

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

DÉVELOPPEMENT D'UN VACCIN SYNTHÉTIQUE CONTRE *BURKHOLDERIA*
CEPACIA IMPLIQUÉ DANS LA FIBROSE KYSTIQUE

MÉMOIRE
PRÉSENTÉ
COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAÎTRISE EN CHIMIE

PAR
TZE CHIEH SHIAO

FÉVRIER 2009

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL
Service des bibliothèques

Avertissement

La diffusion de ce mémoire se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire *Autorisation de reproduire et de diffuser un travail de recherche de cycles supérieurs* (SDU-522 – Rév.01-2006). Cette autorisation stipule que «conformément à l'article 11 du Règlement no 8 des études de cycles supérieurs, [l'auteur] concède à l'Université du Québec à Montréal une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de [son] travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, [l'auteur] autorise l'Université du Québec à Montréal à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de [son] travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de [la] part [de l'auteur] à [ses] droits moraux ni à [ses] droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, [l'auteur] conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont [il] possède un exemplaire.»

*Une petite contribution à la
société*

La vie est alors significative

Même si la vie est courte

Autrement

On dort dans la vie

Vivre pour travailler

Et pas

Travailler pour vivre

*La vie sera toujours
significative*

Pour nous-même...

REMERCIEMENTS



MERCI MAMA

Esta mémoiria es una d'edicatoria hacia mi mama "Chao Yuan Chun" quien falleció antes que yo comenzera mi carrera de maestria. Yo quería agradecerle muchisima, ya que sin ella, yo no hubiera estar aquí, ni siquiera he podido terminar mis estudios universitarios. Gracias mama que sufriste tanto para que yo pudiera estar en una carrera profesional, lo que siempre quize. Hoy, termino aquí mi carrera de maestria espero que Ud estaría contenta

mirandome en el cielo y que pueda estar orgullosa de mí. Vuelvo a repetir si puedo delante Ud, te guiero mucho y te agradezco muchichísimo, quisiera estar siempre al lado tuyo.

La segunda persona que quería agradecer es mi esposa "claudia", gracias a vos todos lo que me ayudaste en todos estos tiempos, sin vos, no sé como salir de este infierno y llegar al día de hoy, tampoco me imaginaba que pudiera terminar en esta carrera así. Gracias a tu apoyo que me diste para que tenga el corage de seguirme en este mundo diferente de lo que teniamos nosotros, luchar para tener un puesto de confianza. En el mismo tiempo, sé que estas en la Argentina acompañandose a tu mama, espero que ella se recupera, mama hay una sola, ya la perdi, espero que pudieras estar conforme de vos misma, hacer todos lo que pudieras y que no te arrepientas de tu vida. Suegra ! te deseo con todo mi corazón que le recupere con todo, fuerza, la vida es una linda. Les quiero muchísimo, misma para mi hija, Iris.

Je voudrais remercier également mon directeur Pr. R. Roy, qui m'a ouvert la porte de la chimie organique, qui m'a converti avec succès de biochimiste en chimiste organicien. Sans vous, je n'aurais jamais cru que je puisse arriver à ce niveau avec un diplôme de maîtrise en chimie organique. En plus, grâce à vous, j'ai acquis des connaissances sur la chimie jusqu'à aujourd'hui, avec beaucoup plus de notions et entre autres, que je puisse commencer à être un spécialiste en chimie du sucre. La porte vient de s'ouvrir...

Je voudrais remercier également Régis, même si tu étais un stagiaire post-doctoral, tu ne m'a jamais traité comme un inférieur. Ce que j'ai appris, des connaissances de la chimie du sucre. à part du Pr. R. Roy. c'est toi qui me l'a enseignées, qui m'a donné toute la formation nécessaire. Si, tous ces résultats de ma maîtrise sont satisfaisants, ce sont les tiens.

Sans oublier, Moh et David ! Vous êtes les deux premières personnes, que j'ai rencontrées au début de ma maîtrise. Je n'oublierai jamais. C'est vous qui m'avez expliqué comment faire une extraction et comment différentier les phases organiques par rapport aux phases aqueuses. Moh, un grand merci. Nous avons ensemble, tout au long de ma maîtrise, appris des connaissances. autres que la chimie du sucre, surtout comment être un scientifique,

détail, que la plupart des gens ignorent. Grâce à toi, j'ai réussi ma maîtrise, cela compte en grande partie.

Karine, nous avons eu peu de temps ensemble au laboratoire, même si nous n'avions pas le même projet, j'ai grandement apprécié tes bons conseils, je te garderai toujours dans mon cœur. Finalement, je voudrais remercier plein de gens, c'est trop...

Denis, j'avais oublié, c'est toi qui m'as fait travailler comme ça, hors tu m'avais dit qu'il fallait faire minimum de 500 réactions pour pouvoir finir une maîtrise, merci, j'ai réussi mes 500 réactions et même d'avantage. Sarah, tu es la deuxième personne qui m'a encouragé d'une façon différente. Lorsque tu m'avais dit, que tu travaillais vite et que tu partais à 17h ton travail terminé, c'était une surprise pour moi... «Comment je pourrais finir, aussi vite qu'elle?». Cette phrase a tournée dans ma tête, pendant 2 ans et demi.

Yoann ! Je voudrais te remercier énormément de ton aide sur la correction de français. Sans toi, ce mémoire n'aura fini avec une haute qualité de français. En outre, tes conseils sont toujours restés dans mon cœur.

Par ailleurs, à tous mes collègues du labo Christine, Isabelle, Cathy, Jonathan, Marc-André, Subhash, Sonia, Virginie et mon petit frère Alex je tiens à vous remercier, de tout cœur. Mes difficultés en français ne peuvent rendre et exprimer clairement mes sentiments. Merci à tous (tes), que j'ai oublié de mentionner.

Merci, Pr. Roy pour m'avoir donné la chance d'être formé par les quatre collègues post-doctorants.

chichi

TABLE DES MATIÈRES

| | |
|--|------|
| LISTE DES FIGURES | x |
| LISTE DES TABLEAUX | xii |
| LISTE DES SCHÉMAS | xiii |
| LISTE DES ABRÉVIATIONS | xvi |
| RÉSUMÉ | xxvi |
| | |
| CHAPITRE I | 1 |
| INTRODUCTION | 1 |
| 1.1 MISE EN CONTEXTE | 1 |
| 1.2 VACCINS <i>vs</i> ANTIBIOTIQUES | 1 |
| 1.3 SYSTÈME IMMUNITAIRE | 4 |
| 1.4 T-CELL ÉPITOPES | 7 |
| 1.5 IMPORTANCE DES HYDRATES DE CARBONE | 10 |
| 1.6 VACCINS SEMI-SYNTHÉTIQUES | 12 |
| 1.7 CHIMIE DE CONJUGAISON | 12 |
| 1.8 OBJECTIFS | 15 |
| | |
| CHAPITRE II | 17 |
| FIBROSE KYSTIQUE ET <i>B. CEPACIA</i> | 17 |
| 2.1 HISTORIQUE | 17 |
| 2.2 DÉFI ACTUEL: IMMUNOCHEMIE | 19 |
| 2.3 <i>B. CEPACIA</i> | 22 |
| 2.4 <i>B. CEPACIA</i> ET AUTRES | 24 |
| | |
| CHAPITRE III | 26 |
| SYNTHÈSE PEPTIDIQUE | 26 |
| 3.1 INTRODUCTION | 26 |
| 3.2 STRATEGIE FMOC | 27 |

| | |
|---|-----|
| 3.3 SYNTHÈSE DE L'ACIDE 3-MALÉIMIDOPROPIONIQUE <i>N</i> -HYDROSUCCINIMIDE ESTER | 28 |
| 3.4 SYNTHÈSE PEPTIDIQUE EN PHASE SOLIDE | 32 |
| CHAPITRE IV | 43 |
| SYNTHÈSE DES FRAGMENTS CIBLES | 43 |
| 4.1 INTRODUCTION | 43 |
| 4.1.1 <i>Effet anomérique</i> | 44 |
| 4.1.2 <i>Effet anchimérique</i> | 45 |
| 4.1.3 <i>Glycosidation comme première protection anomérique</i> | 47 |
| 4.1.4 <i>Principaux donneurs utilisés lors de la glycosylation</i> | 47 |
| 4.2 ANALYSE RÉTROSYNTHÉTIQUE | 48 |
| 4.3 SYNTHÈSE DE RÉSIDUS D-GALACTOPYRANOSIDES | 53 |
| 4.4 SYNTHÈSE DE RÉSIDUS D-GLUCOPYRANOSIDES | 59 |
| 4.5 CONVERSION DE D-GLUCOPYRANOSIDE EN ACIDE D-GLUCURONIQUE | 65 |
| 4.6 SYNTHÈSE DE RÉSIDUS D-MANNOPYRANOSIDES | 68 |
| 4.7 SYNTHÈSE DE RÉSIDUS D-RHAMNOPYRANOSIDES | 82 |
| CHAPITRE V | 97 |
| ASSEMBLAGES SACCHARIDIQUES | 97 |
| 5.1 INTRODUCTION | 97 |
| 5.2 STRATÉGIE DES SYNTHÈSES D'OLIGOSACCHARIDES | 99 |
| 5.2.1 <i>Synthèse du dirhamnoside donneur</i> | 100 |
| 5.2.2 <i>Synthèse du trisaccharide mineur</i> | 102 |
| 5.2.3 <i>Synthèse du trisaccharide majeur</i> | 103 |
| 5.3 STRATÉGIE DE LA SYNTHÈSE VERS LE COMPLEXE <i>B. CEPACIA</i> | 105 |
| 5.3.1 <i>Synthèse du laminaribiose</i> | 106 |
| 5.3.2 <i>Synthèse du disaccharide 114</i> | 108 |
| 5.3.3 <i>Essai de la glycosylation avec le donneur D-galactoside</i> | 109 |

| | |
|--|-----|
| 5.3.4 Tentative de synthèse du trisaccharide du CBC cible | 113 |
| 5.4 NOUVELLE STRATÉGIE | 114 |
| 5.5 GLYCOPEPTIDE: VACCINS | 119 |
| CHAPITRE VI | 123 |
| CONCLUSIONS GÉNÉRALES ET PERSPECTIVES | 123 |
| 6.1 LISTE DE PUBLICATIONS ET CONFÉRENCES | 125 |
| CHAPITRE VII | 127 |
| PARTIE EXPÉRIMENTALE | 127 |
| 7.1 GÉNÉRALITÉS | 127 |
| 7.1.1 Solvants | 127 |
| 7.1.2 Chromatographies | 128 |
| 7.1.3 Analyse physico-chimiques | 128 |
| 7.1.3.1 Généralités | 128 |
| 7.1.3.2 Spectroscopie par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) | 129 |
| 7.2 PROTOCOLES GÉNÉRAUX | 130 |
| 7.2.1 Protocole A : Procédure générale de la protection d'une amine par un groupement Fmoc | 130 |
| 7.2.2 Protocole B: Procédure générale de la SPPS | 131 |
| 7.2.3 Protocole C: Test de Kaiser | 132 |
| 7.2.4 Protocole D: Test de révélation au TNBS | 132 |
| 7.2.5 Protocole F: Test de Ellman | 133 |
| 7.2.6 Protocole G: Clivage du lien entre peptide et la résine | 133 |
| 7.2.7 Protocole H: Conditions d'analyse sur HPLC | 134 |
| 7.2.8 Protocole I: Transestérification ou de-O-acétylation par le méthanolate de sodium ou « Zemplén » | 134 |
| 7.2.9 Protocole J: Débenzoylation par l'hydroxyde de lithium | 135 |
| 7.2.10 Protocole K: Débenzoylation par hydrogénolyse catalytique | 135 |
| 7.3 MODES OPÉRATOIRES ET CARACTÉRISATIONS | 135 |
| ANNEXE | 240 |

LISTE DES FIGURES

| | | |
|-------------------|---|----|
| Figure 1. | Structure générale d'un l'anticorps | 6 |
| Figure 2. | Liaison du CMH-I avec un antigène glycopeptidique (PDB 1KGB) ; Le récepteur de la cellule T et CMH-II complexé avec un peptide antigénique | 8 |
| Figure 3. | Procédure et présentation des antigènes par le CMH-I | 9 |
| Figure 4. | Procédure et présentation des antigènes par le CMH-II | 10 |
| Figure 5. | Intéactions entre les trois domaines de biopolymères | 11 |
| Figure 6. | Structures d'oligosaccharides cibles | 16 |
| Figure 7. | Structures de vaccins potentiels envisagés contre <i>Burkholderia cepacia</i> impliqué dans la fibrose kystique | 16 |
| Figure 8. | A) Biofilm observé chez les patients atteints de FK; B) Quatre types de bactéries responsables de la colonisation des poumons des patients atteints de FK | 18 |
| Figure 9. | A) Structure du NBD1 du CFTR; B et C) Structure du site actif du NBD1 en présence ou non du résidu Phe-508 | 19 |
| Figure 10. | A) Modèle proposé de la régularisation de CFTR avec le médiateur MUC4 <i>via</i> le mécanisme transcriptionnel et post-translational du cancer pancréatique; B) Modèle de la protéine sécrétoire sauvage et mutée dans ER; C) Schéma représentatif de la protéine résidant au ER impliquée dans la translocation, leur qualité de contrôle: regroupement des protéines par leurs fonctions ou propriétés | 20 |
| Figure 11. | A) Structure cristalline du domaine Humain NDB1- Δ F508 complexé avec son ligand ATP et MG (PUBsum) ; B) Interaction hydrophobe de ce ligand dans le site actif de cette protéine membranaire (PDB : 1XMJ) | 21 |
| Figure 12. | A) Image par microscopie de biofilm causé par <i>B. cepacia</i> ; B) Modélisation moléculaire du <i>Cepacian</i> : a = α -D-Glc6pA, c et C = α - D-Manp, d = α -D-Rhap, e et F = β -D-Galp, g = α -D-Galp; C) Structure 3-D modélisée du <i>Cepacian</i> (exopolysaccharide produit par | |

| | | |
|-------------------|--|-----|
| | <i>B. cepacia</i>) | 23 |
| Figure 13. | Spectre du RMN ¹ H du composé 5 | 31 |
| Figure 14. | Structure des agents activants | 35 |
| Figure 15. | Comparaison du test Kaiser – TNBS. A) Kaiser (+) ; B) Kaiser (-) ; C) TNBS (+) ; D) Image au microscope de la résine après le test TNBS (-) | 37 |
| Figure 16. | Structure tridimensionnelle modélisée du peptide immunogène 7 | 38 |
| Figure 17. | Profil HPLC du nanopéptide 6 | 40 |
| Figure 18. | Stratégie générale de SPPS <i>via</i> la « chimie de Fmoc » (clivage de groupements protecteurs et de la résine) | 40 |
| Figure 19. | Courbe standard du test d'Ellman modifiée | 42 |
| Figure 20. | Structure de l'unité répétitive de l'EPS du complexe <i>Burkholderia cepacia</i> (A), modélisée selon la littérature (B), modélisée par logiciel MOE (C) et modélisée par logiciel ChemDraw (D) | 50 |
| Figure 21. | Spectre RMN ¹³ C du composé 43 | 69 |
| Figure 22. | RMN ¹³ C non découplé de type HSQC du composé 50 | 73 |
| Figure 23. | Comparaison des spectres RMN ¹ H lors de la migration d'acétate | 77 |
| Figure 24. | Confirmation de la réduction: composés 70 et 53 | 84 |
| Figure 25. | RMN ¹ H des composés 76 et 81 | 89 |
| Figure 26. | RMN ¹³ C des composés 76 et 81 | 90 |
| Figure 27. | Spectre RMN ¹³ C non découplé de type HSQC du disaccharide 106 | 101 |
| Figure 28. | Spectre RMN ¹ H des trisaccharides 109 | 102 |
| Figure 29. | Spectre RMN ¹ H des trisaccharides 111 et 112 | 104 |
| Figure 30. | Spectre RMN ¹³ C non découplé de type HSQC du trisaccharide 111 ... | 105 |

LISTE DES TABLEAUX

| | | |
|-------------------|--|----|
| Tableau 1. | Liste des groupements protecteurs recommandés sur des dérivés d'acides aminés <i>N</i> -Fmoc | 33 |
| Tableau 2. | L'effet anomérique des différents types de glycosides | 45 |
| Tableau 3. | Comparaison des effets anomériques et anchimériques des différents types de glycosides | 46 |
| Tableau 4. | Différents types de donneurs avec les promoteurs correspondants | 99 |

LISTE DES SCHÉMAS

| | | |
|-------------------|---|----|
| Schéma 1. | Synthèse des acides aminés protégés sous leur forme Fmoc | 28 |
| Schéma 2. | Fonctionnalisation et activation de l'acide aminé « β -alanine » | 29 |
| Schéma 3. | Mécanisme du couplage peptidique par l'agent activant DCC et de l'estérification par <i>N</i> -hydroxysuccinimide | 30 |
| Schéma 4. | Mécanisme de la déprotection du groupement Fmoc | 34 |
| Schéma 5. | Mécanisme de couplage du type peptidique en utilisant l'agent activant BOP | 36 |
| Schéma 6. | Synthèse de peptides immunogènes | 39 |
| Schéma 7. | Synthèses de peptides immunogènes | 41 |
| Schéma 8. | Effet anchimérique en série D-mannoside lors de la glycosidation | 46 |
| Schéma 9. | Transformations et interconversions de glycosides de type donneur ... | 48 |
| Schéma 10. | Analyse rétrosynthétique d'hexasaccharide représentant le complexe <i>B. cepacia</i> | 51 |
| Schéma 11. | Synthèse du donneur D-galactoside de type trichloroacétimide | 54 |
| Schéma 12. | Synthèse des donneurs D-galactosides de type thioglycosides | 55 |
| Schéma 13. | Synthèse du donneur D-galactoside thiophényle | 57 |
| Schéma 14. | Mécanisme de trans-estérification de Zemplén | 58 |
| Schéma 15. | Synthèse du donneur D-galactoside encombré | 59 |
| Schéma 16. | Comparaison de la synthèse sélective du donneur 2,2,2-trichloroacétimide de 2,3,4,6-tétra- <i>O</i> -acetyl- α -D-glucopyranose | 60 |
| Schéma 17. | Transformation du donneur thioglycoside en précurseur de trichloroacétimide | 61 |
| Schéma 18. | Synthèse de l'accepteur D-glucopyranoside avec et sans réactif d'étain | 62 |
| Schéma 19. | Préparation du synthon pour la conversion de l'accepteur en du donneur D-glucopyranoside orthogonalement protégé | 64 |
| Schéma 20. | Synthèse du précurseur de l'acide D-glucuronique | 65 |
| Schéma 21. | Synthèse de l'acide D-glucuronique à partir de différents sucres | 66 |

| | | |
|-------------------|---|----|
| Schéma 22. | Mécanisme d'oxydation sélective de l'hydroxyle primaire en utilisant le réactif TEMPO | 67 |
| Schéma 23. | Synthèse du précurseur D-Rhamnopyranoside de <i>p</i> -méthoxyphényle . | 69 |
| Schéma 24. | Mécanisme d'iodation de la position 6 | 71 |
| Schéma 25. | Synthèse du précurseur D-Rhamnopyranoside d'allyle | 71 |
| Schéma 26. | Conversion de D-mannopyranoside propargylé en D-Rhamnopyranoside d'allyle | 73 |
| Schéma 27. | Synthèse de l'accepteur analogue D-mannopyranoside | 74 |
| Schéma 28. | Préparation du précurseur du groupement protecteur levulinate | 75 |
| Schéma 29. | Synthèse de l'accepteur D-mannopyranoside par voie enzymatique ... | 76 |
| Schéma 30. | Mécanisme de déprotection du lévulinate | 77 |
| Schéma 31. | Synthèse de l'accepteur D-mannopyranoside | 78 |
| Schéma 32. | Synthèse du donneur D-mannopyranosyle trichloroacétimide | 79 |
| Schéma 33. | Mécanisme de déallylation en présence de palladium | 80 |
| Schéma 34. | Synthèse de l'accepteur D-mannopyranoside | 81 |
| Schéma 35. | Mécanisme radicalaire de la déhalogénéation | 83 |
| Schéma 36. | Conversion de D-mannopyranoside en D-rhamnopyranoside | 83 |
| Schéma 37. | Synthèse de l'accepteur D-rhamnopyranoside | 86 |
| Schéma 38. | Mécanisme de la protection des positions 3 et 4 sous la forme d'un bisacétal | 86 |
| Schéma 39. | Synthèse du donneur et d'un accepteur D-rhamnopyranoside | 87 |
| Schéma 40. | Conversion de l'aglycone <i>O-p</i> -méthoxyphényle en <i>O</i> -allyle | 88 |
| Schéma 41. | Synthèse des donneurs D-rhamnopyranosides avec des groupements protecteurs différents | 91 |
| Schéma 42. | Synthèse de l'accepteur D-rhamnopyranoside 76 | 91 |
| Schéma 43. | Synthèse de l'accepteur D-rhamnopyranoside 89 | 92 |
| Schéma 44. | Synthèse de l'accepteur D-rhamnopyranoside à partir de 70 | 93 |
| Schéma 45. | Synthèse de l'accepteur D-rhamnopyranoside à partir de 53 | 94 |
| Schéma 46. | Test de la réactivité des trois positions du D-rhamnopyranoside. A) Résultats publiés dans la littérature ; B) Nouvel essai à la même température | 95 |

| | | |
|-------------------|---|-----|
| Schéma 47. | Synthèse du donneur disaccharide 108 | 100 |
| Schéma 48. | Mécanisme réactionnel de la glycosylation à partir du donneur imidate en utilisant le TMSOTf comme promoteur | 101 |
| Schéma 49. | Synthèse du trisaccharide mineur 109 | 102 |
| Schéma 50. | Synthèse du trisaccharide majeur 112 | 104 |
| Schéma 51. | Comparaison de la réactivité de différentes conformations du donneur lors de la synthèse de laminaribiose | 107 |
| Schéma 52. | Synthèse du disaccharide 114 | 108 |
| Schéma 53. | Synthèse de l'accepteur et du précurseur du donneur disaccharidique | 109 |
| Schéma 54. | Synthèse du disaccharide 119 | 110 |
| Schéma 55. | Synthèse de disaccharides et comparaison avec des accepteurs protégés sous différentes formes | 111 |
| Schéma 56. | Tentative de synthèse du disaccharide cible 126 | 111 |
| Schéma 57. | Synthèse du disaccharide analogue 128 et la vérification de la réactivité de la position 2 du mannoside lors de la glycosylation | 112 |
| Schéma 58. | Synthèse du disaccharide 122 | 112 |
| Schéma 59. | Synthèse du trisaccharide cible | 113 |
| Schéma 60. | Analyse rétrosynthétique de la nouvelle stratégie jusqu'au motif hexasaccharidique | 115 |
| Schéma 61. | Synthèse du donneur disaccharidique 134 | 116 |
| Schéma 62. | Synthèse de l'accepteur disaccharidique 136 | 116 |
| Schéma 63. | Synthèse du tétrasaccharide cible | 117 |
| Schéma 64. | Essais des synthèses du disaccharide à partir de différents accepteurs | 118 |
| Schéma 65. | Synthèse du trisaccharide cible | 118 |
| Schéma 66. | Synthèse de trisaccharides fonctionnalisés par deux méthodes différentes | 119 |
| Schéma 67. | Synthèse des vaccins potentiels: conjugaison entre trisaccharide et peptides immunogènes, PADRE et P2TT | 121 |
| Schéma 68. | Schéma de synthèse des deux trisaccharides du LPS de <i>B. cepacia</i> 109 et 111 | 122 |

LISTE DES ABRÉVIATIONS

A

| | |
|-------------------|-------------------------------------|
| Å | Angstrom |
| α | Alpha |
| Abs | Absorbance |
| Ac | Acétyle |
| Ac. asc. | Acide ascorbique |
| Ac ₂ O | Anhydride acétique |
| AcCl | Chlorure d'acétyle |
| ACN | Acétonitrile |
| Acm | Acétamidométhyle |
| AcOEt | Acétate d'éthyle |
| ADN | Acide désoxyribonucléique |
| AIBN | <i>N,N'</i> -Azobisisobutyronitrile |
| AllBr | Bromure d'allyle |
| APT | Attached Proton Test |
| Arg | Arginine |
| arom. | Aromatique |
| Asp | Aspartate |
| Asn | Asparagine |
| ATP | Adénosine-5'-TriPhosphate |
| ATPase | Adénosine-5'-TriPhosphatase |

