloroacétylé sur Gal2 et benzylé sur Gal1), puis une déchloroacétylation sélective avec la thiourée aurait alors permis l'obtention du diol désiré **285**, précurseur commun à partir duquel les oligosaccharides finaux **207** et **208** seront obtenus (schéma IV-30).

Cependant, lorsque nous avons réalisé cette protection dans les conditions de benzylation classiques (BzCl dans la pyridine) (schéma IV-32), nous n'avons pas obtenu le trisaccharide clé désiré **284** mais nous avons obtenu 41% de produit monobenzoylé en 6. Nous avons donc essayé de benzyler le diol **283** en présence de 4-diméthylaminopyridine (DMAP) dans la pyridine afin de catalyser la réaction mais nous n'avons obtenu que 11% de produit dibenzoylé désiré **284** et 40% de produit monobenzoylé en position 6. La position 4

semblant réfractaire à toute benzoylation, nous avons alors changé de groupement protecteur, moins volumineux que les benzoyles, et nous avons réalisé une acétylation (schéma IV-32) avec de l'anhydride acétique dans la pyridine mais nous n'avons récupéré que des produits de dégradation dont les RMN étaient ininterprétables.

Nous avons alors supposé que le trisaccharide diol **283** subissait un changement conformationnel dû à la présence du bras éthylamine N-protégé combiné à la présence des groupements chloroacétyles qui engendrent un repliement de la molécule sur elle-même limitant ainsi l'accès au diol.

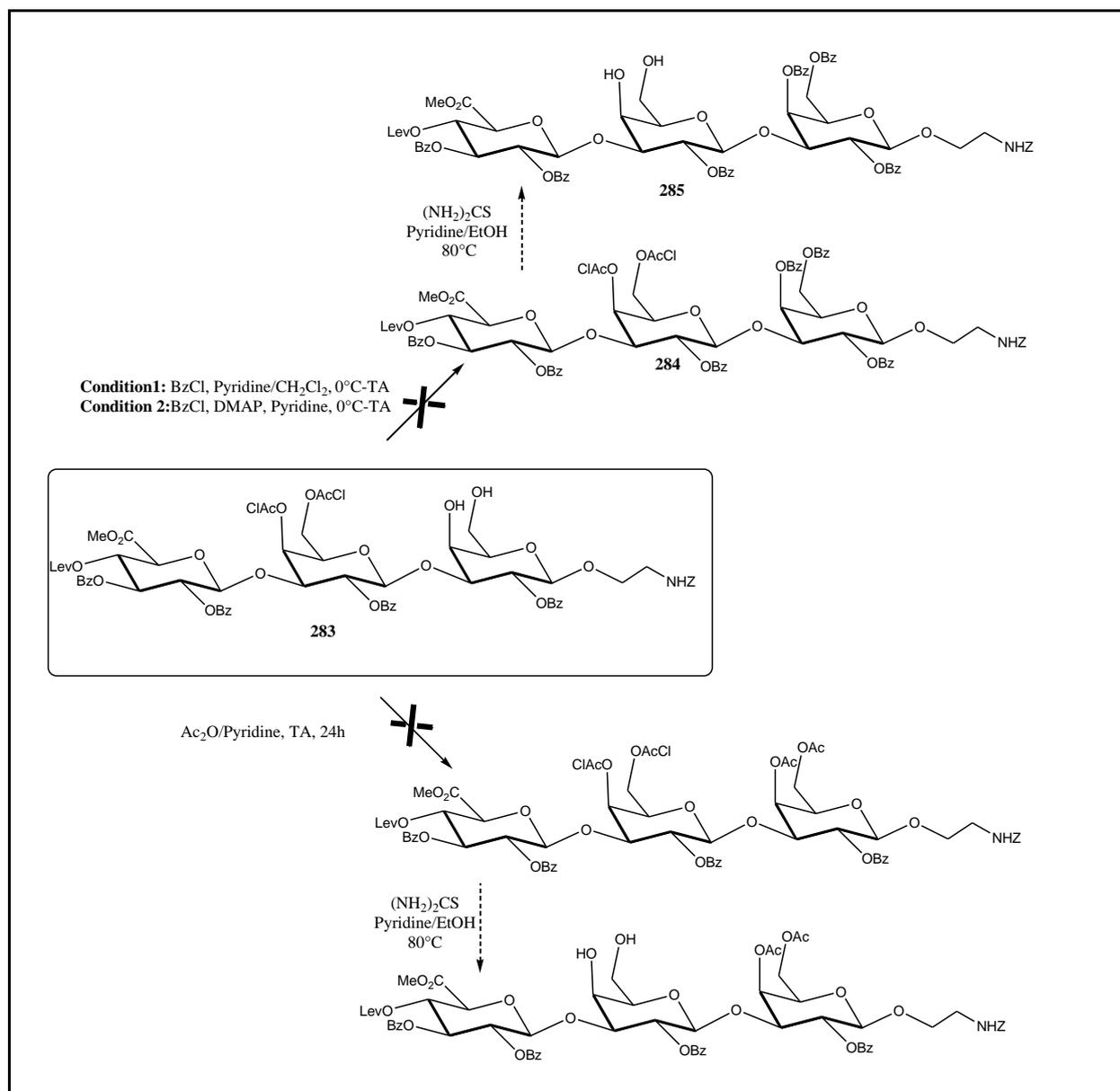


Schéma IV- 32

A ce stade de la synthèse, la difficulté rencontrée consistait à obtenir le trisaccharide **284** (chloroacétylé sur Gal2 et benzoylé sur Gal1) qui après déchloration sélective aurait permis d'aboutir au diol cible **285**.

Nous avons alors imaginé un autre schéma synthétique pour obtenir **284** (schéma IV-33) et deux nouvelles voies ont été envisagées. Etant donné que le problème venait probablement de la présence du bras éthylamine N-protégé, nous avons, dans une première voie, pensé l'introduire en dernier lieu sur le donneur trisaccharidique **272** déjà benzoylé sur Gal1. Celui-ci proviendra du donneur chloroacétylé **272** et de l'accepteur MP *O*-glycoside **249**, précédemment préparés. Dans une deuxième voie, nous avons envisagé introduire sur le donneur chloroacétylé **272**, l'accepteur **287** précurseur de Gal1 déjà benzoylé et portant le bras éthanolamine N-protégé, qui pourra provenir du précurseur silylé **250**.

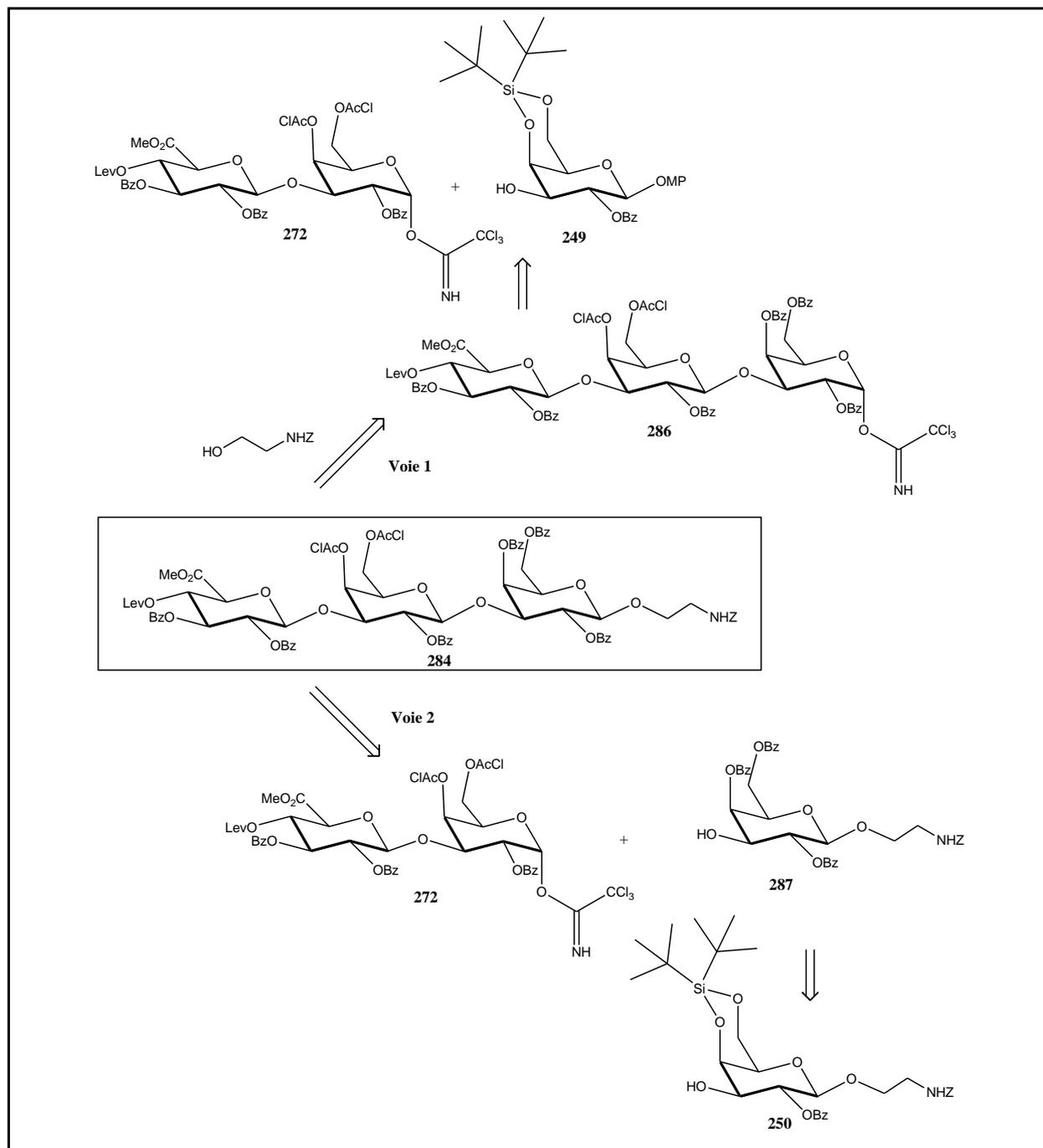


Schéma IV- 33

A-1 Voie 1 :

Une glycosylation entre le donneur chloroacétylé **272** et l'accepteur D-galactosyle **249** en présence de TMSOTf a donné le trisaccharide **288** avec 61% de rendement (schéma IV-34). Une déprotection sélective du silylène avec du Et₃N.3HF a ensuite libéré le diol **289** (87%) puis une benzoylation classique a fourni le trisaccharide **290** (83%). La benzoylation a cette fois-ci bien fonctionné, ce qui conforte notre hypothèse sur l'implication du bras éthanolamine N-protégé dans le changement conformationnel du trisaccharide **283** sur lui-même empêchant sa benzoylation sur le diol (schéma IV-32).

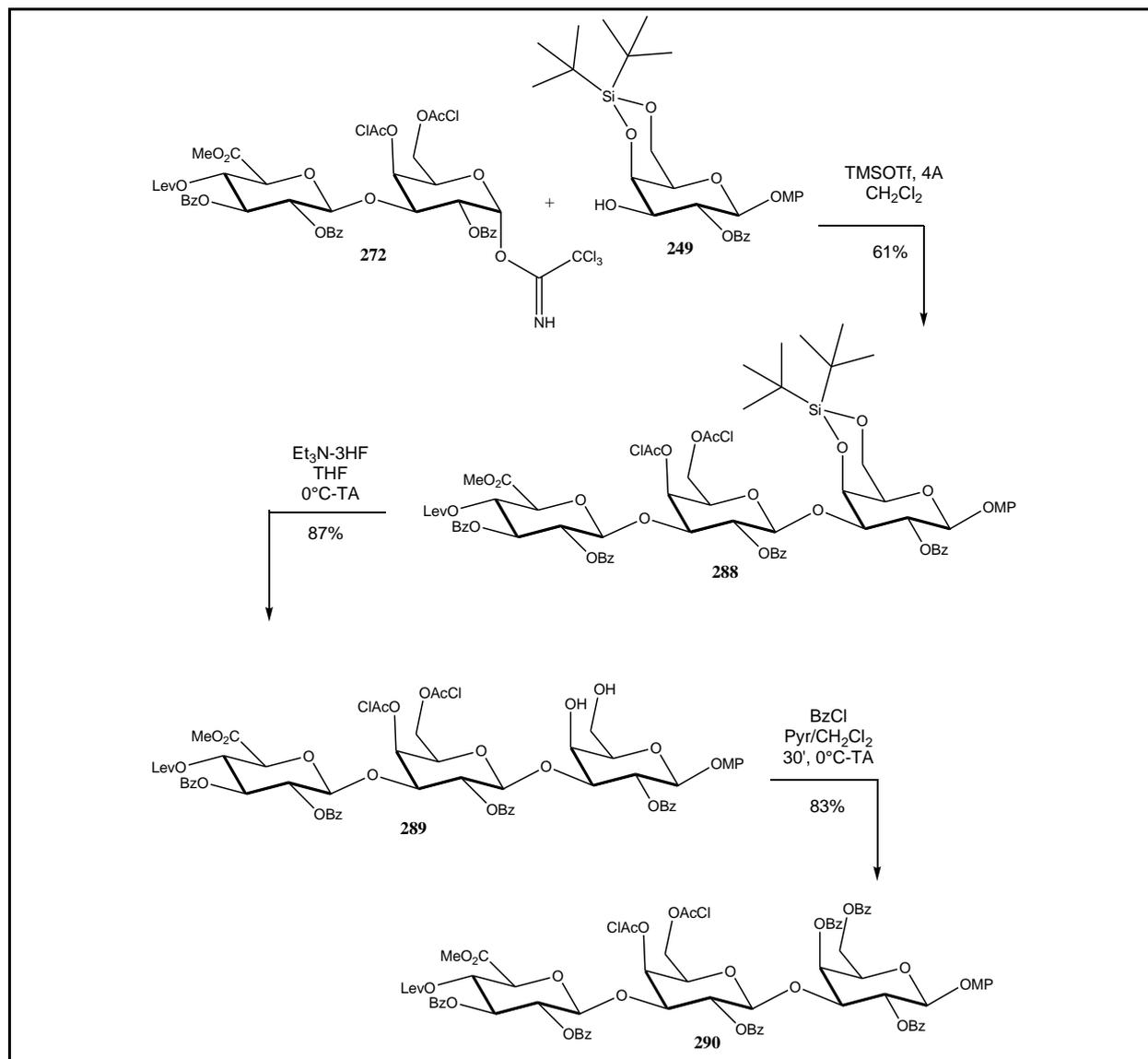


Schéma IV- 34

Le trisaccharide **290** ainsi obtenu a ensuite subi une coupure oxydante avec le CAN (schéma IV-35) qui a conduit à la formation d'un mélange d'hémiacétal **292** et de produit de migration **291** (45%) dont la structure a été confirmée par RMN ^1H avec un doublet à 6,52 ppm et une constante de couplage $J_{1,2} = 3,75$ Hz (figure IV-4).

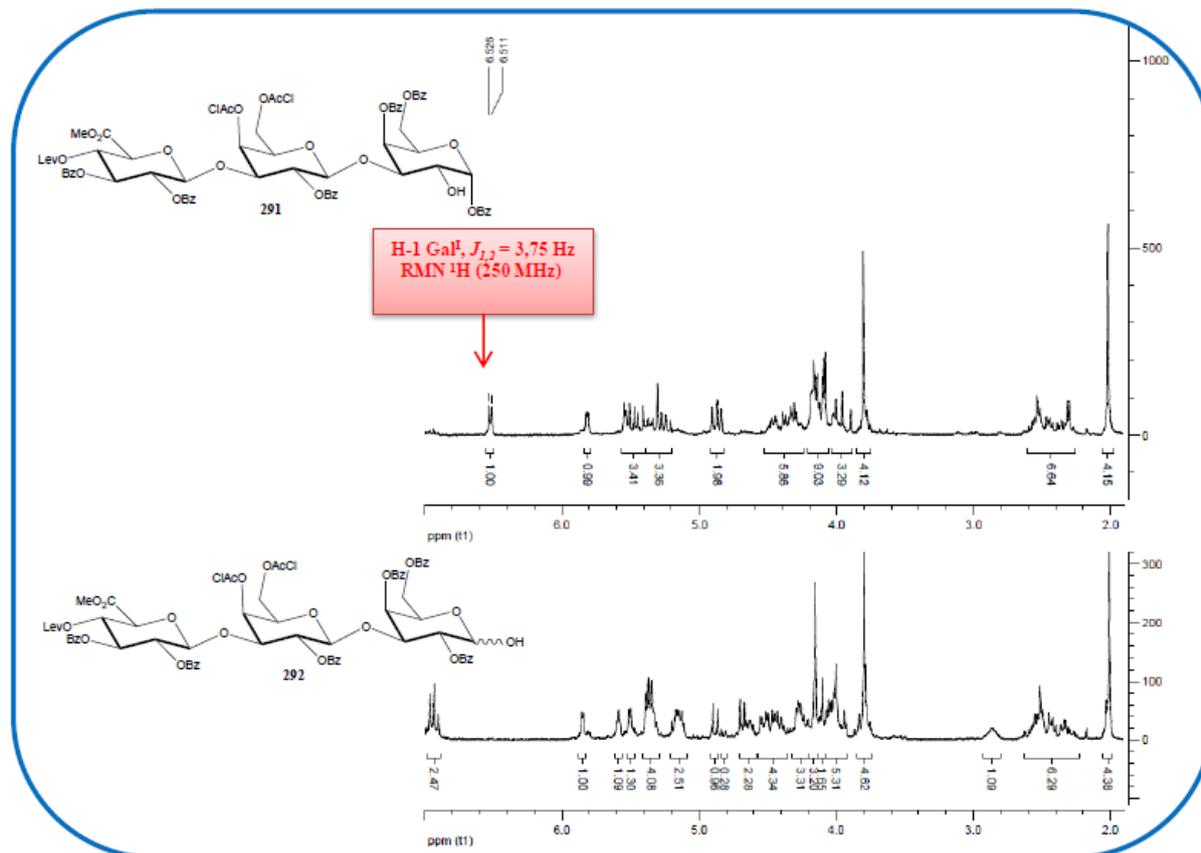


Figure IV- 4

Comme précédemment (schéma IV-21), en présence de DBU le composé **291** peut être réarrangé en hémiacétal **292** (65%) (schéma IV-35). L'hémiacétal ainsi obtenu, a ensuite été activé en donneur de Schmidt **286** (66%) puis glycosylé avec l'éthanolamine N-protégé pour donner le trisaccharide désiré **284** (56%).

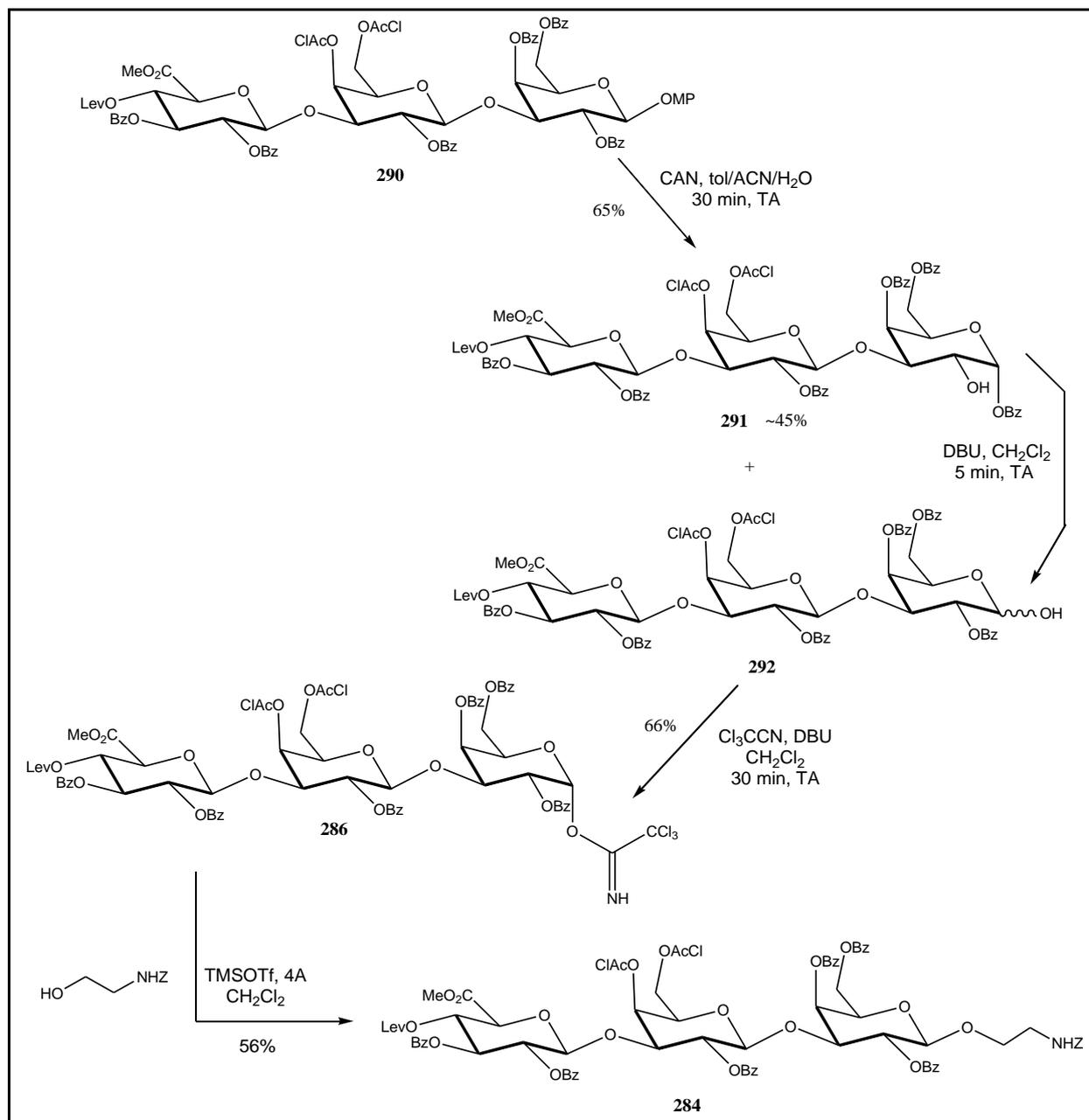


Schéma IV- 35

Lors de la glycosylation avec l'accepteur éthanamine N-protégé (schéma IV-36), nous avons remarqué qu'en mettant plus de deux équivalents d'accepteur, il se formait jusqu'à 43% de produit d'addition **293** (structure confirmée par HRMS $[M-H_2O+H]^+$) résultant de l'attaque nucléophile de l'accepteur sur le carbonyle du groupement protecteur

levulinique. Une simple hydrolyse avec du TFA et de l'eau permet de revenir au trisaccharide désiré **284**. Cependant, l'éthanamine N-protégé libéré n'est pas séparable de **284** par purification. Il est engagé tel quel dans l'étape suivante de déchloroacétylation sélective et nous avons pu les séparer à ce niveau.

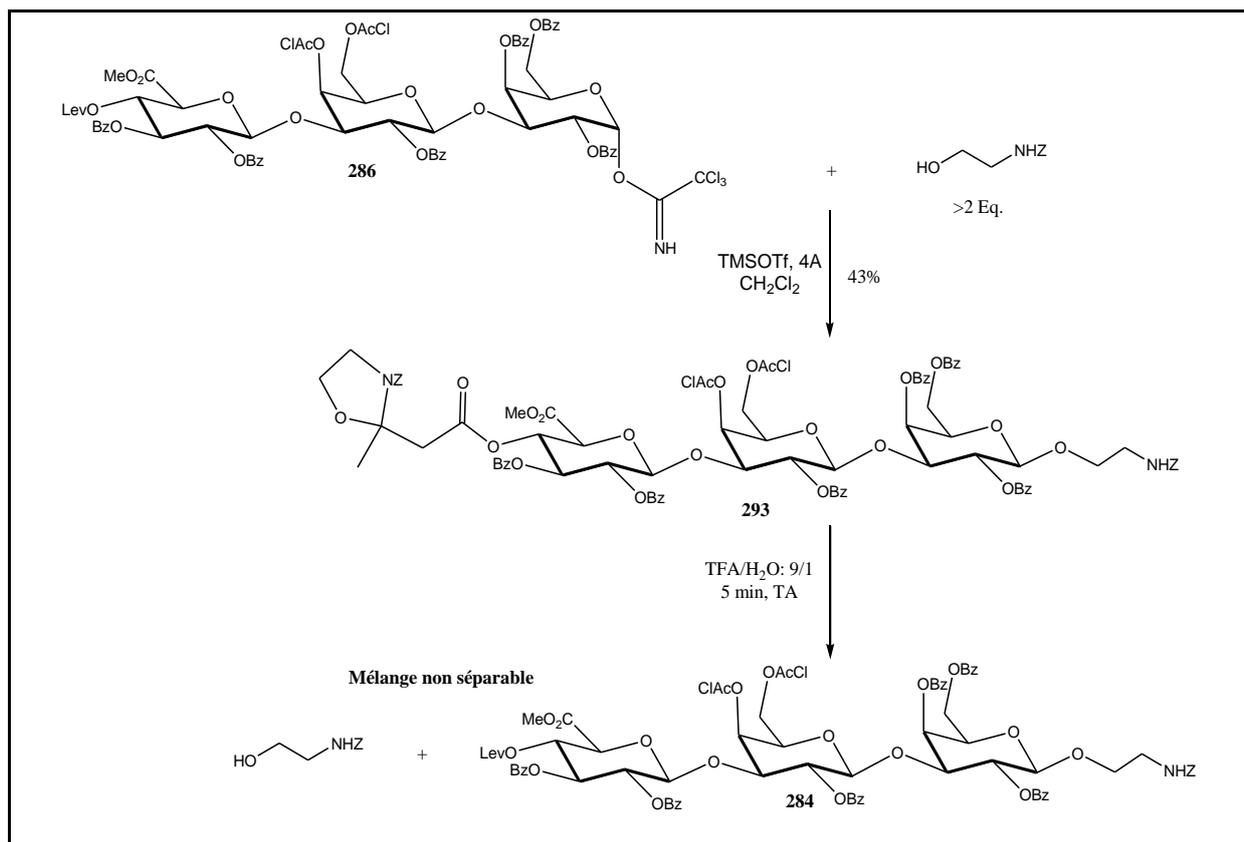


Schéma IV- 36

A-2 Voie 2 :

Cette voie a nécessité la préparation de l'accepteur **287** possédant déjà les groupements benzoates en 4 et 6 et le bras éthanolamine N-protégé. Ainsi, en partant de l'accepteur **250** précédemment préparé et portant le bras éthanolamine N-protégé, nous avons voulu introduire les groupements benzoyles en 4 et en 6 (schéma IV-37). Pour cela, il a fallu protéger l'hydroxyle en 3 avec un groupement Lev avec de l'acide lévulinique en présence de DCC et de DMAP pour obtenir **294** (94%). Puis, une désilylation sélective avec du Et₃N.3HF a libéré le diol **295** (97%) qui a alors été benzoylé avec du chlorure de benzoyle pour donner **296** (94%). Enfin, une délévulinoylation sélective avec de l'hydrazine hydratée en présence d'acide acétique et de pyridine a donné l'accepteur désiré **287** (94%).

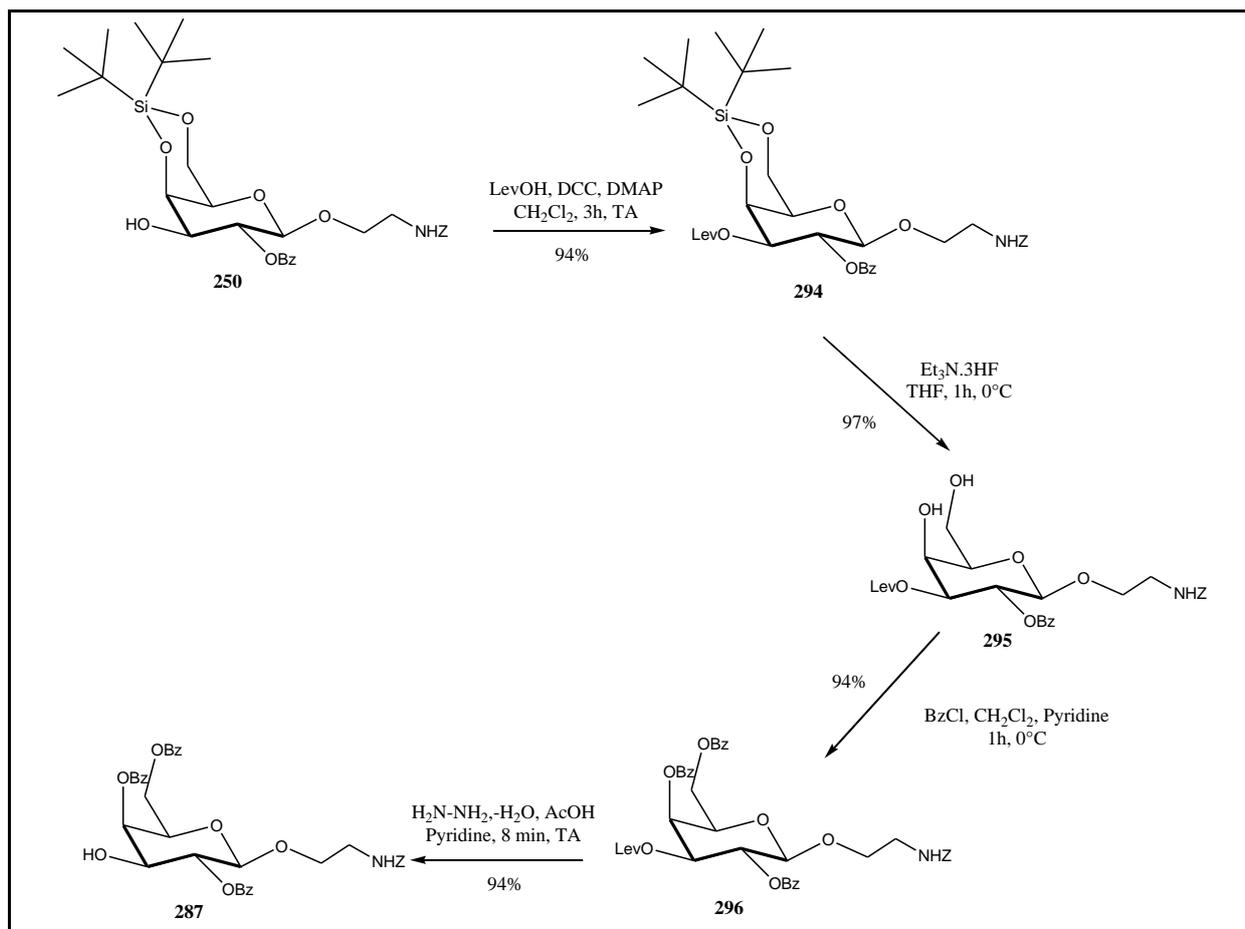


Schéma IV- 37

Une fois obtenu, le précurseur D-galactoside **287** a été glycosylé avec le donneur chloroacétylé **272** en présence de TMSOTf pour donner le trisaccharide désiré **284** (53%) (schéma IV-38).

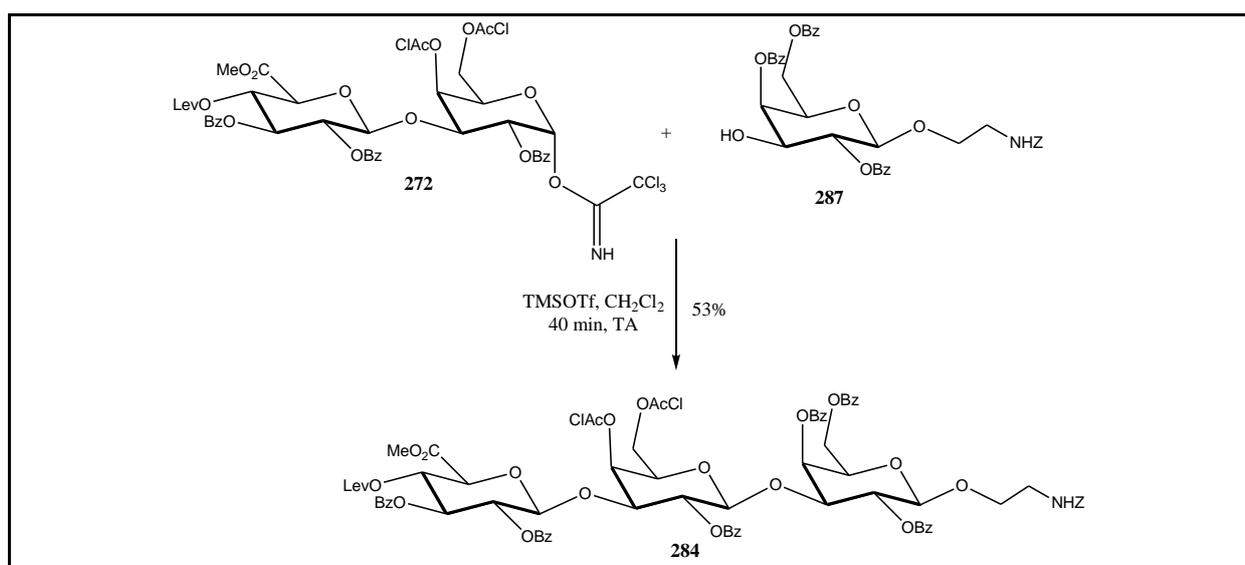


Schéma IV- 38

Ainsi, ces voies alternatives nous ont toutes les deux permis d'isoler le trisaccharide clé désiré **284**. En les comparant, nous remarquons que la deuxième voie nécessite moins d'étapes pour aboutir au trisaccharide **284** désiré. De plus, il est plus facile de manipuler une unité monosaccharidique qu'un trisaccharide et les rendements sont nettement meilleurs. Ainsi, en partant des précurseurs **249** et **250**, nous avons obtenu 10% de rendement global en 6 étapes pour la voie 1 et 43% en 5 étapes pour la voie 2. Nous avons donc opté pour cette deuxième voie pour nos synthèses futures.

Une déchloroacétylation sélective de **284** avec la thiourée (schéma IV-39) a ensuite permis l'obtention du diol **285** (77%), précurseur commun des oligosaccharides finaux **207** et **208**.

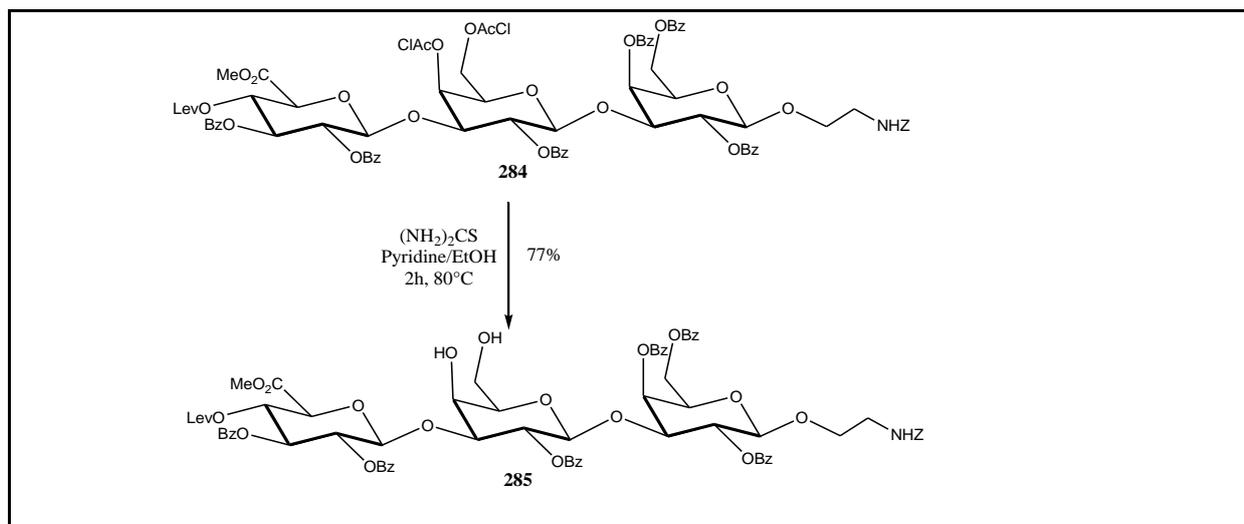


Schéma IV- 39

B. PREPARATION DU TRISACCHARIDE 6 SULFATE **207**.

Le diol **285** obtenu, nous avons alors procédé à la sulfatation régiosélective suivie d'une acétylation (schéma IV-40) dans les mêmes conditions décrites pour la sulfatation de **251** et nous avons obtenu le sel de sodium **297** (76%).

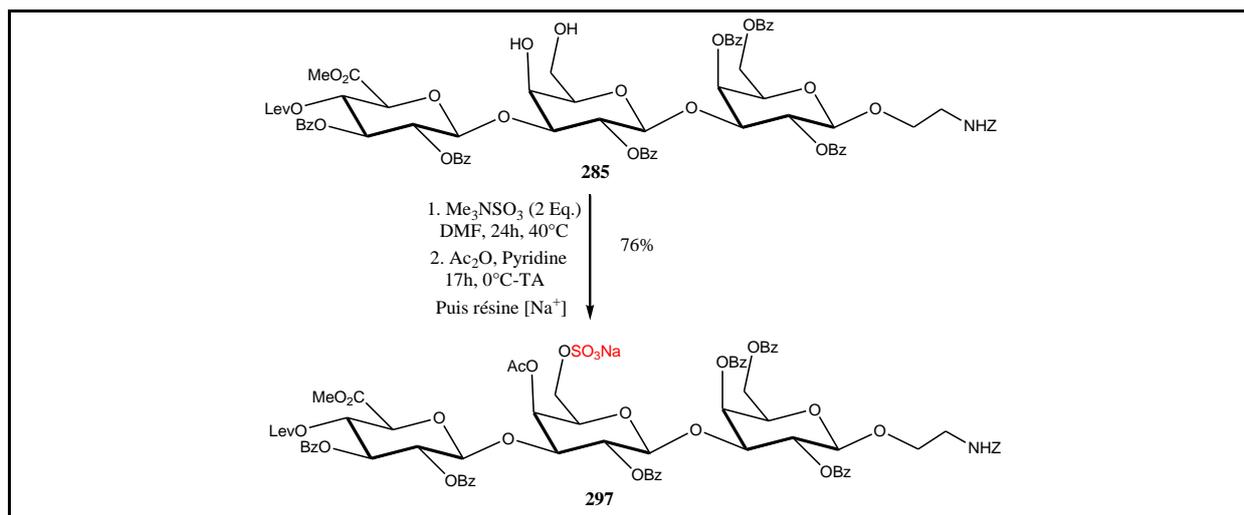


Schéma IV- 40

La sulfatation en 6 et l'acétylation en 4 ont été confirmées par la HRMS et par les spectres RMN ¹H et ¹³C de **297** (tableau IV-3). Comparativement aux protons 4 et 6 du diol **285**, il y a un déplacement vers des valeurs déblindées, prouvant que ces hydroxyles portent des groupements électroattracteurs.

Trisaccharide	285	297
Protons Gal1 et δ (ppm)	H-4 (4,09-4,03) H-6 (3,88-3,64)	H-4 (5,49) H-6 (4,10-4,03)
Carbones Gal1 et δ (ppm)	C-4 (69,11-68,95) C-6 (62,63)	C-4 (70,14) C-6 (66,25)

Tableau IV- 3

Nous avons ensuite réalisé une saponification de **297** en deux temps (schéma IV-41) comme décrit pour le diol **274** donnant le trisaccharide **298** (80%). Puis, le groupement Z a été clivé par hydrogénéolyse en présence de Pd/C libérant ainsi l'amine primaire non isolée (schéma IV-41). Nous avons ensuite réalisé une réaction de couplage avec le dérivé succinimide de la biotine dans un mélange eau/DMF/Et₃N et nous avons obtenu, après purification, le trisaccharide cible biotinylé et 6 sulfaté sur Gal2 **207** (65%) (annexe 4).

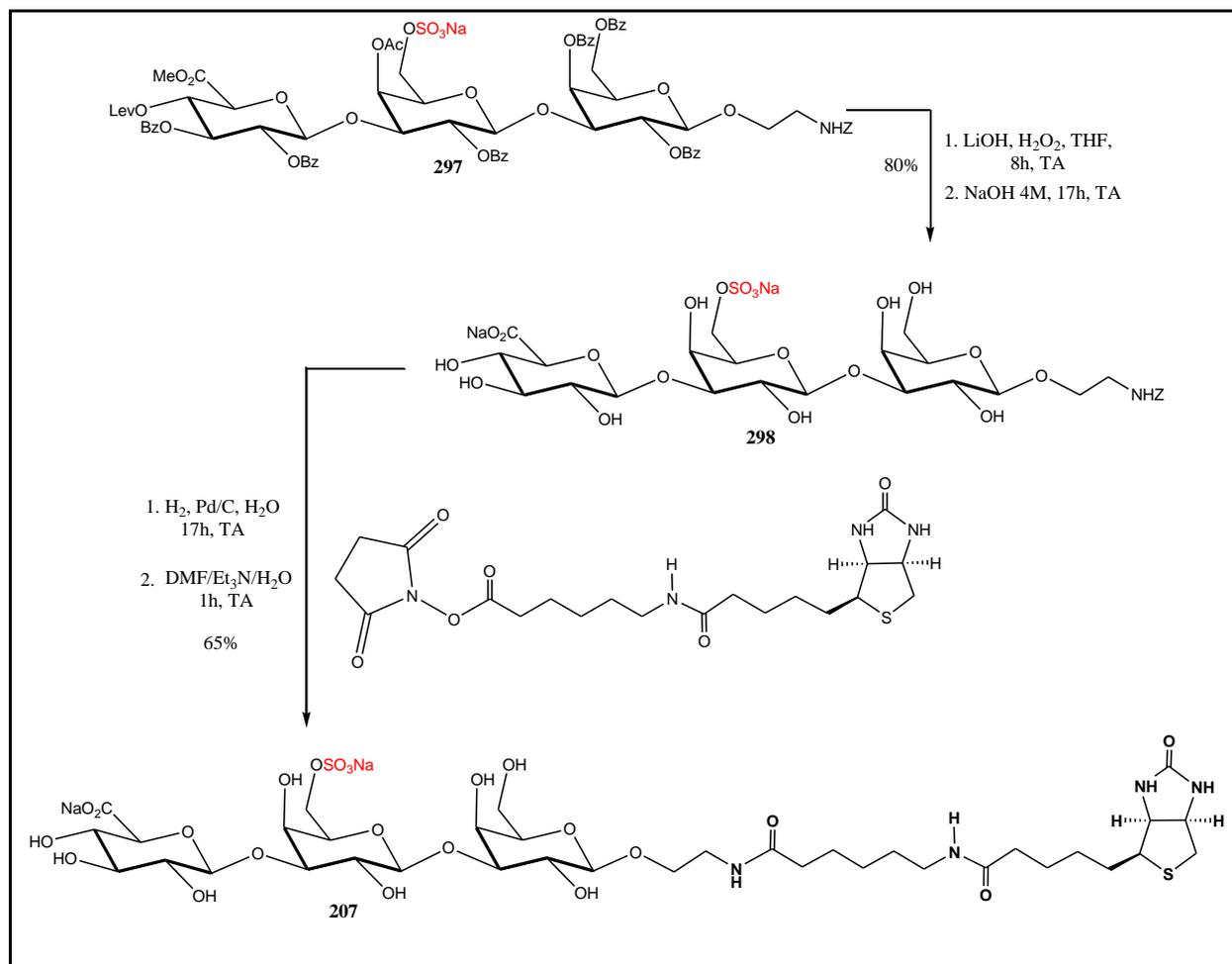


Schéma IV- 41

Nous avons donc obtenu le trisaccharide cible **207** en 7 étapes à partir de **272** et **287** avec 16% de rendement global.

C. PREPARATION DU TRISACCHARIDE 4 SULFATE **208**.

La préparation des composés sulfatés en 4 (schéma IV-42) a nécessité la protection préalable de la position 6 réactive du diol **285**. Ainsi, une benzylation régiosélective a été réalisée avec du cyanure de benzoyle (BzCN) dans la pyridine donnant le trisaccharide **299** avec 81% de rendement. Une sulfatation en position 4 avec un large excès de Me₃NSO₃ à 60°C dans le DMF suivie d'une purification sur LH : 20 pour éliminer l'excès de réactif et de DMF et un échange d'ion ont alors été nécessaires pour obtenir le sel de sodium **300** (77%).

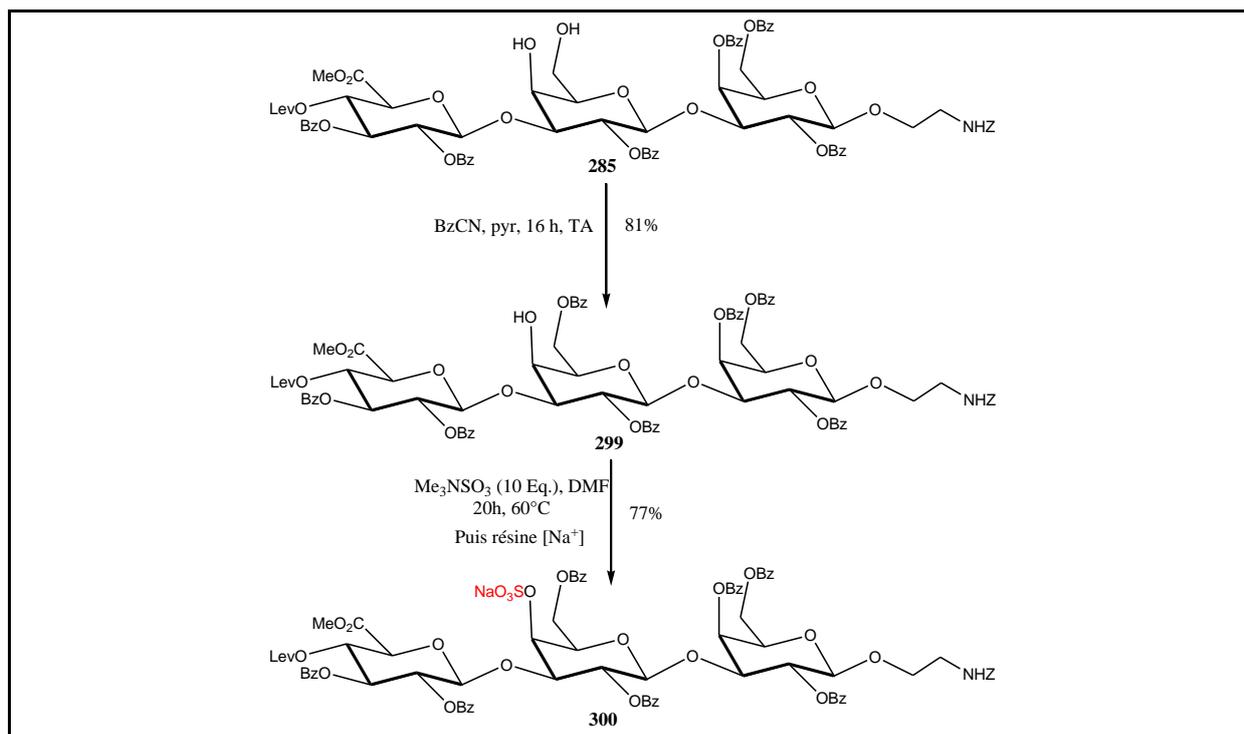


Schéma IV- 42

La sulfatation en 4 et la benzylation en 6 ont bien été confirmées par la HRMS et par les spectres RMN ¹H et ¹³C de **300** par comparaison avec le diol **285** (tableau IV-4).

Trisaccharide	285	300
Protons Gal1 et δ (ppm)	H-4 (4,09-4,03)	H-4 (5,17-5,12)
	H-6 (3,88-3,64)	H-6 (4,26-4,13)
Carbones Gal1 et δ (ppm)	C-4 (69,11-68,95)	C-4 (78,09)
	C-6 (62,63)	C-6 (64,30)

Tableau IV- 4

Une saponification de **300** en deux temps (schéma IV-43) comme décrit pour le diol **274** a ensuite conduit au trisaccharide **301** (88%). Le groupement Z de **301** a alors été clivé par hydrogénéolyse en présence de Pd/C libérant ainsi l'amine primaire non isolée (schéma IV-43). Nous avons ensuite couplé cette dernière avec le dérivé succinimide de la biotine dans un mélange eau/DMF/Et₃N et une purification a conduit au trisaccharide cible biotinylé et 4 sulfaté **208** (60%) (annexe 5).

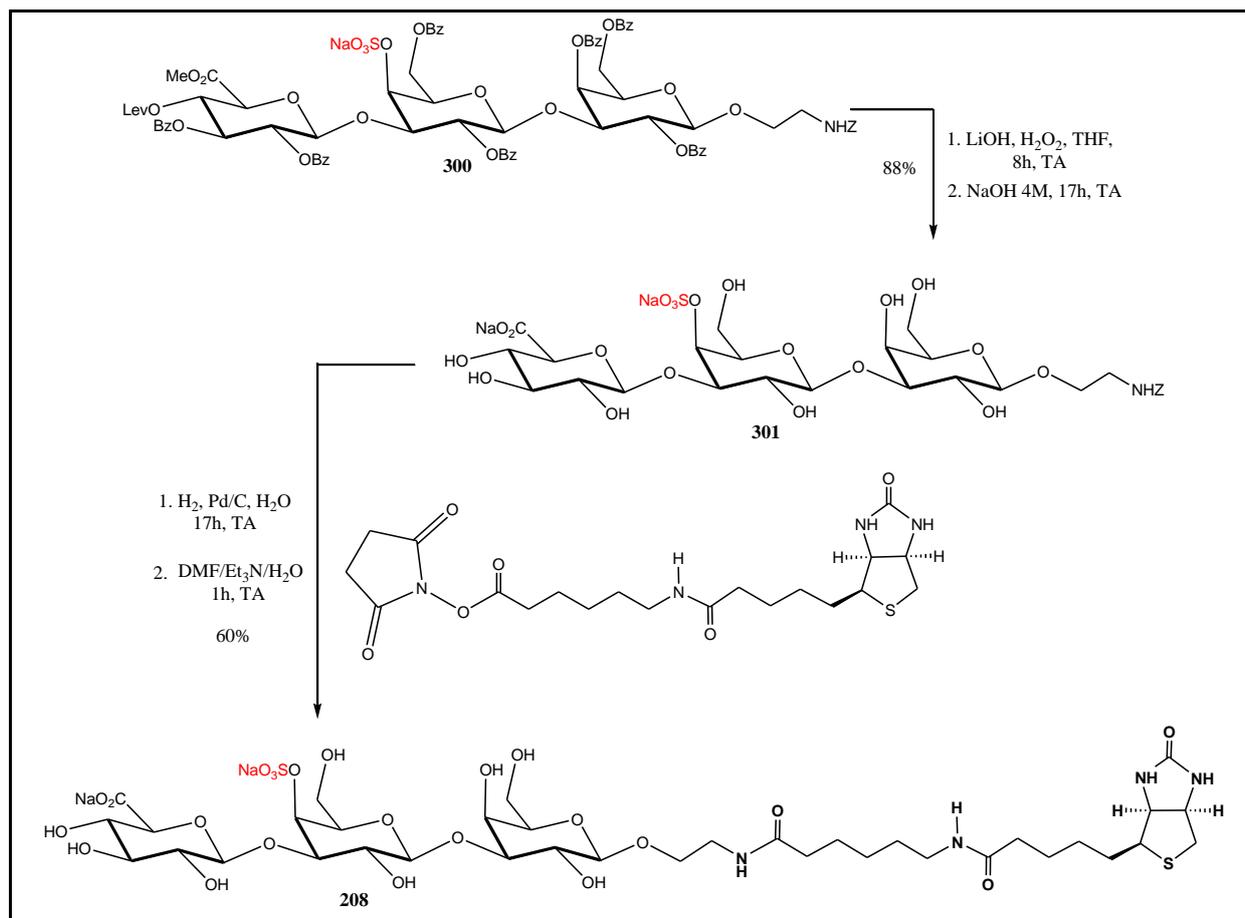


Schéma IV- 43

Le trisaccharide cible **208** a ainsi été synthétisé en 7 étapes à partir de **272** et **287** avec un rendement global de 13%.

Nous avons ainsi obtenu une collection complète de cinq trisaccharides de la zone de liaison biotinylés, non sulfatés **204**, monosulfatés en 4 ou en 6 sur Gal1 **205** et **206** ou Gal2 **207** et **208** à partir des deux trisaccharides communs **273** et **284** (schéma IV-44).

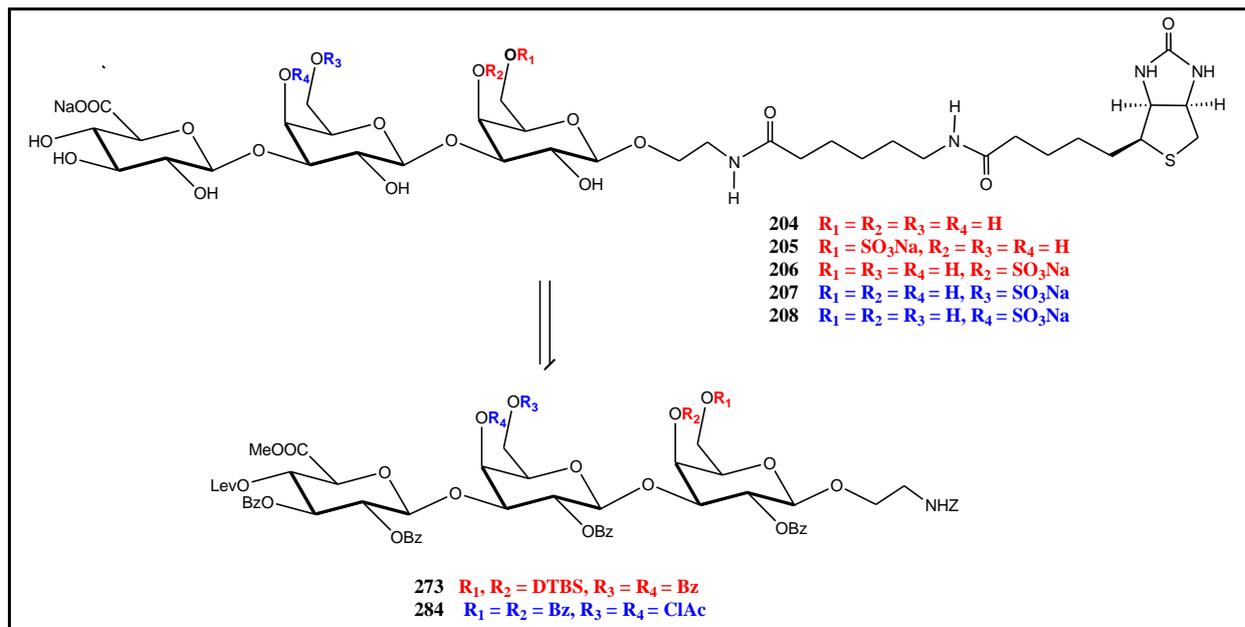


Schéma IV- 44

IV-6 TETRASACCHARIDES : Zone de liaison et amorce de CS.

Après avoir obtenu la collection complète de trisaccharides de la zone de liaison biotinylés, nous nous sommes intéressés dans un deuxième temps à la synthèse de tétrasaccharides diversement sulfatés ou non et biotinylés, composés des trois derniers sucres de la zone de liaison liés à une amorce monosaccharidique de CS (figure IV-5). Ces synthèses sont présentées ici. Nous traiterons d'abord les composés non sulfatés et monosulfatés en 4 ou en 6 sur Gal1 **209**, **210** et **211**, puis nous verrons les composés monosulfatés en 4 ou en 6 sur Gal2 **212** et **213**, dérivants tous des mêmes trisaccharides précurseurs **273** et **284** utilisés pour la synthèse des trisaccharides.

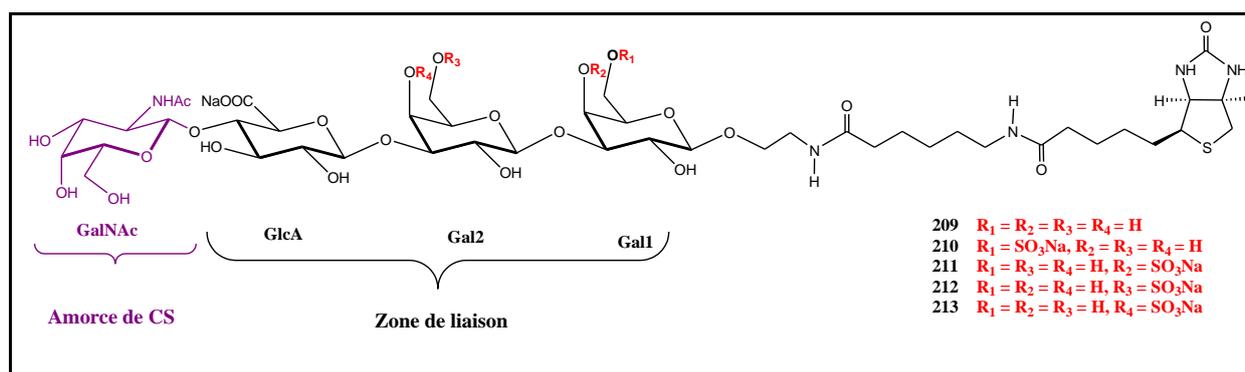


Figure IV- 5

IV-6.1 TETRASACCHARIDES NON SULFATE ET SULFATES SUR GAL1.

A. PREPARATION DU TETRASACCHARIDE DIOL COMMUN 306.

Le diol **306** est le précurseur commun aux trois tétrasaccharides biotinylés cibles non sulfaté **209**, monosulfatés en 4 **210** et en 6 **211** sur Gal1 (schéma IV-45). Nous l'obtiendrons à partir du précurseur trisaccharidique **273** préparé précédemment et du donneur **302** (synthétisé au laboratoire à partir de la D-glucosamine commerciale en 12 étapes^{68,69,70}).

⁶⁸ Bergman L.; Zervas L. *Chem. Ber.* **1931**, 64, 975-980

⁶⁹ Blatter G. ; Beau J.-M. ; Jacquinet J.-C. *Carbohydr. Res.* **1994**, 260, 189-202

⁷⁰ Belot F. ; Jacquinet J.-C. *Carbohydr. Res.* **2000**, 325, 93-106

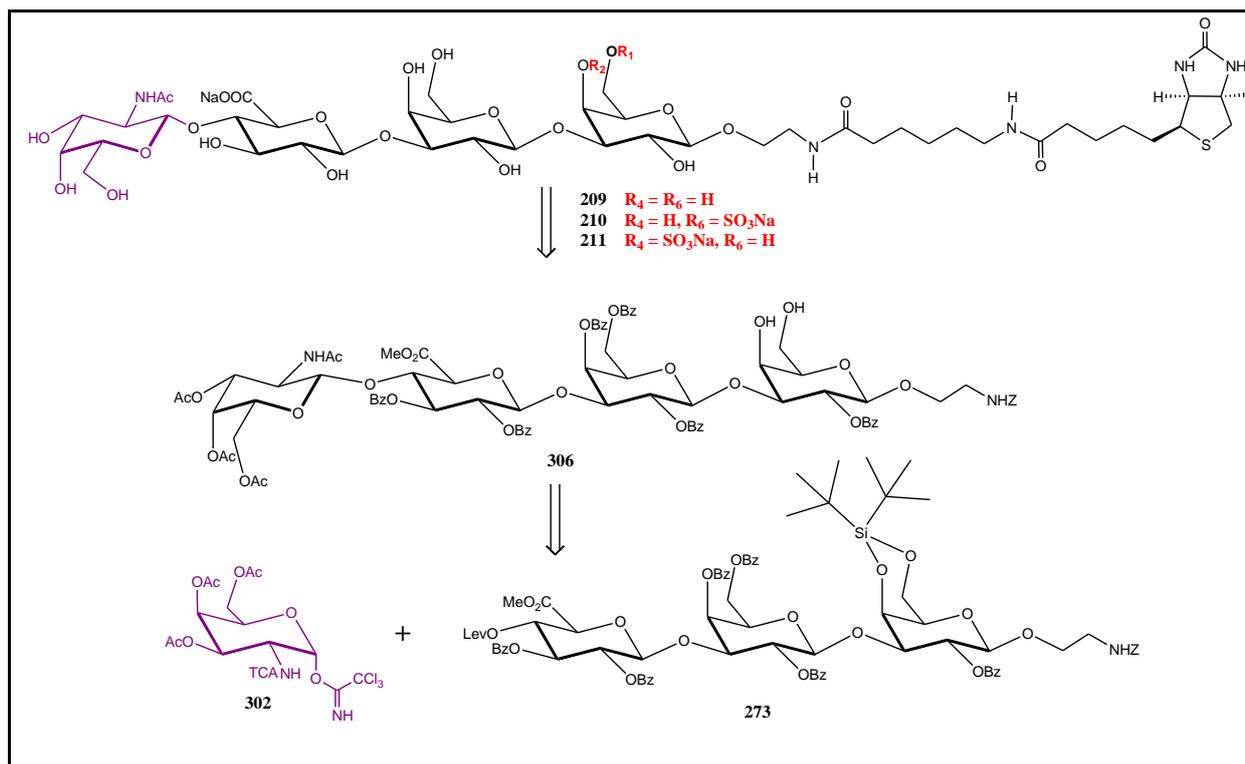


Schéma IV- 45

Ainsi, le précurseur **273** a été délévulinoylé (schéma IV-46) avec de l'acétate d'hydrazinium afin de libérer la position 4 sur l'extrémité non réductrice du sucre donnant ainsi l'accepteur **303** (92%). Une glycosylation en présence de TMSOTf avec le donneur **302** a alors donné le tétrasaccharide **304** (83%).

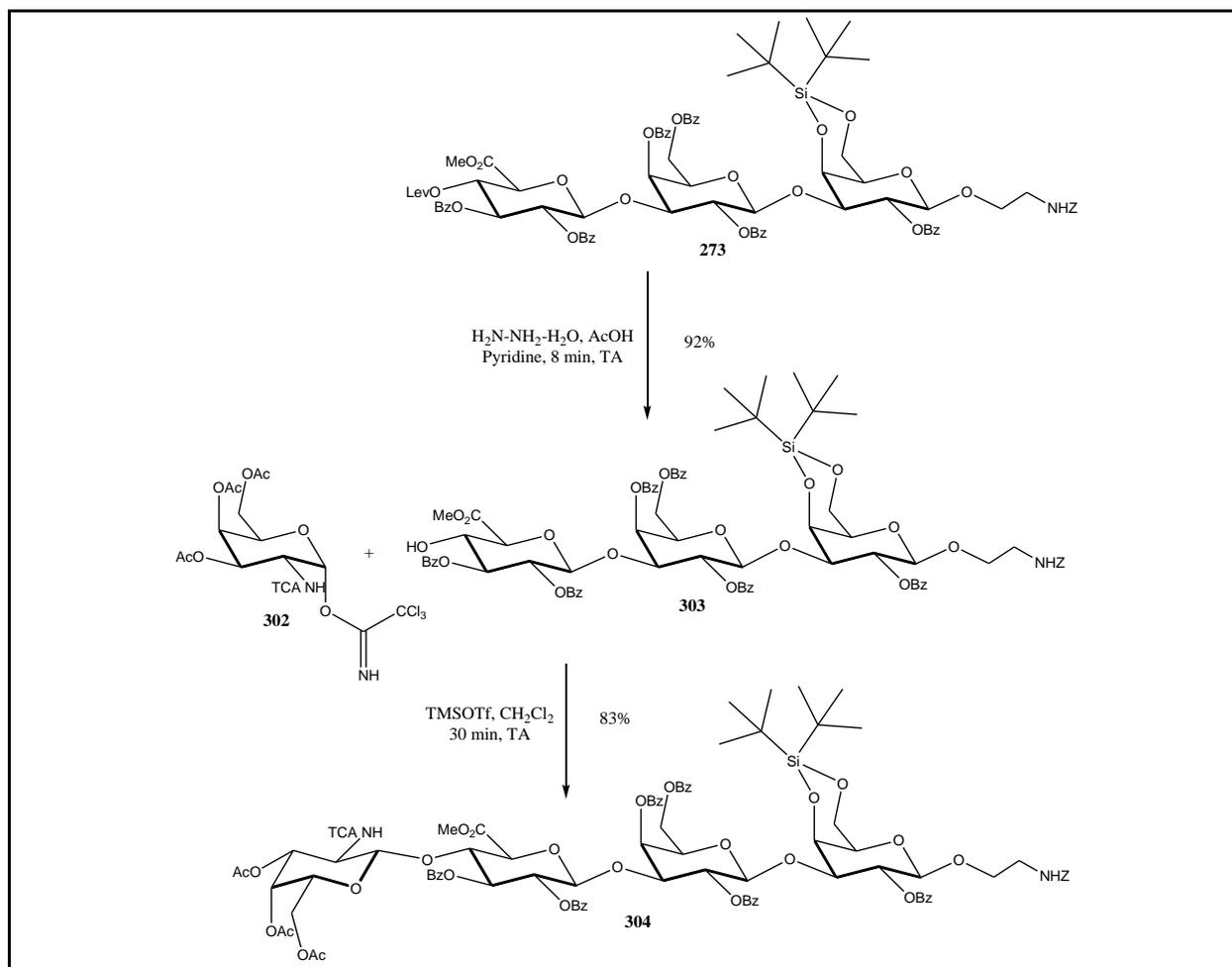


Schéma IV- 46

Le squelette tétrasaccharidique **304** ainsi obtenu, nous avons procédé à la réduction de la fonction N-trichloroacétyle (N-TCA) en N-acétyle (N-Ac). Nous avons essayé de réduire cette fonction N-TCA avec du tributylétain ($n\text{-Bu}_3\text{SnH}$)⁶⁹ en présence d'azobisisobutyronitrile (AIBN), de diméthylacétamide (DMA) et de benzène, mais nos résultats n'étaient pas reproductibles. En effet, sur tous les essais réalisés, les rendements variaient de 11% à 85% et nous récupérions très peu de produit de départ (maximum 23%).

Ainsi, il a fallu réduire la fonction N-TCA par une autre méthode et nous avons donc essayé de réduire cette fonction avec un complexe au zinc/cuivre⁷¹ dans l'acide acétique à 50°C (schéma IV-47) et nous avons obtenu le composé désiré **305** avec 92% de rendement. Comme nous avons obtenu de bons résultats avec le complexe au Zn/Cu, nous avons préféré cette méthode beaucoup plus facile à mettre en œuvre, reproductible et surtout moins toxique.

Le tétrasaccharide **305** réduit a alors été désilylé sélectivement avec du $\text{Et}_3\text{N}\cdot 3\text{HF}$ pour donner le diol désiré **306** (95%), précurseur commun des composés non sulfatés et monosulfatés en 4 ou 6 sur Gall.

⁷¹ Vibert A. ; Lopin-Bon C. ; Jacquinet J.-C. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 1867-1869

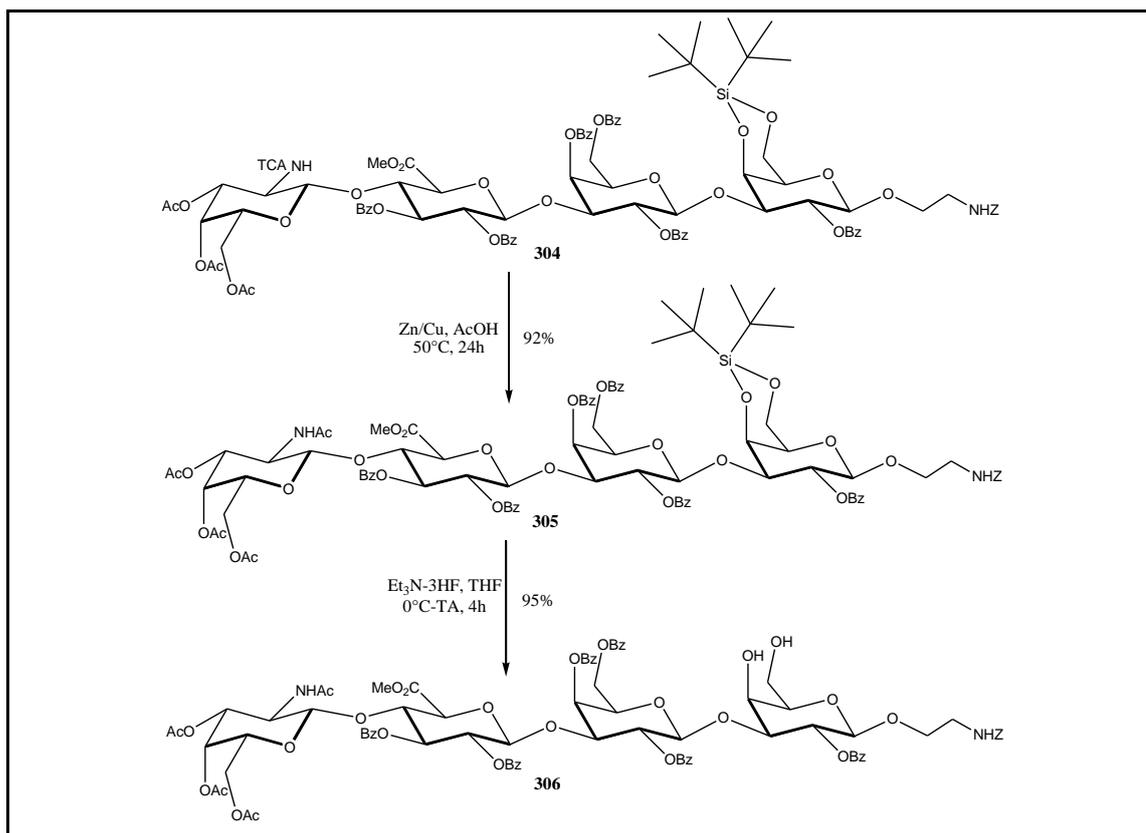


Schéma IV- 47

A. PREPARATION DU TETRASACCHARIDE NON SULFATE 209.

Afin d'obtenir le tétrasaccharide non sulfaté (schéma IV-48), nous avons effectué une saponification en deux temps du précurseur **306** afin de déprotéger les esters du sucre. D'abord, une saponification sélective de l'ester méthylique par une solution de lithine. Les autres esters ont été saponifiés par une solution de soude 4M et nous avons ainsi obtenu après purification sur LH-20 dans l'eau le tétrasaccharide déprotégé **307** (85%).

Le groupement benzyloxycarbonyle (Z) de **307** a ensuite été clivé par hydrogénolyse en présence de Pd/C libérant ainsi l'amine primaire non isolée (schéma IV-48), et un couplage avec un dérivé succinimide de la biotine dans un mélange eau/DMF/Et₃N a donné le premier tétrasaccharide cible biotinylé et non sulfaté **209** avec 81% de rendement après purification (annexe

6)

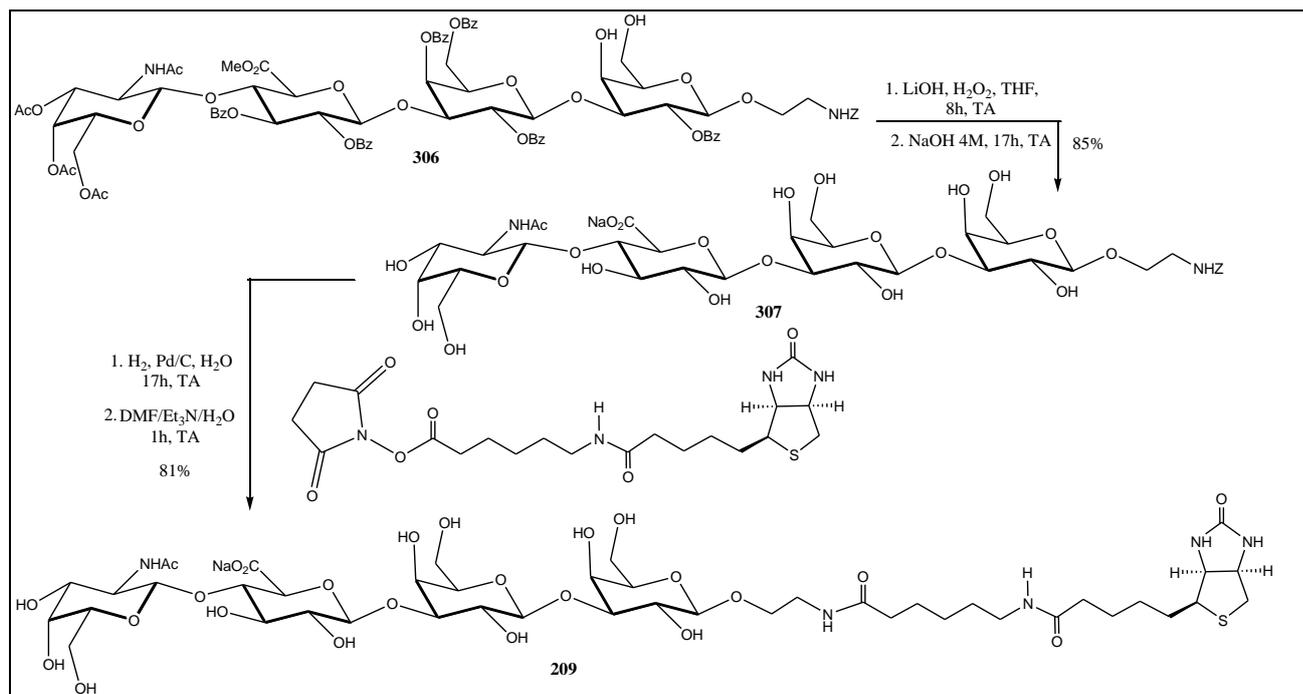


Schéma IV- 48

Le tétrasaccharide cible **209** a ainsi été obtenu en 7 étapes à partir de **273** et **302** avec 46% de rendement global.

B. PREPARATION DU TETRASACCHARIDE 6 SULFATE SUR GAL1 210.

Le diol **306** obtenu, nous avons alors procédé à une sulfatation régiosélective en 6 suivie d'une acétylation en 4 (schéma IV-49) dans les mêmes conditions que celles décrites pour la sulfatation de **274** et nous avons obtenu le sel de sodium **308** (81%).

Une saponification de **308** en deux temps (schéma IV-49) comme décrit pour le diol **274** afin de déprotéger les esters du sucre a ensuite été réalisée et a donné **309** (69%). Puis, le groupement Z a été clivé par hydrogénolyse en présence de Pd/C libérant ainsi l'amine primaire non isolée (schéma IV-49). Nous avons ensuite réalisé une réaction de couplage avec un dérivé succinimide de la biotine dans un mélange eau/DMF/Et₃N pour obtenir, après purification, le trisaccharide cible biotinylé et 6 sulfaté **210** (64%) (annexe 7).

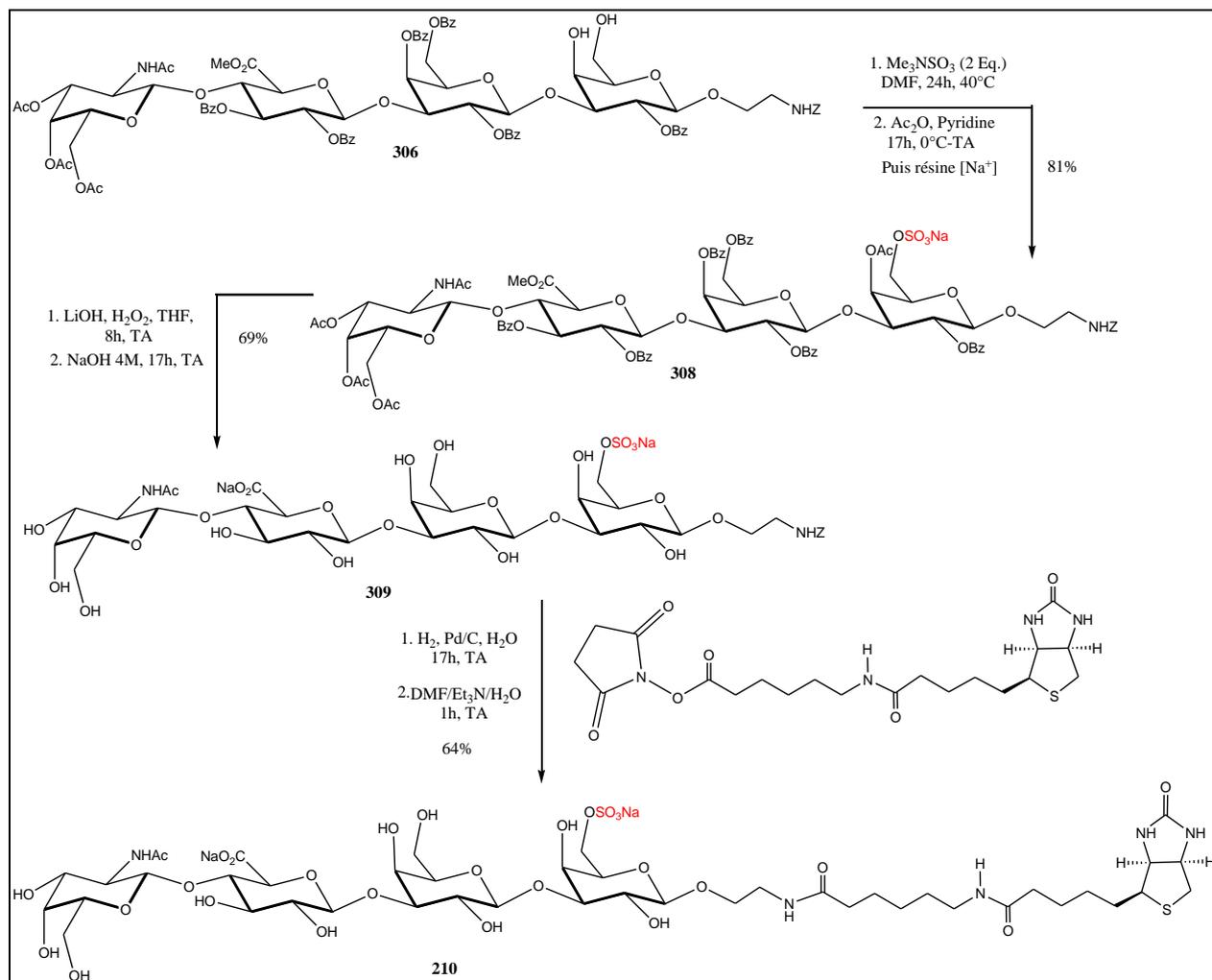


Schéma IV- 49

La sulfatation en 6 et l'acétylation en 4 ont été confirmées par la HRMS et par les spectres RMN ^1H et ^{13}C de **308** (tableau IV-5).