B

| | |
|-------------------|-----------------------------|
| β | Béta |
| <i>B. cepacia</i> | <i>Burkholderia cepacia</i> |
| BAIB | Bisacétoxyiodobenzène |

| | |
|--------------------------------------|--|
| BF ₃ .Et ₂ O | Étherate de trifluorure de bore |
| Bn | Benzyle |
| BnBr | Bromure de benzyle |
| Boc | <i>tert</i> -ButOxyCarbonyle |
| BOP | Benzotriazol-1-yloxytris(dimethylamino)phosphonium hexafluorophosphate |
| BSP | 1-Benzènesulfinyl pipéridine |
| ^t BuOH | <i>tert</i> -Butanol |
| ^t Bu | <i>tert</i> -Butyle |
| Bu ₂ Sn(OMe) ₂ | Diméthoxyde de dibutylétain |
| Bu ₂ SnO | Oxyde de dibutylétain |
| Bu ₃ SnH | Hydruure de tributylétain |
| BzCl | Chlorure de benzoyle |
| Bz | Benzoyle |
| C | |
| <i>c</i> | Concentration (g/100 mL) |
| C | Carbone |
| C _q | Carbone quaternaire |
| <i>c</i> -AMP | Adénosine monophosphate cyclique |
| CAN | Céric Ammonium Nitrate |
| CBC | Complexe <i>Burkholderia cepacia</i> |
| CCM | Chromatographie sur couche mince |
| CD4 ou 8 | Cluster of Differentiation 4 ou 8 |
| CDi | 1,1'-Carbonyl-diimidazole |
| CF | Cystic Fibrosis |
| CFTR | Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator |
| CHCl ₃ | Chloroforme |
| CH ₂ Cl ₂ | Dichlorométhane |
| CH ₃ CN | Acétonitrile |

| | |
|-------------------|--|
| cm | Centimètre |
| CMH | Complexe Majeur d'Histocompatibilité |
| COSY | COrelated SpectroscopY |
| CuI | Iodure de cuivre |
| CuSO ₄ | Sulfate de cuivre |
| Cys | Cystéine |
| D | |
| <i>d</i> | Deutérium |
| DCC | Dicylohexylcarbodiimide |
| DCU | Dicyclohexylurée |
| DBU | 1.8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ène |
| DDQ | Dichlorodicyanoquinone |
| décomp. | Décomposition |
| DEPT | Distortionless Enhancement by Polarization Transfer |
| DIPCDI | Diisopropylcarbodiimide |
| DIPEA | <i>N,N'</i> -diisopropyléthylamine |
| DMAP | 4- <i>N,N</i> -Diméthylaminopyridine |
| DMF | <i>N,N</i> -Diméthylformamide |
| DMP | 2.2-Diméthoxypropane |
| DMSO | Diméthylsulfoxyde |
| DMTST | Diméthyl(méthylthio)sulfonium trifluorométhansulfonate |
| DTNB | 5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoic acid) |
| E | |
| ϵ | épsilon |
| <i>E. coli</i> | <i>Escherichia coli</i> |
| EDCI | i-Ethyle-3-(3-(diméthylaminopropyle)carbodiimide |
| EDT | Éthanedithiol |

| | |
|-------------------|---|
| ELLA | Enzyme Linked Lectin Assays, anglais |
| EtOAc | Acétate d'éthyle |
| Et ₂ O | Ether diéthylique |
| EPS | Exopolysaccharide |
| éq. | Equivalent |
| ER | Endoplasmique |
| Et ₃ N | Triéthylamine |
| F | |
| F508 | Phénylalanine 508 |
| FK | Fibrose kystique |
| Fuc | L-Fucose |
| Fmoc | Fluorényle-MéthOxy-Carbone |
| G | |
| Galp | D-Galactopyranoside |
| Glc | D-Glucose |
| GlcNAc | N-Acétyl-D-glucosamine |
| GlcNPhth | N-Phtalimido-D-glucose |
| GlcP _A | Acide glucuronique |
| Gln | Glutamine |
| Glu | Glutamate |
| H | |
| H | Hydrogène |
| H ₂ | Dihydrogène |
| h | Heure |
| HAUT | (7-Azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium |

| | |
|------------------|---|
| | hexafluorophosphate |
| HBF ₄ | Hydrogène tétrafluoroborate |
| HBr | Bromure d'hydrogène |
| HBTU | 2-(1H-Benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-tetramethylaminium hexafluorophosphate |
| HCl | Acide chlorhydrique |
| HCTU | 2-(6-Chloro-1-H-benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-tetramethylaminium Hexafluorophosphate |
| HETCOR | Heteronuclear Chemical Shift Correlation |
| HF | Fluorure d'hydrogène |
| His | Histidine |
| HOBt | 1-Hydroxybenzotriazole |
| HPLC | H ight P erformance L iquid C hromatography |
| HSL | Homosérine lactone |
| HSQC | H eteronuclear S imple Q uantum C orrelation |

I

| | |
|------------------|---|
| I ₂ | Iodine |
| IC ₅₀ | Concentration en inhibiteur provoquant 50% d'inhibition |
| IDCP | Iodonium dicollidine perchlorate |
| Ig | Immunoglobuline |
| Im | Imidazole |
| IR | Infrarouge |
| ITC | Isothermal Titration Calorimetry, anglais |
| ivDde | (4,4-Diméthyl-2,6-dioxocyclohex-1-ylidene)-3-méthylbutyle |

K

| | |
|-----------|---------------------------|
| K_a | Constante d'affinité |
| Kcal/mol | Kilocalorie par mole |
| KJ/mol | Kilojoule par mole |
| K_d | Constante de dissociation |
| K_2CO_3 | Bicarbonate de potassium |

L

| | |
|-----------------|--|
| LC-MSD-TOF | Liquid Chromatography Mass Spectrometry Time Of Flight |
| LiOH | Hydroxyde de lithium |
| Litt. | Littérature |
| Le ^a | Lewis a |
| Le ^x | Lewis x |
| Lev | Lévulinate |
| LPS | Lipopolysaccharide |
| Lys | Lysine |

M

| | |
|---------------------|---------------------------------------|
| M | Molarité ; concentration (mol/L) |
| mCPBA | Acide <i>m</i> -chloroperoxybenzoïque |
| Me | Méthyle |
| MeI | Iodométhane |
| Me ₂ EtN | <i>N,N</i> -diméthyléthylamine |
| MeOH | Méthanol |
| MeOTf | Méthyltrifluorométhanesulfonate |
| Mg | Magnésium |
| mg | Milligramme |
| MHz | Mégahertz |
| min | Minute |
| mL | Millilitre |

| | |
|------------|--|
| mmol | Millimole |
| Mmt | <i>p</i> -Methoxyphenyldiphenylmethyl |
| MOE | M odélisation O rbitale É lectronique |
| MP | Méthoxyphényle |
| Mpe | 3-Méthyl-pent-3-yle |
| Ms | Mésylate |
| MsCl | Chlorure de mésylate |
| <i>m/z</i> | Rapport masse/charge |

N

| | |
|---------------------------------|--|
| NaCl | Chlorure de sodium |
| NaCNBH ₃ | Cyanoborohydrure de sodium |
| NaH | Hydruure de sodium |
| NaHCO ₃ | Hydrogénocarbonate de sodium |
| NaN ₃ | Azoture de sodium |
| NaOMe | Méthanolate de sodium |
| Na ₂ CO ₃ | Carbonate de sodium |
| Na ₂ SO ₄ | Sulfate de sodium |
| NBS | <i>N</i> -Bromosuccinimide |
| NBD | N ucléotide B inding D omaine |
| NH ₄ Cl | Chlorure d'ammonium |
| NIS | <i>N</i> -Iodosuccinimide |
| nm | Nanomètre |
| nM | Nanomolaire |
| NOE | Effet Overhauser nucléaire |
| Nsu | <i>N</i> -Succinimide |

P

| | |
|------|---------------------------|
| P2TT | Nom de peptide Tc-épitope |
|------|---------------------------|

| | |
|--|---|
| <i>P. aeruginosa</i> | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| PADRE | Nom de peptide Tc-épitope |
| Pbf | 2.2.4.6,7-Pentamethyldihydrobenzofuran-5-sulfonyl |
| Pd ⁰ | Palladium zero |
| Pd/C | Palladium sur charbon |
| Pd(OH) ₂ /C | Dihydroxyde de palladium sur charbon |
| Pd ⁰ (PPh ₃) ₄ | Tétrakis-triphénylphosphine de palladium |
| Péb. | Point d'ébullition |
| PEG | (poly)éthylène glycol |
| Pf | Point de fusion |
| Pfp | Pentafluorophényle |
| Ph | Phényle |
| Ph ₂ SO | Diphénylsulfonique anhydride |
| PhSH | Thiophénol |
| Phth | Phthalimido |
| Pmc | 2.2,5,7,8-Pentamethylchroman-6-sulfonyl |
| PMB | <i>para</i> -Méthoxybenzyle |
| PPh ₃ | Triphénylphosphine |
| ppm | partie par million |
| <i>p</i> TsOH | Acide <i>p</i> -toluènesulfonique |
| PyBOP | Benzotriazol-1-yl-oxy-tris-pyrrolidino-phosphonium hexafluorophosphate |
| Q | |
| QS | <i>Quorum sensing</i> |
| R | |
| rend. | Rendement |
| R _f | Rapport frontale |

| | |
|-------------------|---|
| Rhap | Rhamnopyranoside |
| RMN | Résonance Magnétique Nucléaire |
| RP | Reverse Phase |
| rpm | Rotation par minute |
| S | |
| Ser | Sérine |
| SM (ESI) | Spectrométrie de masse (électrospray) |
| SMHR | Spectrométrie de masse haute résolution |
| S _N | Sustitution nucléophile |
| SnCl ₄ | Tétrachlorure d'étain |
| SIDA | Syndrome d'ImmunoDéfience Acquisse |
| SPPS | Synthèse Peptidique en Phase Solide (anglais : Solid Phase Peptide Synthesis) |
| T | |
| TBAI | Iodure de tétrabutylammonium |
| Tamis mol. | Tamis moléculaire |
| TBAHS | Hydrogénosulfate de tétrabutylammonium |
| TBAI | Iodure de tétrabutylammonium |
| TBAF | Fluorure de tétrabutylammonium |
| TBDPSiCl | Chlorure de <i>tert</i> -butyldiphénylsilyle |
| TBTU | 2-(1H-Benzotriazole-1-yl)-1.1.3.3-tetramethylaminium tetrafluoroborate |
| Tc-épitope | T cellule épitope |
| TCR | Récepteur de la Cellule T (anglais: T Cell Receptor) |
| TEMPO | 2,2,6,6-Tétraméthylpipéridine-1-oxyle |
| TFA | Acide trifluoroacétique |
| Tf ₂ O | Trifluorométhanesulfonique anhydride |

| | |
|-------------------|--|
| TfOH | Acide trifluorométhanesulfonique |
| THF | Tétrahydrofurane |
| TIPS | Triisopropylesilyle |
| TISOTf | Triisopropylsilyle trifluorométhanesulfonate |
| TMSBr | Bromure de triméthylsilyle |
| Thr | Thréonine |
| TIS | Triisopropylsilane |
| TMSN ₃ | Azoture de triméthylsilyle |
| TMSOTf | Triméthylsilyl trifluorométhanesulfonate |
| TNBS | Acide 2,4,6-trinitrobenzensulfonique |
| TNTU | <i>O</i> -(Bycyclo[2.2.1]hept-5-ene-2,3-dicarboximido)- <i>N,N,N',N'</i> - Tetramethyluronium tetrafluoroborate |
| TP | Température pièce |
| Trp | Tryptophane |
| Trt | Trityle |
| TSTU | <i>N,N,N',N'</i> -Tetramethyl- <i>O</i> -(<i>N</i> -succinimidyl)uronium tetrafluoroborate |
| Tyr | Tyrosine |
| U | |
| μL | Microlitre |
| μM | Micromolaire |
| UV | Ultraviolet |
| Z | |
| ZnCl ₂ | Chlorure de zinc |

RÉSUMÉ

La fibrose kystique (FK) est une maladie génétique causée par la mutation du gène codant pour la protéine CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator). Celle-ci présente un défaut sur le canal à ions chlorures affectant ainsi entre autres la viscosité des muqueuses au niveau du système respiratoire. Cet environnement est alors propice aux colonisations bactériennes opportunistes sous la forme de biofilm. *Burkholderia cepacia*, bacille Gram-négatif mobile, multi-résistant aux antibiotiques et hautement transmissible, s'avère d'une extrême virulence pour les patients atteints de FK. Cette bactérie pathogène désigne en fait un ensemble de neuf souches rassemblées sous le nom de « complexe *B. cepacia* » (CBC). Au moins huit de ces neuf souches produisent un exopolysaccharide nommé Cepacian. Celui-ci est constitué d'un motif de répétition heptasaccharidique composé notamment de l'enchaînement α -D-Rhap-(1→4)- α -D-GlcpA. Le D-rhamnose (ou 6-deoxy-D-mannose) est un composant de glycoconjugués des parois de bactéries pathogènes mais ce sucre rare est absent chez l'homme. Ce dernier présente donc un fort potentiel antigénique dans le cadre de la préparation d'un vaccin entièrement synthétique et spécifique contre *B. cepacia*. L'élaboration de celui-ci consiste en un activateur universel immunogénique peptidique (Tc-épitope), PADRE ou P2TT préalablement synthétisés, fonctionnalisés par une unité antigénique spécifique. Dans ce but, deux tri-*O*-saccharides constituant le LPS de *B. cepacia* et composés majoritairement de D-rhamnose, ainsi que des fragments du motif de répétition de l'exopolysaccharide (EPS) du CBC ont été synthétisés. Des méthodes de synthèses orthogonales ont été optimisées avec de très hauts rendements sur les cinq différents sucres constituant l'EPS ou les LPS du CBC, et plus spécifiquement sur le D-rhamnose. Une série de glycosylation suivie d'une conjugaison finale *via* une addition radicalaire ou une métathèse croisée a conduit à deux méthodes de conjugaison pour la synthèse de vaccins potentiels, ceci constituant le but final du projet. La synthèse linéaire en 21 étapes a conduit au trisaccharide, α -D-Rhap-(1→3)- α -D-Rhap-(1→2)- α -D-Rhap, avec 36% de rendement global (ou 19% en 18 étapes optimisables). Un rendement de 28% a été obtenu pour une synthèse séquentielle en 17 étapes pour le trisaccharide majeur du LPS, α -D-Rhap-(1→3)- α -D-Rhap-(1→4)- α -D-Galp. La conjugaison de ce dernier sur T-cell épitope constituera l'ultime étape afin d'obtenir un vaccin potentiel entièrement synthétique.

Mots-clés: vaccin synthétique, T-cell épitope, *Burkholderia cepacia*, fibrose kystique, oligosaccharide, D-rhamnose, Complexe *B. cepacia*.

CHAPITRE I

INTRODUCTION

1.1 MISE EN CONTEXTE

Le contenu des travaux effectués pendant la période de maîtrise sera divisé en sept chapitres. Le premier chapitre introduira le traitement médical en relation avec le système immunitaire. Les notions principales du système immunitaire ainsi que la spécificité des cellules T lors de la rencontre avec un peptide antigénique seront abordées. L'importance des hydrates de carbone dans le domaine pharmaceutique actuel, ainsi que l'hypothèse et l'application de vaccins semi synthétique y seront également décrites. Enfin, l'application de la chimie de conjugaison sera abordée.

La description de la maladie impliquée dans ce contexte de recherche, la fibrose kystique, ainsi que la bactérie *B. cepacia* responsable d'infections provoquées chez les patients atteints de cette maladie seront l'objet du Chapitre II. Les structures oligosaccharidiques de surface de cette dernière seront les principales cibles de notre recherche et leur synthèse sera décrite dans les chapitres IV et VI. La chimie de conjugaison présentée dans le Chapitre I sera appliquée à ces motifs oligosaccharidiques afin de les fonctionnaliser par un peptide Tc-épitope discuté dans le Chapitre III. Une conclusion générale accompagnée de la liste des publications seront l'objet du Chapitre VI. Finalement, la partie expérimentale de toutes les réactions chimiques ainsi que la description des protocoles utilisés seront détaillées dans le Chapitre VII.

1.2 VACCINS vs ANTIBIOTIQUES

Les maladies de type bactérien ou viral constituent l'ennemi numéro un pour les êtres humains. Par le passé, la plupart des gens ont été affectés par ces micro-organismes sans

sans aucun traitement spécifique. L'apparition du premier composé à fin thérapeutique (la pénicilline) à la fin du XIX^e siècle, identifié par Ernest Duchesne, représente une pierre angulaire pour la science. La redécouverte des propriétés de cette substance chimique en 1928 par Alexander Fleming a été le début de l'expansion de la chimie thérapeutique contemporaine. Cette substance, nommée « antibiotique », a une action spécifique avec un pouvoir destructeur sur les micro-organismes pathogènes. Le terme « antibiotique » est réservé à l'action sur les bactéries : soit de façon toxique directement (« bactéricide ») soit en inhibant la croissance bactérienne (« bactériostatique »). Cet antibiotique peut exercer son mode d'action selon quatre manières différentes contre la bactérie 1) sur la paroi bactérienne; 2) sur la membrane cellulaire (hôte); 3) sur l'ADN (hôte); 4) sur le ribosome bactérien. Ces actions thérapeutiques ont des effets directs, mais peuvent engendrer plusieurs désavantages. Premièrement, elles peuvent provoquer l'affaiblissement de la cellule hôte au niveau du système métabolique. En contre partie, une nouvelle tendance en chimie thérapeutique consiste en la substitution des antibiotiques par des inhibiteurs de type d'adhésion glycodendritiques. En deuxième lieu, la vitesse de croissance bactérienne et la capacité de résistance contre l'action de l'antibiotique sont des caractéristiques naturelles des bactéries. Le développement *via* la sélection naturelle, par une mutation aléatoire continue, permet aux bactéries de s'adapter à différents environnements hostiles à son égard. De plus, leurs caractéristiques génétiques leur permettent de faire des échanges de gènes de résistance entre elles par le biais de leur génome (plasmides et transposons), selon différents mécanismes de transfert : le transfert vertical (même espèce), horizontal (espèces différentes), la transduction (en utilisant le bactériophage en tant que vecteur), la transformation (acquisition et incorporation de l'ADN exogène nu présent dans son environnement) et la conjugaison (contact sexuel *via* pilus). En conséquence, une résistance intrinsèque aux antibiotiques constitue la défense immunitaire des bactéries (dites « multirésistantes » si elles sont porteuses de plusieurs gènes de résistance pour différents antibiotiques). Dans le cadre de ce projet, la bactérie cible « *Burkholderia cepacia* » fait justement partie de la catégorie des bactéries multirésistantes.¹

¹ Les sources historiques ont été consultées dans l'encyclopédie « LAROUSSE MÉDICAL ».

Afin de palier aux problèmes rencontrés lors de l'utilisation des antibiotiques, leur mode d'utilisation est devenu d'ordre social et relève d'une véritable affaire d'éducation. Le système métabolique possède ses propres défenses, dont le système immunitaire et la vitesse d'activation de ce système dépend de la mémoire immunitaire. Ainsi, la guérison de la maladie peut être efficace sur une courte période sans traitement. Dans le cas contraire, le traitement antibiotique devient nécessaire. L'action thérapeutique conduisant à l'activation du système immunitaire proposée par le médecin anglais Edward Jenner n'est apparue qu'en 1796, se basant sur une pratique chinoise ancestrale datant du XI^e siècle (inoculation du vaccin ou variole des vaches a été répandue et a donné la naissance au mot vaccination).¹

Le principe d'action de la vaccination a été expliqué par Louis Pasteur. Le principe est d'induire la production d'anticorps par l'organisme. Ces derniers sont des agents biologiques naturels voués à la défense du corps vis-à-vis d'éléments pathogènes identifiés non virulents. Un vaccin est donc spécifique d'une maladie. Les défenses immunitaires ainsi stimulées ou activées par le vaccin (contenu antigénique) préviennent une attaque de l'agent pathogène (xénobiotique) pendant une durée variable avec le développement d'un « effet mémoire ». ¹ La vaccination préventive peut être qualifiée bénéfique pour l'organisme si l'on considère le dommage cellulaire mineur qu'elle engendre en comparaison avec l'usage d'antibiotiques, dont la mauvaise utilisation peut entraîner des problèmes de résistance difficiles à éradiquer.

La fibrose kystique (FK) constitue la maladie cible de ce projet. Cette maladie génétique mortelle peu connue dans le domaine immunologique est liée à des infections bactériennes chroniques, dont le traitement actuel consiste en l'utilisation d'antibiotiques de type préventifs. Plusieurs types d'antibiotiques sont en cours de développement et en utilisation pour le patient atteint de FK.² Dans la continuité des travaux de recherche du Pr. R. Roy, l'auteur de deux vaccins synthétiques uniques au monde, on se propose selon le même principe, de préparer une librairie d'haptènes potentiellement antigéniques contre *B. cepacia*, responsable de complications liées à la maladie. Les vaccins traditionnels mentionnés précédemment sont composés d'une composante antigéniques provenant

² <http://www3.nbnet.nb.ca/normap/medsik.htm> consulté le 20 mars 2008.

directement de pathogènes inactivés. Une atténuation des facteurs virulents a été préalablement effectuée avant l'introduction. Au contraire de celle-ci, le vaccin synthétique contiendrait une partie spécifiques de xénobiotiques qui serait synthétisée de façon chimique, évitant ainsi toute contamination secondaire.

1.3 SYSTÈME IMMUNITAIRE

L'immunologie joue également un rôle notable dans l'élaboration des vaccins, ainsi que dans la lutte contre les cancers (développement incontrôlé de tumeurs formées de cellules de l'organisme, non reconnues et donc non détruites par le système immunitaire) et le SIDA (maladie affectant directement le système immunitaire). Hormis les greffes et les maladies auto-immunes, l'immunologie s'intéresse à l'étude de la défense d'un organisme vivant contre les agressions xénobiotiques: des virus, des bactéries, des champignons et des parasites (protozoaires).³

Lors de la préparation d'un vaccin entièrement synthétique vs un vaccin traditionnel, une compréhension basique du système immunitaire est requise. Deux points importants sur le concept d'un vaccin synthétique peuvent être mis en avant : 1) la partie peptidique, nommée Tc-épitope, constitue la composante de reconnaissance du vaccin et doit permettre d'activer uniquement le système immunitaire humain; 2) la partie antigénique spécifique provient de la structure moléculaire de la paroi bactérienne du pathogène, déterminée après isolation et analyse structurale. Ces deux points ainsi que la conjugaison des deux parties seront discutés dans les sections suivantes.

Le système immunitaire humain comprend des cellules, dites immunocompétentes, les organes lymphoïdes qui les produisent (moelle osseuse, thymus) et ceux qui les hébergent (ganglions lymphatique, tissu lymphoïde satellite du tube digestif, rate, sang circulant), ainsi que différentes molécules que ces cellules sont susceptibles de produire. Ce système est

³ Jenaway, C. A.; Travers, M.; Walport, M.; Shlomchik, M. J. *Immunologie* De Boeck Université, Paris, 2003. 782 pages.

divisé en deux principaux sous-systèmes: « Le système immunitaire inné (ou naturel) et le système immunitaire adaptatif (ou acquis) ». ^{3,4}

Le système immunitaire inné vise à empêcher la pénétration de xénogènes et les attaques lors du franchissement des barrières externes de l'organisme, provoquant une inflammation aiguë. Ce système est constitué, outre de barrières physiques, de deux types de protéines spécialisées: le complément et les cytokines.

Le complément est un système comprenant un ensemble de protéines différentes qui permettent notamment d'envelopper l'antigène après l'introduction dans l'organisme. La fixation d'une protéine sur celui-ci déclenche un attachement des autres en cascade qui a pour fonction d'attirer les phagocytes, processus dénommé chimiotaxie. Par conséquent, l'attachement de phagocytes entraîne la lyse de ce xénogène.

Les cytokines comprennent surtout les interférons, molécules sécrétées par des cellules en réponse à une infection d'origine virale, qui protègent les cellules voisines, non infectées, en « interférant » avec la dissémination de nouvelles particules virales à partir de la cellule infectée. Cette réponse naturelle est rapide, sans mémoire et indépendante de l'antigène. ^{3,5}

Le système immunitaire adaptatif intervient lorsque le système inné ne suffit pas à l'élimination des xénogènes. La réponse acquise concerne donc des phénomènes liés aux antigènes et consiste en la sélection de clones de lymphocytes, capables de cibler ce qui est perçu comme une menace. Les cellules de ce système comprennent les lymphocytes T, B et les substances que ces derniers élaborent: les anticorps. À la différence du système naturel, le système adaptatif se modifie à chaque infection afin de réagir plus efficacement contre les microbes déjà rencontrés. Cette réponse adaptative est lente, strictement dépendant des antigènes, et possède une mémoire immunitaire. C'est de ce système dont le vaccin synthétique profite et surtout des cellules ou lymphocytes T, d'où vient le nom Tc-épitope.

⁴ Glynn, L. E. and Steward, M. W. *Immunochemistry : An Advanced Textbook*, John Wiley & Sons, Ltd. New York, 1977. 628 pages.

⁵ Eugene, D. *Advanced Immunochemistry*, Second Edition, Wiley-Liss, Inc. 1990, 693 pages.