Tétrasaccharide	306	308
Protons Gal1 et δ (ppm)	H-4 (4,08-4,05) H-6 (3,59-3,17)	H-4 (5,56) H-6 (4,45-4,43)
Carbones Gal1 et δ (ppm)	C-4 (68,65) C-6 (60,15)	C-4 (73,01-71,30) C-6 (63,85)

Tableau IV- 5

Nous avons ainsi synthétisé le tétrasaccharide cible **210** en 9 étapes à partir de **273** et **302** avec 24% de rendement global.

C. PREPARATION DU TETRASACCHARIDE 4 SULFATE SUR GAL1 211.

La préparation des composés sulfatés en 4 (schéma IV-50) a d'abord nécessité la benzylation régiosélective de la position 6 réactive du diol **306** avec du cyanure de benzoyle (BzCN) dans la pyridine. Le tétrasaccharide **310** obtenu (72%) a alors été sulfaté sur la

position 4 avec un large excès de Me_3NSO_3 à 60°C dans le DMF puis, une purification sur LH : 20 et un échange d'ion ont alors fourni le sel de sodium **311** (81%).

Une saponification de **311** en deux temps (schéma IV-50) comme décrit pour le diol **274** a alors donné **312** (72%). Puis, une hydrogénolyse du groupement Z en présence de Pd/C a libéré l'amine primaire, non isolée (schéma IV-50). Le couplage avec le dérivé succinimide de la biotine dans un mélange eau/DMF/ Et_3N a enfin conduit au tétrasaccharide cible biotinylé et 4 sulfaté **211** avec 74% de rendement après purification (annexe 8).

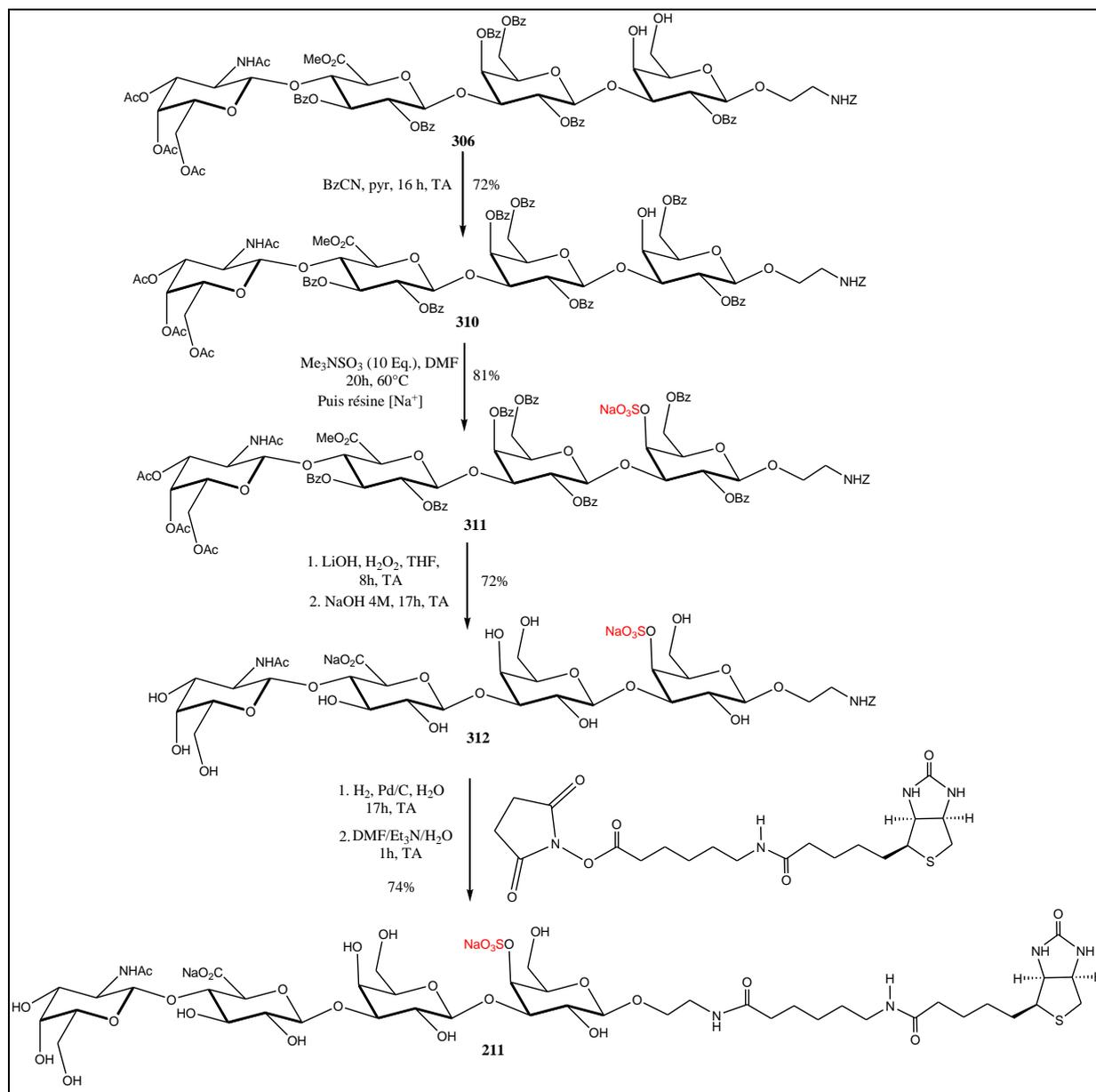


Schéma IV- 50

La sulfatation en 4 et la benzoylation en 6 ont été confirmées par la HRMS et par les spectres RMN ^1H et ^{13}C de **311** (tableau IV-6).

Tétrasaccharide	306	311
Protons Gal1 et δ (ppm)	H-4 (4,08-4,05) H-6 (3,59-3,17)	H-4 (5,87) H-6 (4,59-4,47)
Carbones Gal1 et δ (ppm)	C-4 (68,65) C-6 (60,15)	C-4 (71,58-71,33) C-6 (65,47)

Tableau IV- 6

Le tétrasaccharide cible **211** a ainsi été obtenu en 9 étapes à partir de **273** et **302** avec 21% de rendement global.

Ainsi, nous avons obtenu les tétrasaccharides cibles biotinylés non sulfaté **209**, monosulfaté en 6 **210** et en 4 **211** sur Gal1. Nous allons maintenant décrire la synthèse des tétrasaccharides monosulfatés en 4 ou 6 sur Gal2.

IV-6.2 TETRASACCHARIDES SULFATE SUR GAL2.

A. PREPARATION DU TETRASACCHARIDE DIOL COMMUN SUR GAL2 316.

Le diol **316**, précurseur commun aux tétrasaccharides cibles monosulfaté en 4 **212** et en 6 **213** sur Gal2 (schéma IV-51), sera obtenu à partir du précurseur trisaccharidique **284** préparé précédemment et du donneur **302**.^{68,69,70}

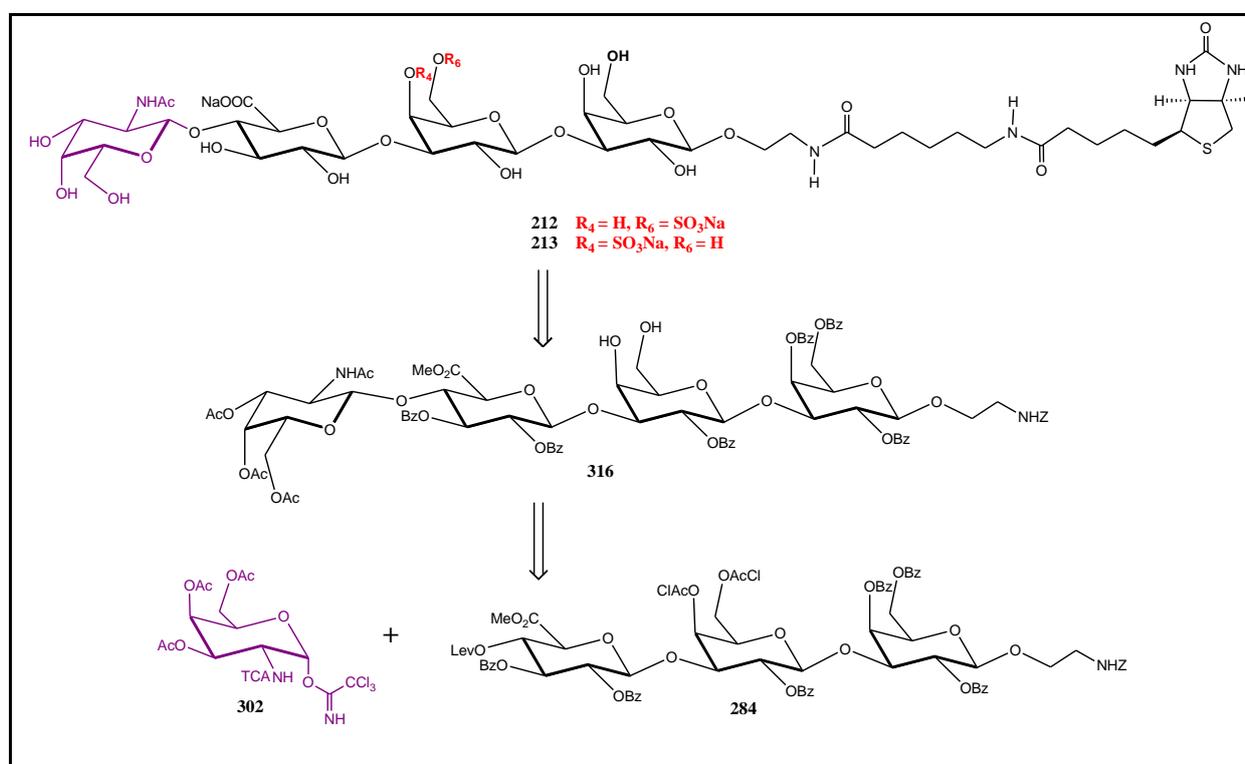


Schéma IV- 51

En partant du trisaccharide **284** (schéma IV-52), une délévulinoylation avec de l'acétate d'hydrazinium a libéré la position 4 sur l'extrémité non réductrice du sucre donnant ainsi

l'accepteur **313** (61%). Le rendement ici est assez moyen, comparativement à la série silylée. En effet, nous avons observé une déchloroacétylation du trisaccharide pendant la réaction de délévulinoxylation faisant perdre une certaine quantité de produit. Ce rendement pourrait être amélioré en diminuant le temps de réaction (moins de 5 min) afin d'éviter la déchloroacétylation du trisaccharide **284**.

Une glycosylation de **313** avec le donneur **302** en présence de TMSOTf a ensuite donné le tétrasaccharide **314** (74%).

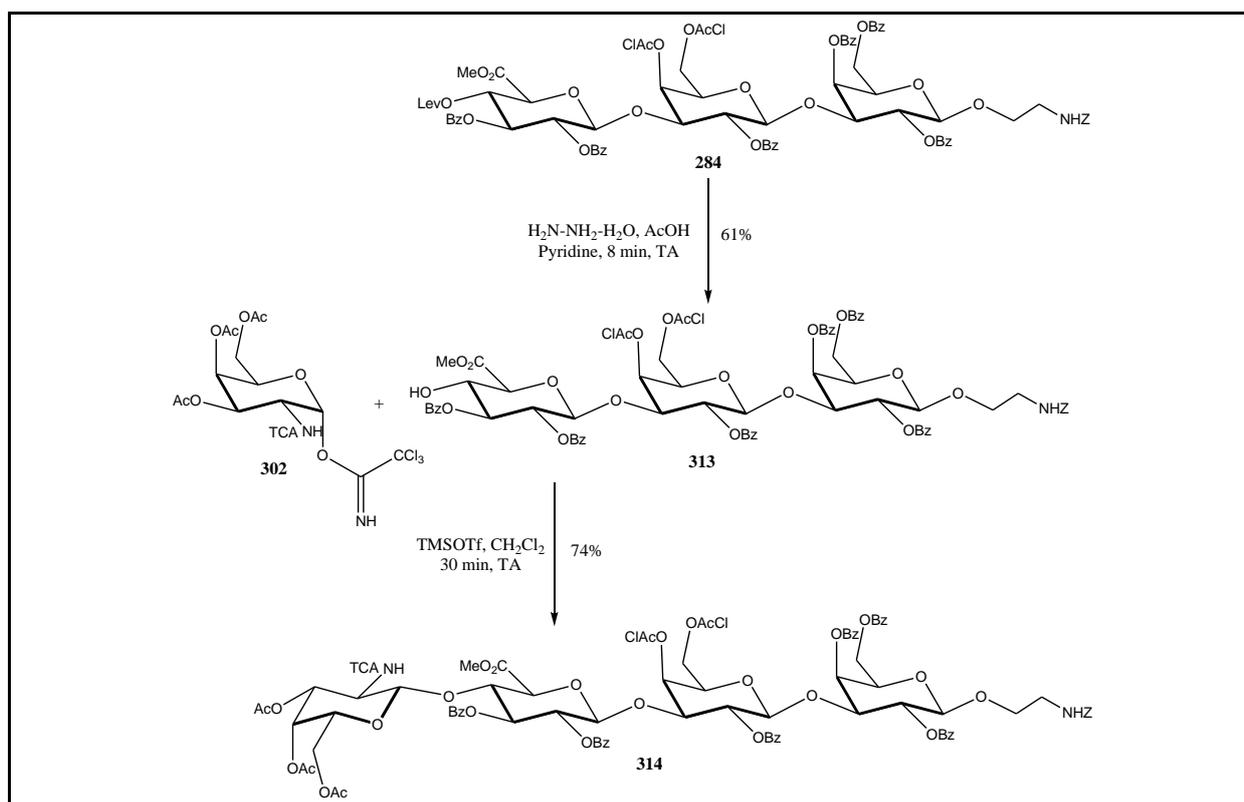


Schéma IV- 52

Le squelette tétrasaccharidique **314** ainsi obtenu a été déchloroacétylé sélectivement avec de la thiourée pour donner le diol **315** avec 95% de rendement (schéma IV-53). Puis, la réduction de la fonction N-TCA en N-Ac par un complexe zinc/cuivre⁷¹ dans l'acide acétique à 50°C a donné le diol désiré **316** (65%), précurseur commun des composés monosulfatés en 4 ou en 6 sur Gal2.

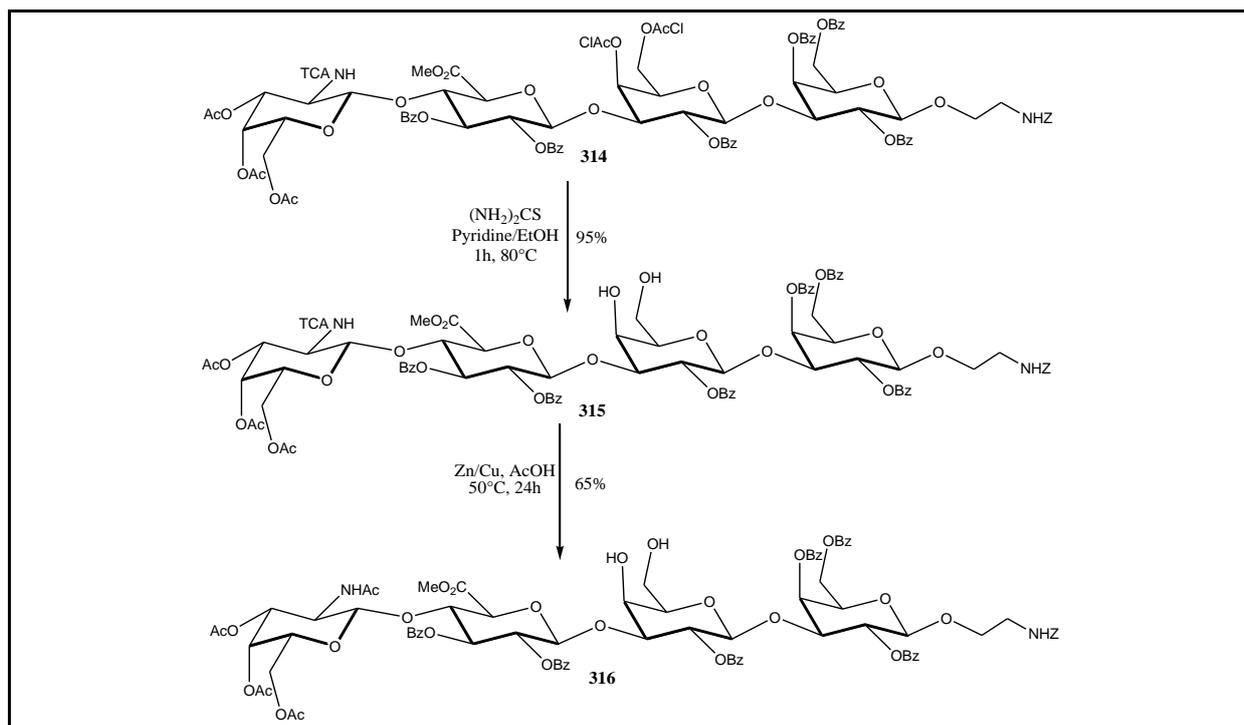


Schéma IV- 53

Lors de la réduction de la fonction N-TCA en N-Ac, des difficultés ont été rencontrées. En effet, nous avons obtenu, dans un premier temps, seulement 57% de bon produit réduit **316** accompagné d'un mélange de tétrasaccharide réduit et acétylé en 6 (5%) et de tétrasaccharides avec un ou deux Cl restants et non acétylés en 6 (25%). Nous avons donc réengagé les tétrasaccharides chlorés dans une seconde réaction de réduction, ce qui a remonté le rendement à seulement 65%, car la réaction de réduction des Cl n'évolue plus.

La présence du diol libre semble parasiter cette réaction de réduction du N-TCA, étant donné que celle-ci donne de très bons résultats (92%) dans la série des tétrasaccharides silylés sur Gal1 sans diol libre.

Nous n'avons cependant pas essayé de réduire la fonction N-TCA du diol **315** avec le *n*-Bu₃SnH, il serait probablement intéressant d'effectuer des essais afin de comparer les deux voies de réduction du TCA et d'éviter également la formation du composé acétylé en 6.

B. PREPARATION DU TETRASACCHARIDE 6 SULFATE SUR GAL2 **212**.

Le diol **316** obtenu, nous avons alors procédé à la sulfatation régiosélective suivie d'une acétylation (schéma IV-54) dans les mêmes conditions décrites pour la sulfatation de **274** conduisant au sel de sodium **317** (84%).

Une saponification de **317** en deux temps (schéma IV-54) comme décrit pour le diol **274** a alors donné **318** (70%) dont le groupement Z a été clivé par hydrogénéolyse en présence de Pd/C. L'amine primaire ainsi libérée (schéma IV-54) a été couplée au dérivé succinimide de la biotine pour conduire au tétrasaccharide cible biotinylé et 6 sulfaté **212** avec 69% de rendement après purification (annexe 9).

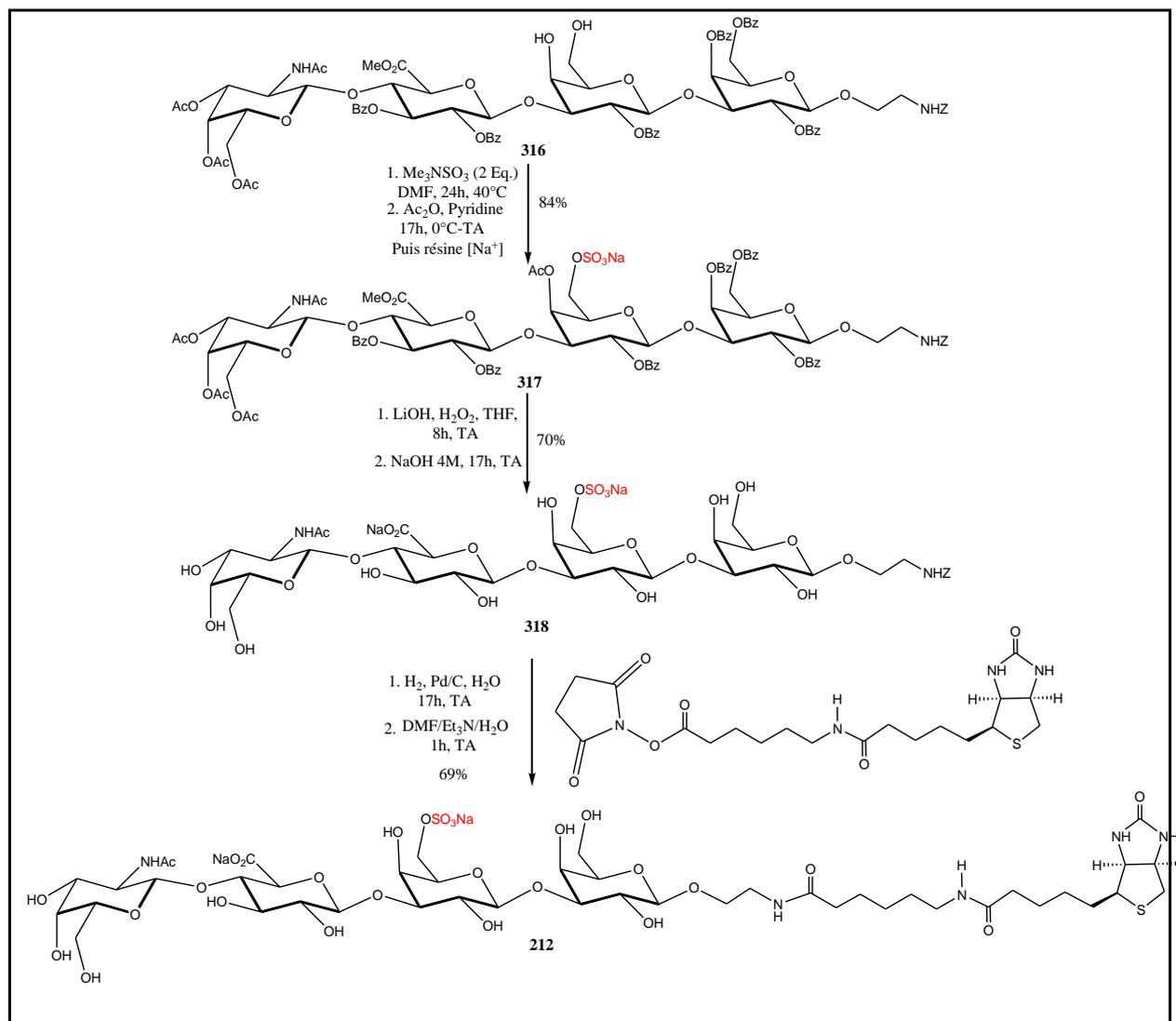


Schéma IV- 54

La sulfatation en 6 et l'acétylation en 4 ont été confirmées par la HRMS et par les spectres RMN ¹H et ¹³C de **317** (tableau IV-7).

Tétrasaccharides	316	317
Protons Gal1 et δ (ppm)	H-4 (4,01-3,98) H-6 (3,43-3,36)	H-4 (5,43) H-6 (4,47-4,35)
Carbones Gal1 et δ (ppm)	C-4 (68,66) C-6 (60,17)	C-4 (74,86-71,12) C-6 (64,40)

Tableau IV- 7

Nous avons donc synthétisé le tétrasaccharide cible **212** en 9 étapes à partir de **284** et **302** avec 11% de rendement global.

C. PREPARATION DU TETRASACCHARIDE 4 SULFATE SUR GAL2 213.

La synthèse des composés sulfatés en 4 (schéma IV-55) a d'abord nécessité, comme précédemment décrit, la benzylation régiosélective de la position 6 réactive du diol **316** avec du BzCN dans la pyridine conduisant au tétrasaccharide **319** avec 86% de rendement. Puis, la position 4 a été sulfatée avec un large excès de Me_3NSO_3 à 60°C dans le DMF et une purification sur LH : 20 suivie d'un échange d'ion ont alors conduit au sel de sodium **320** (89%). La saponification de **320** en deux temps (schéma IV-55) comme décrit pour le diol **274** a ensuite donné le tétrasaccharide **321** (71%). Le clivage du groupement Z par hydrogénolyse en présence de Pd/C a ensuite libéré l'amine primaire non isolée qui a alors été couplée avec le dérivé succinimide de la biotine conduisant, après purification, au tétrasaccharide cible biotinylé et 4 sulfaté **213** avec 86% de rendement (annexe 10).

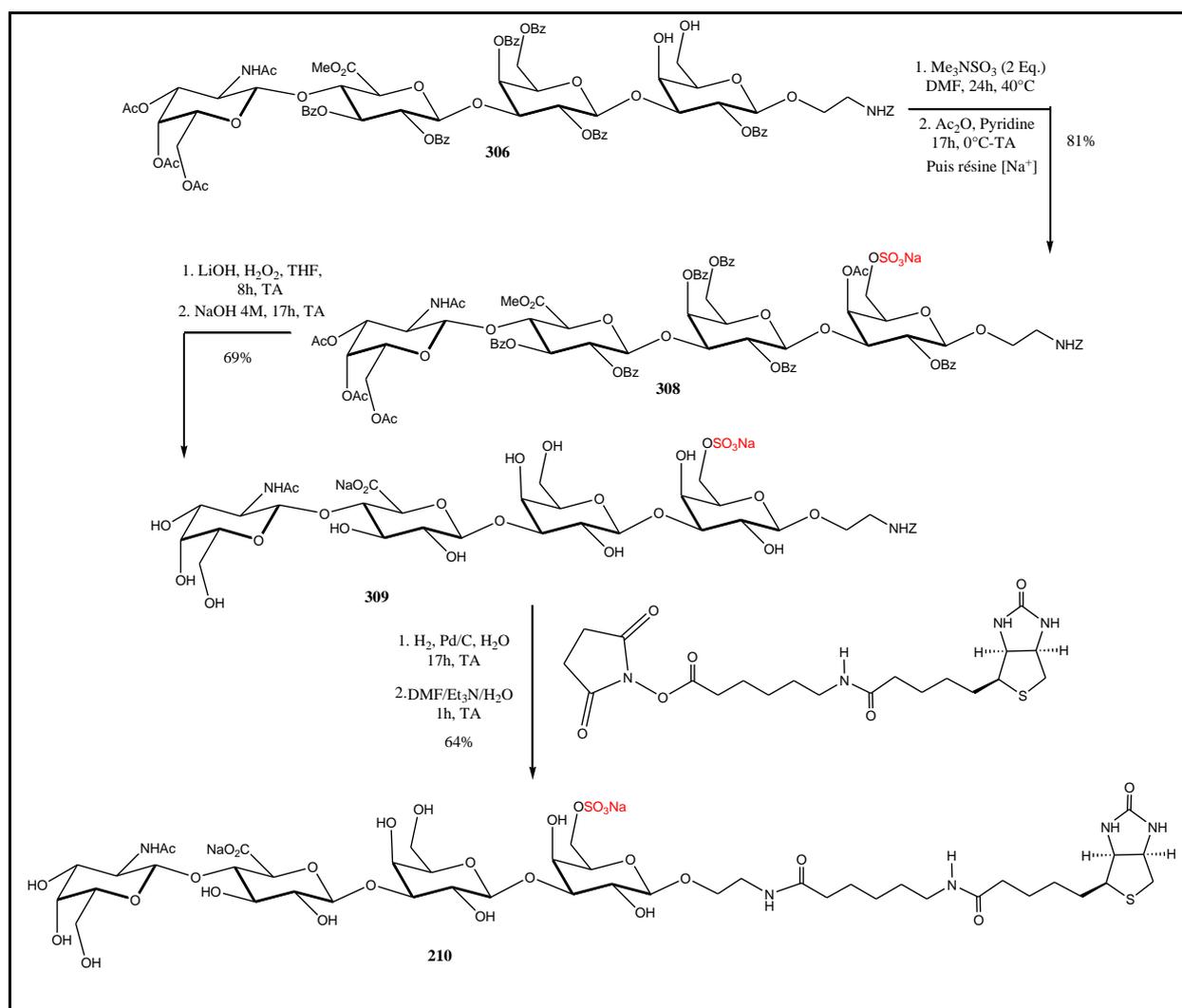


Schéma IV- 55

La HRMS et les spectres RMN ^1H et ^{13}C des positions 4 et 6 confirment bien la structure de **320** (tableau IV-8).

Tétrasaccharides	316	320
Protons Gal1 et δ (ppm)	H-4 (4,01-3,98) H-6 (3,43-3,36)	H-4 (5,78) H-6 (4,86-4,69)
Carbones Gal1 et δ (ppm)	C-4 (68,66) C-6 (60,17)	C-4 (71,00) C-6 (64,77)

Tableau IV- 8

Le tétrasaccharide cible **213** a ainsi été obtenu en 9 étapes avec 13% de rendement global à partir de **284** et **302**.

Nous avons ainsi obtenu une série complète de cinq tétrasaccharides biotinylés (schéma IV-56) non sulfaté **209** et monosulfatés en 4 ou 6 sur Gal1 (**210** et **211**) ou Gal2 (**212** et **213**) comportant une amorce monosaccharidique de CS, obtenus à partir des trisaccharides communs **273** et **284** et de l'acétimidate **302**.

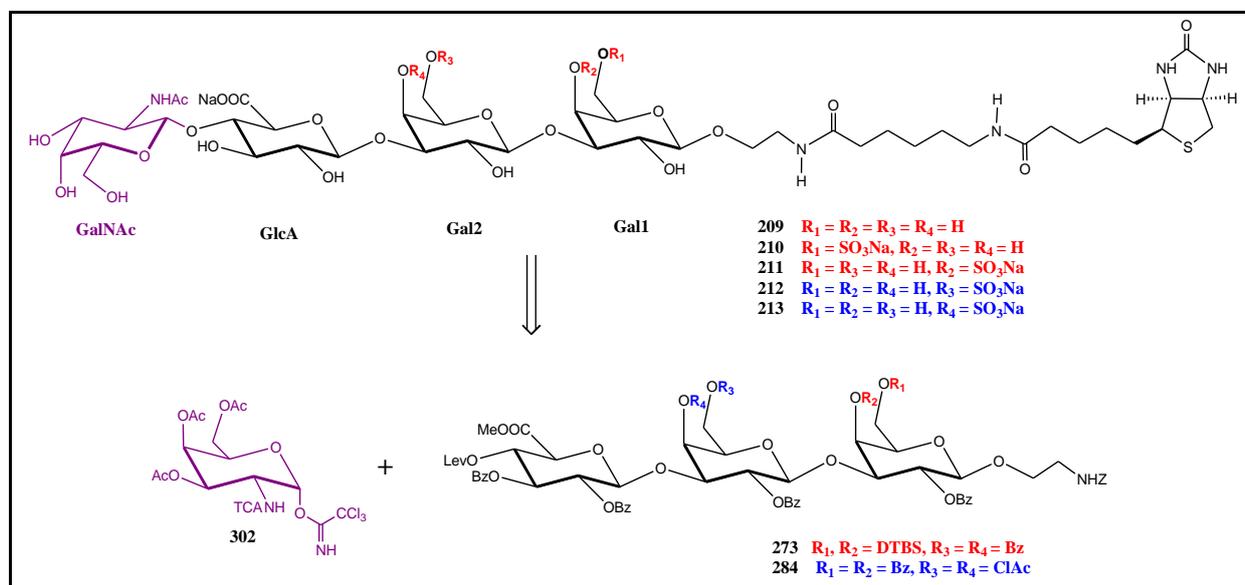


Schéma IV- 56

V-PERSPECTIVES

Au terme de ce travail, de nombreuses perspectives restent ouvertes et doivent être entreprises afin de compléter au mieux le projet d'étude de la compréhension du mécanisme de biosynthèse des GAGs par les glycosyltransférases. Dans le but d'approfondir davantage la compréhension de ce mécanisme et de déterminer la longueur de l'amorce de CS nécessaire à cette biosynthèse, nous avons entrepris la synthèse de pentasaccharides biotinylés non sulfatés ou diversement monosulfatés en 4 ou 6 sur Gal1 ou Gal2 (figure V-1). Ils se composent des trois derniers sucres de la zone de liaison liés à une amorce disaccharidique de CS.

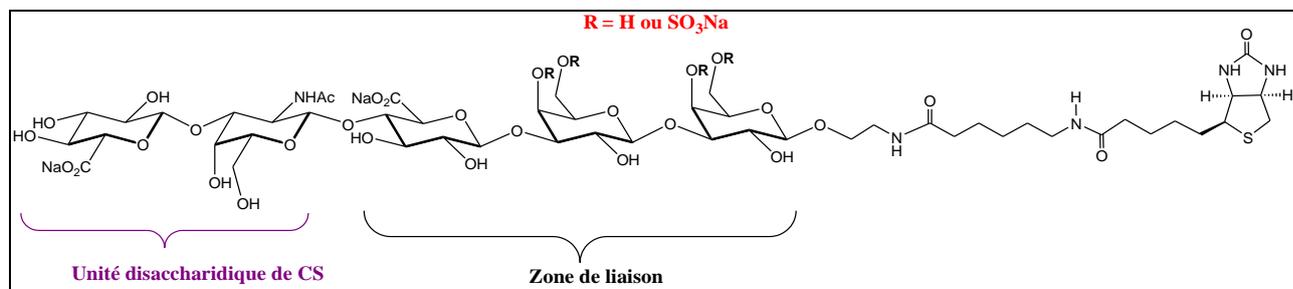


Figure V- 1

V-1 PENTASACCHARIDES : zone de liaison et amorce disaccharidique de CS.

L'unité disaccharidique de base des CS est composée d'un acide D-glucuronique et d'une N-acétyl D-galactosamine (figure V-1). Ainsi, en collaboration avec Anaïs Mirault, stagiaire de M1 dans notre laboratoire, nous avons réalisé une glycosylation (schéma V-1) entre l'accepteur **279** et l'imidate **322**⁷² en présence de TMSOTf dans le CH₂Cl₂ donnant le squelette pentasaccharidique **323** (70%). Puis, la fonction N-TCA a été convertie en N-Ac par réduction avec le complexe Zn/Cu dans l'acide acétique à 50°C pour conduire au pentasaccharide réduit **324** (86%). Afin d'obtenir ce bon rendement, il a été nécessaire de relancer cette réaction une seconde fois avec une étape de purification intermédiaire, la réduction du N-TCA étant incomplète au bout de 24 h.

Le pentasaccharide **324** a ensuite été désilylé sélectivement avec du Et₃N.3HF dans le THF libérant ainsi le diol désiré **325** (79%), précurseur des composés non sulfatés et monosulfatés en 4 ou 6 sur Gal1. Une saponification du diol **325** en deux temps a ensuite fourni le composé déprotégé **326** (71%). Une hydrogénation catalytique en présence de Pd/C a alors permis le clivage du groupement Z, libérant l'amine primaire non isolée, puis le couplage avec un dérivé succinimide de la biotine dans le mélange eau/Et₃N/DMF a alors conduit au composé biotinylé non sulfaté cible **327** avec 48% de rendement après purification.

⁷² Lopin C.; Jacquinet J.-C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 2574-2578

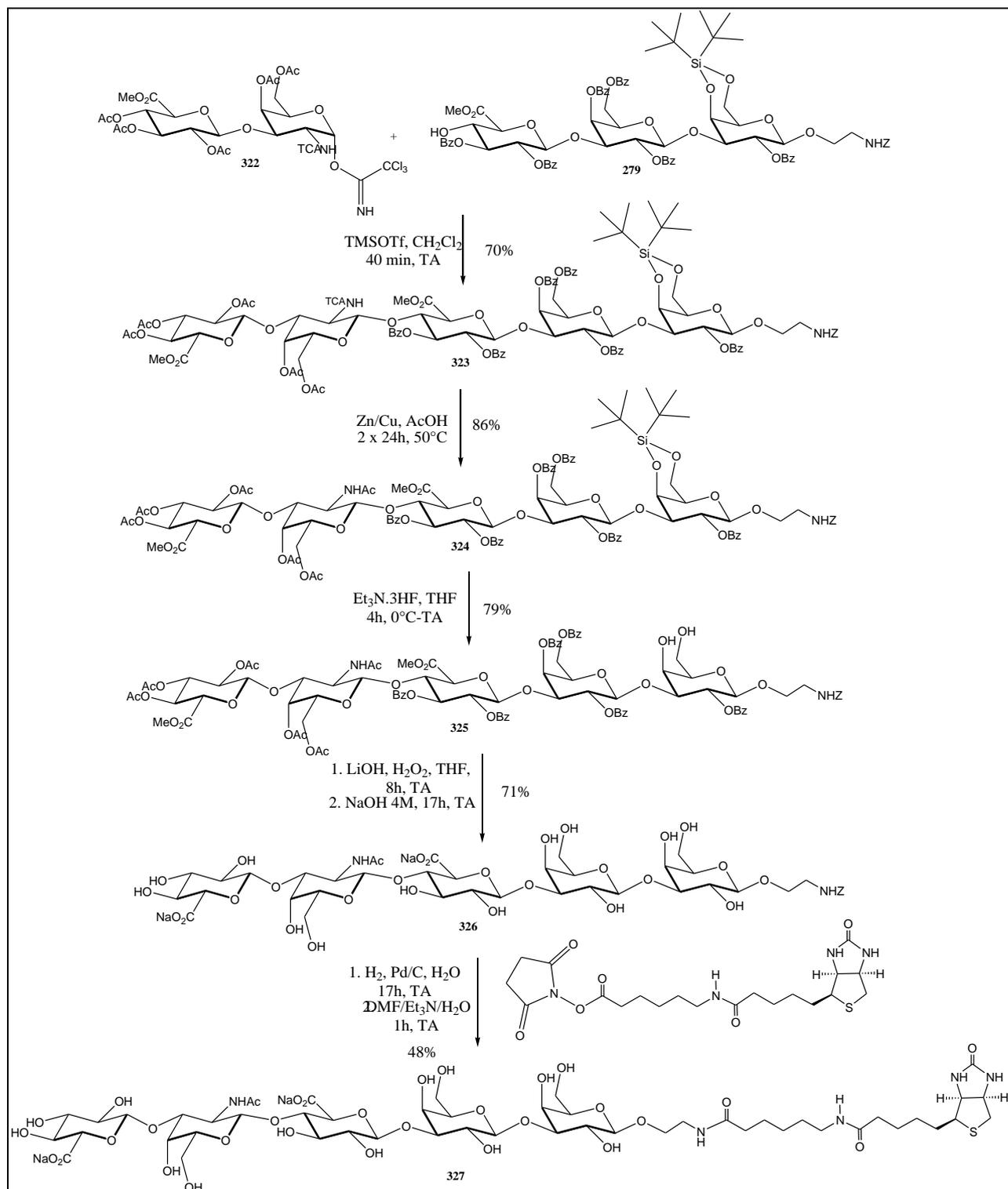


Schéma V- 1

Afin de compléter la série de pentasaccharides biotinylés, il faudra partir du diol commun **325** (schéma V-2) et réaliser les mêmes séries de réaction décrites pour les sulfatations des tri- et tétrasaccharides et ainsi obtenir les pentasaccharides biotinylés, monosulfatés en 4 ou 6 sur Gal1 (benzoylation régiosélective en 6 puis sulfatation ou

sulfatation régiosélective en 6 et acétylation suivis de saponification, hydrogénation catalytique et biotinylation).

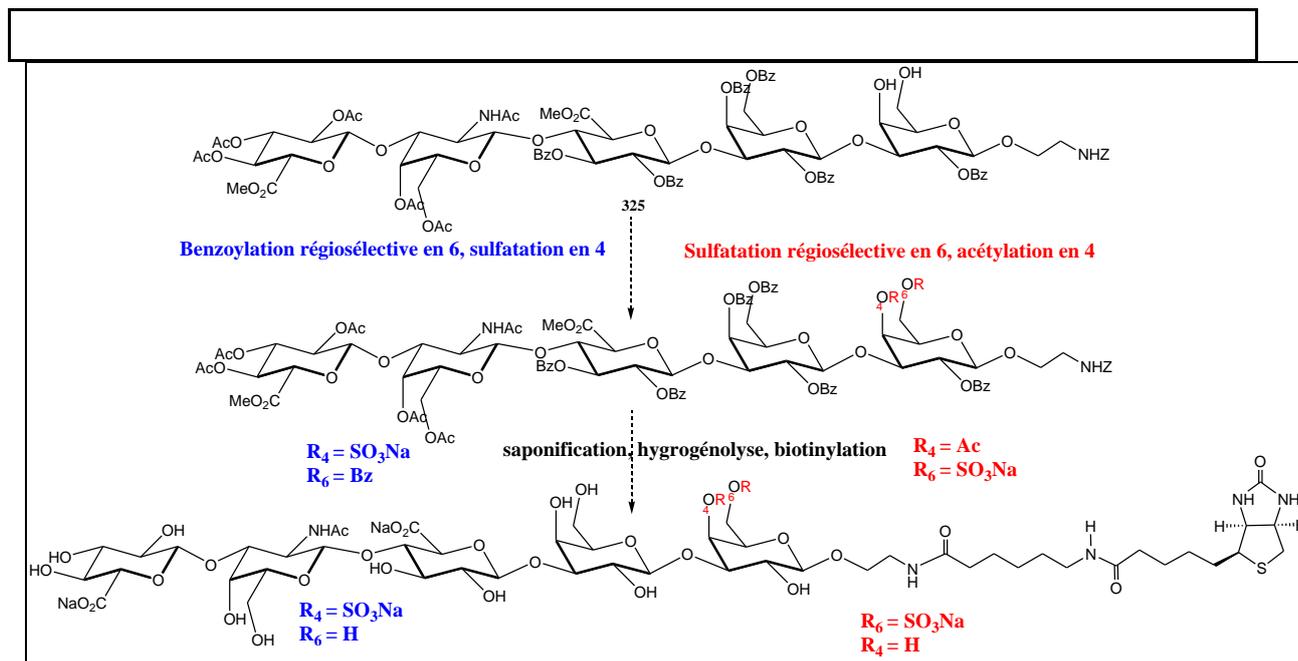


Schéma V- 2

Concernant les pentasaccharides biotinylés qui seront monosulfatés en 4 ou 6 sur Gal2, il faudra réaliser une glycosylation entre l'accepteur **282** et le donneur **322** (schéma V-3), puis effectuer la même série de réactions que pour les tri- et tétrasaccharides biotinylés monosulfatés en 4 ou 6 sur Gal1 (déchloroacétylation, réduction du N-TCA, benzoylation régiosélective en 6 puis sulfatation ou sulfatation régiosélective en 6 et acétylation suivis de saponification, hydrogénation catalytique et biotinylation).

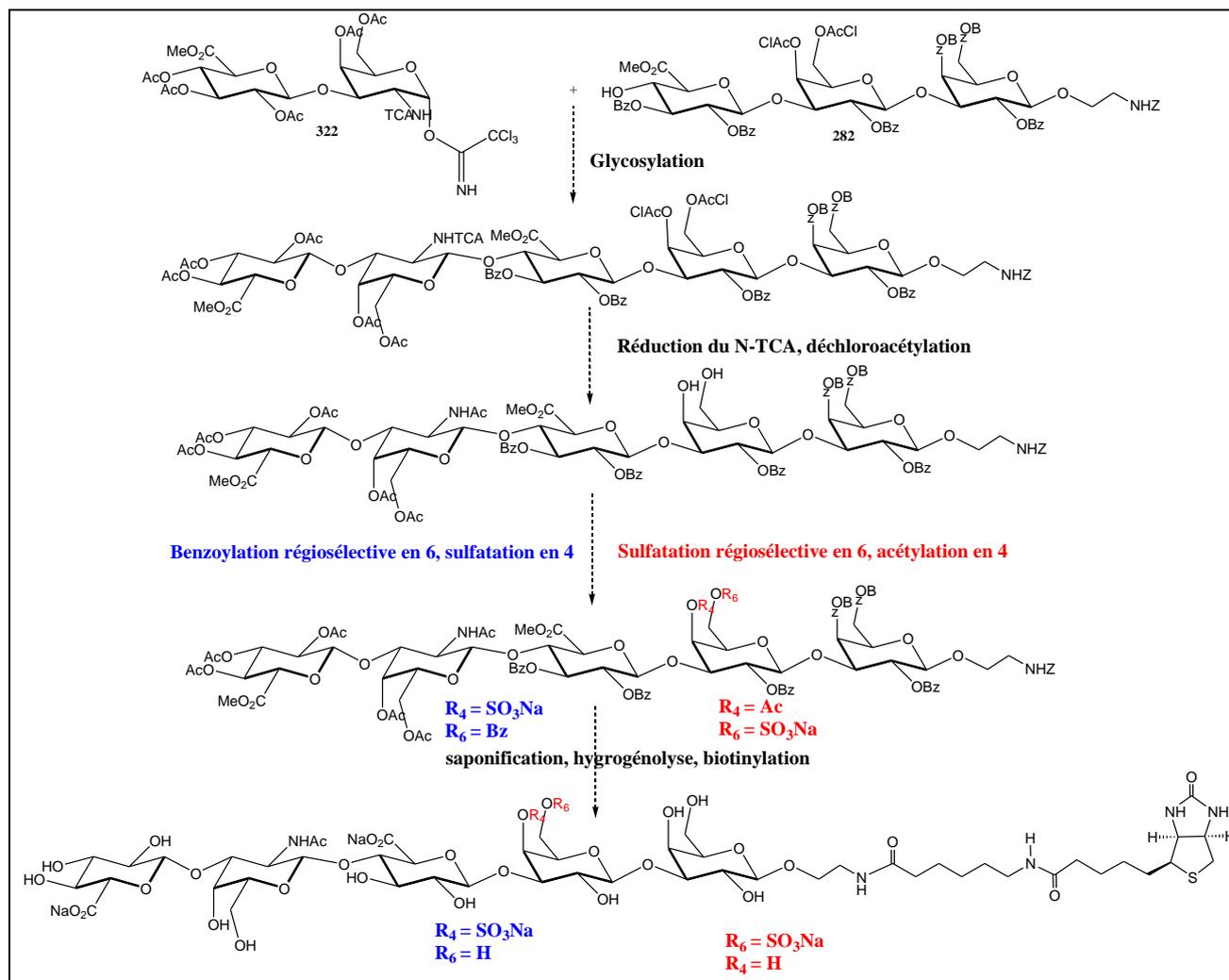


Schéma V- 3

V-2 VERS LES HEPARANES SULFATES (HS).

Afin que nos collègues biologistes de Nancy puissent réaliser une étude complète du mécanisme de biosynthèse des GAGs par les glycosyltransférases (GalNAcT1/2 et EXTL2/3), il est pertinent de soumettre à ces enzymes les trisaccharides synthétisés, ainsi que les tétra- et pentasaccharides comportant les amorces de CS (pour les GalNAcT1/2) mais également des tétra- et pentasaccharides comportant des amorces de HS (pour les EXTL2/3).

C'est pourquoi, il faudra synthétiser des séries complètes de tétra- et pentasaccharides biotinylés de HS monosulfatés ou non en 4 ou 6 sur Gal1 ou Gal2 (schéma V-4). Ils seront obtenus à partir des mêmes précurseurs **273** ou **284** formant les trois derniers sucres de la zone de liaison liés à une amorce monosaccharidique de HS **328**^{68,73,74} ou disaccharidique de HS **322**.

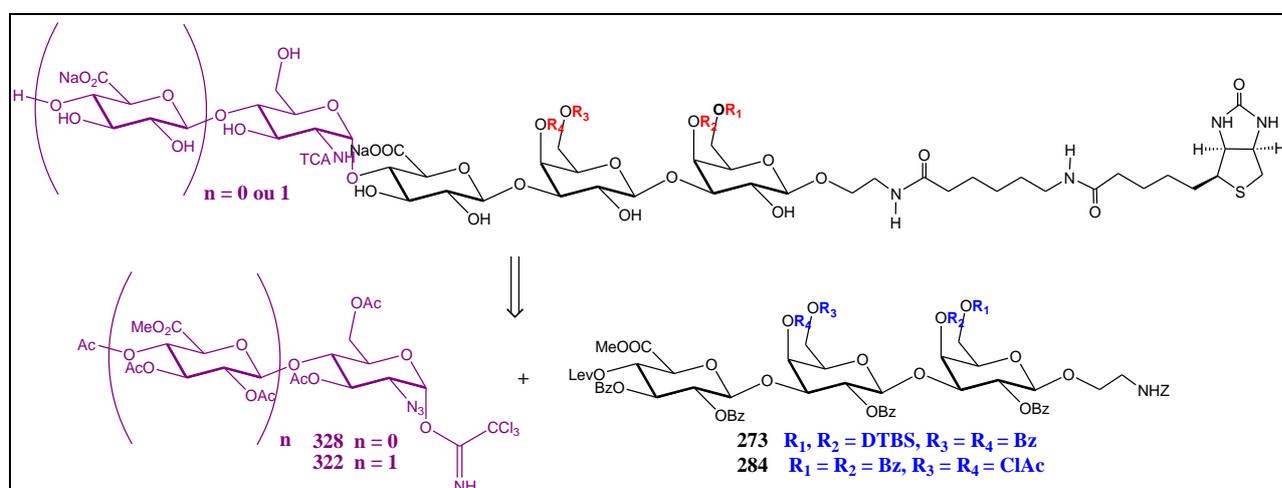


Schéma V-4

Ce travail a été initié en testant une glycosylation entre l'accepteur **279** et l'imidate **328**, précurseur de l'amorce de HS en présence de TMSOTf (schéma V-5). Nous avons obtenu le tétrasaccharide désiré **329** avec un résultat médiocre (41%), ce rendement reste cependant à optimiser avant de compléter la série de tétrasaccharides de HS biotinylés non sulfatés, monosulfatés en 4 ou 6 sur Gal1.

⁷³ Goddar-Borger E. D.; Stick R. V. *Org. Lett.* **2007**, 9, 3797-3800

⁷⁴ Grundler G.; Schmidt R. R. *Liebigs Ann. Chem.* **1984**, 1826-1847

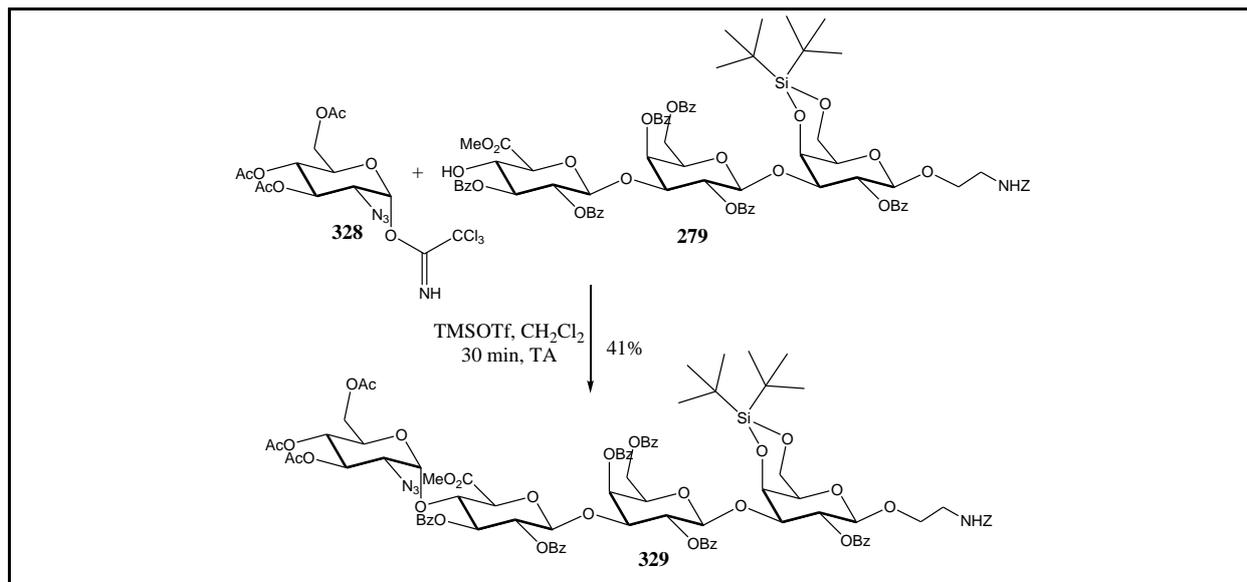


Schéma V- 5

VI. CONCLUSION GENERALE.

Lors de notre travail, nous avons atteint notre objectif, à savoir synthétiser des séries complètes de tri- (204-208) et tétrasaccharides (209-213) biotinylés et diversement monosulfatés ou non (schéma V-6). Pour ce faire, nous avons préparé trois monosaccharides clés communs : le dérivé D-glucuronique **227**, le dérivé D-Gal2 **249** et le dérivé D-Gal1 **250**. L'assemblage des précurseurs **227** et **249**, nous a permis d'accéder aux imidates **271**, benzoylé sur D-Gal2 et **272**, chloroacétylé sur D-Gal2. Une glycosylation de l'imidate **271** avec le précurseur D-Gal1 **250** a ensuite conduit au trisaccharide commun intermédiaire **273** silylé sur le D-Gal1, précurseur des oligosaccharides non sulfatés et monosulfatés sur D-Gal1. Une glycosylation de l'imidate **272** avec le monosaccharide **287** (issu du monosaccharide clé **250**) a quant à elle conduit au trisaccharide commun intermédiaire **284** chloroacétylé sur D-Gal2, précurseur des oligosaccharides monosulfatés sur D-Gal2. La construction des tétrasaccharides a également nécessité la synthèse du précurseur D-GalNAc **328**.

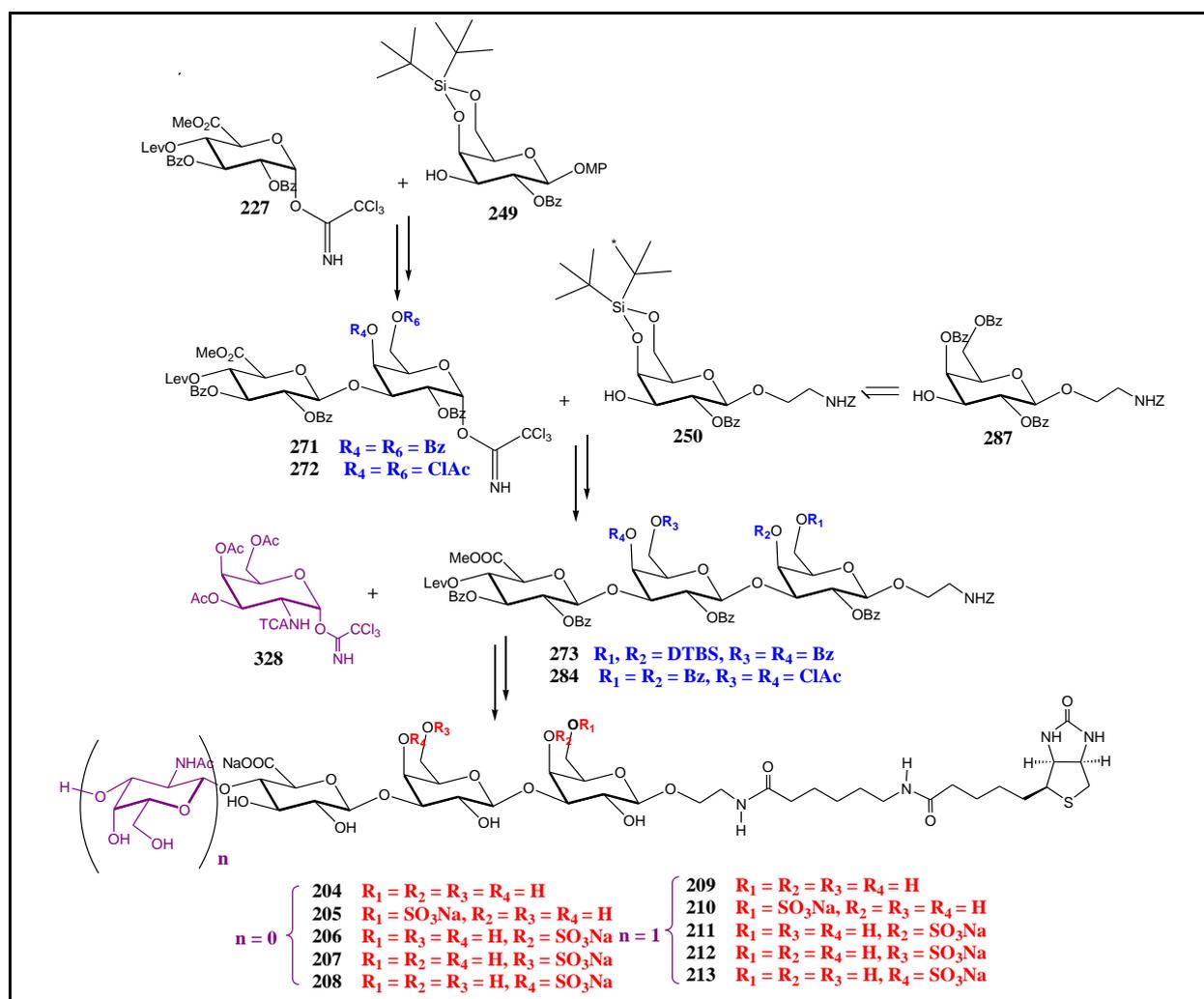


Schéma V- 6

Ces deux séries d'oligosaccharides biotinylées permettront à nos collègues biologistes de Nancy d'étudier le mécanisme d'initiation de la biosynthèse et de l'élongation des chaînes de CS par les GalNAcT1/2 pour comprendre le rôle des sulfatations dans la biosynthèse des GAGs au niveau de la bifurcation CS/HS et également de déterminer si l'initiation et/ou

l'élongation de la biosynthèse des GAGs se fait directement à partir de la zone de liaison convenablement sulfatée ou bien si la présence d'une amorce de CS dont la zone de liaison est convenablement sulfatée est nécessaire à cela.

La synthèse des pentasaccharides comportant le motif disaccharidique de CS permettra de déterminer s'il existe une longueur de l'amorce nécessaire pour stimuler l'initiation et/ou l'élongation des chaînes de CS par les GalNAcT1/2.

Il reste maintenant à poursuivre ces voies de synthèse afin de compléter la série de pentasaccharides biotinylés (zone de liaison monosulfatée + amorce disaccharidique de CS), et de réaliser des synthèses similaires dans la série HS en synthétisant des tétrasaccharides biotinylés (zone de liaison monosulfatée ou non + amorce monosaccharidique de HS) et des pentasaccharides biotinylés (zone de liaison monosulfatée ou non + amorce disaccharidique de HS). Ce travail accompli permettra la réalisation d'études enzymatiques comparatives sur les glycosyltransférases, responsables de l'initiation et de l'élongation des chaînes de CS et de HS, dans le but d'en tirer des conclusions nécessaires à la compréhension de ce mécanisme de biosynthèse encore mal connu.

A plus long terme, nous imaginons réaliser la synthèse de tétra- et pentasaccharides de CS et de HS dont les sucres aminés porteront des groupements sulfates avec différentes combinaisons possibles de sulfatations de la zone de liaison. En partant de là, nous pourrons envisager d'allonger la zone de liaison avec de plus longues amorces de CS et de HS (3, 4, 5...) laissant ainsi place à une multitude de possibilités et d'oligosaccharides à synthétiser.

VII. PARTIE EXPERIMENTALE

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) ou par une solution de ninhydrine (1% dans l'acétone), puis par chauffage au moyen d'un décapeur thermique.

Les chromatographies flash sont réalisées sur un gel de silice (E.Merck, 40-63 μ m).

Spectrométrie

Les spectres de masse ont été obtenus à partir d'un spectromètre Micromass Quattro Ultima triple quadripôle opérant en modes négatif et positif 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 réalisés à l'Institut de Chimie Organique et Analytique (ICOA) UMR 7311.

Les spectres de RMN ¹H et ¹³C ont été enregistrés à 25°C au moyen de spectromètres Bruker DPX-250 ou AV-400. Les déplacements chimiques (δ) sont mesurés en ppm, (s : singulet, d : doublet, dd ; doublet de doublet, t : triplet, m : massif, q : quadruplet) par rapport :

- au Me₄Si en tant que standard interne pour les spectres effectués dans le CDCl₃.
- à l'acétone en tant que standard interne pour les spectres effectués dans le D₂O.
- au signal résiduel de l'acétone, du DMSO et du MeOH 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 déterminés dans des tubes capillaires au moyen d'un appareil Büchi.

Les analyses élémentaires sont réalisées par le Service Central de Microanalyse du CNRS (Vernaison, France).

Divers

Afin de simplifier la description des protocoles opératoires, les composés trichloroacétimidoylés seront dénommés « imidate ».

Les réactions finales de biotinylation sont réalisées avec le *N*-succinimidyl-6-(biotinamido)hexanoate qui sera appelé « réactif biotinylé » dans la description des protocoles opératoires qui suivront.

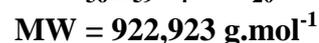
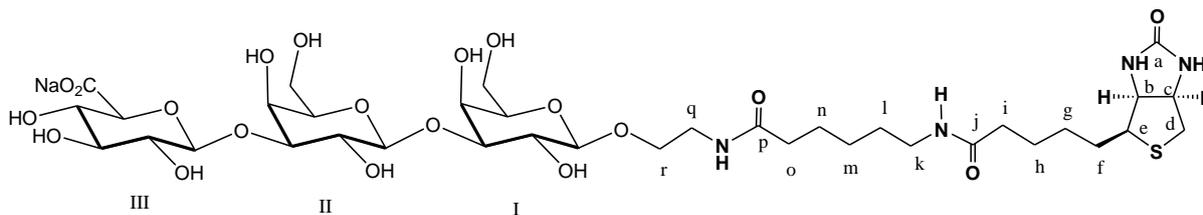
Organisation de la partie expérimentale

Dans la partie expérimentale chaque molécule apparaît par ordre numérique croissant.

Lors de la description des spectres de RMN ^1H , les constantes de couplage ne sont pas rappelées.

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

2-(6-Biotinylamidohexanoyl)aminoéthyl *O*-(sodium β -D-glucopyranosyluronate)-(1 \rightarrow 3)-(β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)- β -D-galactopyranoside **204⁶³**



Le trisaccharide **275** (23,5 mg, 33 μmol) est dissous dans l'eau distillée (8 ml) et une quantité catalytique de Pd/C (10%) est ajoutée. Le mélange réactionnel est agité sous atmosphère de H_2 (ballon) pendant 17 h à TA, puis est filtré sur célite et concentré pour donner le produit aminé brut (éluant CCM : AcOEt/MeOH/ H_2O : 1/1/1). Ce dernier est dissous dans un mélange de DMF (765 μl), de Et_3N (85 μl) et d'eau distillée (850 μl) puis du réactif biotinylé (44,6 mg, 98 μmol , 3 eq) est ajouté par portions et le mélange réactionnel est ainsi agité pendant 1h à TA puis concentré à sec. Le résidu solide est lavé plusieurs fois avec de l'EtOH. Une purification sur colonne Sephadex LH-20 dans l'eau donne le produit désiré sous la forme d'une poudre blanche (19,3 mg, 64 % sur les 2 étapes).

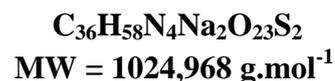
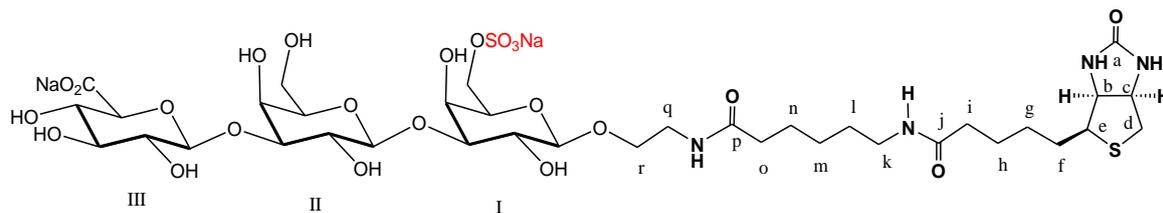
$$[\alpha]_D^{20} = +17 \text{ (} c=1, \text{H}_2\text{O)}$$

HRMS : m/z : calculée pour $\text{C}_{36}\text{H}_{59}\text{O}_{20}\text{N}_4\text{S}$ ($[\text{M}-\text{Na}]^-$) : 899,34488 ; trouvée : 899,34481

RMN ^1H (400 MHz, D_2O) : δ (ppm) 4.70 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.00$ Hz ; H-1^{II}), 4.68 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.00$ Hz ; H-1^I), 4.62 (ddd, 1H, $J_{c,d} < 1\text{Hz}$, $J_{c,d'} = 5.0$ Hz, $J_{b,c} = 8.00$ Hz; H-c), 4.48 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.00$ Hz; H-1^{III}), 4.44 (dd, 1H, $J_{b,e} = 4.5$ Hz; H-b), 4.22-4.20 (m, 2H; H-4^I, H-4^{II}), 4.02-3.97 (m, 1H; OCH_2), 3.86-3.69 (m, 12 H; H-2^I, H-2^{II}, H-3^I, H-3^{II}, H-5^I, H-5^{II}, H-5^{III}, H-6a^I, H-6b^I, H-6a^{II}, H-6b^{II}, OCH_2), 3.54-3.52 (m, 2H; H-3^{III}, H-4^{III}), 3.48-3.43 (m, 3H; H-2^{III}, CH_2 -q), 3.38-3.34 (m, 1H; H-e), 3.21-3.18 (m, 2H; CH_2 -k), 3.01 (dd, 1H, $J_{d',c} = 5.0$ Hz, $J_{d,d'} = 13.0$ Hz; H-d'), 2.80 (dd, 1H; H-d), 2.31-2.28 (m, 4H; CH_2 -i, CH_2 -o), 1.79-1.29 (m, 12H; CH_2 -f, CH_2 -g, CH_2 -h, CH_2 -l, CH_2 -m et CH_2 -n).

RMN ^{13}C (100 MHz, D_2O) : δ (ppm) 177.75, 177.24, 176.54, (3C; C-6^{III}, C=O), 165.96 (1C, C-a), 104.62, 104.23 (2C; C-1^I, C-1^{II}), 103.25 (1C; C-1^{III}), 83.04, 82.96 (2C; C-3^I, C-3^{II}), 76.88, 76.00, 75.48, 73.83, 72.45, 70.85 (8C; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-3^{III}, C-4^{III}, C-5^I, C-5^{II}, C-5^{III}), 69.11 (1C; OCH_2), 69.08, 68.70, (2C; C-4^I, C-4^{II}), 62.77 (1C, C-b), 61.63 (2C; C-6^I, C-6^{II}), 60.93 (1C; C-c), 56.08 (1C; C-e), 40.39 (1C; C-d), 39.98, 39.78 (2C; C-k, C-q), 36.30, 36.22 (2C; C-i, C-o), 28.72, 28.54, 28.37, 26.24, 25.91, 25.65 (6C; C-f, C-g, C-h, C-l, C-m, C-n).

2-(6-Biotinylamidohexanoyl)aminoéthyl *O*-(sodium β -D-glucopyranosyluronate)-(1 \rightarrow 3)-(β -D-galactopyranosyl)l-(1 \rightarrow 3)-sodium-6-*O*-sulfonato- β -D-galactopyranoside 205⁶³



Le trisaccharide **254** (32,8 mg, 40 μ mol) est dissous dans l'eau distillée (10 ml) et une quantité catalytique de Pd/C (10%) est ajoutée. Le mélange réactionnel est agité sous atmosphère de H₂ (ballon) pendant 17 h à TA, puis est filtré sur célite et concentré pour donner le produit aminé brut (éluant CCM : AcOEt/MeOH/H₂O : 2/1/1). Ce dernier est dissous dans un mélange de DMF (0,9 ml), de Et₃N (0,1 ml) et d'eau distillée (1 ml) puis du réactif biotinylé (54,5 mg, 120 μ mol, 3 eq) est ajouté par portions et le mélange réactionnel est ainsi agité pendant 1h à TA puis concentré à sec. Le résidu solide est lavé plusieurs fois avec de l'EtOH. Une purification sur colonne Sephadex LH-20 dans l'eau donne le produit désiré sous la forme d'une poudre blanche (29,2 mg, 71% sur les 2 étapes).

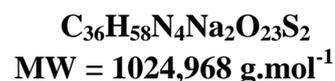
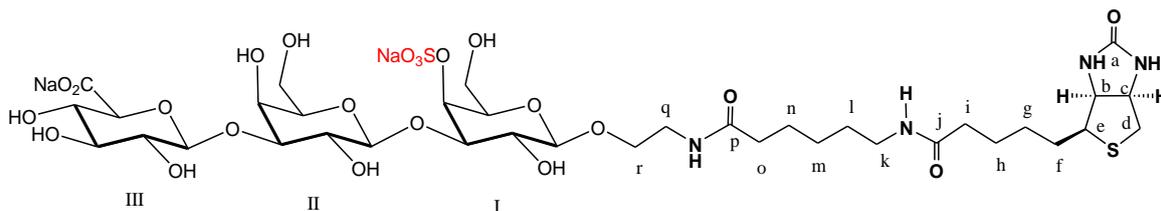
$$[\alpha]_D^{20} = +19 \text{ (} c=1, \text{H}_2\text{O)}$$

HRMS: *m/z*: calculée pour C₃₆H₅₈O₂₃N₄S₂ ([M-2Na]²⁻): 489,14721; trouvée: 489,14818

RMN ¹H (400 MHz, D₂O) : δ (ppm) 4.70 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.00$ Hz ; H-1^{II}), 4.68 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.00$ Hz; H-1^{III}), 4.63 (ddd, 1H, $J_{c,d} < 1$ Hz, $J_{c,d} = 5.0$ Hz, $J_{b,c} = 8.00$ Hz; H-c), 4.50 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.00$ Hz; H-1^I), 4.44 (dd, 1H, $J_{b,e} = 4.5$ Hz; H-b), 4.27 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^I), 4.24 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^{II}), 4.23-4.21 (m, 2H; H-6a^I, H-6b^I), 3.99-3.96 (m, 2H; OCH₂, H-5^I), 3.88-3.69 (m, 9 H; H-2^I, H-2^{II}, H-3^I, H-3^{II}, H-5^{II}, H-5^{III}, H-6a^{II}, H-6b^{II}, OCH₂), 3.55-3.53 (m, 2H; H-3^{III}, H-4^{III}), 3.48-3.43 (m, 3H; H-2^{III}, CH₂-q), 3.36-3.33 (m, 1H; H-e), 3.21-3.18 (m, 2H; CH₂-k), 3.02 (dd, 1H, $J_{d',c} = 5.0$ Hz, $J_{d,d'} = 13.0$ Hz; H-d'), 2.80 (dd, 1H; H-d), 2.31-2.25 (m, 4H; CH₂-i, CH₂-o), 1.79-1.32 (m, 12H; CH₂-f, CH₂-g, CH₂-h, CH₂-l, CH₂-m et CH₂-n).

RMN ¹³C (100 MHz, D₂O) : δ (ppm) 177.67, 177.18 (3C; C-6^{III}, C=O), 165.88 (1C, C-a), 104.57, 104.14 (2C; C-1^I, C-1^{II}), 103.12 (1C; C-1^{III}), 82.96, 82.67 (2C; C-3^I, C-3^{II}), 75.86, 75.33, 73.70, 73.00, 72.32, 70.71, 70.32 (8C; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-3^{III}, C-4^{III}, C-5^I, C-5^{II}, C-5^{III}), 69.24 (1C; OCH₂), 68.73, 68.57 (2C; C-4^I, C-4^{II}), 67.87 (1C; C-6^I), 62.64 (1C, C-b), 61.47 (1C; C-6^{II}), 60.81 (1C; C-c), 55.93 (1C; C-e), 40.27 (1C; C-d), 39.92, 39.65 (2C; C-k, C-q), 36.18, 36.10 (2C; C-i, C-o), 28.55, 28.40, 28.23, 26.09, 25.79, 25.52 (6C; C-f, C-g, C-h, C-l, C-m, C-n).

2-(6-Biotinylamidohexanoyl)aminoéthyl *O*-(sodium β -D-glucopyranosyluronate)-(1 \rightarrow 3)-(β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-sodium-4-*O*-sulfonato- β -D-galactopyranoside 206⁶³



Le trisaccharide **280** (32,8 mg, 40 μ mol) est dissous dans l'eau distillée (10 ml) et une quantité catalytique de Pd/C (10%) est ajoutée. Le mélange réactionnel est agité sous atmosphère de H₂ (ballon) pendant 17 h à TA, puis est filtré sur célite et concentré pour donner le produit aminé brut (éluant CCM : AcOEt/MeOH/H₂O : 2/1/1). Ce dernier est dissous dans un mélange de DMF (0,9 ml), de Et₃N (0,1 ml) et d'eau distillée (1 ml) puis du réactif biotinylé (54,5 mg, 120 μ mol, 3 eq) est ajouté par portions et le mélange réactionnel est ainsi agité pendant 1h à TA puis concentré à sec. Le résidu solide est lavé plusieurs fois avec de l'EtOH. Une purification sur colonne Sephadex LH-20 dans l'eau donne le produit désiré sous la forme d'une poudre blanche (32,5 mg, 79 % sur les 2 étapes).

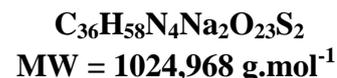
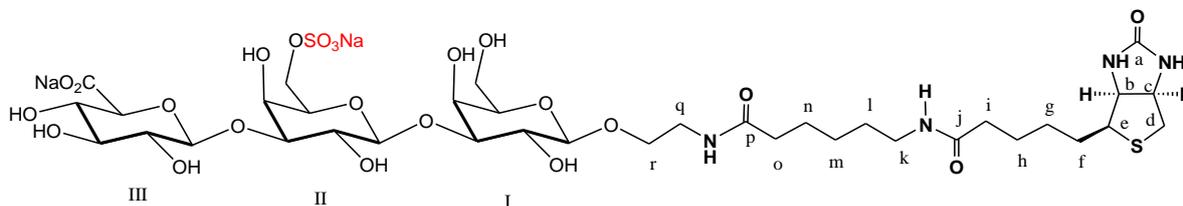
$$[\alpha]_D^{20} = +16 (c=1, \text{H}_2\text{O})$$

HRMS : *m/z*: calculée pour C₃₆H₅₈O₂₃N₄S₂ ([M-2Na]²⁻) : 489,14721 ; trouvée : 489,14853 ; calculée pour C₃₆H₅₈O₂₃N₄NaS₂ ([M-Na]⁻) : 1001,28364 ; trouvée : 1001,28269

RMN ¹H (400 MHz, D₂O) : δ (ppm) 4.88 (dd, 1H, $J_{3,4}$ = 2.5 Hz; H-4^I), 4.71 (d, 1H, $J_{1,2}$ = 8.0 Hz; H-1^{III}), 4.69 (d, 1H, $J_{1,2}$ = 8.0 Hz; H-1^{II}), 4.63 (ddd, 1H, $J_{c,d}$ < 1 Hz, $J_{c,d'}$ = 5.5 Hz, $J_{b,c}$ = 7.5 Hz; H-c), 4.50 (d, 1H, $J_{1,2}$ = 8.0 Hz ; H-1^I), 4.45 (dd, 1H, $J_{b,e}$ = 4.5 Hz; H-b), 4.18 (dd, 1H, $J_{4,5}$ < 1 Hz ; H-4^{II}), 4.04 (dd, 1H, $J_{2,3}$ = 10.0 Hz; H-3^I), 4.03-3.97 (m, 1H; OCH₂), 3.85-3.68 (m, 11H; H-2^I, H-2^{II}, H-3^{II}, H-5^I, H-5^{II}, H-5^{III}, H-6a^I, H-6b^I, H-6a^{II}, H-6b^{II}, OCH₂), 3.55-3.52 (m, 2H; H-3^{III}, H-4^{III}), 3.47-3.41 (m, 3H; H-2^{III}, CH₂-q), 3.36-3.33 (m, 1H; H-e) 3.24-3.16 (m, 2H; CH₂-k), 3.02 (dd, 1H, $J_{d',c}$ = 5.0 Hz, $J_{d,d'}$ = 13.0 Hz; H-d'), 2.81 (dd, 1H; H-d), 2.31-2.25 (m, 4H; CH₂-i, CH₂-o), 1.77-1.31 (m, 12H; CH₂-f, CH₂-g, CH₂-h, CH₂-l, CH₂-m et CH₂-n).

RMN ¹³C (100 MHz, D₂O) : δ (ppm) 177.65, 177.12, 176.50 (3C; C-6^{III}, C=O), 165.85 (1C, C-a), 104.50, 104.22 (2C; C-1^{II}, C-1^{III}), 103.17 103.16 (1C; C-1^I), 82.89 (1C; C-3^{II}), 79.03 (1C; C-3^I), 77.99 (1C; C-4^I), 75.84, 75.45, 75.06, 73.66, 72.31, 70.94, 70.69 (8C; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-3^{III}, C-4^{III}, C-5^I, C-5^{II}, C-5^{III}), 69.07 (1C; OCH₂), 68.92 (1C; C-4^{II}), 62.64 (1C, C-b), 61.61, 61.53 (2C; C-6^I, C-6^{II}), 60.80 (1C; C-c), 55.95 (1C; C-e), 40.27 (1C; C-d), 39.82, 39.64 (2C; C-k, C-q), 36.17, 36.08 (2C; C-i, C-o), 28.57, 28.41, 28.23, 26.08, 25.77, 25.51 (6C; C-f, C-g, C-h, C-l, C-m, C-n).

**2-(6-Biotinylamidohexanoyl)aminoéthyl *O*-(sodium β -D-glucopyranosyluronate)-
(1 \rightarrow 3)- (sodium-6-*O*-sulfonato β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)- β -D-galactopyranoside**
207⁶³



Le trisaccharide **298** (33,9 mg, 41,3 μ mol) est dissous dans l'eau distillée (10 ml) et une quantité catalytique de Pd/C (10%) est ajoutée. Le mélange réactionnel est agité sous atmosphère de H₂ (ballon) pendant 17 h à TA, puis est filtré sur célite et concentré pour donner le produit aminé brut (éluant CCM : AcOEt/MeOH/H₂O : 2/1/1). Ce dernier est dissous dans un mélange de DMF (0.9 ml), de Et₃N (0.1 ml) et d'eau distillée (1 ml) puis du réactif biotinylé (56,4 mg, 124 μ mol, 3 eq) est ajouté par portions et le mélange réactionnel est ainsi agité pendant 1h à TA puis concentré à sec. Le résidu solide est lavé plusieurs fois avec de l'EtOH. Une purification sur colonne Sephadex LH-20 dans l'eau donne le produit désiré sous la forme d'une poudre blanche (27,4 mg, 65% sur les 2 étapes).