Les lymphocytes comportent à leur surface des molécules, des récepteurs, qui leur permettent de reconnaître les antigènes des xénobiotiques rencontrés. Les lymphocytes T ont deux fonctions principales: 1) tuer directement les cellules infectées (*via* les lymphocytes T cytotoxiques); 2) faciliter l'activité des autres cellules immunitaires (*via* lymphocytes T « helper ») Celles-ci aident les macrophages à tuer les microbes déjà phagocytés. Les lymphocytes B quant à eux fabriquent les anticorps (point à viser pour le vaccin synthétique) et les lymphocytes naturels « killer » tuent des cellules infectées par un xénogène. Les lymphocytes B, produits par la moelle osseuse, ont pour fonction principale d'élaborer des anticorps avec l'aide de lymphocyte T. Les plasmocytes sont la forme mature des lymphocytes B et le lieu d'élaboration des anticorps.^{3,4}

Les anticorps, sont des glycoprotéines de la famille des immunoglobulines formées de 4 chaînes polypeptidiques: 2 chaînes lourdes (H) et 2 chaînes légères (L). Les deux chaînes sont reliées l'une à l'autre par un nombre variable de ponts disulfures assurant une flexibilité à la molécule. La structure en Y de ces chaînes sont des domaines immunoglobulines d'environ 110 acides aminés. Pour un anticorps, les deux chaînes (H) sont identiques, de même pour les chaînes (L). La spécialité des anticorps est leur fixation spécifique à une substance particulière, les antigènes. Chaque molécule d'anticorps à une structure unique qui lui permet de lier spécifiquement son antigène, mais tous les anticorps partagent la même structure générale (en Y avec 2H et 2L, **Figure 1**) qui permet de les classer dans les immunoglobulines ou Ig (isotype): IgG, IgD, IgA (les trois plus petites), IgM, IgE (de tailles moyennes) et IgM (la plus grosse).^{3,5}

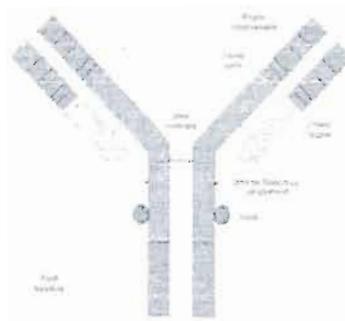


Figure 1. Structure générale de l'anticorps.⁶

⁶ <http://bionacer.over-blog.com/article-5674347.html> consulté le 22 avril 2008.

Chaque immunoglobuline a un rôle particulier. Par exemple, les IgG jouent un rôle dans la neutralisation des toxines, bactéries et virus, tandis que les IgM ont un effet sur l'agglutination et jouent un rôle dans la voie classique du complément.

La liaison d'un anticorps à un antigène soluble forme alors un complexe immun. De grands complexes immuns se forment quand suffisamment d'anticorps sont disponibles pour complexer l'antigène. En conséquence, l'antigène est rapidement éliminé par le système des macrophages qui ont des récepteurs du complément. Ce complexe immun consiste en deux classes: complexe majeur d'histocompatibilité de classe I (CMH I) et de classe II (CMH II). Ce dernier est activé par les Tc-épitopes reconnus par les cellules T, *via* un phénomène d'interactions entre Tc-épitope, CMH/peptide, lymphocyte T [CD8+ et CD4+(Th1/Th2)], lymphocyte B et l'anticorps.^{3,7}

1.4 T-CELL ÉPITOPES

Les cellules T « helper », comme leur nom l'indique, ont pour rôle d'aider les réponses immunitaires. Ces cellules dénommées CD4+ (ou Th), peuvent favoriser dans certains conditions une réponse à médiation cellulaire, avec la génération de cellules cytotoxiques, ou une réponse humorale, avec la production d'anticorps. En d'autres termes, un même antigène dans des situations différentes induira une réponse à médiation cellulaire et/ou une réponse à médiation humorale. Reprenant l'ancienne dichotomie cellulaire/humorale, le concept Th1/Th2 permet d'opposer les conditions dans lesquelles les T CD4+ réagissent en produisant des signaux dirigeant la réponse vers une cytotoxicité cellulaire, avec formation de cellules T CD8+ cytotoxiques en grand nombre; ou au contraire la formation d'une réponse soluble, comprenant la différenciation de lymphocytes B en plasmocytes et la production d'anticorps en grande quantité.^{7,8}

⁷ Wuorimaa, T.; Kayhty, H. *Scand. J. Immunol.* **2002**, *56*, 111-129.

⁸ Rudolph, G. M.; Wilson, I. A. *Curr. Opin. Immunol.* **2002**, *14*, 52-65.

En effet, les récepteurs antigéniques des cellules T reconnaissent des « complexes pathogéniques » fixés aux molécules du CMH (**Figure 2**) sur une surface cellulaire cible. Ces complexes pathogéniques sont de type oligosaccharidique dans le cas de ce projet (les fragments oligosaccharidiques du LPS et de l'EPS du CBC). C'est cette notion fondamentale qui différencie le domaine de l'immunochimie par rapport à l'immunologie qui détermine les complexes de type peptidique.

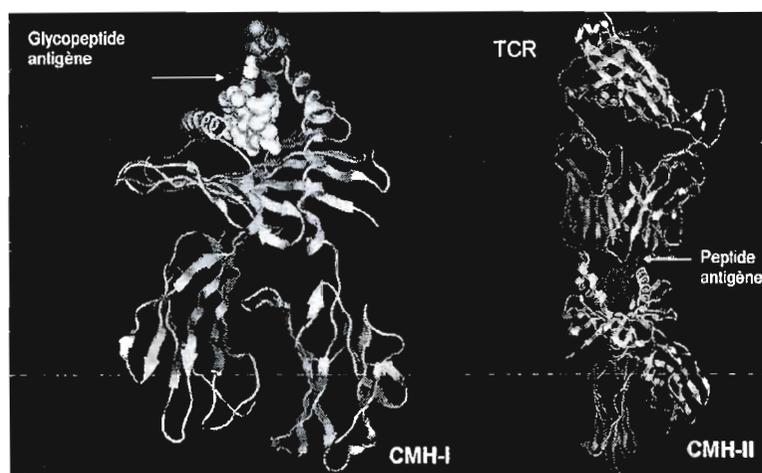


Figure 2. Liaison du CMH-I avec un antigène glycopeptidique (PDB 1KGB) ; Le récepteur de la cellule T et CMH-II complexé avec un peptide antigénique.⁹

En résumé, les complexes majeurs d'histocompatibilité CMH I et II (glycoprotéine) ont des récepteurs peptidiques dits épitopes (séquences de reconnaissances d'environ 15 acides aminés, linéaires ou repliés). Des peptides nommés Tc-épitopes sont des peptides connus qui ont une affinité avec ces complexes et permettant de déclencher les cascades du système immunitaire (le Chapitre III discutera de la synthèse de ces peptides). Lorsque le Tc-épitope est reconnu par le CMH, ce nouveau complexe formé dans la cellule est transporté à travers la membrane du réticulum endoplasmique. Après la digestion cellulaire (défragmentation peptidique), l'unité antigénique (hydrate de carbone dans notre cas) porté par le Tc-épitope dans le cytosol se retrouve en surface cellulaire. Cette composante antigénique spécifique sera reconnue par le lymphocyte T du CMH, et deux voies du système

⁹ Roy, R. Carbohydrate-Based Vaccines. (229th ACS National Meeting held in San Diego, CA 13-17 March 2005). [In:ACS Symp. Ser., 2008; 989]. 2008, 379 pp.

immunitaire sont déclenchées. D'une part, la cellule T CD8+ (CMH I, **Figure 3**) va détruire directement la cellule portant l'unité antigénique et d'autre part la cellule T CD4+ (CMH II, **Figure 4**) favorise la formation de CD8+ et la maturation de lymphocytes B, entraînant la production d'anticorps spécifiques contre la bactérie étrangère. En résumé, le Tc-épitope du vaccin synthétique active le CMH et à l'aide du système cellulaire, le motif oligosaccharidique du vaccin correspondant à la bactérie cible attire les cellules T qui déclenchent finalement la réponse immunitaire.^{3,4,5,10,11}

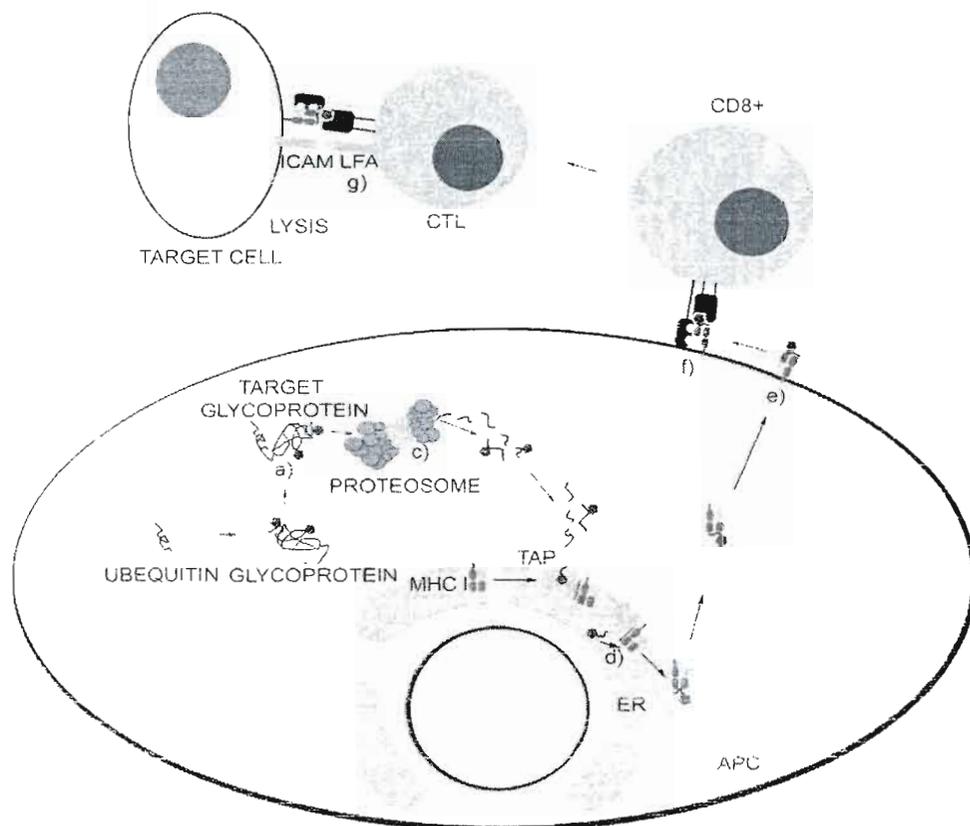


Figure 3. Procédure et présentation des antigènes par le CMH-I.⁹

¹⁰ Ubel, S.; Tampe, R. *Curr Opin Immunol*. 1999, 11, 203-208.

¹¹ Reinherz, E. L.; Tan, K.; Tang, L.; Kern, P.; Liu, J.; Xiong, Y.; Hussey, R. E.; Smolyar, A.; Hare, B.; Zhang, R.; Joachimiak, A.; Chang, H. C.; Wagner, G.; Wang, J. *Science* 1999, 286, 1913-1921.

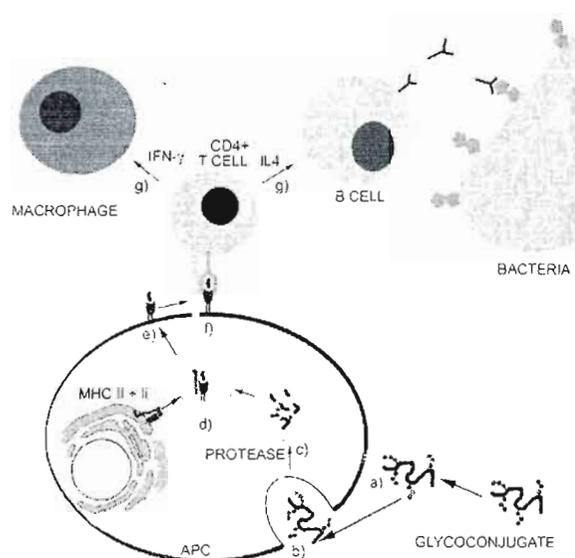


Figure 4. Procédure et présentation des antigènes par le CMH-II.⁹

1.5 IMPORTANCE DES HYDRATES DE CARBONE

Les hydrates de carbones sont les biomolécules les plus abondantes de la planète. La connaissance de ces fascinants composés naturels est encore incomplète. L'expansion de la glycobiologie est à l'origine de la meilleure compréhension des multiples rôles de ces composés qui sont impliqués dans de nombreux processus biologiques vitaux tels que la fertilisation, l'anti-inflammation, la réponse immunitaire et la détermination antigénique.¹²

La plupart des processus de transduction du signal dans des organismes vivants, sont provoqués par trois biopolymères : acides nucléiques, protéines et hydrate de carbone. La structure et la fonction des acides nucléiques comme celles des peptides et des protéines ont été intensivement étudiées, y compris les différentes classes d'interactions (**Figure 5**)^{13,11} génomiques¹⁵, protéomiques¹⁶ et glycomiques.^{13,14,17,18} En comparaison de la génomique et de

¹² Demchenko, A. V. *Frontiers in Modern Carbohydrate Chemistry*. ACS Symposium Serie 960, 2005.

¹³ Seeberger, P. H. *Chem. Commun.* 2003, 1115-1121.

¹⁴ Ratner, D. M.; Adams, E. W.; Disney, M. D.; Seeberger, P. H. *ChemBioChem.* 2004, 5, 1375-1383.

¹⁵ Peng, X. *Methods Mol. Wed.* 2006, 129, 27-39.

¹⁶ Patterson, S. D.; Aebersold, R. H. *Nat. Genet. Suppl.* 2003, 33, 311-323.

la protéomique, le développement dans le glycomique est plus exigeant étant donné l'augmentation énorme des variations structurales possibles. Les limites de la glycomique étaient dues aux manques de connaissance en glycobiologie ainsi que sur les interactions des hydrates de carbone avec les deux autres classes principales de biopolymères.^{19,20}

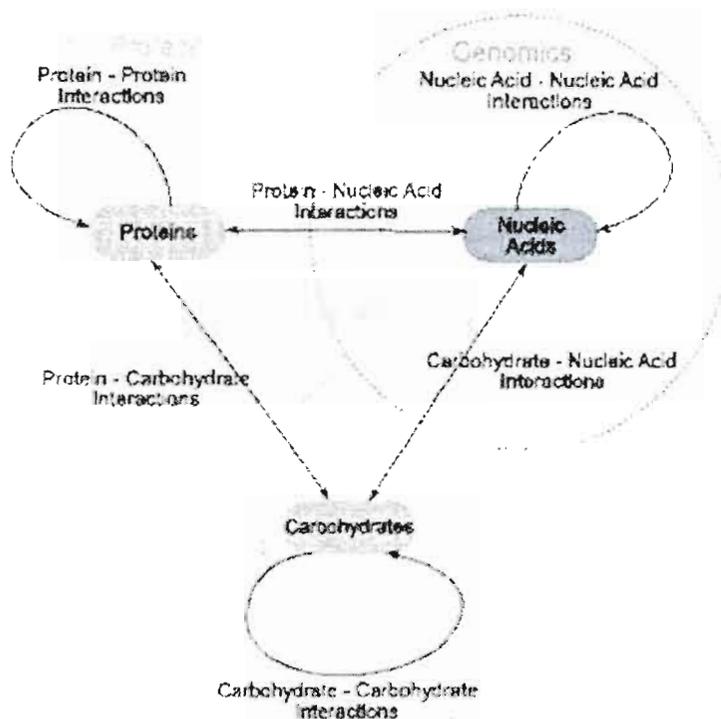


Figure 5. Interactions entre les trois domaines de biopolymères.¹⁹

Les applications, les interactions biologiques et les structures glycaniques des parois de bactéries Gram négative démontrent l'importance des hydrates de carbones. De plus, ces composés naturels sont impliqués au niveau de divers rôles *via* le système immunitaire. L'ensemble des notions décrites dans les sections 1.1 à 1.5 constitue les bases théoriques pour la préparation de vaccins semi-synthétiques ou entièrement synthétiques et pour leurs applications.

¹⁷ Feizi, T., Mulloy B. *Curr Opin. Struct. Biol.* **2003**, *13*, 602-604.

¹⁸ Werz, D.B.; Seeberger, P. H. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 3194-3206.

¹⁹ Niederhafner, P.; Šebestík, J. and Ježek, A., *J. Pept. Sci.* **2008**, *14*, 2-43.

²⁰ Azunobu, T. and Kuniaki, T. *Chem. Rev.* **1993**, 1503-1531.

1.6 VACCINS SEMI-SYNTHÉTIQUES

Après la découverte et l'application du premier vaccin semi-synthétique de type polysaccharidique au monde par Pr. R. Roy et ses collaborateurs cubains,^{21,22} la notion de vaccins entièrement synthétiques a explosé et tend à devenir une alternative pratique et efficace au vaccin traditionnel. Le principe, décrit précédemment, consiste en la synthèse d'un peptide immunogénique par SPPS (Chapitre III), qui permettra d'initier la réponse immunitaire (section 1.3) et en une série de synthèses préparatives des différents fragments oligosaccharidiques spécifique de la bactérie cible (*B. cepacia*, Chapitre IV, V et VI), la partie antigénique. Finalement, ces haptènes seront couplés avec un Tc-épitope synthétique ce qui constituera *in fine* un vaccin potentiel entièrement synthétique. Dans le cas où le couplage est réalisé avec une protéine ayant un rôle identique envers le CMH, le vaccin sera considéré comme semi-synthétique. Cette étape d'activation est générée par l'intermédiaire de la chimie de conjugaison ultérieurement.²³

1.7 CHIMIE DE CONJUGAISON

Diverses méthodes de conjugaison permettant le couplage de deux entités contenant des fonctions chimiques complémentaires ont été élaborées dans le cadre de la chimie organique moderne. Quelques méthodes, dont certaines développées spécifiquement dans les laboratoires du Pr. R. Roy, ont été l'objet de nos travaux et seront citées au fil de ce manuscrit. La méthode de couplage de type peptidique utilisée pour la SPPS, ainsi que l'installation du groupement maléimido pour la conjugaison éventuelle avec un groupement « thiol » seront détaillées au Chapitre III. L'addition radicalaire et la métathèse croisée constitueront les deux méthodes privilégiées pour les essais de couplage de Tc-épitope par la partie oligosaccharidique antigénique spécifique. La « click chemistry » ainsi que des

²¹ Roy, R. *Drug Discovery Today: Technologies* **2004**, *1*, 327-336.

²² Roy, R., Verez-Bencomo, V. et al. A Synthetic Conjugate Polysaccharide Vaccine Against *Haemophilus influenzae* Type b. *Science*, **2004**, *305*, 522-525.

²³ Arnon, R. *Synthetic Vaccines* Volume I et II. CRC Press, Inc. Floride. **1987**.

réactions de couplage organométallique de type Sonogashira ou Heck seront les méthodes de choix utilisées pour la synthèse de glycodendrimères (voir LISTE DE PUBLICATIONS).

Le couplage de type peptidique constitue la méthode la plus répandue actuellement. Cette méthode consiste en la transformation d'une fonction acide carboxylique en amide. Cette réaction se produit par l'intermédiaire d'une étape d'activation préalable de la fonction acide en présence d'un agent activant. L'attaque nucléophile d'une amine libre sur le complexe activé formé conduit à la formation de la fonction amide désirée. Les détails mécanistiques de cette réaction, ainsi que ceux de la réaction du groupement thiol sur un groupement maléimido seront fournis dans le Chapitre III.

La fonction allylique installée comme groupement protecteur anomérique des fragments oligosaccharidiques synthétiques du CBC a été prévue pour la fonctionnalisation. En effet, diverses transformations chimiques sont envisageables à partir de cette fonction réactive. L'utilisation de l'initiateur de radicaux (AIBN) ou l'activation photonique en présence d'une entité nucléophile de type « thiol » d'une cystéine du Tc-épitope synthétisé, peut conduire efficacement à la formation de liens « S-C » (Chapitre VI). La réaction de métathèse croisée ou réaction de Grubbs a également été employée avec cette fonction allylique. De même que les réactions de type Grignard ou Wittig, elle consiste en la création de liens C-C. Ce couplage organométallique classique fait intervenir une réaction de transalkylation entre deux groupements vinyliques en présence de catalyseur au ruthénium²⁴ (catalyseur de Grubbs) ou au molybdène (catalyseur de Schrock).²⁵ La complexation métallique sur le vinyle conduit à une cycloaddition [2+2] et à la formation de métallo-cyclobutane suivi d'une [2+2] cycloreversion, conduisant finalement à la formation du lien C=C final.^{26,27}

La réaction de Heck consiste en une réaction de couplage d'oléfine avec des dérivés aromatiques ou encore vinyliques halogénés (ou triflates) faisant intervenir un catalyseur à

²⁴ Grubbs, R. H.; Chang, S. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 4413-4450.

²⁵ Schrock, R. R. *et al. J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 3875-3886.

²⁶ Hong, S. H.; Sander, D. O.; Lee, C.; Grubbs, R. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 17160-17161.

²⁷ Yang, Q.; Alper, H.; Xiao, W.-J. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 769-771.

base de palladium ainsi que des conditions basiques. Elle présente l'avantage d'être tolérante à un grand nombre de réactifs et de substrats et d'être stéréosélective avec une préférence pour l'isomère *trans*.^{28,29} Le couplage de Sonogashira implique quant à lui la présence de dérivés alcynes terminaux et de dérivés aromatiques ou vinyliques halogénés (ou triflates) dans des conditions basiques et l'utilisation de catalyseurs à base de palladium et de cuivre.³⁰ Elle représente l'une des réactions organométalliques les plus populaires et permet la formation efficace d'alcynes aromatiques ou aliphatiques disubstitués. La « click chemistry » a été utilisée en présence de dérivés comportant une fonction alcyne terminale qui seront couplés à des composés possédant la fonction complémentaire de type azoture. Pour ce faire, une version moderne, régiosélective et efficace de la cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen catalysée par le Cu(I) (utilisé directement ou généré *in situ* à partir du sulfate de cuivre pentahydraté et d'ascorbate de sodium) a été préconisée. En raison des hauts rendements obtenus et de la facilité de sa mise en œuvre, ce type de réaction a largement été utilisé lors de ce travail. Les réactions de Sonogashira et de type « click » seront quant à elles détaillées dans les publications correspondantes (Voir LISTE DES PUBLICATIONS).

Évidemment, plusieurs autres types de réactions de conjugaison existent et permettent la création de liaisons spécifiques. Plus spécifiquement, certaines demeurent des réactions de choix pour la synthèse d'un vaccin: 1) l'amination réductrice^{31,32}; 2) la ligation par un thioéther³³; 3) la formation d'oxime³⁴; 4) la cycloaddition de Diels-Alder³⁵; 5) la réaction de Staudinger^{36,37}; 6) une transglycosylation³⁸ et 7) maléimido-thiol²¹, etc....

²⁸ Karimi, B.; Enders, D. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 1237-1240.

²⁹ Heck, R. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 5518-5526.

³⁰ Eckhardt, M.; Fu, G. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 13642-13643.

³¹ Fernandez-Santana, V.; Cardoso, F.; Rodriguez, A.; Carmenate, T.; Pena, L.; Valdes, Y.; Hardy, E.; Mawas, F.; Heynngnezz, L.; Rodriguez, M. C.; Figueroa, I.; Chang, J. N.; Toledo, M. E.; Musacchio, A.; Hernandez, I.; Izquierdo, M.; Cosme, K.; Roy, R.; Verez-Bencomo, V. *Infect. Immun.* **2004**, *72*, 7115-7123.

³² Zhang, J.; Yergey, A.; Kowaiak, J.; Kovac, P. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 11783-11792.

³³ Davis, N. J.; Flitsch, S. L. *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 6793-6796.

³⁴ Kubler-Kielb, J.; Pozsgay, V. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 6987-6990.

³⁵ Pozsgay, V.; Vieira, N. E.; Yergey, A. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 3191-3194.

³⁶ Nilsson, B. L.; Kiessling, L. L.; Raines, R. T. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 9-12.

³⁷ Grandjean, C.; Boutonnier, A.; Guerreiro, C.; Fournier, J. M.; Mulard, L. A. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 7123-7132.

³⁸ Fujita, K.; Takegawa, K. *Biochem. Biophys. Res. Co.* **2001**, *282*, 678-682.

1.8 OBJECTIFS

Après un survol des notions théoriques fondamentales nécessaires à la compréhension du contexte thérapeutique et chimique, la conception d'un vaccin entièrement synthétique sera décrite. En effet, ce projet de recherche s'inscrit dans le cadre de la lutte contre *B. cepacia*, responsable d'infections chroniques et de complications allant jusqu'au décès de nombreux patients atteints de FK.

La synthèse de deux trisaccharides A et B présents dans la chaîne O-polysaccharidique du LPS de la bactérie *B. cepacia* ainsi que celle de fragment du motif de répétition heptasaccharidique de l'EPS produit par les différentes souches du CBC, soit les di- (C), tri- (D), tétra- (E) et hexasaccharide (F) seront discutées (**Figure 6**). La conjugaison chimique entre le Tc-épitope universel et ces derniers oligosaccharides (**Figure 7**) a également été l'objet de notre étude. A terme, l'objectif principal de ce projet demeure l'application de ce vaccin synthétique nouvellement formé sur des personnes atteintes de FK, en leur introduisant ce dernier en vue d'une action efficace et spécifique sur la bactérie *B. cepacia*, responsable de la mortalité.