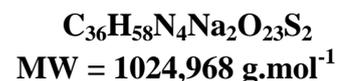
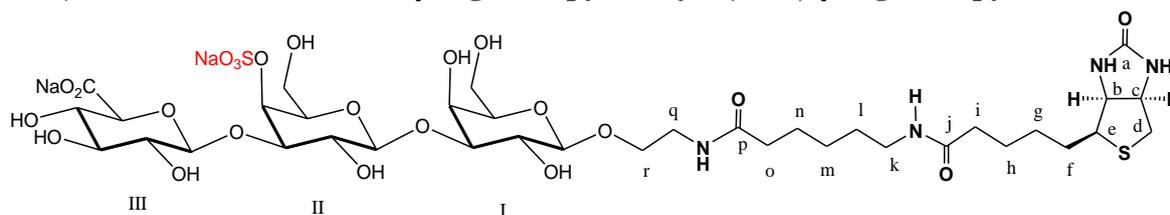
$$[\alpha]_D^{20} = +15 \text{ (} c=1, \text{H}_2\text{O)}$$

HRMS : *m/z*: calculée pour C₃₆H₅₈N₄O₂₃S₂ ([M-2Na]²⁻) : 489,14721; trouvée : 489,14823, calculée pour C₃₆H₅₉N₄O₂₃S₂ ([M+H-2Na]²⁻) : 979,30170 ; trouvée : 979,30282, calculée pour C₃₆H₅₈N₄NaO₂₃S₂ ([M-Na]⁻) : 1001,28364 ; trouvée : 1001,28399

RMN ¹H (400 MHz, D₂O) : δ (ppm) 4.70 (d, H, $J_{1,2}$ = 8.0 Hz ; H-1^{II}), 4.67 (d, 1H, $J_{1,2}$ = 7.5 Hz ; H-1^{III}), 4.62 (ddd, 1H, $J_{c,d}$ < 1Hz, $J_{c,d'}$ = 4.8 Hz, $J_{b,c}$ = 8.00 Hz; H-c), 4.48 (d, 1H, $J_{1,2}$ = 8.0 Hz; H-1^I), 4.44 (dd, 1H, $J_{b,e}$ = 4.5 Hz; H-b), 4.28, 4.24 (2dd, 1H, $J_{3,4}$ = 2.5 Hz, $J_{4,5}$ < 1Hz; H-4^I, H-4^{II}), 4.22-4.20 (m, 2H; H-6a^{II}, H-6b^{II}), 4.02-3.97 (m, 1H; OCH₂), 3.93 (dd, 1H, $J_{5,6a}$ = 5.5 Hz, $J_{5,6b}$ = 6.0 Hz; H-5^{II}), 3.87-3.68 (m, 9H; H-2^I, H-2^{II}, H-3^I, H-3^{II}, H-5^I, H-5^{III}, H-6a^I, H-6b^I, OCH₂), 3.55-3.52 (m, 2H; H-3^{III}, H-4^{III}), 3.48-3.41 (m, 3H; H-2^{III}, CH₂-q), 3.36-3.33 (m, 1H; H-e), 3.21-3.17 (m, 2H; CH₂-k), 3.01 (dd, 1H, $J_{d',c}$ = 5.0 Hz, $J_{d,d'}$ = 13.0 Hz; H-d'), 2.80 (dd, 1H; H-d), 2.30-2.24 (m, 4H; CH₂-i, CH₂-o), 1.77-1.30 (m, 12H; CH₂-f, CH₂-g, CH₂-h, CH₂-l, CH₂-m et CH₂-n).

RMN ¹³C (100 MHz, D₂O) : δ (ppm) 177.70, 177.1 (3C; C-6^{III}, C=O), 165.90 (1C, C-a), 104.38, 104.22 (2C; C-1^I, C-1^{II}), 103.16 (1C; C-1^{III}), 83.34, 82.85 (2C; C-3^I, C-3^{II}), 75.88, 75.60, 73.71, 73.08, 72.32, 70.59, 70.32, 70.25 (8C; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-3^{III}, C-4^{III}, C-5^I, C-5^{II}, C-5^{III}), 69.01 (1C; OCH₂), 68.50 (2C; C-4^I, C-4^{II}), 68.38 (1C; C-6^{II}), 62.68 (1C, C-b), 61.86 (1C; C-6^I), 60.84 (1C; C-c), 55.98 (1C; C-e), 40.30 (1C; C-d), 39.90, 39.68 (2C; C-k, C-q), 36.20, 36.12 (2C; C-i, C-o), 28.61, 28.45, 28.27, 26.14, 25.81, 25.55 (6C; C-f, C-g, C-h, C-l, C-m, C-n).

2-(6-Biotinylamidohexanoyl)aminoéthyl *O*-(sodium β -D-glucopyranosyluronate)-(1 \rightarrow 3)- (sodium-4-*O*-sulfonato- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)- β -D-galactopyranoside 208⁶³



Le trisaccharide **301** (33,4 mg, 40,7 μ mol) est dissous dans l'eau distillée (10 ml) et une quantité catalytique de Pd/C (10%) est ajoutée. Le mélange réactionnel est agité sous atmosphère de H₂ (ballon) pendant 17 h à TA, puis est filtré sur célite et concentré pour donner le produit aminé brut (éluant CCM : AcOEt/MeOH/H₂O : 2/1/1). Ce dernier est dissous dans un mélange de DMF (0.9 ml), de Et₃N (0.1 ml) et d'eau distillée (1 ml) puis du réactif biotinylé (55.5 mg, 122,2 μ mol, 3 eq) est ajouté par portions et le mélange réactionnel est ainsi agité pendant 1h à TA puis concentré à sec. Le résidu solide est lavé plusieurs fois avec de l'EtOH. Une purification sur colonne Sephadex LH-20 dans l'eau donne le produit désiré sous la forme d'une poudre blanche (25 mg, 60 % sur les 2 étapes).

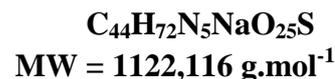
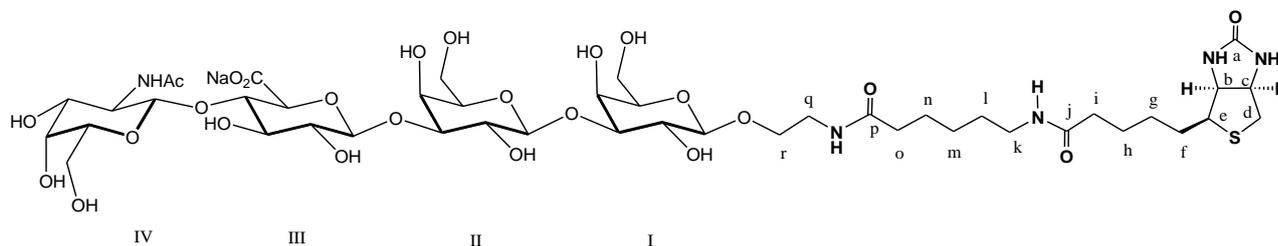
$$[\alpha]_D^{20} = +12 \text{ (} c=1, \text{H}_2\text{O)}$$

HRMS : *m/z*: calculée pour C₃₆H₅₈O₂₃N₄S₂ ([M-2Na]²⁻) : 489,14721 ; trouvée : 489,14764 ; calculée pour C₃₆H₅₉O₂₃N₄S₂ ([M+H-2Na]⁻) : 979,30170 ; calculée pour C₃₆H₅₈O₂₃N₄NaS₂ ([M-Na]⁻) : 1001,28364 ; trouvée : 1001,28430

RMN ¹H (400 MHz, D₂O) : δ (ppm) 4.81 (dd, 1H, $J_{3,4} = 2.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz; H-4^{II}), 4.79 (d, 1H, $J_{1,2} = 7.5$ Hz; H-1^{III}), 4.70 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz; H-1^{II}), 4.62 (ddd, 1H, $J_{c,d} < 1$ Hz, $J_{c,d'} = 5.0$ Hz, $J_{b,c} = 7.5$ Hz; H-c), 4.47 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz ; H-1^I), 4.43 (dd, 1H, $J_{b,e} = 5.0$ Hz; H-b), 4.19 (dd, 1H, $J_{4,5} < 1$ Hz; H-4^I), 4.06 (dd, 1H, $J_{2,3} = 10.0$ Hz, $J_{3,4} = 3.0$ Hz; H-3^{II}), 4.00-3.95 (m, 1H; OCH₂), 3.85-3.69 (m, 11H; H-2^I, H-2^{II}, H-3^{II}, H-5^I, H-5^{II}, H-5^{III}, H-6a^I, H-6b^I, H-6a^{II}, H-6b^{II}, OCH₂), 3.58-3.49 (m, 2H; H-3^{III}, H-4^{III}), 3.48-3.36 (m, 3H; H-2^{III}, CH₂-q), 3.35-3.33 (m, 1H; H-e), 3.20-3.16 (m, 2H; CH₂-k), 3.00 (dd, 1H, $J_{d',c} = 5.0$ Hz, $J_{d,d'} = 13.0$ Hz; H-d'), 2.79 (dd, 1H; H-d), 2.29-2.24 (m, 4H; CH₂-i, CH₂-o), 1.77-1.29 (m, 12H; CH₂-f, CH₂-g, CH₂-h, CH₂-l, CH₂-m et CH₂-n).

RMN ¹³C (100 MHz, D₂O) : δ (ppm) 177.72, 177.69, 176.51 (3C; C-6^{III}, C=O), 165.89 (1C, C-a), 104.69 (1C; C-1^{II}), 103.42 (1C; C-1^{III}), 103.19 (1C; C-1^I), 83.06 (1C; C-3^I), 77.79 (1C; C-4^{II}), 77.16 (1C; C-3^{II}), 76.76, 75.95, 75.38, 75.05, 73.68, 72.45, 71.62, 70.49 (8C; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-3^{III}, C-4^{III}, C-5^I, C-5^{II}, C-5^{III}), 69.00 (1C; C-4^I), 68.90 (1C; OCH₂), 62.68 (1C, C-b), 61.59, 61.53 (2C; C-6^I, C-6^{II}), 60.84 (1C; C-c), 55.98 (1C; C-e), 40.30 (1C; C-d), 39.88, 39.68 (2C; C-k, C-q), 36.20, 36.11 (2C; C-i, C-o), 28.61, 28.43, 28.27, 26.14, 25.81, 25.55 (6C; C-f, C-g, C-h, C-l, C-m, C-n).

2-(6-Biotinylamidohexanoyl)aminoéthyl O-(2-acétamido-2-désoxy-β-D-galactopyranosyl)-(1→4)-(sodium β-D-glucopyranosyluronate)-(1→3)-(β-D-galactopyranosyl)-(1→3)-β-D-galactopyranoside 209



Le tétrasaccharide **307** (37 mg, 40 μmol) est dissous dans l'eau distillée (5 ml) et une quantité catalytique de Pd/C (10%) est ajoutée. Le mélange réactionnel est agité sous atmosphère de H₂ (ballon) pendant 17 h à TA, puis est filtré sur Célite et concentré pour donner le produit aminé brut (éluant CCM : AcOEt/MeOH/H₂O : 2/1/1). Ce dernier est dissous dans un mélange de DMF (0.9 ml), de Et₃N (0.1 ml) et d'eau distillée (1 ml) puis du réactif biotinylé (55 mg, 120,5 μmol, 3 eq) est ajouté par portions et le mélange réactionnel est ainsi agité pendant 1h à TA puis concentré à sec. Le résidu solide est lavé plusieurs fois avec de l'EtOH. Une purification sur colonne Sephadex LH-20 dans l'eau donne le produit désiré sous la forme d'une poudre blanche (37 mg, 81 % sur les 2 étapes).

$$[\alpha]_D^{20} = +29,5 \text{ (} c=1, \text{H}_2\text{O)}$$

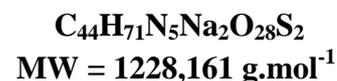
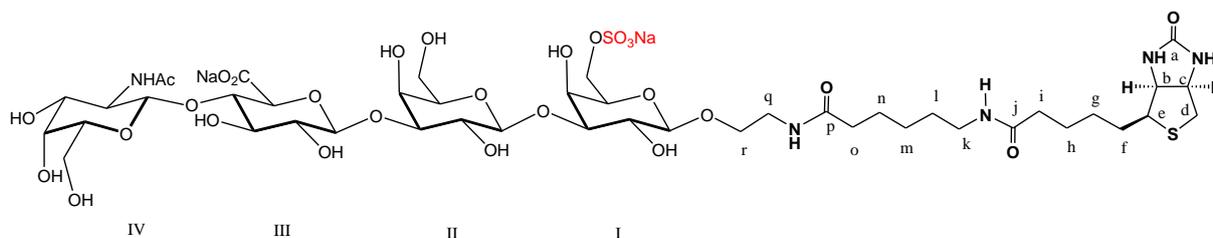
HRMS : *m/z*: calculée pour C₄₄H₇₅N₅O₂₅S : ([M+3H-Na]²⁺) : 552,723043 ; trouvée : 552,722743, calculée pour C₄₄H₇₂N₅O₂₅S : ([M-Na]⁺) : 1102,424257 ; trouvée : 1102,424866, calculée pour C₄₄H₇₄N₅O₂₅S : ([M+2H-Na]⁺) : 1104,438810 ; trouvée : 1104,437212, calculée pour C₄₄H₇₇N₆O₂₅S : ([M+H-NH₄-Na]⁺) : 1121,465359 ; trouvée : 1121,462743, calculée pour C₄₄H₇₃N₅NaO₂₅S : ([M+H]⁺) : 1126,420755 ; trouvée : 1126,420131

RMN ¹H (400 MHz, D₂O) : δ (ppm) 4.69 (d, 1H, *J*_{1,2} = 8.00 Hz; H-1^{III}), 4.67 (d, 1H, *J*_{1,2} = 7.5 Hz; H-1^{I ou II}), 4.63 (ddd, 1H, *J*_{c,d} < 1Hz, *J*_{c,d'} = 5.0 Hz, *J*_{b,c} = 8.0 Hz; H-c), 4.49 (d, 1H, *J*_{1,2} = 8.5 Hz; H-1^{IV}), 4.47 (d, 1H, *J*_{1,2} = 7.0 Hz; H-1^{I ou II}), 4.44 (dd, 1H, *J*_{b,e} = 4.5 Hz; H-b), 4.21 (dd, 1H, *J*_{3,4} = 3.0 Hz, *J*_{4,5} < 1Hz ; H-4^{I ou II}), 4.17 (dd, 1H, *J*_{3,4} = 2.5 Hz, *J*_{4,5} < 1Hz ; H-4^{I ou II}), 4.02-3.96 (m, 1H; OCH₂), 3.94 (dd, 1H, *J*_{3,4} = 3.0 Hz, *J*_{4,5} < 1Hz ; H-4^{IV}), 3.91-3.88 (m, 1H; H-2^{IV}), 3.86-3.68 (m, 18H; H-2^I, H-2^{II}, H-3^I, H-3^{II}, H-3^{IV}, H-4^{III}, H-5^I, H-5^{II}, H-5^{III}, H-5^{IV}, H-6a^I, H-6b^I, H-6a^{II}, H-6b^{II}, H-6a^{IV}, H-6b^{IV}, OCH₂), 3.64 (dd, 1H, *J*_{2,3} = 9.5 Hz, *J*_{3,4} = 9.0 Hz ; H-3^{III}), 3.50-3.43 (m, 3H; H-2^{III}, CH₂-q), 3.37-3.33 (m, 1H; H-e), 3.22-3.18 (m, 2H; CH₂-k), 3.01 (dd, 1H, *J*_{d',c} = 5.0 Hz, *J*_{d,d'} = 13.0 Hz; H-d'), 2.80 (dd, 1H; H-d), 2.30-2.25 (m, 4H; CH₂-i, CH₂-o), 2.06 (s, 3H; NHC(O)CH₃), 1.79-1.31 (m, 12H; CH₂-f, CH₂-g, CH₂-h, CH₂-l, CH₂-m et CH₂-n).

RMN ¹³C (100 MHz, D₂O) : δ (ppm) 177.65, 177.13, 175.60, 175.19 (4C; C-6^{III}, C=O), 165.87 (1C, C-a), 104.52 (1C; C-1^{III}), 104.40, 103.18 (2C; C-1^I, C-1^{II}), 101.58 (1C; C-1^{IV}), 83.12, 82.90 (2C; C-3^I, C-3^{II}), 80.10, 77.01, 75.83, 75.37, 74.27, 73.51, 71.68, 70.66, 70.47 (10C; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-3^{III}, C-3^{IV}, C-4^{III}, C-5^I, C-5^{II}, C-5^{III}, C-5^{IV}), 69.00 (1C; OCH₂),

68.98, 68.66, 68.38 (3C; C-4^I, C-4^{II}, C-4^{IV}), 62.67(1C, C-b), 61.67, 61.52 (3C; C-6^I, C-6^{II}, C-6^{IV}), 60.83 (1C; C-c), 55.99 (1C; C-e), 52.92 (1C; C-2^{IV}), 40.30 (1C; C-d), 39.87, 39.68 (2C; C-k, C-q), 36.20, 36.12 (2C; C-i, C-o), 28.62, 28.46, 28.28, 26.15, 25.82, 25.56 (6C; C-f, C-g, C-h, C-l, C-m, C-n), 23.06 (1C; NHC(O)CH₃).

2-(6-Biotinylamidohexanoyl)aminoéthyl O-(2-acétamido-2-désoxy-β-D-galactopyranosyl)-(1→4)-(sodium β-D-glucopyranosyluronate)-(1→3)-(β-D-galactopyranosyl)-(1→3)-sodium 6-O-sulfonato-β-D-galactopyranoside 210



Le tétrasaccharide **309** (21 mg, 20 μmol) est dissous dans l'eau distillée (5 ml) et une quantité catalytique de Pd/C (10%) est ajoutée. Le mélange réactionnel est agité sous atmosphère de H₂ (ballon) pendant 17 h à TA, puis est filtré sur célite et concentré pour donner le produit aminé brut (éluant CCM : AcOEt/MeOH/H₂O : 2/1/1). Ce dernier est dissous dans un mélange de DMF (675 μl), de Et₃N (75 μl) et d'eau distillée (750 μl) puis du réactif biotinylé (28 mg, 60 μmol, 3 eq) est ajouté par portions et le mélange réactionnel est ainsi agité pendant 1h à TA puis concentré à sec. Le résidu solide est lavé plusieurs fois avec de l'EtOH. Une purification sur colonne Sephadex LH-20 dans l'eau donne le produit désiré sous la forme d'une poudre blanche (16 mg, 64 % sur les 2 étapes).

$$[\alpha]_D^{20} = +16 (c=1, \text{H}_2\text{O})$$

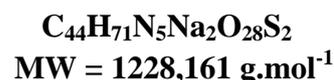
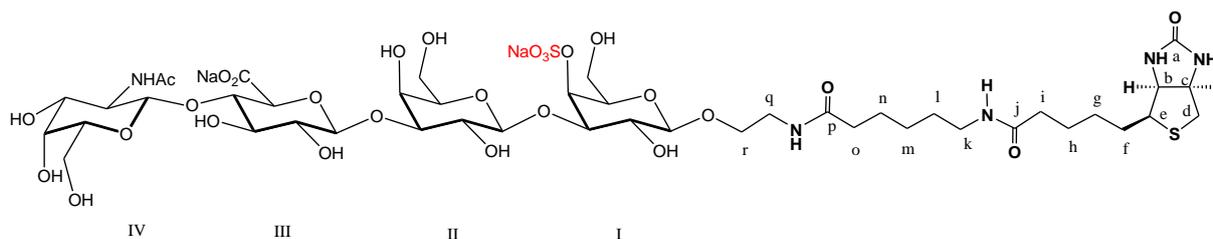
HRMS : *m/z*: calculée pour C₄₄H₇₅N₅O₂₅S : ([M+4H-SO₃Na-Na]²⁺) : 552,723043 ; trouvée : 552,721808, calculée pour C₄₄H₇₁N₅O₂₈S₂ : ([M-2Na]²⁺) : 590,686898 ; trouvée : 590,687812, calculée pour C₄₄H₇₅N₅O₂₈S₂ : ([M+4H-2Na]²⁺) : 592,701451 ; trouvée : 592,700421, calculée pour C₄₄H₇₄N₅NaO₂₈S₂ : ([M+3H-Na]⁺) : 603,692423 ; trouvée : 603,691195, calculée pour C₄₄H₇₂N₅O₂₈S₂ : ([M+H-2Na]⁻) : 1182,381072 ; trouvée : 1182,381858, calculée pour C₄₄H₇₄N₅O₂₈S₂ : ([M+3H-2Na]⁺) : 1184,395625 ; trouvée : 1184,392904, calculée pour C₄₄H₇₇N₆O₂₈S₂ : ([M+2H+NH₄-2Na]⁺) : 1201,422174 ; trouvée : 1201,420667, calculée pour C₄₄H₇₁N₅NaO₂₈S₂ : ([M-Na]⁻) : 1204,361679 ; trouvée : 1204,362693

RMN ¹H (400 MHz, D₂O) : δ (ppm) 4.69 (d, 1H, J_{1,2}= 8.0 Hz; H-1^{III}), 4.67 (d, 1H, J_{1,2}= 7.5 Hz; H-1^{I ou II}), 4.63 (ddd, 1H, J_{c,d}<1Hz, J_{c,d}= 4.5 Hz, J_{b,c}= 8.0 Hz; H-c), 4.50 (d, 1H, J_{1,2}= 8.5 Hz; H-1^{IV}), 4.49 (d, 1H, J_{1,2}= 8.0 Hz; H-1^{I ou II}), 4.45 (dd, 1H, J_{b,e}= 4.5 Hz; H-b), 4.27 (dd, 1H, J_{3,4}= 3.0 Hz, J_{4,5}<1Hz ; H-4^I), 4.23-4.21 (m, 2H ; 6a^I, H-6b^I), 4.17 (dd, 1H, J_{3,4}= 3.0 Hz, J_{4,5}<1Hz ; H-4^{II}), 4.00-3.87 (m, 4H ; H-2^{IV}, H-3^I, H-4^{IV}, OCH₂), 3.86-3.69 (m, 14H ; H-2^I, H-

2^{II} , $\text{H-}3^{\text{II}}$, $\text{H-}3^{\text{IV}}$, $\text{H-}4^{\text{III}}$, $\text{H-}5^{\text{I}}$, $\text{H-}5^{\text{II}}$, $\text{H-}5^{\text{III}}$, $\text{H-}5^{\text{IV}}$, $\text{H-}6\text{a}^{\text{II}}$, $\text{H-}6\text{b}^{\text{II}}$, $\text{H-}6\text{a}^{\text{IV}}$, $\text{H-}6\text{b}^{\text{IV}}$, OCH_2), 3.64 (dd, 1H, $J_{2,3} = 9.5$ Hz, $J_{3,4} = 9.0$ Hz ; $\text{H-}3^{\text{III}}$), 3.49-3.44 (m, 3H; $\text{H-}2^{\text{III}}$, $\text{CH}_2\text{-q}$), 3.39-3.30 (m, 1H; H-e), 3.22-3.18 (m, 2H; $\text{CH}_2\text{-k}$), 3.02 (dd, 1H, $J_{\text{d},\text{c}} = 5.0$ Hz, $J_{\text{d},\text{d}} = 13.0$ Hz; $\text{H-d}'$), 2.80 (dd, 1H; H-d), 2.36-2.25 (m, 4H; $\text{CH}_2\text{-i}$, $\text{CH}_2\text{-o}$), 2.07 (s, 3H; NHC(O)CH_3), 1.79-1.30 (m, 12H; $\text{CH}_2\text{-f}$, $\text{CH}_2\text{-g}$, $\text{CH}_2\text{-h}$, $\text{CH}_2\text{-l}$, $\text{CH}_2\text{-m}$ et $\text{CH}_2\text{-n}$).

RMN ^{13}C (100 MHz, D_2O) : δ (ppm) 177.68, 177.20, 175.63, 175.21 (4C; $\text{C-}6^{\text{III}}$, C=O), 165.90 (1C, C-a), 104.57, 104.41, 103.14, 101.57 (4C; $\text{C-}1^{\text{I}}$, $\text{C-}1^{\text{II}}$, $\text{C-}1^{\text{III}}$, $\text{C-}1^{\text{IV}}$), 83.15, 82.71 (2C; $\text{C-}3^{\text{I}}$, $\text{C-}3^{\text{II}}$), 80.09, 77.01, 75.83, 75.35, 74.27, 73.53, 73.05, 71.70, 70.67, 70.35 (10C; $\text{C-}2^{\text{I}}$, $\text{C-}2^{\text{II}}$, $\text{C-}2^{\text{III}}$, $\text{C-}3^{\text{III}}$, $\text{C-}3^{\text{IV}}$, $\text{C-}4^{\text{III}}$, $\text{C-}5^{\text{I}}$, $\text{C-}5^{\text{II}}$, $\text{C-}5^{\text{III}}$, $\text{C-}5^{\text{IV}}$), 69.27 (1C; OCH_2), 68.79, 68.67, 68.39 (3C; $\text{C-}4^{\text{I}}$, $\text{C-}4^{\text{II}}$, $\text{C-}4^{\text{IV}}$), 67.91 (1C; $\text{C-}6^{\text{I}}$), 62.67 (1C, C-b), 61.65, 61.49 (2C; $\text{C-}6^{\text{I}}$, $\text{C-}6^{\text{IV}}$), 60.84 (1C; C-c), 55.97 (1C; C-e), 52.93 (1C; $\text{C-}2^{\text{IV}}$), 40.30 (1C; C-d), 39.95, 39.69 (2C; C-k , C-q), 36.21, 36.13 (2C; C-i , C-o), 28.59, 28.44, 28.27, 26.13, 25.82, 25.55 (6C; C-f , C-g , C-h , C-l , C-m , C-n), 23.06 (1C; NHC(O)CH_3).

2-(6-Biotinylamidohexanoyl)aminoéthyl *O*-(2-acétamido-2-désoxy- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-(sodium β -D-glucopyranosyluronate)-(1 \rightarrow 3)-(β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-sodium 4-*O*-sulfonato- β -D-galactopyranoside 211



Le tétrasaccharide **312** (19 mg, 18,5 μmol) est dissous dans l'eau distillée (5 ml) et une quantité catalytique de Pd/C (10%) est ajoutée. Le mélange réactionnel est agité sous atmosphère de H_2 (ballon) pendant 17 h à TA, puis est filtré sur célite et concentré pour donner le produit aminé brut (éluant CCM : $\text{AcOEt/MeOH/H}_2\text{O}$: 2/1/1). Ce dernier est dissous dans un mélange de DMF (675 μl), de Et_3N (75 μl) et d'eau distillée (750 μl) puis du réactif biotinylé (25 mg, 55 μmol , 3 eq) est ajouté par portions et le mélange réactionnel est ainsi agité pendant 1h à TA puis concentré à sec. Le résidu solide est lavé plusieurs fois avec de l'EtOH. Une purification sur colonne Sephadex LH-20 dans l'eau donne le produit désiré sous la forme d'une poudre blanche (17 mg, 74 % sur les 2 étapes).

$[\alpha]_D^{20} = +20$ ($c = 1$, H_2O)

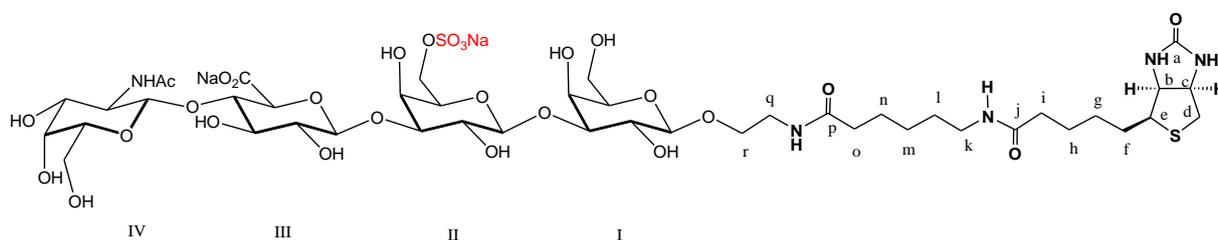
HRMS : m/z : calculée pour $\text{C}_{44}\text{H}_{75}\text{N}_5\text{O}_{25}\text{S}$: ($[\text{M}+4\text{H-SO}_3\text{Na-Na}]^{2+}$) : 552,723043 ; trouvée : 552,722956, calculée pour $\text{C}_{44}\text{H}_{71}\text{N}_5\text{O}_{28}\text{S}_2$: ($[\text{M-}2\text{Na}]^{2-}$) : 590,686898 ; trouvée : 590,687789, calculée pour $\text{C}_{44}\text{H}_{75}\text{N}_5\text{O}_{28}\text{S}_2$: ($[\text{M}+4\text{H-}2\text{Na}]^{2+}$) : 592,701451 ; trouvée : 592,701340, calculée pour $\text{C}_{44}\text{H}_{74}\text{N}_5\text{NaO}_{28}\text{S}_2$: ($[\text{M}+3\text{H-Na}]^+$) : 603,692423 ; trouvée : 603,691851, calculée pour

pour $C_{44}H_{72}N_5O_{28}S_2$: $([M+H-2Na]^+)$: 1182,381072 ; trouvée : 1182,381957, calculée
 pour $C_{44}H_{74}N_5O_{28}S_2$: $([M+3H-2Na]^+)$: 1184,395625 ; trouvée : 1184,394686, calculée
 pour $C_{44}H_{77}N_6O_{28}S_2$: $([M+2H+NH_4-2Na]^+)$: 1201,422174 ; trouvée : 1201,421278, calculée
 pour $C_{44}H_{71}N_5NaO_{28}S_2$: $([M-Na]^+)$: 1204,363017 ; trouvée : 1204,363307, Calculée
 pour $C_{44}H_{73}N_5NaO_{28}S_2$: $([M+2H-Na]^+)$: 1206,377569 ; trouvée : 1206,376989

RMN 1H (400 MHz, D_2O) : δ (ppm) 4.87 (dd, 1H, $J_{3,4}= 3.0$ Hz, $J_{4,5}<1$ Hz ; H-4^I), 4.71 (d, 1H, $J_{1,2}= 7.5$ Hz; H-1^{II}), 4.68 (d, 1H, $J_{1,2}= 8.00$ Hz; H-1^{III}), 4.63 (ddd, 1H, $J_{c,d}<1$ Hz, $J_{c,d'}= J_{b,c}= 5.0$ Hz; H-c), 4.50 (d, 1H, $J_{1,2}= 8.0$ Hz ; H-1^I), 4.49 (d, 1H, $J_{1,2}= 8.5$ Hz ; H-1^{IV}), 4.44 (dd, 1H, $J_{b,c}= 4.5$ Hz; H-b), 4.14 (dd, 1H, $J_{3,4}= 2.5$ H, $J_{4,5}<1$ Hz ; H-4^{II}), 4.04 (dd, 1H, $J_{2,3}= 10.0$ Hz; H-3^I), 4.00-3.97 (m, 1H; OCH₂), 3.94 (dd, H, $J_{3,4}= 3.0$ H, $J_{4,5}<1$ Hz ; H-4^{IV}), 3.91-3.86 (m, 1H; H-2^{IV}), 3.80-3.70 (m, 17H; H-2^I, H-2^{II}, H-3^{II}, H-3^{IV}, H-4^{III}, H-5^I, H-5^{II}, H-5^{III}, H-5^{IV}, H-6a^I, H-6b^I, H-6a^{II}, H-6b^{II}, H-6a^{IV}, H-6b^{IV}, OCH₂), 3.63 (dd, 1H, $J_{2,3}= 9.5$ H, $J_{3,4}= 9.0$ Hz ; H-3^{III}), 3.49-3.43 (m, 3H; H-2^{III}, CH₂-q), 3.37-3.33 (m, 1H; H-e), 3.22-3.16 (m, 2H; CH₂-k), 3.02 (dd, 1H, $J_{d',c}= 5.0$ Hz, $J_{d,d'}= 13.0$ Hz; H-d'), 2.81 (dd, 1H; H-d), 2.31-2.25 (m, 4H; CH₂-i, CH₂-o), 2.06 (s, 3H; NHC(O)CH₃), 1.79-1.25 (m, 12H; CH₂-f, CH₂-g, CH₂-h, CH₂-l, CH₂-m et CH₂-n).

RMN ^{13}C (100 MHz, D_2O) : δ (ppm) 177.69, 177.18, 175.61, 175.20 (4C; C-6^{III}, C=O) , 165.90 (1C, C-a), 104.54 (2C; C-1^{II}, C-1^{III}), 103.21 (1C; C-1^I), 101.58 (1C; C-1^{IV}), 83.12 (1C; C-3^{II}), 79.13 (1C; C-3^I), 78.01 (1C; C-4^I), 80.13, 77.03, 75.83, 75.51, 75.12, 74.26, 73.52, 71.72, 70.97, 70.65 (10C; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-3^{III}, C-3^{IV}, C-4^{III}, C-5^I, C-5^{II}, C-5^{III}, C-5^{IV}), 69.11 (1C; OCH₂), 69.04 (1C; C-4^{II}), 68.40 (1C; C-4^{IV}), 62.68 (1C, C-b), 61.64, 61.59 (3C; C-6^I, C-6^{II}, C-6^{IV}), 60.84 (1C; C-c), 55.99 (1C; C-e), 52.93 (1C; C-2^{IV}), 40.30 (1C; C-d), 39.87, 39.68 (2C; C-k, C-q), 36.21, 36.12 (2C; C-i, C-o), 28.61, 28.44, 28.27, 26.13, 25.81, 25.55 (6C; C-f, C-g, C-h, C-l, C-m, C-n), 23.06 (1C; NHC(O)CH₃).

2-(6-Biotinylamidohexanoyl)aminoéthyl *O*-(2-acétamido-2-désoxy- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-(sodium β -D-glucopyranosyluronate)-(1 \rightarrow 3)-(sodium 6-*O*-sulfonato β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)- β -D-galactopyranoside 212



$C_{44}H_{71}N_5Na_2O_{28}S_2$
MW = 1228,161 g.mol⁻¹

Le tétrasaccharide **318** (25,5 mg, 25 μ mol) est dissous dans l'eau distillée (5 ml) et une quantité catalytique de Pd/C (10%) est ajoutée. Le mélange réactionnel est agité sous atmosphère de H₂ (ballon) pendant 17 h à TA, puis est filtré sur célite et concentré pour

donner le produit aminé brut (éluant CCM : AcOEt/MeOH/H₂O : 2/1/1). Ce dernier est dissous dans un mélange de DMF (675 µl), de Et₃N (75 µl) et d'eau distillée (750 µl) puis du réactif biotinylé (34 mg, 75 µmol, 3 eq) est ajouté par portions et le mélange réactionnel est ainsi agité pendant 1h à TA puis concentré à sec. Le résidu solide est lavé plusieurs fois avec de l'EtOH. Une purification sur colonne Sephadex LH-20 dans l'eau donne le produit désiré sous la forme d'une poudre blanche (21 mg, 69 % sur les 2 étapes).

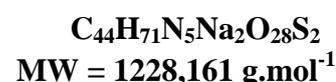
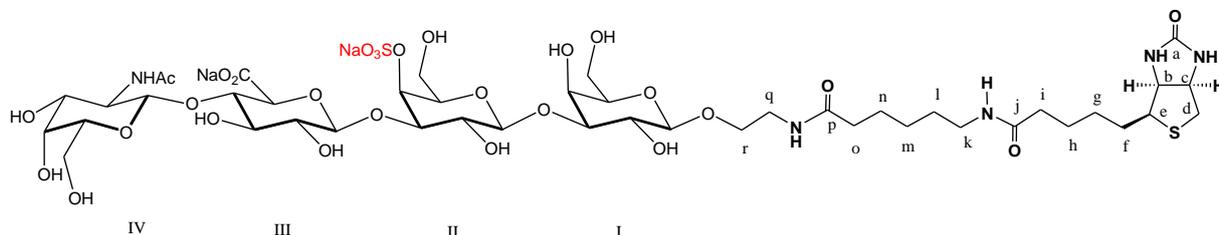
$$[\alpha]_D^{20} = +17,5 \quad (c=1, \text{H}_2\text{O})$$

HRMS: *m/z*: calculée pour C₄₄H₇₅N₅O₂₅S : ([M+4H-SO₃Na-Na]²⁺) : 552,723043 ; trouvée : 552,723033, calculée pour C₄₄H₇₁N₅O₂₈S₂ : ([M-2Na]²⁻) : 590,686898 ; trouvée : 590,687631, calculée pour C₄₄H₇₅N₅O₂₈S₂ : ([M+4H-2Na]²⁺) : 592,701451 ; trouvée : 592,701469, calculée pour C₄₄H₇₄N₅NaO₂₈S₂ : ([M+3H-Na]²⁺) : 603,692423 ; trouvée : 603,692286, calculée pour C₄₄H₇₂N₅O₂₈S₂ : ([M+H-2Na]⁻) : 1182,381072 ; trouvée : 1182,381617, calculée pour C₄₄H₇₄N₅O₂₈S₂ : ([M+3H-2Na]⁺) : 1184,395625 ; trouvée : 1184,396378, Calculée pour C₄₄H₇₃N₅NaO₂₈S₂ : ([M+2H-Na]⁺) : 1206,377569 ; trouvée : 1206,378104, calculée pour C₄₄H₇₂N₅Na₂O₂₈S₂ : ([M+H]⁺) : 1228,359514 ; trouvée : 1228,361137

RMN ¹H (400 MHz, D₂O) : δ (ppm) 4.69 (d, 1H, *J*_{1,2}= 8.0 Hz; H-1^{III}), 4.67 (d, 1H, *J*_{1,2}= 7.5 Hz; H-1^{I ou II}), 4.63 (ddd, 1H, *J*_{c,d}<1Hz, *J*_{c,d'}= 4.5 Hz, *J*_{b,c}= 8.0 Hz; H-c), 4.49 (d, 1H, *J*_{1,2}= 8.5 Hz; H-1^{IV}), 4.48 (d, 1H, *J*_{1,2}= 8.0 Hz; H-1^{I ou II}), 4.44 (dd, 1H, *J*_{b,e}= 4.5 Hz; H-b), 4.29 (dd, 1H, *J*_{3,4}= 3.0 Hz, *J*_{4,5}<1Hz ; H-4^{II}), 4.22-4.19 (m, 3H ; H-4^I, 6a^{II}, H-6b^{II}), 4.03-3.97 (m, 1H; OCH₂), 3.94-3.86 (m, 3H ; H-2^{IV}, H-3^I, H-4^{IV}), 3.84-3.68 (m, 14H ; H-2^I, H-2^{II}, H-3^{III}, H-3^{IV}, H-4^{III}, H-5^I, H-5^{II}, H-5^{III}, H-5^{IV}, H-6a^I, H-6b^I, H-H-6a^{IV}, H-6b^{IV}, OCH₂), 3.64 (dd, 1H, *J*_{2,3}= 9.5 Hz, *J*_{3,4}= 9.0 Hz ; H-3^{III}), 3.49-3.44 (m, 3H; H-2^{III}, CH₂-q), 3.39-3.27 (m, 1H; H-e), 3.22-3.18 (m, 2H; CH₂-k), 3.02 (dd, 1H, *J*_{d',c}= 5.0 Hz, *J*_{d,d'}= 13.0 Hz; H-d'), 2.81 (dd, 1H; H-d), 2.31-2.25 (m, 4H; CH₂-i, CH₂-o), 2.07 (s, 3H; NHC(O)CH₃), 1.93-1.30 (m, 12H; CH₂-f, CH₂-g, CH₂-h, CH₂-l, CH₂-m et CH₂-n).

RMN ¹³C (100 MHz, D₂O) : δ (ppm) 177.68, 177.18, 175.63, 175.21 (4C; C-6^{III}, C=O), 165.89 (1C, C-a), 104.45, 107.34, 103.15 (3C; C-1^I, C-1^{II}, C-1^{III}), 101.54 (1C; C-1^{IV}), 83.37, 82.96 (2C; C-3^I, C-3^{II}), 80.05, 77.01, 75.83, 75.61, 74.26, 73.54, 73.08, 71.71, 70.52, 70.32 (10C; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-3^{III}, C-3^{IV}, C-4^{III}, C-5^I, C-5^{II}, C-5^{III}, C-5^{IV}), 69.03, 68.99 (2C; C-6^{II}, OCH₂), 68.58, 68.39 (3C; C-4^I, C-4^{II}, C-4^{IV}), 62.68 (1C, C-b), 61.87, 61.64 (2C; C-6^I, C-6^{IV}), 60.84 (1C; C-c), 55.98 (1C; C-e), 52.92 (1C; C-2^{IV}), 40.29 (1C; C-d), 39.90, 39.68 (2C; C-k, C-q), 36.20, 36.12 (2C; C-i, C-o), 28.61, 28.45, 28.27, 26.14, 25.81, 25.55 (6C; C-f, C-g, C-h, C-l, C-m, C-n), 23.06 (1C; NHC(O)CH₃).

2-(6-Biotinylamidohexanoyl)aminoéthyl *O*-(2-acétamido-2-désoxy- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-(sodium β -D-glucopyranosyluronate)-(1 \rightarrow 3)-(sodium 4-*O*-sulfonato β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)- β -D-galactopyranoside 213



Le tétrasaccharide **321** (24 mg, 23 μ mol) est dissous dans l'eau distillée (5 ml) et une quantité catalytique de Pd/C (10%) est ajoutée. Le mélange réactionnel est agité sous atmosphère de H₂ (ballon) pendant 17 h à TA, puis est filtré sur célite et concentré pour donner le produit aminé brut (éluant CCM : AcOEt/MeOH/H₂O : 2/1/1). Ce dernier est dissous dans un mélange de DMF (675 μ l), de Et₃N (75 μ l) et d'eau distillée (750 μ l) puis du réactif biotinylé (32 mg, 70 μ mol, 3 eq) est ajouté par portions et le mélange réactionnel est ainsi agité pendant 1h à TA puis concentré à sec. Le résidu solide est lavé plusieurs fois avec de l'EtOH. Une purification sur colonne Sephadex LH-20 dans l'eau donne le produit désiré sous la forme d'une poudre blanche (25 mg, 86 % sur les 2 étapes).

$$[\alpha]_D^{20} = +19,5 \quad (c = 1, \text{H}_2\text{O})$$

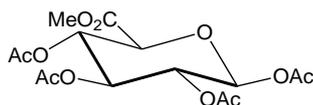
HRMS : *m/z*: calculée pour C₄₄H₇₅N₅O₂₅S : ([M+4H-SO₃Na-Na]²⁺) : 552,723043 ; trouvée : 552,722458, calculée pour C₄₄H₇₁N₅O₂₈S₂ : ([M-2Na]²⁻) : 590,686898 ; trouvée : 590,688599, calculée pour C₄₄H₇₅N₅O₂₈S₂ : ([M+4H-2Na]²⁺) : 592,701451 ; trouvée : 592,700778, calculée pour C₄₄H₇₄N₅NaO₂₈S₂ : ([M+3H-Na]²⁺) : 603,692423 ; trouvée : 603,691568, calculée pour C₄₄H₇₂N₅O₂₈S₂ : ([M+H-2Na]⁺) : 1182,381072 ; trouvée : 1182,381140, calculée pour C₄₄H₇₄N₅O₂₈S₂ : ([M+3H-2Na]⁺) : 1184,395625 ; trouvée : 1184,393477, calculée pour C₄₄H₇₇N₆O₂₈S₂ : ([M+2H+NH₄-2Na]⁺) : 1201,422174 ; trouvée : 1201,40665, calculée pour C₄₄H₇₁N₅NaO₂₈S₂ : ([M-Na]⁻) : 1204,363017 ; trouvée : 1204,363110, calculée pour C₄₄H₇₃N₅NaO₂₈S₂ : ([M+2H-Na]⁺) : 1206,377569 ; trouvée : 1206,376544, calculée pour C₄₄H₇₂N₅Na₂O₂₈S₂ : ([M+H]⁺) : 1228,359514 ; trouvée : 1228,356599.

RMN ¹H (400 MHz, D₂O) : δ (ppm) 4.77 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^{II}), 4.76 (d, 1H, $J_{1,2} = 7.5$ Hz; H-1^{III}), 4.71 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz; H-1^{II}), 4.63 (ddd, 1H, $J_{c,d} < 1$ Hz, $J_{c,d'} = 5.0$ Hz, $J_{b,c} = 8.0$ Hz; H-c), 4.51 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.5$ Hz; H-1^{IV}), 4.48 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz; H-1^I), 4.44 (dd, 1H, $J_{b,e} = 4.5$ Hz; H-b), 4.20 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^I), 4.02 (dd, 1H, $J_{2,3} = 10.5$ Hz ; H-3^{II}), 4.00-3.97 (m, 2H; OCH₂), 3.94 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^{IV}), 3.91-3.86 (m, 1H; H-2^{IV}), 3.85-3.60 (m, 15H; H-2^I, H-2^{II}, H-3^I, H-3^{IV}, H-4^{III}, H-5^I, H-5^{II}, H-5^{III}, H-

5^{IV} , H-6a^I, H-6b^I, H-6a^{II}, H-6b^{II}, H-6a^{IV}, H-6b^{IV}), 3.62 (dd, 1H, $J_{2,3}= 9.5$ Hz, $J_{3,4}= 9.0$ Hz ; H-3^{III}), 3.48-3.44 (m, 3H; H-2^{III}, CH₂-q), 3.38-3.33 (m, 1H; H-e), 3.22-3.18 (m, 2H; CH₂-k), 3.02 (dd, 1H, $J_{d',c}= 5.0$ Hz, $J_{d,d'}= 13.0$ Hz; H-d'), 2.80 (dd, 1H; H-d), 2.31-2.25 (m, 4H; CH₂-i, CH₂-o), 2.07 (s, 3H; NHC(O)CH₃), 1.83-1.30 m, 12H; CH₂-f, CH₂-g, CH₂-h, CH₂-l, CH₂-m et CH₂-n).

RMN ¹³C (100 MHz, D₂O) : δ (ppm) 177.68, 177.17, 175.60, 175.17 (4C; C-6^{III}, C=O), 165.89 (1C, C-a), 104.64 (1C; C-1^{II}), 103.79 (1C; C-1^{III}), 103.18 (1C; C-1^I), 101.67 (1C; C-1^{IV}), 83.06 (1C; C-3^{II}), 80.45 (1C; C-3^I), 77.81 (1C; C-4^{II}), 77.64, 77.22, 75.79, 75.38, 75.03, 74.36, 73.50, 71.73, 71.41, 70.48 (10C; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-3^{III}, C-3^{IV}, C-4^{III}, C-5^I, C-5^{II}, C-5^{III}, C-5^{IV}), 68.99 (1C; OCH₂), 68.90, 68.38 (2C; C-4^I, C-4^{IV}), 62.67 (1C, C-b), 61.58, 61.53, 61.50 (3C; C-6^I, C-6^{II}, C-6^{IV}), 60.83 (1C; C-c), 55.98 (1C; C-e), 52.89 (1C; C-2^{IV}), 40.29 (1C; C-d), 39.88, 39.67 (2C; C-k, C-q), 36.20, 36.11 (2C; C-i, C-o), 28.61, 28.44, 28.27, 26.14, 25.81, 25.55 (6C; C-f, C-g, C-h, C-l, C-m, C-n), 23.07 (1C; NHC(O)CH₃).

Méthyl (2,3,4-tri-*O*-acétyl- β -D-glucopyranosyl)uronate 215b⁵⁴



C₁₅H₂₀O₁₁
MW=376,313 g.mol⁻¹

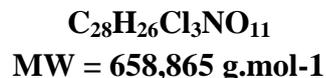
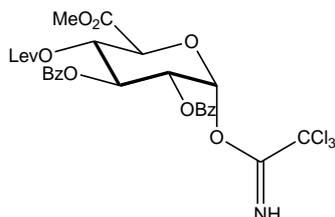
A une solution de soude (NaOH) en poudre (100 mg) en suspension dans du méthanol anhydre (200 ml), est ajoutée par petites portions la D-glucurono-6,3-lactone (20 g, 113,6 mmol). Le mélange réactionnel sous argon est agité à TA et à pH 8 pendant 3h puis concentré et séché pour former une mousse jaune. Ce produit brut est ensuite dissous à 0°C dans la pyridine (200 ml) et de l'anhydride acétique (120 ml) est ajouté au mélange qui est ainsi agité de 0°C à TA pendant 16 heures.

Le mélange réactionnel est ensuite versé lentement sous forte agitation dans un mélange d'eau et de glace (1,5 l) et agité pendant 2 heures à 0°C. Il se forme un précipité qui est filtré, rincé à l'eau et bien essoré. Après recristallisation dans l'éthanol à chaud, le produit est obtenu pur sous la forme d'un solide blanchâtre (13,4 g, 32 %).

Une recristallisation des eaux-mères permet d'obtenir l'anomère α **215a** (8,7 g, 20%).

Pf = 171°C (Ethanol à chaud).

***O*-(Méthyl 2,3-di-*O*-benzoyl-4-*O*-levulinoyl -1-*O*-trichloroacétimidoyl)- α -D-glucopyranose 227^{63, 57}**



Protocole A :

Au glycoside **241** (2g, 3,05 mmol) dissous dans un mélange DCM/MeOH (9 : 1 ; 20 ml) est ajouté la DDQ (2,08 g, 9,16 mmol, 3 eq). Le mélange réactionnel est agité à l'abri de la lumière à TA pendant 24h, puis le mélange réactionnel est dilué avec du DCM (70 ml), lavé avec de l'eau, du NaHCO₃ saturé, de l'eau puis séché et concentré sous pression réduite. Le résidu est purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (DCM/acétone : 12/1) pour donner le produit pur sous la forme d'une mousse jaune pâle (0,96 g, 61%).

L'hémiacétal obtenu (0,95 g, 1,8 mmol) est dissous dans le DCM anhydre (10 ml) à TA et sous argon. Le Cl₃C-CN (1,8 ml, 18,1 mmol, 10 eq) puis la DBU (0,05 ml, 0,34 mmol, 0,2 eq) sont ajoutés successivement. Le mélange réactionnel est ainsi agité pendant 30 min puis concentré et purifié immédiatement après par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (EP/AcOEt : 2/1 avec 0,1 % Et₃N). Le produit est obtenu pur sous la forme d'une mousse jaune pâle (0,92 g, 76 %).

$$[\alpha]_D^{20} = +120 (c=1, \text{CHCl}_3)$$

Protocole B :

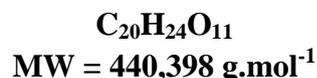
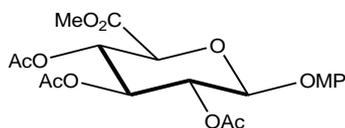
Au glycoside **231** (6,04 g, 9,73 mmol) dissous dans un mélange toluène/acétonitrile/eau (1 : 1,5 : 1, 180 ml) est ajouté le CAN (26,67 g, 48,65 mmol, 5 eq). Le mélange réactionnel est agité vigoureusement à TA pendant 30 min, puis versé dans de l'eau glacée (350 ml), la phase aqueuse est extraite avec de l'AcOEt (3 fois), les phases organiques sont lavées successivement avec de l'eau, du NaCl saturé, de l'eau puis séchées sur MgSO₄ et concentrées sous pression réduite. Le résidu est purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (EP/AcOEt : 1/1) pour donner le produit pur sous la forme d'une mousse orange pâle (4,85 g, 97%).

L'hémiacétal obtenu (4,83 g, 9,4 mmol) est dissous dans le DCM anhydre (50 ml) à TA et sous argon. Le Cl₃C-CN (9,4 ml, 94 mmol, 10 eq) puis la DBU (28,5 ml, 1,9 mmol, 0,2 eq) sont ajoutés successivement. Le mélange réactionnel est ainsi agité pendant 30 min puis concentré et purifié immédiatement après par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (EP/AcOEt : 2/1 avec 0,1 % Et₃N). Le produit est obtenu pur sous la forme d'une mousse jaune pâle (4,95 g, 80 %).

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 8,65 (s, 1H ; NH), 7,96-7,33 (m, 10H ; Ar-H), 6,85 (d, $J_{1,2} = 3,5$ Hz, 1H ; H-1), 6,11 (dd, $J_{2,3} = J_{3,4} = 10,0$ Hz, 1H ; H-3), 5,59-5,51 (m, 2H ; H-2, H-4),

4,65 (d, $J_{4,5} = 10,0$ Hz, 1H ; H-5), 3,80 (s, 3H ; COOCH₃), 2,66-2,38 (m, 4H ; CH₂CO), 2,05 (s, 3H ; COCH₃)

Méthyl (4-méthoxyphényl 2,3,4-tri-*O*-acétyl-β-D-glucopyranosyl)uronate **228**⁵⁸



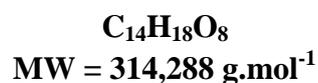
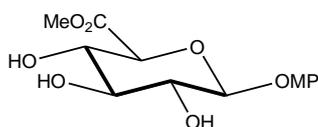
Une solution de pentacétate **215b** (13,4 g, 35,5 mmol), de 4-méthoxyphénol (7,05 g, 56,9 mmol, 1,6 eq) et de tamis moléculaire 4Å dans le DCM anhydre (125 ml) est agité à TA et sous argon pendant 1h puis le mélange réactionnel est refroidi à 0°C. Le TMSOTf (1,64 ml, 8,9 mmol, 0,25 eq) est ajouté et le mélange réactionnel est agité de 0°C à TA pendant 3h. L'excès d'acide est neutralisé avec du Et₃N, le tamis est filtré et rincé avec du DCM et le mélange réactionnel est lavé successivement avec avec du NaOH 2M (2 x 250 ml), du NaCl saturé, de l'eau puis séché sur MgSO₄ et concentré. Le résidu est recristallisé dans l'AcOEt/EP pour donner le produit pur sous la forme d'un solide blanc (9,90 g, 63%).

Pf = 145-146°C (EP/AcOEt)

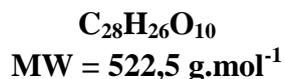
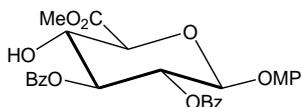
$[\alpha]_D^{20} = -33$ ($c=1$, CHCl₃)

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 6.90 (m, 4H ; Ar-H), 5.32 (m, 2H ; H-3, H-4), 5.24 (dd, 1H, $J_{1,2} = 7.0$ Hz, $J_{2,3} = 9.0$ Hz ; H-2), 5.01 (d, 1H ; H-1), 4.12 (d, 1H, $J_{4,5} = 9.5$ Hz ; H-5), 3.78, 3.75 (2s, 6H ; OCH₃, COOCH₃), 2.08, 2.05, 2.04 (3s, 9H ; COCH₃).

Méthyl (β-D-glucopyranosyl)uronate **229**⁵⁸



Une solution de MeONa/MeOH (30 ml) est ajoutée au triacétate **228** (7,84 g, 18 mmol) en suspension dans le MeOH (120 ml) et le DCM (25 ml) anhydres. Le mélange réactionnel est agité à TA et sous argon à pH basique pendant 7h, puis l'excès de MeONa est neutralisé par de la résine amberline IR-120 (H⁺) jusqu'à pH 6. La résine est filtrée puis rincée avec du MeOH et le résidu concentré sous pression réduite. La mousse brune obtenue est purifiée sur colonne de gel de silice (DCM : MeOH : 9/1). Le produit est obtenu pur sous la forme d'un solide blanchâtre (3,88 g, 69 %).

Méthyl (4-méthoxyphényl 2,3-di-O-benzoyl-β-D-glucopyranosyl)uronate **230**⁵⁸**Protocole A :**

Un mélange de triol **229** (7,8 g, 24,8 mmol), d'oxyde de dibutyl étain (6,79 g, 27,3 mmol, 1,1 eq), de 1,4-dioxane (50 ml) et de toluène (300 ml) est porté à reflux (135°C) avec l'appareil de Dean Stark pendant 8h. Après élimination azéotropique de l'eau, le reste de solvant est lentement distillé à pression atmosphérique (270 ml).

Le mélange réactionnel est ensuite refroidi à TA sous argon puis, du THF anhydre (50 ml), du chlorure de benzoyle (6 ml, 49,6 mmol, 2 eq) et de la triéthylamine (5,2 ml, 24,8 mmol, 1 eq) sont ajoutés successivement. Le mélange réactionnel est agité à TA pendant 17h puis, concentré sous pression réduite et purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (toluène/AcOEt : 5/1) pour donner après recyclage une mousse blanchâtre qui recristallise dans l'EP/AcOEt pour donner le produit pur (5,51 g, 42%).

Pf = 138-139°C (Heptane/AcOEt)

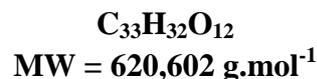
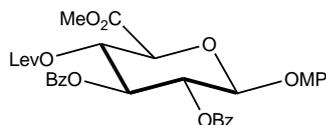
$[\alpha]_D^{20} = +57$ ($c=1$, CHCl_3)

Protocole B :

A l'acide **248** (3,78 g, 7,43 mmol) dissous dans le DMF anhydre (27 ml) est ajouté sous argon du K_2CO_3 (2,57 g, 18,58 mmol, 2,5 eq). Puis, l'iodure de méthyle (MeI) (1,16 ml, 18,58 mmol, 2,5 eq) est ajouté et le milieu réactionnel est placé à l'abri de la lumière pendant 4h. Ensuite, de l'eau (55 ml) et de l'AcOEt (110 ml) sont ajoutés et le milieu est décanté. La phase aqueuse est réextraite avec 55 mL d'AcOEt et les phases organiques réunies sont lavées deux fois avec une solution saturée de NaCl. Elles sont ensuite séchées sur MgSO_4 , filtrées et concentrées : un solide visqueux orangé est obtenu. Celui-ci est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (toluène/AcOEt : 5/1). L'ester **230** est obtenu pur sous la forme d'une mousse blanche (3,37 g, 87%).

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 7.96-6.76 (m, 14H ; Ar-H), 5.71-5.56 (m, 2H ; H-2, H-3), 5.19 (d, 1H, $J_{1,2} = 7.5$ Hz ; H-1), 4.31 (ddd, 1H, $J_{3,4} = 10.5$ Hz, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, $J_{4,OH} = 3.0$ Hz; H-4), 4.18 (d, 1H; H-5), 3.86, 3.75 (2s, 6H ; OCH₃, COOCH₃), 3.36 (d, 1H, OH).

Méthyl (4-méthoxyphényl 2,3-di-O-benzoyl-4-O-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)uronate 231⁶³



Le composé **230** (3,31 g, 6,34 mmol), l'acide lévulinique (0,92 g, 7,9 mmol, 1,25 eq) et la DMAP (0,13 g, 1,05 mmol, 0,17 eq) en suspension dans le DCM anhydre (42 ml) sont agités à TA et sous argon. La DCC (1,63 g, 7,9 mmol, 1,25 eq) est ensuite ajoutée au mélange réactionnel qui est ainsi agité pendant 1h. La DCU formée est filtrée sur Büchner, rincée avec du DCM (60 ml). Le filtrat est lavé successivement avec du HCl 1M froid, du NaHCO₃ saturé et de l'eau, puis séché sur MgSO₄ et concentré sous pression réduite.

Le produit brut est purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (EP/AcOEt : 1/1) pour donner le produit pur sous la forme d'un solide blanc (3,93 g, 93%).

Pf= 165-168°C (Acétone à chaud)

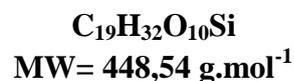
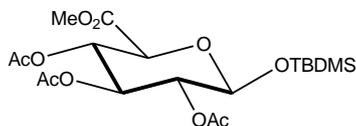
[α]_D²⁰ = +58 (c= 1, CHCl₃)

ES-SM: *m/z* 643 [M+Na]⁺

Analyses élémentaires : Calculée pour C₃₃H₃₂O₁₂: C, 63.87; H, 5.35 ; trouvée : C, 63.71; H, 5.40.

RMN¹H (CDCl₃, 250 MHz): δ (ppm) 8.0–6.80 (m, 14H, Ar-H), 5.76 (dd, 1H, *J*_{2,3} = *J*_{3,4} = 9.0 Hz, H-3), 5.68 (dd, 1H, *J*_{1,2} 7.0 Hz, H-2), 5.58 (dd, 1H, *J*_{4,5} 9.5 Hz, H-4), 5.23 (d, 1H, H-1), 4.32 (d, 1H, H-5), 3.78, 3.76 (2s, 6H, OCH₃, COOCH₃), 2.70–2.40 (m, 4H, CH₂CO), 2.08 (s, 3H, COCH₃).

Méthyl (di-tert-butyl-diméthylsilyl 2,3,4-tri-O-acétyl-β-D-glucopyranose)uronate 233⁵⁹



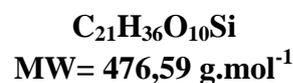
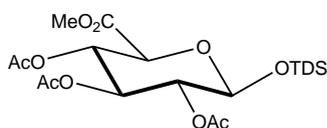
L'hémiacétal **232** (9,61 g, 28,74 mmol) dissous dans le DCM anhydre (150 ml) à -20°C et sous argon, sont ajoutés successivement, l'imidazole (5,09 g, 74,72 mmol) puis le TBDMSCl (5,63 g, 37,36 mmol). Le mélange réactionnel est ainsi agité de -20°C à 0°C pendant 6h30, puis dilué avec du DCM, lavé successivement avec du HCl 0,1 M froid, de l'eau et du NaHCO₃ saturé, puis séché sur MgSO₄. Le filtrat est concentré sous pression réduite et le résidu est purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (EP/AcOEt : 3/1) pour donner le produit pur sous la forme d'un solide blanc (10,96 g, 84 %).

Pf = 80-81°C (AcOEt/EP)

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ (ppm) 5.23-5.21 (m, 2H ; H-3, H-4), 4.98 (dd, 1H, $J_{1,2}= 7.5$ Hz, $J_{2,3} = 10.0$ Hz ; H-2), 4.78 (d, 1H ; H-1), 4.02 (d, 1H, $J_{4,5}= 10.0$ Hz ; H-5), 3.74 (s, 3H ; COOCH_3), 2.01, 2.00 (2s, 9H ; COCH_3), 0.85 (s, 9H ; $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 0.12, 0.09 (2s, 6H ; $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ (ppm) 170.18, 169.32, 169.05, 167.13 (4C ; C-6, C=O), 95.80 (1C ; C-1), 72.96 (1C ; C-2), 72.52, 72.07, 69.49 (3C ; C-3, C-4, C-5), 52.75 (COOCH_3), 25.37 (3C ; $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 20.61, 20.49 (3C ; COCH_3), 17.77 (1C ; $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), -4.34, -5.52 (2C ; $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$).

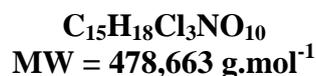
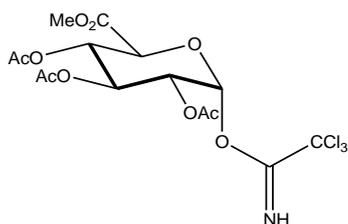
Méthyl (diméthylthéxylsilyl 2,3,4-tri-*O*-acétyl- β -D-glucopyranose)uronate 234 Erreur ! Signet non défini.



L'hémiacétal **232** (0,69 g, 2 mmol) dissous dans le DCM anhydre (11 ml) à -20°C et sous argon, sont ajoutés successivement, l'imidazole (0,365 g, 5,36 mmol) puis le TDSCI 95% (0,55 ml, 2,68 mmol). Le mélange réactionnel est alors agité de -20°C à 0°C pendant 8h, puis dilué avec du DCM, lavé successivement avec du HCl 0,1 M froid, de l'eau et du NaHCO_3 saturé, puis séché sur MgSO_4 et concentré sous pression réduite. Le résidu est purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (EP/AcOEt : 3/1) et le produit est obtenu pur sous la forme d'un solide blanchâtre (0,61 g, 62 %).

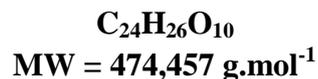
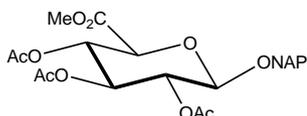
RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ (ppm) 5.22-5.20 (m, 2H ; H-3, H-4), 4.95 (dd, 1H, $J_{1,2}= 7.5$ Hz, $J_{2,3} = 10.0$ Hz ; H-2), 4.78 (d, 1H ; H-1), 4.01 (d, 1H, $J_{4,5}= 10.0$ Hz ; H-5), 3.73 (s, 3H ; COOCH_3), 2.00, 1.99 (2s, 9H ; COCH_3), 0.84, 0.82, 0.81, 0.80 (4s, 12H ; $\text{C}(\text{CH}_3)_4$), 0.16, 0.13 (2s, 6H ; $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ (ppm) 170.18, 169.32, 169.02, 167.16 (4C ; C-6, C=O), 95.69 (1C ; C-1), 72.93 (1C ; C-2), 72.44 (1C ; C-5), 72.17, 69.47 (2C ; C-3, C-4), 52.72 (COOCH_3), 24.73, 20.60, 20.48, 19.82, 19.80 (7C ; $\text{C}(\text{CH}_3)_3$, COCH_3), 18.40 (1C ; $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), -2.10, -3.65 (2C ; $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$).

***O*-(Méthyl 2,3,4-tri-*O*-acétyl-1-*O*-trichloroacétimidoyl)- α -D-glucopyranose **235**⁷⁵**

Au mélange de pentacétates **215a** et **215b** (6,33 g, 16,8 mmol) dissous dans le DMF anhydre (70 ml) est ajoutée l'acétate d'hydrazine (2,32 g, 25,2 mmol, 1,5 eq). Le mélange réactionnel est agité à TA et sous argon pendant 45 min, puis versé dans l'eau glacée. La phase aqueuse est extraite avec de l'AcOEt (3 x 100 ml), les phases organiques sont lavées successivement avec du NaCl saturé, de l'eau puis séchées et concentrées pour donner une mousse brune (4,06 g, 72%).

L'hémiacétal obtenu (4,03 g, 12 mmol) est dissous dans le DCM anhydre (40 ml) à TA et sous argon. Le $\text{Cl}_3\text{C-CN}$ (12,1 ml, 120 mmol, 10 eq) puis la DBU (0,36 ml, 2,4 mmol, 0,2 eq) sont ajoutés successivement. Le mélange réactionnel est ainsi agité pendant 30 min puis concentré et purifié immédiatement après par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (EP/AcOEt : 2/1 avec 0,1 % Et_3N). Le produit est obtenu pur sous la forme d'une mousse blanche (5,77 g, 76 %).

Méthyl (2-Naphtylméthyl 2,3,4-tri-*O*-acétyl- β -D-glucopyranosyl)uronate **236⁶³**

L'imidate **235** (7,47 g, 15,6 mmol), le 2-naphtalène méthanol (3,95 g, 25 mmol, 1,6 eq) et du tamis moléculaire 4 Å activé en suspension dans du DCM anhydre (70 ml) sont agités à TA et sous argon pendant 45 min. Au mélange réactionnel est ajouté le TMSOTf (0,52 ml, 2,8 mmol, 0,18 eq). Après 45 min d'agitation, le mélange réactionnel est neutralisé avec la triéthylamine (1,9 ml, 5 eq/TMSOTf). Au bout de 5 min, le tamis est filtré, rincé au DCM et concentré sous pression réduite. Le résidu brut est purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (EP/AcOEt : 2/1 avec 0,1% Et_3N). Le produit est obtenu pur sous la forme d'un solide blanc (3,11 g, 42%).

Pf = 132-133°C (EP/AcOEt)

$[\alpha]_D^{20} = -54$ ($c=1$, CHCl_3)

⁷⁵ Jacquinet J.-C. *Carbohydr. Res.* **1990**, 199, 153

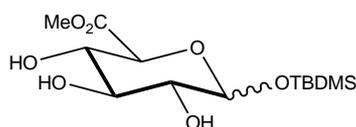
HRMS : m/z : calculée pour $C_{24}H_{30}O_{10}N$ ($[M+NH_4]^+$) : 492,18642 ; trouvée : 492,18634, calculée pour $C_{24}H_{26}O_{10}Na$ ($[M+Na]^+$) : 497,14182 ; trouvée : 497,14173

Analyse élémentaire calculée pour $C_{24}H_{26}O_{10}$: C, 60.76; H, 5.52; trouvée : C, 62,15 ; H, 5,75

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) : δ (ppm) 7.84-7.38 (m, 7 H ; Ar-H), 5.27 (dd, 1H, $J_{3,4} = 9.0$ Hz, $J_{4,5} = 9.5$ Hz ; H-4), 5.20 (dd, 1H, $J_{2,3} = 9.0$ Hz ; H-3), 5,12 (dd, 1H, $J_{1,2} = 7.5$ Hz ; H-2), 4,93 (ABq, 2H ; CH_2 -Ar), 4,64 (d, 1H ; H-1), 4,03 (d, 1H ; H-5), 3,77 (s, 3H ; $COOCH_3$), 2,01 (sl, 9H ; $C(O)CH_3$).

RMN ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) : δ (ppm) 170.03, 169.32, 169.16, 167.23 (4C ; C-6, C=O), 133.87, 133.09, 133.04, 128.27, 127.82, 127.68, 126.78, 126.28, 126.15, 125.50 (10C ; Ar-C), 99.22 (1C ; C-1), 72.61 (1C ; C-5), 72.03 (1C ; C-3), 71.17 (1C ; C-2), 70.99 (1C ; CH_2 -Ar), 69.39 (1C ; C-4), 52.88 (1C ; $COOCH_3$), 20.60, 20.56, 20.45 (3C ; $C(O)CH_3$).

Méthyl (*tert*-butyl-di-méthylsilyl- α/β -D-glucopyranoside)uronate **237**



$C_{13}H_{26}O_7Si$
MW= 322,43 $g \cdot mol^{-1}$

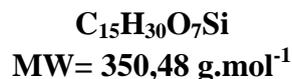
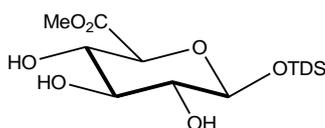
Condition 1 :

Au composé **233** (4 g, 8,9 mmol) en suspension dans le MeOH anhydre (80 ml) à TA et sous argon est ajoutée une solution de méthanolate de sodium (20 ml) et le mélange réactionnel est agité à ta sous argon pendant 30 min, puis neutralisé avec de la résine amberline IR- 120 $[H^+]$ jusqu'à pH neutre. La résine est filtrée, rincée avec du MeOH et le filtrat est concentré sous pression réduite. Le produit est purifié sur colonne de gel de silice (DCM/MeOH : 95/5)

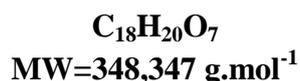
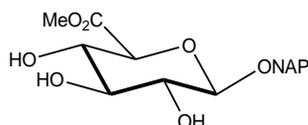
Le produit obtenu est un mélange racémique α/β sous la forme d'une mousse jaunâtre (0,41 g, 14%) et il se forme un mélange de produits de dégradation.

Condition 2 :

Le composé **233** (1 g, 2,23 mmol) et le carbonate de potassium K_2CO_3 (0,1g) en suspension dans le MeOH anhydre (20 ml) sont agités à $0^\circ C$ et sous argon pendant 4h30. Le mélange réactionnel est ensuite filtré sur célite, rincé avec du MeOH et concentré. Le résidu est purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (DCM/MeOH : 95/5). Le produit est obtenu est un mélange racémique α/β sous la forme d'un solide blanc (0,36 g, 50%).

Méthyl (diméthylthéxylsilyl-β-D-glucoopyranoside)uronate 238

Au composé **234** (0,61 g, 1,3 mmol) en suspension dans le mélange DCM/MeOH : 1/1 anhydres (10 ml) à TA et sous argon est ajoutée une solution de méthanolate de sodium (2 ml) et le mélange réactionnel est agité à ta sous argon pendant 15 min, puis neutralisé avec de la résine amberline IR- 120 [H⁺] jusqu'à pH neutre. La résine est alors filtrée, rincée avec du MeOH et le filtrat est concentré sous pression réduite. Le produit est purifié sur colonne de gel de silice (DCM/MeOH : 95/5). Le triol est obtenu pur sous la forme d'une mousse jaune pâle (0,15 g, 32%).

Méthyl (2-Naphtylméthyl-β-D-glucoopyranosyl)uronate 239⁶³

Au triacétate **236** (1 g, 2,1 mmol) en suspension dans le MeOH anhydre (10 ml) est ajoutée, sous argon, une solution de méthanolate de sodium (2 ml). Le mélange réactionnel est agité à pH 9-10, à TA pendant 3h30 puis l'excès de méthanolate est neutralisé avec de la résine Amberline IR-120 [H⁺] jusqu'à pH 6. La résine est ensuite filtrée, rincée avec du MeOH et le résidu est concentré sous pression réduite pour donner une mousse jaune. Le produit brut est purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (DCM/MeOH : 9/1). Le produit est obtenu pur sous la forme d'un solide blanc (0,52 g, 71%).

Pf = 162-164°C (Ethanol à chaud)

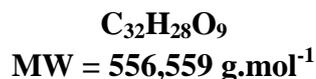
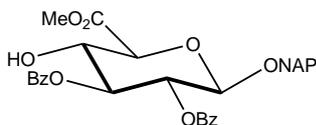
$[\alpha]_D^{20} = -52$ ($c=1,02$, MeOH)

HRMS : m/z : calculée pour $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{NO}_7$ ($[\text{M}+\text{NH}_4]^+$) : 366.154729; trouvée : 366.154850, calculée pour $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{NaO}_7$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$) : 371.110124; trouvée : 371.110265

Analyse élémentaire calculée pour $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_7$: C, 62.06; H, 5.79; trouvée : C, 61.10 ; H, 5.99

RMN ¹H (400 MHz, MeOD) : δ (ppm) 7.86-7.44 (m, 7 H ; Ar-H), 4.90 (ABq, 2H ; CH₂-Ar), 4.48 (d, 1H, $J_{1,2} = 7.5$ Hz ; H-1), 3.87 (d, 1H, $J_{4,5} = 10.0$ Hz ; H-5), 3.78 (s, 3H ; COOCH₃), 3.59 (dd, 1H, $J_{3,4} = 9.0$ Hz, H-4), 3.40 (dd, 1H, $J_{2,3} = 9.0$ Hz ; H-3), 3.35 (dd, 1H ; H-2).

RMN ¹³C (100 MHz, MeOD) : δ (ppm) 171.29 (1C ; C-6), 136.33, 134.74, 134.53, 129.00, 128.97, 128.68, 127.85, 127.15, 127.12, 127.00 (10C ; Ar-C), 103.95 (1C ; C-1), 77.33 (1C ; C-3), 76.87 (1C ; C-5), 74.84 (1C ; C-2), 73.20 (1C ; C-4), 72.33 (1C ; CH₂-Ar), 52.88 (1C ; COOCH₃).

Méthyl (2-Naphtylméthyl 2,3-di-O-benzoyl-β-D-glucopyranosyl)uronate **240**⁶³

Un mélange de triol **239** (2,83 g, 8,12 mmol), d'oxyde de dibutyl étain (2,22 g, 8,93 mmol, 1,1 eq), de 1,4-dioxane (16,5ml) et de toluène (110 ml) est porté à reflux (135°C) avec l'appareil de Dean Stark pendant 8h. Après élimination azéotropique de l'eau, le reste de solvant est lentement distillé à pression atmosphérique (60 ml).

Le mélange réactionnel est ensuite refroidi à TA sous argon puis, du THF anhydre (16,5 ml), du chlorure de benzoyle (1,9 ml, 16,24 mmol, 2 eq) et de la triéthylamine (1,14 ml, 8,12 mmol, 1 eq) sont ajoutés successivement. Le mélange réactionnel est agité à TA pendant 17h puis, concentré sous pression réduite et purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (toluène/AcOEt : 5/1) pour donner le produit pur sous la forme d'un solide jaunâtre (2,15 g, 48%).

Pf = 110-112°C (diéthyléther)

$[\alpha]_D^{20} = +35,5$ ($c = 1$, CHCl_3)

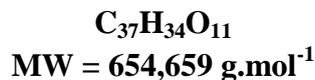
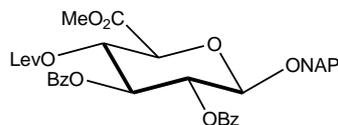
HRMS : m/z : calculée pour $\text{C}_{32}\text{H}_{32}\text{O}_9\text{N}$ ($[\text{M}+\text{NH}_4]^+$) : 574,20716 ; trouvée : 574,20682, calculée pour $\text{C}_{32}\text{H}_{28}\text{O}_9\text{Na}$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$) : 579,16255 ; trouvée : 579,16216

Analyse élémentaire calculée pour $\text{C}_{32}\text{H}_{28}\text{O}_9$: C, 69.06; H, 5.07; trouvée : C, 63,92 ; H, 5,01

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 7.97-7.16 (m, 17H ; Ar-H), 5.55 (dd, 1H, $J_{2,3} = 9.5$ Hz, $J_{1,2} = 7.5$ Hz ; H-2), 5.47 (dd, 1H, $J_{3,4} = 9.0$ Hz ; H-3), 4.98 (ABq, 2H ; CH_2 -Ar), 4.81 (d, 1H ; H-1), 4.24 (ddd, 1H, $J_{4,\text{OH}} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} = 9.5$ Hz ; H-4), 4.06 (d, 1H ; H-5), 3.88 (s, 3H ; COOCH_3), 3.31 (d, 1H ; HO-4).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 169.12, 166.57, 165.11 (3C ; C-6, C=O), 133.88, 133.37, 133.22, 133.04, 132.98, 129.90, 129.82, 129.18, 128.93, 128.34, 128.32, 128.21, 127.82, 127.60, 126.73, 126.10, 126.02, 125.57 (22C ; Ar-C), 99.60 (1C ; C-1), 75,03 (1C ; C-3), 74.66 (1C ; C-5), 71.15 (1C ; C-2), 70.93 (1 ; CH_2 -Ar), 70.56 (1C ; C-4), 52.93 (1C ; COOCH_3).

Méthyl (Naphtylméthyl 2,3-di-*O*-benzoyl-4-*O*-levulinoyl- β -D-glucopyranosyl)uronate
241⁶³



Le composé **240** (2,29 g, 4,1 mmol), l'acide lévulinique (0,71 g, 6,2 mmol, 1,5 eq) et la DMAP (0,08 g, 0,68 mmol, 0,17 eq) en suspension dans le CH₂Cl₂ anhydre (30 ml) sont agités à TA et sous argon. La DCC (1,27 g, 6,2 mmol, 1,5 eq) est ensuite ajoutée au mélange réactionnel qui est ainsi agité pendant 1h. La DCU formée est filtrée sur Büchner, rincée avec du DCM (50 ml). Le filtrat est lavé successivement avec du HCl 1M froid, du NaHCO₃ saturé et de l'eau, puis séché sur MgSO₄ et concentré sous pression réduite.

Le produit brut est purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (EP/AcOEt : 3 /2) pour donner le produit pur sous la forme d'un solide blanc (2,13 g, 79%).

Pf= 137-140°C (EP/AcOEt)

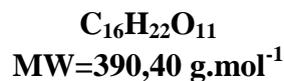
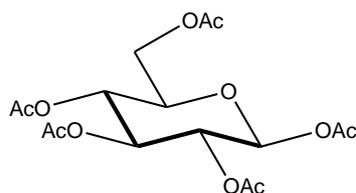
$[\alpha]_D^{20} = +47$ (c=1, CHCl₃)

HRMS : *m/z* : calculée pour C₃₇H₃₅O₁₁ ([M+H]⁺): 655,21739 ; trouvée : 655,21738, calculée pour C₃₇H₃₈O₁₁N ([M+NH₄]⁺): 672,24394, trouvée : 672,24430, calculée pour C₃₇H₃₄O₁₁Na ([M+Na]⁺): 677,19933 ; trouvée : 677,19984

Analyse élémentaire calculée pour C₃₇H₃₄O₁₁ : C, 67,88; H, 5,23; trouvée : 68,41 ; H, 5,50

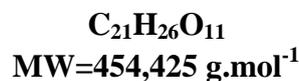
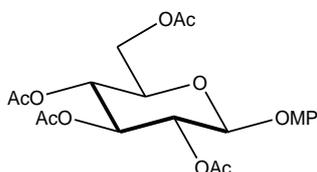
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 7.91-7.25 (m, 17H ; Ar-H), 5.64-5.54 (m, 2H ; H-2, H-4), 5.50 (dd, 1H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.0$ Hz ; H-3), 4.97 (ABq, 2H ; CH₂-Ar), 4.83 (d, $J_{1,2} = 7.0$ Hz, 1H ; H-1), 4.20 (d, 1H, $J_{4,5} = 9.0$ Hz ; H-5), 3.81 (s, 3H ; COOCH₃), 2.65-2.35 (m, 4H ; CH₂CO), 2.03 (s, 3H ; COCH₃).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 205.57 (1C ; COCH₃), 171.14, 167.28, 165.51, 164.89 (4C ; C-6, C=O), 133.76, 133.34, 133.24, 133.01, 132.97, 129.84, 129.09, 128,74, 128.34, 128.22, 127.82, 127.59, 126.77, 126.10, 126.03, 125.57 (22C ; Ar-C), 99.21 (1C ; C-1), 72.78 (1C ; C-5), 72.12, 71.31 (2C ; C-2, C-4), 70.85 (1C ; CH₂-Ar), 69.68 (1C ; C-3), 53.01 (1C ; COOCH₃), 37.58 (1C ; CH₂CO), 29.50 (1C ; COCH₃), 27.66 (1C ; CH₂CO).

1,2,3,4,6-penta-*O*-acétyl- β -D-glucopyranose 242

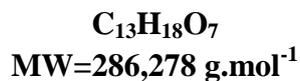
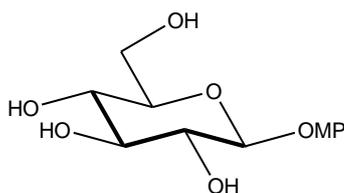
Un mélange de D-glucose (40 g, 222 mmol, 1 eq), d'acétate de sodium (AcONa) anhydre (32 g, 390 mmol, 1,8 eq) et d'anhydride acétique (Ac₂O) (250 mL, 264 mmol, 1,2 eq) sont agités à 100°C pendant 30 min. Le mélange réactionnel est ensuite refroidi à TA puis versé lentement dans un mélange eau-glace (1,5 l) sous agitation. Au bout de 2h, le milieu est filtré sur Büchner et rincé à l'eau. Le solide obtenu est recristallisé dans l'éthanol à chaud. Le β -peracétate **242** est obtenu sous la forme d'une poudre blanche (44,85 g, 52%).

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 5,74 (d, $J_{1,2}$ = 8,0 Hz, 1H ; H-1), 5,26 (dd, $J_{2,3}$ = $J_{3,4}$ = 9,5 Hz, 1H ; H-3), 5,17-5,09 (m, 2H ; H-2, H-4), 4,30 (dd, $J_{5,6a}$ = 4,5 Hz, $J_{6a,6b}$ = 12,5 Hz, 1H ; H-6a), 4,11 (dd, $J_{5,6b}$ = 2,0 Hz, $J_{6a,6b}$ = 12,5 Hz, 1H ; H-6b), 3,84 (ddd, $J_{5,6b}$ = 2,0 Hz, $J_{5,6a}$ = 4,5 Hz, $J_{4,5}$ = 9,5 Hz, 1H ; H-5), 2,13, 2,11, 2,05, 2,03 (4s, 15H ; COCH₃).

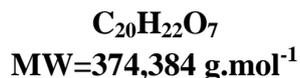
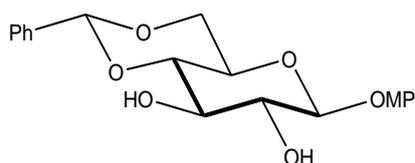
4-méthoxyphényl 2,3,4,6-tetra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranoside 243

Le β -peracétate **242** (10 g, 25,6 mmol, 1 eq), le 4-méthoxyphénol (5,7 g, 46,1 mmol, 1,8 eq) et du tamis moléculaire 4 Å en suspension dans du DCM anhydre (100 ml) sont agités sous argon à TA pendant 30 min, puis le mélange réactionnel est refroidi par un bain de glace à 0°C. Du TMSOTf 99% (0,92 mL, 5,1 mmol, 0,2 eq) est ajouté et le mélange est agité 2h30 à 0°C sous argon. De la triéthylamine (1,9 mL, 14,3 mmol, 0,56 eq) est ensuite ajoutée goutte à goutte et le milieu réactionnel est filtré, le tamis est rincé avec du DCM. Le filtrat est lavé successivement avec de l'eau (100 ml), de la soude 2M (2 x 100 ml) et de l'eau (100 ml). La phase organique est séchée sur MgSO₄, filtrée et le milieu est concentré. L'huile obtenue est cristallisée dans l'isopropanol à chaud pour donner **243** sous la forme d'une poudre blanche (8,32 g, 72%).

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 7,00-6,83 (m, 4H ; Ar(MP)), 5,31-5,19 (m, 3H ; H-2, H-3, H-4), 4,98 (d, $J_{1,2}$ = 8,0 Hz, 1H ; H-1), 4,32 (dd, $J_{5,6a}$ = 5,5 Hz, $J_{6a,6b}$ = 12,5 Hz, 1H ; H-6a), 4,19 (dd, $J_{5,6b}$ = 2,5 Hz, $J_{6a,6b}$ = 12,5 Hz, 1H ; H-6b), 3,87-3,23 (m, 1H ; H-5), 3,81 (s, 3H ; OCH₃), 2,12, 2,11, 2,07, 2,06 (4s, 12H ; COCH₃).

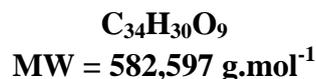
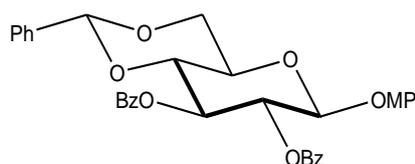
4-méthoxyphényl β-D-glucopyranoside 244

Au glycoside **243** (14,60 g, 32,1 mmol) en suspension dans du MeOH (100 ml) est ajoutée à TA et sous argon une solution de méthanolate de sodium (MeONa) (25 ml) et le mélange réactionnel est agité pendant 1h30. Puis, de la résine Amberlite IR-120 [H⁺] est ajoutée jusqu'à neutralisation du milieu réactionnel. Le contenu du ballon est filtré sur coton, rincé au MeOH et le filtrat est concentré. Le tétrol **244** est obtenu sans purification sous l'apparence d'un solide orangé (9,02 g, 98%).

4-méthoxyphényl 4,6-O-benzylidène-β-D-glucopyranoside 245

Le tétrol **244** (9,02 g, 31,5 mmol) et le CSA (441 mg, 1,9 mmol, 0,06 eq) sont dissous dans 150 ml d'acétonitrile anhydre sous argon et à TA. Au milieu réactionnel est ajouté le diméthoxytoluène (7,3 ml, 50,4 mmol, 1,6 eq), le solide se solubilise un peu puis un précipité abondant se forme. Au bout de 1h15. La triéthylamine (0,8 ml, 5,9 mmol, 0,19 eq) est ajoutée et le milieu est concentré puis filtré sur Büchner et rincé avec de l'éther et séché sur P₂O₅ pour donner le produit **245** sous la forme d'un solide blanc (10,92 g, 93%).

RMN ¹H (250 MHz, DMSO) : δ(ppm) 7,47-7,36 (m, 5H ; Ph(H)), 7,01-6,84 (m, 4H ; Ar(MP)), 5,59 (s, 1H ; CH-Ph), 5,57 (s, 1H ; HO-2), 5,42 (d, $J_{3,\text{HO-3}}= 5,0$ Hz, 1H ; HO-3), 4,96 (d, $J_{1,2}= 8,0$ Hz, 1H ; H-1), 4,19 (dd, $J_{5,6a}= 4,5$ Hz, $J_{6a,6b}= 10,0$ Hz, 1H ; H-6a), 3,74-3,33 (m, 5H ; H-2, H-3, H-4, H-5, H-6b), 3,31 (s, 3H ; OCH₃).

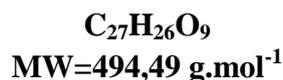
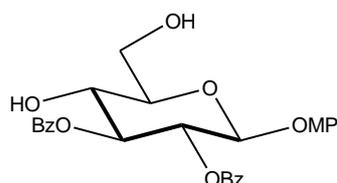
4-méthoxyphényl 2,3-di-O-benzoyl-4,6-O-benzylidène-β-D-glucopyranoside 246

Le benzylidène **245** (10,92 g, 29,2 mmol) dissous dans du DCM (115 ml) et de la pyridine (60 ml) est agité à 0°C et sous argon. Puis, le chlorure de benzoyle (10,2 mL, 87,5

mmol, 3 eq) est ajouté et le mélange réactionnel est ainsi agité pendant 2h30 et du MeOH (12 ml) est ajouté à 0°C et le milieu est laissé sous agitation 20 min. Le mélange réactionnel est dilué avec du DCM (170 ml) et lavé avec de l'eau (150 ml). La phase aqueuse est extraite avec 70 mL de DCM puis les phases organiques sont rassemblées et lavées avec 170 mL d'une solution saturée de NaHCO₃ puis avec 150 mL d'eau. La phase organique est ensuite séchée sur MgSO₄, filtrée sur coton et concentrée, coévaporée avec du toluène. Le benzylidène benzoylé **246** est obtenu sous l'aspect d'une poudre blanche (14,13 g, 83%).

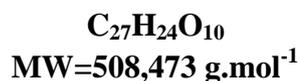
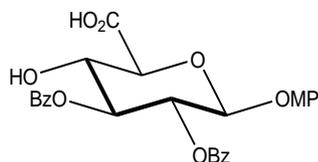
RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃) : δ(ppm) 7,99-7,30 (m, 15H ; Ar(Bz)), 6,95-6,76 (m, 4H ; Ar(MP)), 5,84 (dd, $J_{2,3}=J_{3,4}= 9,5$ Hz, 1H ; H-3), 5,71 (dd, $J_{1,2}= 7,5$ Hz, $J_{2,3}= 9,5$ Hz, 1H ; H-2), 5,58 (s, 1H ; CH-Ph), 5,25 (d, $J_{1,2}= 7,5$ Hz, 1H ; H-1), 4,47 (dd, $J_{5,6a}= 4,5$ Hz, $J_{6a,6b}= 10,0$ Hz, 1H ; H-6a), 4,04 (dd, $J_{3,4}=J_{4,5}= 9,5$ Hz, 1H ; H-4), 3,94 (dd, $J_{5,6b}< 1$ Hz, $J_{6a,6b}= 10,0$ Hz, 1H ; H-6b), 3,81 (ddd, $J_{5,6b}< 1$ Hz, $J_{5,6a}= 4,5$ Hz, $J_{4,5}= 9,5$ Hz, 1H ; H-5), 3,31 (s, 3H ; OCH₃)

4-méthoxyphényl 2,3-di-*O*-benzoyl-β-D-glucopyranoside **247**



Le benzylidène benzoylé **246** (14,12 g, 24,24 mmol) en suspension dans 250 mL d'acide acétique est agité à 100°C jusqu'à ce que la majorité du solide soit dissoute (50 min). Puis, 70 mL d'eau sont ajoutés par palier de 10 mL toutes les 5 minutes. Dès que la solubilisation est totale, le milieu est laissé dans le bain d'huile 40 min puis refroidi à température ambiante. Le milieu est concentré puis coévaporé avec 140 mL d'eau trois fois. Le solide est recristallisé dans l'acétate d'éthyle à chaud. Le diol **247** est obtenu sous la forme d'une poudre blanche (9,90 g, 83%).

Acide(4-méthoxyphényl 2,3-di-*O*-benzoyl-β-D-glucopyranoside)uronique **248**⁵⁶

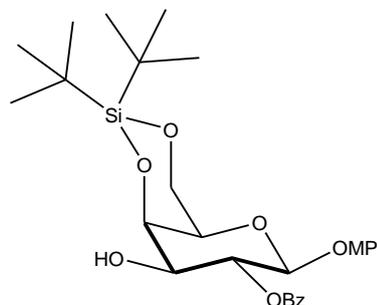


Le diol **247** (6,04 g, 12,21 mmol) en suspension dans 60 mL de DCM et 30 mL d'eau est agité fortement à température ambiante. Puis, le TEMPO (0,381 g, 2,44 mmol, 0,2 eq) et le BAIB (9,83 g, 30,53 mmol, 2,5 eq) sont ajoutés et le mélange réactionnel est agité pendant 35 min. Puis, 40 mL d'une solution saturée de Na₂S₂O₃ sont ajoutés. Le milieu est décanté et la phase aqueuse est réextraite avec 40 mL de DCM. Les phases organiques réunies sont lavées avec une solution de NaCl saturée puis avec de l'eau et séchées sur MgSO₄. Elles

sont ensuite filtrées et concentrées. Le produit obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (DCM/MeOH : 16/1 puis 9/1). L'acide **248** est obtenu pur sous l'aspect d'une mousse verte (3,78 g, 61%).

4-Méthoxyphényl *O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-di-*tert*-butylsilylène)- β -D-galactopyranoside

249 Erreur ! Signet non défini.



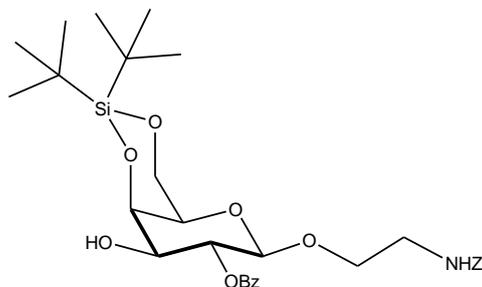
$C_{28}H_{38}O_8Si$
MW = 530,682 g.mol⁻¹

Au triol **263** (4,81 g, 12,3 mmol) et au 2,6-lutidine (3,95 ml, 34,4 mmol, 2,8 eq) en suspension dans le DCM anhydre (45 ml) à 0°C et sous argon est ajouté le DTBSDiOTf (5 ml, 14,7 mmol). Le mélange réactionnel est agité pendant 90 min à 0°C, puis lavé successivement avec de l'eau, du HCl 5% froid, du NaHCO₃ saturé, de l'eau puis séché sur MgSO₄ et concentré sous pression réduite. Le produit brut est ensuite purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (EP/AcOEt : 5/2) pour donner le produit pur sous la forme d'une mousse blanche (5,8 g, 89%).

$[\alpha]_D^{20} = +4$ ($c = 1$, CHCl₃)

RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz): δ (ppm) 8.01–6.74 (m, 9H, Ar-*H*), 5.59 (dd, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 10.0$ Hz, H-2), 4.97 (d, 1H, H-1), 4.50 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz; H-4), 4.34–4.30 (m, 2H; H-6a, H-6b), 3.80 (ddd, 1H, $J_{3,OH} = 11.5$ Hz; H-3), 3.58 (s, 3H; OCH₃), 4.59 (d, 1H; H-5), 2.76 (d, 1H; OH), 1.15, 1.05 (2s, 18H; C(CH₃)₃).

2-Benzyloxycarbonylaminoéthyl 2-*O*-benzoyl-4,6-di-*tert*-butylsilylène- β -D-galactopyranoside **250**⁶³



$C_{31}H_{43}NO_9Si$
MW = 601,76 g.mol⁻¹

Au triol **264** (1,37 g, 2,97 mmol) et à la *Sym*-collidine (0,99 ml, 7,43 mmol, 2,5 eq) en suspension dans le DCM anhydre (10 ml) à 0°C et sous argon est ajouté le DTBSDiOTf (1,15

ml, 3,56 mmol, 1,2 eq). Le mélange réactionnel est agité pendant 90 min à 0°C, puis lavé successivement avec de l'eau, du HCl 5% froid, du NaHCO₃ saturé, de l'eau puis séché sur MgSO₄ et concentré sous pression réduite. Le produit brut est ensuite purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (EP/AcOEt : 2/1 avec 0,1% de Et₃N) pour donner le produit pur sous la forme d'une mousse blanche (1,23 g, 69%).

$$[\alpha]_D^{20} = +10 \text{ (} c = 1, \text{CHCl}_3 \text{)}$$

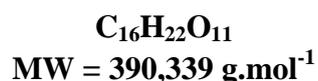
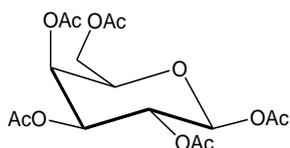
ES-SM: m/z 624 [M+Na]⁺

Analyses élémentaires: Calculée pour C₃₁H₄₃NO₉Si: C, 61.87; H, 7.20; N, 2.33, trouvée: C, 61.65; H, 7.11; N, 2.21.

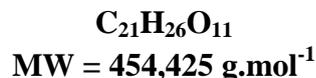
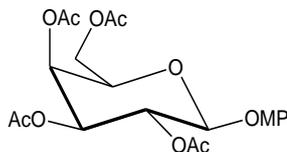
RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) 8.10–7.20 (m, 10H, Ar-H), 5.34 (dd, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 11.0$ Hz, H-2), 5.21 (s, 1H, NH), 5.02 (ABq, 2H, CH₂-Ar), 4.54 (d, 1H, H-1), 4.45 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.5$ Hz, $J_{4,5} = 0.8$ Hz, H-4), 4.28 (m, 2H, H-6a,6b), 3.85 (m, 1H, OCH₂), 3.74–3.68 (m, 2H, H-3, OCH₂), 3.50 (m, 1H, H-5), 3.36–3.30 (m, 2H, CH₂N), 2.68 (d, 1H, $J_{3,OH} = 3.5$ Hz, HO-3), 1.09, 1.06 (2s, 18H, C(CH₃)₃).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ (ppm) 166.25 (1C ; C=O), 156.35 (1C ; NHC(O)O), 136.60, 133.11, 129.80, 129.74, 128.38, 128.35, 127.89, 127.85 (12C ; Ar-C), 101.17 (1C ; C-1), 72.87, 72.72 (3C ; C-2, C-3, C-4), 71.46 (1C ; C-5), 69.17 (1C ; OCH₂), 66.69, 66.45 (2C ; C-6, CH₂-Ar), 40.96 (1C ; NCH₂), 27.44, 27.33 (6C ; 2 x C(CH₃)₃), 23.35, 20.76 (2C ; 2 x C(CH₃)₃).

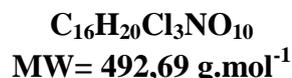
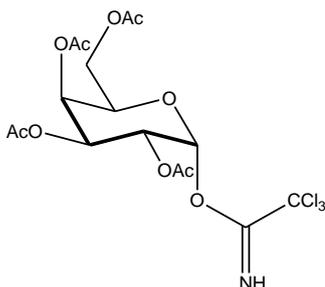
1,2,3,4,5-Penta-O-acétyl-β-D-galactopyranose 251 Erreur ! Signet non défini.



Le D-galactose (40 g, 222 mmol) et l'acétate de sodium anhydre (32 g, 390 mmol, 1,76 mmol) sont mis en suspension dans l'anhydride acétique (250 ml). Le mélange réactionnel est ainsi chauffé à 100°C pendant 30 min puis refroidi à TA avant d'être versé dans un mélange d'eau et de glace (1,5 l) et agité à 0°C pendant 2h. Le précipité formé est filtré, rincé à l'eau et recristallisé dans l'EtOH à chaud et séché sur P₂O₅ pour donner le produit pur sous la forme d'un solide blanc (35,5 g, 41%).

4-Méthoxyphényl (2,3,4,6-tétra-O-acétyl)- β -D-galactopyranoside 252 Erreur ! Signet non défini.

Le pentacétate **251** (35,5 g, 91 mmol) et le 4-méthoxyphénol (22,5 g, 182 mmol, 2 eq) sont mis en solution dans le DCM anhydre (270 ml) en présence de tamis moléculaire activé. Le mélange réactionnel est agité à TA et sous argon pendant 45 min, puis refroidi à 0°C. Le TMSOTf (4,4 ml, 22,7 mmol, 0,25 eq) est alors ajouté et le mélange réactionnel agité pendant 3h à 0°C puis l'excès de réactif est neutralisé avec la Et₃N (6,3 ml, 45,4 mmol). Le tamis est filtré, rincé avec du DCM, le filtrat est lavé avec du NaOH 1M (2 fois), du NaCl saturé, de l'eau, puis séché et concentré sous pression réduite. Le résidu est cristallisé dans l'isopropanol à chaud pour donner le produit pur sous la forme de cristaux blancs (33,54 g, 81%).

2,3,4,6-Tétra-O-acétyl-1-O-trichloroacétimidoyl- α -D-galactopyranose 253⁷⁶

Au pentacétate **251** (38,37 g, 97,5 mmol) dissous dans le DMF anhydre (380 ml) est ajoutée l'acétate d'hydrazine (13,56 g, 146,5 mmol, 1,5 eq). Le mélange réactionnel est agité à TA et sous argon pendant 45 min, puis versé dans l'eau glacée. La phase aqueuse est extraite avec de l'AcOEt (3 x 200 ml), les phases organiques sont lavées successivement avec du NaCl saturé, de l'eau puis séchées et concentrées pour donner une mousse brune (29,6 g, 86%).

L'hémiacétal obtenu (29,6 g, 85 mmol) est dissous dans le DCM anhydre (250 ml) à TA et sous argon. Le Cl₃C-CN (85 ml, 850 mmol, 10 eq) puis la DBU (2,56 ml, 17 mmol, 0,2 eq) sont ajoutés successivement. Le mélange réactionnel est ainsi agité pendant 30 min puis concentré et purifié immédiatement après par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (EP/AcOEt : 3/2 avec 0,1 % Et₃N). Le produit est obtenu pur sous la forme d'une mousse blanchâtre (37,93 g, 90 %).

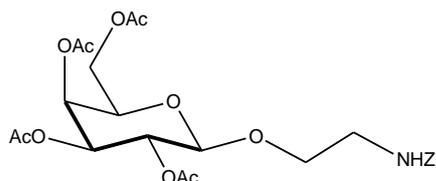
RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) 8.65 (s, 1H ; NH), 6.60 (d, 1H, $J_{1,2}$ = 3.5 Hz ; H-1), 5.56 (dd, 1H, $J_{3,4}$ = 3.0 Hz, $J_{4,5}$ <1 Hz, H-4), 5.43 (dd, 1H, $J_{2,3}$ = 11.0 Hz, H-3), 5.36 (dd, 1H,

⁷⁶ Schmidt R. R.; Stumpp R. *Liebigs Ann. Chem.* **1983**, 1249-1256

H-2), 4.44 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 6.5$ Hz, $J_{5,6b} = 7.0$ Hz ; Hz H-5), 4.16 (dd, 1H, $J_{6a,6b} = 11.0$ Hz ; H-6a), 4.08 (dd, 1H ; H-6b), 2.17, 2.03, 2.02, 2.01 (4s, 12H, OCOCH₃).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ (ppm) 170.24, 170.05, 170.02, 169.92 (5C ; C=O, C=N), 93.51 (1C ; C-1), 90.75 (1C ; CCl₃), 68.97 (1C ; C-5), 67.48, 67.35, 66.88 (3C ; C-2, C-3, C-4), 61.23 (C-6), 20.63, 20.60, 20.57, 20.52 (4C ; OCOCH₃).

2-Benzyloxycarbonylaminoéthyl 2,3,4,6-tétra-O-acétyl- β -D-galactopyranoside **254**⁶³



C₂₄H₃₁NO₁₂
MW = 525,507 g.mol⁻¹

L'imidate **253** (4.93 g, 10 mmol), le 2-benzyloxycarbonylaminoéthanol (3.12 g, 16 mmol) et du tamis moléculaire 4 Å dans du CH₂Cl₂ anhydre (50 ml) sont mélangés à 0 °C sous argon pendant 45 min. Puis, une solution de Me₃SiOTf dans le toluène anhydre (1 M, 1.6 ml) a été ajoutée, et le mélange a été agité pendant 30 min à 0 °C. La triéthylamine (1 ml) a été ajoutée, et le mélange réactionnel a été filtré, concentré, puis purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (EP/AcOEt : 1/1 avec 0.1% de Et₃N) pour donner **254** sous la forme d'une mousse blanchâtre (4.79 g, 91%).

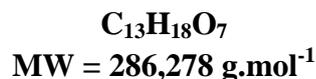
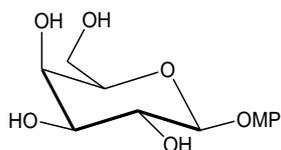
$[\alpha]_D^{20} = -3$ ($c=1$, CHCl₃)

HRMS : m/z : calculée pour C₂₄H₃₂NO₁₂ ([M+H]⁺) : 526,191902 ; trouvée : 526,191810, calculée pour C₂₄H₃₅N₂O₁₂ ([M+NH₄]⁺) : 543,218451, trouvée : 543,217988, calculée pour C₂₄H₃₁NNaO₁₂ ([M+Na]⁺) : 548,173846 ; trouvée : 548,173655

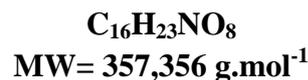
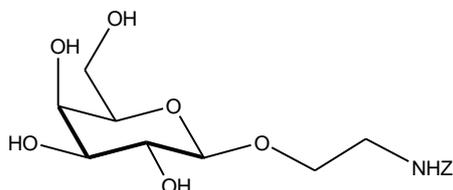
Analyses élémentaires: Calculée pour C₂₄H₃₁NO₁₂: C, 54.85; H, 5.95; N, 2.66 ; trouvée: C, 54.73; H, 5.99; N, 2.49.

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) 7.40–7.30 (m, 5H, Ar-H), 5.38 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.5$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz, H-4), 5.17 (dd, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 11.0$ Hz, H-2), 5.15 (sl, 1H, NH), 5.10 (s, 2H, CH₂-Ar), 4.99 (dd, 1H, H-3), 4.45 (d, 1H, H-1), 4.15–4.10 (m, 2H, H-6a,6b), 3.90 (m, 1H, H-5), 3.88 (m, 1H, OCH₂), 3.68 (m, 1H, OCH₂), 3.40 (m, 2H, CH₂N), 2.16, 2.10, 2.08, 2.07 (4s, 12H, OCOCH₃).

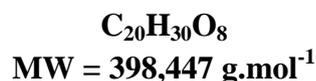
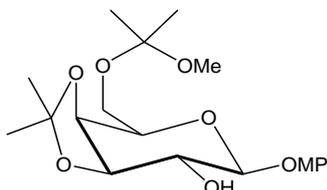
RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ (ppm) 170.29, 170.12, 170.01, 169.52 (5C ; C=O), 156.26 (1C ; NHC(O)O), 136.40, 128.46, 128.10 (6C ; Ar-C), 101.47 (1C ; C-1), 70.73 (1C ; C-3), 70.70 (1C ; OCH₂), 69.38, 68.76 (2C ; C-2, C-5), 66.91 (1C ; C-4), 66.69 (1C ; CH₂-Ar), 61.26 (1C ; C-6), 40.83 (1C ; NCH₂), 20.61, 20.58, 20.50 (4C ; COCH₃).

4-Méthoxyphényl β -D-galactopyranoside 255 ^{Erreur ! Signet non défini.}

Au tétracétate **252** (35,4 g, 73,8 mmol) en suspension dans le MeOH anhydre (330 ml) à TA et sous argon est ajouté une solution de méthanolate de sodium (10 ml). Le mélange réactionnel est ainsi agité pendant 10 h puis, neutralisé avec de la résine Amberlite IR-120 dans le MeOH jusqu'à arriver à pH neutre. La résine est filtrée, rincée avec du MeOH et le filtrat est concentré sous pression réduite et séché sous P_2O_5 et le produit est obtenu sous la forme d'un solide blanc (21,29 g, quantitatif).

2-Benzyloxycarbonylaminoéthyl β -D-galactopyranoside 256 ⁶³

Au tétracétate **254** (8,23 g, 15,7 mmol) en suspension dans le MeOH anhydre (60 ml) à TA et sous argon est ajouté une solution de méthanolate de sodium (2 ml). Le mélange réactionnel est ainsi agité pendant 1 h puis, neutralisé avec de la résine Amberlite IR-120 dans le MeOH jusqu'à arriver à pH neutre. La résine est filtrée, rincée avec du MeOH et le filtrat est concentré sous pression réduite et séché sous P_2O_5 et le produit est obtenu sous la forme d'un solide blanchâtre (5,41 g, 97%).

4-Méthoxyphényl 3,4-O-isopropylidène-6-O-(2-méthoxy-2-propyl)- β -D-galactopyranoside 259 ^{Erreur ! Signet non défini.}

Dans un ballon préalablement purgé sous argon, le tétrol **255** (10 g, 35 mmol) et le CSA (0,4 g, 1,7 mmol, 0,05 eq) sont dissous dans le 2,2-diméthoxypropane (160 ml). Le mélange réactionnel est ainsi agité à TA pendant 48 h. L'excès d'acide est neutralisé avec la Et_3N (2,8 ml) puis le mélange réactionnel est concentré et le résidu est purifié par flash

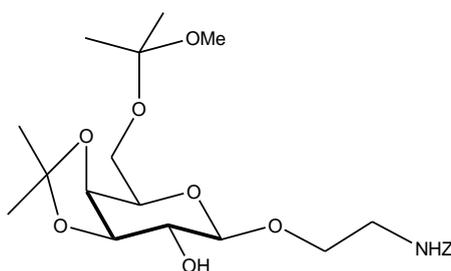
chromatographie sur colonne de gel de silice (DCM/acétone : 12/1 avec 1% Et₃N). Le produit pur est obtenu sous la forme d'un solide blanc (9,12 g, 65%).

Il se forme également le 2,6-diol **257** (2,27 g) qui est recyclé pour former à nouveau le produit tétra-protégé ce qui remonte le rendement à 75%.

Pf= 107-108°C (EP/AcOEt)

$[\alpha]_D^{22} = -29$ ($c = 1$, CHCl₃)

2-Benzyloxycarbonylaminoéthyl 3,4-O-isopropylidène-6-O-(2-méthoxy-2-propyl)- β-D-galactopyranoside 260⁶³

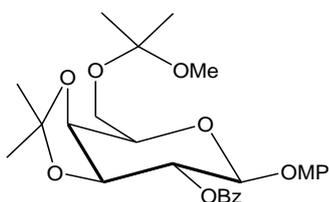


C₂₃H₃₅NO₉
MW = 469,525 g.mol⁻¹

Dans un ballon préalablement purgé sous argon, le tétrol **256** (5,41 g, 15 mmol) et le CSA (0,22 g, 0,95 mmol, 0,05 eq) sont dissous dans le 2,2-diméthoxypropane (110 ml). Le mélange réactionnel est ainsi agité à TA pendant 48 h. L'excès d'acide est neutralisé avec la Et₃N (1,5 ml) puis le mélange réactionnel est concentré et le résidu est purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (EP/AcOEt : 1/3 avec 1% Et₃N). Le produit pur est obtenu sous la forme d'une mousse blanche (4,97 g, 70%).

Il se forme également le 2,6-diol **258** (0,7 g) qui est recyclé pour former à nouveau le produit tétra-protégé et remonter ainsi le rendement à 76%.

4-Méthoxyphényl (2-O-benzoyl-3,4-O-isopropylidène-6-O-(2-méthoxy-2-propyl)-β-D-galactopyranoside 261Erreur ! Signet non défini.



C₂₇H₃₄O₉
MW = 502,553 g.mol⁻¹

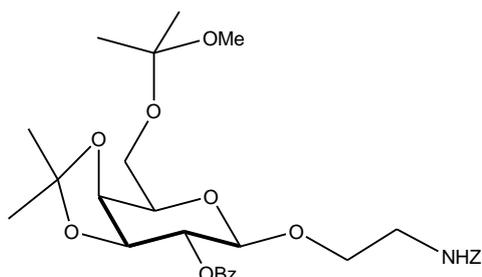
A l'alcool **259** (13,15 g, 33 mmol) dissous dans un mélange DCM/pyridine anhydres (0,75 : 0,25 ; 104 ml) est ajouté goutte à goutte, à 0°C et sous argon le chlorure de benzoyle (6 ml, 53 mmol, 1,6 eq). Le mélange réactionnel est agité pendant 1 h ensuite l'excès d'acide est neutralisé avec du MeOH (2,6 ml) puis le mélange réactionnel est dilué avec du DCM (180 ml), lavé successivement avec de l'eau, du NaHCO₃ saturé, de l'eau, séché sur MgSO₄ puis

concentré. Une recristallisation dans l'EP/AcOEt permet d'obtenir le produit pur (18,5 g, quantitatif).

Pf= 95-96°C (EP/AcOEt)

$[\alpha]_D^{22} = +10$ ($c = 1$, CHCl_3)

2-Benzyloxycarbonylaminoéthyl 2-O-benzoyl-3,4-O-isopropylidène-6-O-(2-méthoxy-2-propyl)-β-D-galactopyranoside 262⁶³



$\text{C}_{30}\text{H}_{39}\text{NO}_{10}$
MW= 573,631 g.mol⁻¹

A l'alcool **260** (4,78 g, 10 mmol) dissous dans un mélange DCM/pyridine anhydres (0,75 : 0,25 ; 14 ml) est ajouté goutte à goutte, à 0°C et sous argon le chlorure de benzoyle (1,6 ml, 16,3 mmol, 1,6 eq). Le mélange réactionnel est agité pendant 1 h ensuite l'excès d'acide est neutralisé avec du MeOH (3 ml) puis le mélange réactionnel est dilué avec du DCM (100 ml), lavé successivement avec de l'eau, du NaHCO_3 saturé, de l'eau, séché sur MgSO_4 puis concentré et purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (EP/AcOEt : 1/3) pour donner le produit pur sous la forme d'une mousse transparente visqueuse (5,09 g, 87%).

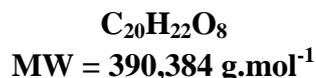
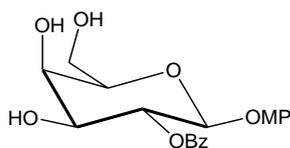
Pf= 117-118°C (EP à chaud)

$[\alpha]_D^{20} = +22$ ($c=1$, CHCl_3)

ES-SM: m/z 596 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

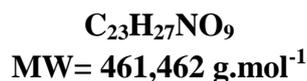
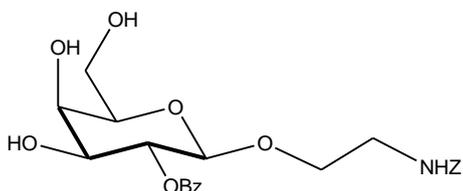
Analyses élémentaires: Calculée pour $\text{C}_{30}\text{H}_{39}\text{NO}_{10}$: C, 62.81; H, 6.85; N, 2.44, trouvée: C, 63.64; H, 6.80; N, 2.47.

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) 8.10–7.20 (m, 10H, Ar-H), 5.51 (s, 1H, NH), 5.21 (dd, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 7.0$ Hz, H-2), 5.02 (ABq, 2H, CH_2 -Ar), 4.47 (d, 1H, H-1), 4.32 (dd, 1H, $J_{3,4} = 5.5$ Hz, H-3), 4.23 (dd, 1H, $J_{4,5} = 2.0$ Hz, H-4), 3.95 (m, 1H, H-5), 3.85 (m, 1H, OCH_2), 3.80–3.70 (m, 3H, H-6a,6b, OCH_2), 3.40–3.30 (m, 2H, CH_2N), 3.19 (s, 3H, OCH_3), 1.62, 1.35, 1.31 (3s, 12H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$).

4-Méthoxyphényl 2-O-benzoyl-β-D-galactopyranoside 263 Erreur ! Signet non défini.

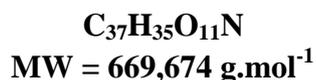
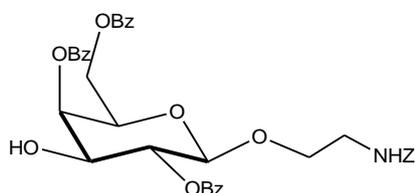
Le monosaccharide **261** (10,90 g, 22 mmol) en suspension dans un mélange AcOH/eau (2 : 1 ; 170 ml) est porté à reflux (100°C) pendant 15 min. Le mélange réactionnel est ensuite refroidi à TA, dilué avec de l'eau puis co-éaporé avec de l'eau. Le résidu est ensuite cristallisé dans l'éthanol à chaud et le produit pur est obtenu sous la forme d'un solide blanc (6,92 g, 82%).

Pf= 176-177°C (EtOH à chaud)

2-Benzyloxycarbonylaminoéthyl 2-O-benzoyl-β-D-galactopyranoside 264⁶³

Le monosaccharide **262** (5,05 g, 8,35 mmol) en suspension dans un mélange TFA/eau (9 : 1 ; 23 ml) est agité à TA pendant 10 min. Le mélange réactionnel est ensuite dilué avec de l'eau puis co-éaporé avec de l'eau 3 fois. Le résidu est ensuite cristallisé dans l'AcOEt en chauffant légèrement et le produit pur est obtenu sous la forme d'un solide crème (3,75 g, 70%).

Analyse élémentaire: Calculée pour $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{NO}_9$: C, 59.86; H, 5.90; N, 3.04, trouvée: C, 59.50; H, 5.88; N, 2.90.

2-Benzyloxycarbonylaminoéthyl 2,4,6-tri-O-benzoyl-β-D-galactopyranoside 287⁶³

Au monosaccharide **296** (320 mg, 0,42 mmol) dissous dans la pyridine (3,2 ml) est ajouté un mélange de pyridine-acide acétique-hydrazine monohydrate (12 : 8 : 1, 8,7 ml). Le mélange réactionnel est agité à TA et sous argon pendant 8 min puis dilué avec du DCM. La phase aqueuse est extraite avec du DCM (2 x 15 ml), les phases organiques sont lavées successivement avec de l'eau, du NaHCO_3 saturé, et de l'eau puis séchées sur MgSO_4 et co-

éaporées au toluène. Le résidu est purifié sur colonne de gel de silice (EP/AcOEt : 3/2). Le produit est obtenu pur sous la forme d'une mousse blanche (263 mg, 94%).

$$[\alpha]_D^{20} = +13,5 \text{ (} c=1, \text{CHCl}_3 \text{)}$$

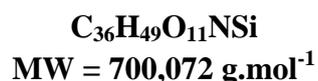
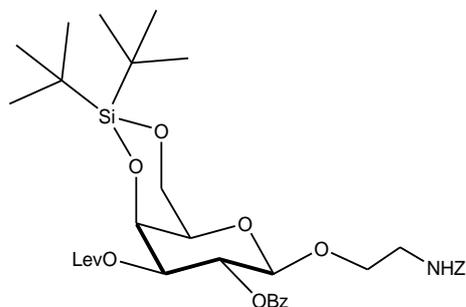
HRMS : m/z : calculée pour $\text{C}_{37}\text{H}_{36}\text{O}_{11}\text{N}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$): 670,22829 ; trouvée : 670,22879, calculée pour $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$: 687,25484, trouvée : 687,25495, calculée pour $\text{C}_{37}\text{H}_{35}\text{O}_{11}\text{NNa}$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$): 692,21023 ; trouvée : 692,21062

Analyse élémentaire calculée pour $\text{C}_{37}\text{H}_{35}\text{O}_{11}\text{N}$: C, 66.36; H, 5.27; N, 2.09; trouvée : C, 65.55 ; H, 5.37 ; N, 2.07

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 8.16-7.29 (m, 20H ; Ar-H), 5.76 (dd, 1H, $J_{3,4}= 3.0$ Hz, $J_{4,5}<1\text{Hz}$; H-4), 5.34 (dd, 1H, $J_{1,2}= 8.0$ Hz, $J_{2,3}= 10.0$ Hz ; H-2), 5.15 (sl, 1H ; NH), 4.98 (ABq, 2H ; CH_2Ar), 4.69 (d, 1H ; H-1), 4.56 (dd, 1H, $J_{5,6a}= 7.0$ Hz, $J_{6a,6b}= 12.0$ Hz ; H-6a), 4.44 (dd, 1H, $J_{5,6b}= 6.0$ Hz ; H-6b), 4.16-4.09 (m, 2H ; H-3, H-5), 3.98-3.93 (m, 1H ; OCH_2), 3.76-3.71 (m, 1H ; OCH_2), 3.46-3.30 (m, 2H ; NCH_2), 2.70 (d, 1H, $J_{3,\text{OH}}= 6.0$ Hz ; HO-3).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 166.43, 166.10, 163.66 (3C ; C=O), 156.26 (1C ; NHC(O)O), 136.30, 133.17, 129.91, 129.64, 129.55, 129.25, 129.15, 128.87, 128.44, 128.31, 127.88, 127.82 (20C ; Ar-C), 101.34 (1C ; C-1), 73.07 (1C ; C-2), 71.38, 71.09 (2C ; C-3, C-5), 70.43 (1C ; C-4), 69.17 (1C ; OCH_2), 66.43 (1C ; $\text{CH}_2\text{-Ar}$), 62.34 (1C ; C-6), 40.67 (1C ; NCH_2).

2-Benzyloxycarbonylaminoéthyl 2-O-benzoyl-3-O-levulinoyl-4,6-di-*tert*-butylsilylène- β -D-galactopyranoside 294⁶³



Le composé **250** (1 g, 1,66 mmol), l'acide lévulinique (0,312 g, 2,7 mmol, 1,6 eq) et la DMAP (0,04 g, 0,28 mmol, 0,17 eq) en suspension dans le DCM anhydre (10 ml) sont agités à TA et sous argon. La DCC (0,55 g, 2,7 mmol, 1,6 eq) est ensuite ajoutée au mélange réactionnel qui est ainsi agité pendant 3h. La DCU formée est filtrée sur Büchner, rincée avec du DCM (20 ml). Le filtrat est lavé successivement avec du HCl 1M froid, du NaHCO_3 saturé et de l'eau, puis séché sur MgSO_4 et concentré sous pression réduite. Le produit brut est purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (EP/AcOEt : 2/1) pour donner le produit pur sous la forme d'une mousse blanche visqueuse (1,09 g, 94%).

$$[\alpha]_D^{20} = +32 \text{ (} c=1, \text{CHCl}_3 \text{)}$$

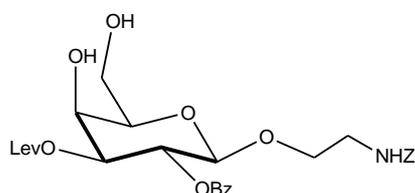
HRMS : m/z : calculée pour $C_{36}H_{50}O_{11}NSi$ ($[M+H]^+$) : 700,31476 ; trouvée : 700,31471, calculée pour $C_{36}H_{49}O_{11}NNaSi$ ($[M+Na]^+$) : 722,29671 ; trouvée : 722,29699

Analyse élémentaire calculée pour $C_{36}H_{49}O_{11}NSi$: C, 61.78; H, 7.06; N, 2.00; trouvée : C, 61.28 ; H, 7.15 ; N, 2.09

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) : δ (ppm) 8.01-7.31 (m, 10H ; Ar-H), 5.62 (dd, 1H, $J_{1,2}= 8.0$ Hz, $J_{2,3}= 10.0$ Hz ; H-2), 5.21 (sl, 1H ; NH), 5.01 (ABq, 2H ; CH_2Ar), 4.94 (dd, 1H, $J_{2,3}= 11.0$ Hz, $J_{3,4}= 3.0$ Hz ; H-3), 4.66 (dd, 1H ; H-4), 4.57 (d, 1H ; H-1), 4.29-4.23 (m, 2H ; H-6a, H-6b), 3.86-3.82 (m, 1H ; OCH_2), 3.71-3.32 (m, 1H ; OCH_2), 3.54-3.52 (m, 1H ; H-5), 3.35-3.31 (m, 2H ; NCH_2), 2.59-2.55 (m, 4H ; CH_2CO), 2.04 (s, 3H ; $COCH_3$), 1.10, 1.04 (2s, 18H ; 2 x $C(CH_3)_3$).

RMN ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) : δ (ppm) 205.81 (1C ; $COCH_3$), 172.15, 165.43 (2C ; C=O), 156.36 (1C ; $NHC(O)O$), 136.63, 133.24, 129.73, 129.51, 128.45, 128.39, 127.89, 127.84 (12C ; Ar-C), 101.46 (1C ; C-1), 73.78 (1C ; C-3), 71.31 (1C ; C-5), 70.25 (1C ; C-4), 69.27 (1C ; OCH_2), 69.11 (1C ; C-2), 66.73 (1C ; C-6), 66.45 (1C ; CH_2-Ar), 40.96 (1C ; NCH_2), 37.77 (1C ; CH_2CO), 29.58 (1C ; $COCH_3$), 28.19 (1C ; CH_2CO), 27.47, 27.31 (6C ; 2 x $C(CH_3)_3$), 23.29, 20.73 (2C ; 2 x $C(CH_3)_3$).

2-Benzoyloxycarbonylaminoéthyl 2-O-benzoyl-3-O-levulinoyl- β -D-galactopyranoside **295**⁶³



$C_{28}H_{33}O_{11}N$
MW = 559.562 g.mol⁻¹

Au silylène acétal **294** (1,07 g, 1,53 mmol) dissous dans le THF anhydre (10 ml) à 0°C et sous argon, est ajoutée la $Et_3N \cdot 3HF$ (0,60 ml, 3,7 mmol, 2,4 eq). Le mélange réactionnel est agité à 0°C pendant 1h. Le THF est ensuite concentré sous pression réduite et le résidu dilué avec du DCM. La phase organique est lavée successivement avec de l'eau, du $NaHCO_3$ saturé et de l'eau, séchée sur $MgSO_4$ et concentrée sous pression réduite. Le résidu est purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (DCM/MeOH : 15/1) pour donner le produit pur sous la forme d'une mousse blanche visqueuse (0,83 g, 96 %).

$[\alpha]_D^{20} = +19$ ($c=1,02$, $CHCl_3$)

HRMS : m/z : calculée pour $C_{28}H_{34}O_{11}N$ ($[M+H]^+$) : 560,21264 ; trouvée : 560,21235, calculée pour $C_{28}H_{33}O_{11}NNa$ ($[M+Na]^+$) : 582,19458 ; trouvée : 582,19412

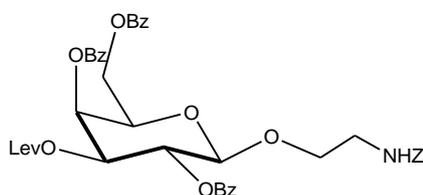
Analyse élémentaire calculée pour $C_{28}H_{33}O_{11}N$: C, 60.10; H, 5.94; N, 2.50; trouvée : C, 58.78 ; H, 6.27 ; N, 2.50

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) : δ (ppm) 8.01-7.31 (m, 10H ; Ar-H), 5.57 (dd, 1H, $J_{1,2}=8.0$ Hz, $J_{2,3}= 9.0$ Hz ; H-2), 5.36 (m, 1H ; NH), 5.05-4.95 (m, 3H ; H-3, CH_2Ar), 4.60 (d, 1H ; H-

1), 4.24 (m, 1H ; H-4), 4.04-3.98 (m, 1H ; H-6a), 3.87-3.84 (m, 2H ; H-6b, OCH₂), 3.75-3.73 (m, 1H ; OCH₂), 3.68-3.66 (m, 1H ; H-5), 3.35-3.26 (m, 3H ; HO-4, NCH₂), 2.70-2.69 (m, 2H ; CH₂CO), 2.56-2.39 (m, 2H ; CH₂CO), 2.12 (s, 3H ; COCH₃).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 208.02 (1C ; COCH₃), 171.96, 164.45 (2C ; C=O), 156.38 (1C ; NHC(O)O), 133.29, 129.76, 128.45, 128.01 (12C ; Ar-C), 101.72 (1C ; C-1), 74.51 (1C ; C-5), 74.04 (1C ; C-3), 69.57 (1C ; C-2), 69.35 (1C ; OCH₂), 67.42 (1C ; C-4), 66.57 (1C ; CH₂-Ar), 62.33 (1C ; C-6), 41.01 (1C ; NCH₂), 38.20 (1C ; CH₂CO), 29.64 (1C ; COCH₃), 28.19 (1C ; CH₂CO).

2-Benzyloxycarbonylaminoéthyl 3-O-levulinoyl-2,4,6-tri-O-benzoyl -β-D-galactopyranoside **296**⁶³



C₄₂H₄₂O₁₃N
MW = 767,774 g.mol⁻¹

Un mélange de diol **295** (284 mg, 0,51 mmol) et de chlorure de benzoyle (235 μl, 2,04 mmol, 4 eq) dans le DCM et la pyridine anhydres (1 : 1, 6 ml), est agité à 0°C et sous argon pendant 1h. Du MeOH (1 ml) est ajouté à 0°C et le mélange réactionnel est agité pendant 15 min sous argon, puis dilué avec du DCM, lavé successivement avec de l'eau, du NaHCO₃ saturé et de l'eau. La phase organique est séchée sur MgSO₄ et concentrée. Le résidu est purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (EP/AcOEt : 3/2). Le produit pur est obtenu sous la forme d'une mousse blanche visqueuse (366 mg, 94%).

$[\alpha]_D^{20} = +24$ (c=1, CHCl₃)

HRMS : *m/z* : calculée pour C₄₂H₄₃O₁₃N ([M+H]⁺): 768,26507 ; trouvée : 768,26602, calculée pour [M+NH₄]⁺: 785,29162, trouvée : 785,29278, calculée pour C₄₂H₄₂O₁₃NNa ([M+Na]⁺): 790,24701 ; trouvée : 790,24792

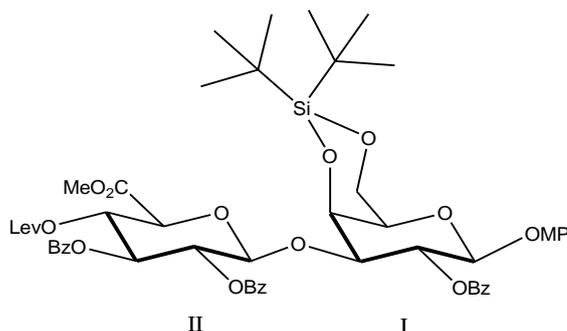
Analyse élémentaire calculée pour C₄₂H₄₂O₁₃N: C, 65.70; H, 5.38; N, 1.82; trouvée : C, 65.21 ; H, 5.51 ; N, 1.74

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 8.15-7.28 (m, 20H ; Ar-H), 5.82 (dd, 1H, *J*_{3,4}= 3.0 Hz, *J*_{4,5}<1Hz ; H-4), 5.56 (dd, 1H, *J*_{1,2}=7.5 Hz, *J*_{2,3}= 10.0 Hz ; H-2), 4.35 (dd, 1H ; H-3), 5.14 (sl, 1H ; NH), 4.97 (ABq, 2H ; CH₂Ar), 4.71 (d, 1H ; H-1), 4.39 (dd, 1H, *J*_{5,6a}= 7.0 Hz, *J*_{6a,6b}= 12.0 Hz ; H-6a), 4.39 (dd, 1H, *J*_{5,6b}= 6.5 Hz ; H-6b), 4.21 (dd, 1H ; H-5), 3.97-3.93 (m, 1H ; OCH₂), 3.73-3.68 (m, 1H ; OCH₂), 3.46-3.30 (m, 2H ; NCH₂), 2.62-2.31 (m, 4H ; CH₂CO), 1.92 (s, 3H ; COCH₃).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : δ 205.70 (1C ; COCH₃), 171.72, 165.97, 165.64, 165.41 (5C ; C=O), 156.29 (1C ; NHC(O)O), 133.72, 133.41, 133.37, 133.32, 130.06, 130.02, 129.77, 129.72, 128.69, 128.69, 128.46, 128.06, 128.03 (20C ; Ar-C), 101.79 (1C ; C-1), 71.35(1C ;

C-3), 71.09 (1C ; C-5), 69.58 (1C ; C-2), 69.48 (1C ; OCH₂), 67.87 (1C ; C-4), 66.57 (1C; CH₂-Ar), 61.99 (1C ; C-6), 40.85 (1C; NCH₂), 37.68 (1C; CH₂CO), 29.38 (1C; COCH₃), 27.88 (1C; CH₂CO).

4-Méthoxyphényl *O*-(Méthyl 2,3-di-*O*-benzoyl-4-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyluronate)-(1→3)-2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-di-*tert*-butylsilylène-β-D-galactopyranoside 265⁶³



C₅₄H₆₂O₁₈Si
MW = 1027,145 g.mol⁻¹

Une solution d'alcool **249** (265 mg, 0,5 mmol), d'imidate **227** (428 mg, 0,65 mmol, 1.3 eq) et de tamis moléculaire 4Å activé, dans le CH₂Cl₂ anhydre (6 ml) est agitée à TA, sous argon pendant 40 min, le TMSOTf 1M dans le toluène (0,12 ml, 0,12 mmol, 0.18 eq/imidate) est ajouté et le mélange réactionnel est agité pendant 40 min, puis de la triéthylamine (0,14 ml, 1 mmol) est ajoutée au mélange réactionnel. Après 5 min, le tamis est filtré puis rincé au DCM et le filtrat est concentré puis purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (EP/AcOEt : 2 / 1 avec 0,1 % Et₃N). Le produit est obtenu pur sous la forme d'une mousse blanchâtre (430 mg, 85%).

$[\alpha]_D^{20} = +66,5$ (c=1, CHCl₃)

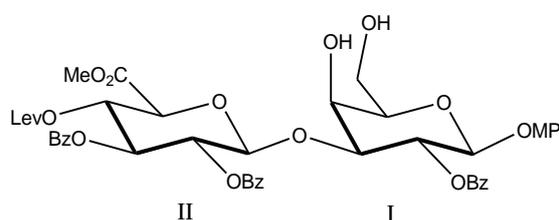
HRMS : *m/z* : calculée pour C₅₄H₆₃O₁₈Si ([M+H]⁺): 1027,37782 ; trouvée : 1027,37759, calculée pour C₅₄H₆₆O₁₈NSi ([M+NH₄]⁺): 1044,40437, trouvée : 1044,40504, calculée pour C₅₄H₆₂O₁₈NaSi ([M+Na]⁺): 1049,35976 ; trouvée : 1049,36040

Analyse élémentaire calculée pour C₅₄H₆₂O₁₈Si : C, 63.14; H, 6.08; trouvée : C, 63,24 ; H, 6,60

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 7.85-6.67 (m, 19H ; Ar-*H*), 5.76 (dd, 1H, *J*_{1,2}= 8.00 Hz, *J*_{2,3}= 10.0 Hz ; H-2^I), 5.55 (dd, 1H, *J*_{2,3}= *J*_{3,4}= 9.0 Hz ; H-3^{II}), 5.49-5.42 (m, 2H ; H-2^{II}, H-4^{II}), 5.08 (d, 1H, *J*_{1,2}= 8.0 Hz ; H-1^{II}), 4.87 (d, 1H ; H-1^I), 4.72 (dd, 1H, *J*_{3,4}= 3.0 Hz, *J*_{4,5}<1Hz ; H-4^I), 4.29-4.27 (m, 2H ; H-6a^I, H-6b^I), 4.15 (d, 1H, *J*_{4,5}= 10.0 Hz ; H-5^{II}), 3.99 (dd, 1H ; H-3^I), 3.77 (s, 3H ; COOCH₃), 3.70 (s, 3H ; OCH₃), 3.53 (s, 1H ; H-5^I), 2.63-2.46 (m, 3H ; CH₂CO), 2.39-2.32 (m, 1H ; CH₂CO), 2.04 (s, 3H ; COCH₃), 1.08, 1.07 (2s, 18H ; 2 x C(CH₃)₃).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 205.60 (1C ; COCH_3), 171.02, 167.00, 165.53, 164.67, 164.61 (5C ; C-6^{II}, C=O), 155.49, 151.44, 133.31, 132.77, 132.69, 129.78, 129.56, 129.51, 129.43, 128.81, 128.68, 128.29, 128.23, 127.96, 119.56, 114.22 (24C ; Ar-C), 101.1 (1C ; C-1^I), 101.36 (1C ; C-1^{II}), 79.46 (1C ; C-3^I), 72.84 (1C ; C-5^{II}), 72.62 (1C ; C-4^I), 72.35 (1C ; C-3^{II}), 71.68 (1C ; C-2^{II}), 71.52 (1C ; C-5^I), 70.66 (1C ; C-2^I), 69.61 (1C ; C-4^{II}), 66.87 (1C ; C-6^I), 55.51 (1C ; OCH_3), 52.96 (1C ; COOCH_3), 37.58 (1C ; CH_2CO), 29.52 (1C ; COCH_3), 27.64 (1C ; CH_2CO), 27.43, 27.38, 27.28, 27.20 (6C ; 2 x $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 23.34, 20.70 (2C ; 2 x $\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

4-Méthoxyphényl *O*-(Méthyl 2,3-di-*O*-benzoyl-4-*O*-levulinoyl- β -D-glucopyranosyluronate)-(1 \rightarrow 3)-2-*O*-benzoyl- β -D-galactopyranoside **266⁶³**



$\text{C}_{46}\text{H}_{46}\text{O}_{18}$
MW = 886,847 g.mol⁻¹

Au silylène acétal **265** (3,19 g, 3,11 mmol) dissous dans le THF anhydre (35 ml) à 0°C et sous argon, est ajoutée la $\text{Et}_3\text{N}\cdot 3\text{HF}$ (1,12 ml, 6,84 mmol, 2,2 eq). Le mélange réactionnel est agité de 0°C à TA pendant 3h. Le THF est ensuite concentré sous pression réduite et le résidu dilué avec du DCM. La phase organique est lavée successivement avec de l'eau, du NaHCO_3 saturé, de l'eau, séchée sur MgSO_4 et concentrée sous pression réduite. Le résidu est purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (DCM/MeOH : 19/1) pour donner le produit pur sous la forme d'un solide visqueux blanchâtre (2,29 g, 83 %).

Pf = 215-216°C (Ethanol à chaud)

$[\alpha]_D^{20} = +66$ ($c=1$, CHCl_3)

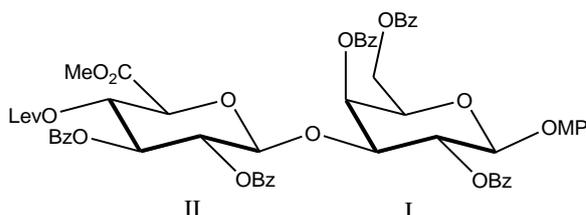
HRMS : m/z : calculée pour $\text{C}_{46}\text{H}_{50}\text{O}_{18}\text{N}$ ($[\text{M}+\text{NH}_4]^+$) : 904,30224, trouvée : 904,30249, calculée pour $\text{C}_{46}\text{H}_{46}\text{O}_{18}\text{Na}$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$) : 909,25764 ; trouvée : 909,25813

Analyse élémentaire calculée pour $\text{C}_{46}\text{H}_{46}\text{O}_{18}$: C, 62.30; H, 5.23; trouvée : C, 61,24 ; H, 5.60

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 7.82-6.68 (m, 19H ; Ar-H), 5.68 (dd, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 10.0$ Hz ; H-2^I), 5.61 (dd, 1H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.0$ Hz ; H-3^{II}), 5.45 (dd, 1H, $J_{4,5} = 10.0$ Hz ; H-4^{II}), 5.41 (dd, 1H, $J_{1,2} = 7.0$ Hz ; H-2^{II}), 5.02 (d, 1H ; H-1^{II}), 4.95 (d, 1H ; H-1^I), 4.30-4.28 (m, 1H ; H-4^I), 4.26 (d, 1H ; H-5^{II}), 4.11-4.09 (m, 1H ; H-5^I), 4.05 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz ; H-3^I), 3.92-3.88 (m, 1H ; H-6a^I), 3.79 (s, 3H ; COOCH_3), 3.78-3.74 (m, 1H ; H-6b^I), 3.69 (s, 3H ; OCH_3), 3.26 (s, 1H ; HO-4), 2.66-2.48 (m, 3H ; CH_2CO), 2.41-2.33 (m, 2H ; HO-6, CH_2CO), 2.03 (s, 3H ; COCH_3).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 206.41 (1C ; COCH_3), 171.11, 167.38, 165.23, 164.83, 164.75 (5C ; C-6^{II}, C=O), 154.85, 151.00, 133.03, 132.55, 132.41, 129.09, 128.90, 128.83, 128.62, 128.00, 127.85, 127.72, 127.59, 117.95, 113.81 (24C ; Ar-C), 101.15 (1C; C-1^{II}), 100.87 (1C ; C-1^I), 80.92 (1C ; C-3^I), 74.75 (1C; C-5^I), 71.69, 71.46 (2C; C-2^I, C-4^I), 71.07 (1C; C-4^{II}), 70.36 (1C ; C-3^{II}), 69.09 (1C; C-2^{II}), 67.95 (1C; C-5^{II}), 60.60 (1C; C-6^I), 47.75 (1C; OCH_3), 47.54 (1C; COOCH_3), 36.86 (1C; CH_2CO), 28.56 (1C; COCH_3), 27.08 (1C; CH_2CO).

4- Méthoxyphényl *O*-(Méthyl 2,3-di-*O*-benzoyl-4-*O*-levulinoyl- β -D-glucopyranosyluronate)-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-tri-*O*-benzoyl - β -D-galactopyranoside 267⁶³



$\text{C}_{60}\text{H}_{54}\text{O}_{20}$
MW= 1095,059 g.mol⁻¹

Un mélange de diol **266** (0,56 g, 0,63 mmol) et de chlorure de benzoyle (0,29 ml, 2,5 mmol, 4 eq) dans le DCM et la pyridine anhydres (1 : 1 ; 10 ml), est agité à 0°C et sous argon pendant 2h. Du MeOH (1 ml) est ajouté à 0°C et le mélange réactionnel est agité pendant 15 min sous argon, puis dilué avec du CH_2Cl_2 , lavé successivement avec de l'eau, du NaHCO_3 saturé, de l'eau. La phase organique est séchée sur MgSO_4 et concentrée. Le résidu est purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (EP/AcOEt : 1/1). Le produit pur est obtenu sous la forme d'une mousse blanche (0,59 g, 86%).

Pf = 183-184°C (EP/AcOEt)

$[\alpha]_D^{20} = +83,5$ ($c=1$, CHCl_3)

HRMS : m/z : calculée pour $\text{C}_{60}\text{H}_{55}\text{O}_{20}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$): 1095,32812 ; trouvée : 1095,32863, calculée pour $\text{C}_{60}\text{H}_{58}\text{O}_{20}\text{N}$ ($[\text{M}+\text{NH}_4]^+$): 1112,35467, trouvée : 1112,35528, calculée pour $\text{C}_{60}\text{H}_{54}\text{O}_{20}\text{Na}$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$): 1117,31007 ; trouvée : 1117,31109

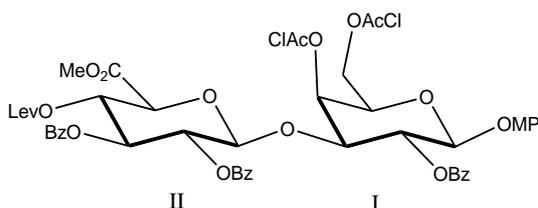
Analyse élémentaire calculée pour $\text{C}_{60}\text{H}_{54}\text{O}_{20}$: C, 65,81; H, 4,97; trouvée : C, 58,64 ; H, 4,75

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 8.15-6.53 (m, 29H ; Ar-H), 5.90 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^I), 5.82 (dd, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 10.0$ Hz ; H-2^I), 5.50-5.39 (m, 2H ; H-3^{II}, H-4^{II}), 5.26 (dd, 1H, $J_{1,2} = 7.0$ Hz, $J_{2,3} = 9.0$ Hz ; H-2^{II}), 5.00 (d, 1H ; H-1^I), 4.98 (d, 1H ; H-1^{II}), 4.61 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 4.5$ Hz, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz ; H-6a^I), 4.46 (dd, 1H, $J_{5,6b} = 8.0$ Hz ; H-6b^I), 4.39 (dd, 1H ; H-3^I), 4.27-4.24 (m, 1H ; H-5^I), 4.14 (d, 1H, $J_{4,5} = 10.0$ Hz ; H-5^{II}), 3.73 (s, 3H ; COOCH_3), 3.64 (s, 3H ; OCH_3), 2.61-2.29 (m, 4H ; CH_2CO), 2.01 (s, 3H ; COCH_3).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 205.59 (1C; COCH_3), 170.88, 166.80, 166.05, 165.74, 165.47, 164.52, 164.26 (7C ; C-6^{II}, C=O), 155.43, 151.14, 133.27, 133.19, 133.13,

132.71, 130.21, 129.79, 129.75, 129.68, 129.51, 129.33, 129.15, 128.72, 128.59, 128.39, 128.26, 127.96, 118.60, 114.26 (36C ; Ar-C), 100.96, 100.80 (2C ; C-1^I, C-1^{II}), 76.80 (1C ; C-3^I), 72.79 (1C ; C-5^{II}), 72.10 (2C ; C-3^{II}, C-5^I), 71.52 (1C ; C-2^{II}), 71.39 (1C ; C-2^I), 69.59 (1C ; C-4^I), 69.29 (1C ; C-4^{II}), 62.90 (1C ; C-6^I), 55.46 (1C ; OCH₃), 52.96 (1C ; COOCH₃), 37.61 (1C ; CH₂CO), 29.50 (1C ; COCH₃), 27.61 (1C ; CH₂CO).

4-Méthoxyphényl *O*-(Méthyl 2,3-di-*O*-benzoyl-4-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyluronate)-(1→3)-2-*O*-benzoyl-4,6-di-*O*-chloroacétyl-β-D-galactopyranoside 268⁶³



C₅₀H₄₈Cl₂O₂₀
MW= 1039,81 g.mol⁻¹

Au diol **266** (709 mg, 0,8 mmol) dissous dans un mélange DCM/pyridine (10 : 1 ; 1 ml) à 0°C et sous argon est ajouté le (ClAc)₂O (547 mg, 3,2 mmol, 4 eq). Le mélange réactionnel est agité pendant 1h, puis versé dans de l'eau glacée. La phase aqueuse est alors extraite avec du dichlorométhane et les phases organiques sont ensuite rassemblées, lavées successivement avec de l'eau, du NaHCO₃ saturé, de l'eau, séchées sur MgSO₄ et co-évaporées au toluène. Le résidu est alors purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (DCM/acétone : 22/1). Le produit est obtenu pur sous la forme d'un solide blanc (749 mg, 90%).

Pf = 234-236 °C (EP/AcOEt)

[α]_D²⁰ = +76 (c=1, CHCl₃)

HRMS : *m/z* : calculée pour C₅₀H₄₉Cl₂O₂₀ ([M+H]⁺): 1039,21888 ; trouvée : 1039,21743, calculée pour C₅₀H₅₂Cl₂O₂₀N ([M+NH₄]⁺): 1056,24542 ; trouvée : 1056,24520, calculée pour C₅₀H₄₈Cl₂O₂₀Na ([M+Na]⁺): 1061,20082 ; trouvée : 1061,20273

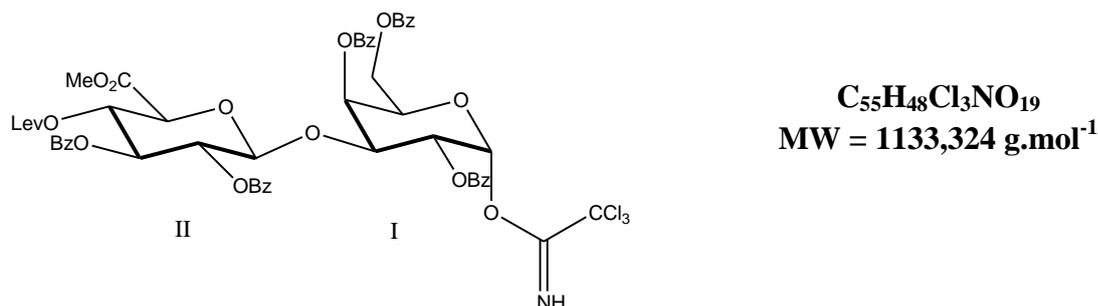
Analyse élémentaire calculée pour C₅₀H₄₈Cl₂O₂₀ : C, 57.75; H, 4.65; trouvée : C, 55,30 ; H, 4,62

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 7.83-6.69 (m, 19H ; Ar-H), 5.63-5.58 (m, 2H ; H-2^I, H-4^I), 5.23 (dd, 1H, *J*_{2,3}= 9.0 Hz, *J*_{3,4}= 9.5 Hz ; H-3^{II}), 5.43 (dd, 1H, *J*_{4,5}= 10.0 Hz ; H-4^{II}), 5.30 (dd, 1H, *J*_{1,2}= 7.0 Hz ; H-2^{II}), 4.94 (d, 1H, *J*_{1,2}= 8.0 Hz ; H-1^I), 4.88 (d, 1H ; H-1^{II}), 4.38-4.34 (m, 3H ; H-6a^I, H-6b^I, CH₂Cl), 4.27-4.23 (m, 2H ; H-3^I, CH₂Cl), 4.12 (d, 1H ; H-5^{II}), 4.09 (s, 2H ; CH₂Cl), 4.10-4.07 (m, 1H ; H-5^I), 3.82 (s, 3H ; COOCH₃), 3.71 (s, 3H ; OCH₃), 2.64-2.45 (m, 3H ; CH₂CO), 2.38-2.31 (m, 1H ; CH₂CO), 2.03 (s, 3H ; COCH₃).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 205.57 (1C ; COCH₃), 170.96, 167.04, 166.84, 166.72, 165.48, 164.56, 164.35 (7C ; C-6^{II}, C=O), 155.67, 150.93, 133.41, 133.22, 132.95, 129.78,

129.59, 129.50, 128.92, 128.68, 128.55, 128.39, 128.35, 128.11, 118.75, 114.39 (24C; Ar-C), 100.83, 100.80 (2C ; C-1^I, C-1^{II}), 76.04 (1C; C-3^I), 72.73, 71.82 (2C; C-3^{II}, C-5^{II}), 71.42, 70.97, 70.69, 70.53 (4C; C-2^I, C-2^{II}, C-4^I, C-5^I), 69.31 (1C; C-4^{II}), 63.46 (1C; C-6^I), 55.55 (1C; OCH₃), 53.18 (1C; COOCH₃), 40.74, 40.53 (2C; CH₂Cl), 37.57 (1C; CH₂CO), 29.51 (1C; COCH₃), 27.57 (1C; CH₂CO).

***O*-(Méthyl 2,3-di-*O*-benzoyl-4-*O*-levulinoyl- β -D-glucopyranosyluronate)-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-tri-*O*-benzoyl-1-*O*-trichloroacétimidoyl- α -D-galactopyranose **271**⁶³**



A une solution de disaccharide **267** (2,16 g, 1,97 mmol) dissous dans un mélange toluène/acétonitrile/eau (1: 1,5: 1 ; 105 ml) est ajouté le CAN (5,41 g, 9,85 mmol, 5 eq). Le mélange réactionnel est agité vigoureusement à TA pendant 30 min, puis versé dans de l'eau glacée (100 ml). La phase aqueuse est extraite avec de l'AcOEt (3 x 50 ml), les phases organiques sont lavées successivement avec de l'eau, du NaCl saturé, de l'eau puis séchées sur MgSO₄ et concentrées sous pression réduite. Le résidu est purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (EP/AcOEt : 1/1) pour donner l'hémiacétal **270** pur sous la forme d'une mousse orange pâle et le produit de migration **269** qui est traité avec du DBU sous argon pour redonner après purification sur colonne de gel de silice (EP/AcOEt : 1/1) l'hémiacétal **270** désiré.

L'hémiacétal **270** (1,59 g, 1,61 mmol) est dissous dans le dichlorométhane anhydre (18 ml) à TA et sous atmosphère d'argon. Le Cl₃C-CN (1,62 ml, 16,1 mmol, 10 eq) puis la DBU (0,05 ml, 0,32 mmol, 0,2 eq) sont ajoutés successivement. Le mélange réactionnel est ainsi agité pendant 30 min puis, concentré et purifié immédiatement après par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (EP/ AcOEt : 2/1 avec 0,1 % Et₃N). L'imidate **271** est obtenu pur sous la forme d'une mousse jaune pâle (1,40 g, 62% sur les 2 étapes)

Pf = 110-115°C (EP/AcOEt)

[α]_D²⁰ = +114 (c=1, CHCl₃)

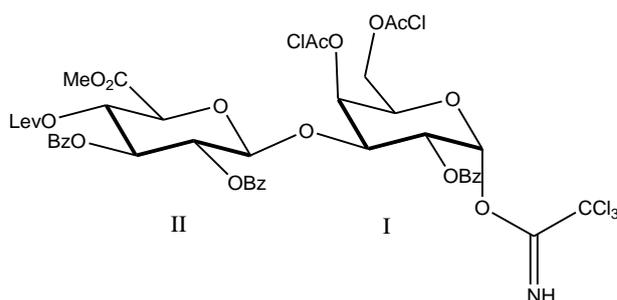
HRMS : *m/z* : calculée pour C₅₅H₅₂Cl₃N₂O₁₉ ([M+NH₄]⁺): 1149,22244, trouvée : 1149,22284, calculée pour C₅₅H₄₈Cl₃NNaO₁₉ [M+Na]⁺ : 1154,17783 ; trouvée : 1154,17922

Analyse élémentaire calculée pour C₅₅H₄₈Cl₃NO₁₉ : C, 58.29; H, 4.27; N, 1.24; trouvée : C, 58,15 ; H, 4,36 ; N, 0,88

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 8.48 (s, 1H ; C=NH), 8.10-7.04 (m, 25H ; Ar-H), 6.74 (d, 1H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz ; H-1^I), 6.05 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^I), 5.72 (dd, 1H, $J_{2,3} = 10.0$ Hz ; H-2^I), 5.55 (dd, 1H, $J_{2,3} = 9.0$ Hz, $J_{3,4} = 10.0$ Hz ; H-3^{II}), 5.45 (dd, 1H, $J_{4,5} = 10.0$ Hz ; H-4^{II}), 5.27 (dd, 1H, $J_{1,2} = 7.0$ Hz ; H-2^{II}), 5.12 (d, 1H ; H-1^{II}), 4.72-4.68 (m ; 2H, H-3^I, H-5^I), 4.52 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 5.0$ Hz, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz ; H-6a^I), 4.41 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 7.5$ Hz ; H-6b^I), 4.26 (d, 1H ; H-5^{II}), 3.77 (s, 3H ; COOCH_3), 2.62-2.33 (m, 4H ; CH_2CO), 2.03 (s, 3H ; COCH_3).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 205.60 (1C ; COCH_3), 170.92, 166.95, 166.01, 165.54, 165.46, 164.99, 164.26, 160.30 (8C ; C-6^{II}, C=O, C=N), 133.37, 133.29, 133.21, 133.06, 132.79, 130.09, 129.75, 129.72, 129.57, 129.49, 129.33, 128.63, 128.59, 128.51, 128.42, 128.38, 128.27, 127.99 (30C ; Ar-C), 100.89 (1C ; C-1^{II}), 93.56 (1C ; C-1^I), 90.76 (1C ; CCl_3), 73.27 (1C ; C-3^I), 72.86 (1C ; C-5^{II}), 72.03 (1C ; C-3^{II}), 71.76 (1C ; C-2^{II}), 70.30 (1C ; C-4^I), 69.92 (1C ; C-5^I), 69.85 (1C ; C-2^I), 69.21 (1C ; C-4^{II}), 62.87 (1C ; C-6^I), 53.01 (1C ; COOCH_3), 37.63 (1C ; CH_2CO), 29.51 (1C ; COCH_3), 27.64 (1C ; CH_2CO).

***O*-(Méthyl 2,3-di-*O*-benzoyl-4-*O*-levulinoyl- β -D-glucopyranosyluronate)-(1 \rightarrow 3)-2-*O*-benzoyl-4,6-di-*O*-chloroacétyl-1-*O*-trichloroacétimidoyl- α -D-galactopyranose **272**⁶³**



$\text{C}_{45}\text{H}_{42}\text{Cl}_5\text{NO}_{19}$
MW = 1078,075 g.mol⁻¹

A une solution de disaccharide **268** (2,05 g, 1,97 mmol) dissous dans un mélange toluène/acétonitrile/eau (1 : 1,5 : 1 ; 105 ml) est ajouté le CAN (5,40 g, 9,85 mmol, 5 eq). Le mélange réactionnel est agité vigoureusement à TA pendant 30 min, puis versé dans de l'eau glacée (100 ml). La phase aqueuse est extraite avec de l'AcOEt (3 fois), les phases organiques sont lavées successivement avec de l'eau, du NaCl saturé, de l'eau puis séchées sur MgSO_4 et concentrées sous pression réduite. Le résidu est purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (DCM/acétone : 12/1) pour donner le produit pur sous la forme d'une mousse orange pâle et un produit de migration qui est traité avec du DBU sous argon pour redonner après purification sur colonne de gel de silice (EP/AcOEt : 3/2) l'hémiacétal désiré.