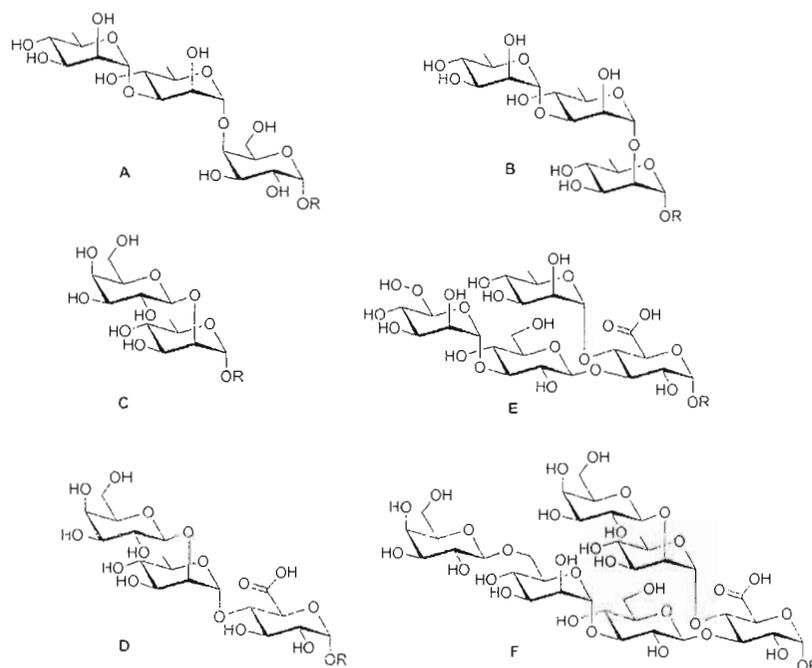


Figure 6. Structures des oligosaccharides cibles.

R : groupement fonctionnel permettant la conjugaison.

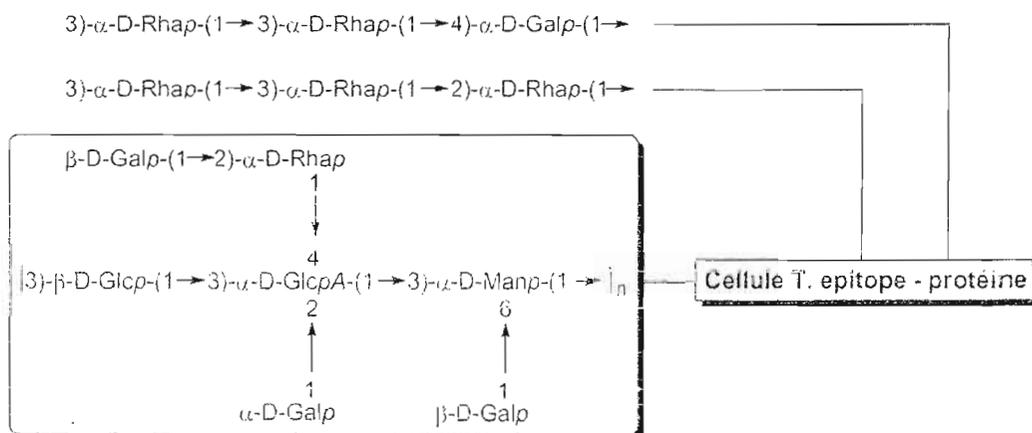


Figure 7. Structures de vaccins potentiels envisagés contre *Burkholderia cepacia* impliqué dans la fibrose kystique.

CHAPITRE II

FIBROSE KYSTIQUE ET *B. CEPACIA*

2.1 HISTORIQUE

La fibrose kystique (FK) est la maladie génétique mortelle, autosomique récessive,^{39,40} la plus répandue chez les jeunes canadiens et affecte près d'un nouveau né sur 2500. Cette maladie a été décrite pour la première fois en 1936 par le Docteur Guido Fanconi, dont sous le nom de mucoviscidose. Cette maladie est due à différentes anomalies génétiques sur le chromosome 7, dont environ 1400 mutations ont été identifiées à ce jour.^{41,42,43} Parmi toutes ces mutations, les équipes de Lap-Chee Tsui (Canada), J. Riordan et F. Collins (USA)⁴⁴ ont mis à jour en 1989 celle d'un gène régulateur nommé « Cystic Fibrosis » (CF) codant pour une protéine transmembranaire de 1480 acides aminés : Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator (CFTR).^{39,41,42}

La protéine CFTR est une protéine membranaire se comportant comme un canal ionique sélectif des anions et principalement des ions chlorures. Ce défaut de la perméabilité ionique des cellules, proposé pour la première fois en 1953 a été confirmé dans les années 80. En conséquence, une déficience métabolique perturbe le transport ionique et passif, dont les cellules du système respiratoire, gastro-intestinal, hépato-biliaire et reproducteur pâtissent. Ce défaut de salinité a notamment des répercussions sur la viscosité des muqueuses ce qui

³⁹ Collins, F. S. *Cystic Fibrosis* **1992**, 256, 774-779.

⁴⁰ Bertot, G. M.; Restelli, M. A.; Galanternik, L.; Aranibar Urey, R. C.; Valvano, M. A. and Grinstein, S. *Infect. Immun.* **2007**, 75, 2740-2752.

⁴¹ Strino F., Nahmany A., Rosen J., Kemp G. J. L., Sa-correia I. et Nyholm P. *Carbohydr. Res.* **2005**, 340, 1019-1024.

⁴² Coenye, T.; LiPuma, J. J. *Front Biosci.* **2003**, 8, 55-67.

⁴³ A. P. Singh *et al.* *Oncogene*, **2007**, 26, 30-41.

⁴⁴ Riordan, J. R.; Rommens, J. M.; Kerem, B.-S.; Alon, N.; Rozmahel, R.; Grzelczak, Z.; Zielenski, J.; Lok, S.; Plavsic, J.-L.; Chou, M. L.; Drumm, M. C.; Collins, F. S.; Tsui, L.-C. *Science* **1989**, 245, 1066-1073.

favorise l'adhérence de colonies microbiennes persistantes menant dans bien des cas à des infections fatales.^{45,46,47}

En effet, les patients atteints de FK présentent des modifications de l'état de glycosylation de la surface épithéliale pulmonaire et l'altération fonctionnelle des canaux CFTR se traduit au niveau pulmonaire par la sécrétion d'un mucus anormalement épais et hypertonique recouvrant les voies respiratoires. Les bronches deviennent alors de véritables incubateurs propices à la colonisation par des bactéries adhérant sous la forme « biofilm » une matrice adhésive et protectrice (**Figure 8.A**), conduisant à l'obstruction chronique des voies respiratoires et responsable de complications graves menant généralement jusqu'au décès.^{48,49}

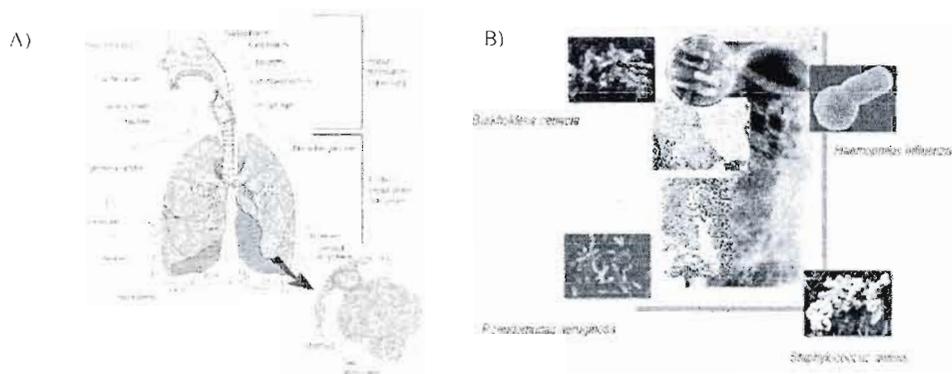


Figure 8. A) Biofilm observé chez les patients atteints de FK; B) Quatre types de bactéries responsables de la colonisation des poumons des patients atteints de FK.

Dans le cas de la fibrose kystique, cette colonisation bactérienne peut être causée par quatre types de bactéries (**Figure 8.B**). En effet, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Burkholderia cepacia* sont des bactéries qui sont présentes dans l'environnement, et qui sont responsables de la mortalité des patients atteints de fibrose kystique.

⁴⁵ Hal A. Lewis *et al.* *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 1346-1353.

⁴⁶ Fiona L. L. Stratford *et al.* *Biochem. J.* **2007**, *401*, 581-586.

⁴⁷ Chevet, E.; Jakob, C. A.; Thomas, D. Y.; Bergeron, J. J. M. *Sem. Cell Dev. Biol.* **1999**, *10*, 473-480.

⁴⁸ Engelhardt, J. F.; Yankaskas, J. R.; Ernst, S. A.; Yang, Y.; Marino, C. R.; Boucher, R. C.; Cohn, J. A.; Wilson, J. M. *Nat. Genet.* **1992**, *2*, 240-248.

⁴⁹ Inglis, S. K.; Corboz, M. R.; Taylor, A. F.; Ballard, S. T. *Am. J. Physiol.* **1997**, *272*, L372-377.

2.2 DÉFI ACTUEL: IMMUNOCHIMIE

Cette maladie génétique est probablement causée par la protéine nommée NBD1 du CFTR (**Figure 9.A**) due à la délétion du résidu Phe-508 ($\Delta F508$) sur le chromosome 7, responsable du codage de la protéine CFTR, situé dans la première liaison nucléotidique NBD1-NBD2 (**Figure 9.B et C**).⁴⁵ Cette découverte amène les biochimistes à amplifier la recherche sur la voie métabolique du CFTR illustrée dans la **Figure 10**, malgré l'absence de caractère immunogène imputable à la maladie à ce jour. Le mécanisme de la régularisation du CFTR (**Figure 10.A**), de la protéine sécrétoire de ce dernier (**Figure 10.B**), et le contrôle du regroupement des protéines résidant dans le réticulum endoplasmique par leurs fonctions et/ou propriétés, impliqués dans la translocation (**Figure 10C**), sont étudiés et démontrés par plusieurs groupes de recherche.^{43,46,47}

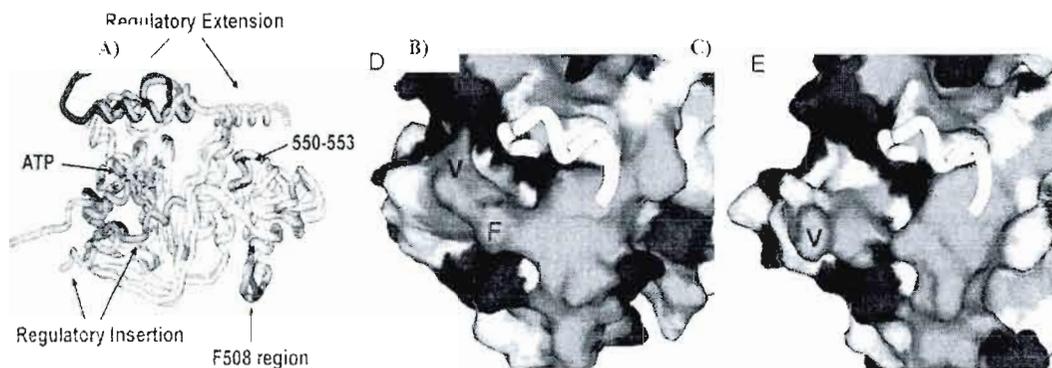


Figure 9. A) Structure du NBD1 du CFTR; B et C) Structure du site actif de Phe-508 dans NBD1 de CFTR: hNBD1 - $\Delta F508$.^{7,45}

L'étude structurale et biophysique complète de ce domaine humain NBD1-NBD2 en présence et en absence de cette mutation $\Delta F508$, par cristallographie et par modélisation moléculaire (**Figures 9 et 11**), démontre que le site actif est modulé par l'activité de l'ATPase entraînant la phosphorylation qui adapte la multiple conformation de cet hétérodimère.

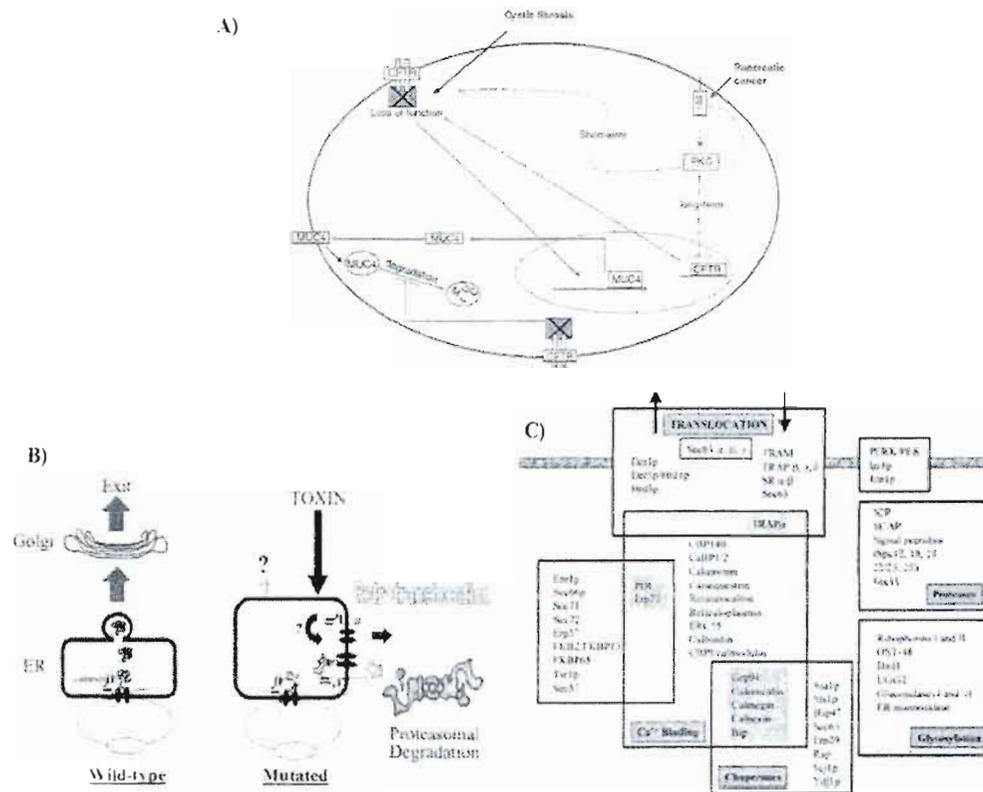


Figure 10. A) Modèle proposé de la régularisation de CFTR avec médiateur MUC4 *via* le mécanisme transcriptionnel et post-translational au cancer pancréatique; B) Modèle de la protéine sécrétoire normale et mutée dans ER; C) Schéma représentatif de la protéine résidant au ER impliquée dans la translocation, leur qualité de contrôle: regroupement de la protéine par leurs fonctions ou propriétés.^{43,47}

La cristallographie du domaine humain NDB1- Δ F508 complexé avec son ligand ATP illustré à la **Figure 11.A** démontre clairement le site actif où le résultat de la mutation génétique, dont la délétion du Δ F508, est à proximité de la liaison hydrophobique de l'ATP (**Figure 11.B**). En résumé, selon Dr. David Y. Thomas, lors de sa conférence à l'Université du Québec à Montréal le 15 Février 2007, et d'après les résultats des tests biologiques (essai cliniques), ce site actif peut être modulé par certaines molécules potentiellement actives dites médicaments, soit l'effet synergique, dont l'hydrolyse de la protéine mutée, et par conséquent, l'empêchement de la propagation de la maladie.^{50,51}

⁵⁰ http://www.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome/posters/chromosome/cftr.shtml. Consulté le 20 mars 2008.

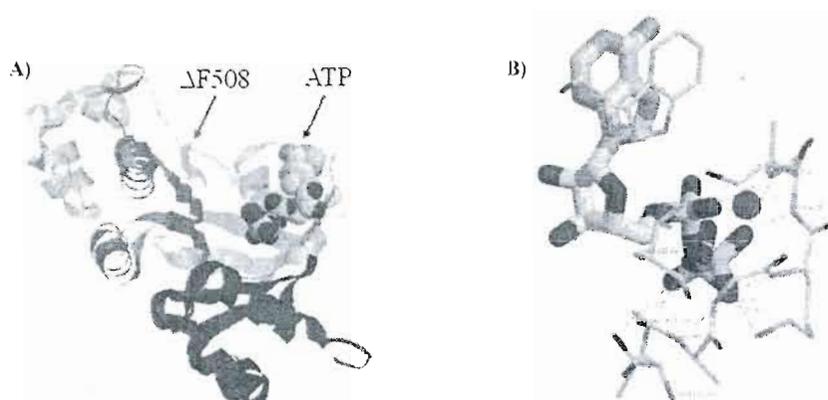


Figure 11. **A)** Structure cristalline du domaine Humain NDB1- Δ F508 complexé avec son ligand ATP et MG (PUBsum)⁴⁷; **B)** l'interaction hydrophobe de ce ligand dans le site actif de cette protéine membranaire (PDB : 1XMJ).⁴⁵

Cette délétion, Δ F508, dans la première liaison nucléotidique NBD1-NBD2 sur le CFTR est la cible d'études en chimie computationnelle notamment en tenant compte de sa structure en 3D illustrée dans la **Figure 11**. Cette protéine transmembranaire contenant une seule chaîne de 451-622 résidus⁵² est synthétisée dans le réticulum endoplasmique (ER)⁴⁷ et a été co-cristallisée avec son ligand l'adénosine-5'-triphosphate (ATP) et le magnésium (Mg). Ce ligand ATP est un enzyme (3.6.3.49) qui a pour effet une réaction de phosphorylation lors de l'étape de transport activé par la formation du canal à ions chlorures (dans le cas de la Fibrose kystique) donc c-AMP dépendant, et agit également comme un inhibiteur de transférase.⁵³

En résumé, l'isolation et l'étude de la protéine responsable de la fibrose kystique amène la compréhension des mécanismes biochimiques dont la phosphorylation de l'ATP dans le site actif. La cristallographie de cette structure NBD1-ATP étudiée par modélisation moléculaire et chimie computationnelle, a démontrée que ce site actif constitue une cible thérapeutique intéressante et prometteuse. Dans ce contexte, le professeur R. Roy a mis en

⁵¹ Crystal structure of human deltaF508 human NBD1 domain with ATP. <http://www.rcsb.org/pdb/explore.do?structureId=1XMJ>. Consulté le 20 mars 2008.

⁵² <http://www.rcsb.org/pdb/results/results.do>. Consulté le 20 mars 2008.

⁵³ <http://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/databases/cgi-bin/pdbsum/GetPage.pl?pdbcode=1xmj&template=ligands.html&l=1.1>. Consulté le 20 mars 2008

place une stratégie de conception d'un vaccin synthétique²¹ contre la bactérie en cause, *Burkholderia cepacia*.^{54,55,56}

2.3 BURKHOLDERIA CEPACIA

La bactérie *B. cepacia* est initialement décrite pour causer la pourriture des bulbes d'oignon. Néanmoins, depuis deux décennies, *B. cepacia* est connue comme agent pathogène opportuniste humain, notamment chez les patients atteints de fibrose kystique (CF).^{41,42} Ce microorganisme, qui existe sous la forme de neuf souches, est un bacille Gram négatif mobile. Ces bactéries mobiles engendrent l'adhésion cellulaire par leurs pili. Il en résulte la formation d'une couche de « biofilm » dans les poumons (**Figure 8.A** et **12.A**)⁵⁷. Dans les cas de co-infection avec *P. aeruginosa*, une coordination a lieu entre les deux espèces. La formation de biofilm est un des facteurs de multirésistance de ces micro-organismes aux antibiotiques. Un autre inconvénient réside dans leur haut niveau de transmissibilité. Cette bactérie s'avère donc d'une extrême virulence pour les patients atteints de FK. En conséquence, la colonisation par *B. cepacia* est responsable du déclin rapide des fonctions pulmonaires, nommé « syndrome cepacia », entraînant des pneumonies fatales.¹¹

⁵⁴ Shiao, T. C. et Roy, R. X^e Colloque Annuel des Étudiants-chercheurs en Chimie et en Biochimie de l'UQÀM. Montréal, 2-4 mai (2007) http://sciences.uqam.ca/scexp/16avril07/vol6_no8_art_rech5.html; <http://sciences.uqam.ca/pdf/shiao.pdf>.

⁵⁵ Fauré, R.; Shiao, T. C.; Damerval, S. and Roy, R. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 2385-2388.

⁵⁶ Fauré, R.; Shiao, T. C.; Lagnoux, D.; Giguère, D. and Roy, R. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 2740-2708.

⁵⁷ www.cdc.gov/ncidod/EID/vol4no2/hoimes.htm. Consulté le 20 mars 2008.

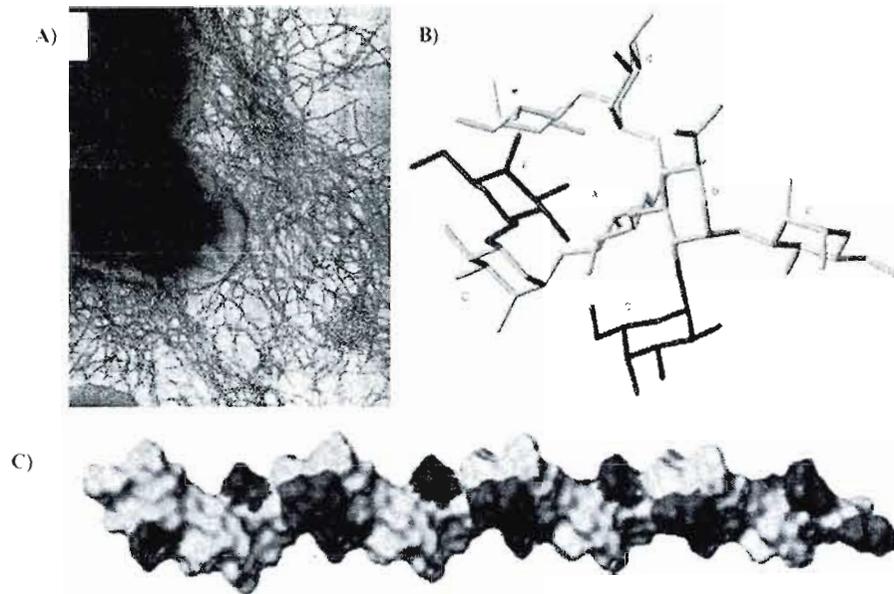


Figure 12. A) Image par microscopie de biofilm causé par *B. cepacia*; B) Modélisation moléculaire du motif de répétition du *Cepaciam* : a = α -D-Glc pA, c et C = α -D-Man p, d = α -D-Rhap, e et F = β -D-Galp, g = α -D-Galp; C) Structure 3-D modélisée du *Cepaciam* (exopolysaccharide produit par *B. cepacia*).

L'analyse bactériologique démontre la présence de neuf souches. L'ensemble de ces neuf souches de la bactérie *Burkholderia cepacia*, toutes potentiellement virulentes et hautement transmissibles, est désigné sous le nom de « complexe *Burkholderia cepacia* » (CBC). Cet ensemble est un groupe de bactéries caractérisées par un phénotype similaire, mais génotype différent.^{58,59} Au regard de la virulence du CBC, une étude approfondie a été réalisée concernant l'exopolysaccharide (EPS) que ces bactéries produisent.⁵⁵ Cet EPS jouerait un rôle dans la formation, la stabilisation de sa structure tridimensionnelle et la maturation des biofilms.⁶⁰ Des études sur l'analyse conformationnelle et tridimensionnelle par RMN (**Figure 12B et C**) sur des EPS produits par des souches de *B. cepacia* isolées cliniquement à partir de patients atteints de fibrose kystique ont démontré que cet exopolysaccharide capsulaire, nommé *Cepacian*, est commun à huit des neuf souches. Le

⁵⁸ Vermis, K.; Coenye, T.; Mahenthiralingam, E.; Nelis, H.J.; Vandamme, P. *J. Med. Microbiol.* **2002**, *51*, 937-940.

⁵⁹ Herasimenka, Y.; Cescutti, P.; Impallomeni, G.; Campana, S.; Taccetti, G.; Rabeen, N.; Zanetti, F.; Rizzo, R. *J. Cyst. Fibros.* **2007**, *6*, 145-152.

⁶⁰ Tomlin, K. L.; Coll, O. P.; Ceri, H. *Can. J. of Microbiol.* **2001**, *47*, 949-954.

Cepacian qui encapsule la paroi bactérienne d'au moins huit souches de *B. cepacia* est constitué de séquences répétitives. Ce motif de répétition heptasaccharidique est formé de cinq types d'hydrates de carbone différents : un sucre central, l'acide α -D-glucuronique tétraglycosylé, un sucre rare, le D-rhamnopyranose, un résidu D-mannopyranosyle, un résidu D-glucopyranosyle ainsi que trois unités D-galactopyranosyle aux extrémités du motif.⁶¹

Les découvertes scientifiques récentes démontrent de plus en plus que la reconnaissance antigénique cellulaire se fait au niveau des hydrates de carbone présent à la paroi xénotique. La détermination des structures des oligosaccharides présentes au niveau des parois bactériennes est un atout pour la recherche tant en chimie médicinale, en biochimie ou en immunologie. De plus, une autre caractéristique importante réside dans le fait que le sucre rare, D-rhamnopyranose, qui est présent dans de nombreux oligosaccharides de surface du CBC ne se retrouve que dans des bactéries et est absent chez l'homme. Ceci renforce le potentiel antigénique de ce résidu et confirme l'hypothèse de ce projet concernant la synthèse de motif contenant ce résidu saccharidique.

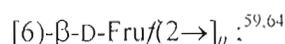
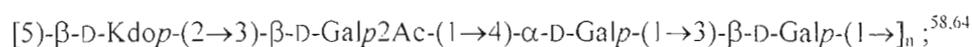
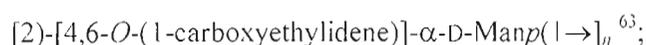
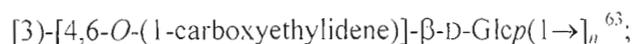
2.4 B. CEPACIAN ET AUTRES

Le sucre rare « D-rhamnopyranose » est également présent ailleurs que sur ce motif heptasaccharide répétitif du Cepacian. Deux types de polysaccharides sont présents dans la O-chaîne du lipopolysaccharide de *B. cepacia* : principalement une répétition du trisaccharide α -D-Rhap-(1→3)- α -D-Rha-(1→4)- α -D-Galp et une répétition mineur du trisaccharide α -D-Rhap-(1→3)- α -D-Rha-(1→2)- α -D-Rhap.^{62,56}

⁶¹ a) Cescutti, P.; Bosco, M.; Picotti, F.; Impallomeni, G.; Leitão, J.H.; Richau, J.; Sá-Correia I. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **2000**, 273, 1088-1094. b) Lagatolla, C.; Skerlavaj, S.; Dolzani, L.; Tonin, E.A.; Monti Bragadin, C.; Bosco, M.; Rizzo, R.; Giglio, L.; Cescutti, P. *FEMS Microbiol. Lett.* **2002**, 209, 89-94. c) Cescutti, P.; Impallomeni, G.; Garozzo, D.; Sturiale, L.; Herasimenka, Y.; Lagatolla, C.; Rizzo, R. *Carbohydr. Res.* **2003**, 338, 2687-2695. d) Herasimenka, Y.; Benincasa, M.; Maltiuozzo, M.; Cescutti, P.; Gennaro, R.; Rizzo, R. *Peptides* **2005**, 26, 1127-1132. e) Cescutti, P.; Scussolin, S.; Herasimenka, Y.; Impallomeni, G.; Bicego, M.; Rizzo, R. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **2006**, 339, 821-826. f) Bylund, J.; Burgess, L.A.; Cescutti, P.; Ernst, R.K.; Speert, D. P. *J. Biol. Chem.* **2006**, 281, 2526-2532.

⁶² Cérantola, S. and Montrozier, H. *Eu. J. Biochem.* **1997**, 246, 360-366.

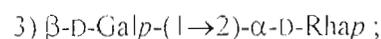
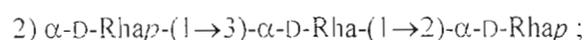
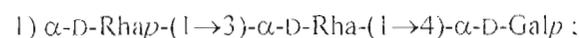
Une autre souche bactérienne a été découverte récemment, nommé *Inquilinus limosus*, située sur la voie respiratoire de patients atteints de fibrose kystique. Comme la reconnaissance de l'exopolysaccharide est un facteur important de la virulence, la structure primaire de cet EPS a été le sujet d'une importante investigation afin de comprendre leurs rôles pathogéniques. Ainsi, des mélanges des deux polymères bactériens ont été déterminés par la méthode de méthylation, par la dégradation acide, par la spectrométrie de masse et par la spectroscopie RMN, conduisant aux enchaînements :



Des recherches sur ces motifs antigéniques bactériens sont en cours présentement.

En résumé, le CBC représente un risque majeur de complication de la fibrose kystique. Comme il n'existe à l'heure actuelle aucun traitement direct contre cette maladie, il est donc nécessaire de lutter contre les agents responsables des complications de la FK et donc de concevoir de nouveau traitement préventifs comme un vaccin entièrement synthétique contre *B. cepacia*.

La synthèse de deux trisaccharides présents dans le lipopolysaccharide ainsi que des motifs oligosaccharidique du Cepacian, tels que celles reportées ci-dessous, constituent les cibles principales de ce projet (**Figure 6**, Chapitre I) :



⁶³ Herasimenka, Y.; Cescutti, P.; Impallomeni, G. And Rizzo, R. *Carbohydr Res.* **2007**, *342*, 2404-2415.

⁶⁴ Sampaio Nogueira, C. E.; Ruggiero, J. R.; Sist, P.; Cescutti, P.; Urbani, R.; Rizzo, R. *Carbohydr Res.* **2005**, *340*, 1025-1037

⁶⁵ Sist, P.; Cescutti, P.; Skerlavaj, S. *et al.* *Carbohydr Res.* **2003**, *338*, 1861-1867.

CHAPITRE III

SYNTHÈSE PEPTIDIQUE

3.1 INTRODUCTION

Suite à l'hypothèse émise dans les Chapitres I et II concernant la cible principale, *B. cepacia*, trois éléments de travail principaux émergent dans ce projet: 1) la synthèse de peptides immunogéniques, nommés Tc-épitopes; 2) la synthèse d'une librairie d'oligosaccharides correspondant à des fragments du motif de répétition de l'exopolysaccharide produit par une majorité des souches du complexe *B. cepacia* ou à la fraction oligosaccharidique de LPSs de ces bactéries responsables d'infections de patients atteints de FK; 3) la conjugaison entre les deux par couplage chimique afin d'atteindre l'objectif final, c'est-à-dire un vaccin entièrement synthétique.

La synthèse peptidique constitue l'un des défis synthétiques les plus importants pour les chimistes organiciens, qui ont contourné la science du siècle, génomique vers protéomique.⁶⁶ Les travaux concernant la synthèse, l'isolation et la détermination structurale d'un nanopeptide par le Dr. Vigneaud et ses collègues dans les années 50 ont marqué une initiation dans l'interconnexion entre la biologie et la chimie.⁶⁷ De ces travaux, il en résulta qu'en plus de l'utilité essentielle du peptide naturel pour l'étude pharmacologique, une librairie d'analogues est nécessaire et primordiale pour l'investigation des relations structure-activité biologiques. Une méthode efficace et systématique de synthèse en phase solide ou supportée (SPPS) a donc été proposée pour la première fois dans les années 60 par Merrifield.^{68,69} L'optimisation de l'utilisation de groupements protecteurs adaptés selon les

⁶⁶ Pour une revue historique de la synthèse peptidique: Fruton, J. S. In *Peptides 1986, 1987*, Theodoropoulos, D. (ed.), Walter de Gruyter, Berlin, p. 25.

⁶⁷ Vigneaud, V.; Ressler, C.; Swann, J. M.; Roberts, C. W. and Katsoyannis, P. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, *76*, 3115-3121.

⁶⁸ Merrifield, R. B. *Fed. Proc. Fed. Amer. Soc. Exp. Biol.* **1962**, *21*, 412.

⁶⁹ Merrifield, R. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 2149-2154.

conditions réactionnelles⁷⁰ ainsi que celle d'agents de couplage peptidique de plus en plus efficaces ont contribué à l'essor et au développement rapide de ce domaine.

La synthèse peptidique « conventionnelle » se réalise en condition homogène (en phase liquide) et est donc opposée en ce sens à la synthèse peptidique en phase solide (SPPS) proposée par Merrifield.^{68,69} L'avantage de la SPPS est la possible utilisation en excès de l'acide aminé *N*-protégé pré-activé et l'exemption de la purification entre chaque couplage. Comme nous l'avons évoqué précédemment, l'utilisation de groupements protecteurs adéquats constitue une étape importante vers une synthèse peptidique efficace et pratique. Ainsi, par exemple, une nouvelle stratégie de type Fmoc est de plus en plus utilisée en lieu et place de la stratégie Boc initialement suggérée par Merrifield. En effet, elle permet l'emploi de réactifs plus doux pour le clivage des groupements protecteurs ou celui de la résine lors de l'ultime étape (typiquement HF ou TFA pour la stratégie Boc nécessitant des équipements spéciaux et la prise de précautions).

3.2 STRATEGIE FMOC⁷¹

La synthèse d'acides aminés *N*-protégés sous la forme Fmoc a de ce fait été privilégiée pour la synthèse de Tc-épitope, un des trois composants du vaccin synthétique.

Le composé β -Alanine est largement utilisé pour le premier couplage sur la résine. Le groupement amine libre est en « β », ce qui augmente l'efficacité du couplage. Deux autres acides aminés, L-Alanine et L-Lysine, sont également *N*-protégés sous la forme Fmoc en utilisant la méthode standard. Les composés **1**⁷², **2** et **3** (Schéma 1) sont obtenus selon le *Protocole A* décrit dans la partie expérimentale (Chapitre VII). La synthèse se fait en milieu basique afin de maintenir le groupement amine libre sous la forme de NH₂. Le dioxane,

⁷⁰ Merrifield, R. B. *Biochemistry* **1964**, *3*, 1385-1390.

⁷¹ Atherton, E.; Sheppard, R.C. (1987) In *The Peptides, Analysis, Synthesis, Biology*. Gross, E.; Meienhofer, J. (eds). Academic Press, New York, Vol. 9, p.1.

⁷² Chinchilla, R.; Dodsworth, C. N.; Soriano, J. M. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 7579-7581.

utilisé en tant que co-solvant, joue un rôle prépondérant dans l'efficacité de la synthèse en permettant la solubilisation du 9-fluorenylméthylesuccimidyle en milieu aqueux. Un point remarquable pour l'isolation du produit désiré concerne sa facilité de purification. En effet, une chromatographie sur gel de silice n'est pas nécessaire et l'acide aminé protégé généré peut être précipité dans l'eau, ou cristallisé dans un mélange acétate d'éthyle/éther de pétrole.

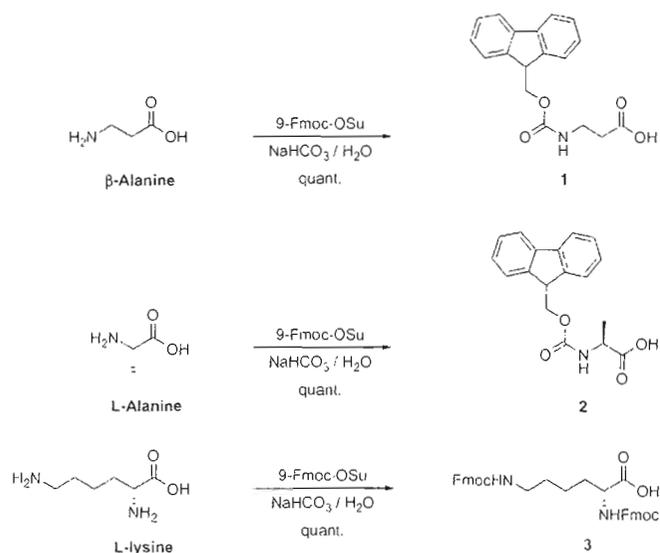


Schéma 1. Synthèse des acides aminés protégés sous leur forme Fmoc.

Tous les acides aminés utilisés dans la future synthèse peptidique sont commercialement disponibles, provenant de la compagnie Novabiochem ou Peptidec Technologies Ltd. Les constantes physiques sont documentées.

3.3 SYNTHÈSE DE L'ACIDE 3-MALÉIMIDOPROPIONIQUE *N*-HYDROSUCCINIMIDE ESTER

En plus d'être *N*-protégée, la β-Alanine est largement utilisée sous forme de maléimido pour la synthèse peptidique, profitant de la réactivité de ce groupement avec les

groupements « thiol ». ⁷³ L'application protéomique est également très prometteuse pour cette caractéristique de conjugaison. ⁷⁴ Comme nous l'avons mentionné précédemment dans le Chapitre I), l'étape de conjugaison est une des clés de la synthèse finale et l'installation du groupement maléimido sur l'amine de la β -Alanine constitue l'un des défis synthétiques de ce projet.

Cette synthèse a été réalisée en deux étapes (**Schéma 2**), en passant par l'intermédiaire **4** ⁷⁵ qui ne nécessite aucune purification supplémentaire. Ainsi, après une étape de filtration, le composé **4**, présentant deux fonctions acides carboxyliques terminales, est isolé avec un rendement de 98% puis engagé directement dans la synthèse du composé **5**. ^{74,76} Ces dernières sont activées en présence de l'agent de couplage DCC dans du DMF, un solvant polaire et aprotique, et le réactif *N*-hydroxysuccinimide qui réagit avec les deux fonctions carbonyles des acides pour former un ester activé ainsi que la fonction désirée maléimido issue d'un mécanisme intramoléculaire impliquant l'attaque de la fonction amide (NH) sur la fonction ester préalablement activée. Le mécanisme détaillé est illustré dans le **Schéma 3**.

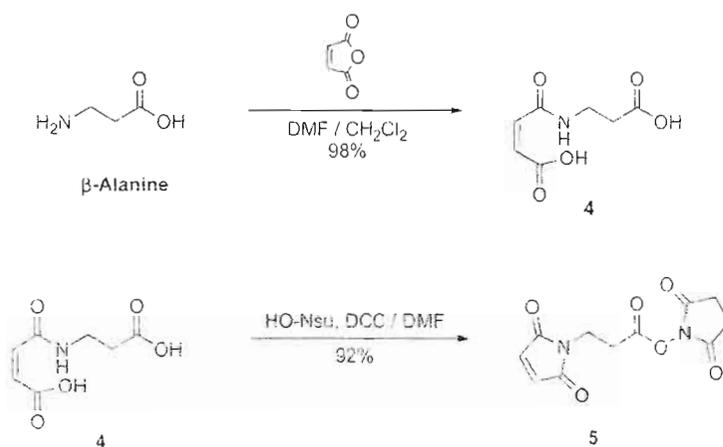


Schéma 2. Fonctionnalisation et activation de l'acide aminé « β -alanine ».

⁷³ Pantarotto, D.; Partidos, C. D.; Graff, R.; Hoebeke, J.; Briand, J.-P.; Prato, M.; Bianco, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 6160-6164.

⁷⁴ Girouard, S.; Houle, M.-H.; Grandbois, A.; Keillor, J. W.; Michnick, S. W. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 559-566.

⁷⁵ Rich, D. H.; Gesellchen, P. D.; Tong, A.; Cheung, A.; Buckner, C. K. *J. Med. Chem.* **1975**, *18*, 1004-1010.

⁷⁶ Li, X.; Taylor, J. S. *Bioorgan. Med. Chem.* **2004**, *12*, 545-552.

L'ester formé est stable et ce composé est conservé après recristallisation dans un mélange acétate d'éthyle/éther de pétrole. Le composé **5**^{77,78} ainsi formé contient donc la fonction maléimido désirée et peut être engagé dans des réactions de couplage pour être conjugué spécifiquement avec un motif antigénique contenant les groupements « thiol » complémentaires comme la cystéine pour le peptide. La présence de fonction adéquate de type ester (activé), va par la suite permettre la continuité du cheminement synthétique pour des couplages peptidiques subséquents. Le composé **5** (dont le spectre RMN ¹H est présenté **Figure 13**) est donc une molécule biologiquement intéressante d'un point vue synthétique et intensivement utilisée pour des applications en pharmacobiologie.⁷⁹

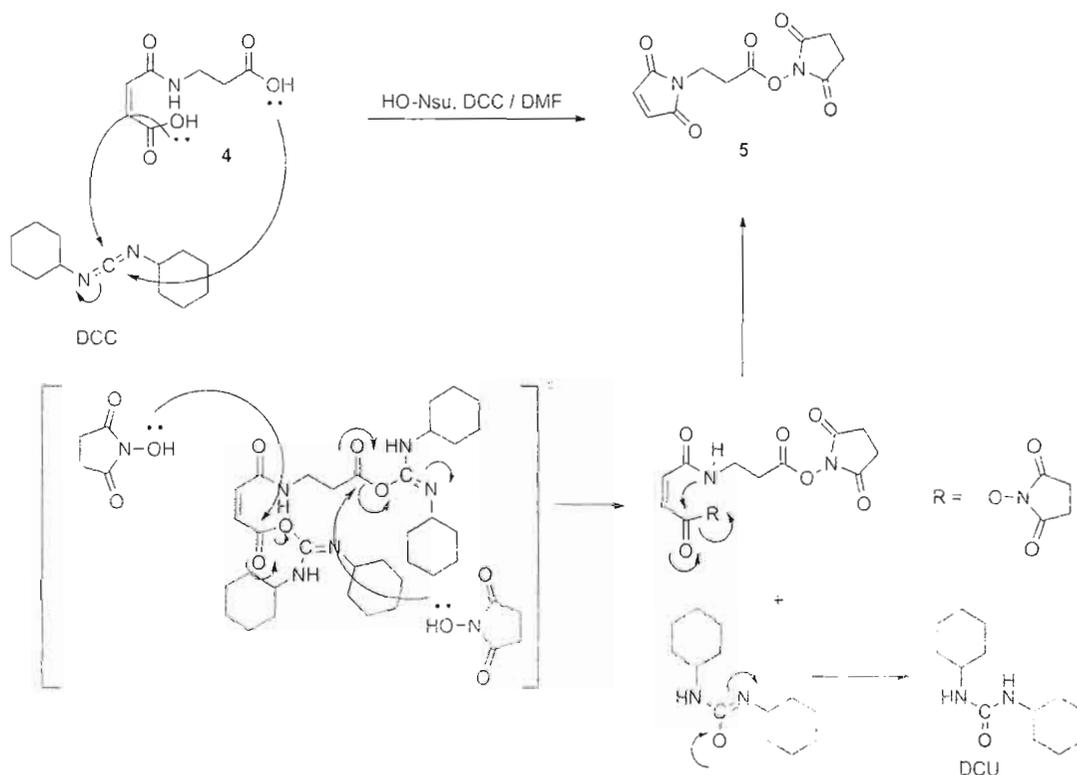


Schéma 3. Mécanisme du couplage peptidique par l'agent activant DCC et de l'estérification par *N*-hydroxysuccinimide.

⁷⁷ Willner, I.; Heleg-Shabtai, V.; Katz, E.; Rau, H. K.; Haehnel, W. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 6455-6468.

⁷⁸ Patolsky, F.; Weizmann, Y.; Katz, E.; Willner, I. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 2372-2376.

⁷⁹ Buchynskyy, A.; Stembera, K.; Knoll, D.; Vogel, S.; Kempin, U.; Biallass, A.; Hennig, L.; Findeisen, M.; Muller, D.; Welzel, P. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 7741-7760.

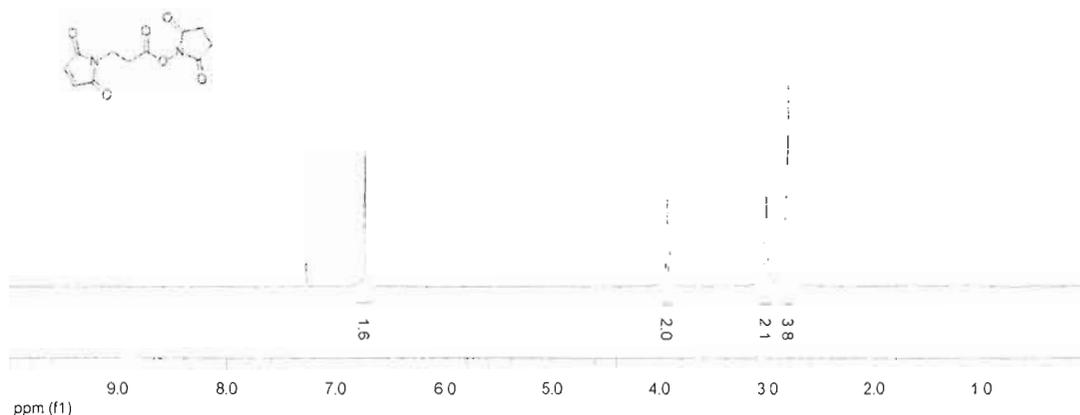


Figure 13. Spectre du RMN ^1H du composé **5**.

Le problème de cette synthèse s'avère être la purification, car le produit secondaire de type urée, c'est-à-dire le DCU, formé pendant la réaction, est très connu pour sa difficulté à être entièrement éliminé. D'ailleurs, l'utilisation de CDI est plus conseillée du fait de la plus grande solubilité en phase aqueuse des produits secondaires formés, contrairement à ceux de la DCC qui sont plus ou moins solubles dans tous les solvants organiques ainsi que dans les phases aqueuses. Une mise au point de la synthèse a été effectuée au laboratoire. Le composé **5** a ainsi été synthétisé à une échelle industrielle (50 g) avec un très haut rendement (90% sur 2 étapes avec une seule purification), isolé sous la forme des cristaux sans aucune trace de DCU (**Figure 13**) et à un faible coût par rapport au prix commercial extrêmement dispendieux. La clé se situe au niveau de la solubilité du DCU. Ainsi après un lavage acide, une cristallisation et une purification par chromatographie sur gel de silice sont nécessaires afin d'éliminer complètement le DCU.

En conclusion, la synthèse de l'acide 3-maléimidopropionique *N*-hydroxysuccinimide ester ou *N*-succinimidyl-3-maléimidopropionate **5** a été réalisée. Son utilisation pour la chimie de conjugaison a par la suite été envisagée dans des couplages de type peptidiques (section 3.4) et dans le cadre d'une réaction de conjugaison avec un motif antigénique contenant un groupement « thiol ».

3.4 SYNTHÈSE PEPTIDIQUE EN PHASE SOLIDE

La synthèse peptidique en phase solide (SPPS) est basée sur l'addition séquentielle de l'acide α -aminé ayant sa chaîne latérale protégée sur des acides aminés pré-installés sur un support polymérique insoluble. L'insolubilité de ce support polymérique (encore dit « résine ») constitue l'avantage de la SPPS. Plusieurs types de résines sont commercialement disponibles, en fonction du type de stratégie de synthèse envisagée (Boc, Fmoc) et de la fonctionnalisation des réactifs (fonction C-terminale peptidique requise soit l'acide, soit l'amide).⁸⁰

La synthèse des peptides **6**, **7**, **8**, **9**, **10** et **11** a été effectuée en utilisant la chimie Fmoc (section 3.1), selon le *Protocole B* de la partie expérimentale (Chapitre VII). Compte tenu de l'efficacité des réactions mises en jeu, la séquence tandem lavages-couplages remplace la purification traditionnelle, ce qui constitue un avantage certains par rapport aux réactions en phase homogène.

Un autre point important de la SPPS concerne le choix du groupement protecteur de la chaîne latérale de chaque acide aminé (**Tableau 1**). La « chimie Fmoc » ayant été choisie pour cette synthèse, la résine utilisée se doit d'être labile en milieu acide. Par conséquent, les groupements protecteurs des chaînes latérales des acides aminés devront tous être sensibles en milieu acide, afin que le clivage se fasse en une seule étape. Dans l'éventualité de la poursuite de la synthèse, une protection spéciale et orthogonale peut être envisagée pour y appliquer sélectivement le type de réaction désiré: pipéridine pour enlever le groupement Fmoc ou un milieu acide pour le clivage de la résine (TFA). Les acides aminés qui seront ultérieurement utilisés ainsi que leurs groupements protecteurs sont listés dans le **tableau 1**. A titre d'exemple, les groupements Boc et *t*Bu sont couramment utilisés pour ce type de synthèse. Bien que moins populaire, le groupement trityle, connu pour sa grande labilité en milieu acide, peut de même être utilisé efficacement.

⁸⁰ Le classement des résines sous forme de pdf est disponible sur le site web de la compagnie Novabiochem.

Tableau 1. Liste des groupements protecteurs recommandés sur des dérivés d'acides aminés *N*-Fmoc.⁸¹

| Groupements protecteurs recommandés | | | |
|---|-----------------------|--------------|------------|
| Dérivées des acides aminés protégés par Fmoc | | | |
| Arg(Pmc) / Arg(Pbf) | Asp(OtBu) / Asp(Ompe) | Asn(Trt) | Cys(Acm) |
| Cys(Mmt) | Cys(tBu) | Cys(Trt) | Glu(OtBu) |
| Gln(Trt) | His(Trt) | Lys(Boc) | Lys(ivDde) |
| Lys(Mmt) | Ser(tBu) | Ser(Trt) | Thr(tBu) |
| Thr(Trt) | Tyr(tBu) | Tyr(2-CITrt) | Trp(Boc) |

Après avoir choisi le type de résine, la Rink Amide (**Schéma 4**), le type de stratégie de synthèse de type Fmoc ainsi que les acides aminés comportant les groupes protecteurs adéquats (**Tableau I**), l'agent activant constitue le dernier choix judicieux à faire pour une synthèse SPPS efficace. La **Figure 14** illustre les cinq types d'agents activants connus et couramment utilisés, y compris le DCC et le *N*-hydrosuccinimide mentionnés auparavant lors de la synthèse du composé **5**. Les carbodiimides sont les plus populaires. Le DCC, décrit pour la première fois en 1955, a été choisi par sa particularité dans un environnement apolaire de la résine polystyrène.⁸² Par contre, la principale limitation s'avère être des phénomènes de déshydratation de l'Asn et de la Gln. L'addition de HOBt en tant que catalyseur peut éviter cette déshydratation.⁸³ De plus, les inconvénients liés à la formation de dérivés urées décrits plus hauts constituent une autre limitation majeure à son utilisation en SPPS. Cet inconvénient peut être contourné en employant d'autres types d'agents activants de type carboimides tels que le diisopropylcarbodiimide (DIPCDI)⁸⁴, le *t*-butyl-méthylecarbodiimide ou le *t*-butyléthylecarbodiimide, dont les urées formées sont solubles dans le dichlorométhane.⁸⁵

⁸¹ Les groupements protecteurs recommandés par Novabiochem.

⁸² Sheehan, J. C.; Hess, G. P. *J. Am. Chem. Soc.*, **1955**, *77*, 1067.