L'hémiacétal obtenu (1,51 g, 1,62 mmol) est dissous dans le DCM anhydre (15 ml) à TA et sous argon. Le $\text{Cl}_3\text{C-CN}$ (3,25 ml, 32,4 mmol, 20 eq) et le DBU (49 μl , 0,32 mmol, 0,2 eq) sont ajoutés successivement. Le mélange réactionnel est agité pendant 30 min, puis concentré et purifié immédiatement par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (EP/AcOEt : 3/2 avec 0,1% Et_3N). L'imidate **272** est obtenu pur sous la forme d'un solide blanc (1,34 g, 62% sur les 2 étapes).

Pf : 180-181°C (EP/AcOEt)

$[\alpha]_D^{20} = +107$ (c=1, CHCl₃)

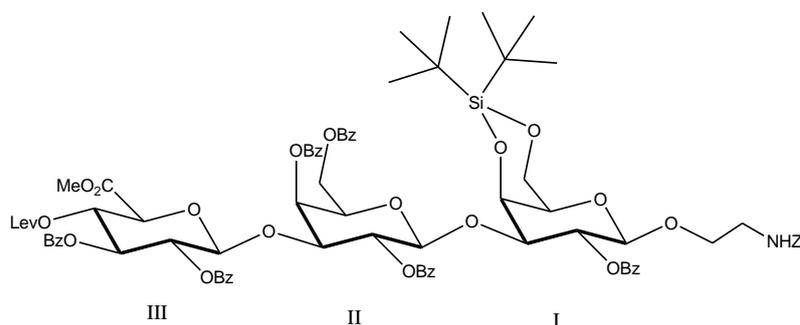
HRMS : *m/z* : calculée pour C₄₃H₄₃Cl₂O₁₉ ([M-Cl₃CC(NH)]⁺): 933,17701 ; trouvée : 933,17784, calculée pour C₄₃H₄₂Cl₂NaO₁₉ ([M-Cl₃CC(NH)+Na]⁺): 955,15896 ; trouvée : 955,15969

Analyse élémentaire calculée pour C₄₅H₄₂Cl₅NO₁₉ : C, 50.13; H, 3.93; N, 1.30; trouvée : C, 49.09 ; H, 4.10 ; N, 0.86

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 8.54 (s, 1H ; C=NH), 7.83-7.09 (m, 15H ; Ar-H), 6.59 (d, 1H, *J*_{1,2}= 3.60 Hz ; H-1^I), 5.75 (dd, 1H, *J*_{3,4}= 3.0 Hz, *J*_{4,5}<1Hz ; H-4^I), 5.57 (dd, 1H, *J*_{2,3}= 9.0 Hz, *J*_{3,4}= 10.0 Hz ; H-3^{II}), 5.49 (dd, 1H, *J*_{2,3}= 10.0 Hz ; H-2^I), 5.45 (dd, 1H, *J*_{4,5}= 10.0 Hz ; H-4^{II}), 5.31 (dd, 1H, *J*_{1,2}= 7.0 Hz ; H-2^{II}), 5.01 (d, 1H ; H-1^{II}), 4.55-4.52 (m, 2H ; H-3^I, H-5^I), 4.35 (dd, 1H, *J*_{5,6a}= 5.0 Hz, *J*_{6a,6b}= 11.0 Hz ; H-6a^I), 4.28-4.19 (m, 4H ; H-5^{II}, H-6b^I, CH₂Cl), 4.07 (s, 2H ; CH₂Cl), 3.84 (s, 3H ; COOCH₃), 2.65-2.47 (m, 3H ; CH₂CO), 2.41-2.33 (m, 1H ; CH₂CO), 2.04 (s, 3H ; COCH₃).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 205.57 (1C; COCH₃), 171.00, 166.81, 165.47, 164.74, 164.56, 160.23 (8C; C-6^{II}, C=O, C=N), 133.46, 133.42, 133.02, 129.78, 129.47, 129.40, 128.55, 128.45, 128.39, 128.36, 128.13 (18C; Ar-C), 100.95 (1C; C-1^{II}), 93.32 (1C; C-1^I), 90.65 (1C; CCl₃), 72.82 (1C; C-3^I), 72.73 (1C; C-5^{II}), 71.77, 71.56 (2C; C-2^{II}, C-3^{II}), 70.90 (1C; C-4^I), 69.32, 69.13, 69.07 (3C; C-2^I, C-4^{II}, C-5^I), 63.32 (1C; C-6^I), 53.19 (1C; COOCH₃), 40.61, 40.49 (2C; CH₂Cl), 37.59 (1C; CH₂CO), 29.52 (1C; COCH₃), 27.60 (1C; CH₂CO).

2-Benzyloxycarbonylaminoéthyl *O*-(Méthyl 2,3-di-*O*-benzoyl-4-*O*-levulinoyl-β-*D*-glucopyranosyluronate)-(1→3)-(2,4,6-tri-*O*-benzoyl-β-*D*-galactopyranosyl)-(1→3)-2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-di-*tert*-butylsilylène-β-*D*-galactopyranoside 273⁶³



C₈₄H₈₉NO₂₇Si
MW= 1572,681 g.mol⁻¹

Une solution d'imidate **271** (681 mg, 0,6 mmol), d'accepteur **250** (542 mg, 0,9 mmol, 1,5 eq) et de tamis moléculaire 4Å activé est agitée à TA et sous argon dans le DCM anhydre (10 ml) pendant 40 min. Le TMSOTf 1M dans le toluène (108 µl, 0,11 mmol, 0,18 eq) est alors ajouté et le mélange réactionnel est agité pendant 40 min. Puis, la triéthylamine (130 µl) est ajoutée au mélange réactionnel. Après 5 min, le tamis est filtré puis rincé au DCM et le

filtrat est concentré puis purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (DCM/acétone : 18/1 avec 0,1 % de Et₃N). Le produit est obtenu pur sous la forme d'une mousse blanche (632 mg, 67%).

$$[\alpha]_D^{20} = + 62 \text{ (} c=1, \text{CHCl}_3 \text{)}$$

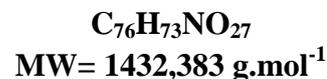
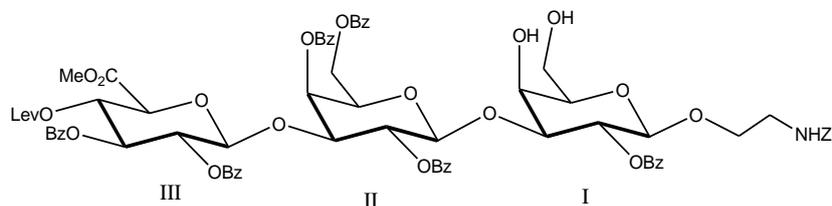
HRMS : *m/z*: calculée pour C₈₄H₈₉NNaO₂₇Si ([M+Na]⁺): 1594,52834; trouvée: 1594,52825, calculée pour C₈₄H₉₃N₂O₂₇Si ([M+NH₄]⁺): 1589,57295, trouvée : 1589,57230, calculée pour C₈₄H₉₀NO₂₇Si ([M+H]⁺): 1572,54640, trouvée : 1572,54633

Analyse élémentaire calculée pour C₈₄H₈₉NO₂₇Si : C, 64,15; H, 5,70; N, 0,89; trouvée : C, 64,15 ; H, 5,83 ; N, 0,81

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 8.09-6.91 (m, 35H ; Ar-*H*), 5.83 (dd, 1H, *J*_{3,4}= 3.0 Hz, *J*_{4,5}<1Hz ; H-4^{II}), 5.51 (dd, 1H, *J*_{1,2}= 8.0 Hz, *J*_{2,3}= 10.0 Hz ; H-2^{II}), 5.39-5.37 (m, 3H ; H-2^I, H-3^{III}, H-4^{III}), 5.16 (dd, 1H, *J*_{1,2}=7.0 Hz, *J*_{2,3}= 8.5 Hz ; H-2^{III}), 5.05 (sl, 1H ; NH), 4.95 (ABq, 2H ; CH₂-Ar), 4.92 (d, 1H ; H-1^{II}), 4.79 (d, 1H ; H-1^{III}), 4.69 (dd, 1H, *J*_{3,4}= 3.0 Hz, *J*_{4,5}<1Hz ; H-4^I), 4.74-4.39 (m, 2H ; H-6^{II}), 4.34-4.31 (m, 1H ; H-3^{II}), 4.31 (d, 1H, *J*_{1,2}= 7.5 Hz ; H-1^I), 4.16-4.06 (m, 2H ; H-5^{II}, H-6a^I), 4.08 (d, 1H, *J*_{4,5}= 9.0 Hz ; H-5^{III}), 4.02-3.98 (m, 1H ; H-6b^I), 3.74-3.68 (m, 5H ; H-3^I, OCH₂, COOCH₃), 3.52-3.47 (m, 1H ; OCH₂), 3.21-3.17 (m, 3H ; H-5^I, NCH₂), 2.60-2.41 (m, 3H ; CH₂CO), 2.34-2.26 (m, 1H ; CH₂CO), 2.01 (s, 3H ; COCH₃), 1.01, 0.95 (2s, 18H ; 2 x C(CH₃)₃).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 205.63 (1C ; COCH₃), 170.86, 166.89, 165.87, 165.49, 165.41, 164.64, 164.14, 164.11, 156.29 (9C ; C-6^{III}, C=O), 133.67, 133.36, 133.23, 133.09, 132.59, 132.56, 130.11, 129.71, 129.66, 129.59, 129.44, 129.39, 129.29, 129.07, 128.70, 128.63, 128.56, 128.48, 128.36, 128.32, 128.23, 128.10, 127.96, 127.88, 127.79, 127.75 (42C ; Ar-C), 102.26 (1C ; C-1^{II}), 101.52 (1C ; C-1^I), 100.51 (1C ; C-1^{III}), 80.16 (1C ; C-3^I), 75.83 (1C ; C-3^{II}), 72.68 (1C ; C-4^I), 72.63 (1C ; C-5^{III}), 72.08, 71.96, 71.64, 71.52, 71.37, 70.51, 69.70, 69.25 (8C ; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-3^{III}, C-4^{II}, C-4^{III}, C-5^I, C-5^{II}), 68.65 (1C ; OCH₂), 66.69 (1C ; C-6^I), 66.28 (1C ; CH₂-Ar), 62.85 (1C ; C-6^{II}), 52.93 (1C ; COOCH₃), 40.84 (1C ; NCH₂), 37.57 (1C, CH₂CO), 29.51 (1C, COCH₃), 27.58 (1C, CH₂CO), 27.38, 27.25 (6C ; 2 x C(CH₃)₃), 23.18, 20.59 (2C ; 2 x C(CH₃)₃).

2-Benzyloxycarbonylaminoéthyl *O*-(Méthyl 2,3-di-*O*-benzoyl-4-*O*-levulinoyl- β -D-glucopyranosyluronate)-(1 \rightarrow 3)-(2,4,6-tri-*O*-benzoyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-2-*O*-benzoyl- β -D-galactopyranoside 274⁶³



Au Silylène acétal **273** (1,03 g, 0,65 mmol) dissous dans le THF anhydre (10 ml) est ajouté à 0°C la Et₃N-3HF (266 μ l, 1,64 mmol, 2,5 eq). Le mélange réactionnel est agité sous argon pendant 6 h puis, le THF est évaporé et le résidu dilué avec du DCM (20 ml), lavé successivement avec du NaHCO₃ saturé, de l'eau, séché sur MgSO₄ et concentré. Le produit est obtenu pur après recristallisation dans l'AcOEt/EP (771 mg, 82%).

Pf = 194-195°C (EP/AcOEt)

$[\alpha]_D^{20} = +56$ ($c=1$, CHCl₃)

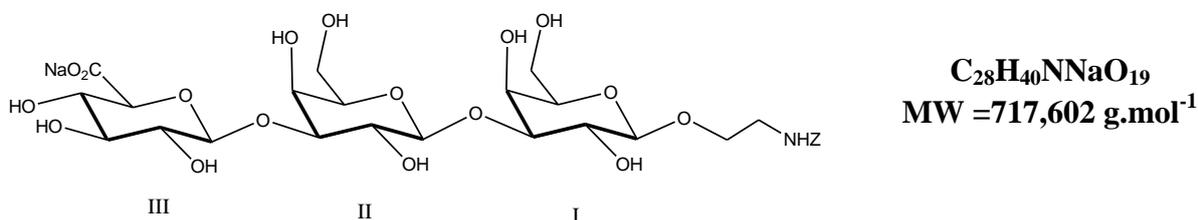
HRMS : m/z : calculée pour C₇₆H₇₄NO₂₇ ([M+H]⁺) : 1432,44427 ; trouvée : 1432,44471

Analyse élémentaire calculée pour C₇₆H₇₃NO₂₇ : C, 63.73; H, 5.14; N, 0.98; trouvée : C, 62.10 ; H, 5.13 ; N, 0.88

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 8.10-6.99 (m, 35H ; Ar-*H*), 5.81 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^{II}), 5.51 (dd, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 10.0$ Hz ; H-2^{II}), 5.37-5.29 (m, 3H ; H-2^I, H-3^{III}, H-4^{III}), 5.16-5.12 (m, 2H ; H-2^{III}, NH), 4.92 (ABq, 2H ; CH₂-Ar), 4.82 (d, 1H, $J_{1,2} = 7.0$ Hz ; H-1^{III}), 4.76 (d, 1H ; H-1^{II}), 4.62 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 4.0$ Hz, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz ; H-6a^{II}), 4.44 (dd, 1H, $J_{5,6b} = 8.0$ Hz ; H-6b^{II}), 4.33 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.5$ Hz ; H-1^I), 4.27 (dd, 1H ; H-3^{II}), 4.18 (dd, 1H ; H-5^{II}), 4.05-4.03 (m, 2H ; H-4^I, H-5^{III}), 3.78 (dd, 1H, $J_{2,3} = 10.0$ Hz, $J_{3,4} = 3.0$ Hz ; H-3^I), 3.82-3.70 (m, 5H ; H-6a^I, OCH₂, COOCH₃), 3.57-3.47 (m, 2H ; H-6b^I, OCH₂), 3.39-3.35 (m, 1H ; H-5^I), 3.23-3.20 (m, 2H ; NCH₂), 2.19 (s, 1H ; HO-4), 2.60-2.41 (m, 3H, CH₂CO), 2.34-2.23 (m, 2H ; H0-6, CH₂CO), 2.00 (s, 3H ; COCH₃).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 205.61 (1C ; COCH₃), 170.84, 166.80, 166.07, 165.84, 165.35, 164.11, 164.08 (9C ; C-6^{III}, C=O), 133.48, 133.24, 132.75, 132.64, 132.62, 130.16, 129.65, 129.37, 129.31, 129.30, 129.18, 129.07, 128.54, 128.47, 128.41, 128.34, 128.20, 128.07, 127.92, 127.89, 127.86 (42C ; Ar-C), 101.65 (1C ; C-1^{II}), 101.44 (1C ; C-1^I), 100.52 (1C ; C-1^{III}), 80.66 (1C ; C-3^I), 75.66 (1C ; C-3^{II}), 74.39 (1C ; C-5^I), 72.66 (1C ; C-5^{III}), 72.13, 71.89, 71.29, 71.25, 70.53, 69.74, 69.17 (7C ; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-3^{III}, C-4^{II}, C-4^{III}, C-5^{II}), 68.79 (1C ; C-4^I), 68.68 (1C ; OCH₂), 66.36 (1C ; CH₂-Ar), 62.74 (1C ; C-6^{II}), 62.03 (1C ; C-6^I), 52.96 (1C ; COOCH₃), 40.82 (1C ; NCH₂), 37.52 (1C, CH₂CO), 29.46 (1C, COCH₃), 27.52 (1C, CH₂CO).

2-Benzyloxycarbonylaminoéthyl *O*-(sodium- β -D-glucopyranosyluronate)-(1 \rightarrow 3)-(β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)- β -D-galactopyranoside 275⁶³



Une solution de LiOOH préparée à 0°C à partir de LiOH (1 M, 0,7 mmol, 0,7 ml, 5 eq) et de H₂O₂ (30%, 350 μ l) est ajoutée goutte à goutte à une solution refroidie à -10°C de trisaccharide **274** (191 mg, 0,13 mmol) dissous dans un mélange THF/H₂O (3 : 1 ; 3 ml). Le mélange réactionnel est ensuite agité pendant 8h à TA puis refroidi à 0°C. Une solution de NaOH (4M, 2,3 ml, 70 eq) est ajoutée et le mélange réactionnel est alors agité pendant 16h à TA puis dilué avec de l'eau (20 ml) et neutralisé avec de la résine Amberlite IR-120[H⁺] jusqu'à pH 3,5 (contrôle pH-métrique). La solution est ensuite filtrée sur fritté et concentrée. Le solide est alors lavé plusieurs fois avec de l'EtOH puis dissous dans de l'eau. Une solution de NaOH 0.1 M (1,4 ml, 10 eq) est ajoutée jusqu'à pH 8,5. Une purification sur colonne Sephadex LH-20 dans l'eau conduit au produit désiré sous la forme d'une poudre blanche (66 mg, 69%).

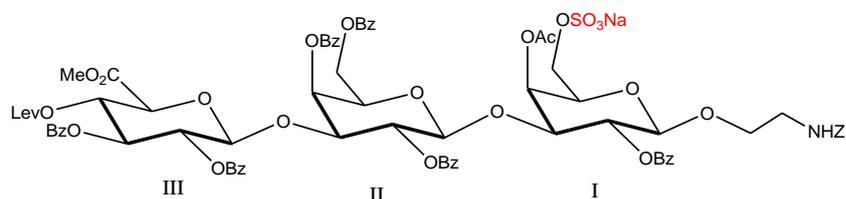
$$[\alpha]_D^{20} = -4 \text{ (c = 1, H}_2\text{O)}$$

HRMS : *m/z* : calculée pour C₂₈H₄₁NNaO₁₉ ([M+H]⁺): 718,21650 ; trouvée : 718,21580 ; calculée pour C₂₈H₄₅N₂O₁₉ ([M+H+NH₄-Na]⁺): 713,26110 ; trouvée : 713,26056 ; calculée pour C₂₈H₄₂NO₁₉ ([M+2H-Na]⁺): 696,23455, trouvée : 696,23398

RMN ¹H (400 MHz, D₂O): δ (ppm) 7.48-7.40 (m, 5H; Ar-*H*), 5.14 (s, 2H ; CH₂-Ar), 4.69 (d, 1H, *J*_{1,2}= 8.0 Hz ; H-1^{III}), 4.67 (d, 1H, *J*_{1,2}= 8.0 Hz ; H-1^{I ou II}), 4.43 (d, 1H, *J*_{1,2}= 7.5 Hz ; H-1^{I ou II}), 4.21, 4.19 (2dd, 2H, *J*_{3,4}= 2.0 Hz, *J*_{4,5}<1 Hz ; H-4^I, H-4^{II}), 3.98-3.93 (m, 1H ; OCH₂), 3.84-3.80 (m, 2H ; H-3^I, H-3^{II}), 3.80-3.65 (m, 10H ; H-2^I, H-2^{II}, H-5^I, H-5^{II}, H-5^{III}, H-6a^I, H-6b^I, H-6a^{II}, H-6b^{II}, OCH₂), 3.54-3.52 (m, 2H ; H-3^{III}, H-4^{III}), 3.44 (dd, 1H, *J*_{2,3}= 9.0 Hz ; H-2^{III}), 3.42-3.37 (m, 2H ; CH₂N).

RMN ¹³C (100 MHz, D₂O): δ (ppm) 176.55 (1C; C-6^{III}), 159.02 (1C; NHC(O)O), 137.11, 129.42, 129.42, 128.38 (6C ; Ar-C), 104.60, 104.19, 103.31 (3C ; C-1^I, C-1^{II}, C-1^{III}), 83.01, 82.89 (2C; C-3^I, C-3^{II}), 76.80, 75.94, 75.41, 75.36, 73.78, 72.39, 70.78, 70.51 (8C; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-3^{III}, C-4^{III}, C-5^I, C-5^{II}, C-5^{III}), 69.50 (1C; OCH₂), 69.00, 68.65 (2C; C-4^I, C-4^{II}), 67.55 (CH₂-Ar), 61.57, 61.48 (2C; C-6^I, C-6^{II}), 41.16 (1C; CH₂N).

2-Benzyloxycarbonylaminoéthyl *O*-(Méthyl 2,3-di-*O*-benzoyl-4-*O*-levulinoyl- β -D-glucopyranosyluronate)-(1 \rightarrow 3)-(2,4,6-tri-*O*-benzoyl - β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-sodium 2-*O*-benzoyl-4-*O*-acétyl-6-*O*-sulfonato- β -D-galactopyranoside 276⁶³



C₇₈H₇₄NNaO₃₁S
MW= 1576,465 g.mol⁻¹

A une solution de diol **274** (199.5 mg, 0.14 mmol) dans le DMF anhydre est ajouté du SO₃.NMe₃ (39 mg, 0.28 mmol, 2 eq) et le mélange réactionnel est agité à 40°C sous argon. Au bout de 6h, la réaction étant incomplète, du SO₃.NMe₃ (19.5 mg, 0.14 mmol, 1 eq.) est ajouté et le mélange réactionnel est alors agité pendant 4 h, puis refroidi à TA et l'excès de réactif est détruit avec du MeOH (1 ml). Le mélange réactionnel est alors agité pendant 30 min sous argon puis concentré sous pression réduite. Le résidu est ensuite dissous dans la pyridine (4ml) et de l'anhydride acétique (2 ml) est ajouté à 0°C. Le mélange réactionnel est ainsi agité de 0°C à TA pendant 16 h, puis co-éaporé au toluène et purifié sur colonne de gel de silice (DCM/MeOH : 9/1). Les fractions recueillies sont ensuite passées sur colonne Sephadex SP-C25 [Na]⁺ (DCM/MeOH/H₂O : 9/5/1). Le produit est obtenu pur sous la forme d'une poudre blanche (156 mg, 71%).

$[\alpha]_D^{20} = +58$ ($c=1,02$, MeOH)

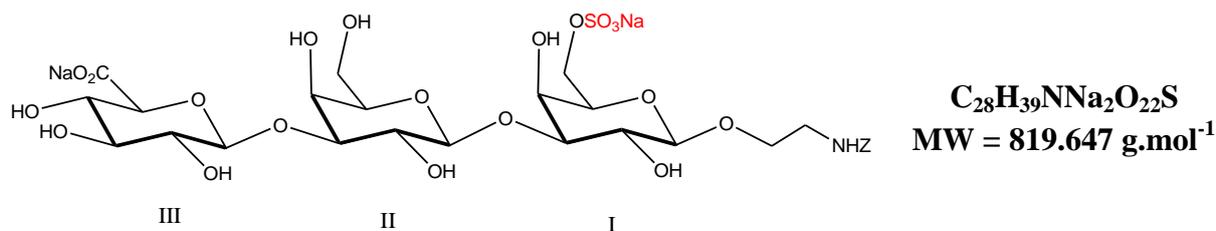
HRMS : m/z : calculée pour C₇₈H₇₄NO₃₁S ([M-Na]⁻) : 1552,39710; trouvée: 1552,40024, calculée pour C₇₈H₈₀N₂O₃₁S ([M+NH₄+2H-Na]²⁺) : 786,22274, trouvée : 78622219, calculée pour C₇₈H₇₉N₂O₃₁S ([M+NH₄+H-Na]⁺) : 1571,43820 ; trouvée : 1571,43639, calculée pour C₇₈H₇₅NNaO₃₁S ([M+H]⁺) : 1576,39360, trouvée : 1576,39208

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃/MeOD) : δ (ppm) 8.09-6.94 (m, 35H ; Ar-H), 5.86 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^{II}), 5.57 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^I), 5.43-5.38 (m, 2H ; H-2^{II}, H-3^{III}), 5.29 (dd, 1H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 10.0$ Hz ; H-4^{III}), 5.18 (dd, 1H ; $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 10.0$ Hz ; H-2^I), 5.10 (dd, 1H, $J_{1,2} = 7.5$ Hz, $J_{2,3} = 9.0$ Hz ; H-2^{III}), 4.95 (d, 1H ; H-1^{III}), 4.84 (d, 2H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz ; H-1^{II}), 4.84 (ABq, 2H ; CH₂-Ar), 4.50 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 6.5$ Hz, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz ; H-6a^{II}), 4.44 (d, 1H ; H-1^I), 4.40 (dd, 1H, $J_{5,6b} = 8.0$ Hz ; H-6b^{II}), 4.28 (dd, 1H, $J_{2,3} = 10.0$ Hz ; H-3^{II}), 4.22-4.18 (m, 2H ; H-5^{II}, H-5^{III}), 4.12-4.06 (m, 2H ; H-3^I, H-6a^I), 3.97-3.90 (m, 2H ; H-5^I, H-6b^I), 3.79-3.73 (m, 1H ; OCH₂), 3.65 (s, 3H ; COOCH₃), 3.52-3.47 (m, 1H ; OCH₂), 3.15-3.12 (m, 2H ; NCH₂), 2.58-2.54 (m, 2H ; CH₂CO), 2.44-2.26 (m, 2H ; CH₂CO), 2.06 (s, 3H ; COCH₃). 1.97 (s, 3H ; COCH₃ Ac).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃/MeOD) : δ (ppm) 207.99 (1C ; COCH₃), 172.31, 171.36, 168.36, 167.44, 167.00, 166.51, 165.66, 165.60, 158.04 (10C ; C-6^{III}, C=O), 134.23, 134.04, 133.89, 133.68, 133.60, 130.92, 130.59, 130.35, 130.25, 130.09, 129.98, 129.43, 129.21, 129.14, 129.11, 129.07, 128.92, 128.82, 128.61, 128.41 (35C ; Ar-C), 102.24 (1C ; C-1^{II}), 101.99 (1C ; C-1^I), 101.57 (1C ; C-1^{III}), 78.25 (1C ; C-3^{II}), 77.68 (1C ; C-3^I), 73.37, 73.18,

73.01, 72.42, 72.33, 72.27, 72.13 (7C; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-3^{III}, C-5^I, C-5^{II}, C-5^{III}) 71.11, 71.01 (2C; C-4^I, C-4^{II}), 70.33 (1C; C-4^{III}), 69.14 (1C; OCH₂), 67.16 (1C; CH₂-Ar), 67.09 (1C; C-6^I), 63.32 (1C; C-6^{II}), 53.40 (1C; COOCH₃), 41.31 (1C; NCH₂), 38.14 (1C, CH₂CO), 29.55 (1C, COCH₃), 28.42(1C, CH₂CO), 20.85 (1C; COCH₃ Ac).

2-Benzoyloxycarbonylaminoéthyl *O*-(sodium-β-D-glucopyranosyluronate)-(1→3)-(β-D-galactopyranosyl)-(1→3)-sodium 6-*O*-sulfonato-β-D-galactopyranoside 277⁶³



Une solution de LiOOH préparée à 0°C à partir de LiOH (1 M, 0,7 mmol, 0,7 ml, 5 eq) et de H₂O₂ (30%, 350 µl) est ajoutée goutte à goutte à une solution refroidie à -10°C de trisaccharide **276** (203 mg, 0,13 mmol) dissous dans un mélange THF/H₂O (3 : 1 ; 3 ml). Le mélange réactionnel est ensuite agité 8h à TA puis refroidi à 0°C et une solution de NaOH (4M, 2,75 ml, 80 eq) est ajoutée et le mélange réactionnel est alors agité pendant 16h à TA puis dilué avec de l'eau (20 ml) et neutralisé avec de la résine amberlite IR-120[H⁺] jusqu'à pH 3,5 (contrôle pH-métrique). La solution est ensuite filtrée sur fritté et concentrée. Le solide est lavé plusieurs fois avec de l'EtOH puis dissous dans l'eau. Une solution de NaOH 0.1 M (1,3 ml, 10 eq) est ajoutée jusqu'à pH 8,5. Une purification sur colonne Sephadex LH-20 dans l'eau conduit au produit désiré sous la forme d'une poudre blanche (101 mg, 96%).

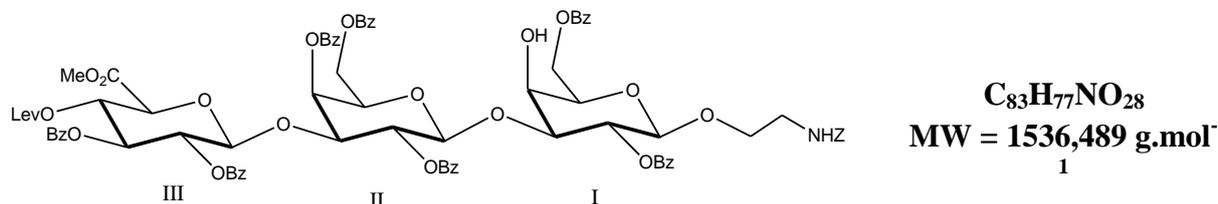
$[\alpha]_D^{20} = -34$ ($c = 1,07$, H₂O)

HRMS : m/z : calculée pour C₂₈H₃₉O₂₂NS ([M-2Na]²⁻) : 386,58477 ; trouvée : 386,58584, calculée pour C₂₈H₄₀O₂₂NS ([M+H-2Na]²⁻) : 774,17682 ; trouvée : 774,17698, calculée pour C₂₈H₃₉O₂₂NNaS ([M-Na]⁻) : 796,15876 ; trouvée : 796,15841

RMN ¹H (400 MHz, D₂O) : δ (ppm) 7.46-7.42 (m, 5H; Ar-*H*), 5.15 (s, 2H ; CH₂-Ar), 4.70 (d, 1H, $J_{1,2} = 7.5$ Hz ; H-1^{III}), 4.67 (d, 1H, $J_{1,2} = 7.5$ Hz ; H-1^{I ou II}), 4.45 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.0$, Hz ; H-1^{Gal}), 4.25, 4.21 (2dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz; H-4^I, H-4^{II}), 4.24-4.19 (m, 2H; H-6a^I, H-6b^I), 3.98-3.90 (m, 2H; H-3^I, OCH₂), 3.85-3.65 (m, 9H; H-2^I, H-2^{II}, H-3^{II}, H-5^I, H-5^{II}, H-5^{III}, H-6a^{II}, H-6b^{II}, OCH₂), 3.57-3.51 (m, 2H ; H-3^{III}, H-4^{III}), 3.46 (dd, 1H, $J_{2,3} = 9.0$ Hz ; H-2^{III}), 3.42-3.36 (m, 2H ; CH₂N).

RMN ¹³C (100 MHz, D₂O): δ (ppm) 176.52 (1C; C-6^{III}), 150.02 (1C; NHC(O)O), 137.16, 129.43, 129.01, 128.40 (6C ; Ar-C), 145.66, 104.21, 103.24 (3C ; C-1^I, C-1^{II}, C-1^{III}), 83.04, 82.71 (2C; C-3^I, C-3^{II}), 75.94, 75.40, 73.78, 72.99, 72.39, 70.83, 70.78, 70.39 (8C; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-3^{III}, C-4^{III}, C-5^I, C-5^{II}, C-5^{III}), 69.56 (1C; OCH₂), 68.76, 68.65 (2C; C-4^I, C-4^{II}), 67.75 (1C; C-6^I), 67.54 (CH₂-Ar), 61.54 (1C; C-6^{II}), 41.20 (1C; CH₂N).

2-Benzyloxycarbonylaminoéthyl *O*-(Méthyl 2,3-di-*O*-benzoyl-4-*O*-levulinoyl- β -D-glucopyranosyluronate)-(1 \rightarrow 3)-(2,4,6-tri-*O*-benzoyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-2,6-di-*O*-benzoyl- β -D-galactopyranoside 278⁶³



Un mélange de diol **274** (250 mg, 0,17 mmol) et de BzCN (46 mg, 0,35 mmol, 2 eq) sont dissous à TA et sous argon dans la pyridine anhydre (5 ml). Le mélange réactionnel est agité pendant 16 h, puis l'excès de réactif est détruit avec du MeOH (1 ml) et concentré. Le résidu est purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (DCM/Acétone : 12/1) pour donner le produit pur sous la forme d'un solide blanchâtre (207 mg, 77 %).

Pf = 192-193 °C (EP/AcOEt)

$[\alpha]_D^{20} = +66,5$ ($c=1$, CHCl₃)

HRMS : m/z : calculée pour C₂₄H₂₆O₁₀Na ([M+Na]⁺): 1558,45243 ; trouvée : 1558,45225, calculée pour C₂₄H₂₇O₁₀ ([M+H]⁺): 1536,47049; trouvée : 1536,47074

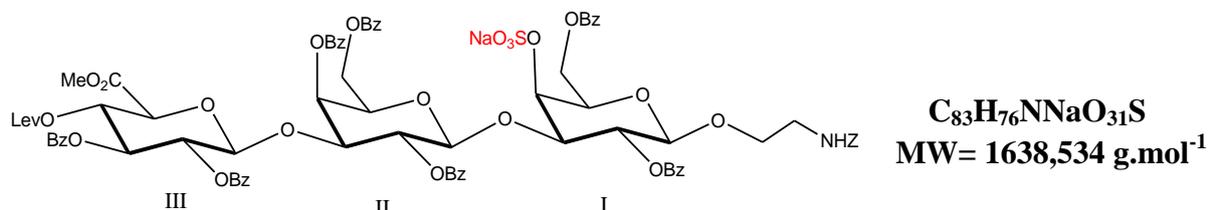
Analyse élémentaire calculée pour C₂₄H₂₆O₁₀ : C, 64.88; H, 5.05; N, 0.91; trouvée : C, 64.17 ; H, 5.07 ; N, 0.84

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 8.10-7.03 (m, 40H ; Ar-*H*), 5.81 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.5$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^{II}), 5.52 (dd, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 10.0$ Hz ; H-2^{II}), 5.36-5.31 (m, 3H ; H-2^I, H-3^{III}, H-4^{III}), 5.15 (dd, 1H, $J_{1,2} = 7.0$ Hz, $J_{2,3} = 9.0$ Hz ; H-2^{III}), 5.00 (sl, 1H ; NH), 4.87 (ABq, 2H ; CH₂-Ar), 4.83 (d, 1H ; H-1^{III}), 4.78 (d, 1H ; H-1^{II}), 5.58 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 4.5$ Hz, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz ; H-6a^{II}), 4.50-4.41 (m, 2H ; H-6a^I, H-6b^{II}), 4.37-4.33 (m, 1H ; H-6b^I), 4.33 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz ; H-1^I), 4.26 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.5$ Hz ; H-3^{II}), 4.19-4.16 (m, 1H ; H-5^{II}), 4.13 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^I), 4.04 (d, 1H, $J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-5^{III}), 3.82 (dd, 1H, $J_{2,3} = 10.0$ Hz ; H-3^I), 3.73 (s, 3H ; COOCH₃), 3.72-3.67 (m, 2H ; H-5^I, OCH₂), 3.51-3.46 (m, 1H ; OCH₂), 3.26-3.13 (m, 2H ; NCH₂), 2.30 (s, 1H ; HO-4), 2.60-2.41 (m, 3H ; CH₂CO), 2.35-2.27 (m, 1H ; CH₂CO), 2.01 (s, 3H, COCH₃).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 205.56 (1C ; COCH₃), 170.82, 166.76, 166.10, 166.02, 165.81, 165.35, 164.60, 164.11, 164.06, 156.21 (10C ; C-6^{III}, C=O), 133.36, 133.24, 133.09, 132.65, 130.17, 129.65, 129.53, 129.38, 129.32, 129.11, 128.52, 128.41, 128.36, 128.30, 128.27, 128.21, 128.13, 128.09, 127.90, 127.80 (42C ; Ar-C), 101.51 (1C ; C-1^{II}), 101.15, 100.53 (2C ; C-1^I, C-1^{III}), 80.15 (1C ; C-3^I), 75.69 (1C ; C-3^{II}), 72.69 (1C ; C-5^{III}), 72.22, 72.14, 71.92, 71.31, 71.28, 70.54, 69.65, 69.19 (8C ; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-3^{III}, C-4^{II}, C-4^{III}, C-5^I, C-5^{II}), 68.54 (1C ; OCH₂), 68.29 (1C ; C-4^I), 66.26 (1C ; CH₂-Ar), 63.59 (1C ; C-6^I),

62.68 (1C; C-6^{II}), 52.94 (1C; COOCH₃), 40.72 (1C; NCH₂), 37.54 (1C; CH₂CO), 29.47 (1C; COCH₃), 27.54 (1C; CH₂CO).

2-Benzoyloxycarbonylaminoéthyl *O*-(Méthyl 2,3-di-*O*-benzoyl-4-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyluronate)-(1→3)-(2,4,6-tri-*O*-benzoyl-β-D-galactopyranosyl)-(1→3)-sodium 2,6-di-*O*-benzoyl-4-*O*-sulfonato-β-D-galactopyranoside 279⁶³



A une solution de trisaccharide **278** (189 mg, 0.12 mmol) dans le DMF anhydre (3 ml) est ajouté du SO₃.NMe₃ (171 mg, 1.2 mmol, 10 eq). Le mélange réactionnel est agité à 60°C pendant 19 h sous argon puis refroidi à TA, du MeOH (2,1 ml) est ensuite ajouté et le mélange réactionnel est agité pendant 15 min sous argon. Le MeOH est évaporé et le résidu purifié sur colonne Sephadex LH-20 (DCM/MeOH : 1/1) puis sur colonne de gel de silice (DCM/MeOH, 12 : 1) puis sur colonne Sephadex SP-C25 [Na]⁺ (DCM/MeOH/H₂O : 9/5/1). Le produit est obtenu pur sous la forme d'une poudre blanche (177 mg, 83%).

$[\alpha]_D^{20} = +49$ (c=1, MeOH)

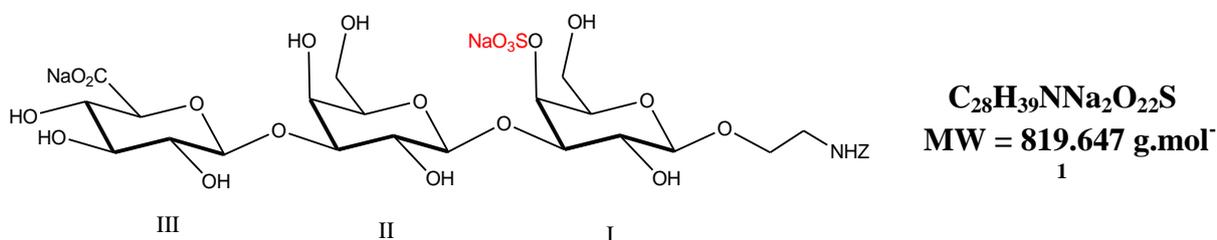
HRMS : *m/z* : calculée pour C₈₃H₇₆NNaO₃₁S ([M-Na]⁻) : 1614,41275 ; trouvée : 1614,41347

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃/MeOD) : δ (ppm) 8.27-6.96 (m, 40H ; Ar-*H*), 5.91 (dd, 1H, *J*_{3,4}= 3.2 Hz, *J*_{4,5}<1 Hz ; H-4^{II}), 5.91 (dd, 1H, *J*_{1,2}= 8.0 Hz, *J*_{2,3}= 9.0 Hz ; H-2^{II}), 5.45 (dd, 1H, *J*_{2,3}= *J*_{3,4}= 9.0 Hz ; H-3^{III}), 5.36 (dd, 1H, *J*_{4,5}= 10.0 Hz ; H-4^{III}), 5.19 (dd, 1H, *J*_{1,2}= 7.5 Hz, *J*_{2,3}= 10.0 Hz ; H-2^I), 5.14-5.10 (m, 2H ; H-2^{III}, H-4^I), 4.97 (d, 1H, *J*_{1,2}= 7.5 Hz ; H-1^{III}), 4.88-4.80 (m, 3H ; H-1^{II}, CH₂-Ar), 4.69-4.52 (m, 3H ; H-6^{Ia}, H-6^{Ib}, H-6^{IIa}), 4.47-4.42 (m, 2H ; H-1^I, H-6^{IIb}), 4.32 (dd, 1H ; H-3^{II}), 4.26-4.21 (m, 2H ; H-5^{II}, H-5^{III}), 4.02 (dd, 1H, *J*_{3,4}= 2.0 Hz ; H-3^I), 3.81-3.78 (m, 1H ; H-5^I), 3.69 (s, 3H, COOCH₃), 3.69-3.64 (m, 1H ; OCH₂), 3.54-3.48 (m, 1H ; OCH₂), 3.14-3.10 (m, 2H ; NCH₂), 2.59-2.54 (m, 2H ; CH₂CO), 2.47-2.39 (m, 1H ; CH₂CO), 2.35-2.28 (m, 1H ; CH₂CO), 1.98 (s, 3H ; COCH₃).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃/MeOD) : δ (ppm) 206.48 (1C ; COCH₃), 170.83, 166.86, 166.08, 165.92, 165.65, 165.55, 165.23, 165.12, 164.31 (10C ; C-6^{III}, C=O), 133.02, 132.92, 132.83, 132.71, 132.68, 132.52, 130.05, 129.23, 129.12, 129.09, 128.89, 128.70, 128.10, 128.05, 127.90, 127.84, 127.57, 127.44, 127.22 (42C ; Ar-C), 101.57 (1C ; C-1^{II}), 100.63 (2C ; C-1^I, C-1^{III}), 76.78, 76.74 (2C ; C-3^I, C-3^{II}), 75.49 (1C ; C-4^I), 72.22 (1C ; C-5^I), 71.93, 71.86, 71.54 (3C ; C-2^{III}, C-5^{II}, C-5^{III}), 71.34 (1C ; C-2^I), 70.41, 69.22 (2C ; C-2^{II}, C-3^{III}), 68.70 (1C ; C-4^{II}), 68.11 (1C ; C-4^{III}), 68.07 (1C ; OCH₂), 65.95 (1C ; CH₂-Ar), 63.38 (1C ; C-6^I), 62.00

(1C; C-6^{II}), 52.39 (1C; COOCH₃), 40.11 (1C; NCH₂), 37.02 (1C, CH₂CO), 28.68 (1C, COCH₃), 27.14 (1C, CH₂CO).

2-Benzoyloxycarbonylaminoéthyl *O*-(sodium-β-D-glucopyranosyluronate)-(1→3)-(β-D-galactopyranosyl)-(1→3)-sodium 4-*O*-sulfonato-β-D-galactopyranoside 280⁶³



Une solution de LiOOH préparée à 0°C à partir de LiOH (1 M, 0,5 mmol, 0,5 ml, 5 eq) et de H₂O₂ (30%, 250 µl) est ajoutée goutte à goutte à une solution refroidie à -10°C de trisaccharide **279** (167,1 mg, 0,1 mmol) dissous dans un mélange THF/H₂O (3 : 1 ; 2 ml). Le mélange réactionnel est ensuite agité 8h à TA puis refroidi à 0°C et une solution de NaOH (4M, 2 ml, 80 eq) est ajoutée et le mélange réactionnel est alors agité pendant 16h à TA puis dilué avec de l'eau (20 ml) et neutralisé avec de la résine amberlite IR-120[H⁺] jusqu'à pH 3,5 (contrôle pH-métrique). La solution est ensuite filtrée sur fritté et concentrée. Le solide est alors lavé plusieurs fois avec de l'EtOH puis dissous dans l'eau. Une solution de NaOH 0.1 M (1 ml, 10 eq) est ajoutée jusqu'à pH 8,5. Une purification sur colonne Sephadex LH-20 dans l'eau conduit au produit désiré sous la forme d'une poudre blanche (67,5 mg, 80%).

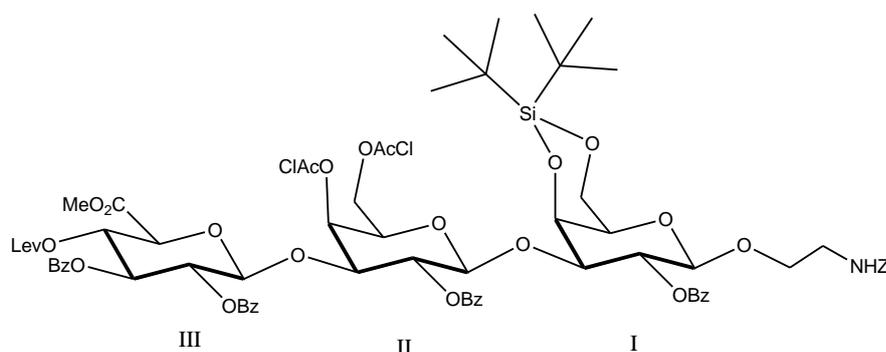
$[\alpha]_D^{20} = -14$ ($c=1,04$, H₂O)

HRMS : m/z : calculée pour C₂₈H₄₀O₂₂NS ([M+H-2Na]⁺) : 774,17682 ; trouvée : 774,17704 ; calculée pour C₂₈H₃₉O₂₂NNaS ([M-Na]⁺) : 796,15876 ; trouvée : 796,15884 ; calculée pour C₂₈H₃₉O₂₂NS ([M-2Na]²⁺) : 386,58477 ; trouvée : 386,58535

RMN ¹H (400 MHz, D₂O) : δ (ppm) 7.47-7.42 (m, 5H; Ar-H), 5.14 (s, 2H ; CH₂-Ar), 4.86 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz; H-4^I), 4.70 (d, 1H, $J_{1,2} = 7.5$ Hz ; H-1^{III}), 4.69 (d, 1H, $J_{1,2} = 7.5$ Hz ; H-1^{II}), 4.46 (d, 1H, $J_{1,2} = 7.5$, Hz ; H-1^I), 4.18 (dd, 1H, $J_{3,4} = 2.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz; H-4^{II}), 4.03-3.94 (m, 2H; H-3^I, OCH₂), 3.85-3.68 (m, 11H; H-2^I, H-2^{II}, H-3^{II}, H-5^I, H-5^{II}, H-5^{III}, H-6a^I, H-6b^I, H-6a^{II}, H-6b^{II}, OCH₂), 3.56-3.51 (m, 2H ; H-3^{III}, H-4^{III}), 3.45 (dd, 1H, $J_{2,3} = 9.0$ Hz ; H-2^{III}), 3.42-3.39 (m, 2H ; CH₂N).

RMN ¹³C (100 MHz, D₂O): δ (ppm) 177.63 (1C; C-6^{III}), 160.12 (1C; NHC(O)O), 138.21, 130.50, 130.08, 129.45, 129.40 (6C ; Ar-C), 105.65, 105.37 (2C; C-1^{II}, C-1^{III}), 104.45 (1C ; C-1^I), 84.03 (1C, C-3^{II}), 80.13 (1C; C-3^I), 79.11 (1C; C-4^I), 77.88, 76.99, 76.61, 76.18, 74.83, 73.47, 72.07, 71.84 (8C; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-3^{III}, C-4^{III}, C-5^I, C-5^{II}, C-5^{III}), 70.75 (1C; OCH₂), 70.08 (1C; C-4^{II}), 68.62 (CH₂-Ar), 62.76, 62.61 (2C; C-6^I, C-6^{II}), 42.18 (1C; CH₂N).

2-Benzoyloxycarbonylaminoéthyl *O*-(Méthyl 2,3-di-*O*-benzoyl-4-*O*-levulinoyl- β -D-glucopyranosyluronate)-(1 \rightarrow 3)-(2-*O*-benzoyl-4,6-di-chloroacéthyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-di-*tert*-butylsilylène- β -D-galactopyranoside
281⁶³



C₇₄H₈₃Cl₂NO₂₇Si
MW= 1517,433 g.mol⁻¹

Un mélange d'imidate **272** (158,5 mg, 0,15 mmol), d'accepteur **250** (133 mg, 0,22 mmol, 1,5 eq) et de tamis moléculaire 4Å activé en solution dans le DCM anhydre (2,5 ml) est agité à TA et sous argon pendant 40 min, puis le TMSOTf 1M dans le toluène (32,3 µl, 0,03 mmol, 0,2 eq/imidate) est ajouté et le mélange réactionnel est agité pendant 40 min, puis de la triéthylamine (40 µl) est ajoutée au mélange réactionnel. Après 5 min, le tamis est filtré puis rincé au DCM et le filtrat est concentré puis purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (DCM/acétone : 15/1 avec 0,1 % Et₃N). Le produit est obtenu pur sous la forme d'un solide blanc (68 mg, 49%).

$[\alpha]_D^{20} = +53$ ($c=1$, CHCl₃)

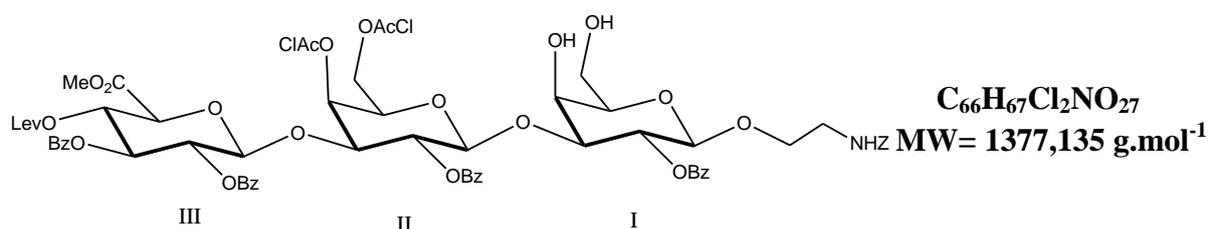
ES-SM : m/z 1518,5

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 7.78-6.97 (m, 25H ; Ar-*H*), 5.51 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.5$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^{II}), 5.43-5.33 (m, 3H ; H-2^I, H-3^{III}, H-4^{III}), 5.30 (m, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{3,2} = 10.5$ Hz ; H-2^{II}), 5.20 (dd, 1H, $J_{1,2} = 7.0$ Hz, $J_{2,3} = 8.5$ Hz ; H-2^{III}), 5.07 (m, 1H ; NH), 4.94 (ABq, 2H ; CH₂-Ar), 4.92 (d, 1H ; H-1^{II}), 4.69 (d, 1H, $J_{1,2} = 7.0$ Hz ; H-1^{III}), 4.61 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^I), 4.38 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz ; H-1^I), 4.26-4.05 (m, 9H ; H-3^{II}, H-6a^I, H-6b^I, H-6a^{II}, H-6b^{II}, 2 CH₂Cl), 4.02 (d, 1H, $J_{4,5} = 10.0$ Hz ; H-5^{III}), 3.91 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 6.0$ Hz, $J_{5,6b} = 7.0$ Hz ; H-5^{II}), 3.79 (s, 3H ; COOCH₃), 3.78-3.70 (m, 2H ; H-3^I, OCH₂), 3.54-3.49 (m, 1H ; OCH₂), 3.39-3.36 (m, 1H ; H-5^I), 3.23-3.20 (m, 2H ; NCH₂), 2.62-2.42 (m, 3H ; CH₂CO), 2.35-2.27 (m, 1H ; CH₂CO), 2.02 (s, 3H ; COCH₃), 1.02, 0.99 (2s, 18H ; 2 x C(CH₃)₃).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 205.59 (1C ; COCH₃), 170.88, 166.85, 166.68, 165.38, 164.69, 164.43, 163.97, 156.25 (9C ; C-6^{III}, C=O), 136.57, 133.33, 132.81, 132.69, 132.62, 129.71, 129.67, 129.48, 129.42, 129.30, 129.10, 128.52, 128.50, 128.43, 128.27,

128.14, 128.04, 127.99, 127.93, 127.75, 127.69 (30C ; Ar-C), 101.52 (1C; C-1^I), 101.23 (1C; C-1^{II}), 100.63 (1C; C-1^{III}), 79.13 (1C; C-3^I), 75.86 (1C; C-3^{II}), 72.74 (1C; C-4^I), 72.52 (1C; C-5^{III}), 71.74, 71.42, 71.23, 70.97, 70.76, 70.72, 69.43, 69.23 (8C; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-3^{III}, C-4^{II}, C-4^{III}, C-5^I, C-5^{II}), 68.70 (1C; OCH₂), 66.72 (1C; C-6^{II}), 66.25 (1C; CH₂-Ar), 66.46 (1C; C-6^I), 52.07 (1C; COOCH₃), 40.77, 40.60, 40.57 (3C; CH₂Cl, NCH₂), 37.47 (1C, CH₂CO), 29.45 (1C, COCH₃), 27.49 (1C, CH₂CO), 27.40, 27.17 (6C; 2 x C(CH₃)₃), 23.20, 20.51 (2C; 2 x C(CH₃)₃).

2-Benzoyloxycarbonylaminoéthyl O-(Méthyl 2,3-di-O-benzoyl-4-O-levulinoyl-β-D-glucopyranosyluronate)-(1→3)-(2-O-benzoyl-4,6-di-O-chloroacétyl-β-D-galactopyranosyl)-(1→3)- 2-O-benzoyl-β-D-galactopyranoside 283⁶³



Au Silylène acétal **281** (473,5 g, 0,31 mmol) dissous dans le THF anhydre (5 ml) est ajouté à 0°C la Et₃N-3HF (132 µl, 0,81 mmol, 2,6 eq). Le mélange réactionnel est agité sous argon pendant 6 h puis, le THF est évaporé et le résidu dilué avec du DCM (10 ml), lavé successivement avec du NaHCO₃ saturé, de l'eau, séché sur MgSO₄ et concentré. Le produit est obtenu pur sous la forme d'un solide blanchâtre (348,5 mg, 81%).

Pf = 230-232°C (Ethanol à chaud)

$[\alpha]_D^{20} = +48$ ($c=1$, CHCl₃)

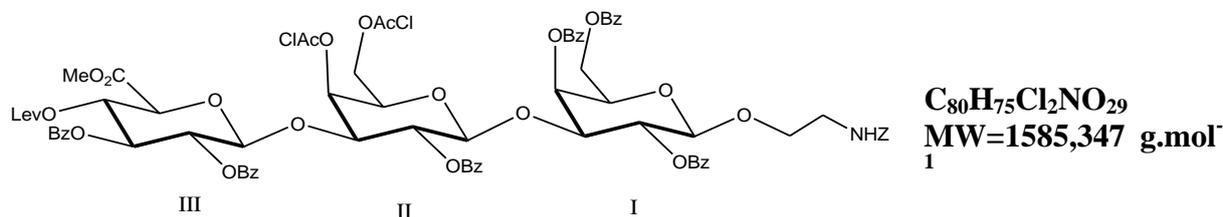
HRMS : m/z : calculée pour C₆₆H₆₈Cl₂NO₂₇ ([M+H]⁺) : 1376,33503 ; trouvée : 1376,33502, calculée pour C₆₆H₆₇Cl₂NNaO₂₇ ([M+Na]⁺) : 1398,31697 ; trouvée : 1398,31702

Analyse élémentaire calculée pour C₆₆H₆₇Cl₂NO₂₇ : C, 57.56; H, 4.90; N, 1.02; trouvée : C, 57.31 ; H, 4.93 ; N, 0.94

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 7.78-7.01 (m, 25H ; Ar-H), 5.54 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^{II}), 5.42-5.34 (m, 2H ; H-3^{III}, H-4^{III}), 5.32-5.27 (m, 2H ; H-2^I, H-2^{II}), 5.20-5.13 (m, 2H ; H-2^{III}, NH), 4.93 (ABq, 2H ; CH₂-Ar), 4.73, 4.71 (2d, 2H, $J_{1,2} = 7.0$ Hz ; H-1^{II}, H-1^{III}), 4.41 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz ; H-1^I), 4.35-4.26 (m, 2H ; H-6a^{II}, H-6b^{II}), 4.26 (ABq, 2H ; CH₂Cl), 4.13 (s, 2H ; CH₂Cl), 4.13-4.10 (m, 2H ; H-3^{II}, H-4^I), 4.05-3.92 (m, 3H ; H-5^{II}, H-5^{III}, H-6a^I), 3.84 (dd, 1H, $J_{2,3} = 9.5$ Hz, $J_{3,4} = 3.0$ Hz ; H-3^I), 3.79 (s, 3H ; COOCH₃), 3.79-3.70 (m, 2H ; H-6b^I, OCH₂), 3.62-3.52 (m, 2H ; H-5^I, OCH₂), 3.26-3.17 m, 2H ; NCH₂), 2.80 (s, 1H ; HO-4), 2.63-2.43 (m, 4H ; HO-6, CH₂CO), 2.34-2.27 (m, 1H ; CH₂CO), 2.01 (s, 3H ; COCH₃).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 206.30 (1C ; COCH_3), 170.95, 167.07, 166.97, 166.84, 165.36, 164.75, 164.49, 164.47 (9C; C-6^{III}, C=O), 156.55, 136.22, 133.28, 132.79, 132.76, 132.62, 129.40, 129.11, 129.06, 128.99, 128.97, 128.91, 128.78, 128.10, 128.04, 127.94, 127.88, 127.83, 127.69, 127.64, 127.47 (30C; Ar-C), 101.45, 101.18, 100.42 (3C; C-1^I, C-1^{II}, C-1^{III}), 80.26 (1C; C-3^I), 75.35 (1C; C-3^{II}), 74.47 (1C; C-5^I), 72.18, 71.86, 71.58, 71.09, 70.69, 70.65, 70.50, 69.05 68.36, (9C; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-3^{III}, C-4^I, C-4^{II}, C-4^{III}, C-5^{II}, C-5^{III}), 68.25 (1C; OCH_2), 66.14 (1C; $\text{CH}_2\text{-Ar}$), 63.08 (1C; C-6^{II}), 60.87 (1C; C-6^I), 52.92 (1C; COOCH_3), 40.45, 40.35, 40.29 (3C; CH_2Cl , NCH_2), 37.21 (1C, CH_2CO), 29.10 (1C, COCH_3), 27.26 (1C, CH_2CO).

2-Benzyloxycarbonylaminoéthyl *O*-(Méthyl 2,3-di-*O*-benzoyl-4-*O*-levulinoyl- β -D-glucopyranosyluronate)-(1 \rightarrow 3)-(2-*O*-benzoyl-4,6-di-*O*-chloroacéthyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)- 2,4,6-tri-*O*-benzoyl- β -D-galactopyranoside **284⁶³**



Protocole A :

Un mélange d'imidate **272** (1,05 g, 0,97 mmol), d'accepteur **287** (0,98 g, 1,46 mmol, 1,5 eq) et de tamis moléculaire 4Å activé en solution dans le DCM anhydre (10 ml) est agité à TA et sous argon pendant 40 min, puis le TMSOTf 1M dans le toluène (117 μl , 0,12 mmol, 0,12 eq/imidate) est ajouté et le mélange réactionnel est agité pendant 40 min, puis de la triéthylamine (160 μl) est ajoutée au mélange réactionnel. Après 5 min, le tamis est filtré puis rincé au DCM et le filtrat est concentré puis purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (EP/AcOEt : 2/3 avec 0,1 % Et_3N). Le produit est obtenu pur sous la forme d'un solide blanc (0,82 g, 53%).

Pf= 165-168°C

$[\alpha]_D^{20} = +48,5$ ($c=1$, CHCl_3)

HRMS: m/z : calculée pour $\text{C}_{80}\text{H}_{76}\text{Cl}_2\text{NO}_{29}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$): 1584,38746 ; trouvée : 1584,38355, calculée pour $\text{C}_{80}\text{H}_{79}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_{29}$ ($[\text{M}+\text{NH}_4]^+$): 1601,41401 ; trouvée : 1601,40899, calculée pour $\text{C}_{80}\text{H}_{75}\text{Cl}_2\text{NNaO}_{29}$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$): 1606,36940 ; trouvée : 1606,37004

Analyse élémentaire calculée pour $\text{C}_{80}\text{H}_{75}\text{Cl}_2\text{NO}_{29}$: C, 60.61; H, 4.77; N, 0.88; trouvée : C, 59.60 ; H, 4.73 ; N, 0.87

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 8.05-6.96 (m, 35H ; Ar-H), 5.76 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1\text{Hz}$; H-4^I), 5.45 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1\text{Hz}$; H-4^{II}), 5.42 (dd, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 9.5$ Hz ; H-2^I), 5.36-5.33 (m, 2H ; H-3^{III}, H-4^{III}), 5.16-5.11 (m, 2H ; H-2^{II}, H-2^{III}),

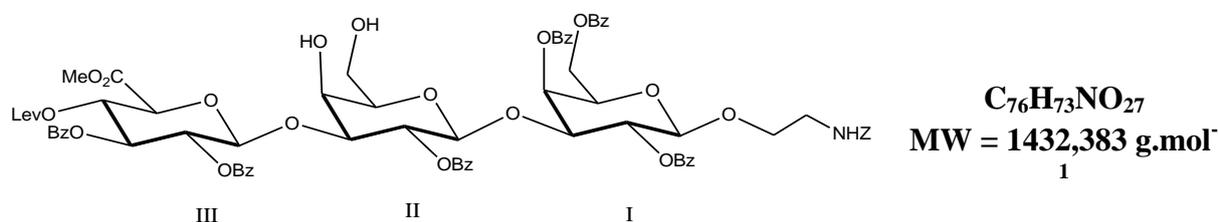
5.00-4.96 (m, 1H ; NH), 4.88 (ABq, 2H ; CH₂-Ar), 4.74 (d, 1H, $J_{1,2}$ = 8.0 Hz, H-1^{II}), 4.65 (d, 1H, $J_{1,2}$ = 7.5 Hz ; H-1^{III}), 4.56 (dd, 1H, $J_{5,6a}$ = 5.0 Hz, $J_{6a,6b}$ = 12.0 Hz ; H-6a^I), 4.51 (d, 1H ; H-1^I), 4.40-4.35 (m, 1H ; H-6b^I), 4.20-4.17 (m, 2H ; H-6a^{II}, H-6b^{II}), 4.14 (sl, 2H ; CH₂Cl), 4.11-4.05 (m, 2H ; H-3^{II}, H-5^I), 4.03-3.98 (m, 2H ; H-3^I, H-5^{III}), 3.97 (ABq, 2H ; CH₂Cl), 3.93-3.90 (m, 1H ; H-5^{II}), 3.80-3.76 (m, 1H ; OCH₂), 3.77 (s, 3H ; COOCH₃), 3.55-3.50 (m, 1H ; OCH₂), 3.29-3.14 (m, 2H ; NCH₂), 2.63-2.61 (m, 3H, CH₂CO), 2.33-2.26 (m, 1H, CH₂CO), 2.00 (s, 3H, COCH₃).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 205.57 (1C; COCH₃), 170.87, 166.935, 166.82, 166.69, 166.17, 165.88, 165.38, 164.59, 164.36, 163.57, 156.19 (11C, C-6^{III} ; C=O), 136.51, 133.16, 133.10, 132.93, 132.58, 130.10, 129.69, 129.64, 129.58, 129.46, 129.33, 129.03, 128.50, 128.45, 128.42, 128.39, 128.37, 128.33, 128.27, 128.23, 127.95, 127.85 (42C; Ar-C), 101.36 (1C; C-1^{III}), 101.03 (1C; C-1^I), 100.52 (1C; C-1^{II}), 77.02 (1C; C-3^I), 75.52 (1C; C-3^{II}), 72.55 (1C; C-5^{III}), 72.02, 71.73 (2C; C-2^I, C-5^I), 71.29, 71.24, 70.72, 70.69 (4C; C-2^{II}, C-2^{III}, C-4^{II}, C-5^{II}), 70.57 (1C; C-4^I), 70.07, 69.20 (2C; C-3^{III}, C-4^{III}), 68.92 (1C; OCH₂), 66.34 (1C; CH₂-Ar), 63.25, 63.13 (2C; C-6^I, C-6^{II}), 53.10 (1C; COOCH₃), 40.71 (2C; CH₂Cl), 40.48 (1C; NCH₂), 37.50 (1C, CH₂CO), 29.47 (1C, COCH₃), 27.50 (1C, CH₂CO).

Protocole B:

Un mélange d'imidate **286** (78,7 mg, 52,6 μmol), d'accepteur éthanolamine 2-benzyloxycarbonate (20,53 mg, 105 μmol, 2 eq) et de tamis moléculaire 4Å activé en solution dans le DCM anhydre (1 ml) est agité à TA et sous argon pendant 1h, puis le TMSOTf 1M dans le toluène (13 μl, 13,1 μmol, 0,25 eq/imidate) est ajouté et le mélange réactionnel est agité pendant 40 min, puis de la triéthylamine (20 μl) est ajoutée au mélange réactionnel. Après 5 mn, le tamis est filtré puis rincé au DCM et le filtrat est concentré puis purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (DCM/acétone : 12/1 avec 0,1 % Et₃N). Le produit est obtenu pur sous la forme d'une poudre blanche (46,6 mg, 56%).

2-Benzyloxycarbonylaminoéthyl O-(Méthyl 2,3-di-O-benzoyl-4-O-levulinoyl-β-D-glucopyranosyluronate)-(1→3)-(2-O-benzoyl-β-D-galactopyranosyl)-(1→3)- 2,4,6-tri-O-benzoyl-β-D-galactopyranoside **285⁶³**



Le trisaccharide **284** (639 mg, 0,4 mmol) et la thiourée (123 mg, 1,6 mmol, 4 eq) dissous dans l'éthanol et la pyridine (1 : 1 ; 9 ml) sont agités à 80°C pendant 2h. Le mélange réactionnel est ensuite concentré puis dilué avec du CH₂Cl₂, la phase organique est lavée successivement avec de l'eau, du NaCl saturé, de l'eau, puis séchée sur MgSO₄ et co-évaporée au toluène. Le résidu brut est alors purifié par flash chromatographie sur colonne de

gel de silice (DCM/acétone : 5/1). Le produit est obtenu pur sous la forme d'une mousse jaune pâle (443 mg, 77%).

Pf = 188-190°C (EP/AcOEt)

$[\alpha]_D^{20} = +44$ ($c=1$, CHCl_3)

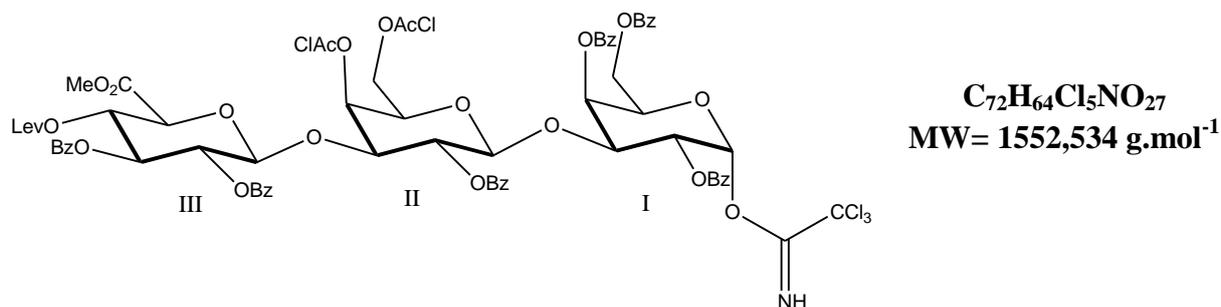
HRMS : m/z : calculée pour $\text{C}_{76}\text{H}_{74}\text{NO}_{27}$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$): 1432,44427, calculée pour $\text{C}_{76}\text{H}_{77}\text{N}_2\text{O}_{27}$ ($[\text{M}+\text{NH}_4]^+$): 1449,47082 ; trouvée : 1449,47202, calculée pour $\text{C}_{76}\text{H}_{73}\text{NNaO}_{27}$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$): 1454,42622 ; trouvée : 1454,42746

Analyse élémentaire calculée pour $\text{C}_{76}\text{H}_{73}\text{NO}_{27}$: C, 63.73; H, 5.14; N, 0.98; trouvée : C, 62.79 ; H, 5.07 ; N, 0.89

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 8.11-6.88 (m, 35H ; Ar-H), 5.90 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^I), 5.49 (dd, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 9.5$ Hz ; H-2^I), 5.42 (dd, 1H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.0$ Hz ; H-3^{III}), 5.34 (dd, 1H, $J_{4,5} = 9.0$ Hz ; H-4^{III}), 5.24-5.20 (m, 2H ; H-2^{II}, H-2^{III}), 5.01-4.91 (m, 2H ; NH, CH_2 -Ar), 4.82-4.79 (m, 2H ; H-1^{II}, CH_2 -Ar), 4.72 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, H-1^{III}), 4.52-4.48 (m, 2H ; H-1^I, H-6a^I), 4.40-4.36 (m, 1H ; H-6b^I), 4.10 (d, 1H, $J_{4,5} = 9.0$ Hz ; H-5^{III}), 4.09-4.03 (m, 3H ; H-3^I, H-4^{II}, H-5^I), 3.88-3.83 (m, 2H ; H-3^{II}, H-6a^{II}), 3.80-3.77 (m, 1H ; OCH_2), 3.72 (sl, 3H ; COOCH_3), 3.67-3.64 (m, 1H ; H-6b^{II}), 3.60-3.58 (m, 1H ; H-5^{II}), 3.53-3.48 (m, 1H ; OCH_2), 3.27-3.15 (m, 2H ; NCH_2), 2.98 (s, 1H ; HO-4), 2.63-2.43 (m, 3H ; HO-6, CH_2CO), 2.35-2.28 (m, 1H ; CH_2CO), 2.01 (s, 3H, COCH_3).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 205.60 (1C ; COCH_3), 171.03, 167.22, 167.13, 166.11, 165.33, 164.74, 164.54, 163.85, 156.18 (9C ; C-6^{III}, C=O), 136.51, 133.53, 133.32, 133.15, 132.73, 132.64, 132.23, 130.23, 129.67, 129.62, 129.46, 129.23, 128.99, 128.86, 128.57, 128.48, 128.45, 128.36, 128.31, 128.26, 128.04, 127.96, 127.84, 127.72 (35C ; Ar-C), 101.96 (1C ; C-1^{III}), 101.55 (1C ; C-1^I), 100.81 (1C ; C-1^{II}), 80.21 (1C ; C-3^{II}), 78.38 (1C ; C-3^I), 72.27 (1C ; C-5^{II}), 72.27 (1C ; C-5^{III}), 71.73, 71.58, 71.24, 70.95 (4C ; C-2^I, -2^{II}, C-2^{III}, C-3^{III}), 70.23 (1C ; C-4^I), 69.11, 69.02, 68.95 (3C ; C-4^{II}, C-4^{III}, C-5^I), 66.30 (1C ; OCH_2), 62.88 (1C ; CH_2 -Ar), 62.82 (1C ; C-6^I), 62.63 (1C ; C-6^{II}), 53.76 (1C ; COOCH_3), 40.65 (1C ; NCH_2), 37.46 (1C, CH_2CO), 29.48 (1C, COCH_3), 27.51 (1C, CH_2CO).

***O*-(Méthyl 2,3-di-*O*-benzoyl-4-*O*-levulinoyl- β -D-glucopyranosyluronate)-(1 \rightarrow 3)-(2-*O*-benzoyl-4,6-di-*O*-chloroacétyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-tri-*O*-benzoyl-1-*O*-trichloroacétimidoyl- α -D-galactopyranose 286⁶³**



A une solution de trisaccharide **290** (143 mg, 0,1 mmol) dissous dans un mélange toluène/acétonitrile/eau (1 : 1,5 : 1 ; 7 ml) est ajouté le CAN (268 mg, 0,5 mmol, 5 eq). Le mélange réactionnel est agité vigoureusement à TA pendant 30 min, puis versé dans de l'eau glacée (10 ml). La phase aqueuse est extraite avec de l'AcOEt (3 fois), les phases organiques sont lavées successivement avec de l'eau, du NaCl saturé, de l'eau puis séchées sur MgSO₄ et concentrées sous pression réduite. Le résidu est purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (DCM/acétone : 12/1) pour donner l'hémiacétal **292** et le produit de migration **291** qui est traité avec du DBU sous argon pour redonner après purification sur colonne de gel de silice (DCM/acétone : 12/1) l'hémiacétal désiré **292** sous la forme d'une mousse orange pâle.

L'hémiacétal **292** (129,5 mg, 96 μmol) est dissous dans le DCM anhydre (1,3 ml) à TA et sous argon. Le Cl₃C-CN (192 μl, 1,9 mmol, 20 eq) et le DBU 1M dans le toluène (19,2 μl, 19,2 μmol, 0,2 eq) sont ajoutés successivement. Le mélange réactionnel est agité pendant 30 minutes, puis concentré et purifié immédiatement par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (EP/AcOEt : 1/1 avec 0,1% Et₃N). L'imidate **286** est obtenu pur sous la forme d'une poudre blanche (94 mg, 38% sur les 2 étapes).

Pf = 187-189°C (EP/ACOEt)

$[\alpha]_D^{20} = +69$ ($c=1$, CHCl₃)

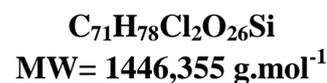
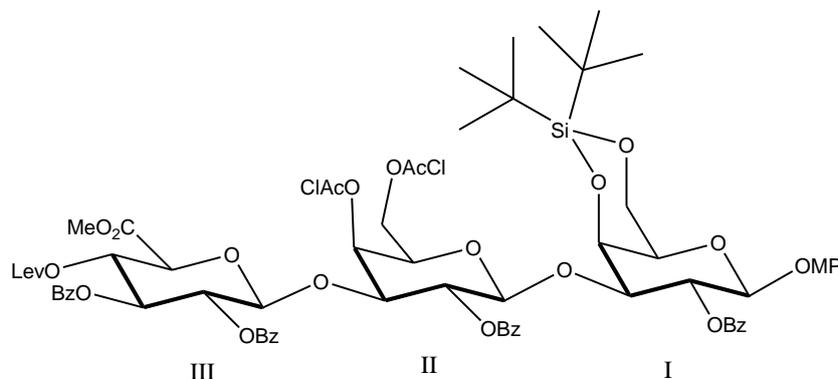
HRMS : m/z : calculée pour C₇₂H₆₄Cl₂NNaO₂₇ ([M+Na]⁺) : 1572,20006; trouvée : 1572,19878

Analyse élémentaire calculée pour C₇₂H₆₄Cl₅NO₂₇ : C, 55.70; H, 4.16; N, 0.90; trouvée : C, 55.31 ; H, 4.11 ; N, 0.81

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 8.43 (s, 1H ; C=NH), 8.05-6.91 (m, 30H ; Ar-H), 6.65 (d, 1H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz ; H-1^I), 5.94 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^I), 5.63 (dd, 1H, $J_{2,3} = 10.0$ Hz ; H-2^I), 5.50 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^{II}), 5.39-5.32 (m, 2H ; H-3^{III}, H-4^{III}), 5.20-5.12 (m, 2H ; H-2^{II}, H-2^{III}), 4.88 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz ; H-1^{II}), 4.69 (d, 1H, $J_{1,2} = 7.0$ Hz ; H-1^{III}), 4.62 (ddd, 1H, $J_{5,6a} = 7.0$ Hz, $J_{5,6b} = 4.5$ Hz ; H-5^I), 4.56 (dd, 1H, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz ; H-6a^I), 4.48 (dd, 1H ; H-3^I), 4.34 (dd, 1H ; H-6b^I), 4.26-4.22 (m, 2H ; H-6a^{II}, H-6b^{II}), 4.16 (s, 2H ; CH₂Cl), 4.07-3.99 (m, 3H ; H-3^{II}, H-5^{II}, H-5^{III}), 4.00 (ABq, 2H ; CH₂Cl), 3.79 (s, 3H ; COOCH₃), 2.64-2.42 (m, 3H ; CH₂CO), 2.34-2.27 (m, 1H ; CH₂CO), 2.01 (s, 3H ; COCH₃).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 205.55 (1C ; COCH_3), 170.88, 166.99, 166.83, 166.69, 166.04, 165.82, 165.39, 164.82, 164.36, 163.60, 160.127 (11C ; C-6^{III}, C=O, C=N), 133.35, 133.20, 133.12, 133.05, 132.76, 132.65, 130.07, 129.71, 129.64, 129.59, 129.46, 129.43, 128.94, 128.63, 128.51, 128.47, 128.37, 128.29, 128.24, 128.17, 127.98, 127.96 (36C ; Ar-C), 101.26 (1C; C-1^{II}), 100.58 (1C; C-1^{III}), 93.51 (1C; C-1^I), 75.67 (1C; C-3^{II}), 74.07 (1C; C-3^I), 72.61, 71.74, 71.30, 70.84, 70.75, 70.57, 70.49, 70.30, 69.19, 69.13 (10C; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-3^{III}, C-4^I, C-4^{II}, C-4^{III}, C-5^I, C-5^{II}, C-5^{III}), 63.34, 63.23 (2C; C-6^I, C-6^{II}), 53.13 (1C; COOCH_3), 40.70, 40.50 (2C; CH_2Cl), 37.53 (1C; CH_2CO), 29.49 (1C; COCH_3), 27.52 (1C; CH_2CO).