⁸³ Mojsov, S.; Mitchell, A. R.; Merrifield, R. B. *J. Org. Chem.*, **1980**, *45*, 555-560.

⁸⁴ Sarantakis, D. *et al. Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **1976**, *73*, 336.

⁸⁵ Izdebski, J. *et al. Int. J. Peptide Protein Res.*, **1989**, *33*, 77.

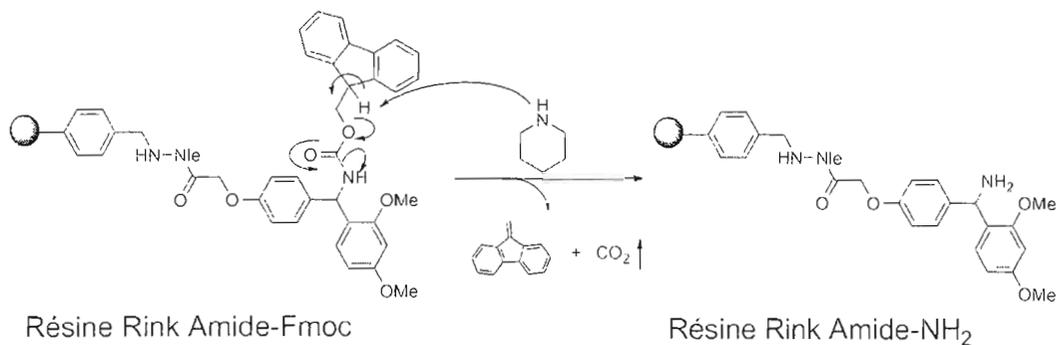


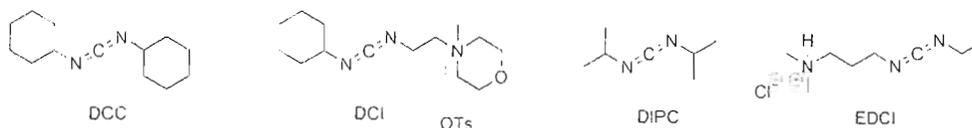
Schéma 4. Mécanisme de la déprotection du groupement Fmoc.

Le benzotriazol-1-yl-oxy-tris-(diméthylamino)phosphonium hexafluorophosphate (BOP), PyBOP, HBTU et TBTU sont les agents de couplages utilisés dans ce cas. Ces sont les activateurs de type phosphonium ou uronium les plus communément utilisés. Ces derniers donnent une activation très rapide: BOP > PyBOP > HBTU \approx TBTU⁸⁶. L'utilisation de BOP en présence de HOBt comme catalyseur conduit aux meilleurs résultats⁸⁷: l'affinité de l'oxygène de la fonction acide avec le phosphore du BOP déclenche une première activation, la formation d'ester activé est alors catalysée par la présence de HOBt dans un premier temps et ensuite activé par le HOBt libéré lors de l'activation avec du BOP. Une préactivation à 4 °C dans du DMF sec pendant 10-15 minutes permet un maximum de couplage dont 95% pendant les 5-10 premières minutes. Le mécanisme du couplage en présence de BOP est illustré dans le **Schéma 5**.

⁸⁶ D'après expériences pour un couplage à 100% : BOP: 40 min, PyBOP: 50 min; HBTU/TBTU: 1h20

⁸⁷ Hudson, D. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 617-624.

1) Carbodiimides : DCC, CDI, DIPC, EDCI



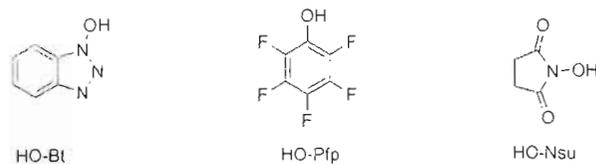
2) Composé phosphonium



3) Anhydride mixte : chloroformate



4) Esters activés : -OBt, -OPfp, -ONSu. Esters des alcools suivants + DCC + DMAP / Pyr.



5) Uroniums

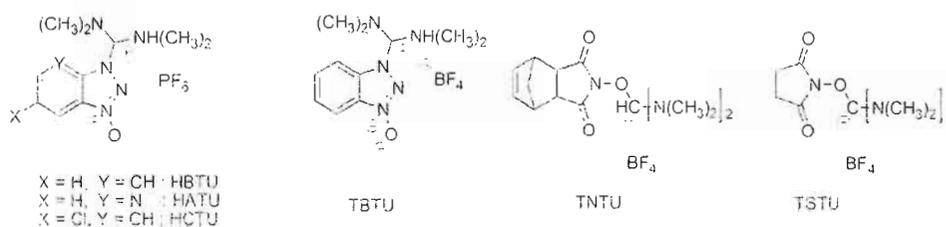


Figure 14. Structure des agents activants.

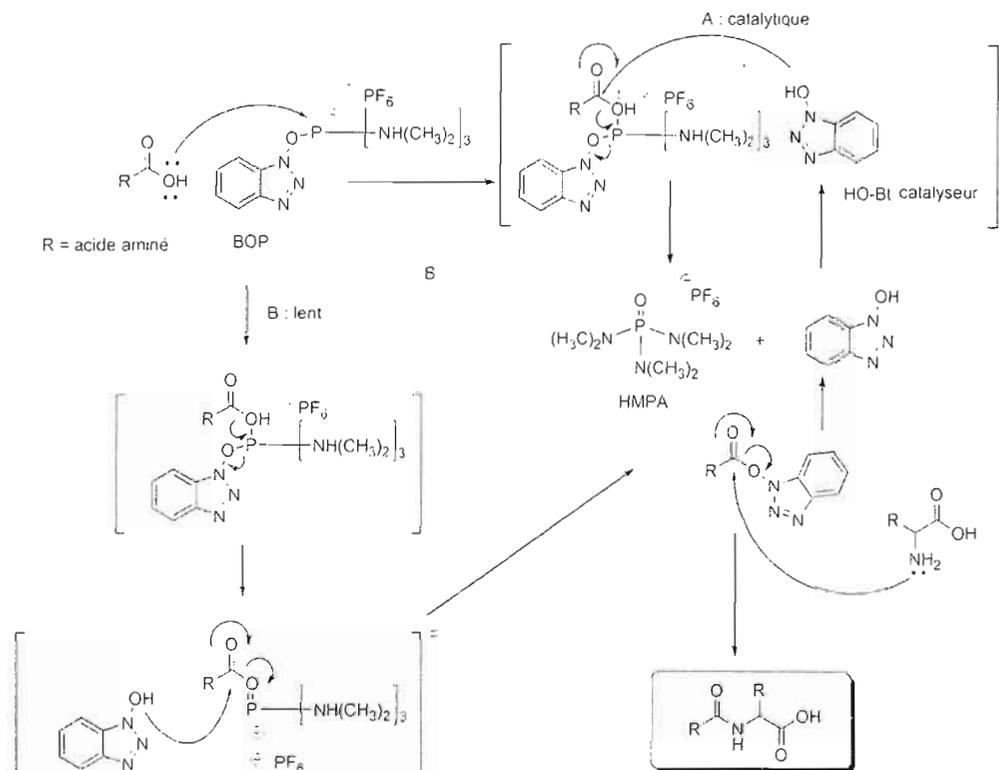


Schéma 5. Mécanisme de couplage du type peptidique en utilisant l'agent activant BOP.

Après l'élaboration de la stratégie de synthèse complète, les peptides ont été synthétisés en suivant le *Protocole B* décrit au Chapitre VII. La résine choisie est la Rink Amide AM avec un « loading » de 0.54 mmol/g. La première étape concerne la déprotection du groupement Fmoc de la résine par une solution de pipéridine dans du DMF 20%. Le **Schéma 4** indique le mécanisme de la déprotection en présence de pipéridine indiquant la labilité du proton de Fmoc. L'enlèvement du Fmoc est très rapide, efficace et l'équilibre de la réaction est déplacée par une force motrice: la production de CO₂. De plus, le sous-produit 9-méthylène-9H-fluorène se polymérise facilement dans la solution après un certain temps de réaction (une nuit). La SPPS est ainsi favorisée dans ce cas par rapport à la synthèse traditionnelle en phase homogène. Pour s'assurer d'une déprotection complète, la procédure est généralement répétée 2 fois.

La confirmation des étapes de déprotection et de couplage est effectuée à l'aide du test de Kaiser⁸⁸ ou par révélation au TNBS⁸⁹ (conférer **Figure 15**). Le test de Kaiser (Protocole C) consiste en une réaction de la ninhydrine sur l'amine libre du peptide déprotégé. La coloration en bleu est caractéristique de la présence du groupement amine libre. Ce test nécessite un chauffage à 120 °C et l'expérience montre que la température doit être exacte. Dans ce cas, il en résulte un faux positif. De plus, un éventuel défaut de déprotection peut fausser le résultat visuel car la couleur bleu interfère avec la visualisation de la couleur rouge caractéristique du groupement protégé.⁹⁰ Afin de contourner ces problèmes, le test de révélation au TNBS a été adapté pour la SPPS. Il s'agit d'une des méthodes de révélation les plus simples.⁹¹ Elle est basée sur la réaction de l'acide 2,4,6-trinitrobenzènesulfonique qui réagit avec le groupement amine libre. En conséquence, une coloration rougeâtre des billes confirme la présence de groupements amines libres. Dans le cas contraire, les billes ne sont pas colorées ce qui est caractéristique de la présence de fonctions amines protégées. Cette révélation ne demande pas de chauffage et peut être visualisée facilement à l'œil ou bien par microscope afin de confirmer le bon déroulement des étapes de couplage et de déprotection pour continuer la synthèse.

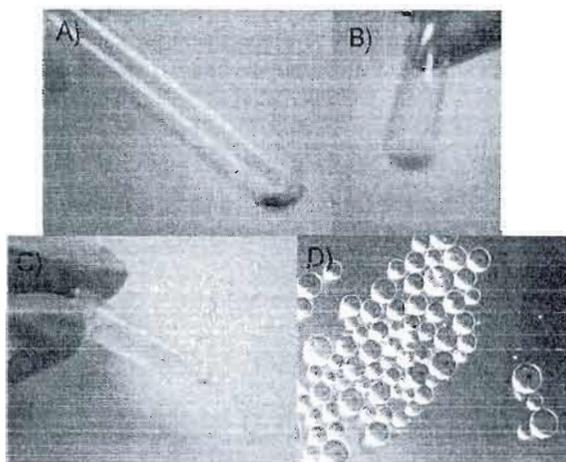


Figure 15. Comparaison des tests Kaiser - TNBS. **A)** Kaiser (+); **B)** Kaiser (-); **C)** TNBS (+); **D)** Image au microscope de la résine après le test TNBS (-).

⁸⁸ Kaiser, E., *et al. Anal. Biochem.* **1970**, *34*, 595-598.

⁸⁹ Hancock, W. S., Battersby, J. E., *Anal. Biochem.* **1976**, *71*, 260-164.

⁹⁰ Fontenot, J. D. *et al. Pept. Res.* **1991**, *4*, 19-25.

⁹¹ Krchnák, V.; Vágner, J.; Lebl, M. *Int. J. Peptide Protein Res.* **1988**, *32*, 415-146.

D'ailleurs, ce sont les deux tests qualitatifs, ce qui fait la différence entre la synthèse manuelle et automatisée. En synthèse automatisée, le système informatique calculera la quantité de Fmoc mise au départ et suivra cette quantité lors de son déplacement et le couplage jusqu'à la fin pour avoir une synthèse garantie à 100%. Donc, un test d'estimation du premier attachement aura lieu.⁹²

Lors de ce projet, une conjugaison a été envisagée entre les oligosaccharides synthétisés et décrits dans le Chapitre VI, non pas sur une protéine immunogénique mais avec des Tc-épitopes universels connus dans la littérature comme le PADRE⁹³ **6** et P2TT.^{94,95} La synthèse du peptide **6** (**Schéma 6**) a été réalisée en premier lieu. La structure tridimensionnelle du composé **7** a été réalisée par modélisation moléculaire à l'aide du logiciel MOE (**Figure 16**). Étant donné que la réponse immunitaire anti-CBC reste encore inconnue.⁹⁶ l'étude sur la conformation du PADRE original permettra la compréhension de celui-ci face à l'activation immunitaire, CMH II.

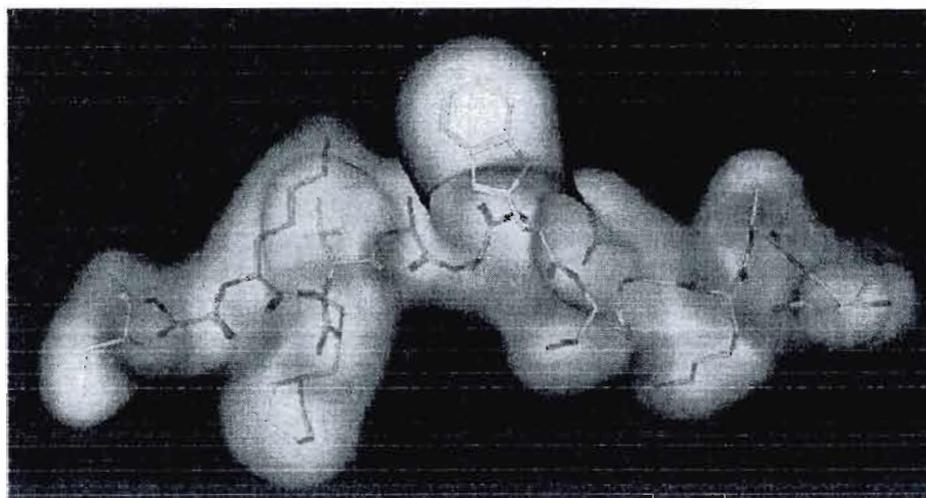


Figure 16. Structure tridimensionnelle modélisée du peptide immunogène **7**.

⁹² Gude, M.; Ryf, J. and White, P. D. *Lett. Pept. Sci.* **2002**, *9*, 203-206.

⁹⁵ Alexandre, J. *et al. J. Immunol.* **2000**, *164*, 1625-1633.

⁹⁴ Dziadek, S.; Kunz, H. *Chem. Record.* **2004**, *3*, 308-321.

⁹⁵ Keil, S. Claus, C. Dippold, W.; Kunz, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 366-369.

⁹⁶ Bertot, G. M.; Restelli, M. A.; Galanternik, L.; Aranibar Urey, R. C.; Valvano, M. A.; Grinstein, S. *Infect. Immun.* **2007**, *75*, 2740-2752.

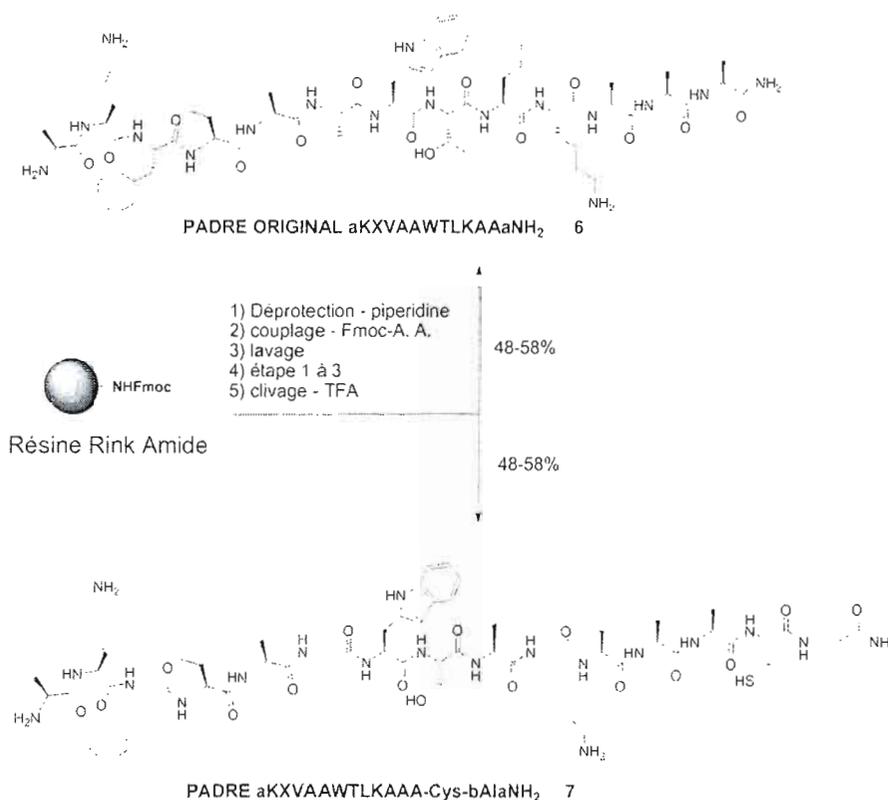


Schéma 6. Synthèse de peptides immunogènes.

Comme discuté précédemment, les composés **6-11** (Schémas 6 et 7) ont été synthétisés selon le même schéma par SPPS à partir de la résine Rink Amide AM, en suivant le *Protocole B*. Après la déprotection du groupement Fmoc de la résine, le premier couplage a été effectué avec un large excès d'acide aminé *N*-protégé (5 éq.) au cours de 2 à 3 couplages consécutifs suivi d'une procédure dite de « capping » (acétylation des amines libres non couplées de la résine). Ces procédures sont très importantes pour le premier couplage, car ce sont « les clés » d'un peptide proprement synthétisé en SPPS. La RMN du proton du peptide **6** a été réalisée par le Dr. K. Gehring de l'université McGill, ce qui permis de confirmer la pureté du composé ne nécessitant aucune purification supplémentaire par HPLC. Le résultat de l'analyse du composé **6** par HPLC est illustré à la **Figure 17** avec une pureté supérieure à 90%. Par contre, la conformation helicoidale de ce nanopeptide en milieu aqueux n'est pas démontrée lors de l'étude par RMN. Par conséquent, une étude approfondie sera nécessaire afin de déterminer sa conformation.

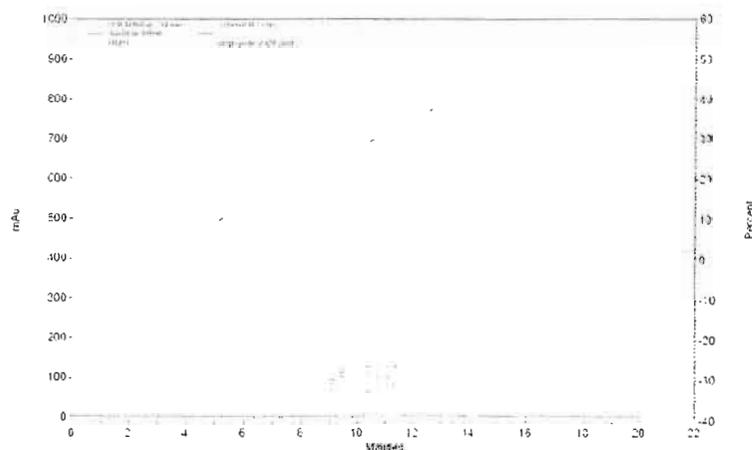


Figure 17. Profil HPLC du nano-peptide 6.

La dernière étape, le clivage de la résine, se déroule en milieu acide, car le groupement lié au polystyrène de la résine Rink Amide est « acide labile ». Le TFA est généralement utilisée pour ce genre de clivage (**Figure 18**). D'ailleurs, la solution du clivage est établie en fonction des groupements protecteurs des chaînes latérales, du type d'acide aminé constituant le peptide (présence ou non de cystéine). Un capteur cationique comme le TIS est généralement utilisé lorsque la cystéine est présente dans le peptide comme pour les composés 7-10. Le *Protocole G* du Chapitre VII détaille le contenu de tous les réactifs nécessaires, appropriés pour chacune des conditions.

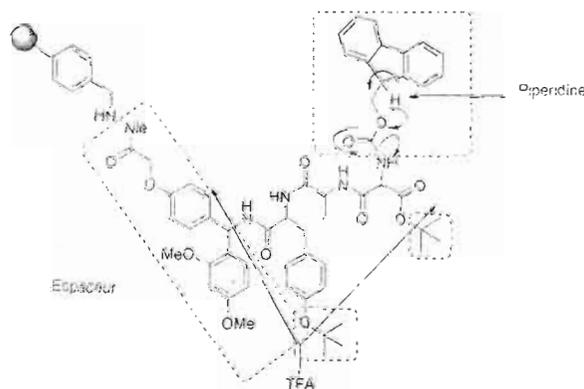


Figure 18. Stratégie générale de SPPS *via* la « chimie Fmoc » (clivage de groupements protecteurs et de la résine).

L'étape d'isolation du peptide se fait généralement par lyophilisation après l'évaporation du TFA, suivie d'une précipitation dans l'éther diéthylique à $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ à l'aide d'une trituration. Par contre, une méthode alternative simplifiée, nommé « post-clivage work up » permet de contourner les difficultés rencontrées lors des étapes de recristallisation du peptide. Cette méthode consiste en la précipitation du peptide en présence de *t*-butyldiméthyléther. Ce type d'éther solubilise tous les groupements protecteurs clivés du milieu réactionnel. Le peptide précipite alors à température ambiante. Une centrifugation permet de séparer les sous-produits et le peptide est solubilisé dans l'eau puis séparé de la résine par une autre centrifugation. Finalement, après lyophilisation, le peptide est obtenu et sa pureté est contrôlée par HPLC analytique comme décrit dans le *Protocole H* du Chapitre VII.

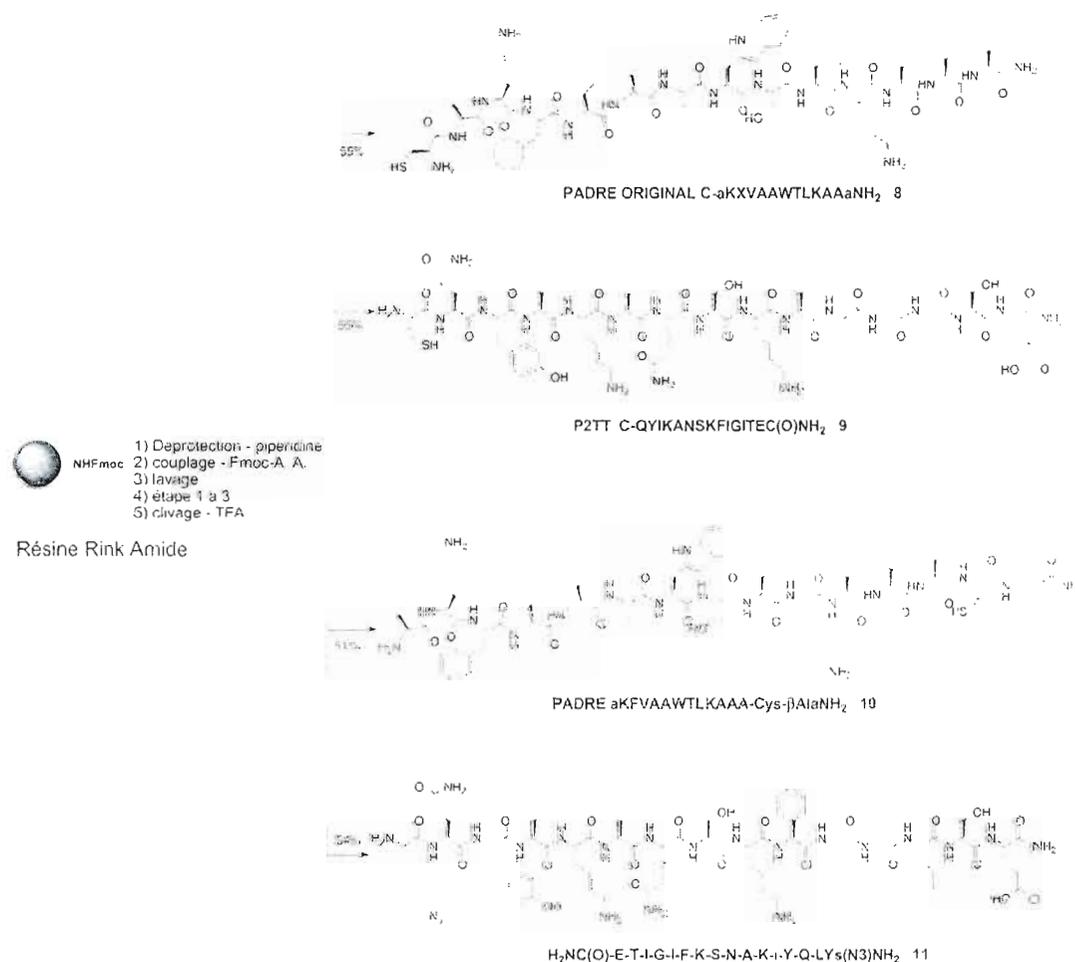


Schéma 7. Synthèses des peptides immogènes.

Le peptide contenant le groupement « thiol » 7 est envisagé pour être conjugué avec une unité antigénique contenant le groupement maléimido comme décrit au début du Chapitre III. Après le clivage de la résine, un test de Ellman⁹⁷ est réalisé afin de s'assurer de l'absence de dimère, potentiellement obtenu par la formation d'un lien disulfure en milieu légèrement basique. La méthode est basée sur la réaction du réactif 5,5'-dithiobis(acide 2-nitrobenzoïque) en présence du composé thiol à tester. La formation d'un pont di-sulfure avec le sous-produit TNBS sera détectée par UV à 412 nm. La méthode originale permet le calcul de la concentration du substrat thiol, décrit dans le *Protocole F* du Chapitre VII. Une autre méthode⁹⁸ modifiée et simplifiée en faisant une courbe standard, et la valeur de l'absorbance à 412 nm peut être tracée sur la courbe afin d'obtenir la même concentration (Figure 19).