4-Méthoxyphényl *O*-(Méthyl 2,3-di-*O*-benzoyl-4-*O*-levulinoyl- β -D-glucopyranosyluronate)-(1 \rightarrow 3)-(2-*O*-benzoyl-4,6-di-*O*-chloroacétyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-di-*tert*-butylsilylène- β -D-galactopyranoside
288⁶³



Une solution d'imidate **272** (1,34g, 1,24 mmol), d'alcool **249** (1 g, 1,88 mmol, 1,5 eq) et de tamis moléculaire 4Å activé est agitée à TA et sous argon dans le DCM anhydre (20 ml) pendant 40 min. Le TMSOTf 99% (60 μ l, 0,31 mmol, 0,25 eq) est alors ajouté et le mélange réactionnel est agité pendant 40 min. Enfin, la triéthylamine (220 μ l) est ajoutée au mélange réactionnel. Après 5 min, le tamis est filtré puis rincé au DCM et le filtrat est concentré puis purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (DCM/acétone : 22/1 avec 0,1 % de Et₃N). Le produit est obtenu pur sous la forme d'une mousse blanche (1,10 g, 61%).

$$[\alpha]_D^{20} = +64,5 \text{ (} c=1, \text{CHCl}_3 \text{)}$$

HRMS : m/z : calculée pour C₇₁H₈₂Cl₂O₂₆NSi ([M+NH₄]⁺):1462,42659 ; trouvée : 1462,42557, calculée pour C₇₁H₇₈Cl₂O₂₆NaSi ([M+Na]⁺): 1467,38199 ; trouvée : 1467,37916, calculée pour C₇₁H₇₉Cl₂O₂₆Si ([M+H]⁺): 1445,40004, trouvée : 1445,40082

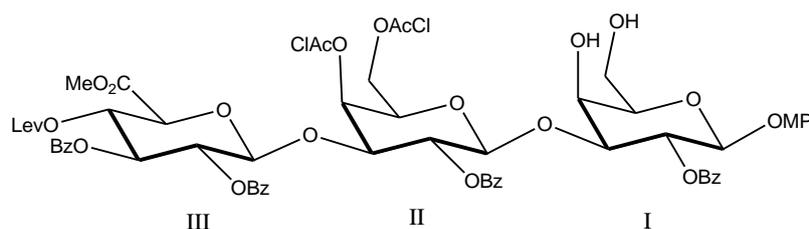
Analyse élémentaire calculée pour C₇₁H₇₈Cl₂O₂₆Si : C, 58.96; H, 5.44; trouvée : 58,57 ; H, 5,68

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 7.87-6.65 (m, 24H ; Ar-H), 5.63 (dd, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 9.5$ Hz ; H-2^I), 5.52 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^{II}), 5.43-5.31 (m, 3H ; H-2^{II}, H-3^{III}, H-4^{III}), 5.20 (dd, 1H, $J_{1,2} = 7.5$ Hz, $J_{2,3} = 9.0$ Hz ; H-2^{III}), 4.94 (d, 1H, $J_{1,2} = 7.5$ Hz ; H-1^{II}), 4.81 (d, 1H ; H-1^I), 4.70 (d, 1H ; H-1^{III}), 4.66 (dd, 1H, $J_{3,4} = 2.5$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^I), 4.25-4.20 (m, 4H ; H-6a^I, H-6b^I, H-6a^{II}, H-6b^{II}), 4.15 (ABq, 2H ; CH₂Cl), 4.10 (s, 2H ; CH₂Cl), 4.07 (dd, 1H, $J_{2,3} = 10.0$ Hz ; H-3^{II}), 4.01 (d, 1H, $J_{4,5} = 9.0$ Hz ; H-5^{III}), 3.94-3.91 (m, 1H ; H-5^{II}), 3.87 (dd, 1H ; H-3^I), 3.79 (s, 3H ; COOCH₃), 3.69 (s, 3H ; OCH₃), 3.47-3.44 (m, 1H ; H-5^I), 2.62-2.43 (m, 3H ; CH₂CO), 2.35-2.27 (m, 1H ; CH₂CO), 2.01 (s, 3H ; COCH₃), 1.04, 1.03 (2s, 18H ; 2 x C(CH₃)₃).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 205.56 (1C ; COCH₃), 170.91, 166.89, 166.72, 166.70, 165.41, 164.56, 164.48, 164.02 (8C ; C-6^{III}, C=O), 155.45, 151.40, 133.36, 132.86, 132.67, 129.72, 129.55, 129.36, 129.20, 128.60, 128.49, 128.30, 128.16, 128.04, 128.00, 119.48, 114.19 (30C ; Ar-C), 101.70 (1C ; C-1^I), 101.27 (1C ; C-1^{II}), 100.65 (1C ; C-1^{III}),

79.22 (1C; C-3^I), 75.84 (1C; C-3^{II}), 72.73, 72.57 (2C; C-4^I, C-5^{III}), 71.79, 71.49, 71.27, 71.03, 70.82, 70.77, 69.27 (8C; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-3^{III}, C-4^{II}, C-4^{III}, C-5^I, C-5^{II}), 66.84, 63.48 (2C; C-6^I, C-6^{II}), 55.49 (1C; OCH₃), 53.09 (1C; COOCH₃), 40.60 (2C; CH₂Cl), 37.51 (1C; CH₂CO), 29.49 (1C; COCH₃), 27.53 (1C; CH₂CO), 27.41, 27.30 (6C; 2 x C(CH₃)₃), 23.25, 20.63 (2C; 2 x C(CH₃)₃).

4-Méthoxyphényl O-(Méthyl 2,3-di-O-benzoyl-4-O-levulinoyl-β-D-glucopyranosyluronate)-(1→3)-(2-O-benzoyl-4,6-di-O-chloroacétyl-β-D-galactopyranosyl)-(1→3)-2-O-benzoyl-β-D-galactopyranoside 289⁶³



C₆₃H₆₂Cl₂O₂₆
MW= 1306,057 g.mol⁻¹

Au silylène acétal **288** (1,10 g, 0,76 mmol) dissous dans le THF anhydre (10 ml) à 0°C et sous argon, est ajoutée la Et₃N-3HF (0,52 ml, 3,04 mmol, 4 eq). Le mélange réactionnel est agité de 0°C à TA pendant 4h. Le THF est ensuite concentré sous pression réduite et le résidu dilué avec du DCM. La phase organique est lavée successivement avec de l'eau, du NaHCO₃ saturé, de l'eau, séchée sur MgSO₄ et concentrée sous pression réduite. Le résidu est purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (DCM/MeOH : 22/1) pour donner le produit pur sous la forme d'un solide blanchâtre (0,87 g, 88 %).

$[\alpha]_D^{20} = +66$ (c=1, CHCl₃)

HRMS *m/z* : calculée pour C₆₃H₆₂Cl₂O₂₆Na ([M+Na]⁺): 1327.27986; trouvée : 1327,28076

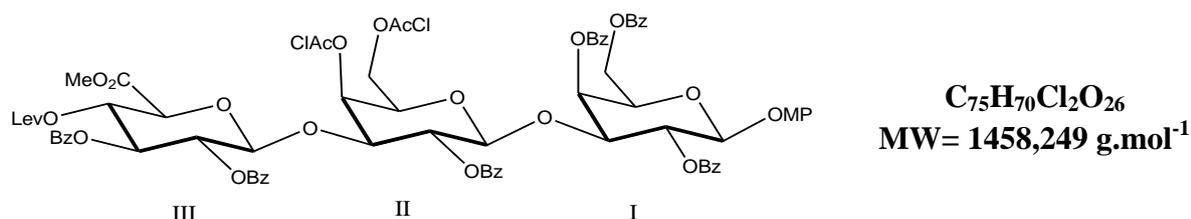
Analyse élémentaire calculée pour C₆₃H₆₂Cl₂O₂₆ : C, 57.94; H, 4.78; trouvée : C, 48,34 ; H, 4,40

RMN ¹H (400 MHz, MeOD, CDCl₃) : δ (ppm) 7.79-6.65 (m, 24H ; Ar-H), 5.54 (dd, 1H, *J*_{1,2}= 8.0Hz, *J*_{2,3}= 9.5 Hz ; H-2^I), 5.52 (dd, 1H, *J*_{3,4}= 3.0 Hz, *J*_{4,5}<1Hz ; H-4^{II}), 5.42-5.36 (m, 2H ; H-3^{III}, H-4^{III}), 5.33 (dd, 1H, *J*_{1,2}= 8.0 Hz, *J*_{2,3}= 10.0 Hz ; H-2^{II}), 5.18 (dd, 1H, *J*_{1,2}=7.5 Hz, *J*_{2,3}= 9.0 Hz ; H-2^{III}), 4.87 (d, 1H; H-1^I), 4.75 (d, 1H ; H-1^{II}), 4.71 (d, 1H ; H-1^{III}), 4.33-4.28 (m, 2H ; H-6a^{II}, H-6b^{II}), 4.27 (ABq, 2H; CH₂Cl), 4.17 (dd, 1H, *J*_{3,4}= 3.0 Hz ; H-4^I), 4.14 (s, 2H ; CH₂Cl), 4.12 (dd, 1H; H-3^{II}), 4.04-4.01 (m, 2H ; H-5^{II}, H-5^{III}), 3.98 (dd, 1H, *J*_{5,6a}= 4.5 Hz, *J*_{6a,6b}= 12.5 Hz ; H-6a^I), 3.90 (dd, 1H ; H-3^I), 3.89-3.81 (m, 2H ; H-5^I, H-6b^I), 3.79 (s, 3H ; COOCH₃), 3.68 (s, 3H ; OCH₃), 2.96 (s, 1H ; HO-4), 2.63-2.42 (m, 3H ; CH₂CO), 2.36-2.27 (m, 2H ; CH₂CO, HO-6), 2.01 (s, 3H ; COCH₃).

RMN ¹³C (100 MHz, MeOD, CDCl₃) : δ (ppm) 206.46 (1C ; COCH₃), 171.09, 167.99, 167.92, 167.04, 165.19, 164.84, 164.65, 164.44 (8C ; C-6^{III}, C=O), 151.00, 145.48, 133.05, 132.57, 132.53, 132.51, 129.12, 128.85, 128.69, 127.97, 127.86, 127.74, 127.71, 127.63,

127.60, 117.96, 113.85 (30C ; Ar-C), 101.32 (1C; C-1^{III}), 100.92 (1C;C-1^I), 100.19 (1C ; C-1^{II}), 80.31 (1C; C-3^I), 74.66, 71.89, 70.97, 70.51, 70.34, 70.18, 67.99 (11C; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-3^{II}, C-3^{III}, C-4^I, C-4^{II}, C-4^{III}, C-5^I, C-5^{II}, C-5^{III}), 63.01 (1C; C-6^{II}), 60.41 (1C; C-6^I), 54.83 (1C; OCH₃), 52.55 (1C; COOCH₃), 40.12, 40.04 (2C; CH₂Cl), 36.93 (1C; CH₂CO), 28.60 (1C; COCH₃), 27.06 (1C; CH₂CO).

4-Méthoxyphényl *O*-(Méthyl 2,3-di-*O*-benzoyl-4-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyluronate)-(1→3)-(2-*O*-benzoyl-4,6-di-*O*-chloroacétyl-β-D-galactopyranosyl)-(1→3)-2,4,6-tri-*O*-benzoyl-β-D-galactopyranoside 290⁶³



Un mélange de diol **289** (153 mg, 0,12 mmol) et de chlorure de benzoyle (55 μml, 0,48 mmol, 4 eq) dans le DCM et la pyridine anhydres (1 : 1 ; 3 ml), est agité à 0°C et sous argon pendant 1h. Du MeOH (0,5 ml) est ajouté à 0°C et le mélange réactionnel est agité pendant 15 min sous argon, puis dilué avec du CH₂Cl₂, lavé successivement avec de l'eau, du NaHCO₃ saturé, de l'eau. La phase organique est séchée sur MgSO₄ et concentrée. Le résidu est purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (DCM/acétone : 19/1). Le produit pur est obtenu sous la forme d'un solide blanchâtre (143 mg, 83%).

Pf: 179-180°C (EP/ACOEt)

$[\alpha]_D^{20} = +58$ ($c=1$, CHCl₃)

HRMS : m/z : calculée pour C₇₀H₆₃Cl₂O₂₆ ([M-C₅H₇]): 1389,29791; trouvée : 1389,29755

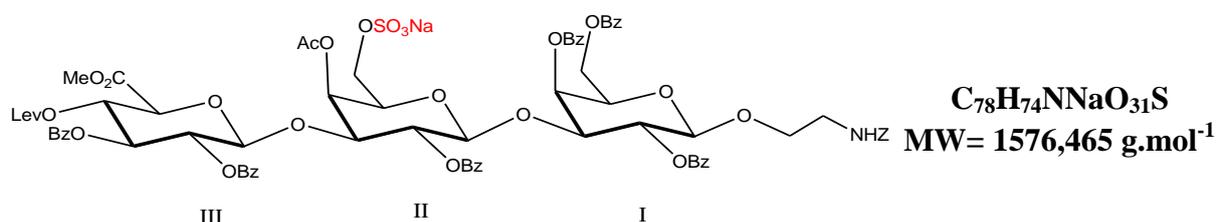
Analyse élémentaire calculée pour C₇₅H₇₀Cl₂O₂₆ : C, 61.77; H, 4.84; trouvée : C, 60,39 ; H, 4,92

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 8.09-6.48 (m, 34H ; Ar-*H*), 5.79 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^I), 5.69 (dd, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 9.0$ Hz ; H-2^I), 5.45 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^{II}), 5.39-5.30 (m, 2H ; H-3^{III}, H-4^{III}), 5.20-5.12 (m, 2H ; H-2^{II}, H-2^{III}), 4.94 (d, 1H; H-1^I), 4.77 (d, 1H, $J_{1,2} = 7.5$ Hz ; H-1^{II}), 4.69-4.65 (m, 1H ; H-6a^{II}), 4.66 (d, 1H, $J_{1,2} = 7.0$ Hz ; H-1^{III}), 4.42-4.35 (m, 1H ; H-6b^{II}), 4.22-4.16 (m, 4H ; H-3^I, H-5^{II}, H-6a^I, H-6b^I), 4.16 (s, 2H ; CH₂Cl), 4.04 (dd, 1H, $J_{2,3} = 10.0$ Hz ; H-3^{II}), 3.99 (d, 1H, $J_{4,5} = 9.0$ Hz ; H-5^{III}), 3.97 (ABq, 2H; CH₂Cl), 3.91 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 6.0$ Hz, $J_{5,6b} = 6.5$ Hz ; H-5^I), 3.77 (s, 3H ; COOCH₃), 3.63 (s, 3H ; OCH₃), 2.61-2.41 (m, 3H ; CH₂CO), 2.34-2.25 (m, 1H ; CH₂CO), 2.01 (s, 3H ; COCH₃).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 205.56 (1C ; COCH₃), 170.89, 166.94, 166.82, 166.69, 166.06, 166.02, 165.40, 164.44, 164.39 (10C ; C-6^{III}, C=O), 155.36, 151.10, 133.35,

133.19, 133.17, 132.86, 132.78, 132.61, 130.19, 129.74, 129.72, 129.52, 129.40, 129.12, 128.55, 128.50, 128.43, 128.36, 128.30, 128.21, 127.99, 118.56, 114.19 (42C ; Ar-C), 101.11 (1C; C-1^{III}), 100.85 (1C; C-1^I), 100.53 (1C; C-1^{III}), 77.35 (1C; C-3^{II}), 75.55 (1C; C-3^I), 72.58 (1C; C-5^{III}), 72.20 (1C; C-5^I), 71.76, 71.27, 71.15, 70.77, 70.71, 70.60, 69.97, 69.23 (8C; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-3^{III}, C-4^I, C-4^{II}, C-4^{III}, C-5^{II}), 63.29 (2C; C-6^I, C-6^{II}), 55.44 (1C; OCH₃), 53.10 (1C; COOCH₃), 40.75, 40.49 (2C; CH₂Cl), 37.53 (1C; CH₂CO), 29.49 (1C; COCH₃), 27.53 (1C; CH₂CO).

2-Benzyloxycarbonylaminoéthyl *O*-(Méthyl 2,3-di-*O*-benzoyl-4-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyluronate)-(1→3)-(sodium 2-*O*-benzoyl-4-*O*-acétyl-6-*O*-sulfonato-β-D-galactopyranosyl)-(1→3)- 2,4,6-tri-*O*-benzoyl-β-D-galactopyranoside 297⁶³



A une solution de diol **285** (174 mg, 0.12 mmol) dans le DMF anhydre est ajouté du SO₃.NMe₃ (34 mg, 0.24 mmol, 2 eq) et le mélange réactionnel est agité à 40°C sous argon. Au bout de 6h, la réaction étant incomplète, du SO₃.NMe₃ (17 mg, 0.12 mmol, 1 eq.) est ajouté et le mélange réactionnel est alors agité pendant 2 h puis refroidi à TA et l'excès de réactif est détruit avec du MeOH (1 ml). Le mélange réactionnel est alors agité pendant 30 min sous argon puis concentré sous pression réduite. Le résidu est ensuite dissous dans la pyridine (4ml) et de l'anhydride acétique (2 ml) est ajouté à 0°C. Le mélange réactionnel est ainsi agité de 0°C à TA pendant 16 h puis, co-évaporé au toluène et purifié sur colonne de gel de silice (DCM/MeOH : 9/1). Les fractions recueillies sont ensuite passées sur colonne Sephadex SP-C25 [Na]⁺ (DCM/MeOH/H₂O : 9/5/1). Le produit est obtenu pur sous la forme d'une poudre blanche (145 mg, 76%).

$[\alpha]_D^{20} = +53,5$ (c=1, CHCl₃)

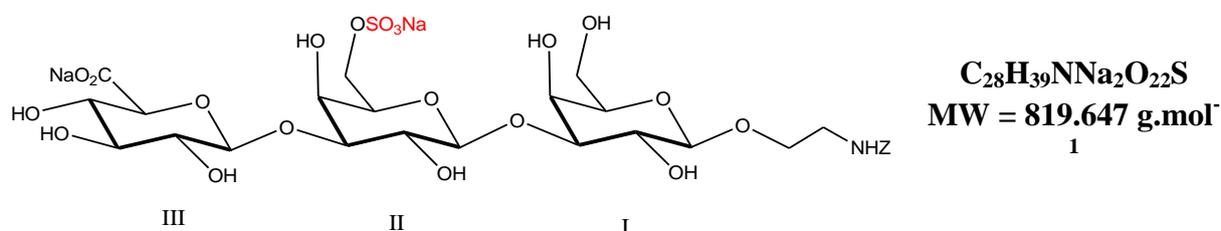
HRMS : *m/z*: calculée pour C₇₈H₈₀N₂O₃₁S ([M+2H+NH₄-Na]⁺) : 786,22274 ; trouvée : 786,22351, calculée pour C₇₈H₇₄NO₃₁S ([M-Na]⁺) : 1552,39710 ; trouvée : 1552,39847, calculée pour C₇₈H₇₆NO₃₁S ([M+2H-Na]⁺) : 1554,41165 ; trouvée : 1554,41328, calculée pour C₇₈H₇₉N₂O₃₁S ([M+NH₄+H-Na]⁺) : 1571,43820 ; trouvée : 1571,43751

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃/MeOD) : δ (ppm) 8.01-6.94 (m, 35H ; Ar-*H*), 5.82 (dd, 1H, *J*_{3,4}= 3.0 Hz, *J*_{4,5}<1Hz ; H-4^I), 5.49 (dd, 1H, *J*_{3,4}= 3.0 Hz, *J*_{4,5}<1Hz ; H-4^{II}), 5.45-5.37 (m, 2H ; H-2^I, H-3^{III}), 5.25 (dd, 1H, *J*_{3,4}= 9.5 Hz, *J*_{4,5}= 10.0 Hz ; H-4^{III}), 5.13-5.09 (m, 2H ; H-2^{II}, H-2^{III}), 4.84 (ABq, 2H ; CH₂-Ar), 4.78-4.76 (m, 2H ; H-1^{II}, H-1^{III}), 4.63 (d, 1H, *J*_{1,2}= 8.0 Hz ; H-1^I), 4.50-4.46 (m, 1H ; H-6a^I), 4.40-4.35 (m, 2H ; H-3^I, H-6b^I), 4.24-4.21 (m, 1H ; H-5^I), 4.14 (d, 1H ; H-5^{III}), 4.10-4.03 (m, 3H ; H-5^{II}, H-6a^{II}, H-6b^{II}), 3.97 (dd, 1H, *J*_{2,3}=10.0 Hz ; H-3^{II}),

3.80-3.75 (m, 4H ; OCH₂, COOCH₃), 3.56-3.53 (m, 1H ; OCH₂), 3.18-3.16 (m, 2H ; NCH₂), 2.59-2.28 (m, 4H ; CH₂CO), 1.99 (s, 6H ; COCH₃, OCOCH₃).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃/MeOD) : δ (ppm) 207.68 (1C ; COCH₃), 172.25, 171.95, 168.75, 167.30, 167.14, 166.28, 166.02, 165.56, 165.03 (10C ; C-6^{III}, C=O), 137.20, 134.14, 133.86, 133.82, 133.75, 133.53, 133.24, 130.63, 130.42, 130.19, 130.16, 129.95, 129.75, 129.25, 129.17, 129.06, 129.03, 128.99, 128.95, 128.66, 128.60, 128.49, 128.27 (42C ; Ar-C), 102.08 (1C ; C-1^I), 101.91, 101.39 (2C ; C-1^{II}, C-1^{III}), 78.03 (1C ; C-3^{II}), 76.88 (1C ; C-3^I), 72.87, 72.74, 72.57 (3C ; C-5^I, C-5^{II}, C-5^{III}), 72.51, 72.42 (2C ; C-2^I, C-3^{III}), 72.04 (1C ; C-4^I), 71.99, 71.53 (2C ; C-2^{II}, C-2^{III}), 70.30 (1C ; C-4^{III}), 70.14 (1C ; C-4^{II}), 69.37 (1C ; OCH₂), 66.98 (1C ; CH₂-Ar), 66.25 (1C ; C-6^{II}), 64.07 (1C ; C-6^I), 53.62 (1C ; COOCH₃), 41.20 (1C ; NCH₂), 37.98 (1C, CH₂CO), 29.59 (1C, COCH₃), 28.22 (1C, CH₂CO), 20.65 (1C ; OCOCH₃).

2-Benzyloxycarbonylaminoéthyl O-(sodium-β-D-glucopyranosyluronate)-(1→3)-(sodium 6-O-sulfonato-β-D-galactopyranosyl)-(1→3)-β-D-galactopyranoside **298⁶³**



Une solution de LiOOH préparée à 0°C à partir de LiOH (1 M, 0,7 mmol, 0,7 ml, 5 eq) et de H₂O₂ (30%, 35 µl) est ajoutée goutte à goutte à une solution refroidie à -10°C de trisaccharide **297** (135,4 mg, 85 µmol) dissous dans un mélange THF/H₂O (3 : 1 ; 2 ml). Le mélange réactionnel est ensuite agité 8h à TA puis refroidi à 0°C et une solution de NaOH (4M, 1,7 ml, 80 eq) est ajoutée et le mélange réactionnel est alors agité pendant 16h à TA puis dilué avec de l'eau (20 ml) et neutralisé avec de la résine amberlite IR-120[H⁺] jusqu'à pH 3,5 (contrôle pH-métrique). La solution est ensuite filtrée sur fritté et concentrée. Le solide est lavé plusieurs fois avec de l'EtOH puis dissous dans l'eau. Une solution de NaOH 0.1 M (0,85 ml, 10 eq) est ajoutée jusqu'à pH 8,5. Une purification sur colonne Sephadex LH-20 dans l'eau conduit au produit désiré sous la forme d'une poudre blanche (56,5 mg, 80 %).

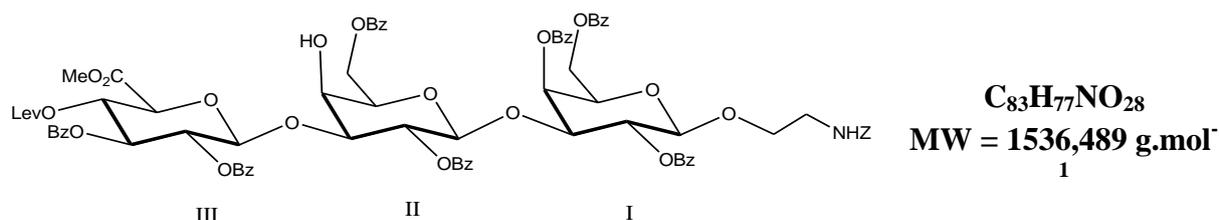
$[\alpha]_D^{20} = +5$ ($c = 1$, H₂O)

HRMS : m/z : calculée pour C₂₈H₄₁NO₂₂S ([M+3H-2Na]⁺) : 776,19137 ; trouvée : 776,18973, calculée pour C₂₈H₄₁NNaO₂₂S ([M+2H-Na]⁺) : 798,17331 ; trouvée : 798,17149

RMN ¹H (400 MHz, D₂O) : δ (ppm) 7.46-7.42 (m, 5H; Ar-H), 5.14 (s, 2H ; CH₂-Ar), 4.69 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz ; H-1^{III}), 4.65 (d, 1H, $J_{1,2} = 7.0$ Hz ; H-1^I ou II), 4.42 (d, 1H, $J_{1,2} = 7.5$, Hz ; H-1^I ou II), 4.26-4.25 (m, 2H; H-4^I, H-4^{II}), 4.22-4.20 (m, 2H; H-6a^{II}, H-6b^{II}), 3.98-3.92 (m, 2H; H-5^{II}, OCH₂), 3.86-3.65 (m, 9H; H-2^I, H-2^{II}, H-3^I, H-3^{II}, H-5^I, H-5^{III}, H-6a^I, H-6b^I, OCH₂), 3.54-3.52 (m, 2H ; H-3^{III}, H-4^{III}), 3.45 (dd, 1H, $J_{2,3} = 9.0$ Hz ; H-2^{III}), 3.42-3.36 (m, 2H ; CH₂N).

RMN ^{13}C (100 MHz, D_2O): δ (ppm) 172.55 (1C; C-6^{III}), 159.02 (1C; NHC(O)O), 129.39, 128.98, 128.35 (6C ; Ar-C), 104.41, 104.23, 103.25 (3C ; C-1^I, C-1^{II}, C-1^{III}), 83.33, 82.82 (2C; C-3^I, C-3^{II}), 75.95, 75.63, 73.80, 73.16, 72.42, 70.66, 70.37, 70.11 (8C; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-3^{III}, C-4^{III}, C-5^I, C-5^{II}, C-5^{III}), 69.49 (1C; OCH₂), 69.08, 68.58 (2C; C-4^I, C-4^{II}), 68.49 (1C; C-6^{II}), 67.57 (CH₂-Ar), 61.86 (2C; C-6^I), 41.05 (1C; CH₂N).

2-Benzoyloxycarbonylaminoéthyl *O*-(Méthyl 2,3-di-*O*-benzoyl-4-*O*-levulinoyl- β -D-glucopyranosyluronate)-(1 \rightarrow 3)-(2,6-di-*O*-benzoyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-tri-*O*-benzoyl- β -D-galactopyranoside 299⁶³



Un mélange de diol **285** (202 mg, 0.14mmol) et de BzCN (37 mg, 0.23 mmol, 0,2 eq) sont dissous à TA et sous argon dans la pyridine anhydre (4,5 ml). Le mélange réactionnel est agité pendant 16 h, puis neutralisé avec du MeOH (1 ml) et concentré. Le résidu est purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (DCM/Acétone : 12/1) pour donner le produit pur sous la forme d'un solide blanchâtre (175 mg, 80%).

Pf = 145-150 °C (EP/AcOEt)

$[\alpha]_D^{20} = +47,5$ ($c=1$, CHCl₃)

HRMS : m/z : calculée pour C₈₃H₈₁N₂O₂₈ ([M+NH₄]⁺) : 1553,49704 ; trouvée : 1553,49589, calculée pour C₈₃H₇₇NNaO₂₈ ([M+Na]⁺) : 1558,45243, trouvée : 1558,45025

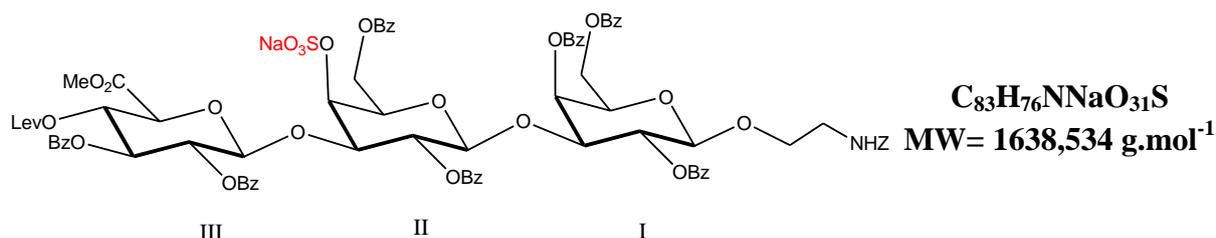
Analyse élémentaire calculée pour C₈₃H₇₇NNaO₂₈: C, 64.88; H, 5.05; N, 0.91; trouvée : C, 64.31 ; H, 4.99 ; N, 0.80

RMN ^1H (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 8.09-6.91 (m, 40H ; Ar-*H*), 5.80 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^I), 5.46-5.33 (m, 3H ; H-2^I, H-3^{III}, H-4^{III}), 5.30-5.21 (m, 2H ; H-2^{II}, H-2^{III}), 5.01-4.97 (m, 1H ; NH), 4.88 (ABq, 2H ; CH₂-Ar), 4.81 (d, 1H, $J_{1,2} = 7.0$ Hz ; H-1^{II}), 4.70 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz ; H-1^{III}), 4.62-4.59 (m, 2H ; H-6^I ou II), 4.46-4.38 (m, 3H ; H-1^I, H-6^I ou II), 4.20-4.16 (m, 2H ; H-3^I, H-4^{II}), 4.09 (d, 1H, $J_{4,5} = 10.0$ Hz ; H-5^{III}), 3.96-3.93 (m, 1H ; H-5^I ou II), 3.86-3.75 (m, 3H ; H-3^{II}, H-5^I ou II, OCH₂), 3.66 (s, 3H ; COOCH₃), 3.52-3.47 (m, 1H ; OCH₂), 3.25-3.13 (m, 2H ; NCH₂), 2.89 (sl, 1H ; HO-4), 2.63-2.44 (m, 3H ; CH₂CO), 2.36-2.29 (m, 1H ; CH₂CO), 2.02 (s, 3H, COCH₃).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 205.60 (1C; COCH₃), 167.01, 166.23, 166.04, 165.55, 165.36, 164.58, 164.51, 163.88, 156.21 (10C, C-6^{III}; C=O), 136.54, 133.35, 133.20, 133.09, 133.021, 132.87, 132.74, 132.19, 130.08, 130.04, 129.88, 129.71, 129.65, 129.59, 129.44, 129.40, 129.15, 129.06, 128.85, 128.48, 128.41, 128.36, 128.33, 128.29, 128.22,

127.95, 127.86, 127.77 (42C; Ar-C), 101.46 (1C; C-1^I), 100.99, 100.90 (2C; C-1^{II}, C-1^{III}), 80.27 (1C; C-3^{III}), 75.30 (1C; C-3^I), 72.27 (1C; C-5^{III}), 72.15, 71.96, 71.63 (3C; C-5^I, C-5^{II}, C-3^{III}), 71.19, 70.43 (2C; C-2^{II}, C-2^{III}), 69.97 (1C; C-4^I), 69.15 (2C; C-2^I, C-4^{III}), 68.88 (1C; OCH₂), 68.17 (1C; C-4^{II}), 66.33 (1C; CH₂-Ar), 62.99, 62.78 (2C; C-6), 53.03 (1C; COOCH₃), 40.68 (1C; NCH₂), 37.48 (1C; CH₂CO), 29.51 (1C; COCH₃), 27.53 (1C; CH₂CO).

2-Benzoyloxycarbonylaminoéthyl *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-galactopyranosyl)-(1→3)- 2,4,6-tri-*O*-benzoyl-β-D-galactopyranoside 300⁶³



A une solution de trisaccharide **299** (148 mg, 96 μmol) dans le DMF anhydre (2,5 ml) est ajouté du SO₃.NMe₃ (134 mg, 960 μmol, 10 eq). Le mélange réactionnel est agité à 60°C pendant 19 h sous argon puis refroidi à TA, du MeOH (2 ml) est ensuite ajouté et le mélange réactionnel est agité pendant 15 min sous argon. Le MeOH est évaporé et le résidu purifié sur colonne Sephadex LH-20 (DCM/MeOH : 1/1), puis sur colonne de gel de silice (DCM/MeOH : 12/ 1), puis sur colonne Sephadex SP-C25 [Na]⁺ (DCM/MeOH/H₂O : 9/5/1). Le produit est obtenu pur sous la forme d'une poudre blanche (122 mg, 77%).

$[\alpha]_D^{20} = +48$ (c=1, MeOH)

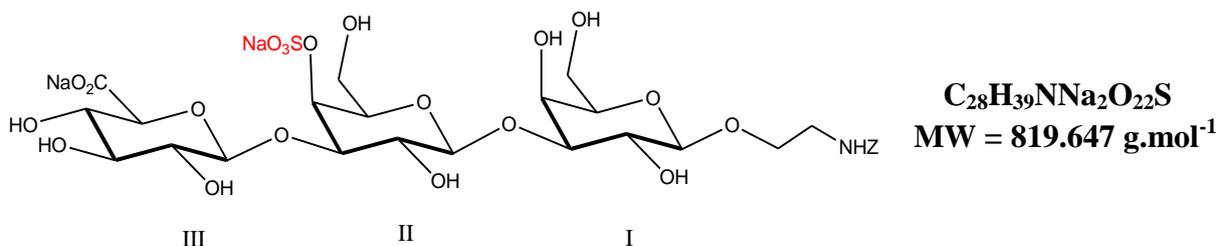
HRMS: *m/z*: calculée pour C₈₃H₈₂O₃₁N₂S ([M+NH₄+2H-Na]²⁺): 817,23056 ; trouvée : 817,23072, calculée pour C₈₃H₇₆O₃₁NS ([M-Na]⁺): 1614,41275 ; trouvée : 1614,41567

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃/MeOD) : δ (ppm) 8.18-6.97 (m, 40H ; Ar-*H*), 5.81 (dd, 1H, *J*_{3,4}= 3.0 Hz, *J*_{4,5}<1Hz ; H-4^I), 5.46 (dd, 1H, *J*_{2,3}= 9.0 Hz, *J*_{3,4}= 9.5 Hz ; H-3^{III}), 5.44 (dd, 1H, *J*_{4,5}= 10.0 Hz ; H-4^{III}), 5.41-5.37 (m, 2H ; H-2^I, H-2^{III}), 5.17-5.12 (m, 2H ; H-2^{II}, H-4^{II}), 4.99 (d, 1H, *J*_{1,2}= 7.5 Hz ; H-1^{III}), 4.87-4.77 (m, 4H ; H-1^{II}, H-6a^I, CH₂-Ar), 4.64 (dd, 1H, *J*_{5,6b}= 4.5 Hz, *J*_{6a,6b}= 12.0 Hz ; H-6b^I), 4.58 (d, 1H, *J*_{1,2}= 8.0 Hz ; H-1^I), 4.36 (d, 1H ; H-5^{III}), 4.33 (dd, 1H, *J*_{2,3}= 11.0 Hz ; H-3^I), 4.26-4.13 (m, 4H ; H-3^{II}, H-5^I, H-6a^{II}, H-6b^{II}), 3.99-3.96 (m, 1H ; H-5^{II}), 3.74-3.70 (m, 4H ; OCH₂, COOCH₃), 3.54-3.49 (m ; 1H, OCH₂), 3.12-3.09 (m, 2H ; NCH₂), 2.59-2.55 (m, 2H ; CH₂CO), 2.46-2.38 (m, 1H ; CH₂CO), 2.35-2.28 (m, 1H ; CH₂CO), 1.95 (s, 3H ; COCH₃).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃/MeOD) : δ (ppm) 208.38 (1C ; COCH₃), 172.89, 169.40, 167.75, 167.48, 167.11, 166.84, 166.80, 166.61, 166.35, 158.46 (10C ; C-6^{III}, C=O), 138.12, 134.53, 134.34, 134.16, 133.84, 131.54, 131.08, 131.01, 130.98, 130.88, 130.72, 130.65, 130.59, 130.50, 130.48, 130.11, 129.95, 129.73, 129.55, 129.46, 129.39, 129.22, 128.88,

128.65 (48C ; Ar-C), 102.97 (1C; C-1^{II}), 102.63, 102.57 (2C; C-1^I, C-1^{III}), 78.98 (1C; C-3^{II}), 78.12 (1C; C-3^I), 78.09 (1C; C-4^{II}), 77.06 (1C ; C-5^I), 73.85 (1C; C-3^{III}), 73.32, 73.09 (2C; C-5^{II}, C-5^{III}), 73.06, 73.01 (2C; C-2^I, C-2^{III}), 72.41 (1C; C-4^I), 72.09 (1C; C-2^{II}), 70.60 (1C; C-4^{III}), 69.54 (1C ; OCH₂), 67.28 (1C; CH₂-Ar), 65.11 (1C; C-6^I), 64.30 (1C; C-6^{II}), 53.59 (1C; COOCH₃), 41.59 (1C; NCH₂), 38.29 (1C, CH₂CO), 29.47 (1C, COCH₃), 28.73 (1C, CH₂CO).

2-Benzyloxycarbonylaminoéthyl O-(sodium-β-D-glucopyranosyluronate)-(1→3)-(sodium 4-O-sulfonato-β-D-galactopyranosyl)-(1→3)-β-D-galactopyranoside 301⁶³



Une solution de LiOOH préparée à 0°C à partir de LiOH (1 M, 0,7 mmol, 0,7 ml, 5 eq) et de H₂O₂ (30%, 350 μl) est ajoutée goutte à goutte à une solution refroidie à -10°C de trisaccharide **300** (113,6 mg, 0,07 mmol) dissous dans un mélange THF/H₂O (3 : 1 ; 2 ml). Le mélange réactionnel est ensuite agité 8h à TA puis refroidi à 0°C et une solution de NaOH (4M, 1,37 ml, 80 eq) est ajoutée et le mélange réactionnel est alors agité pendant 16h à TA puis dilué avec de l'eau (20 ml) et neutralisé avec de la résine amberlite IR-120[H⁺] jusqu'à pH 3,5 (contrôle pH-métrique). La solution est ensuite filtrée sur fritté et concentrée. Le solide est alors lavé plusieurs fois avec de l'EtOH puis dissous dans l'eau. Une solution de NaOH 0.1 M (0,7 ml, 10 eq) est ajoutée jusqu'à pH 8,5. Une purification sur colonne Sephadex LH-20 dans l'eau conduit au produit désiré sous la forme d'une poudre blanche (50 mg, 88%).

$$[\alpha]_D^{20} = -63 \text{ (} c=1, \text{H}_2\text{O)}$$

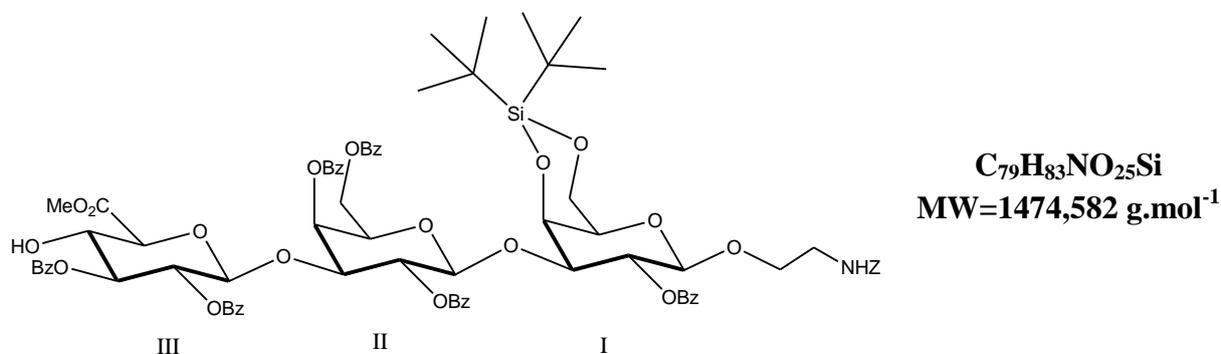
HRMS : *m/z*: calculée pour C₂₈H₄₀O₂₂NS ([M+H-2Na]⁺):774,17682 ; trouvée : 774,17725 ; calculée pour C₂₈H₃₉O₂₂NNaS ([M-Na]⁺): 796,15876; trouvée : 796,15886 ; calculée pour C₂₈H₃₉O₂₂NS ([M-2Na]²⁺): 386,58477 ; trouvée : 386,58535

RMN ¹H (400 MHz, D₂O) : δ (ppm) 7.50-7.44 (m, 5H; Ar-H), 5.13 (s, 2H ; CH₂-Ar), 4.79-4.77 (m, 2H; H-1^I, H-4^{II}), 4.68 (d, 1H, *J*_{1,2}= 7.5 Hz ; H-1^{II}), 4.42 (d, 1H, *J*_{1,2}= 7.5 Hz ; H-1^{III}), 4.17 (dd, 1H, , *J*_{3,4}= 2.0 Hz, , *J*_{4,5}<1 Hz ; H-4^I), 4.06 (dd, 1H, *J*_{2,3}= 10.0 Hz, *J*_{3,4}= 3.0 Hz; H-3^{II}), 3.96-3.92 (m, 1H; OCH₂), 3.85-3.66 (m, 11H; H-2^I, H-2^{II}, H-3^I, H-5^I, H-5^{II}, H-5^{III}, H-6a^I, H-6b^I, H-6a^{II}, H-6b^{II}, OCH₂), 3.57-3.49 (m, 2H ; H-3^{III}, H-4^{III}), 3.42 (dd, 1H, *J*_{2,3}= 9.0 Hz ; H-2^{III}), 3.40-3.33 (m, 3H ; CH₂N).

RMN ¹³C (100 MHz, D₂O): δ (ppm) 176.55 (1C; C-6^{III}), 159.02 (1C; NHC(O)O), 137.09, 129.38, 128.97, 128.32 (6C ; Ar-C), 104.71 (1C ; C-1^{II}), 103.71, 103.29 (2C; C-1^I, C-1^{III}), 83.00 (1C; C-3^I), 77.81 (1C; C-4^{II}), 77.16 (1C, C-3^{II}), 76.77, 75.96, 75.35, 75.07, 73.69,

72.46, 71.62, 70.50 (8C; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-3^{III}, C-4^{III}, C-5^I, C-5^{II}, C-5^{III}), 69.48 (1C; OCH₂), 68.90 (1C; C-4^I), 67.52 (CH₂-Ar), 61.52, 61.48 (2C; C-6^I, C-6^{II}), 41.12 (1C; CH₂N).

2-Benzyloxycarbonylaminoéthyl *O*-(Méthyl 2,3-di-*O*-benzoyl-β-D-glucopyranosyluronate)-(1→3)-(2,4,6-tri-*O*-benzoyl-β-D-galactopyranosyl)-(1→3)- 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-di-*tert*-butylsilylène-β-D-galactopyranoside 303⁶³



Au trisaccharide **273** (1,82 g, 1,17 mmol) dissous dans la pyridine (5 ml) est ajouté un mélange de pyridine-acide acétique-hydrazine monohydrate (12 : 8 : 1 ; 21 ml). Le mélange réactionnel est agité à TA et sous argon pendant 5 min puis dilué avec du DCM. La phase aqueuse est extraite avec du DCM (2 fois), les phases organiques sont lavées successivement avec de l'AcONa 10% et du NaHCO₃ saturé puis séchées sur MgSO₄ et co-évaporées au toluène. Le résidu est purifié sur colonne de gel de silice (EP/AcOEt : 3/4). Le produit est obtenu pur sous la forme d'une mousse incolore (1,55 mg, 91%).

$[\alpha]_D^{20} = +57$ ($c=1$, CHCl₃)

HRMS : m/z : calculée pour C₇₉H₈₄NO₂₅Si : ([M+H]⁺) : 1474,509679 ; trouvée : 1474,509620, calculée pour C₇₉H₈₃NNaO₂₅Si : ([M+Na]⁺) : 1496,492068 ; trouvée : 1496,491564, calculée pour C₇₉H₈₇N₂O₂₅Si : ([M+NH₄]⁺) : 1491,536367 ; trouvée : 11491,536169

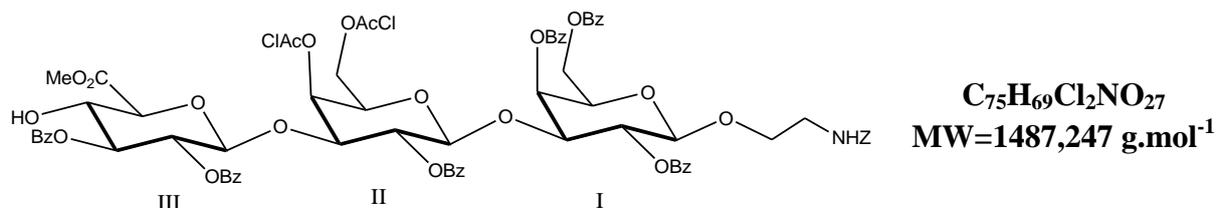
Analyse élémentaire calculée pour C₇₉H₈₃NO₂₅Si: C, 64.35; H, 5.67; N, 0.95; trouvée : C, 64.21 ; H, 5.53 ; N, 0.83

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 8.08-6.91 (m, 35H ; Ar-*H*), 5.85 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^{II}), 5.23 (dd, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 10.0$ Hz ; H-2^{II}), 5.38 (dd, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 10.0$ Hz ; H-2^I), 5.17-5.11 (m, 2H ; H-2^{III}, H-3^{III}), 5.07-5.04 (m, 1H ; NH), 5.01-4.88 (m, 3H ; H-1^{II}, CH₂-Ar), 4.78 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz ; H-1^{III}), 4.71 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^I), 4.48-4.38 (m, 2H ; H-6^{II}), 4.34 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz ; H-1^I), 4.33-4.31 (m, 1H ; H-3^{II}), 4.18-4.08 (m, 3H ; H-4^{III}, H-5^{II}, H-6a^I), 3.99-3.96 (m, 1H ; H-6b^I), 3.90 (d, 1H, $J_{4,5} = 9.5$ Hz ; H-5^{III}), 3.77 (s, 3H; COOCH₃), 3.75-3.71 (m, 2H ; H-3^I, OCH₂), 3.53-3.48 (m, 1H ; OCH₂), 3.26 (m, 1H ; HO-4), 3.22-3.16 (m, 3H ; H-5^I, NCH₂).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 168.93, 166.41, 165.90, 165.59, 164.64, 164.33, 164.13, 156.29 (8C ; C-6^{III}, C=O), 136.65, 133.40, 133.25, 133.15, 132.61, 132.57, 130.05, 129.75, 129.63, 129.57, 129.42, 129.38, 129.28, 129.25, 129.06, 128.71, 128.68, 128.49, 128.40, 128.32, 128.21, 128.08, 127.96, 127.91, 127.79, 127.75 (42C ; Ar-C), 102.33 (1C; C-1^{II}), 101.52 (1C; C-1^I), 100.67 (1C; C-1^{III}), 80.29 (1C; C-3^I), 75.81 (1C; C-3^{II}), 74.83 (1C; C-

2^{III}), 74.35 (1C; C-5^{III}), 72.69 (1C; C-4^I), 71.95, 71.56 (2C; C-2^{II}, C-5^{II}), 71.52 (1C; C-3^{III}), 71.14 (1C; C-5^I), 70.50 (1C; C-2^I), 69.80, 69.77 (2C; C-4^{II}, C-4^{III}), 68.65 (1C; OCH₂), 66.70 (1C; C-6^I), 66.29 (1C; CH₂-Ar), 62.85 (1C; C-6^{II}), 52.83 (1C; COOCH₃), 40.82 (1C; NCH₂), 27.39, 27.56 (6C; 2 x C(CH₃)₃), 23.19, 20.60 (2C; 2 x C(CH₃)₃).

2-Benzyloxycarbonylaminoéthyl O-(Méthyl 2,3-di-O-benzoyl-β-D-glucopyranosyluronate)-(1→3)-(2-O-benzoyl-4,6-di-O-chloroacéthyl-β-D-galactopyranosyl)-(1→3)- 2,4,6-tri-O-benzoyl-β-D-galactopyranoside 313⁶³



Au trisaccharide **284** (234 mg, 0,15 mmol) dissous dans la pyridine (2,4 ml) est ajouté un mélange de pyridine-acide acétique-hydrazine monohydrate (12 : 8 : 1 ; 3,1 ml). Le mélange réactionnel est agité à TA et sous argon pendant 8 min puis dilué avec du DCM. La phase aqueuse est extraite avec du DCM (2 fois), les phases organiques sont lavées successivement avec de l'eau, du NaHCO₃ saturé, et de l'eau puis séchées sur MgSO₄ et co-évaporées au toluène. Le résidu est purifié sur colonne de gel de silice (DCM/Acétone : 12/1). Le produit est obtenu pur sous la forme d'un solide blanchâtre (133 mg, 61%).

Pf = 165-166°C (EP/ACOEt)

$[\alpha]_D^{20} = +46$ ($c=1,04$, CHCl₃)

HRMS : m/z : calculée pour C₇₅H₇₀Cl₂NO₂₇ ([M+H]⁺) : 1486,35146 ; trouvée : 1486,35068, calculée pour C₇₅H₆₉Cl₂NNaO₂₇ ([M+Na]⁺) : 1508,33687 ; trouvée : 1508,33262, calculée pour C₇₅H₇₃Cl₂N₂O₂₇ ([M+NH₄]⁺) : 1503,37822 ; trouvée : 1503,37723, calculée pour C₇₆H₇₀Cl₂NO₂₉ ([M+HCOOH-H]⁻) : 1530,34081 ; trouvée : 1530,34160

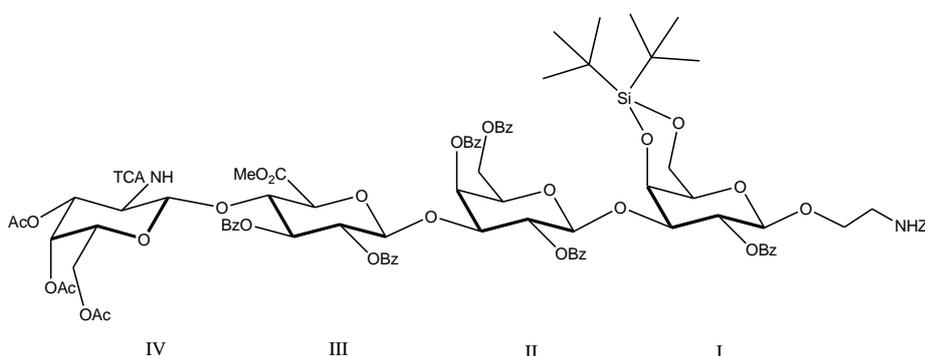
Analyse élémentaire calculée pour C₇₅H₆₉Cl₂NO₂₇: C, 60.57; H, 4.68; N, 0.94; trouvée : C, 60.02 ; H, 4.90 ; N, 0.85.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 8.06-6.96 (m, 35H ; Ar-H), 5.76 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^I), 5.46 (dd, 1H, $J_{3,4} = 2.5$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^{II}), 5.43 (dd, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 9.5$ Hz ; H-2^I), 5.21-5.09 (m, 3H ; H-2^{II}, H-2^{III}, H-3^{III}), 4.99-4.96 (m, 1H ; NH), 4.88 (ABq, 2H ; CH₂-Ar), 4.75 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, H-1^{II}), 4.63 (d, 1H, $J_{1,2} = 7.5$ Hz ; H-1^{III}), 4.57 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 4.5$ Hz, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz ; H-6a^I), 4.52 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz; H-1^I), 4.37 (dd, 1H, $J_{5,6b} = 7.0$ Hz ; H-6b^I), 4.23-3.98 (m, 8H, H-3^I, H-3^{II}, H-4^{III}, H-5^I, H-5^{III}, H-6a^{II}, H-6b^{II}, CH₂Cl), 3.94-3.91 (m, 1H ; H-5^{II}), 3.89-3.84 (m, 5H ; CH₂Cl, COOCH₃), 3.82-3.75 (m, 1H ; OCH₂), 3.55-3.49 (m, 1H ; OCH₂), 3.25-3.19 (m, 3H ; HO-4, NCH₂).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 168.48, 166.92, 166.89, 166.20, 166.15, 165.90, 164.55, 163.55, 156.16 (10C, C-6^{III} ; C=O), 133.45, 133.28, 133.14, 133.08, 132.88, 132.69,

132.56, 130.07, 129.65, 129.59, 129.53, 129.44, 129.39, 129.28, 128.97, 128.62, 128.53, 128.37, 128.34, 128.29, 128.21, 128.18, 127.92, 127.83, 127.81 (42C; Ar-C), 101.30 (1C; C-1^I), 101.04 (1C; C-1^{II}), 100.74 (1C; C-1^{III}), 77.14 (1C; C-3^I), 75.54 (1C; C-3^{II}), 74.44 (1C; C-5^{II}), 74.37, 71.99, 71.20, 70.96, 70.72, 70.70, 70.61, 70.09, 69.84 (9C; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-3^{III}, C-4^I, C-4^{II}, C-4^{III}, C-5^I, C-5^{III}), 68.85 (1C; OCH₂), 66.31 (1C; CH₂-Ar), 63.40 (1C; C-6^{II}), 63.17 (1C; C-6^I), 52.95 (1C; COOCH₃), 40.68, 40.62, 40.49 (3C; 2 CH₂Cl, NCH₂).

2-Benzyloxycarbonylaminoéthyl *O*-(3,4,6-tri-*O*-acétyl-2-désoxy-2-trichloroacétamido-β-D-galactopyranosyl)-(1→4)-(méthyl 2,3-di-*O*-benzoyl-β-D-glucopyranosyluronate)-(1→3)-(2,4,6-tri-*O*-benzoyl-β-D-galactopyranosyl)-(1→3)-2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-di-*tert*-butylsilylène-β-D-galactopyranoside 304



C₉₃H₉₉Cl₃N₂O₃₃Si
MW= 1907,219 g.mol⁻¹

Une solution d'accepteur **303** (151 mg, 0,1 mmol), d'imidate **302** (96,5 mg, 0,16 mmol, 1,6 eq), et de tamis moléculaire 4Å activé est agitée à TA et sous argon dans le DCM anhydre (1,5 ml) pendant 45 min. Le TMSOTf 1M dans le toluène (19,5 µl, 0,02 mmol, 0,12 eq/imidate) est alors ajouté et le mélange réactionnel est agité pendant 30 min. Puis, la triéthylamine (25 µl) est ajoutée au mélange réactionnel. Après 5 min, le tamis est filtré puis rincé au DCM et le filtrat est concentré puis purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (DCM/acétone : 12/1 avec 0,1 % de Et₃N). Le produit est obtenu pur sous la forme d'une mousse blanche (195,5 mg, 83%).

$[\alpha]_D^{20} = +24$ ($c=1,01$, CHCl₃)

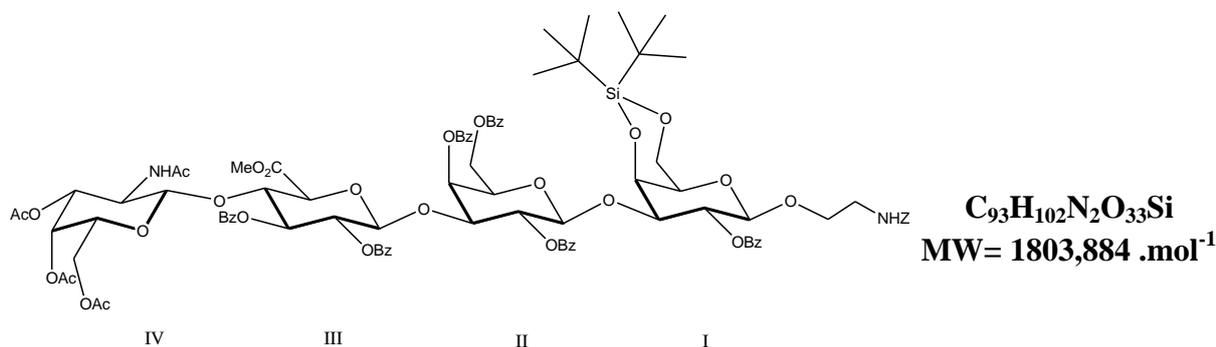
HRMS : m/z : calculée pour C₉₃H₁₀₁Cl₃N₂O₃₃Si : ([M+2H]²⁺): 953,255523 ; trouvée : 953,255206, calculée pour C₉₃H₁₀₄Cl₃N₃O₃₃Si : ([M+H+NH₄]⁺): 961,768798 ; trouvée : 961,768649, calculée pour C₉₃H₁₀₇Cl₃N₄O₃₃Si : ([M+2NH₄]⁺): 970,282072 ; trouvée : 970,281764, calculée pour C₉₃H₁₀₀Cl₃N₂O₃₃Si : ([M+H]⁺): 1905,502819 ; trouvée : 1905,503770, calculée pour C₉₃H₁₀₃Cl₃N₃O₃₃Si : ([M+NH₄]⁺): 1922,528596 ; trouvée : 1922,530319, calculée pour C₉₃H₉₉Cl₃N₂NaO₃₃Si : ([M+Na]⁺): 1927,523419 ; trouvée : 1927,485714

Analyse élémentaire calculée pour C₉₃H₉₉Cl₃N₂O₃₃Si : C, 58.57 ; H, 5.23 ; N, 1.47; trouvée : C, 57.74 ; H, 5.32 ; N, 1.50.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 8.12-6.88 (m, 35H ; Ar-H), 6.73 (d, 1H, $J_{2,\text{NH}}= 9.0$ Hz ; NH GalN), 5.84 (dd, 1H, $J_{3,4}= 3.0$ Hz, $J_{4,5}<1\text{Hz}$; H-4^{II}), 5.51 (dd, 1H, $J_{1,2}= 8.0$ Hz, $J_{2,3}= 10.0$ Hz ; H-2^{II}), 5.40-5.33 (m, 2H ; H-2^I, H-3^{III}), 5.12-4.88 (m, 6H ; H-2^{III}, H-3^{IV}, H-4^{IV}, NH, $\text{CH}_2\text{-Ar}$), 4.97 (d, 1H, $J_{1,2}= 7.5$ Hz ; H-1^{II}), 4.81-4.79 (m, 2H ; H-1^{III}, H-1^{IV}), 4.70 (d, 1H, $J_{3,4}= 2.5$ Hz, $J_{4,5}<1\text{Hz}$; H-4^I), 4.46-4.38 (m, 2H ; H-6a^{II}, H-6b^{II}), 4.33 (d, 1H, $J_{1,2}= 8.0$ Hz ; H-1^I), 4.29-4.23 (m, 2H ; H-3^{II}, H-4^{III}), 4.15 (ddd, 1H, $J_{5,6a}= 6.0$ Hz, $J_{5,6b}= 7.0$ Hz, $J_{4,5}<1\text{Hz}$; H-5^{II}), 4.09 (dd, 1H, $J_{5,6a}= 6.0$ Hz, $J_{6a,6b}= 12$ Hz ; H-6a^I), 4.02-3.91 (m, 3H ; H-2^{IV}, H-5^{III}, H-6b^I), 3.77-3.67 (m, 5H ; H-3^I, OCH_2 , COOCH_3), 3.57 (ddd, 1H, $J_{5,6a}= 7.0$ Hz, $J_{5,6b}= 7.5$ Hz, $J_{4,5}<1\text{Hz}$; H-5^{IV}), 3.52-3.47 (m, 1H ; OCH_2), 3.25-3.20 (m, 4H ; H-5^I, H-6a^{IV}, NCH_2), 3.09 (dd, 1H, $J_{5,6a}= 6.0$ Hz, $J_{6a,6b}= 12$ Hz ; H-6b^{IV}), 1.93, 1.92 (2s, 9H, OCH_3), 1.01, 0.97 (2s, 18H ; 2 x $\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 170.18, 169.86, 168.19, 165.88, 165.72, 165.01, 164.64, 164.34, 164.16, 163.32, 161.65, 156.27 (12C ; C-6^{III}, C=O), 136.62, 133.48, 133.35, 133.11, 132.62, 132.57, 132.49, 130.06, 129.53, 129.42, 129.36, 129.31, 129.24, 129.18, 129.02, 128.57, 128.54, 128.50, 128.30, 128.09, 128.07, 127.92, 127.91, 127.78, 127.72, 127.67 (42C; Ar-C), 102.31 (1C; C-1^{II}), 101.47, 100.95 (2C; C-1^{III}, C-1^{IV}), 100.02 (1C; C-1^I), 92.40 (1C; CCl_3), 80.25 (1C; C-3^I), 76.58 (1C; C-3^{II}), 75.74 (1C; C-4^{III}), 73.38 (1C; C-5^{III}), 72.69 (1C; C-4^I), 72.69, 72.13, 71.52, 71.47, 71.29, 70.69, 70.49, 70.11, 36.74 (9C; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-3^{III}, C-4^{III}, C-5^I, C-5^{II}, C-5^{IV}), 68.64 (1C; OCH_2), 66.67, 66.27 (2C; C-6^I, $\text{CH}_2\text{-Ar}$), 66.03 (1C; H-3^{IV}), 62.86 (1C; C-6^{II}), 60.08 (1C; C-6^{IV}), 53.08 (1C; COOCH_3), 52.62 (1C; C-2^{IV}), 40.80 (1C; NCH_2), 27.38, 27.22 (6C; 2 x $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 23.18 (2C; $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 20.58, 20.39, 20.38 (3C, COCH_3).

2-Benzyloxycarbonylaminoéthyl *O*-(3,4,6-tri-*O*-acétyl-2-désoxy-2-acétamido- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-(méthyl 2,3-di-*O*-benzoyl- β -D-glucopyranosyluronate)-(1 \rightarrow 3)-(2,4,6-tri-*O*-benzoyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-di-*tert*-butylsilylène- β -D-galactopyranoside 305



Protocole A :

A une solution de tétrasaccharide **304** (101 mg, 52,4 μmol) dissous dans un mélange benzène/*N,N*-diméthylacétamide (4 : 1 ; 5ml) est ajouté l'AIBN. La solution est dégazée sous argon à TA pendant 30 min puis du Bu_3SnH (63,5 μl , 236 μmol , 1,5 eq/Cl) est ajouté et le

mélange réactionnel est dégazé à TA pendant 30 min puis chauffé à 80°C sous argon pendant 2h. Une solution dégazée de Bu₃SnH (43 µl, 157 µmol, 1eq/Cl), de l'AIBN, de benzène (0,5 ml) et de N,N-diméthylacétamide (125µl) est ajoutée toutes les 2h (2 fois). La solution est concentrée puis le résidu est précipité à 0°C dans un mélange EP/Et₂O. Le précipité est alors filtré puis purifié sur colonne de gel de silice (DCM/acétone : 12/1) puis (DCM/MeOH : 19/1) pour donner le produit pur sous la forme d'une mousse blanche (80 mg, 84%).

Protocole B :

Au tétrasaccharide **304** (311 mg, 0,16 mmol) dissous dans l'acide acétique (4,7 ml) à 50°C et sous argon est ajouté toutes les heures pendant 5 heures du complexe Zn/Cu (5 x 63 mg, 2,44 mmol, 15 eq). Le mélange réactionnel est ainsi agité pendant 24h puis refroidi à TA puis filtré sur Célite et rincé successivement avec du DCM, de l'AcOEt et du toluène. Le filtrat est concentré puis purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (DCM/acétone : 12/1) puis (DCM/MeOH : 19/1). Le produit est obtenu pur sous la forme d'une mousse blanche (270mg, 92%).

$$[\alpha]_D^{20} = +46 (c=1,04, \text{CHCl}_3)$$

HRMS : *m/z* : calculée pour C₉₃H₁₀₄N₂O₃₃Si : ([M+2H]²⁺) : 902,313982 ; trouvée : 902,313775, calculée pour C₉₃H₁₀₇N₃O₃₃Si : ([M+H+NH₄]²⁺) : 910,827256, trouvée : 910,827065, calculée pour C₉₃H₁₀₃N₂O₃₃Si : ([M+H]⁺) : 1803,620687 ; trouvée : 1803,619430, calculée pour C₉₃H₁₀₆N₃O₃₃Si : ([M+NH₄]⁺) : 1820,647236 ; trouvée : 1820,646242, calculée pour C₉₃H₁₀₂N₂NaO₃₃Si : ([M+Na]⁺) : 1825,602631 ; trouvée : 1825,607426,

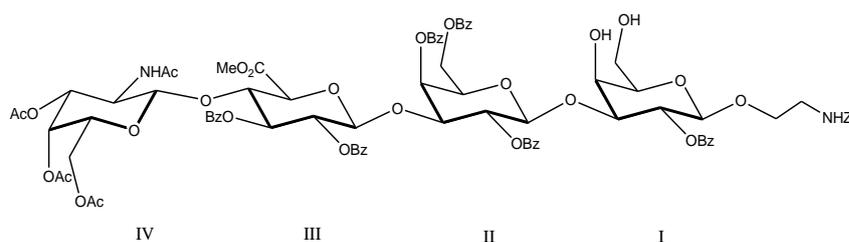
Analyse élémentaire calculée pour C₉₃H₁₀N₂O₃₃Si : C, 61.92; H, 5.70; N, 1.55; trouvée : C, 61.22 ; H, 5.90 ; N, 1.79.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 8.19-6.91 (m, 35H ; Ar-H), 6.13 (dd, 1H, *J*_{3,4}= 3.0 Hz, *J*_{4,5}<1Hz ; H-4^{II}), 5.88 (d, 1H, *J*_{2,NH}= 9.0 Hz ; NH GalN), 5.6 (dd, 1H, *J*_{1,2}= 8.0 Hz, *J*_{2,3}= 10.5 Hz ; H-2^{II}), 5.40 (dd, 1H, *J*_{1,2}= 8.0 Hz, *J*_{2,3}= 10.0 Hz ; H-2^I), 5.32 (dd, 1H, *J*_{2,3}= 9.0 Hz, *J*_{3,4}= 9.0 Hz ; H-3^{III}), 5.04-4.90 (m, 7H, H-1^{II}, H-2^{III}, H-3^{IV}, H-4^{IV}, NH, CH₂-Ar), 4.87 (d, 1H, *J*_{1,2}= 8.0 Hz ; H-1^{III}), 4.72 (d, 1H, *J*_{3,4}= 3.0 Hz, *J*_{4,5}<1Hz ; H-4^I), 4.57 (dd, 1H, *J*_{3,4}= 9.0 Hz, *J*_{4,5}= 10.0 Hz ; H-4^{III}), 4.53 (d, 1H, *J*_{1,2}= 8.5 Hz ; H-1^{IV}), 4.42-4.40 (m, 2H ; H-6a^{II}, H-6b^{II}), 4.37-4.34 (m, 2H ; H-1^I, H-3^{II}), 4.20 (ddd, 1H, *J*_{5,6a}= 6.0 Hz, *J*_{5,6b}= 7.0 Hz, *J*_{4,5}<1Hz ; H-5^{II}), 4.16 (d, 1H, *J*_{4,5}= 10 Hz ; H-5^{III}), 4.10-3.93 (m, 3H ; H-2^{IV}, H-6a^I, H-6b^I), 3.80-3.69 (m, 5H ; ; H-3^I, OCH₂, COOCH₃), 3.53-3.41 (m, 2H ; H-6a^{IV}, OCH₂), 3.26-3.20 (m, 5H ; H-5^I, H-5^{IV}, H-6b^{IV}, NCH₂), 1.96, 1.95, 1.90, 1.86 (4s, 12H, COCH₃), 1.03, 0.97 (2s, 18H ; 2 x C(CH₃)₃).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 170.40, 170.33, 170.00, 169.76, 168.97, 166.27, 165.80, 164.67, 164.61, 164.22, 163.92, 156.92 (12C ; C-6^{III}, C=O), 136.61, 133.70, 133.43, 133.12, 132.80, 132.55, 132.45, 130.13, 129.51, 129.45, 129.32, 129.26, 129.23, 129.13, 128.98, 128.95, 128.82, 128.62, 128.56, 128.45, 128.28, 128.20, 128.05, 127.97, 127.86, 127.75, 127.70 (42C; Ar-C), 102.50 (1C; C-1^{II}), 101.47 (1C; C-1^I), 101.25 (1C; C-1^{IV}), 99.74 (1C; C-1^{III}), 80.42 (1C; C-3^I), 75.82 (1C; C-4^{III}), 75.39 (1C; C-3^{II}), 73.59 (1C; C-3^{III}), 73.14 (1C; C-5^{III}), 72.70 (1C; C-4^I), 71.95, 71.69, 71.64, 71.46, 70.69, 70.53 (6C; C-2^I, C-2^{III},

C-4^{IV}, C-5^I, C-5^{II}, C-5^{IV}, 70.43 (1C; C-2^{II}), 70.24 (1C; C-4^{II}), 68.60 (1C; OCH₂), 66.64 (1C; C-6^I), 66.24 (1C; CH₂-Ar), 65.90 (1C; H-3^{IV}), 62.94 (1C; C-6^{II}), 60.13 (1C; C-6^{IV}), 52.87 (1C; COOCH₃), 50.73 (1C; C-2^{IV}), 40.79 (1C; NCH₂), 27.38, 27.22 (6C; 2 x C(CH₃)₃), 23.30, 23.17 (2C; C(CH₃)₃), 21.50, 20.54, 20.49, 20.46 (4C, COCH₃).

2-Benzyloxycarbonylaminoéthyl O-(3,4,6-tri-O-acétyl-2-désoxy-2-acétamido-β-D-galactopyranosyl)-(1→4)-(méthyl 2,3-di-O-benzoyl-β-D-glucopyranosyluronate)-(1→3)-(2,4,6-tri-O-benzoyl-β-D-galactopyranosyl)-(1→3)-2-O-benzoyl-β-D-galactopyranoside
306



C₈₅H₈₆N₂O₃₃
MW = 1663,586.mol⁻¹

Au Silylène acétal **305** (262 mg, 0,14 mmol) dissous dans le THF anhydre (2,5 ml) est ajouté à 0°C la Et₃N-3HF (95 μl, 0,58 mmol, 4 eq). Le mélange réactionnel est agité sous argon pendant 4 h puis, le THF est évaporé et le résidu dilué avec du DCM (10 ml), lavé successivement avec du NaHCO₃ saturé, de l'eau, séché sur MgSO₄ et concentré puis, le résidu a été purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (DCM/ac&tone : 12/1 puis DCM/MeOH : 19/1). Le produit est obtenu pur sous la forme d'une mousse blanchâtre (231 mg, 95%).

$[\alpha]_D^{20} = +52,5$ (c=1,02, CHCl₃)

Pf = 165-170°C (2-propanol à chaud)

HRMS : *m/z* : calculée pour C₈₅H₈₈N₂O₃₃ : ([M+2H]²⁺): 832,262918 ; trouvée : 832,262690, calculée pour C₈₅H₉₁N₃O₃₃ : ([M+H+NH₄]²⁺): 840,776193, trouvée : 840,775802, calculée pour C₈₅H₈₇N₂O₃₃ : ([M+H]⁺): 1663,518560 ; trouvée : 1663,517600, calculée pour C₈₅H₉₀N₃O₃₃ : ([M+NH₄]⁺): 1680,545109 ; trouvée : 1680,544493, calculée pour C₈₅H₈₆N₂NaO₃₃ : ([M+Na]⁺): 1685,500504 ; trouvée : 1685,501130

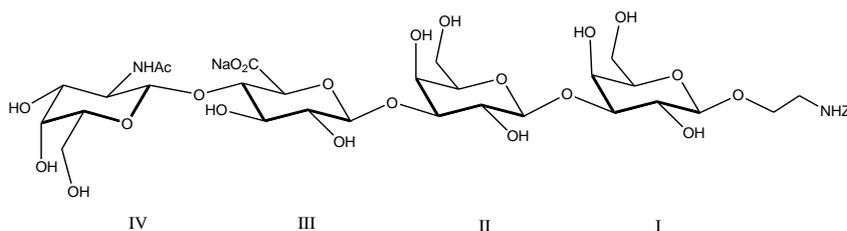
Analyse élémentaire calculée pour C₈₅H₈₆N₂O₃₃ : C, 61.37; H, 5.21; N, 1.68; trouvée : C, 59.56; H, 5.33; N, 1.55.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 8.19-6.98 (m, 35H ; Ar-H), 6.10 (dd, 1H, *J*_{3,4}= 3.0 Hz, *J*_{4,5}<1Hz ; H-4^{II}), 5.84 (d, 1H, *J*_{2,NH}= 9.0 Hz ; NH GalN), 5.58 (dd, 1H, *J*_{1,2}= 8.0 Hz, *J*_{2,3}= 10.0 Hz ; H-2^{II}), 5.38-5.31 (m, 2H ; H-2^I, H-2^{III}), 5.16-5.14 (m, 1H ; NH), 5.08-4.87 (m, 6H ; H-1^{IV}, H-3^{III}, H-3^{IV}, H-4^{IV}, CH₂-Ar), 4.80 (d, 1H, *J*_{1,2}= 8.0 Hz ; H-1^{II}), 4.62 (dd, 1H, *J*_{5,6a}= 4.0 Hz, *J*_{6a,6b}= 12 Hz ; H-6a^{II}), 4.52 (d, 1H, *J*_{1,2}= 8.0 Hz ; H-1^I), 4.50 (dd, 1H, *J*_{3,4}= 9.0 Hz, *J*_{4,5}= 10.0 Hz ; H-4^{III}), 4.42-4.39 (m, 1H ; H-6b^{II}), 4.36 (d, 1H, *J*_{1,2}= 8.0 Hz ; H-1^{III}), 4.31 (dd, 1H, *J*_{2,3}= 10.0 Hz ; H-3^{II}), 4.25-4.20 (m, 1H ; H-5^{II}), 4.17 (d, 1H ; H-5^{III}), 4.08-4.05 (m, 1H ; H-

4^I), 3.99-3.92 (m, 1H ; H-2^{IV}), 3.85-3.79 (m, 5H ; H-3^I, H-6a^{IV}, COOCH₃), 3.75-3.69 (m, 1H ; OCH₂), 3.59-3.40 (m, 4H ; H-5^{IV}, H-6a^I, H-6a^{IV} OCH₂), 3.27-3.17 (m, 4H ; H-5^I, H-6b^I, NCH₂), 1.96, 1.95, 1.86 (3s, 12H ; COCH₃).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 170.47, 170.02, 129.80, 168.82, 166.55, 166.08, 164.74, 164.26, 164.03 (12C ; C-6^{III}, C=O), 136.49, 133.85, 133.60, 133.18, 132.85, 132.70, 132.64, 130.21, 129.64, 129.44, 129.33, 129.27, 129.18, 129.14, 128.98, 128.94, 128.88, 128.57, 128.50, 128.36, 128.23, 128.08, 128.01, 127.88, 127.82 (42C; Ar-C), 101.81 (1C; C-1^{II}), 101.47 (1C; C-1^{III}), 101.27 (1C; C-1^I), 99.96 (1C; C-1^{IV}), 80.97 (1C; C-3^I), 75.85 (1C; C-4^{III}), 75.36 (1C; C-3^{II}), 74.42, 73.42, 73.40, 72.22, 71.87, 71.05, 70.55, 70.52, 70.26 (9C; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-3^{III}, C-4^{IV}, C-5^I, C-5^{II}, C-5^{III}, C-5^{IV}), 68.84 (1C; C-4^{II}), 68.80 (1C; OCH₂), 68.65 (1C; C-4^I), 66.39 (1C; CH₂-Ar), 65.90 (1C; C-3^{IV}), 62.82 (1C; C-6^{II}), 62.04 (1C; C-6^{IV}), 60.15 (1C; C-6^I), 53.00 (1C; COOCH₃), 50.78 (1C; C-2^{IV}), 40.85 (1C; NCH₂), 25.28, 23.33, 20.55, 20.48 (4C, COCH₃).

2-Benzyloxycarbonylaminoéthyl *O*-(2-désoxy-2-acétamido-β-D-galactopyranosyl)-(1→4)-(sodium-β-D-glucopyranosyluronate)-(1→3)-(β-D-galactopyranosyl)-(1→3)-β-D-galactopyranoside 307



C₃₆H₅₃N₂NaO₂₄
MW= 920,795 g.mol⁻¹

Une solution de LiOOH préparée à 0°C à partir de LiOH (1 M, 0,37 mmol, 0,4 ml, 5 eq) et de H₂O₂ (30%, 200 µl) est ajoutée goutte à goutte à une solution refroidie à -10°C de tétrasaccharide **306** (125 mg, 0,075 mmol) dissous dans un mélange THF/H₂O (3 : 1 ; 2 ml). Le mélange réactionnel est ensuite agité pendant 8h à TA puis refroidi à 0°C. Une solution de NaOH (4M, 1,7 ml, 90 eq) est ajoutée et le mélange réactionnel est alors agité pendant 16h à TA puis dilué avec de l'eau (10 ml) et neutralisé avec de la résine Amberlite IR-120[H⁺] jusqu'à pH 3,5 (contrôle pH-métrique). La solution est ensuite filtrée sur fritté et concentrée. Le solide est alors lavé plusieurs fois avec un mélange EtOH/CHCl₃ : 1/1, puis dissous dans de l'eau. Une solution de NaOH 0.1 M (0,8 ml, 10 eq) est ajoutée jusqu'à pH 8,5. Une purification sur colonne Sephadex LH-20 dans l'eau conduit au produit désiré sous la forme d'une poudre blanche (59 mg, 85%).

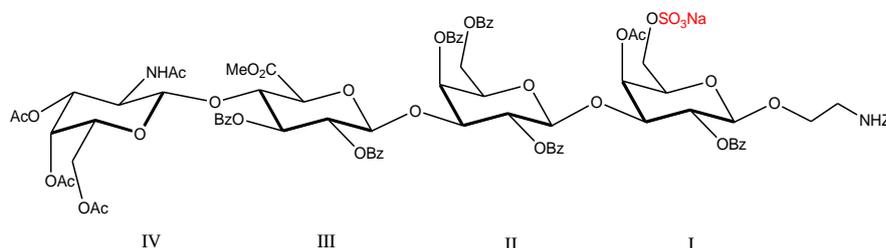
$[\alpha]_D^{20} = +5,5$ (c=1, H₂O)

HRMS : *m/z* : calculée pour C₃₆H₅₆N₂O₂₄ : ([M+3H-Na]²⁺): 450,160602 ; trouvée : 450,160745, calculée pour C₃₆H₅₃N₂O₂₄ : ([M-Na]⁺) : 897,299374 ; trouvée : 897,299500, calculée pour C₃₆H₅₅N₂O₂₄ : ([M+2H-Na]⁺) : 899,313927 ; trouvée : 899,313179, calculée pour C₃₆H₅₈N₃O₂₄ : ([M+H+NH₄-Na]⁺) : 916,340476, trouvée : 916,339619, calculée pour C₃₆H₅₄N₂NaO₂₄ : ([M+H]⁺) : 921,295871 ; trouvée : 921,294890

RMN ^1H (400 MHz, D_2O) : δ (ppm) 7.44-7.40 (m, 5H; Ar-H), 5.11 (s, 2H ; $\text{CH}_2\text{-Ar}$), 4.66 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz ; H-1^{III}), 4.64 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz ; H-1^{I ou II}), 4.47 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.5$ Hz ; H-1^{IV}), 4.41 (d, 1H, $J_{1,2} = 7.5$ Hz ; H-1^{I ou II}), 4.17 (d, 1H, $J_{3,4} = 2.5$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^{I ou II}), 1.14 (d, 1H, $J_{3,4} = 2.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^{I ou II}), 3.96-3.92 (m, 1H ; OCH_2), 3.91 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.5$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^{IV}), 3.88-3.84 (m, 1H ; H-2^{IV}), 3.81-3.64 (m, 17H ; H-2^I, H-2^{II}, H-3^I, H-3^{II}, H-3^{IV}, H-4^{III}, H-5^I, H-5^{II}, H-5^{III}, H-5^{IV}, H-6a^I, H-6b^I, H-6a^{II}, H-6b^{II}, H-6a^{IV}, H-6b^{IV}, OCH_2), 3.60 (dd, 1H, $J_{2,3} = 9.5$ Hz, $J_{3,4} = 9.0$ Hz ; H-3^{III}), 3.45 (dd, 1H ; H-2^{III}), 3.41-3.34 (m, 2H ; CH_2N), 2.06 (s, 3H ; NHC(O)CH_3).

RMN ^{13}C (100 MHz, D_2O): δ (ppm) 175.63, 175.23 (2C ; C-6^{III}, C=O), 159.02 (1C ; NHC(O)O), 137.10, 137.08, 129.38, 128.97, 128.32, 128.27 (6C ; Ar-C), 104.54, 104.42, 103.27 (3C ; C-1^I, C-1^{II}, C-1^{III}), 101.59 (1C ; C-1^{IV}), 83.14, 82.84 (2C ; C-3^I, C-3^{II}), 80.10, 77.02, 75.84, 75.38, 75.34, 74.28, 73.52, 71.68, 70.66, 70.47 (10C ; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-3^{III}, C-3^{IV}, C-4^{III}, C-5^I, C-5^{II}, C-5^{III}, C-5^{IV}), 69.47 (1C ; OCH_2), 68.99, 68.69, 68.39 (3C, C-4^I, C-4^{II}, C-4^{IV}), 67.53 ($\text{CH}_2\text{-Ar}$), 61.66, 61.54, 61.47 (3C ; C-6^I, C-6^{II}, C-6^{IV}), 52.93 (1C ; C-2^{IV}), 41.12 (1C ; CH_2N), 23.07 (1C ; NHC(O)CH_3).

2-Benzyloxycarbonylaminoéthyl *O*-(3,4,6-tri-*O*-acétyl-2-désoxy-2-acétamido- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-(méthyl 2,3-di-*O*-benzoyl- β -D-glucopyranosyluronate)-(1 \rightarrow 3)-(2,4,6-tri-*O*-benzoyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-sodium 4-*O*-acétyl-2-*O*-benzoyl-4-*O*-sulfonato- β -D-galactopyranoside 308



**$\text{C}_{87}\text{H}_{87}\text{N}_2\text{NaO}_{37}\text{S}$
MW=1807,668 g.mol⁻¹**

A une solution de diol **306** (133 mg, 0,08 mmol) dans le DMF anhydre (3 ml) est ajouté du $\text{SO}_3\cdot\text{NMe}_3$ (23 mg, 0,18 mmol, 2 eq) et le mélange réactionnel est agité à 40°C sous argon. Au bout de 6h, la réaction étant incomplète, du $\text{SO}_3\cdot\text{NMe}_3$ (12 mg, 0,08 mmol, 1 eq.) est ajouté et le mélange réactionnel est alors agité pendant 4 h, puis refroidi à TA et l'excès de réactif est détruit avec du MeOH (2 ml). Le mélange réactionnel est alors agité pendant 30 min sous argon puis concentré sous pression réduite et purifié sur colonne de gel de silice (DCM/MeOH : 12/1) puis (DCM/MeOH : 9/1). Le résidu est ensuite dissous dans la pyridine (3ml) et de l'anhydride acétique (1,5 ml) est ajouté à 0°C. Le mélange réactionnel est ainsi agité de 0°C à TA pendant 16 h, puis co-évacué au toluène et purifié sur colonne de gel de silice (DCM/MeOH : 12/1). Les fractions recueillies sont ensuite passées sur colonne Sephadex SP-C25 $[\text{Na}]^+$ (DCM/MeOH/ H_2O : 9/5/1). Le produit est obtenu pur sous la forme d'une poudre blanche (118 mg, 81%).

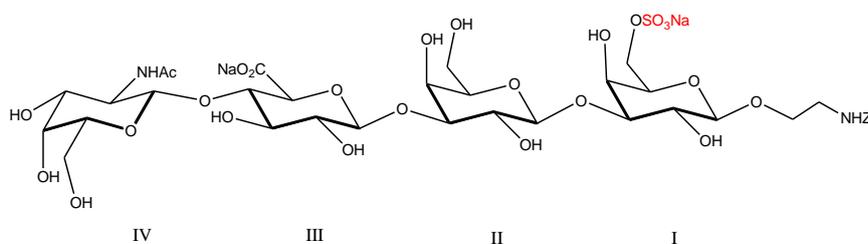
$[\alpha]_D^{20} = +30,5$ ($c=1,03$, MeOH)

HRMS : m/z : calculée pour $C_{87}H_{90}N_2O_{37}S$: $([M+3H-Na]^{2+})$: 893,246608; trouvée : 893,246556, calculée pour $C_{87}H_{93}N_3O_{37}S$: $([M+H+NH_4-Na]^+)$: 901,759882, trouvée : 901,759611, calculée pour $C_{87}H_{89}N_3NaO_{37}S$: $([M+2H]^{2+})$: 904,237580 ; trouvée : 904,238130, calculée pour $C_{87}H_{96}N_4O_{37}S$: $([M+H+2NH_4-Na]^{2+})$: 910,273157 ; trouvée : 910,273025, calculée pour $C_{87}H_{92}N_3NaO_{37}S$: $([M+H+NH_4]^{2+})$: 912,750855 ; trouvée : 912,750199, calculée pour $C_{87}H_{89}N_2O_{37}S$: $([M+2H+Na]^{2+})$: 915,228552; trouvée: 915,228842, calculée pour $C_{87}H_{87}N_2O_{37}S$: $([M-Na]^-)$: 1783,471386; trouvée: 1783,470594, calculée pour $C_{87}H_{89}N_2O_{37}S$: $([M+2H-Na]^+)$: 1785,485939; trouvée: 1785,484843

RMN 1H (400 MHz, MeOD) : δ (ppm) 8.11-6.85 (m, 35H ; Ar-H), 5.84 (dd, 1H, $J_{3,4}$ = 3.0 Hz, $J_{4,5}$ <1Hz ; H-4^{II}), 5.56 (dd, 1H, $J_{3,4}$ = 3.5 Hz, $J_{4,5}$ <1Hz ; H-4^I), 5.44-5.40 (m, 3H; H-2^I, H-2^{II}, H-4^{III}), 5.16 (dd, 1H, $J_{1,2}$ = 8.0 Hz, $J_{2,3}$ = 10.0 Hz ; H-2^{III}), 5.05-5.01 (m, 1H; H-4^{IV}), 5.00 (d, 1H, $J_{1,2}$ = 7.5 Hz ; H-1^I ou ^{II}), 4.97 (ABq, 2H; CH₂-Ar), 4.94-4.89 (m, 2H; H-1^I ou ^{II}, H-3^{IV}), 4.52 (d, 1H, $J_{1,2}$ = 8.0 Hz; H-1^{IV}), 4.49 (d, 1H ; H-1^{III}), 4.45-4.43 (m, 2H; H-6a^I, H-6b^I), 4.33 (dd, 1H, $J_{2,3}$ = 10 Hz; H-3^{II}), 4.26 (ddd, 1H, $J_{5,6a}$ = $J_{5,6b}$ = 6.0 Hz, $J_{4,5}$ <1Hz ; H-5^I), 4.19-4.14 (m, 3H; H-3^I, H-3^{III}, H-5^{III}), 4.05 (dd, 1H, $J_{5,6a}$ = 7.0 Hz, $J_{6a,6b}$ = 11.0 Hz ; H-6a^{II}), 3.94-3.89 (m, 2H; H-5^{II}, H-6b^{II}), 3.78-3.73 (m, 5H; H-2^{IV}, OCH₂, COOCH₃), 3.56-3.47 (m, 2H; H-5^{IV}, OCH₂), 3.40-3.33 (m, H; H-6a^{IV}), 3.20-3.16 (m, 1H; H-6b^{IV}), 3.14-3.10 (m, 2H NCH₂), 2.07, 1.90, 1.87, 1.86, 1.85 (5s, 15H, OCH₃).

RMN ^{13}C (100 MHz, MeOD) : δ (ppm) 173.68, 171.83, 171.73, 171.66, 171.62, 169.17, 167.71, 167.26, 166.54, 166.33, 166.14, 158.57 (13C ; C-6^{III}, C=O), 138.22, 134.52, 134.45, 134.37, 134.24, 134.03, 133.94, 131.28, 131.19, 131.05, 130.89, 130.77, 130.63, 130.55, 130.38, 130.24, 129.91, 129.83, 129.80, 129.59, 129.50, 129.44, 129.18, 128.90, 128.68 (42C; Ar-C), 102.67, 102.35, 102.27, 102.21 (4C; C-1^I, C-1^{II}, C-1^{III}, C-1^{IV}), 79.44 (1C; C-3^{II}), 78.17 (1C; C-3^I), 77.51 (1C; C-3^{III}), 75.20 (1C; C-5^{III}), 74.28 (1C; C-4^{III}), 73.40 (1C; C-5^{II}), 73.01, 72.70, 72.58, 72.36, 71.71, 71.60, 71.47, 71.30 (8C; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-4^I, C-4^{II}, C-4^{IV}, C-5^I, C-5^{IV}), 69.40 (1C; OCH₂), 67.68 (1C; C-6^{II}), 67.36 (1C; H-3^{IV}), 67.30 (1C; CH₂-Ar), 63.85 (1C; C-6^I), 61.64 (1C; C-6^{IV}), 53.69 (1C; COOCH₃), 51.80 (1C; C-2^{IV}), 45.49 (1C; NCH₂), 23.15, 20.87, 20.54, 20.53, 20.42 (5C, COCH₃).

2-Benzyloxycarbonylaminoéthyl O-(2-désoxy-2-acétamido- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-(sodium- β -D-glucopyranosyluronate)-(1 \rightarrow 3)-(β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-sodium 6-O-sulfonato- β -D-galactopyranoside 309



$C_{36}H_{52}N_2Na_2O_{27}S$
MW= 1022,84 g.mol⁻¹

Une solution de LiOOH préparée à 0°C à partir de LiOH (1 M, 0,32 mmol, 0,32 ml, 5 eq) et de H₂O₂ (30%, 162 μ l) est ajoutée goutte à goutte à une solution refroidie à -10°C de tétrasaccharide **308** (117 mg, 0,065 mmol) dissous dans un mélange THF/H₂O (3 : 1 ; 2 ml).

Le mélange réactionnel est ensuite agité pendant 8h à TA puis refroidi à 0°C. Une solution de NaOH (4M, 1,6 ml, 100 eq) est ajoutée et le mélange réactionnel est alors agité pendant 16h à TA puis dilué avec de l'eau (20 ml) et neutralisé avec de la résine Amberlite IR-120[H⁺] jusqu'à pH 3,5 (contrôle pH-métrique). La solution est ensuite filtrée sur fritté et concentrée. Le solide est alors lavé plusieurs fois avec de l'EtOH puis dissous dans de l'eau. Une solution de NaOH 0.1 M (0,65ml, 10 eq) est ajoutée jusqu'à pH 8,5. Une purification sur colonne Sephadex LH-20 dans l'eau conduit au produit désiré sous la forme d'une poudre blanche (46 mg, 69%).

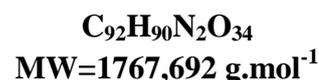
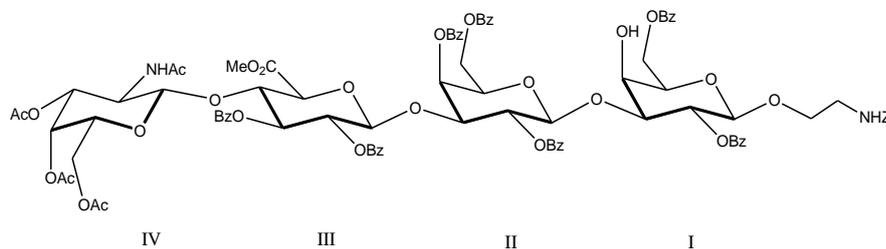
$$[\alpha]_D^{20} = +8,5 \text{ (} c=1, \text{H}_2\text{O)}$$

HRMS : m/z : calculée pour $\text{C}_{36}\text{H}_{52}\text{N}_2\text{O}_{27}\text{S}$: ($[\text{M}-2\text{Na}]^{2-}$): 488,124456 ; trouvée : 488,125010, calculée pour $\text{C}_{36}\text{H}_{53}\text{N}_2\text{O}_{27}\text{S}$: ($[\text{M}+\text{H}-2\text{Na}]^+$) : 977,256189, trouvée : 977,256734, calculée pour $\text{C}_{36}\text{H}_{58}\text{N}_3\text{O}_{27}\text{S}$: ($[\text{M}+2\text{H}+\text{NH}_4-2\text{Na}]^+$) : 996,297291 ; trouvée : 996,294870, calculée pour $\text{C}_{36}\text{H}_{52}\text{N}_2\text{NaO}_{27}\text{S}$: ($[\text{M}-\text{Na}]$) : 999,238133 ; trouvée : 999,237885

RMN ¹H (400 MHz, D₂O) : δ (ppm) 7.46-7.44 (m, 5H; Ar-H), 5.14 (s, 2H ; CH₂-Ar), 4.69 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz ; H-1^{III}), 4.67 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.5$ Hz ; H-1^{I ou II}), 4.49 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.5$ Hz ; H-1^{IV}), 4.44 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz ; H-1^{I ou II}), 4.24 (d, 1H, $J_{3,4} = 2.5$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^I), 4.20-4.18 (m, 2H ; H-6a^{II}, H-6b^{II}), 4.16 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^{II}), 4.101-3.96 (m, 1H ; OCH₂), 3.93 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^{IV}), 3.90-3.86 (m, 2H ; H-2^{IV}, H-3^{II}), 3.84-3.68 (m, 14H ; H-2^I, H-2^{II}, H-3^I, H-3^{IV}, H-4^{III}, H-5^I, H-5^{II}, H-5^{III}, H-5^{IV}, H-6a^I, H-6b^I, H-6a^{IV}, H-6b^{IV}, OCH₂), 3.64 (dd, 1H, $J_{2,3} = 9.5$ Hz, $J_{3,4} = 9.0$ Hz ; H-3^{III}), 3.47 (dd, 1H ; H-2^{III}), 3.42-3.36 (m, 2H ; CH₂N), 2.06 (s, 3H ; NHC(O)CH₃).

RMN ¹³C (100 MHz, D₂O) : δ (ppm) 175.62, 175.10 (2C ; C-6^{III}, C=O), 158.97 (1C ; NHC(O)O), 137.12, 129.38, 128.95, 128.34, 128.33 (6C ; Ar-C), 104.59, 104.42, 103.20 (3C ; C-1^I, C-1^{II}, C-1^{III}), 101.59 (1C ; C-1^{IV}), 83.13, 82.68 (2C ; C-3^I, C-3^{II}), 80.11, 76.90, 75.84, 75.35, 74.27, 73.52, 72.96, 71.69, 70.67, 70.35 (10C ; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-3^{III}, C-3^{IV}, C-4^{III}, C-5^I, C-5^{II}, C-5^{III}, C-5^{IV}), 69.51 (1C ; OCH₂), 68.73, 68.68, 68.39 (3C, C-4^I, C-4^{II}, C-4^{IV}), 67.71 (1C ; C-6^I), 67.48 (CH₂-Ar), 61.65, 61.49 (2C ; C-6^{II}, C-6^{IV}), 52.94 (1C ; C-2^{IV}), 41.15 (1C ; CH₂N), 23.07 (1C ; NHC(O)CH₃).

2-Benzyloxycarbonylaminoéthyl *O*-(3,4,6-tri-*O*-acétyl-2-désoxy-2-acétamido- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-(méthyl 2,3-di-*O*-benzoyl- β -D-glucopyranosyluronate)-(1 \rightarrow 3)-(2,4,6-tri-*O*-benzoyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-2,6-di-*O*-benzoyl- β -D-galactopyranoside **310**



Un mélange de diol **306** (170 mg, 0.1 mmol) et de BzCN (30 mg, 0.2 mmol, 2 eq.) sont dissous à TA et sous argon dans la pyridine anhydre (4 ml). Le mélange réactionnel est agité pendant 4 h puis du BzCN (15 mg, 1 eq) a été ajouté toutes les heures. Après 7h, le mélange réactionnel est neutralisé avec du MeOH (3 ml) et agité sous argon pendant 30 min puis, évaporé et co-évaporé avec du toluène. Le résidu est purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (DCM/MeOH : 19/1) pour donner le produit pur sous la forme d'une poudre blanche (130 mg, 72%).

Pf = 145-148°C (2-propanol à chaud)

$[\alpha]_D^{20} = +44,5$ ($c=1$, CHCl₃)

HRMS : m/z : calculée pour C₉₂H₉₂N₂O₃₄ : ([M+2H]²⁺): 884,276025 ; trouvée : 884,275968, calculée pour C₉₂H₉₅N₃O₃₄ : ([M+H+NH₄]²⁺) : 892,789300, trouvée : 892,789124, calculée pour C₉₂H₉₁N₂O₃₄ : ([M+H]⁺): 1767,544774 ; trouvée : 1767,543077, calculée pour C₉₂H₉₄N₃O₃₄ : ([M+NH₄]⁺) : 1784,571324 ; trouvée : 1784,569861

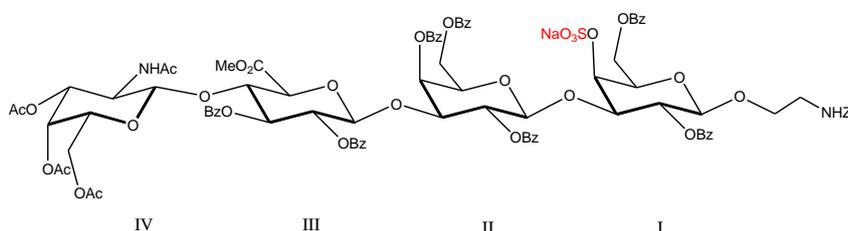
Analyse élémentaire calculée pour C₉₂H₉₀N₂O₃₄ : C, 62.51; H, 5.13; N, 1.58; trouvée : C, 61.44; H, 5.19; N, 1.43.

RMN¹H (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 8.19-7.00 (m, 40H ; Ar-*H*), 6.11 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^{II}), 5.83 (d, 1H, $J_{NH,2} = 9.0$ Hz ; NH GalN), 5.59 (dd, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 10.0$ Hz ; H-2^{II}), 5.38 (dd, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 9.5$ Hz ; H-2^I), 5.33 (dd, 1H, $J_{1,2} = 7.0$ Hz, $J_{2,3} = 9.0$ Hz ; H-2^{III}), 5.04-5.00 (m, 3H ; H-3^{III}, H-4^{IV}, NH), 4.95-4.85 (m, 4H ; H-1^I, H-3^{IV}, CH₂-Ar), 4.82 (d, 1H ; H-1^{II}), 4.59 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 4.5$ Hz, $J_{6a,6b} = 11.5$ Hz ; H-6a^{1ou II}), 4.57-4.36 (m, 6H ; H-1^{III}, H-1^{IV}, H-4^{III}, H-6a^{1ou II}, H-6b^{1et II}), 4.31 (dd, 1H ; H-3^{II}), 4.23 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 5.0$ Hz, $J_{5,6b} = 7.5$ Hz ; H-5^{1ou II}), 4.18-4.15 (m, 2H ; H-4^I, H-5^{III}), 3.95 (ddd, 1H, $J_{1,2} = 7.5$ Hz, $J_{2,3} = 10.5$ Hz ; H-2^{IV}), 3.85 (dd, 1H, $J_{2,3} = 10.0$ Hz, $J_{3,4} = 3.0$ Hz ; H-3^I), 3.79 (s, 3H ; COOCH₃), 3.76-3.70 (m, 2H ; H-5^{1ou II}, OCH₂), 3.53-3.47 (m, 1H ; OCH₂), 3.42 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 7.5$ Hz, $J_{6a,6b} = 10.5$ Hz ; C-6a^{IV}), 3.28-3.17 (m, 4H ; H-5^{IV}, H-6b^{IV}, NCH₂), 3.01-2.99 (m, 1H ; HO-4), 1.96, 1.95, 1.93, 1.86 (4s, 12H ; COCH₃).

RMN¹³C (100 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 170.46, 170.37, 170.02, 169.79, 168.90, 166.57, 166.16, 166.06, 164.72, 164.69, 164.27, 164.02, 156.24 (13C, C-6^{III} ; C=O), 136.58, 133.89,

133.50, 133.19, 133.13, 132.89, 132.73, 130.23, 129.74, 129.66, 129.56, 129.47, 129.33, 129.29, 129.25, 129.16, 128.99, 128.95, 128.93, 128.57, 128.54, 128.39, 128.33, 128.25, 128.13, 128.10, 128.04, 127.83 (48C; Ar-C), 101.69 (1C; C-1^{II}), 101.30 (1C; C-1^{III}), 101.17 (1C; C-1^{IV}), 101.13 (1C; C-1^I), 80.52 (1C; C-3^I), 75.85 (1C; C-4^{III}), 75.23 (1C; C-3^{II}), 73.50, 73.31, 72.31, 72.20, 72.13, 71.96, 71.12, 70.65, 70.57, 70.23 (10C; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-3^{III}, C-3^{IV}, C-4^{II}, C-5^I, C-5^{II}, C-5^{III}, C-5^{IV}), 68.62 (1C; OCH₂), 68.30 (1C; C-4^I), 66.30 (1C; CH₂-Ar), 65.92 (1C; C-4^{IV}), 63.72, 62.76 (2C; C-6^I, C-6^{II}), 60.16 (1C; C-6^{IV}), 53.00 (1C; COOCH₃), 50.81 (1C; C-2^{IV}), 40.75 (1C; NCH₂), 23.37, 20.58, 20.52, 20.50 (4C; COCH₃).

2-Benzyloxycarbonylaminoéthyl *O*-(3,4,6-tri-*O*-acétyl-2-désoxy-2-acétamido- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-(méthyl 2,3-di-*O*-benzoyl- β -D-glucopyranosyluronate)-(1 \rightarrow 3)-(2,4,6-tri-*O*-benzoyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-sodium 2,6-di-*O*-benzoyl-4-*O*-sulfonato- β -D-galactopyranoside 311



C₉₂H₈₉N₂NaO₃₇S
MW= 1869,737 g.mol⁻¹

A une solution de tétrasaccharide **310** (119 mg, 0.067 mmol) dans le DMF anhydre (2 ml) est ajouté du SO₃.NMe₃ (94 mg, 0,67 mmol, 10 eq). Le mélange réactionnel est agité à 60°C pendant 40 h sous argon puis refroidi à TA, du MeOH (2,5 ml) est ensuite ajouté et le mélange réactionnel est agité pendant 15 min sous argon. Le MeOH est évaporé et le résidu purifié sur colonne Sephadex LH-20 (DCM/MeOH : 1/1) puis sur colonne de gel de silice (DCM/MeOH, 19 : 1), puis sur colonne Sephadex SP-C25 [Na]⁺ (DCM/MeOH/H₂O : 9/5/1). Le produit est obtenu pur sous la forme d'une poudre blanche (102 mg, 81%).

$[\alpha]_D^{20} = +16$ (c=1,02, MeOH)

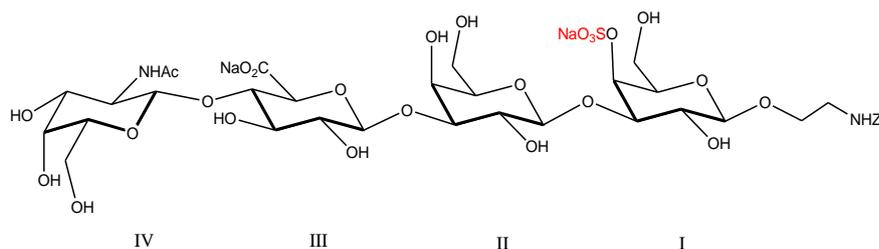
HRMS : *m/z* : calculée pour C₉₂H₉₂N₂O₃₇S : ([M+3H-Na]²⁺) : 924,254433 ; trouvée : 924,254341, calculée pour C₉₂H₉₅N₃O₃₇S : ([M+2H+NH₄-Na]²⁺) : 932,767707, trouvée : 932,767553, calculée pour C₉₂H₉₈N₄O₃₇S : ([M+H+2NH₄-Na]²⁺) : 941,280982 ; trouvée : 941,280604, calculée pour C₉₂H₈₉N₂O₃₇S : ([M-Na]²⁻) : 1845,487036; trouvée: 1845,485753, calculée pour C₉₂H₉₁N₂O₃₇S : ([M+2H-Na]⁺) : 1847,501589; trouvée: 1847,501961, calculée pour C₉₂H₉₄N₃O₃₇S : ([M+H+NH₄-Na]⁺) : 1864,528138 ; trouvée : 1864,526850

RMN ¹H (400 MHz, MeOD) : δ (ppm) 8.23-6.86 (m, 35H ; Ar-H), 5.87 (dd, 1H, *J*_{3,4}= 3.0 Hz, *J*_{4,5}<1Hz ; H-4^I), 5.27 (dd, 1H, *J*_{1,2}= 8.0 Hz, *J*_{2,3}= 9.5 Hz; H-2^I), 5.42 (dd, 1H, *J*_{1,2}= 8.0 Hz, *J*_{2,3}= 9.0 Hz; H-2^{II}), 5.22 (dd, 1H, *J*_{3,4}= 9.0 Hz, *J*_{4,5}= 10.0 Hz; H-4^{III}), 5.10 (dd, *J*_{3,4}= 3.0 Hz, *J*_{4,5}<1Hz ; H-4^{II}), 5.07-5.03 (m, 2H; H-1^{II}, H-3^{II}), 4.98-4.81 (m, 5H; H-1^I, H-1^{III}, H-2^{III}, CH₂-Ar), 4.66-4.63 (m, 2H; H-3^{IV}, H-4^{IV}), 4.59 (dd, 1H, *J*_{5,6a}= 4.5 Hz, *J*_{6a,6b}= 12.0 Hz; H-6a^I), 4.54 (d, 1H, *J*_{1,2}= 8.5 Hz; H-1^{IV}), 4.50-4.47 (m, 2H; H-3^{III}, H-6b^I), 4.38-4.24 (m, 3H; H-3^I, H-6a^{II}, H-6b^{II}), 4.14 (d, 1H; H-5^{III}), 4.10-4.05 (m, 1H; H-5^I), 3.86-3.79 (m, 2H; H-2^{IV}, H-5^{II}),

3.77 (s, 3H; COOCH₃), 3.69-3.64 (m, 1H; OCH₂), 3.52-3.46 (m, 2H; H-5^{IV}, OCH₂), 3.34 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 8.0$ Hz, $J_{6a,6b} = 11.5$ Hz; H-6a^{IV}), 3.19 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 6.0$ Hz; H-6b^{IV}), 3.12-3.10 (m, 2H NCH₂), 1.91, 1.88, 1.87 (3s, 12H, OCH₃).

RMN ¹³C (100 MHz, MeOD) : δ (ppm) 173.69, 171.86, 171.64, 169.22, 167.66, 167.61, 167.53, 166.84, 166.72, 166.49, 166.20 158.56 (13C ; C-6^{III}, C=O), 138.26, 134.45, 134.36, 134.26, 134.21, 134.03, 131.61, 131.41, 131.22, 131.20, 130.85, 130.81, 130.73, 130.68, 130.64, 130.56, 130.52, 130.38, 130.02, 129.83, 129.72, 129.65, 129.55, 129.52, 129.45, 129.24, 129.19, 128.92, 128.70 (42C; Ar-C), 103.22, 102.48, 102.37 (4C; C-1^I, C-1^{II}, C-1^{III}, C-1^{IV}), 79.83 (1C; C-3^I), 78.33 (1C; C-3^{II}), 77.62, 75.24, 74.36, 74.09, 73.13, 72.85, 72.32 (10C; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-3^{III}, C-4^{II}, C-4^{III}, C-5^{II}, C-5^I, C-5^{III}, C-5^{IV}), 71.58, 71.33 (2C; H-3^{IV}, C-4^I), 69.27 (1C; OCH₂), 67.36 (1C; CH₂-Ar), 67.32 (1C; C-4^{IV}), 65.47 (1C; C-6^I), 64.18 (1C; C-6^{II}), 61.63 (1C; C-6^{IV}), 53.69 (1C; COOCH₃), 51.77 (1C; C-2^{IV}), 41.69 (1C; NCH₂), 23.16, 20.54, 20.52, 20.43 (4C, COCH₃).

2-Benzyloxycarbonylaminoéthyl *O*-(2-désoxy-2-acétamido-β-D-galactopyranosyl)-(1→4)-(sodium β-D-glucopyranosyluronate)-(1→3)-(β-D-galactopyranosyl)-(1→3)-sodium 4-*O*-sulfonato-β-D-galactopyranoside 312



C₃₆H₅₂N₂Na₂O₂₇S
MW= 1022,84 g.mol⁻¹

Une solution de LiOOH préparée à 0°C à partir de LiOH (1 M, 0,27 mmol, 0,27 ml, 5 eq) et de H₂O₂ (30%, 135 µl) est ajoutée goutte à goutte à une solution refroidie à -10°C de tétrasaccharide **311** (99,5 mg, 0,053 mmol) dissous dans un mélange THF/H₂O (3 : 1 ; 2 ml). Le mélange réactionnel est ensuite agité pendant 8h à TA puis refroidi à 0°C. Une solution de NaOH (4M, 1,3 ml, 100 eq) est ajoutée et le mélange réactionnel est alors agité pendant 16h à TA puis dilué avec de l'eau (20 ml) et neutralisé avec de la résine Amberlite IR-120[H⁺] jusqu'à pH 3,5 (contrôle pH-métrique). La solution est ensuite filtrée sur fritté et concentrée. Le solide est alors lavé plusieurs fois avec de l'EtOH puis dissous dans de l'eau. Une solution de NaOH 0.1 M (0,53 ml, 10 eq) est ajoutée jusqu'à pH 8,5. Une purification sur colonne Sephadex LH-20 dans l'eau conduit au produit désiré sous la forme d'une poudre blanche (39 mg, 72%).

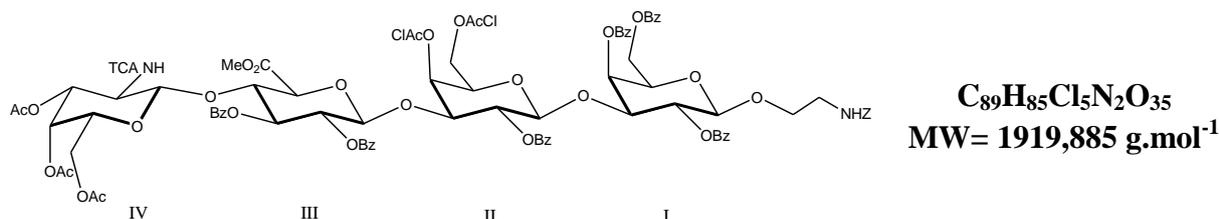
$[\alpha]_D^{20} = +8$ (c=1, H₂O)

HRMS : *m/z* : calculée pour C₃₆H₅₆N₂O₂₄ : ([M+4H-SO₃Na-Na]²⁺): 450,160602 ; trouvée : 450,160612, calculée pour C₃₆H₅₂N₂O₂₇S : ([M-2Na]²⁻) : 488,124456 ; trouvée : 488,124953, calculée pour C₃₆H₅₃N₂O₂₇S : ([M+H-2Na]⁻) : 977,256189 ; trouvée : 977,256509, calculée pour C₃₆H₅₈N₃O₂₇S : ([M+NH₄-2Na]⁺) : 996,297291, trouvée : 996,296317, calculée pour C₃₆H₅₂N₂NaO₂₇S : ([M-Na]⁻) : 999,238133 ; trouvée : 999,237782

RMN ¹H (400 MHz, D₂O) : δ (ppm) 7.49-7.40 (m, 5H; Ar-H), 5.14 (s, 2H ; CH₂-Ar), 4.85 (d, 1H, *J*_{3,4}= 3.0 Hz, *J*_{4,5}< 1Hz ; H-4^I), 4.70 (d, 1H, *J*_{1,2}= 8.0 Hz ; H-1^{I ou II}), 4.68 (d, 1H, *J*_{1,2}= 8.0 Hz ; H-1^{III}), 4.49 (d, 1H, *J*_{1,2}= 8.0 Hz ; H-1^{IV}), 4.46 (d, 1H, *J*_{1,2}= 8.0 Hz ; H-1^{I ou II}), 4.14 (d, 1H, *J*_{3,4}= 2.5 Hz, *J*_{4,5}< 1Hz ; H-4^{II}), 3.98-3.94 (m, 2H ; H-3^I, OCH₂), 3.92-3.83 (m, 2H ; H-2^{IV}, H-4^{IV}), 3.82-3.66 (m, 16H; H-2^I, H-2^{II}, H-3^{II}, H-3^{IV}, H-4^{III}, H-5^I, H-5^{II}, H-5^{III}, H-5^{IV}, H-6a^I, H-6b^I, H-6a^{II}, H-6b^{II}, H-6a^{IV}, H-6b^{IV}, OCH₂), 3.63 (dd, 1H, *J*_{2,3}= 9.5 Hz, *J*_{3,4}= 9.0 Hz ; H-3^{III}), 3.47 (dd, 1H ; H-2^{III}), 3.39-3.34 (m, 2H ; CH₂N), 2.06 (s, 3H ; NHC(O)CH₃).

RMN ¹³C (100 MHz, D₂O): δ (ppm) 175.62, 175.14 (2C; C-6^{III}, C=O), 159.01 (1C; NHC(O)O), 137.10, 129.38, 128.95, 128.28 (6C ; Ar-C), 104.53, 103.34 (3C ; C-1^I, C-1^{II}, C-1^{III}), 101.59 (1C; C-1^{IV}), 83.10 (1C; C-3^{II}), 80.14 (1C; C-3^I), 77.98 (1C; C-4^I), 79.05, 76.98, 75.83, 75.50, 75.09, 74.26, 73.51, 71.71, 70.95, 70.64 (10C; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-3^{III}, C-3^{IV}, C-4^{III}, C-5^I, C-5^{II}, C-5^{III}, C-5^{IV}), 69.63 (1C; OCH₂), 69.04, 68.39 (2C, C-4^{II}, C-4^{IV}), 67.50 (CH₂-Ar), 61.64, 61.52 (3C; C-6^I, C-6^{II}, C-6^{IV}), 52.93 (1C; C-2^{IV}), 41.09 (1C; CH₂N), 23.06 (1C; NHC(O)CH₃).

2-Benzoyloxycarbonylaminoéthyl *O*-(3,4,6-tri-*O*-acétyl-2-désoxy-2-trichloroacétamido-β-D-galactopyranosyl)-(1→4)-(méthyl 2,3-di-*O*-benzoyl-β-D-glucopyranosyluronate)-(1→3)-(2-*O*-benzoyl-4,6-di-*O*-chloroacétyl-β-D-galactopyranosyl)-(1→3)-2,4,6-tri-*O*-benzoyl-β-D-galactopyranoside 314



Une solution d'accepteur **313** (117 mg, 0,08 mmol), d'imidate **302** (75 mg, 0,13 mmol, 1,6 eq), et de tamis moléculaire 4Å activé est agitée à TA et sous argon dans le DCM anhydre (1 ml) pendant 45 min. Le TMSOTf 1M dans le toluène (15 µl, 15,6 µmol, 0,12 eq/imidate) est alors ajouté et le mélange réactionnel est agité pendant 30 min. Puis, la triéthylamine (20 µl) est ajoutée au mélange réactionnel. Après 5 min, le tamis est filtré puis rincé au DCM et le filtrat est concentré puis purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (DCM/acétone : 12/1 avec 0,1 % de Et₃N). Le produit est obtenu pur sous la forme d'une mousse blanche (102 mg, 68%).

Pf = 142-145°C (2-propanol à chaud)

[α]_D²⁰ = +20,5 (*c*=1, CHCl₃)

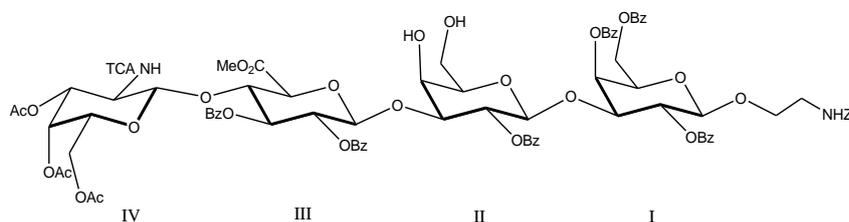
HRMS : *m/z* : calculée pour C₈₉H₈₇Cl₅N₂O₃₅ : ([M+2H]⁺) : 959,176052 ; trouvée : 959,175472, calculée pour C₈₉H₉₀Cl₅N₃O₃₅ : ([M+H+NH₄]²⁺) : 967,689326 ; trouvée : 967,689346, calculée pour C₈₉H₉₃Cl₅N₄O₃₅ : ([M+2NH₄]²⁺) : 976,202601 ; trouvée : 976,202224, calculée pour : C₈₉H₈₉Cl₅N₃O₃₅ ([M+NH₄]⁺) : 1934,371376 ; trouvée : 1934,369875

Analyse élémentaire calculée pour $C_{89}H_{85}Cl_5N_2O_{35}$: C, 55.68; H, 4.46; N, 1.46; trouvée : C, 54.94 ; H, 4.70 ; N, 1.41.

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) : δ (ppm) 8.06-6.93 (m, 35H ; Ar-H), 6.71 (d, 1H, $J_{2,NH}= 9.0$ Hz ; NH GalN), 5.77 (dd, 1H, $J_{3,4}= 3.0$ Hz, $J_{4,5}<1$ Hz ; H-4^I), 5.46 (dd, 1H, $J_{3,4}= 3.5$ Hz, $J_{4,5}<1$ Hz ; H-4^{II}), 5.43 (dd, 1H, $J_{1,2}= 8.0$ Hz, $J_{2,3}= 9.5$ Hz ; H-2^I), 5.35 (dd, 1H, $J_{3,4}= J_{4,5}= 9.0$ Hz ; H-4^{III}), 5.14-5.08 (m, 4H ; H-2^{II}, H-2^{III}, H-3^{III}, H-4^{IV}), 5.05 (dd, 1H, $J_{2,3}= 11.0$ Hz, $J_{3,4}= 3.0$ Hz, H-3^{IV}), 4.98-4.93 (m, 1H ; NH), 4.88 (ABq, 2H ; CH_2 -Ar), 4.82 (d, 1H, $J_{1,2}= 8.0$ Hz, H-1^{IV}), 4.75 (d, 1H, $J_{1,2}= 8.0$ Hz ; H-1^{II}), 4.65 (d, 1H, $J_{1,2}= 7.0$ Hz ; H-1^{III}), 4.58 (dd, 1H, $J_{5,6a}= 4.0$ Hz, $J_{6a,6b}= 12.0$ Hz ; H-6a^I), 4.52 (d, 1H, $J_{1,2}= 8.0$ Hz ; H-1), 4.37 (dd, 1H, $J_{5,6b}= 7.0$ Hz ; H-6b^I), 4.25-4.20 (m, 2H ; H-5^{III}, H-6a^{II}), 4.16-4.05 (m, 5H ; H-3^I, H-5^I, H-6b^{II}, CH_2Cl), 3.98-3.88 (m, 5H ; H-2^{IV}, H-3^{II}, H-5^{II}, CH_2Cl), 3.85 (s, 3H ; $COOCH_3$), 3.81-3.77 (m, 1H ; OCH_2), 3.63 (dd, 1H, $J_{5,6a}= 6.5$ Hz, $J_{5,6b}= 7.0$ Hz ; H-5^{IV}), 3.54-3.49 (m, 1H ; OCH_2), 3.30-3.15 (m, 4H ; H-6^{IV}, NCH_2), 1.95, 1.92, 1.91 (3s, 9H ; $COCH_3$).

RMN ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) : δ (ppm) 170.14, 169.90, 169.80, 168.34, 167.00, 166.95, 166.18, 165.89, 164.98, 164.57, 164.49, 163.62, 161.63, 156.18 (14C ; C-6^{III}, C=O), 136.49, 133.21, 133.16, 132.91, 132.69, 132.55, 130.10, 129.63, 129.56, 129.44, 129.40, 129.31, 128.99, 128.42, 128.37, 128.32, 128.20, 128.15, 127.95, 127.9993, 127.86, 127.84 (42C; Ar-C), 101.33 (1C; C-1^I), 101.10, 101.04 (1C; C-1^{II}, C-1^{III}), 99.91 (1C; C-1^{IV}), 92.38 (1C; CCl_3), 77.32 (1C; C-3^I), 76.10 (1C; C-3^{II}), 75.55 (1C; C-5^{III}), 73.43, 72.00, 71.86, 71.23, 70.96, 70.88, 70.78, 70.45, 70.06, 69.90 (10C; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-3^{III}, C-3^{IV}, C-4^I, C-4^{II}, C-4^{III}, C-5^I, C-5^{II}), 68.91 (1C; OCH_2), 66.34 (1C; CH_2 -Ar), 66.06 (1C; C-4^{IV}), 63.54 (1C; C-6^{II}), 63.16 (1C; C-6^I), 60.19 (1C; C-6^{IV}), 53.31 (1C; $COOCH_3$), 52.68 (1C; C-2^{IV}), 40.66, 40.55, 40.48 (3C; 2 CH_2Cl , NCH_2), 20.58, 20.52, 20.36 (3C, $COCH_3$).

2-Benzyloxycarbonylaminoéthyl *O*-(3,4,6-tri-*O*-acétyl-2-désoxy-2-trichloroacétamido- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-(méthyl 2,3-di-*O*-benzoyl- β -D-glucopyranosyluronate)-(1 \rightarrow 3)-(2-*O*-benzoyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-tri-*O*-benzoyl- β -D-galactopyranoside **315**



$C_{85}H_{83}Cl_3N_2O_{33}$
MW= 1766,921 g.mol⁻¹

Le tétrasaccharide **314** (376 mg, 0,19 mmol) et la thiourée (62 mg, 0,78 mmol, 4 eq) dissous dans l'éthanol et la pyridine (1 : 1 ; 5 ml) sont agités à 80°C pendant 1h. Le mélange réactionnel est ensuite concentré puis dilué avec du CH_2Cl_2 , la phase organique est lavée successivement avec de l'eau, du NaCl saturé, de l'eau, puis séchée sur $MgSO_4$ et co-évaporée au toluène. Le résidu brut est alors purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (DCM/MeOH : 19/1). Le produit est obtenu pur sous la forme d'une mousse jaune pâle (323 mg, 93%).

$[\alpha]_D^{20} = +15,5$ (c=1,03, CHCl₃)

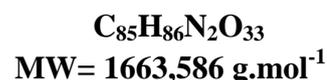
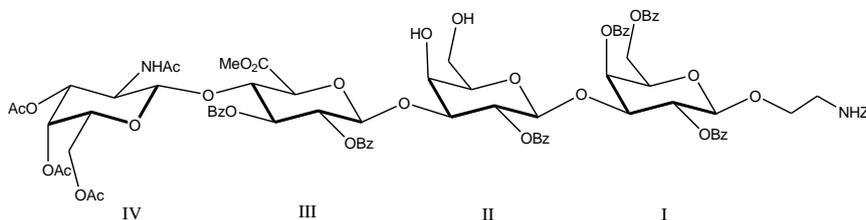
HRMS : m/z : calculée pour C₈₅H₈₈Cl₅N₃O₃₃ : ([M+H+NH₄]²⁺) : 891,717734 ; trouvée : 891,717368, calculée pour C₈₅H₉₁Cl₃N₄O₃₃ : ([M+2NH₄]²⁺) : 900,231009 ; trouvée : 900,230534, calculée pour C₈₅H₈₄Cl₃N₂O₃₃ : ([M+H]⁺) : 1765,401643 ; trouvée : 1765,400628, calculée pour : C₈₅H₈₇Cl₃N₃O₃₃ ([M+NH₄]⁺) : 1782,428192 ; trouvée : 1782,427461

Analyse élémentaire calculée pour C₈₅H₈₃Cl₃N₂O₃₃ : C, 57.78; H, 4.73; N, 1.59; trouvée : C, 56.87; H, 4.86; N, 1.50.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 8.12-6.99 (m, 35H ; Ar-H), 6.71 (d, 1H, $J_{2,NH} = 9.0$ Hz ; NH GalN), 5.90 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^I), 5.49 (dd, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 9.5$ Hz ; H-2^I), 5.40 (dd, 1H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.0$ Hz ; H-3^{III}), 5.21 (dd, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 10.0$ Hz ; H-2^{II}), 5.15 (dd, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz ; H-2^{III}), 5.10 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^{IV}), 5.04 (dd, 1H, $J_{2,3} = 11.0$ Hz ; H-3^{IV}), 4.95-4.92 (m, 2H ; NH, CH₂-Ar), 4.85-4.78 (m, 3H ; H-1^{II}, H-1^{IV}, CH₂-Ar), 4.72 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz ; H-1^{III}), 4.53-4.94 (m, 1H ; H-6a^I), 4.51 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz ; H-1^I), 4.38 (dd, 1H, $J_{5,6b} = 7.0$ Hz, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz ; H-6b^I), 4.22 (dd, 1H, $J_{4,5} = 9.5$ Hz ; H-4^{III}), 4.08-4.00 (m, 4H ; H-3^I, H-4^{II}, H-5^I, H-5^{III}), 3.95 (ddd, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,NH} = 2.5$ Hz ; H-2^{IV}), 3.86-3.80 (m, 3H ; H-3^{II}, H-5^{II}, H-6a^{IV}), 3.77 (s, 1H ; COOCH₃), 3.70-3.58 (m, 3H ; H-5^{IV}, H-6b^{IV}, OCH₂), 3.53-3.48 (m, 1H ; OCH₂), 3.29-3.16 (3, 4H ; H-6a^{II}, H-6b^{II}, NCH₂), 1.93, 1.92, 1.91 (3s, 9H ; COCH₃).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 170.73, 170.11, 169.92, 169.84, 168.83, 167.21, 166.11, 164.89, 164.63, 163.98, 161.80, 156.15 (12C, C-6^{III} ; C=O), 136.46, 133.56, 133.15, 132.73, 132.66, 132.19, 130.17, 129.58, 129.46, 129.42, 129.40, 129.19, 129.17, 128.98, 128.92, 128.75, 128.49, 128.42, 128.34, 128.28, 128.12, 128.03, 127.98, 127.81, 127.68 (42C ; Ar-C), 101.91 (1C ; C-1^{III}), 101.49 (1C ; C-1^I), 100.97 (1C ; C-1^{II}), 100.09 (1C ; C-1^{IV}), 92.42 (1C ; CCl₃), 81.03 (1C ; C-3^{II}), 78.35 (1C ; C-3^I), 75.59 (1C ; C-4^{III}), 75.49 (1C ; C-5^I), 73.24, 72.21, 71.69, 71.19, 70.87, 70.57, 70.28, 70.20, 69.96 (9C ; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-3^{III}, C-3^{IV}, C-4^I, C-4^{II}, C-5^{II}, C-5^{IV}), 68.94 (1C ; OCH₂), 68.67 (1C ; C-5^{III}), 66.28 (1C ; CH₂-Ar), 65.95 (1C ; C-4^{IV}), 62.89 (1C ; C-6^I), 62.59 (1C ; C-6^{IV}), 60.15 (1C ; C-6^{II}), 53.26 (1C ; COOCH₃), 52.52 (1C ; C-2^{IV}), 40.62 (1C ; NCH₂), 21.48, 20.47, 20.34 (3C ; COCH₃).

2-Benzyloxycarbonylaminoéthyl *O*-(3,4,6-tri-*O*-acétyl-2-désoxy-2-acétyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-(méthyl 2,3-di-*O*-benzoyl- β -D-glucopyranosyluronate)-(1 \rightarrow 3)-(2-*O*-benzoyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-tri-*O*-benzoyl- β -D-galactopyranoside
316



Au tétrasaccharide **315** (267 mg, 0,15 mmol) dissous dans l'acide acétique (4 ml) à 50°C et sous argon est ajouté toutes les heures pendant 5 heures du complexe Zn/Cu (5 x 58 mg, 2,3 mmol, 15 eq.). Le mélange réactionnel est ainsi agité pendant 24h puis refroidi à TA puis filtré sur Célite et rincé successivement avec du DCM, de l'AcOEt et du toluène. Le filtrat est concentré puis purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (DCM/iPrOH : 16/1). Le produit est obtenu pur sous la forme d'une mousse blanche (144mg, 57%). Des fractions mélangées (67 mg) non complètement réduites sont réengagées dans une seconde réaction de réduction dans les mêmes conditions puis traitées et purifiées dans le même système d'éluant pour donner le diol désiré (19mg). Ainsi, le rendement global remonte à 65%.

Pf = 145-148°C (iPrOH à chaud)

$[\alpha]_D^{20} = +23$ ($c=1$, CHCl₃)

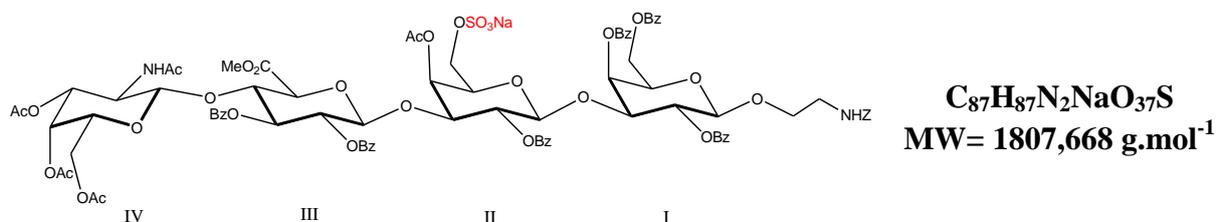
HRMS : m/z : calculée pour C₈₅H₈₈N₂O₃₃ : ([M+2H]²⁺) : 832,262918 ; trouvée : 832,263206, calculée pour C₈₅H₉₁N₃O₃₃ : ([M+H+NH₄]²⁺) : 840,776193 ; trouvée : 840,776461, calculée pour C₈₅H₉₄N₄O₃₃ : ([M+2NH₄]²⁺) : 849,289467 ; trouvée : 849,289636, calculée pour C₈₅H₈₇N₂O₃₃ : ([M+H]⁺) : 1663,518560 ; trouvée : 1663,518933, calculée pour C₈₅H₉₀N₃O₃₃ : ([M+NH₄]⁺) : 1680,545109 ; trouvée : 1680,546134

Analyse élémentaire calculée pour C₈₅H₈₆N₂O₃₃ : C, 61.37; H, 5.21; N, 1.68; trouvée : C, 59.52; H, 5.32; N, 1.80.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) 8.14-6.70 (m, 35H ; Ar-H), 5.90 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^I), 5.51 (dd, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 9.5$ Hz ; H-2^I), 5.50-5.47 (m, 1H ; NH GalN), 5.35 (dd, 1H, $J_{2,3} = 7.5$, $J_{3,4} = 8.5$ Hz ; H-3^{III}), 5.26 (dd, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 10.0$ Hz ; H-2^{II}), 5.09-5.04 (m, 2H ; H-2^{III}, H-4^{IV}), 4.97-4.92 (m, 3H ; H-3^{IV}, NH, CH₂-Ar), 4.84-4.80 (m, 2H ; H-1^{III}, CH₂-Ar), 4.71 (d, 1H, $J_{1,2} = 7.5$ Hz ; H-1^{II}), 4.60 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz ; H-1^{IV}), 4.52 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz ; H-1^I), 4.52-4.49 (m, 1H ; H-6a^I), 4.41-4.32 (m, 2H ; H-4^{III}, H-6b^I), 4.13 (d, 1H, $J_{4,5} = 9.5$ Hz ; H-5^{III}), 4.09-4.04 (m, 2H ; H-3^I, H-5^I), 4.01-3.98 (m, 1H ; H-4^{II}), 3.91-3.78 (m, 8H ; H-2^{IV}, H-3^{II}, H-5^{II}, -6a^{IV}, OCH₂, COOCH₃), 3.67-3.63 (m, 1H ; H-6b^{IV}), 3.59-3.49 (m, 2H ; H-5^{IV}, OCH₂), 3.43-3.36 (m, 1H ; H-6a^{II}), 3.25-3.18 (m, 4H ; H-6b^{II}, HO-4, NCH₂), 1.92, 1.89, 1.88 (3s, 12H ; COCH₃).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 170.37, 170.01, 169.84, 169.11, 167.25, 166.15, 164.79, 164.75, 164.71, 164.13, 156.19 (12C, C-6^{III}; C=O), 1363.50, 133.62, 133.20, 132.90, 132.69, 132.24, 130.27, 129.63, 129.52, 129.47, 129.23, 129.02, 128.95, 128.89, 128.80, 128.55, 128.48, 128.41, 128.38, 128.33, 128.27, 128.22, 128.17, 128.08, 127.87, 127.71 (42C; Ar-C), 102.09 (1C; C-1^{II}), 101.57 (1C; C-1^I), 101.11 (1C; C-1^{IV}), 100.70 (1C; C-1^{III}), 81.26 (1C; C-3^{II}), 78.63 (1C; C-3^I), 76.08 (1C; C-4^{III}), 75.68 (1C; C-5^{II}), 73.32 (1C; C-5^{III}), 72.95 (1C; C-3^{III}), 71.74, 71.67, 70.92, 70.87, 70.41, 70.30, 69.03 (7C; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-3^{IV}, C-4^I, C-5^I, C-5^{IV}), 68.66 (1C; OCH₂), 67.04 (1C; C-4^{II}), 66.34 (1C; CH₂-Ar), 65.88 (1C; C-4^{IV}), 62.90, 62.73 (2C; C-6^I, C-6^{IV}), 60.17 (1C; C-6^{II}), 53.27 (1C; COOCH₃), 50.79 (1C; C-2^{IV}), 40.68 (1C; NCH₂), 23.31, 20.55, 20.47 (4C; COCH₃).

2-Benzyloxycarbonylaminoéthyl O-(3,4,6-tri-O-acétyl-2-désoxy-2-acétamido- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-(méthyl 2,3-di-O-benzoyl- β -D-glucopyranosyluronate)-(1 \rightarrow 3)-(sodium 4-O-acétyl-2-O-benzoyl-4-O-sulfonato- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-tri-O-benzoyl- β -D-galactopyranoside 317



A une solution de diol **316** (45 mg, 0,03 mmol) dans le DMF anhydre (0,9 ml) est ajouté du $\text{SO}_3\cdot\text{NMe}_3$ (15 mg, 0,12 mmol, 4 eq) et le mélange réactionnel est agité à 40°C sous argon et le mélange réactionnel est alors agité pendant 60 h, puis refroidi à TA et l'excès de réactif est détruit avec du MeOH (0,8 ml). Le mélange réactionnel est alors agité pendant 30 min sous argon puis concentré sous pression réduite et purifié sur colonne de gel de silice (DCM/MeOH : 19/1) puis (DCM/MeOH : 9/1). Le résidu est ensuite dissous dans la pyridine (1 ml) et de l'anhydride acétique (0,5 ml) est ajouté à 0°C. Le mélange réactionnel est ainsi agité de 0°C à TA pendant 16 h, puis co-évacué au toluène et purifié sur colonne de gel de silice (DCM/MeOH : 9/1). Les fractions recueillies sont ensuite passées sur colonne Sephadex SP-C25 $[\text{Na}]^+$ (DCM/MeOH/H₂O : 9/5/1). Le produit est obtenu pur sous la forme d'une poudre blanche (41 mg, 84%).

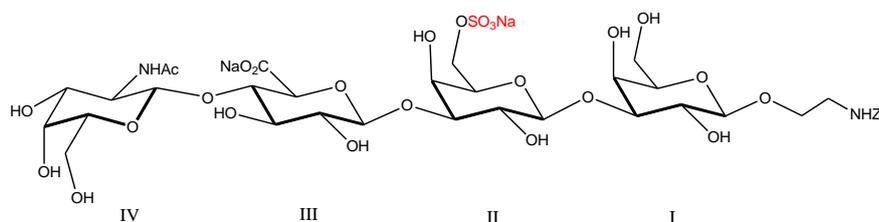
$[\alpha]_D^{20} = +10,5$ ($c=1$, MeOH)

HRMS : m/z : calculée pour $\text{C}_{87}\text{H}_{90}\text{N}_2\text{O}_{37}\text{S}$: ($[\text{M}+3\text{H}-\text{Na}]^{2+}$) : 893,246608; trouvée : 893,245787, calculée pour $\text{C}_{87}\text{H}_{93}\text{N}_3\text{O}_{37}\text{S}$: ($[\text{M}+2\text{H}+\text{NH}_4-\text{Na}]^{2+}$) : 901,759882, trouvée : 901,759178, calculée pour $\text{C}_{87}\text{H}_{96}\text{N}_4\text{O}_{37}\text{S}$: ($[\text{M}+\text{H}+2\text{NH}_4-\text{Na}]^+$) : 910,273157, trouvée : 910,272081, calculée pour ($[\text{M}-\text{Na}]^-$) : 1783,471386; trouvée: 1783,470989, calculée pour: $\text{C}_{87}\text{H}_{89}\text{N}_2\text{O}_{37}\text{S}$: ($[\text{M}+2\text{H}-\text{Na}]^+$) : 1785,485939; trouvée: 1785,484506, calculée pour $\text{C}_{87}\text{H}_{92}\text{N}_3\text{O}_{37}\text{S}$: ($[\text{M}+\text{H}+\text{NH}_4-\text{Na}]^+$) : 1802,512488 ; trouvée : 1802,510007, calculée pour $\text{C}_{87}\text{H}_{95}\text{N}_4\text{O}_{37}\text{S}$: ($[\text{M}+2\text{NH}_4]^+-\text{Na}]^+$) : 1819,539037; trouvée: 1819,537030

RMN ^1H (400 MHz, MeOD + CDCl_3) : δ (ppm) 8.01-6.87 (m, 35H ; Ar-H), 5.87 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^I), 5.43 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^{II}), 5.40-5.35 (m, 2H; H-2^I, H-2^{III}), 5.10 (dd, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 10.0$ Hz ; H-2^{II}), 5.06-5.02 (m, 2H; H-4^{IV}, $\text{CH}_2\text{-Ar}$), 4.94 (dd, 1H, $J_{2,3} = 11.0$ Hz, $J_{3,4} = 3.0$ Hz; H-3^{IV}), 4.86-4.80 (m, 2H; H-1^{II}, $\text{CH}_2\text{-Ar}$), 4.72 (d, 1H, $J_{1,2} = 7.5$ Hz ; H-1^I), 4.56 d, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz; H-1^{IV}), 4.50 (dd, 1H, $J_{2,3} = 10.0$ Hz; H-3^I), 4.47-4.35 (m, 3H ; H-1^{III}, H-6a^{II}, H-6b^{II}), 4.32-4.28 (m, 1H; H-5^{II}), 4.21 (dd, 1H, $J_{2,3} = 10.0$ Hz, $J_{3,4} = 9.0$ Hz ; H-3^{III}), 4.11-4.04 (m, 5H; H-4^{III}, H-5^I, H-5^{III}, H-6a^I, H-6b^I), 4.01 (dd, 1H; H-3^{II}), 3.87 (s, 3H; COOCH_3), 3.79-3.74 (m, 2H; H-2^{IV}, OCH_2), 3.58-3.54 (m, 2H; H-5^{IV}, OCH_2), 3.38 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 7.0$ Hz, $J_{6a,6b} = 11.0$; H-6a^{IV}), 3.22 (dd, 1H; H-6b^{IV}), 3.16-3.12 (m, 2H NCH_2), 1.95, 1.91, 1.89, 1.88, 1.87 (5s, 15H, COCH_3).

RMN ^{13}C (100 MHz, MeOD) : δ (ppm) 173.45, 171.78, 171.66, 171.50, 169.23, 167.61, 167.49, 166.33, 166.01, 165.76, 160.56, 158.26, 157.58 (13C ; C-6^{III}, C=O), 137.83, 134.33, 134.18, 134.15, 134.07, 133.82, 133.59, 131.03, 130.93, 130.68, 130.54, 130.53, 130.39, 130.29, 130.24, 130.10, 129.73, 129.61, 129.42, 129.37, 129.30, 129.24, 128.98, 1283.91, 128.75, 128.51 (42C; Ar-C), 102.43 (4C; C-1^I), 102.26, 101.93 (2C; C-1^{II}, C-1^{III}), 101.88 (1C; C-1^{IV}), 78.73 (1C; C-3^{II}), 77.27, 77.12 (2C; C-3^I, C-3^{III}), 74.86, 74.03, 73.32, 72.90, 72.73, 71.98, 71.24, 71.12 (12C; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, H-3^{IV}, C-4^I, C-4^{II}, C-4^{III}, C-4^{IV}, C-5^I, C-5^{II}, C-5^{III}, C-5^{IV}), 70.65 (1C; OCH_2), 69.53 (1C; C-6^I), 67.28 (1C; $\text{CH}_2\text{-Ar}$), 64.40 (1C; C-6^{II}), 61.49 (1C; C-6^{IV}), 53.74 (1C; COOCH_3), 51.62 (1C; C-2^{IV}), 41.52 (1C; NCH_2), 23.13, 20.70, 203.61, 20.59, 20.48 (5C, COCH_3).

2-Benzyloxycarbonylaminoéthyl *O*-(2-désoxy-2-acétamido- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-(sodium β -D-glucopyranosyluronate)-(1 \rightarrow 3)-(sodium 6-*O*-sulfonato β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)- β -D-galactopyranoside 318



**$\text{C}_{36}\text{H}_{52}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_{27}\text{S}$
MW= 1022,84 g.mol⁻¹**

Une solution de LiOOH préparée à 0°C à partir de LiOH (1 M, 0,35 mmol, 0,35 ml, 5 eq) et de H_2O_2 (30%, 175 μl) est ajoutée goutte à goutte à une solution refroidie à -10°C de tétrasaccharide **317** (115,5 mg, 0,064 mmol) dissous dans un mélange THF/ H_2O (3 : 1 ; 2 ml). Le mélange réactionnel est ensuite agité pendant 8h à TA puis refroidi à 0°C. Une solution de NaOH (4M, 1,6 ml, 100 eq) est ajoutée et le mélange réactionnel est alors agité pendant 16h à TA puis dilué avec de l'eau (20 ml) et neutralisé avec de la résine Amberlite IR-120[H⁺] jusqu'à pH 3,5 (contrôle pH-métrique). La solution est ensuite filtrée sur fritté et concentrée. Le solide est alors lavé plusieurs fois avec de l'EtOH puis dissous dans de l'eau. Une solution de NaOH 0.1 M (0,64 ml, 10 eq) est ajoutée jusqu'à pH 8,5. Une purification sur colonne Sephadex LH-20 dans l'eau conduit au produit désiré sous la forme d'une poudre blanche (46 mg, 70%).

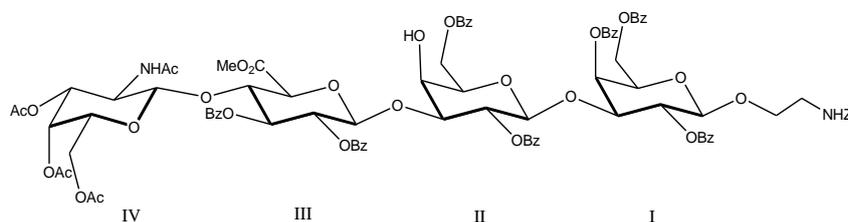
$[\alpha]_D^{20} = +6,5$ ($c=1$, H_2O)

HRMS : m/z : calculée pour $C_{36}H_{56}N_2O_{24}$: $([M+4H-SO_3-2Na]^+)$: 450,160602 ; trouvée : 450,160749, calculée pour $C_{36}H_{52}N_2O_{27}S$: $([M-2Na]^{2-})$: 488,124456 ; trouvée : 488,124985, calculée pour $C_{36}H_{56}N_2O_{27}S$: $([M+4H-2Na]^{2+})$: 490,139009 ; trouvée : 490,138816, calculée pour $C_{36}H_{55}N_2NaO_{27}S$: $([M+3H-Na]^{2+})$: 501,129981 ; trouvée : 501,129848, calculée pour $C_{36}H_{55}N_2O_{24}$: $([M+3H-SO_3-2Na]^+)$: 899,313927 ; trouvée : 899,312629, calculée pour $C_{36}H_{53}N_2O_{27}S$: $([M+H-2Na]^-)$: 977,256189 ; trouvée : 977,256222, calculée pour $C_{36}H_{55}N_2O_{27}S$: $([M+3H-2Na]^+)$: 979,270742 ; trouvée : 979,269769, calculée pour $C_{36}H_{58}N_3O_{27}S$: $([M+NH_4-2Na]^+)$: 996,297291, trouvée : 996,295851, calculée pour : $C_{36}H_{52}N_2NaO_{27}S$: $([M-Na]^-)$: 999,238133 ; trouvée : 999,237745, calculée pour $C_{36}H_{54}N_2NaO_{27}S$: $([M+2H-Na]^+)$: 1001,252686 ; trouvée : 1001,251429

RMN 1H (400 MHz, D_2O) : δ (ppm) 7.47-7.42 (m, 5H; Ar-H), 5.14 (s, 2H ; CH_2 -Ar), 4.69 (d, 1H, $J_{1,2}$ = 8.0 Hz ; H-1^{III}), 4.66 (d, 1H, $J_{1,2}$ = 7.5 Hz ; H-1^{I ou II}), 4.49 (d, 1H, $J_{1,2}$ = 8.5 Hz ; H-1^{IV}), 4.42 (d, 1H, $J_{1,2}$ = 8.0 Hz ; H-1^{I ou II}), 4.26 (d, 1H, $J_{3,4}$ = 3.0 Hz, $J_{4,5}$ < 1Hz ; H-4^{II}), 4.22-4.19 (m, 3H; H-4^I, H-6a^{II}, H-6b^{II}), 3.99-3.82 (m, 5H; H-2^{IV}, H-3^I, H-3^{II}, H-4^{IV}, OCH_2), 3.80-3.67 (m, 13H; H-2^I, H-2^{II}, H-3^{IV}, H-4^{III}, H-5^I, H-5^{II}, H-5^{III}, H-5^{IV}, H-6a^I, H-6b^I, H-6a^{IV}, H-6b^{IV}, OCH_2), 3.64 (dd, 1H, $J_{2,3}$ = 9.5 Hz, $J_{3,4}$ = 9.0 Hz ; H-3^{III}), 3.48 (dd, 1H ; H-2^{III}), 3.40-3.37 (m, 2H ; CH_2N), 2.07 (s, 3H ; $NHC(O)CH_3$).

RMN ^{13}C (100 MHz, D_2O) : δ (ppm) 175.63, 175.22 (2C ; C-6^{III}, C=O), 158.99 (1C ; $NHC(O)O$), 137.08, 129.39, 128.98, 128.34 (6C ; Ar-C), 104.44, 104.36, 103.24 (3C ; C-1^I, C-1^{II}, C-1^{III}), 101.54 (1C ; C-1^{IV}), 83.33, 82.93 (2C ; C-3^I, C-3^{II}), 80.06, 77.01, 75.83, 75.55, 74.25, 73.53, 73.07, 71.70, 70.51, 70.29 (10C ; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-3^{III}, C-3^{IV}, C-4^{III}, C-5^I, C-5^{II}, C-5^{III}, C-5^{IV}), 69.41 (1C ; OCH_2), 69.01, 68.59 (3C, C-4^I, C-4^{II}, C-4^{IV}), 68.39 (1C ; C-6^{II}), 67.50 (CH_2 -Ar), 61.79, 61.64 (2C ; C-6^I, C-6^{IV}), 52.92 (1C ; C-2^{IV}), 41.16 (1C ; CH_2N), 23.06 (1C ; $NHC(O)CH_3$).

2-Benzyloxycarbonylaminoéthyl *O*-(3,4,6-tri-*O*-acétyl-2-désoxy-2-acétamido- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-(méthyl 2,3-di-*O*-benzoyl- β -D-glucopyranosyluronate)-(1 \rightarrow 3)-(2,6-di-*O*-benzoyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-tri-*O*-benzoyl- β -D-galactopyranoside 319



$C_{92}H_{90}N_2O_{34}$
MW = 1767,692 g.mol⁻¹

Un mélange de diol **316** (148 mg, 0.09 mmol) et de BzCN (27 mg, 0.21 mmol, 2 eq.) sont dissous à TA et sous argon dans la pyridine anhydre (3 ml). Le mélange réactionnel est agité pendant 5 h puis du BzCN (13 mg, 1eq) a été ajouté 2 fois toutes les heures. Après 8h, le mélange réactionnel est neutralisé avec du MeOH (2 ml) et agité sous argon pendant 30 min puis, évaporé et co-évaporé avec du toluène. Le résidu est purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (DCM/iPrOH : 16/1) pour donner le produit pur sous la forme d'un solide blanchâtre (135 mg, 86%).

Pf = 130-133°C (iPrOH à chaud)

$[\alpha]_D^{20} = +26$ ($c=1,02$, CHCl_3)

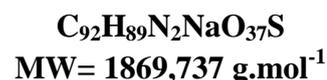
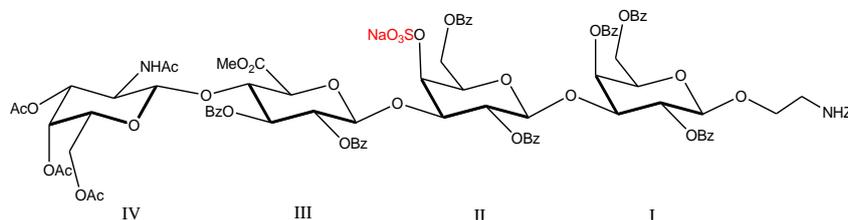
HRMS : m/z : calculée pour $\text{C}_{92}\text{H}_{92}\text{N}_2\text{O}_{34}$: ($[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$): 884,276025 ; trouvée : 884,275481, calculée pour $\text{C}_{92}\text{H}_{95}\text{N}_3\text{O}_{34}$: ($[\text{M}+\text{H}+\text{NH}_4]^{2+}$): 892,789300, trouvée : 892,788639, calculée pour $\text{C}_{92}\text{H}_{91}\text{N}_2\text{O}_{34}$: ($[\text{M}+\text{H}]^+$): 1767,544774 ; trouvée : 1767,540125, calculée pour $\text{C}_{92}\text{H}_{94}\text{N}_3\text{O}_{34}$: ($[\text{M}+\text{NH}_4]^+$): 1784,571324 ; trouvée : 1784,566594

Analyse élémentaire calculée pour $\text{C}_{92}\text{H}_{90}\text{N}_2\text{O}_{34}$: C, 62.51; H, 5.13; N, 1.58; trouvée : C, 61.55; H, 5.23; N, 1.46.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 8.10-6.86 (m, 40H ; Ar-H), 5.85 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^I), 5.75 (d, 1H, $J_{\text{NH},2} = 9.0$ Hz ; NH GalN), 5.44 (dd, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 9.5$ Hz ; H-2^I), 5.36 (dd, 1H, $J_{2,3} = 6.5$ Hz, $J_{3,4} = 8.5$ Hz ; H-3^{III}), 5.27 (dd, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 9.5$ Hz ; H-2^{II}), 5.07-5.00 (m, 3H ; H-2^{III}; H-4^{IV}, NH), 4.96-4.91 (m, 2H ; H-3^{IV}, CH_2 -Ar), 4.85 (d, 1H, $J_{1,2} = 7.5$ Hz ; H-1^{III}), 4.85-4.81 (m, 1H ; CH_2 -Ar), 4.69 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz ; H-1^{II}), 4.64-4.61 (m, 3H ; H-1^{IV}, H-6a^I, H-6b^I), 4.50 (d, 1H, $J_{4,5} = 9.5$ Hz ; H-5^{III}), 4.47-4.44 (m, 3H ; H-1^I, H-4^{III}, H-6a^{II}), 4.20-4.16 (m, 3H ; H-3^I, H-4^{II}, H-6b^{II}), 4.00-3.95 (m, 2H ; H-2^{IV}, H-5^{II}), 3.93-3.90 (m, 1H ; HO-6), 3.86-3.77 (m, 2H ; H-5^I, OCH_2), 3.73-3.68 (m, 4H ; H-3^{II}, COOCH_3), 3.56-3.48 (m, 1H ; OCH_2), 3.46 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 7.0$ Hz, $J_{6a,6b} = 10.5$ Hz ; C-6a^{IV}), 3.33 (ddd, 1H, $J_{5,6b} = 6.5$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-5^{IV}), 3.29-3.19 (m, 3H ; H-6b^{IV}, NCH_2), 1.95, 1.93, 1.92, 1.87 (4s, 12H ; COCH_3).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 170.53, 170.37, 170.01, 169.85, 169.70, 166.18, 166.03, 165.69, 164.77, 164.61, 164.57, 164.13, 156.20 (13C, C-6^{III} ; C=O), 136.47, 133.22, 133.12, 133.10, 133.00, 132.94, 132.84, 132.15, 130.07, 129.98, 129.81, 129.61, 129.56, 129.53, 129.50, 129.47, 129.40, 129.37, 129.03, 128.95, 128.74, 128.68, 128.45, 128.42, 128.34, 128.30, 128.27, 128.23, 128.13, 128.10, 127.82, 127.70, 126.97 (48C; Ar-C), 101.41 (1C; C-1^I), 101.12, 101.07 (2C; C-1^{II}, C-1^{IV}), 100.35 (1C; C-1^{III}), 81.31 (1C; C-3^{II}), 76.08 (1C; C-3^I), 76.04 (1C; C-5^{III}), 75.68 (1C; C-3^{III}), 73.31, 73.00, 72.17, 71.90, 71.67 (5C; C-2^I, C-2^{III}, C-4^{III}, C-5^I, C-5^{II}), 71.47, 70.42, 70.38, 70.07 (4C; C-2^{II}, C-3^{IV}, C-4^I, C-5^{IV}), 68.87 (1C; OCH_2), 67.72 (1C; C-4^{II}), 66.31 (1C; CH_2 -Ar), 65.87 (1C; C-4^{IV}), 63.12 (1C; C-6^I), 62.79 (1C; C-6^{II}), 60.21 (1C; C-6^{IV}), 53.25 (1C; COOCH_3), 50.67 (1C; C-2^{IV}), 40.64 (1C; NCH_2), 23.24, 20.51, 20.45, 20.43 (4C; COCH_3).

2-Benzyloxycarbonylaminoéthyl *O*-(3,4,6-tri-*O*-acétyl-2-désoxy-2-acétamido- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-(méthyl 2,3-di-*O*-benzoyl- β -D-glucopyranosyluronate)-(1 \rightarrow 3)-(sodium 2,6-di-*O*-benzoyl-4-*O*-sulfonato- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-2,4,6-tri-*O*-benzoyl- β -D-galactopyranoside 320



A une solution de tétrasaccharide **319** (123 mg, 0.07 mmol) dans le DMF anhydre (2 ml) est ajouté du SO₃.NMe₃ (97 mg, 0,70 mmol, 10 eq). Le mélange réactionnel est agité à 60°C pendant 62 h sous argon puis refroidi à TA, du MeOH (2,5 ml) est ensuite ajouté et le mélange réactionnel est agité pendant 15 min sous argon. Le MeOH est évaporé et le résidu purifié sur colonne Sephadex LH-20 (DCM/MeOH : 1/1) puis sur colonne de gel de silice (DCM/iPrOH, 16 : 1) puis sur colonne Sephadex SP-C25 [Na]⁺ (DCM/MeOH/H₂O : 9/5/1). Le produit est obtenu pur sous la forme d'une poudre blanche (116 mg, 89%).

$[\alpha]_D^{20} = +27,5$ ($c=1,03$, MeOH)

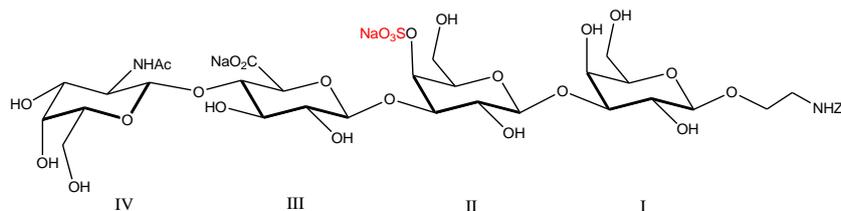
HRMS : m/z : calculée pour C₉₂H₉₂N₂O₃₄ : ([M+3H-SO₃Na]²⁺) : 884,276025 ; trouvée : 884,275565, calculée pour C₉₂H₉₂N₂O₃₇S : ([M+3H-Na]²⁺) : 924,254433 ; trouvée : 924,254057, calculée pour C₉₂H₉₅N₃O₃₇S : ([M+2H+NH₄-Na]²⁺) : 932,767707, trouvée : 932,767101, calculée pour C₉₂H₉₈N₄O₃₇S : ([M+H+2NH₄-Na]²⁺) : 941,280982 ; trouvée : 941,280329, calculée pour C₉₂H₈₉N₂O₃₇S : ([M-Na]²⁺) : 1845,487036; trouvée: 1845,486517, calculée pour C₉₂H₉₁N₂O₃₇S : ([M+2H-Na]⁺) : 1847,501589; trouvée: 1847,496754, calculée pour C₉₂H₉₄N₃O₃₇S : ([M+H+NH₄-Na]⁺) : 1864,528138 ; trouvée : 1864,523184

RMN ¹H (400 MHz, MeOD) : δ (ppm) 8.16-6.91 (m, 40H ; Ar-H), 5.78 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^{II}), 5.41-5.33 (m, 2H ; H-2^{II}, H-3^{III}), 5.23 (dd, 1H, $J_{1,2} = 7.5$ Hz, $J_{2,3} = 10.0$ Hz ; H-2^I), 5.19 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^I), 5.13 ((dd, 1H, $J_{1,2} = 7.0$ Hz, $J_{2,3} = 9.5$ Hz ; H-2^{III}), 5.03 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^{IV}), 4.94 (dd, 1H, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, $J_{4,5} = 10.0$ Hz ; H-4^{III}), 4.86-4.69 (m, 8H ; H-1^I, H-1^{III}, H-1^{IV}, H-3^{IV}, H-6a^{II}, H-6b^{II}, CH₂-Ar), 4.50 (d, 1H, $J_{1,2} = 7.5$ Hz ; H-1^{II}), 4.32-4.22 (m, 3H ; H-3^{II}, H-6a^I, H-6b^I), 4.18 (d, 1H ; H-5^{III}), 4.09-4.07 (m, 2H ; H-3^I, H-5^{II}), 3.94-3.89 (m, 2H ; H-2^{IV}, H-5^I), 3.76 (s, 3H ; COOCH₃), 3.75-3.71 (m, 1H ; OCH₂), 3.54-3.49 (m, 2H ; H-5^{IV}, C-6a^{IV}), 3.40-3.34 (m, 1H ; OCH₂), 3.26 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 6.0$ Hz, $J_{6a,6b} = 11.0$ Hz ; H-6b^{IV}), 3.14-3.11 (m, 2H ; NCH₂), 1.93, 1.87, 1.85 (4s, 12H ; COCH₃).