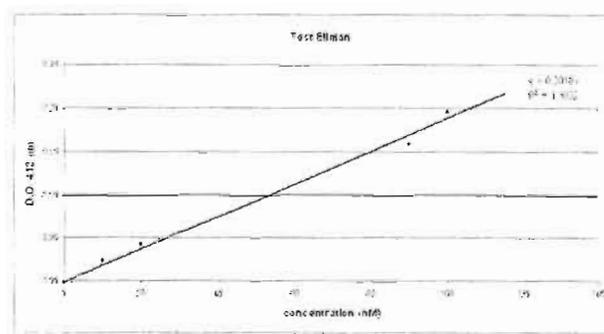


Figure 19. Courbe standard du test d'Ellman modifiée.

En conclusion, quelques étapes clés doivent être tenues en compte pour la SPPS : 1) le pH du milieu lors du couplage doit être maintenu entre 9 et 10 (9 éq. de DIPEA est normalement nécessaire) afin de stabiliser la nucléophilicité du groupement amine libre; 2) la préactivation de l'acide aminé en présence de BOP et HOBt favorise le couplage; 3) le temps de couplage continu ne devra pas excéder 1h30 afin d'éviter la racémisation. Si nécessaire, le cycle de couplage peut être répété à nouveau afin de compléter la réaction (vérification à l'aide du test TNBS); 4) le test d'Ellman permet de déterminer l'absence de dimère. Ces 6 peptides ont été obtenus avec des rendements moyens de 55% sans aucune purification supplémentaire, ce qui correspond à un rendement moyen pour chaque couplage de l'ordre de 96%.

⁹⁷ Ellman, G. L., *Arch. Biochem. Biophys.* **1959**, *82*, 70-77.

⁹⁸ Lei, Q.; Boatright, W. L., *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 3567-3572.

CHAPITRE IV

SYNTHÈSE DES FRAGMENTS CIBLES

4.1 INTRODUCTION

En plus de la synthèse de peptides immunogéniques décrite au Chapitre précédent, la synthèse des fragments saccharidiques constitue l'un des objectifs principaux de ce projet. Comme il est expliqué dans le Chapitre II, le CBC, responsable de la maladie fibreuse kystique, désigne un ensemble de neuf souches. De plus, la production d'exopolysaccharide (EPS) est connue comme le principal acteur dans la formation et la maturation des biofilms en stabilisant leur architecture tridimensionnelle.⁹⁹ Le motif de répétition de cet exopolysaccharide constitue la principale unité antigénique spécifique du complexe *B. cepacia* (CBC), sachant que les unités saccharidiques des parois bactériennes (LPSS) ou excrétées (EPSS) sont des motifs potentiellement antigéniques comme il est mentionné dans le Chapitre I.

Deux types de polysaccharides présents dans la *O*-chaîne du lipopolysaccharide de *B. cepacia* peuvent être distingués: l' α -D-Rhap-(1→3)- α -D-Rhap-(1→4)- α -D-Galp et l' α -D-Rhap-(1→3)- α -D-Rhap-(1→2)- α -D-Rhap décrits au Chapitre II. Ils représentent donc les premiers défis des synthèses antigéniques.

En outre, la présence de cet EPS commun à au moins huit des neuf souches, nommé Cepacian, a été démontrée par des études biochimiques après l'isolation clinique. Ce Cepacian est formé d'un motif heptasaccharidique répétitif comportant un acide D-glucuronique central tétraglycosylé, une unité D-rhamnosyle qui est un sucre rare mentionné au Chapitre I et II, et ainsi que trois autres motifs saccharidiques différents: trois résidus D-

⁹⁹ Cunha, M. V.; Sousa, S. A.; Leitao, J. H.; Moreira, L. M.; Videira, P. A.; Sa-Correia, I. *J. Clin. Microbiol.* **2004**, *42*, 3052-3058.

galactopyranosyles, un de type D-mannopyranosyle et un de type D-glucopyranosyle.^{100,101} Ainsi, la description de la synthèse de ces motifs, ainsi qu'une librairie de di-, tri-, tétra- et hexa-saccharides constitue le second volet de ce chapitre.

Dans un souci de clarté concernant la synthèse méthodique de plusieurs synthons et d'oligosaccharides complexes, chaque étape de synthèse à partir du sucre naturel correspondant et faisant intervenir des composés de type donneur ou accepteur sera décrite. L'assemblage des synthons ainsi synthétisés afin d'atteindre les cibles principales précédemment mentionnées sera détaillé par la suite. Dans un premier temps, sachant l'importance des sucres dans le domaine pharmaco – immuno – biochimique. Outre la chimie « classique » de protection-déprotection souvent rencontrée dans le cadre de modifications et de fonctionnalisations d'hydrates de carbones. il est nécessaire de considérer plusieurs notions primordiales telles que les effets anomériques et anchimériques qui servent à expliquer ou prévoir la configuration préférentielle de la position anomérique après une glycosidation ou une glycosylation. Une description de chacun de ces effets fera place dans la première partie de ce chapitre.

4.1.1 Effet anomérique

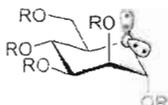
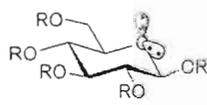
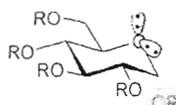
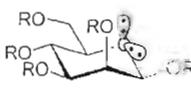
L'effet anomérique favorise la configuration axiale d'un substituant électronégatif au niveau du centre anomérique. Cet effet peut s'expliquer par la rétro-donation du doublet libre de l'oxygène endocyclique dans l'orbitale σ^* antiliante du lien C-O en anomérique, ce qui contribue à stabiliser la configuration axiale du glycoside. Les interactions dipôle-dipôle de la liaison C-O et des doublets non-liants de l'oxygène endocyclique doivent être également considérées. Chez l'anomère β (configuration équatoriale, donc la série D-), il existe une répulsion entre les dipôles qui sont pratiquement parallèles. tandis que chez l'anomère α (configuration axiale). ces dipôles sont orientés dans des directions opposées. ce qui favorise cet anomère.

¹⁰⁰ Linker, A., Evans, L. R.; Impallomeni, G. *Carbohydr. Res.* **2001**, *335*, 45-54.

¹⁰¹ Cescutti, P.; Impallomeni, G.; Garozzo, D.; Sturiale, L.; Herasimenka, Y.; Lagatolla, C.; Rizzo, R. *Carbohydr. Res.* **2003**, *338*, 2687-2695.

En conclusion, dépendamment des différents types de glycosides, l'effet anomérique établit une influence sur la configuration de type 1,2 soit *trans*, soit *cis*, ce qui est démontré dans le **Tableau 2**. En effet, l'effet anomérique favorise très généralement la synthèse de sucre de type α -D-glycosylé. Ce phénomène est généralement contrecarré par le résultat d'une recompensation de l'effet anchimérique ou bien de la compétition entre les deux effets.

Tableau 2. L'effet anomérique des différents types de glycosides.

| | Type 1,2- <i>trans</i> | | Type 1,2- <i>cis</i> | |
|------------------|---|---|--|---|
| |  |  |  |  |
| | <i>Man</i> | <i>Glc</i> | <i>Glc</i> | <i>Man</i> |
| Effet anomérique | + | - | + | - |

4.1.2 Effet anchimérique

Comme illustre le **Schéma 8**, un sucre de type α -D-mannopyranosylé est très facilement obtenu par synergie entre les effets anomérique et anchimérique. Ce dernier, s'explique par l'existence du groupement fonctionnel de type participant sur la position 2. Dans le cas du **Schéma 8**, après l'activation par l'acide de Lewis de façon intramoléculaire, le doublet libre de la fonction acétate de la position 2 du D-mannopyranoside assiste à la position anomérique lors du passage par un état de transition de type oxonium pour former un oxocarbénium. Ce phénomène est qualifié d'« assistance anchimérique » ou de « participation anchimérique ». En conséquence, l'acétoxy carbénium est alors consommé par une attaque nucléophile lors de la glycosidation ou de la glycosylation.

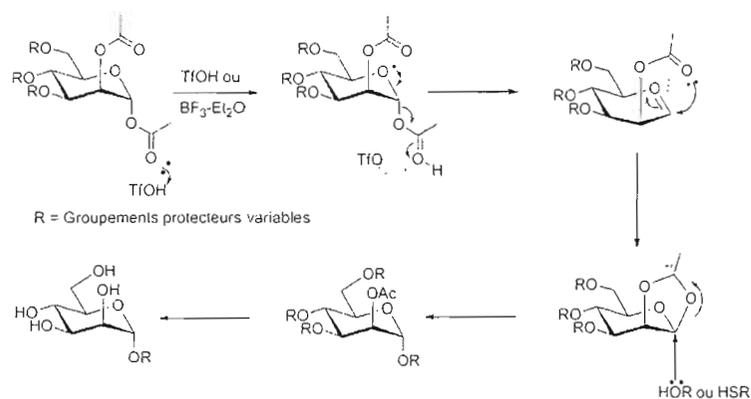


Schéma 8. Effet anchimérique en série D-mannoside lors de la glycosidation.

Alors, dépendamment de la face assistée par la position 2, la face β dans ce cas, l'attaque nucléophile ne pourra avoir lieu que sur la face α en raison de l'encombrement stérique. Ainsi, ce phénomène de participation anchimérique, qui influence le résultat d'une glycosylation ou d'une glycosidation vers cette configuration préférentiellement est nommé effet anchimérique. Le résultat de ce type de glycosidation permet de former des composés de type 1,2-*trans*- glycoside.^{102,103}

Le **Tableau 3** résume les deux effets sur deux types de glycoside selon la configuration du groupement en position 2 : les deux effets contribuent à la formation de l' α -mannopyranoside, tandis que les deux effets s'annulent pour la configuration « β »; les deux effets sont 50/50 mais inversé dans le cas de la formation de glucopyranosides.

Tableau 3. Comparaison des effets anomériques et anchimériques des différents types de glycosides.

| | α -Mannoside | β -Glucoside | α -Glucoside | β -Mannoside |
|--------------------|---------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
| Effet anomérique | oui | non | oui | non |
| Effet anchimerique | oui | oui | non | non |

¹⁰² Wulff, G.; Rohle, G. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1974**, *13*, 157-170.

¹⁰³ Nukada, T.; Berces, A.; Zgierski, M. Z.; Whitfield, D. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 13291-13295.

En résumé, l'utilisation et la maîtrise de ces effets avantageux peuvent être mises à profit lors de l'installation d'aglycone spécifique.

4.1.3 Glycosidation comme première protection anomérique

Étant donné sa réactivité prépondérante, la position anomérique devra être protégée afin de poursuivre la modification des autres positions voulues. Donc, l'utilisation des différents groupements protecteurs constitue des étapes primordiales pour accéder à des sucres orthogonalement protégés. En effet, les groupements protecteurs peuvent se différencier par leurs utilités périodiques, ou temporaires, semi-permanentes et permanentes.

Une glycosidation consistant en l'installation d'un aglycone (molécule de type non hydrate de carbone) sur la position anomérique constitue généralement la première étape de la synthèse si on omet l'étape de per-acétylation. Cette aglycone devra résister dans les conditions de synthèses subséquentes jusqu'à sa déprotection: cette protection est dite protection semi-permanente. Ainsi, le choix du type d'aglycone utilisé est très important et son orthogonalité doit être considérée soigneusement. Généralement, cet aglycone devra résister jusqu'à l'étape finale afin d'être : soit convertit en donneur; soit glycosylé directement de par son caractère donneur en même temps comme dans le cas d'un groupement thiolé; soit utilisé directement pour des séquences de conjugaison (cas des groupements allylés ou propargylés).

4.1.4 Principaux donneurs utilisés lors de la glycosylation

Suite aux différentes étapes de glycosidation, et de protections orthogonales permettant de libérer une position spécifique contenant une fonction hydroxyle libre (le sucre est alors qualifié d'« accepteur ») l'étape de glycosylation peut être engagée avec un substrat « donneur » de type hydrate de carbone.

Un donneur est un sucre qui possède sur sa position anomérique un groupement spécifique (**Schéma 9**) qui permettra le couplage désiré en présence de réactifs adaptés n'ayant aucune influence sur les autres positions (« promoteur »). Un sucre halogéné en position anomérique constitue un donneur utilisé fréquemment dans la chimie des sucres traditionnelle. En revanche, son instabilité constitue un sérieux problème que le développement de donneurs de type thiol ou imidate permet de contourner. Le **Schéma 9** illustre l'interconversion de ces donneurs et chacun possède ses propres caractéristiques chimiques.^{104,105} L'expérience indique que le bon déroulement d'une étape de glycosylation dépend grandement du type de donneur utilisé.

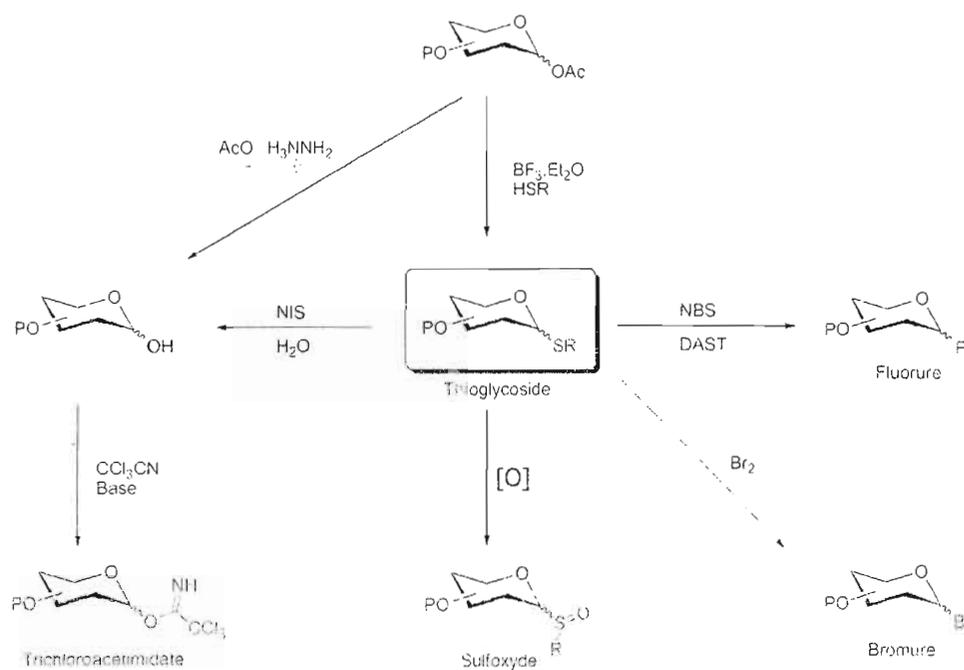


Schéma 9. Transformations et interconversions de glycosides de type donneur.

4.2 ANALYSE RÉTROSYNTHÉTIQUE

Les deux tri-*O*-saccharides du lipopolysaccharide cibles, l' α -D-Rhap-(1→3)- α -D-Rhap-(1→4)- α -D-Galp et l' α -D-Rhap-(1→3)- α -D-Rhap-(1→2)- α -D-Rhap, sont composés

¹⁰⁴ Toshima, K.; Tatsuta, K. *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 1503-1531.

¹⁰⁵ Davis, B. G. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I.* **2000**, 2137-2160.

majoritairement du résidu D-rhamnopyranoside. La synthèse de ces deux trisaccharides consiste en une synthèse linéaire et séquentielle, impliquant donc des préparations de synthons de type donneur et accepteur, suivie d'une glycosylation jusqu'à l'obtention des composés finaux. La stratégie n'est aussi complexe que pour la synthèse du motif de répétition heptasaccharidique de l'EPS du CBC. Néanmoins, l'élaboration du synthon D-rhamnopyranoside constitue l'étude principale de ce projet, de part son importance antigénique, et sera impliqué dans toutes des synthèses futures.

Les analyses par résonance magnétique nucléaire (RMN)^{100,101} et la modélisation moléculaire de l'EPS du CBC^{41,106} (**Figures 20 A et B**), sont des éléments de comparaison avec la modélisation moléculaire faite par le logiciel ChemDraw (**Figures 20 C et D**). L'orientation spatiale de cet heptasaccharide démontre clairement un motif laminaribioside qui sera modifié en un dérivé disaccharidique contenant un acide D-glucuronique tétraglycosylé, dont un des substituant est le résidu D-rhamnopyranoside. Un résidu D-mannopyranoside ainsi que trois unités D-galactopyranosyles constituent cet heptasaccharide (unité principale répétitive). L'importance thérapeutique des différentes composantes du motif de répétition de l'EPS étant jusqu'alors inconnue du fait d'un manque de donnée concernant le positionnement et donc les interactions possibles de ces différentes unités, la stratégie de synthèse est pour l'instant concentrée sur l'hexasaccharide et des motifs de tailles inférieures.

En effet, la structure oligosaccharidique du CBC fait apparaître cinq liaisons glycosidiques. En considérant les deux effets anomérique et anchimérique, discutés dans les sections 4.11 et 4.12, les liens α -D-mannoside et β -D-glucoside sont plus facilement réalisables d'un point de vue synthétique (**Tableau 3**).

¹⁰⁶ Sampaio Nogueira, C. E.; Ruggiero, J. R.; Sist, P.; Cescutti, P. Urbani, R.; Rizzo R. *Carbohydr. Res.* **2005**, *340*, 1025-1037.

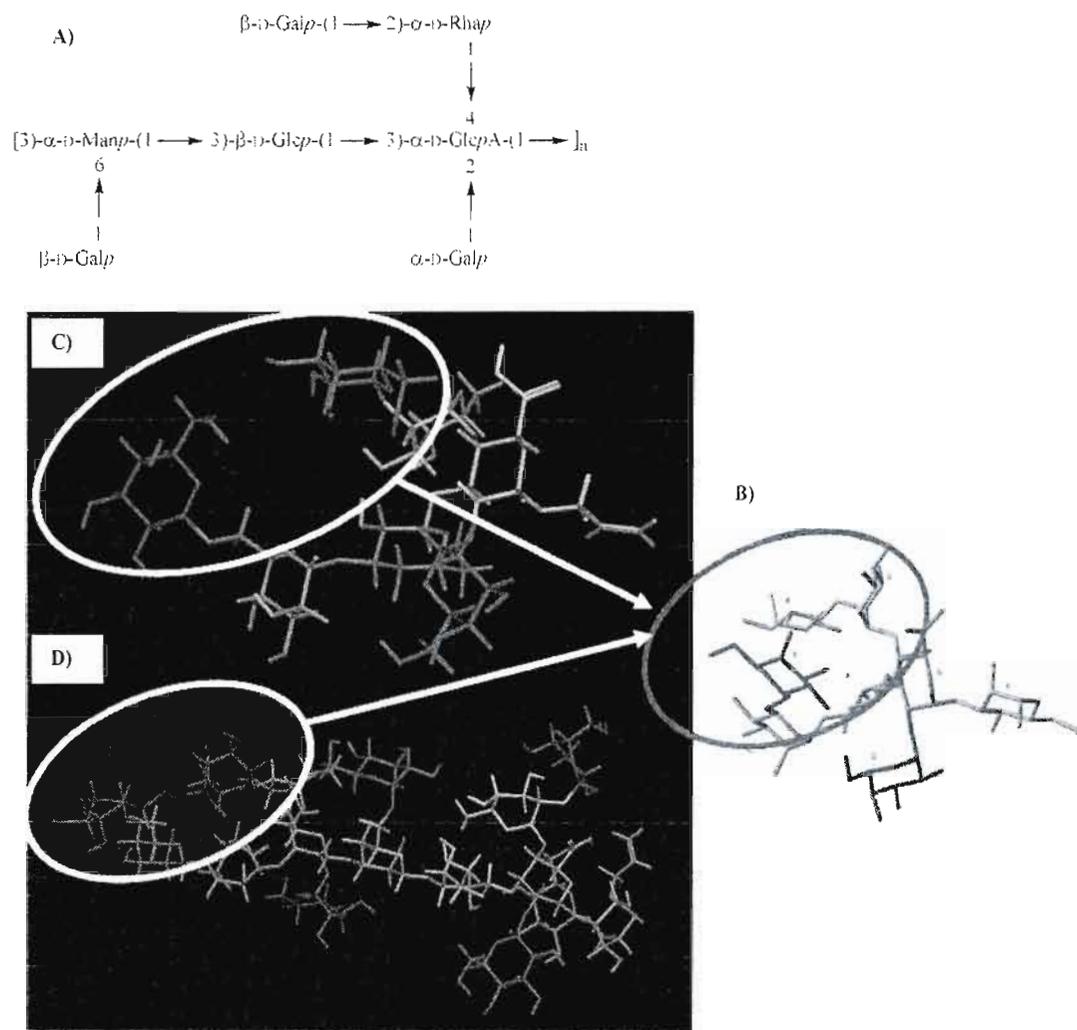


Figure 20. Structure de l'unité répétitive de l'EPS du complexe *Burkholderia cepacia* modélisée selon la littérature (A), par le logiciel MOE (B), par le logiciel ChemDraw (C) et (D).

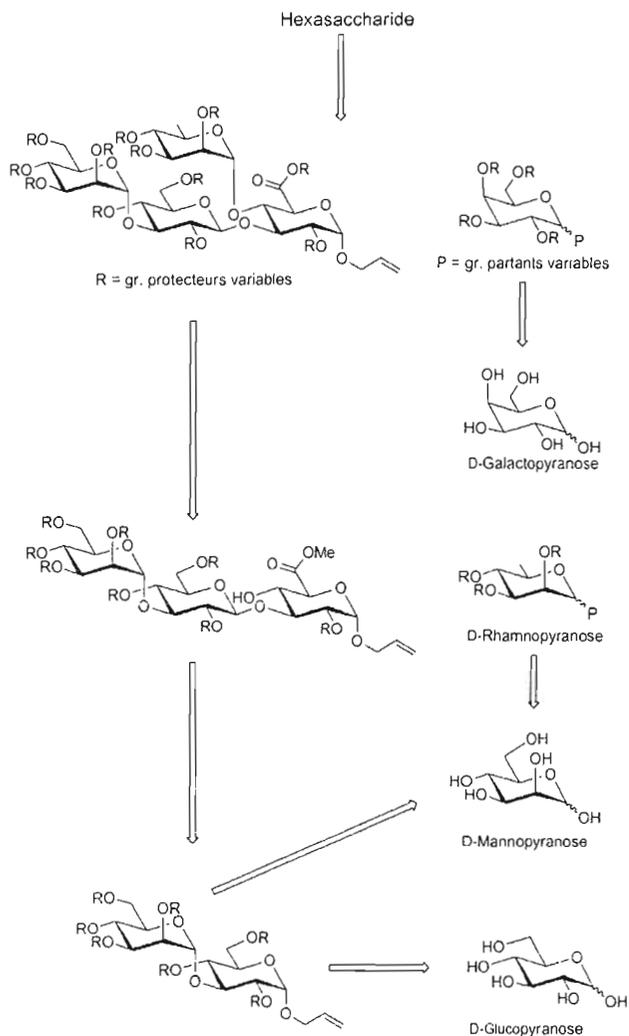


Schéma 10. Analyse rétrosynthétique d'hexasaccharide représentant le complexe *B. cepacian*.

Le laminaribiose central possède une liaison de type β -D-glucoside, synthétisable *via* l'utilisation de l'effet anchimérique. L'installation d'un groupement protecteur participant de type acétate dans la position 2 est avantagée pour la formation de cette liaison glycosidique. Les deux liens α -D-mannosides comprenant le D-mannoside et le D-rhamnoside, sont encore plus favorables selon les deux effets. Le schéma rétrosynthétique de l'hexasaccharide répétitif du *Cepacian* illustré dans le **Schéma 10** indique que la synthèse peut débuter par le disaccharide central vers les extrémités. Dans une synthèse linéaire classique, la formation de ces cinq liaisons glycosidiques peut nécessiter jusqu'à cinq étapes de glycosylation.

Néanmoins, le fait que les deux sucres au deux extrémités soient identiques (β -D-galactoside), le nombre de glycosylation envisagé peut être réduit à quatre.

En résumé, le disaccharide central substitué est composé de deux types de D-glucoside: le D-glucose et l'acide D-glucuronique. Ainsi, à partir d'un même synthon D-glucosidique élaboré en utilisant des stratégies des protections orthogonales simplifiées (section 4.4), et reportée au laminaribiose, des dérivés mono- et disaccharidique tel que l'acide β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -D-glucuronique peuvent être obtenus. L'unité D-mannosyle, sera lié à ce dernier pour former le trisaccharide répétitif du squelette du Cepacian et sera ensuite soumis à une glycosilation avec le D-rhamnoside, obtenu après la déoxygenation de la position 6 d'un D-mannoside, afin d'obtenir le tétrasacchride cible. Finalement, l'hexasaccharide sera alors synthétisé à partir de ce dernier avec 2 équivalents du dérivé D-galactoside dans une seule réaction de β -glycosylation.