RMN ¹³C (100 MHz, MeOD) : δ (ppm) 172.96, 172.93, 171.32, 171.10, 170.98, 167.25, 167.00, 166.49, 166.15, 165.86, 165.79, 165.71 157.55 (13C, C-6^{III} ; C=O), 137.10, 134.15, 133.96, 133.90, 133.80, 133.78, 133.24, 130.72, 130.49, 130.30, 130.24, 130.20, 130.15, 130.06, 129.94, 129.67, 129.54, 129.19, 129.08, 129.02, 128.92, 128.85, 128.69, 128.55, 128.49, 128.26 (48C ; Ar-C), 102.47, 102.23, 101.93, 101.78 (4C ; C-1^I, C-1^{II}, C-1^{III}, C-1^{IV}),

77.70 (1C; C-3^I), 77.33 (1C; C-3^{II}), 76.50, 76.32, 74.56, 74.27, 73.75, 73.58, 72.70, 72.39, 71.96, 71.78 (10C; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-3^{III}, C-3^{IV}, C-4^I, C-4^{III}, C-5^I, C-5^{II}, C-5^{III}), 71.00 (1C; C-4^{II}), 69.43 (1C; C-5^{IV}), 69.38 (1C; OCH₂), 67.09 (1C; CH₂-Ar), 66.91 (1C; C-4^{IV}), 64.77 (1C; C-6^{II}), 63.85 (1C; C-6^I), 62.00 (1C; C-6^{IV}), 53.41 (1C; COOCH₃), 51.22 (1C; C-2^{IV}), 41.26 (1C; NCH₂), 23.30, 20.63, 20.56 (4C; COCH₃).

2-Benzyloxycarbonylaminoéthyl O-(2-désoxy-2-acétamido-β-D-galactopyranosyl)-(1→4)-(sodium β-D-glucopyranosyluronate)-(1→3)-(sodium 4-O-sulfonato β-D-galactopyranosyl)-(1→3)-β-D-galactopyranoside 321



C₃₆H₅₂N₂Na₂O₂₇S
MW= 1022,84 g.mol⁻¹

Une solution de LiOOH préparée à 0°C à partir de LiOH (1 M, 0,31 mmol, 0,5 ml, 5 eq) et de H₂O₂ (30%, 250 µl) est ajoutée goutte à goutte à une solution refroidie à -10°C de tétrasaccharide **320** (115 mg, 0,061 mmol) dissous dans un mélange THF/H₂O (3 : 1 ; 2 ml). Le mélange réactionnel est ensuite agité pendant 8h à TA puis refroidi à 0°C. Une solution de NaOH (4M, 1,5 ml, 100 eq) est ajoutée et le mélange réactionnel est alors agité pendant 16h à TA puis dilué avec de l'eau (20 ml) et neutralisé avec de la résine Amberlite IR-120[H⁺] jusqu'à pH 3,5 (contrôle pH-métrique). La solution est ensuite filtrée sur fritté et concentrée. Le solide est alors lavé plusieurs fois avec de l'EtOH puis dissous dans de l'eau. Une solution de NaOH 0.1 M (0,61 ml, 10 eq) est ajoutée jusqu'à pH 8,5. Une purification sur colonne Sephadex LH-20 dans l'eau conduit au produit désiré sous la forme d'une poudre blanche (45 mg, 71%).

$[\alpha]_D^{20} = + 6,5$ (c=1, H₂O)

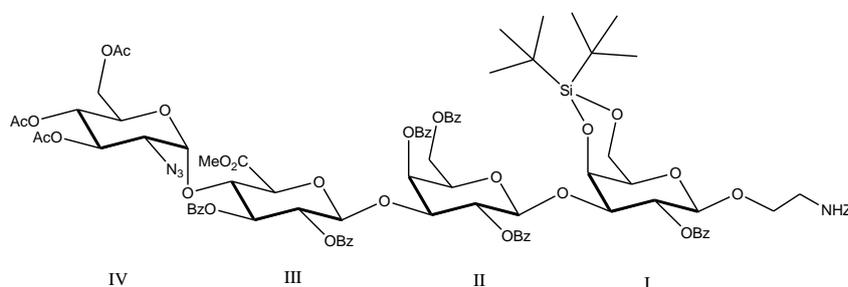
HRMS : m/z : calculée pour C₃₆H₅₆N₂O₂₄ : ([M+4H-SO₃Na-Na]²⁺) : 450,160602 ; trouvée : 450,160657, calculée pour C₃₆H₅₅N₂NaO₂₄ : ([M+3H-SO₃Na]²⁺) : 461,151574 ; trouvée : 461,151582, calculée pour C₃₆H₅₂N₂O₂₇S : ([M-2Na]²⁻) : 488,124456 ; trouvée : 488,124955, calculée pour C₃₆H₅₆N₂O₂₇S : ([M+4H-2Na]²⁺) : 490,139009 ; trouvée : 490,139079, calculée pour C₃₆H₅₃N₂O₂₇S : ([M+H-2Na]⁺) : 977,256189 ; trouvée : 977,256114, calculée pour C₃₆H₅₅N₂O₂₇S : ([M+3H-2Na]⁺) : 979,270742 ; trouvée : 979,271523, calculée pour C₃₆H₅₂N₂NaO₂₇S : ([M-Na]⁻) : 999,238133 ; trouvée : 999,238162, calculée pour C₃₆H₅₄N₂NaO₂₇S : ([M+2H-Na]⁺) : 1001,252686 ; trouvée : 1001,252657, calculée pour C₃₆H₅₃N₂Na₂O₂₇S : ([M+H]⁺) : 1023,234630, trouvée : 1023,235160

RMN ¹H (400 MHz, D₂O) : δ (ppm) 7.48-7.44 (m, 5H; Ar-H), 5.14 (s, 2H ; CH₂-Ar), 4.77-4.75 (m, 2H; H-1^{III}, H-4^{II}), 4.70 (d, 1H, J_{1,2} = 8.0 Hz ; H-1^{II}), 4.51 (d, 1H, J_{1,2} = 8.5 Hz ; H-1^{IV}), 4.45 (d, 1H, J_{1,2} = 8.0 Hz ; H-1^I), 4.18 (d, 1H, J_{3,4} = 3.0 Hz, J_{4,5} < 1Hz ; H-4^I), 4.02 (dd, 1H, J_{2,3} = 10.0 Hz, J_{3,4} = 3.0 Hz ; H-3^{II}), 3.99-3.84 (m, 3H ; H-2^{IV}, H-4^{IV}, OCH₂), 3.82-3.67 (m, 16H ; H-2^I, H-2^{II}, H-3^I, H-3^{IV}, H-4^{III}, H-5^I, H-5^{II}, H-5^{III}, H-5^{IV}, H-6a^I, H-6b^I, H-6a^{II}, H-6b^{II}, H-

6a^{IV}, H-6b^{IV}, OCH₂), 3.62 (dd, 1H, $J_{2,3}= 10.0$ Hz, $J_{3,4}= 9.0$ Hz ; H-3^{III}), 3.47 (dd, 1H, $J_{1,2}= 8.0$ Hz ; H-2^{III}), 3.41-3.37 (m, 2H ; CH₂N), 2.07 (s, 3H ; NHC(O)CH₃).

RMN ¹³C (100 MHz, D₂O): δ (ppm) 175.60, 175.18 (2C ; C-6^{III}, C=O), 158.99 (1C ; NHC(O)O), 137.07, 129.38, 128.96, 128.32 (6C ; Ar-C), 104.65 (1C ; C-1^{II}), 103.79 (1C ; C-1^{III}), 103.28 (1C ; C-1^I), 101.67 (1C ; C-1^{IV}), 83.00, 80.45, 77.82, 77.64 (4C ; C-3^I, C-3^{II}, C-4^{II}, C-5^{II}), 77.22, 75.80, 75.34, 75.03, 74.36, 73.51, 71.74, 71.41, 70.48 (9C ; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-3^{III}, C-3^{IV}, C-4^{III}, C-5^I, C-5^{III}, C-5^{IV}), 69.46 (1C ; OCH₂), 68.89 (1C ; C-4^I), 68.39 (1C ; C-4^{IV}), 67.50 (CH₂-Ar), 61.59, 61.51, 61.47 (3C ; C-6^I, C-6^{II}, C-6^{IV}), 52.91 (1C ; C-2^{IV}), 41.13 (1C ; CH₂N), 23.07 (1C ; NHC(O)CH₃).

2-Benzyloxycarbonylaminoéthyl O-(3,4,6-tri-O-acétyl-2-désoxy-2-azido-α-D-glucopyranosyl)-(1→4)-(méthyl 2,3-di-O-benzoyl-β-D-glucopyranosyluronate)-(1→3)-(2,4,6-tri-O-benzoyl-β-D-galactopyranosyl)-(1→3)-2-O-benzoyl-4,6-O-di-tert-butylsilylène-β-D-galactopyranoside 329



C₉₁H₉₈N₄O₃₂Si
MW= 1787,845 g.mol⁻¹

Une solution d'accepteur **279** (151 mg, 0,1 mmol), d'imidate **328** (97 mg, 0,2 mmol, 2 eq), et de tamis moléculaire 4Å activé est agitée à TA et sous argon dans du toluène anhydre (1,5 ml) pendant 45 min. Le TMSOTf 1M dans le toluène (40,5 µl, 0,04 mmol, 0,2 eq/imidate) est alors ajouté et le mélange réactionnel est agité pendant 30 min. Puis, la triéthylamine (25 µl) est ajoutée au mélange réactionnel. Après 5 min, le tamis est filtré puis rincé au DCM et le filtrat est concentré puis purifié par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (DCM/acétone : 12/1 avec 0,1 % de Et₃N). Le produit est obtenu pur sous la forme d'une mousse blanche (76 mg, 41%).

$[\alpha]_D^{20} = +55$ ($c=1,02$, CHCl₃)

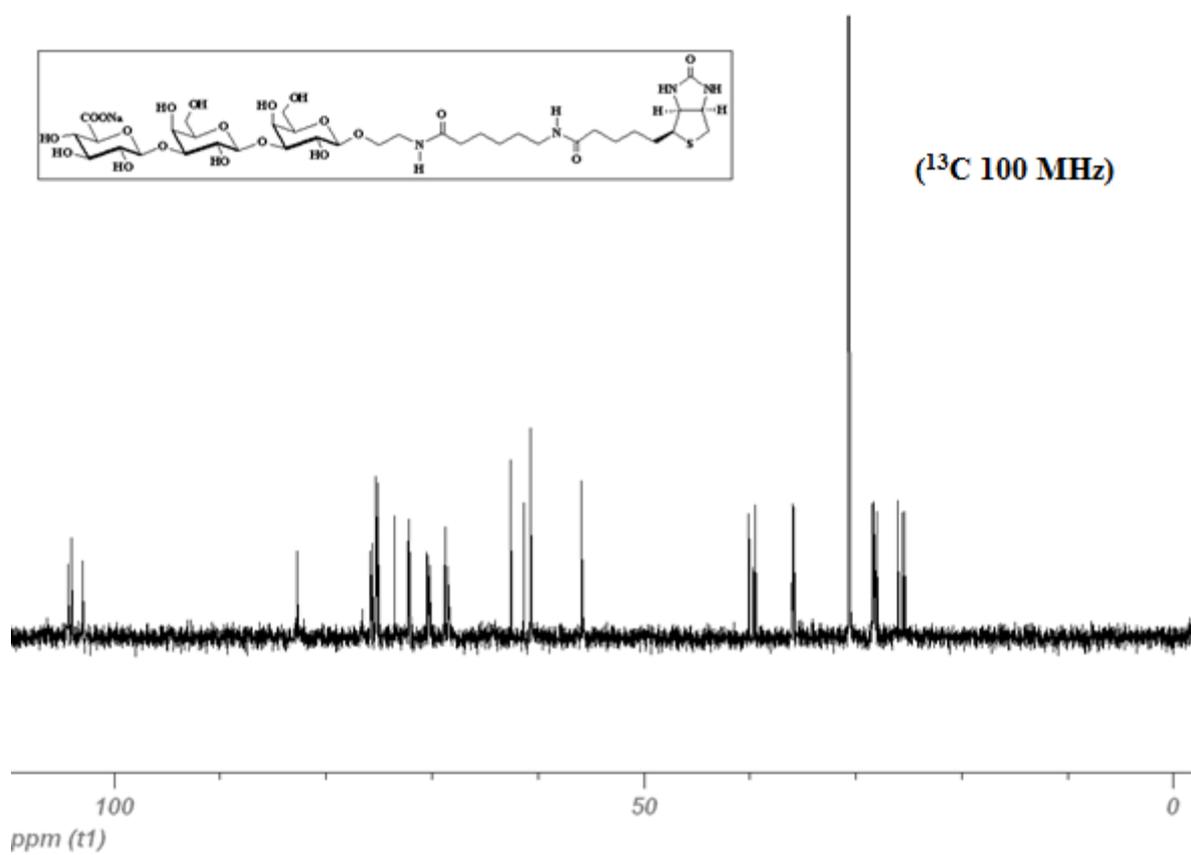
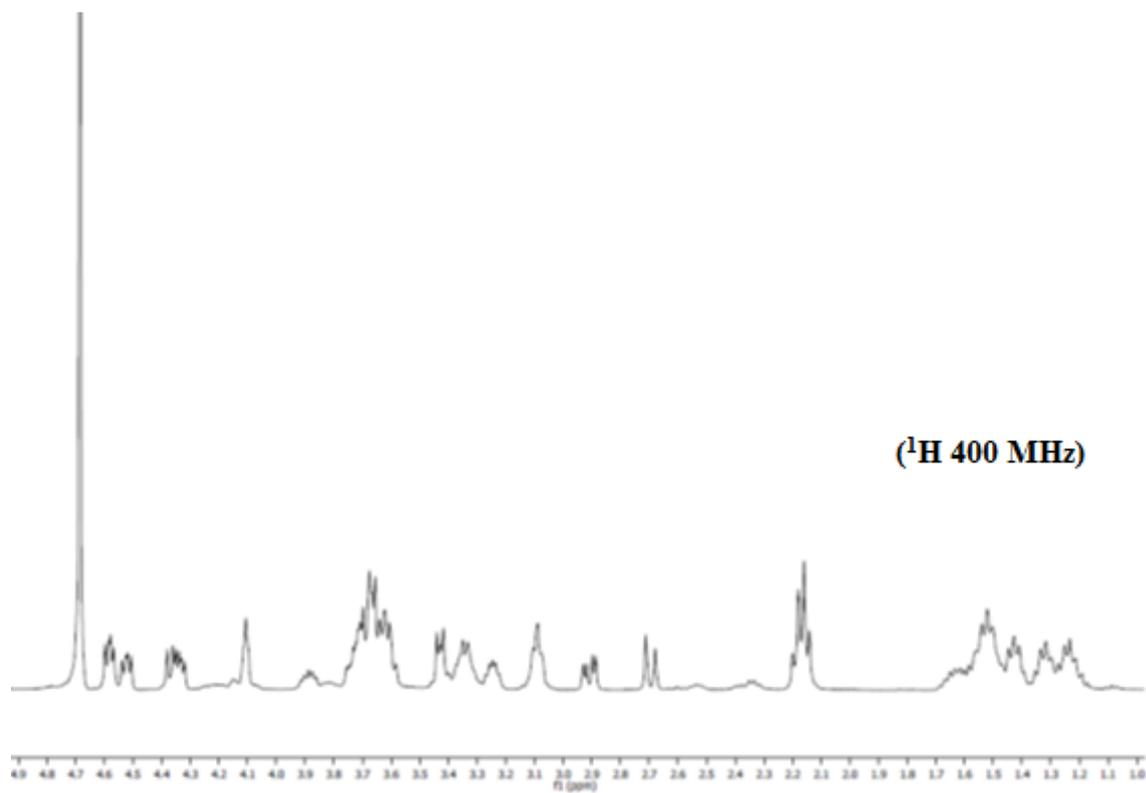
HRMS : m/z : calculée pour C₉₁H₁₀₀N₄O₃₂Si : ([M+2H]²⁺) : 894,303948 ; trouvée : 894,303890, calculée pour C₉₁H₁₀₃N₅O₃₂Si : ([M+H+NH₄]²⁺) : 902,817223 ; trouvée : 902,819319, calculée pour C₉₁H₁₀₆N₆O₃₂Si : ([M+2NH₄]²⁺) : 911,330497 ; trouvée : 911,330595, calculée pour C₉₁H₁₀₂N₅O₃₂Si : ([M+NH₄]⁺) : 1804,627169 ; trouvée : 1804,626116, calculée pour C₉₁H₉₈N₄NaO₃₂Si : ([M+Na]⁺) : 1809,582564 ; trouvée : 1809,582656

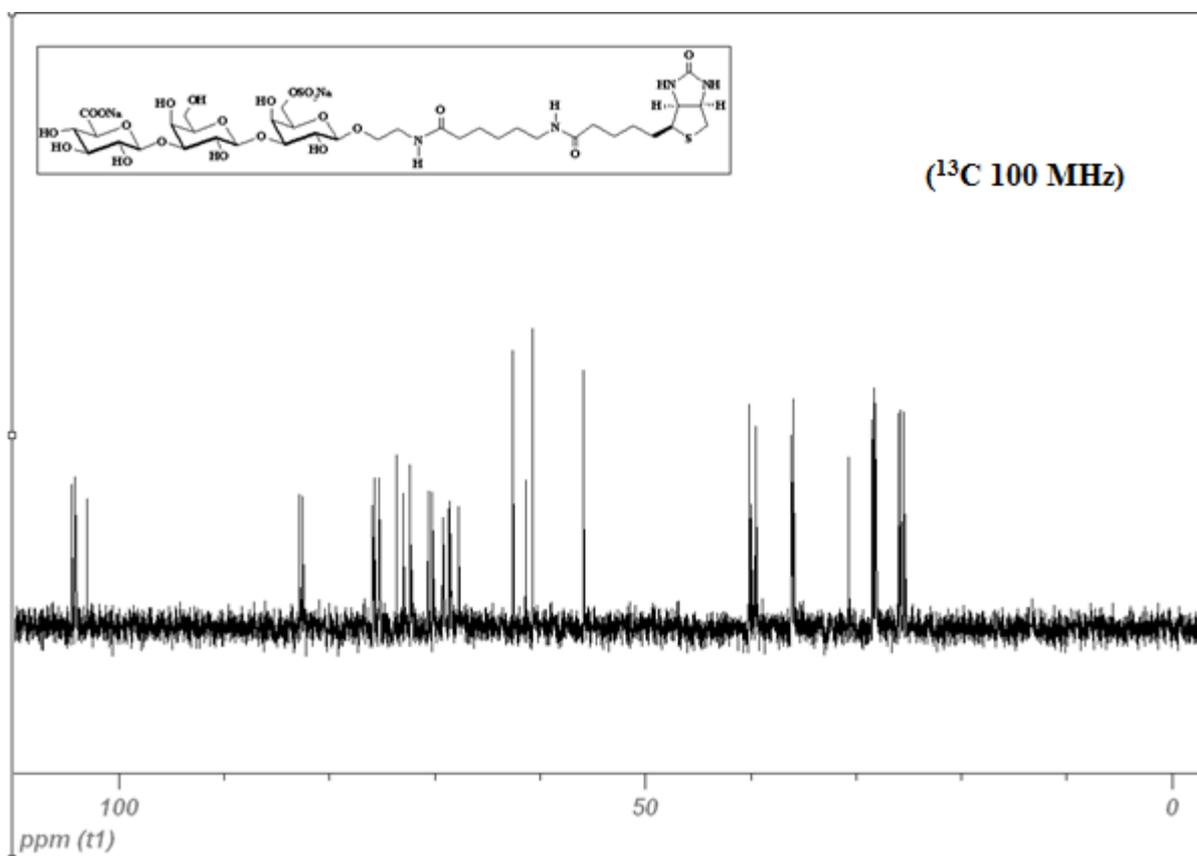
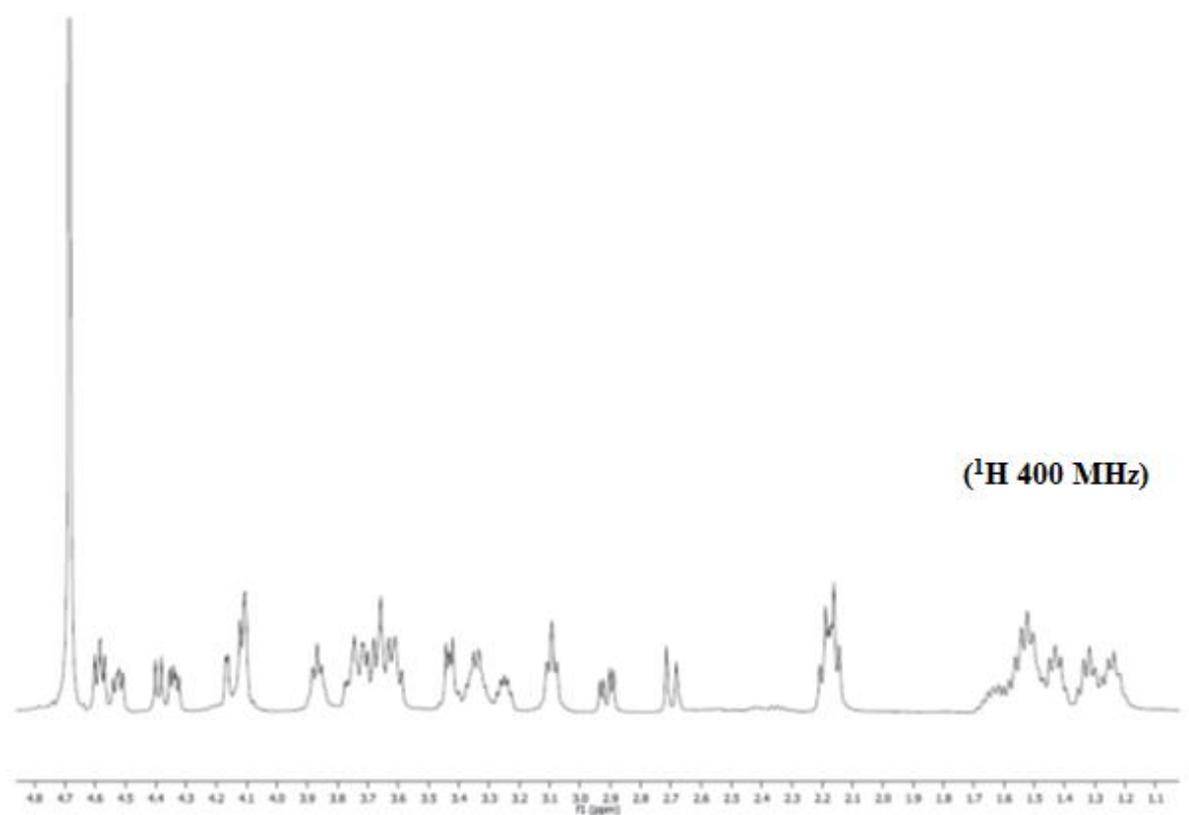
Analyse élémentaire calculée pour C₉₁H₉₈N₄O₃₂Si : C, 61.13; H, 5.52; N, 3.13; trouvée : C, 54.46 ; H, 4.91 ; N, 3.91.

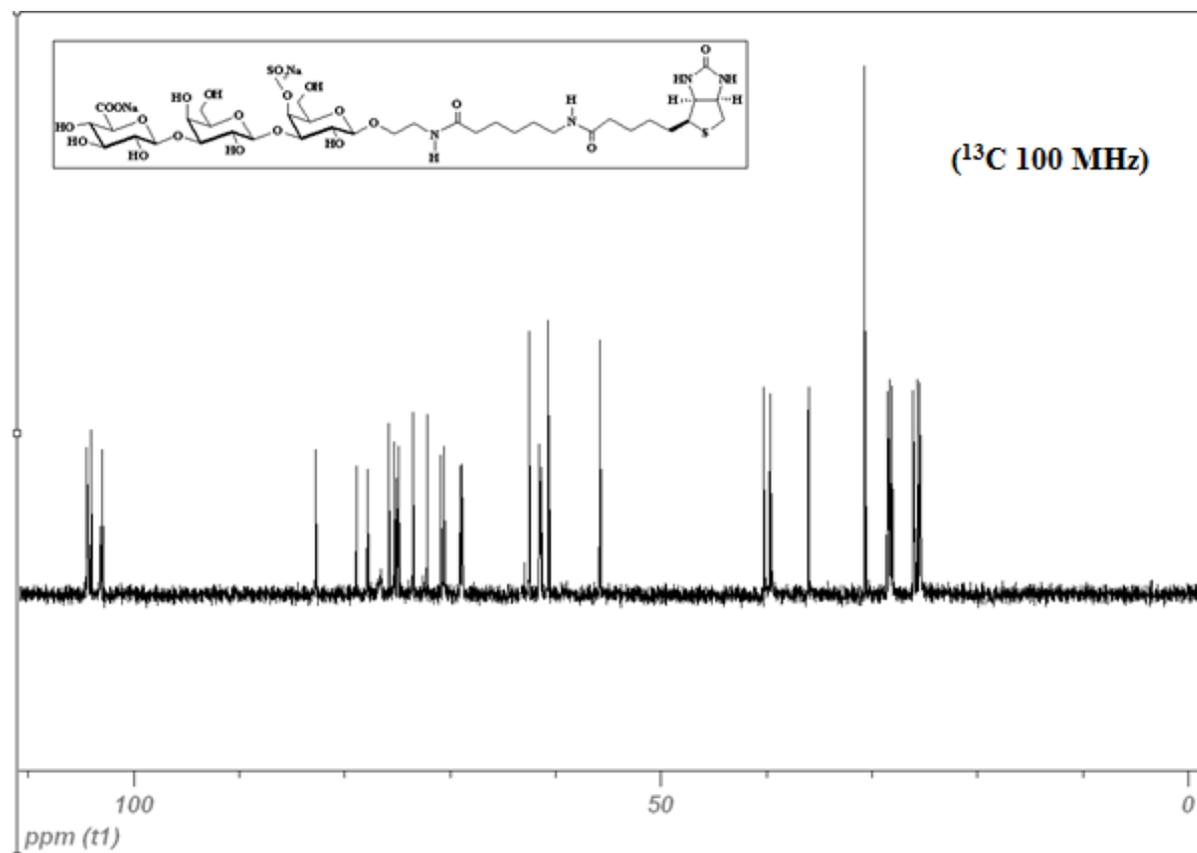
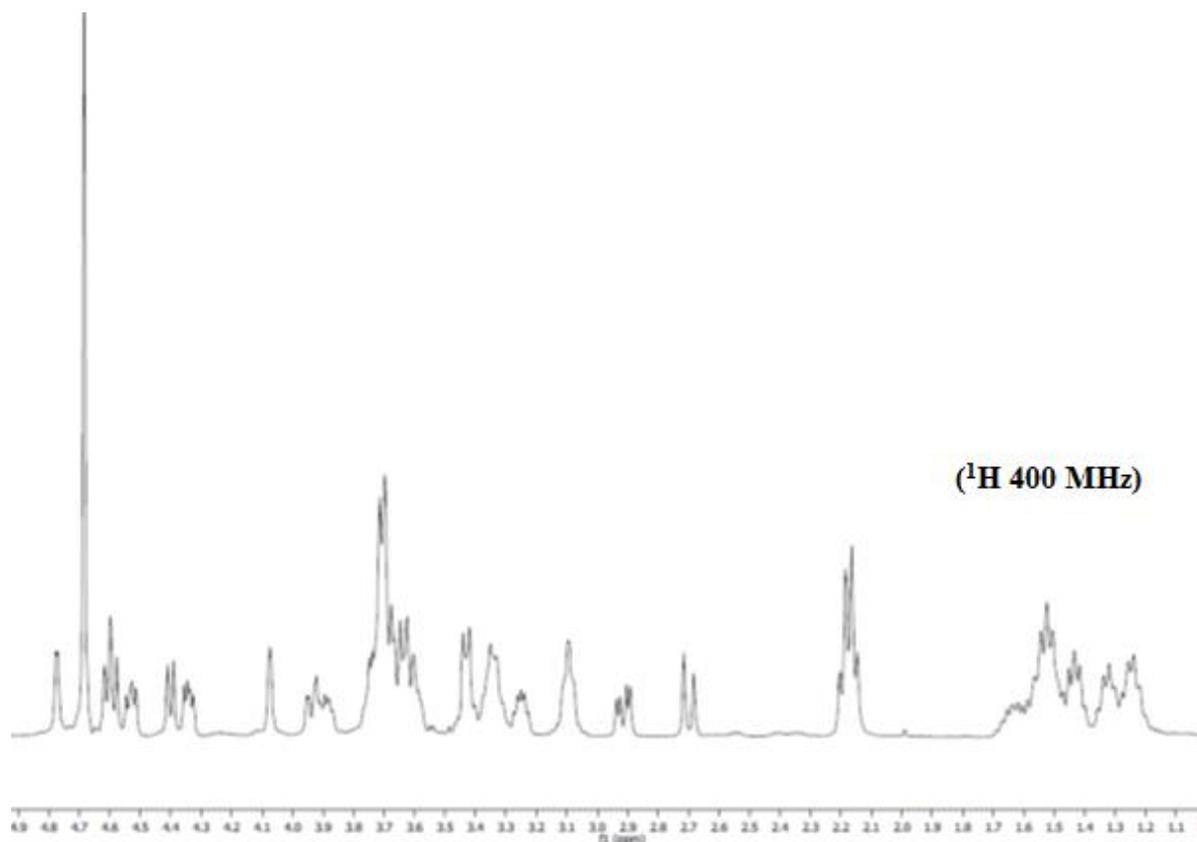
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 8.10-6.87 (m, 35H ; Ar-H), 5.81 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^{II}), 5.52 (dd, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 10.0$ Hz ; H-2^{II}), 5.44 (dd, 1H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.0$ Hz ; H-3^{III}), 5.37 (dd, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 10.0$ Hz ; H-2^I), 5.23 (dd, 1H, $J_{2,3} = 9.0$ Hz, $J_{3,4} = 10.5$ Hz ; H-3^{IV}), 5.08-5.03 (m, 2H ; H-1^{IV}, H-2^{III}), 5.01-4.88 (m, 5H ; H-1^{II}, H-4^{IV}, NH, CH_2 -Ar), 4.82 (d, 1H, $J_{1,2} = 7.0$ Hz ; H-1^{III}), 4.69 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,5} < 1$ Hz ; H-4^I), 4.43-4.41 (m, 2H ; H-6^{II}), 4.36 (dd, 1H, $J_{3,4} = 9.0$ Hz, $J_{4,5} = 10.5$ Hz ; H-4^{III}), 4.32 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz ; H-1^I), 4.26-4.22 (m, 2H ; H-3^{II}, H-6a^{IV}), 4.14 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 6.0$ Hz, $J_{5,6b} = 13.0$ Hz ; H-5^{II}), 4.10-4.05 (m, 6H ; H-6a^I, H-6b^{IV}), 4.01 (d, 1H, $J_{4,5} = 9.5$ Hz ; H-5^{III}), 3.99-3.95 (m, 1H ; H-6b^I), 3.83-3.68 (m, 6H ; H-3^I, H-5^{IV}, OCH_2 , COOCH_3), 3.53-3.47 (m, 1H ; OCH_2), 3.24-3.17 (m, 4H ; H-2^{IV}, H-5^I, NCH_2), 2.06, 2.00, 1.97 (3s ; COCH_3), 1.01, 0.95 (2s, 18H ; 2 x $\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

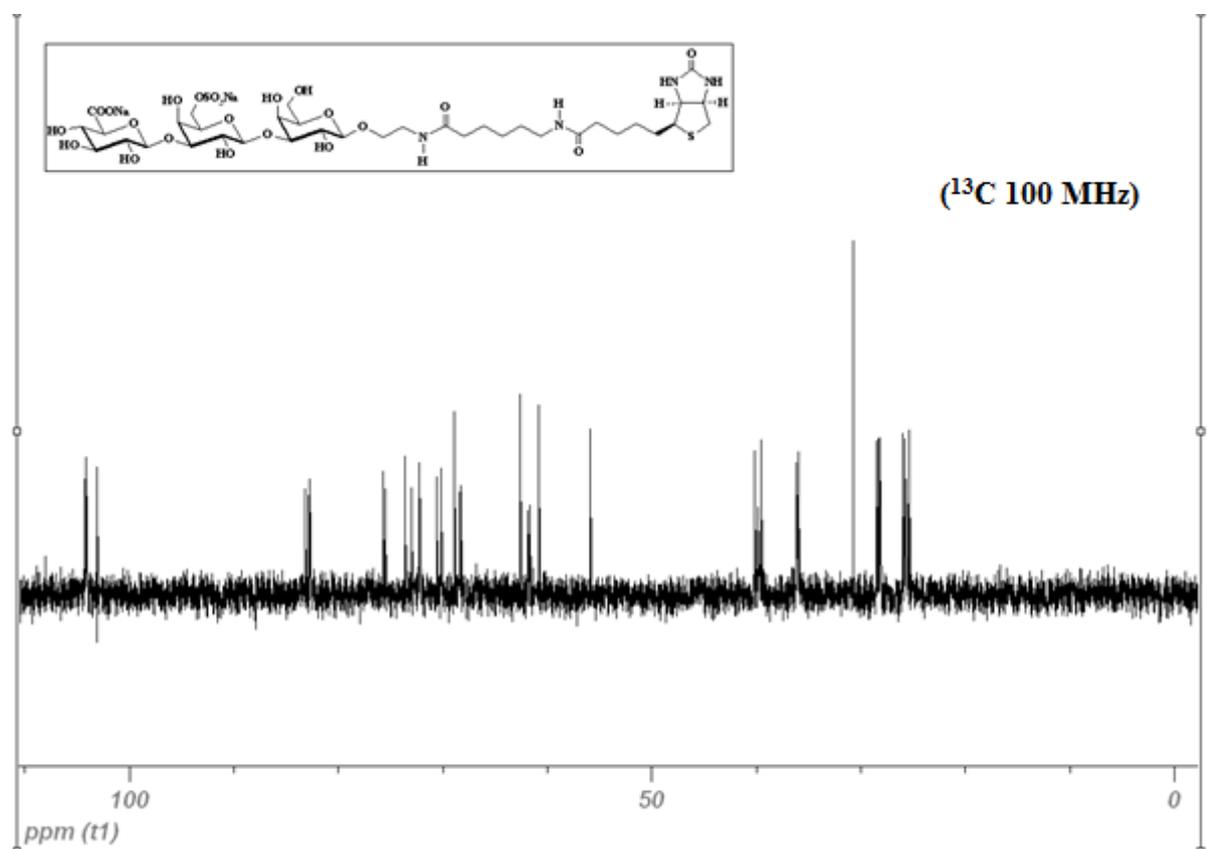
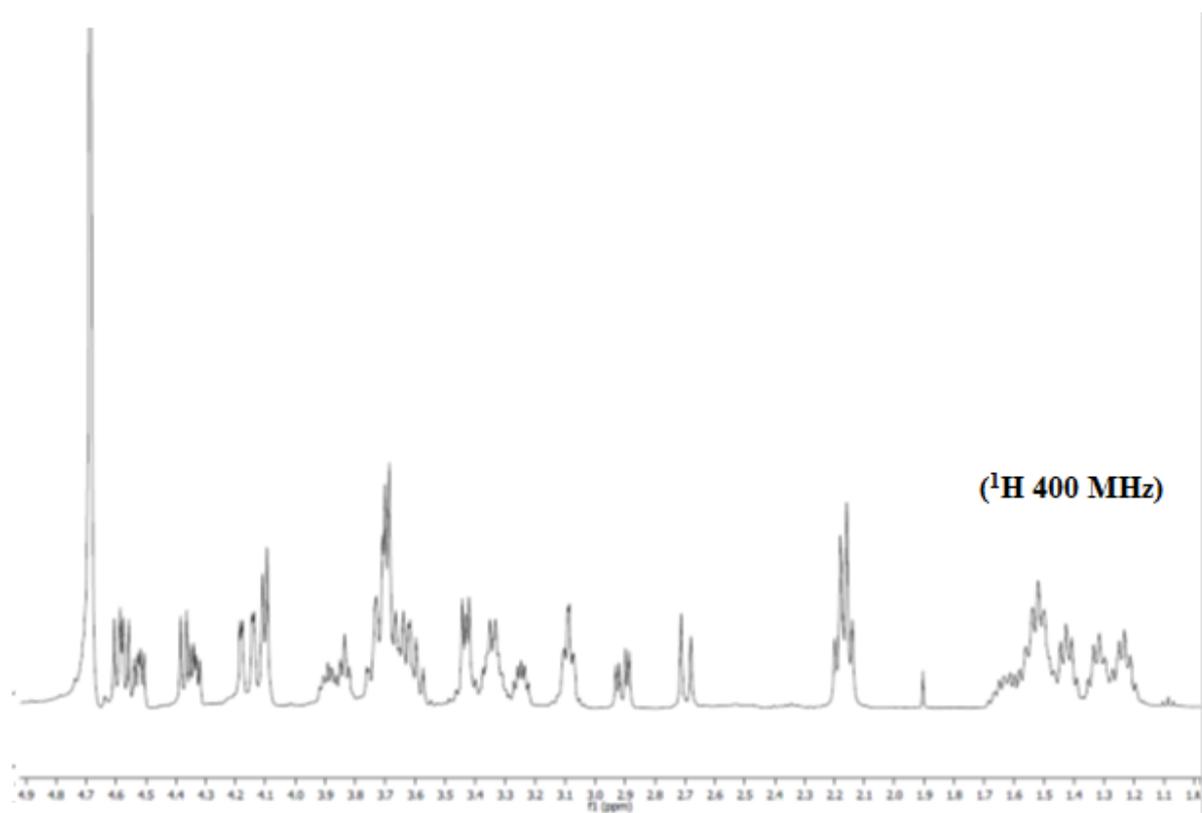
RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) 170.64, 169.78, 169.54, 167.48, 165.88, 165.63, 165.10, 164.77, 164.35, 163.65, 156.32 (11C ; C-6^{III}, C=O), 136.57, 133.41, 133.27, 133.03, 132.63, 132.54, 130.11, 130.07, 129.73, 129.68, 129.56, 129.51, 129.40, 129.23, 129.20, 129.15, 128.99, 128.89, 128.59, 128.48, 128.40, 128.30, 128.24, 128.09, 127.89, 127.79, 127.69 (42C ; Ar-C), 102.33 (1C ; C-1^{II}), 101.45 (1C ; C-1^I), 100.68 (1C ; C-1^{III}), 98.52 (1C ; C-1^{IV}), 80.35 (1C ; C-3^I), 76.75 (1C ; C-3^{II}), 76.35 (1C ; C-4^{III}), 74.26 (1C ; C-5^{III}), 73.38 (1C ; C-3^{III}), 72.67 (1C ; C-4^I), 71.56 (1C ; C-5^I), 71.44, 70.49, 70.42, 69.51, 68.66 (6C ; C-2^I, C-2^{II}, C-2^{III}, C-3^{IV}, C-5^{II}, C-5^{IV}), 68.37 (1C ; OCH_2), 67.85, 67.80 (2C ; C-4^{II}, C-4^{IV}), 66.62, 66.29 (2C ; C-6^I, CH_2 -Ar), 62.90 (1C ; C-6^{II}), 60.99 (1C ; C-6^{IV}), 60.78 (1C ; C-2^{IV}), 52.89 (1C ; COOCH_3), 40.79 (1C ; NCH_2), 27.34, 27.21 (6C ; 2 x $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 23.14 (2C ; 2 x $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 20.65, 20.55, 20.51 (3C ; COCH_3).

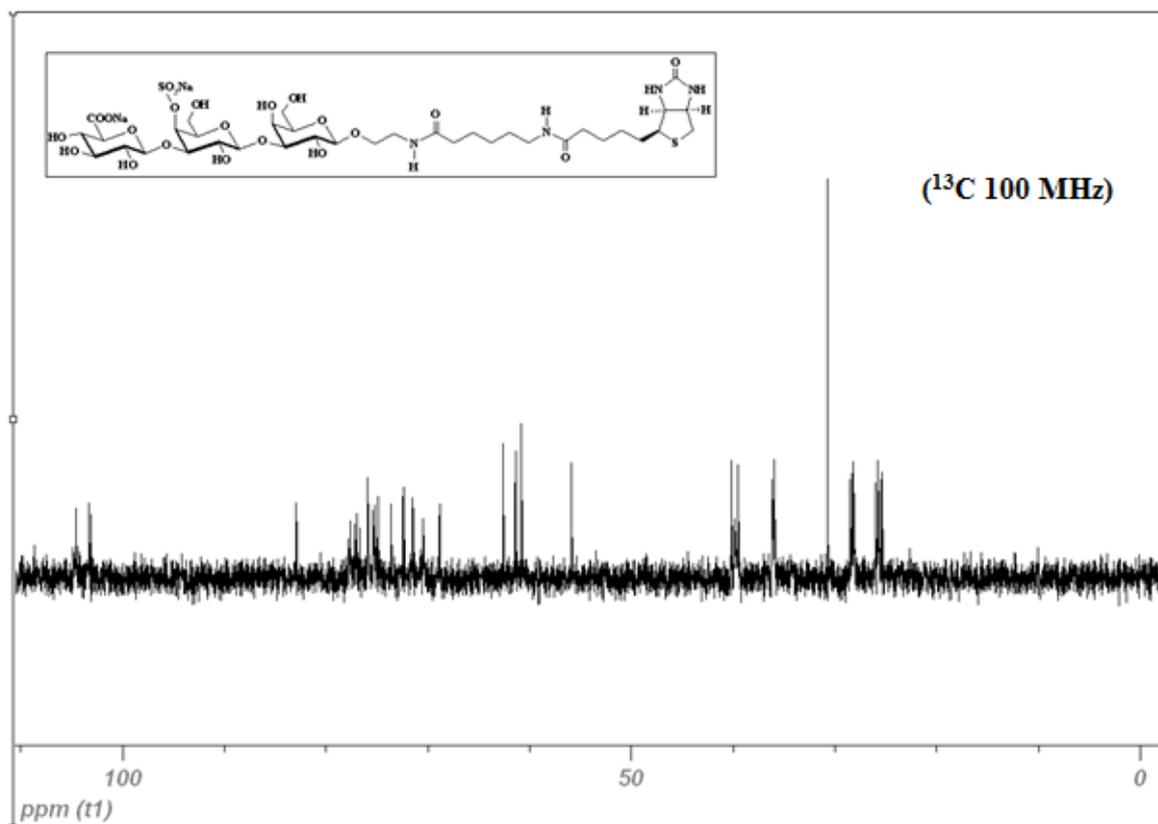
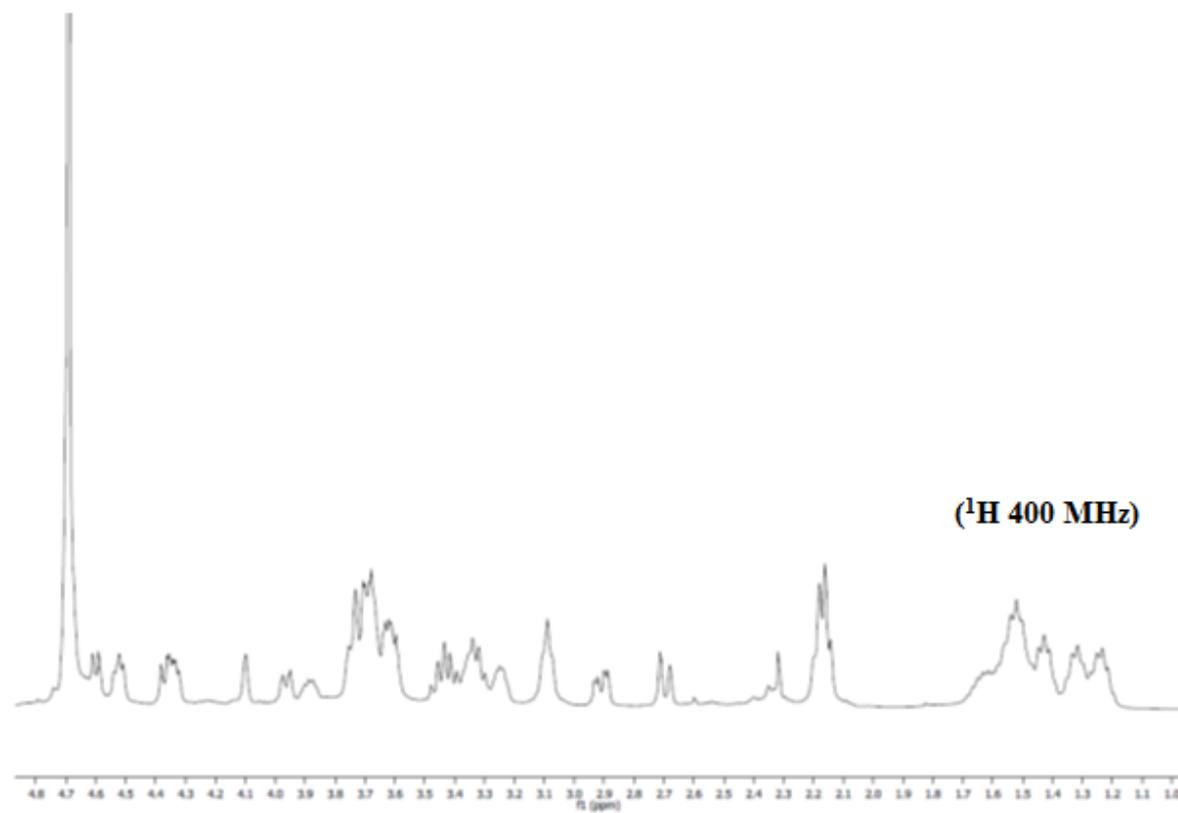
VIII. ANNEXES

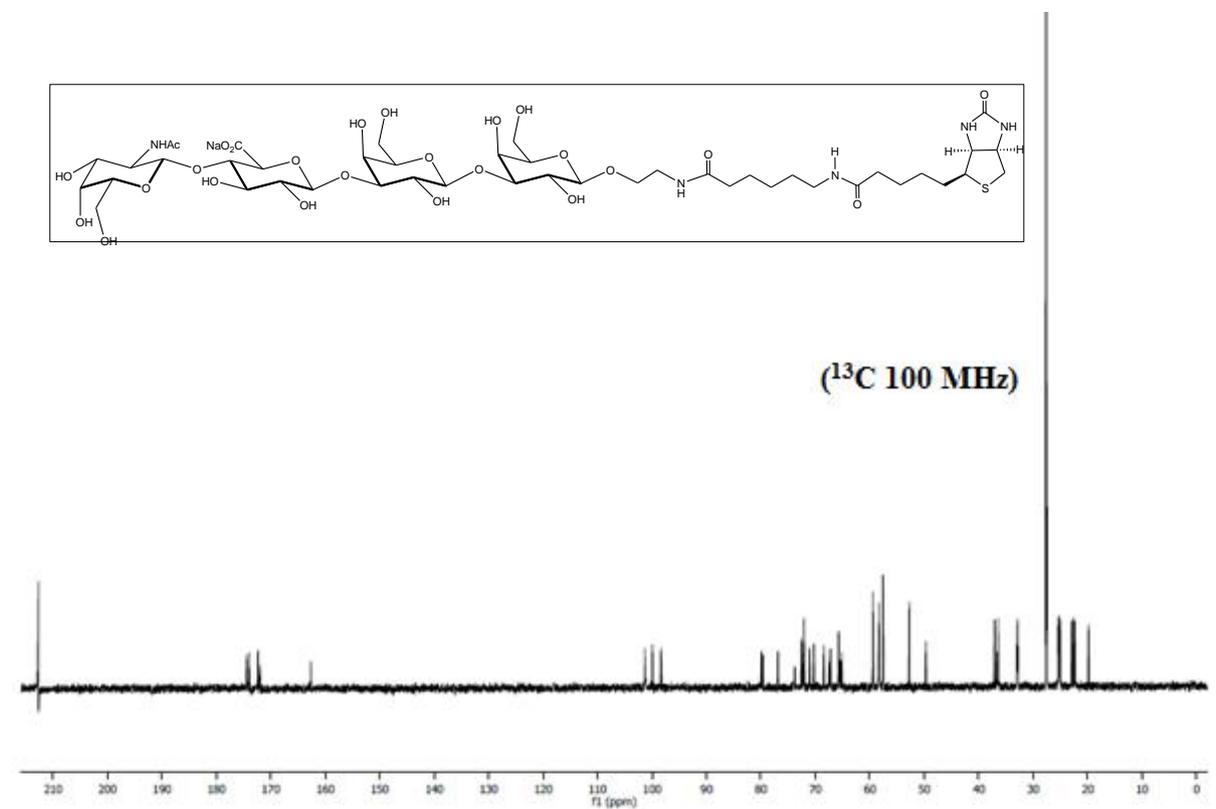
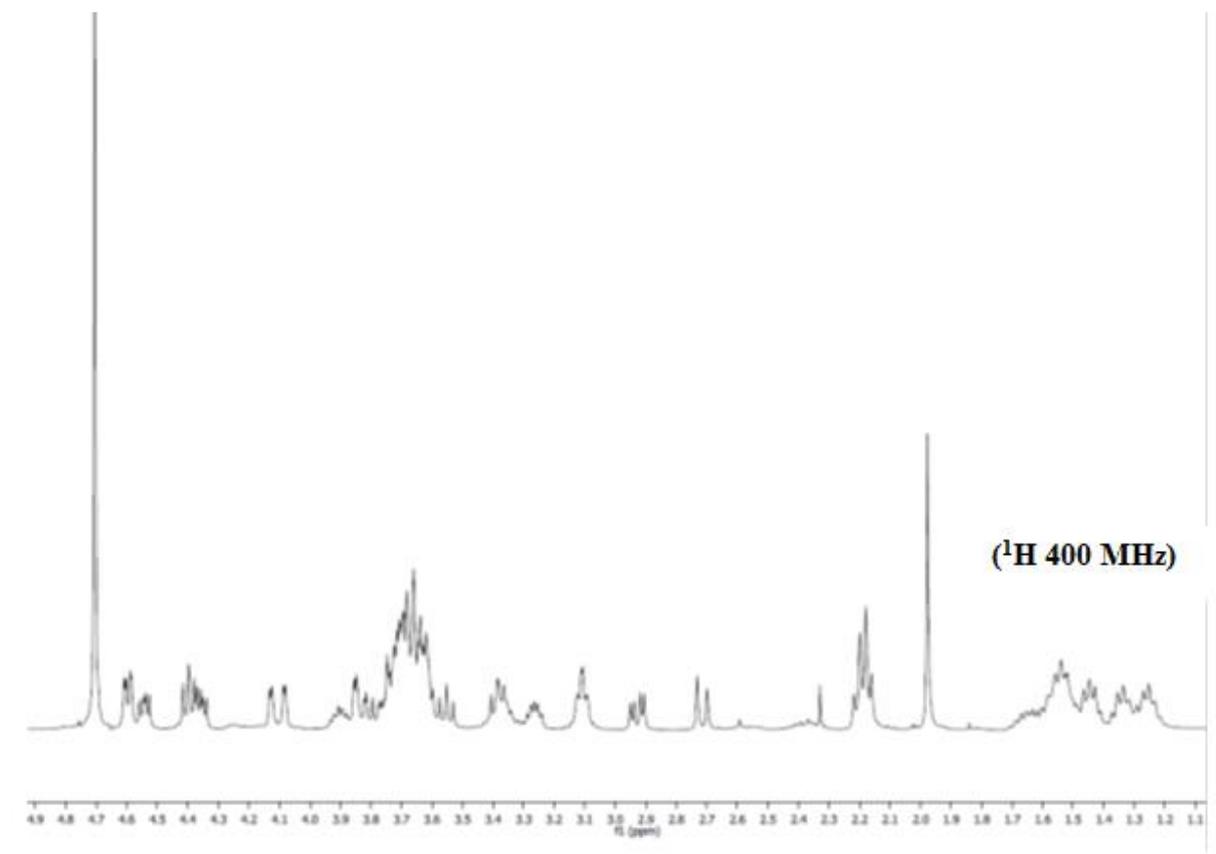
Annexe 1: RMN ^1H et ^{13}C (D_2O) du trisaccharide biotinylé 204

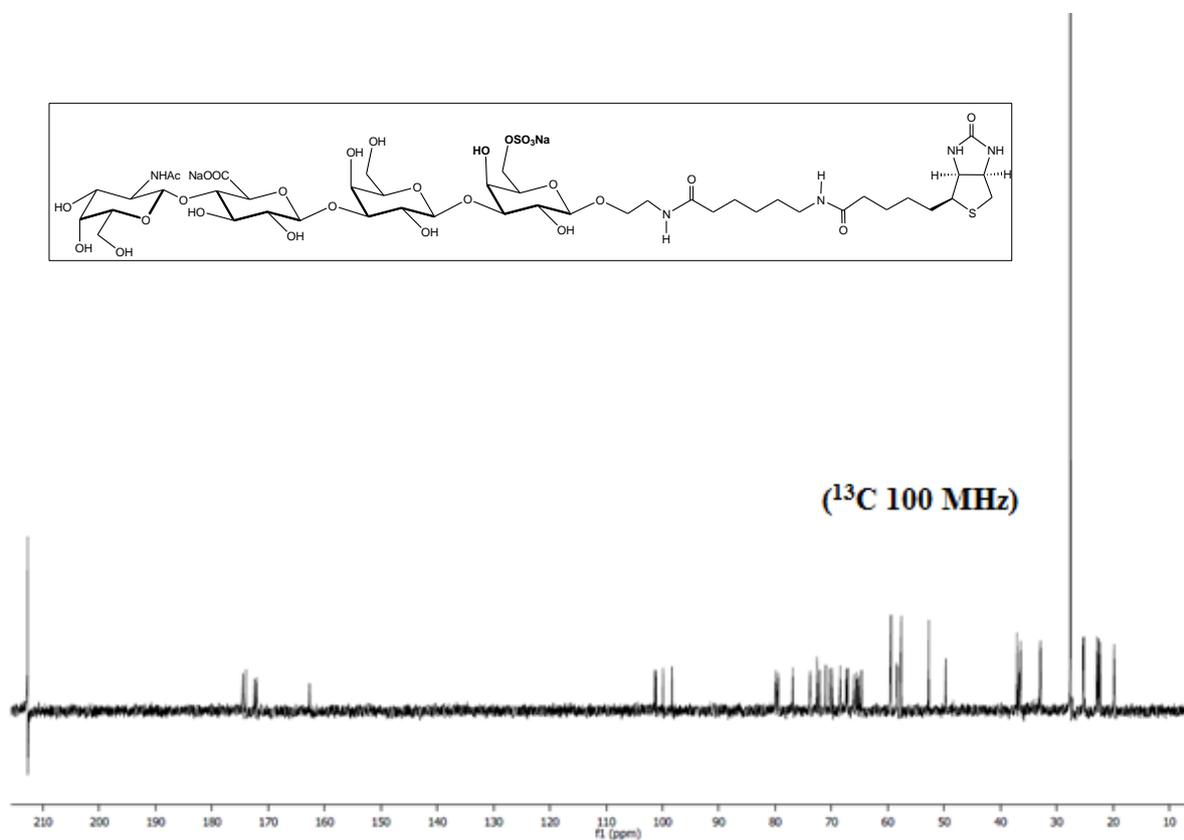
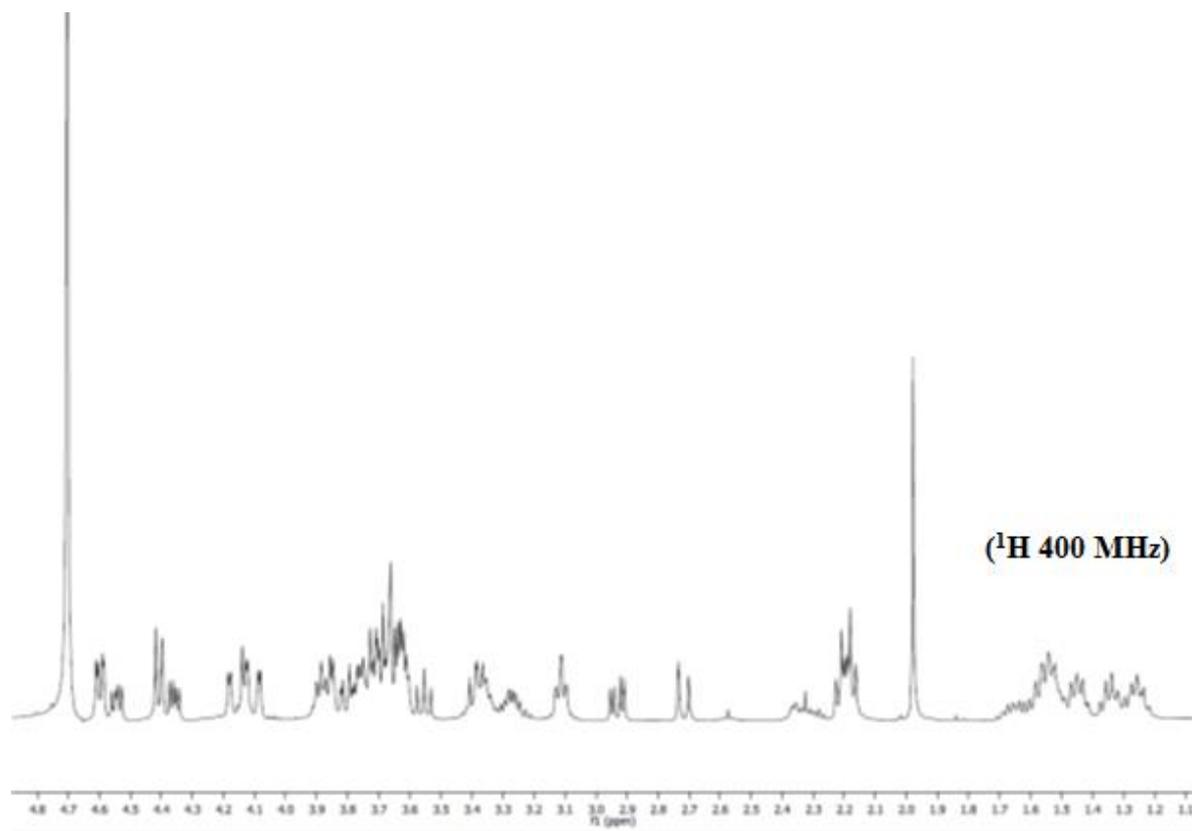
Annexe 2: RMN ^1H et ^{13}C (D_2O) du trisaccharide biotinylé et sulfaté en 6 sur Gal1 205

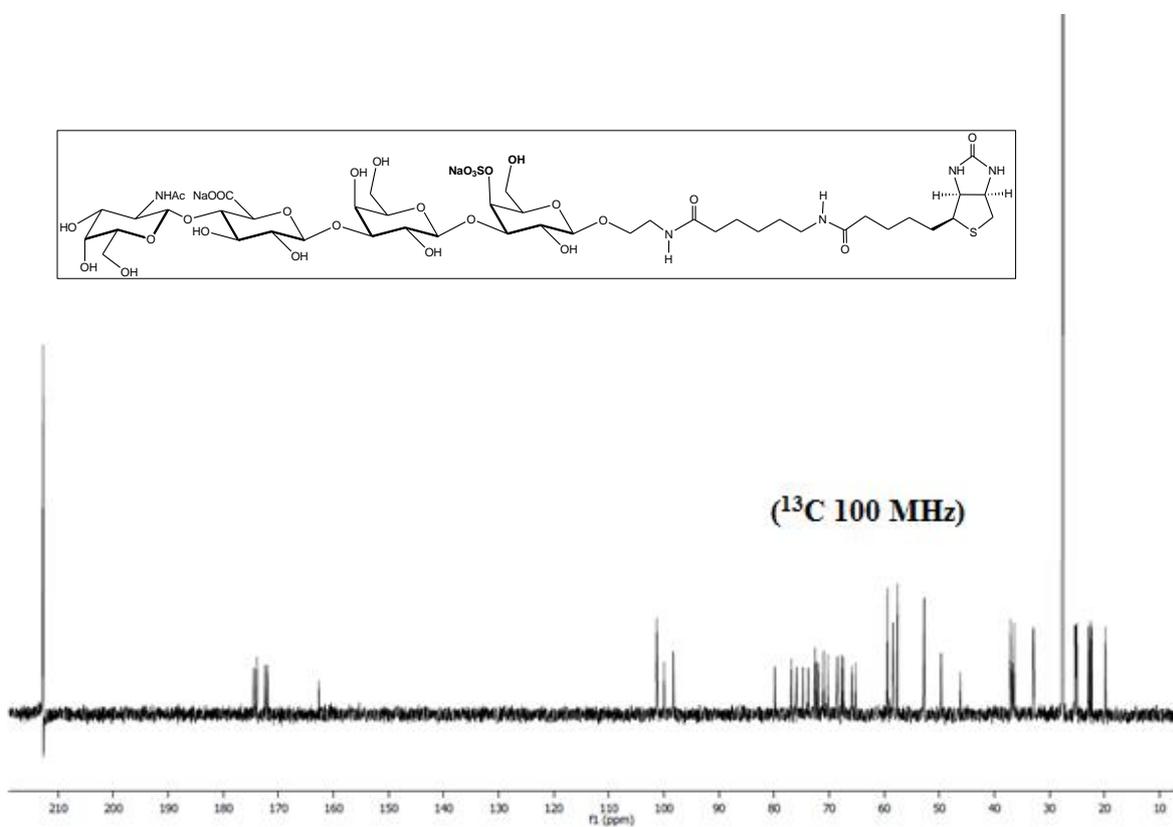
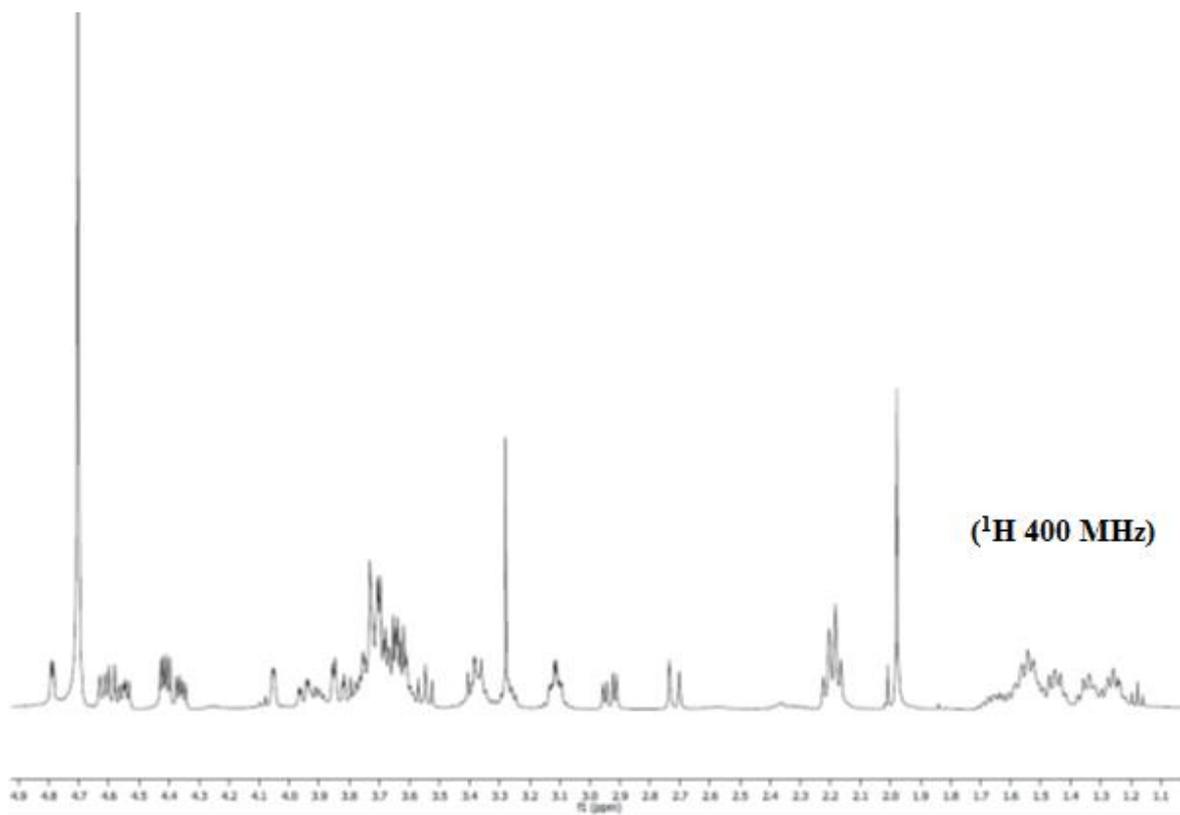
Annexe 3: RMN ^1H et ^{13}C (D_2O) du trisaccharide biotinylé et sulfaté en 4 sur Gal1 206

Annexe 4: RMN ^1H et ^{13}C (D_2O) du trisaccharide biotinylé et sulfaté en 6 sur Gal2 207

Annexe 5: RMN ^1H et ^{13}C (D_2O) du trisaccharide biotinylé et sulfaté en 4 sur Gal2 208

Annexe 6: RMN ^1H et ^{13}C (D_2O) du tétrasaccharide biotinylé et non sulfaté 209

Annexe 7: RMN ^1H et ^{13}C (D_2O) du tétrasaccharide biotinylé et sulfaté en 6 sur Gal1 210

Annexe 8: RMN ^1H et ^{13}C (D_2O) du tétrasaccharide biotinylé et sulfaté en 4 sur Gal1 211

IX. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] <http://www.bcru.ulg.ac.be/arthrose.html>
- [2] <http://www.inserm.fr/thematiques/circulation-metabolisme-nutrition/dossiers-d-information/arthrose>
- [3] <http://www.arthrolink.com/maladie/connaitre-l-arthrose/les-articulations-concernees>
- [4] Buckwalter J.A.; Martin J.A. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2006**, *58*, 150–167
- [5] Chevalier X. *Rev. Rhum.* **2004**, *71*, 455-461
- [6] Richette P. Appareil locomoteur, généralités sur l'arthrose **2008**, 14-003-c-20
- [7] <http://www.chu-montpellier.fr/fr/ADIPOA/index.html>
- [8] Venkatesan N.; Magdalou J.; Netter P., Fournel-Gigleux S.; Ouazzine M. *Medecine/Science* **2005**, *21*, 471-473
- [9] Hiroshi N. *Carbohydr. polymers* **2011**, *84*, 835-839
- [10] Appareil locomoteur, abrégé d'anatomie fonctionnelle et biomécanique, François Bonnel, tome 1. Ed. Sauramps médical, **2002**
- [11] http://www.rhumatologie.asso.fr/04-Rhumatismes/qu-est-ce-que-la-rhumato/06_articulation.asp
- [12] www.medecine.ups-tlse.fr/pcem2/physiologie/doc/cartilage.doc
- [13] Billingham R. C., Dahlberg L., Lonescu M., Reiner A., Bourne R., Rorabeck C., Mitchell P., Hambor J., Diekmann O., Tschesche H., Chen J., Van Wart H., Poole A. R. *The American Society for Clinical Investigation* **1997**, *99*, 1534-1545
- [14] Pedersen L. C.; Tsuchida K.; Kitagawa H.; Sugahara K.; Darden T. A.; Negishi M. *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 34580-34585
- [15] Sugahara, K.; Miyami, T.; Uyuma, T.; Mizoguchi, S.; Nomura, K.; Kitagawa H. *Curr. Opinion Struct. Biol.* **2003**, *13*, 612–620
- [16] Thèse de Catherine Bui, Université Henri Poincaré, Nancy I, **2009**
- [17] Karst N. A.; Linhardt R. J. *Current Med. Chem.* **2003**, *10*, 1993-2031
- [18] Pertuiset E. *Rev. Rhum.* **2002**, *69*, 157-70
- [19] Baeurle S.A.; Kiselev M.G.; Makarova E.S.; Nogovitsin E.A. *Polymer* **2009**, *50*, 1805-1813
- [20] Caterson B.; Flannery C. R.; Hugues C. E.; Little C. B. *Matrix Biol.* **2000**, *19*, 333-344
- [21] Wheaton A. J.; Dodge G. R.; Borthakur A.; Kneeland J. B.; Schumacher H. R.; Reddy R. *J. Orthopaedic Res.* **2005**, *23*, 102-108
- [22] Lorenz H.; Richter W. *Progress in Histochemistry and Cytochemistry* **2006**, *40*, 135-163
- [23] Berenbaum F. *Rev. Rhum.* **2000**, *67*, 119-25
- [24] Nakamura H. *Carbohydr. Polymers* **2011**, *84*, 835-839
- [25] Gulberti S.; Lettard V.; Fondeur M.; Jacquinet J.-C.; Mulliert G.; Netter P.; Magdalou J.; Ouazzine M.; Fournel-Gigleux S. *The Scientific World Journal* **2005**, *5*, 510-514
- [26] Gulberti S.; Jacquinet J.-C.; Chabel M.; Ramalanjaona N.; Magdalou J.; Netter P.; Coughtrie M. W. H.; Ouazzine M.; Fournel-Gigleux S. *Glycobiology* **2012**, *22*, 561-571
- [27] Nilsson M.; Westman J.; Svahn C.-M. *J. Carbohydr. Chem.* **1993**, *12*, 23-37
- [28] Chen L.; Kong F. *Carbohydr. Res.* **2002**, *337*, 1373-1380

- [29] Jacquinet J.-C. *Carbohydr. Res.* **2004**, 339, 349-359
- [30] Thollas B. ; Jacquinet J.-C. *Org. Biomol. Chem.* **2004**, 2, 434-442
- [31] Jacquinet J.-C. *Carbohydr. Res.* **2006**, 341, 1630-1644
- [32] Rio S. ; Beau J.-M. ; Jacquinet J.-C. *Carbohydr. Res.* **1991**, 219, 71-90
- [33] Rio S. ; Beau J.-M. ; Jacquinet J.-C. *Carbohydr. Res.* **1993**, 244, 295-313
- [34] Rio S. ; Beau J.-M. ; Jacquinet J.-C. *Carbohydr. Res.* **1994**, 255, 103-124
- [35] Goto F., Ogawa T. *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 5099-5102
- [36] Neumann K. W.; Tamura J.-I.; Ogawa T. *Bioorg. Med. Chem.* **1995**, 3, 1637-1650
- [37] Allen J. G.; Fraser-Reid B. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 468-469
- [38] Tamura J.-I.; Nishihara J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, 9, 1911-1914
- [39] Tamura J.-I. ; Nishihara J. *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 3074-3083
- [40] Tamura J.-I. ; Yamaguchi A. ; Tanaka J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, 12, 1901-1903
- [41] Tamura J.-I.; Nakamura-Yamamoto T.; Nishimura Y.; Mizumoto S.; Takahashi J.; Sugahara K.. *Carbohydr. Res.* **2010**, 345, 2115-2123
- [42] Nakahara Y.; Ando S.; Itakura M.; Kumabe N.; Hojo H.; Ito Y.; Nakahara Y. *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 6489-6493
- [43] Fukase K.; Takashi Y.; Suda Y.; Yoshida M.; Kusumoto S. *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 6763-6766
- [44] Yasukoshi T.; Fukase K.; Kusumoto S. *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 6591-6593
- [45] Tamura J.-I. ; Miura Y. ; Freeze H. H. *J. Carbohydr. Chem.* **1999**, 18, 1-14
- [46] Goto F.; Ogawa T. *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 6841-6844
- [47] O'Shannessy D. J.; Brighman-Burke M.; Peck K. *Anal. Biochem.* **1992**, 205, 132-136
- [48] www.biacore.com
- [49] Fügedi P.; Garegg P.J.; Lönn H.; Norberg T. *Glycoconjugate J.* **1987**, 4, 97-108
- [50] Mootoo, D. R.; Konradsson P.; Udodong U.; Fraser-Reid B. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 5583-4
- [51] Goebel W. F.; Babers F. H. *J. Biol. Chem.* **1935**, 111, 347-353
- [52] Nicolaou K. C.; Hummel C. W.; Bokovich N. J.; Wong C. H. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1991**, 13, 870-872
- [53] Schmidt R. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1986**, 25, 212-235
- [54] Bollenback G. N.; Long J. W.; Benjamin D. G.; Lindquist J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, 77, 3310-3315
- [55] Clingman A. L.; Richtmyer N. K. *J. Org. Chem.* **1964**, 29, 1782-1787
- [56] Flitsch S. L.; Davis N. J. *Tetrahedron Lett.* **1993**, 34, 1181-1184
- [57] Bindschädler P.; Noti C.; Castagnetti E.; Seeberger P. H. *Helv. Chim. Acta* **2006**, 89, 2591-2610
- [58] Blatter G. ; Jacquinet J.-C. *Carbohydr. Res.* **1996**, 288, 109-125
- [59] Mar Kayser M. ; De Paz J.L. ; Nieto P.M. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 2138-2147
- [60] Fukayama T.; Laird A. A.; Hotchkiss L. M. *Tetrahedron Lett.* **1985**, 26, 6291-6292
- [61] Excoffier G. ; Gagnaire D. ; Utille J.-P. *Carbohydr. Res.* **1975**, 39, 368-373
- [62] Xia J.; Abbas S. A.; Locke R. D.; Piskorz C. F.; Alderfer J. L.; Matta K. L. *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 169-173
- [63] Ait-Mohand K. ; Lopin-Bon C. ; Jacquinet J.-C. *Carbohydr. Res.* **2012**, 353, 33-48

- [64] Catelani G.; Colonna F.; Marra A. *Carbohydr. Res.* **1988**, 182, 197-300
- [65] King J. F.; Allbutt A. D. *Can. J. Chem.* **1970**, 48, 1754-1769
- [66] Evans D. A.; Britton T. C.; Ellman J. A. *Tetraherdon Lett.* **1987**, 28, 6141-6144
- [67] Lucas H.; Basten J. E. M.; van Dinther Th. G.; Meuleman D. G.; van Aelst S. F.; van Boeckel C. A. A. *Tetrahedron* **1990**, 46, 8207-8228
- [68] Bergman L.; Zervas L. *Chem. Ber.* **1931**, 64, 975-980
- [69] Blatter G. ; Beau J.-M. ; Jacquinet J.-C. *Carbohydr. Res.* **1994**, 260, 189-202
- [70] Belot F. ; Jacquinet J.-C. *Carbohydr. Res.* **2000**, 325, 93-106
- [71] Vibert A. ; Lopin-Bon C. ; Jacquinet J.-C. *Tetrahedron Lett.* **2010**, 51, 1867-1869
- [72] Lopin C.; Jacquinet J.-C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 2574-2578
- [73] Goddar-Borger E. D.; Stick R. V. *Org. Lett.* **2007**, 9, 3797-3800
- [74] Grundler G.; Schmidt R. R. *Liebigs Ann. Chem.* **1984**, 1826-1847
- [75] Jacquinet J.-C. *Carbohydr. Res.* **1990**, 199, 153
- [76] Schmidt R. R.; Stumpp R. *Liebigs Ann. Chem.* **1983**, 1249-1256

Katia AIT-MOHAND

Synthèse stéréocontrôlée de dérivés, accepteurs potentiels des glycosyltransférases impliquées dans les voies de biosynthèse des protéoglycanes

Résumé :

L'arthrose est un processus menant à la dégénérescence du cartilage articulaire dont l'un des principaux composants est un protéoglycane (PG) : l'aggrécan. Il est constitué de glycosaminoglycanes (GAGs), essentiellement le sulfate de chondroïtine (CS), liés de façon covalente à un squelette peptidique par l'intermédiaire d'une zone de liaison tétrasaccharidique commune aux principaux types de GAGs (CS et sulfate d'héparane (HS)). La biosynthèse des PGs met en jeu l'action séquentielle de O-glycosyltransférases qui additionnent spécifiquement chaque unité saccharidique. Lors de cette biosynthèse, encore mal connue, la zone de liaison subit des modifications (sulfatation et phosphorylation) qui peuvent être importantes pour la polymérisation des PGs en faveur des CS ou des HS.

L'objectif de ce travail était de synthétiser, pour la première fois, une collection complète de trisaccharides biotinylés diversement monosulfatés ou non de la zone de liaison des PGs ainsi que des tétrasaccharides biotinylés (zone de liaison et amorces de CS) dans le but de déterminer le rôle des différentes sulfatations possibles dans la biosynthèse des PGs par les O-glycosyltransférases.

Mots clés : Oligosaccharides biotinylés, sulfoformes, protéoglycanes, zone de liaison, sulfate de chondroïtine, arthrose.

Stereocontrolled synthesis of derivatives, potential acceptors of the glycosyltransferases involved in the proteoglycan's biosynthesis

Abstract :

Osteoarthritis is a process leading to the degeneration of articular cartilage in which one of the major component is the proteoglycan (PG) aggrecan. It is composed of glycosaminoglycans (GAGs), mainly chondroitin sulfate (CS), covalently linked to a peptide backbone through the tetrasaccharide linkage region which is common to the two principal types of GAGs (CS and heparan sulfate (HS)). The PGs biosynthesis involves the sequential action of O-glycosyltransferases that add specifically each saccharide unit. In this biosynthesis, still poorly understood, the linkage region undergoes changes (sulfation and phosphorylation) that may be important for the polymerization of PGs in favor of the CS or the HS.

The objective of this work was to synthesize, for the first time, a full collection of biotinylated trisaccharides variously monosulfated or not of the linkage region of PGs and biotinylated tetrasaccharides (linkage region and first aminosugar of CS), in order to determine the role of the possible sulfation within the biosynthetic pathway of PGs by the O-glycosyltransferases.

Keywords: Biotinylated oligosaccharides, sulfoforms, proteoglycans, linkage region, chondroitin sulphate, osteoarthritis.



Institut de Chimie Organique et Analytique
Université d'Orléans, Pôle chimie
BP 6759, rue de Chartres
45067 Orléans cedex 2