La stratégie est donc basée sur la préparation d'une variété de donneurs de type D-glucosyles, D-galactosyles et D-mannosyles ainsi que sur la synthèse de l'accepteur α -D-glucopyranoside d'allyle dont la configuration α sera contrôlée par une simple réaction de Fischer¹⁰⁷ en raison de la prédominance de l'effet anomérique. Par la suite, une séquence synthétique conduira aux D-rhamnosides donneurs et accepteurs à partir du mannose. L'assemblage des ces synthons s'établira en fin de séquence pour former une librairie d'oligosaccharides et sera suivi d'un couplage avec les peptides Tc épitope décrits au Chapitre III pour former les glycopeptides cibles.^{108,109,110,111}

¹⁰⁷ Capon, B. *Chem. Rev.* **1969**, *69*, 407-498.

¹⁰⁸ Mori, T.; Hatano, K.; Matsuoka, K.; Esumi, Y.; Toone, E. J.; Terunuma, D. *Tetrahedron*. **2005**, *61*, 2751-2760.

¹⁰⁹ Ramos, D.; Rollin, P.; Klaffke, W. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 2948-2956.

¹¹⁰ Roy, R.; Baek, M.-G.; Rittenhouse-Olson, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 1809-1816.

¹¹¹ Van Seeventer, P. B.; Van Dorst, J. A. L. M.; Siemerink, J. F.; Kamerling, J. P.; Vliegthart, J. F. G. *Carbohydr. Res.* **1997**, *300*, 369-373.

4.3 SYNTHÈSE DE RÉSIDUS D-GALACTOPYRANOSIDES

Dans un premier temps, selon la rétrosynthèse décrite dans le **Schéma 10**, les deux extrémités du motif répétitif du Cepacian, le D-galactopyranoside est le résidu qui nécessite uniquement la préparation de donneurs sans entrer dans le jeu des protections et déprotections sélectives.

Dans un premier temps, le dérivé imidate a été choisi comme donneur parmi les autres types détaillés au **Schéma 9**. La synthèse débute classiquement avec une réaction d'acétylation dans des conditions basiques, en présence d'anhydride acétique et de pyridine en tant que co-solvant, et d'un catalyseur DMAP (méthode de Behrend).¹¹² L'acétylation, quasi-quantitative, a permis d'obtenir le dérivé penta-acétylé **13** à partir du D-galactopyranose **12**. En revanche un mélange d'anomères persiste (**Schéma 11**). À température ambiante, l'effet thermodynamique est prédominant et l'effet anomérique est responsable de la formation majoritaire du dérivé α . Il est à noter que ce mélange d'anomères ne cause généralement que peu de problèmes pour les étapes suivantes de la synthèse (les réactions sont cinétiquement plus lentes étant donné la plus grande stabilité de l'anomère α -D-per-acétylé). Cependant, afin d'avoir une régiosélectivité en faveur du dérivé β lors de ce type de réaction d'acétylation, la méthode Wolfrom et Thompson¹¹³ a été employée en jouant sur l'encombrement stérique. En effet, durant cette réaction exothermique, en présence d'acétate de sodium dans l'anhydride acétique à reflux, la cinétique prend le dessus, et le composé β -D-per-acétylé **14** est majoritairement isolé après cristallisation dans l'éthanol absolu.

¹¹² Behrend, R.; Osten, H. *Justus Liebigs Annalen des Chemie* **1905**, 343, 133-151

¹¹³ Wolfrom, M. L. and Thompson, A. *Methods. Carbohydr. Chem.* **1963**, 211-215.

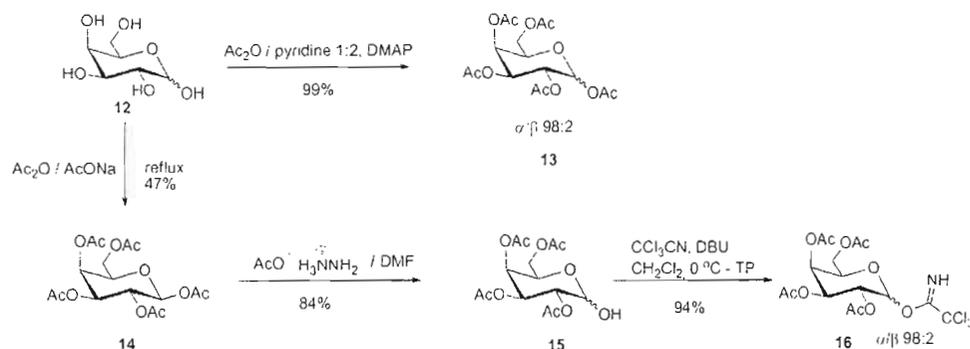


Schéma 11. Synthèse du donneur D-galactoside de type trichloroacétimide.

Afin de convertir l'acétate anomère en donneur trichloroacétimide, nommé réactif de Schmidt, la déprotection sélective de l'acétate anomère du composé **14** par l'acétate d'hydrazine dans le DMF pour former l'hémiacétal **15** a été réalisée.^{114,115} La sélectivité de ce réactif pour l'acétate anomérique s'explique par sa plus grande sensibilité vis-à-vis d'une attaque nucléophile que les autres positions. Le prototropisme de l'acétate d'hydrazine entraîne la formation d'une espèce zwitterionique qui explique l'attaque exclusive de l'azote en extrémité sur le carbone du carbonyle du groupement protecteur ester pour former l'hémiacétate correspondant **15**.¹¹⁶ Ce dernier est ensuite converti en trichloroacétimide dans du dichlorométhane distillé par le réactif trichloroacétonitrile en présence de DBU utilisé comme une base encombrée afin d'avantager la formation d'un produit de configuration en « α ».¹¹⁷ Ce dérivé trichloroacétimide ainsi synthétisé est avantageux par rapport au donneur thiolé (**Schéma 12**), de part son activation rapide en présence d'une variété d'acide de Lewis fréquemment utilisés comme TMSOTf ou $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$. En outre, ce donneur présente des caractéristiques chimiques intéressantes. En effet, cet imidate est hydrolytiquement très stable, facile à préparer et à purifier, et peut se conserver à long terme. Enfin, la préparation sélective d' α - ou β -imidate peut être contrôlée selon les bases utilisées (K_2CO_3 pour un β -imidate et une configuration en « α » en utilisant le NaH ou le DBU).

¹¹⁴ Excoffier, G.; Gagnaire, D.; Utile, J.-P. *Carbohydr. Res.* **1975**, *39*, 368-373.

¹¹⁵ Numata, M.; Sugimota, M.; Koike, K.; Ogawa, T. *Carbohydr. Res.* **1987**, *163*, 209-225.

¹¹⁶ Excoffier, G.; Gagnaire, D.; Utile, J. P. *Carbohydr. Res.* **1975**, *39*, 368-373.

¹¹⁷ Cheng, H. *et al. J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 645-652.

Finalement, d'un point de vue strictement synthétique, son utilisation en tant que donneur permet une glycosylation avec de très bons rendements.¹¹⁸

L'utilisation d'un glycoside thiolé comme donneur présentent lui aussi des avantages certains et est également choisie par plusieurs groupes spécialisés en chimie des sucres. Sa stabilité dans différentes conditions réactionnelles est appréciée, permettant son installation précoce dans la séquence synthétique. En revanche, un réactif thiophényle couplé à un acide de Lewis seront nécessaire comme promoteurs d'une réaction de glycosylation ou de glycosidation en présence d'un thioglycoside donneur. Ainsi, ce type de chimie à souvent recourt aux réactifs iodés, tels que *N*-iodosuccinimide (NIS)¹¹⁹, ou l'iode dicollidine perchlorate (IDCP), mais également du DMTST en présence de MeOTf.¹²⁰ On retrouve encore certains couples de réactifs spécifiques tels que: 1-Benzenesulfinyl pipéridine (BSP)/Tf₂O élaboré par Crich et al.¹²¹ ou Ph₂SO/Tf₂O par van des Marel et al.¹²², qui constituent les principaux promoteurs pour une glycosylation efficace. Par conséquent, deux étapes d'activation seront nécessaires contrairement au dérivé trichloroacétimidate n'en réquérant qu'une seule.

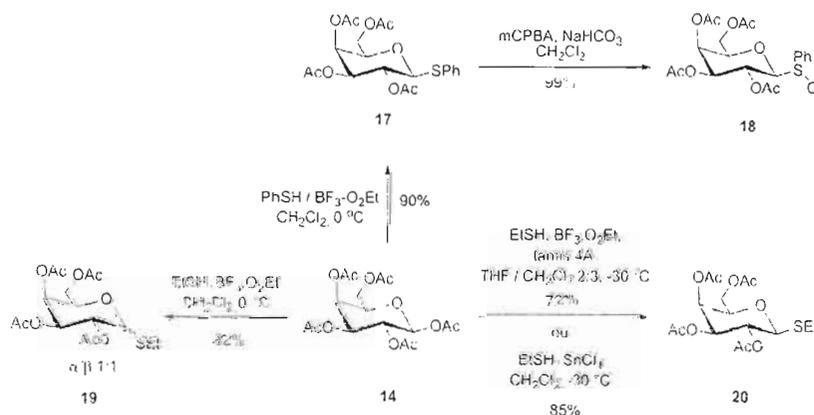


Schéma 12. Synthèse des donneurs D-galactosides de type thioglycosides.

¹¹⁸ Schmidt, R. R.; Kinzy, W. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1994**, *50*, 21-123.

¹¹⁹ Fügedi, P.; Garegg, P. J.; Lönn, H.; Norberg, T. *J. Glycoconjugate* **1987**, *4*, 97-108.

¹²⁰ Ravindranathan, Kartha, K. P.; Aloui, M.; Field, R. A. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *29*, 5175-5178.

¹²¹ Crich, D.; Smith, M. *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, *123*, 9015-9020.

¹²² Codee, J. D.; Litjens, R. E. J. N.; den Heeten, R.; Overkleeft, H. S.; van Boom, J. H.; van der Marel, G. A., *J. Org. Lett.*, **2003**, *5*, 1519-1522.

En plus de la synthèse du donneur trichloroacétimidate **16**, différents thioglycosides ont donc également été envisagés pour être utilisés lors de la future glycosylation. Pour ce faire, la formation du β -acétate **14** est suivie d'une glycosidation (section 4.1.3) contrôlée par l'effet anchimérique (Section 4.1.2, et **Schéma 8**). Dans le dichlorométhane fraîchement distillé, le doublet de l'oxygène de l'acétate anomérique du dérivé β -penta-acétate **14** attaque l'acide de Lewis présent dans le milieu réactionnel, responsable de l'augmentation du caractère électrophile δ^{++} du carbonyle. Par conséquent, le déplacement du doublet de l'oxygène endocyclique vers le π^* du carbone anomérique (C-1) annule la charge cationique pour former un intermédiaire de type oxonium puis de type oxocarbénium après assistance anchimérique. La réaction procède par une attaque nucléophile de l'aglycone envisagé en C-1 sur la face préférentielle, c'est-à-dire à l'aide de la participation anchimérique qui bloque la face « α ». En conséquence, le β -thiophénylglycoside **17**¹²³ est isolé avec un rendement de 90%.

Ce thiophényle donneur **17** est le moins réactif des donneurs thiolés. Afin d'augmenter cette dernière, un autre type de donneur a été synthétisé par mono-oxydation avec l'oxydant mCPBA dans le dichlorométhane en présence de NaHCO_3 comme base. Le phénylsulfoxyde galactopyranoside **18**^{124,125} est ainsi obtenu par cette méthode rapide et sélective avec un rendement quantitatif.¹²⁶

Les dérivés thioéthyle donneurs **19-20**, de part leur petite taille, sont encore plus réactifs que le phénylsulfoxyde galactopyranoside **18** activé par l'effet des doublets libres de l'oxygène de la fonction sulfoxyde. Ainsi, la synthèse de thioéthyle donneur a également été effectuée afin d'avoir une série de donneurs galactosides disponibles pour les β -D-galactosylations ultérieures. L'effet anchimérique cité précédemment pour la synthèse du composé **17**, n'a pas été très efficace dans le cas de la synthèse de thiogalactopyranoside d'éthyle **19**, dans les mêmes conditions réactionnelles. En résultat, l'acide de Lewis fort

¹²³ Agnihotri, G.; Tiwari, P.; Misra, A. K. *Carbohydr Res.* **2005**, *340*, 1393-1396.

¹²⁴ Noureddine, K. *et al. Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 8267-8270.

¹²⁵ Madhussudanan, K. P.; Kumar, B.; Kanojiya, S.; Agnihotri, G.; Misra, A. K. *J. Mass Spectrom.* **2006**, *41*, 1322-1333.

¹²⁶ Agnihotri, G.; Tiwari, P.; Misra, A. K. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 8113-8116

$\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ utilisé active rapidement et le groupement thioéthyle attaque sans attendre la formation de l'acétoxy carbénium, c'est-à-dire sans participation anchimérique. On obtient donc avec un rendement de 82% un mélange anomère α/β avec un ratio de 1 : 1.

Cependant, l'utilisation à basse température ($-30\text{ }^\circ\text{C}$) d'un mélange de THF/dichlorométhane 2 : 3 a des effets sur la glycosidation, car la polarisation par THF diminue la réactivité du thioéthyle et permet la participation anchimérique. De ce fait, l'attaque nucléophile est réalisée par la face « β » pour conduire au composé **20** désiré avec un rendement de 72%. Finalement, cette stéréochimie a été couplée à la méthode stéréosélective en utilisant le chlorure de zinc qui favorise la formation de 1,2-*trans*-1-thioglycopyranoside.¹²⁷ La formation de l' α -chlorure intermédiaire a pour conséquence l'obtention du β -D-thiogalactopyranoside d'éthyle **20** avec un rendement de 85%.

La réactivité des différents donneurs galactopyranosides de type thiolés **17**, **18**, **19** et **20** pourra ainsi être étudiée lors des diverses réactions de glycosylation. Par exemple, l'influence de l'effet stérique du donneur sur le bon déroulement des réactions pourra être évaluée. Les groupements protecteurs sur les positions restantes peuvent de même avoir une influence et conduire à des effets de torsion structurelle et d'encombrement stérique favorables lors de la glycosylation. Ainsi, dans un premier temps, ces précurseurs devront être protégés de façon adéquate et sélective (**Schéma 13**).

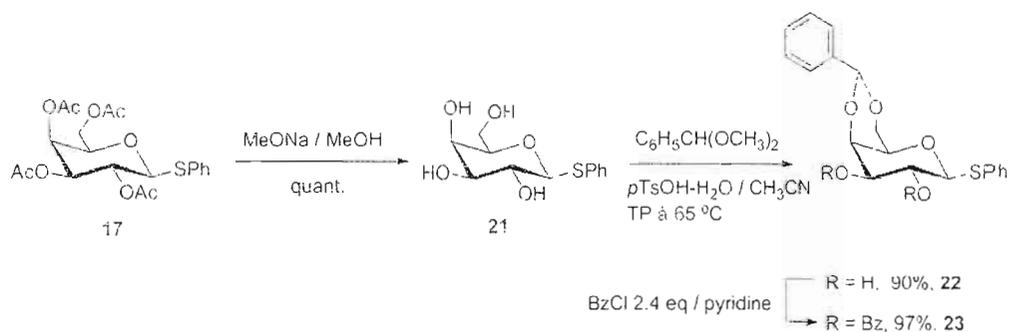


Schéma 13. Synthèse du donneur phényl 1-thio- β -D-galactoside.

¹²⁷ Contour, M. O.; Defaye, J.; Little, M.; Wong, E. *Carbohydr Res.* **1989**, *193*, 283-7

La désacétylation quantitative du composé **17** a été conduite dans les conditions de Zemplén, préconisant l'utilisation de méthanolate de sodium dans le méthanol. L'attaque nucléophile du méthanolate sur le carbone δ^+ du carbonyle génère l'alcoxyde qui est protoné dans le milieu réactionnel par le méthanol pour régénérer du méthanolate. Le **Schéma 14** illustre le mécanisme de cette trans-estérification. Aucune purification supplémentaire n'est nécessaire du fait de la neutralisation du méthanolate par une résine acide lors du traitement et du caractère volatil de l'acétate de méthyle formé.

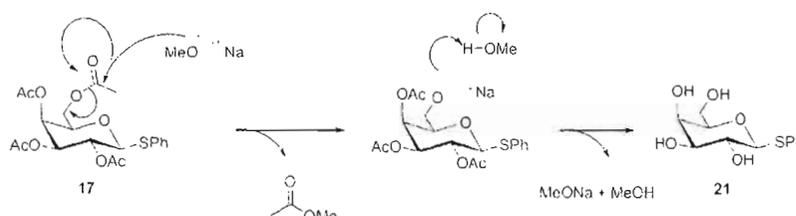


Schéma 14. Mécanisme de trans-estérification dans les conditions de Zemplén.

Le groupement benzylidène permet de protéger sélectivement les positions 4 et 6 du β -D-thiogalactopyranoside de phényle **21** (**Schéma 13**). L'acétate masqué du réactif α,α -diméthoxytoluène est activé par l'acide *p*-toluènesulfonique. Il devient alors la cible de la première attaque de l'hydroxyle primaire (OH-6). La seconde attaque concerne l'hydroxyle secondaire en position 4 de plus faible nucléophilicité. En dépit de la conformation axiale de l'OH-4, l'augmentation de la température favorise la réactivité électronique et par conséquent, le 4,6-*O*-benzylidène-1-thio- β -D-galactopyranoside de phényle **22** est formé et isolé avec un rendement de 90%. Une benzylation sur les hydroxyles libres restants dans les conditions classiques, est ensuite réalisée. Le donneur thiogalactopyranoside de phényle **23** complètement protégé est alors disponible pour des glycosylations subséquentes.

Le thioéthyle galactopyranoside donneur **20** a également subi des modifications chimiques au niveau de la nature de ses groupements protecteurs. La dé-*O*-acétylation quantitative du composé **20** a été réalisée tel que décrit précédemment dans les conditions de Zemplén, conduisant au composé **21**. La protection des fonctions hydroxyles résultantes sous la forme de pivaloate en milieu basique en présence d'un excès de chlorure de

triméthylacétyle (12 éq) a par la suite été effectuée. Ce type de protection a été envisagé pour prévenir la formation d'un orthoester qui pourrait se former avec un groupement acétate **20**.

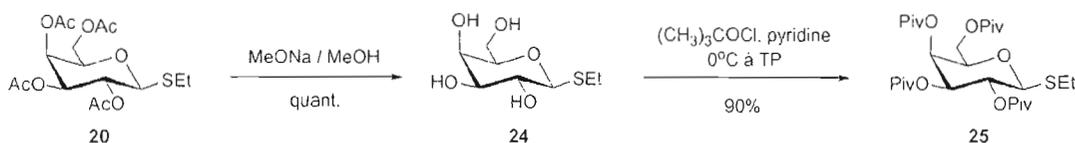


Schéma 15. Synthèse du donneur D-galactoside encombré.

En résumé, une série de galactopyranosides donneurs de type trichloroacétimidates et thioglycosides ont été synthétisés de façons efficaces et constituent des synthons directement disponibles pour la synthèse de l'hexasaccharide cible du Cepacian.

4.4 SYNTHÈSE DE RÉSIDUS D-GLUCOPYRANOSIDES

La deuxième partie de la synthèse concerne celle du laminaribiose. Ce disaccharide est composé de deux unités de la série D-glucopyranoside, suivant la stratégie de synthèse discuté auparavant (section 4.2) indiquant la préparation d'un seul motif qui conduira au disaccharide finale, c'est-à-dire du même synthon pour le laminariobiose.

Comme pour toutes les glycosylations, un donneur et un accepteur sont nécessaires pour former la liaison glycosidique. En ce sens, une étude méthodologique sur la synthèse du donneur de type imidate a été effectuée dans cette série D-glucopyranosyle. À partir du D-glucose naturel, une séquence « one-pot » impliquant une per-acétylation suivie d'une déprotection anomérique sélective en utilisant la morpholine dans ce cas au lieu de l'acétate de l'hydrazine dans le cas de galactoside **15**, et la conversion de l'hémiacétal non isolé conduit au dérivé trichloroacétimidate **27** avec 42% de rendement global, ne mettant en œuvre qu'une seule purification (**Schéma 16**).

Afin de comparer des effets des deux bases, morpholine et l'acétate d'hydrazine **28**, cette dernière a été synthétisée dans un mélange diéthyl éther/acide acétique à partir d'hydrazine hydratée. Le réactif **28** précipite dans ces conditions réactionnelles et une cristallisation dans l'éthanol absolu permet de l'obtenir avec un rendement de 72%. Son caractère hygroscopique implique sa conservation sous atmosphère inerte.

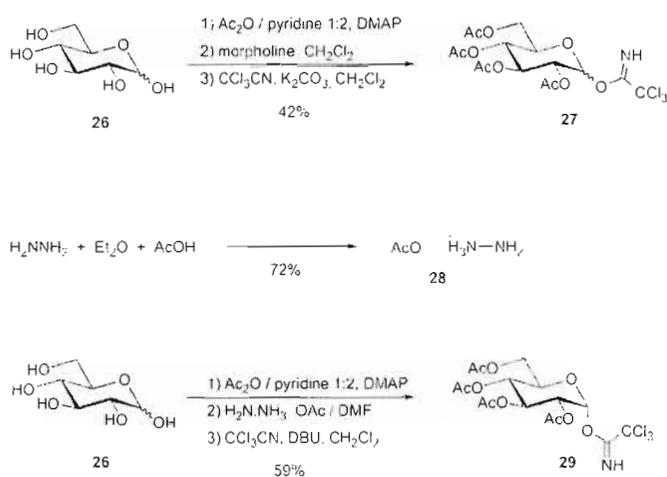


Schéma 16. Comparaison de la synthèse sélective du donneur 2,2,2-trichloroacétimide de 2,3,4,6-tétra-*O*-acetyl- α -D-glucopyranoside.

Finalement, à partir de glucose commerciale **26**, la synthèse du donneur trichloroacétimide **29** a été effectuée dans les mêmes conditions que celles utilisées pour la synthèse du donneur **27** en utilisant l'acétate d'hydrazine pour la désacétylation anomérique sélective. Cette séquence permet d'obtenir l' α -trichloroacétimide de glycosyle **29** avec un meilleur rendement de 59%. Le choix de la base, K_2CO_3 ou DBU, lors de la dernière étape du processus confirme donc son influence sur la stéréochimie du trichloroacétimide formé. Les deux anomères purs ainsi que le mélange seront engagés dans des réactions de glycosylation et leur réactivité respective sera discutée dans le Chapitre V, section 5.3.

La transformation d'un thioglycoside en un autre type de donneur est une caractéristique synthétique avantageuse de ces composés (**Schéma 9**). Pour illustrer ce cas, le pentaacétate de β -D-glucopyranose **30** a été synthétisé dans les mêmes conditions que celles de la synthèse du galactose **14** en utilisant la méthode de Wolfrom et Thompson¹¹³ avec 66%

rendement isolé après cristallisation. Le β -thioglucopyranoside de phényle **31** a également été obtenu selon la même procédure que le galactoside **17**. Les groupements acétates et thiophényles de ces deux glucosides **30** et **31** ont par la suite été modifiés sélectivement avec le réactif approprié pour conduire au précurseur du dérivé trichloroacétimide **32** (Schéma 17).

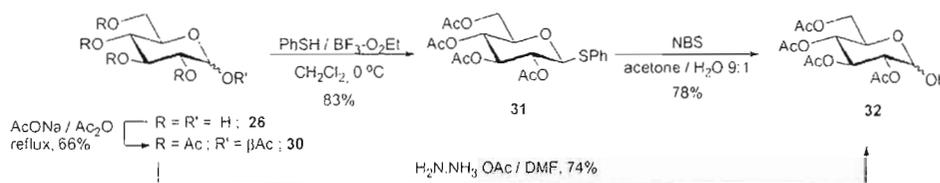


Schéma 17. Transformation du donneur thioglycoside en précurseur de trichloroacétimide.

L'acétate anomérique du composé **30** est déprotégé avec l'acétate d'hydrazine et isolé avec un rendement de 74%. Ce glycoside a servi de témoin pour la modification sélective du groupement thiophényle du composé **31**. L'affinité entre un thiol et un iodure est beaucoup plus grande qu'avec bromure, et comme la Schéma 9 l'indique, cette réaction se fait à l'aide du NIS (Section 4.3). Cependant, la modification du thiophényle **31** en hémicétyl **32** réalisée selon la procédure publiée par Motawia.¹²⁸ En utilisant le *N*-bromosuccinimide comme réactif dans un mélange acétone/eau 9:1, l'hémicétyl a été obtenu avec un rendement de 78% (Schéma 17).

Une fois l'optimisation de la synthèse et de la stratégie de transformation du donneur établies, la synthèse du laminaribiose peut être envisagée. De même que la stratégie d'oxydation d'un D-glucoside en dérivé d'acide D-glucuronique, la conversion du laminaribiose sera réalisée après la synthèse du disaccharide. Le 4.6-benzylidène- α -D-glucopyranoside d'allyle **33** a été choisi stratégiquement comme le synthon principal (Schéma 18). La fonction allyle est envisagée pour la future conjugaison planifiée auparavant avec une configuration en « α », identique à celle présente dans le motif du Cepacian. La protection sélective de la position 2 peut être quant à elle contrôlée par la chimie de l'étain conduisant au futur accepteur.

¹²⁸ Motawia, M. S. *et al. Carbohydr. Res.* **2001**, *330*, 309-318.

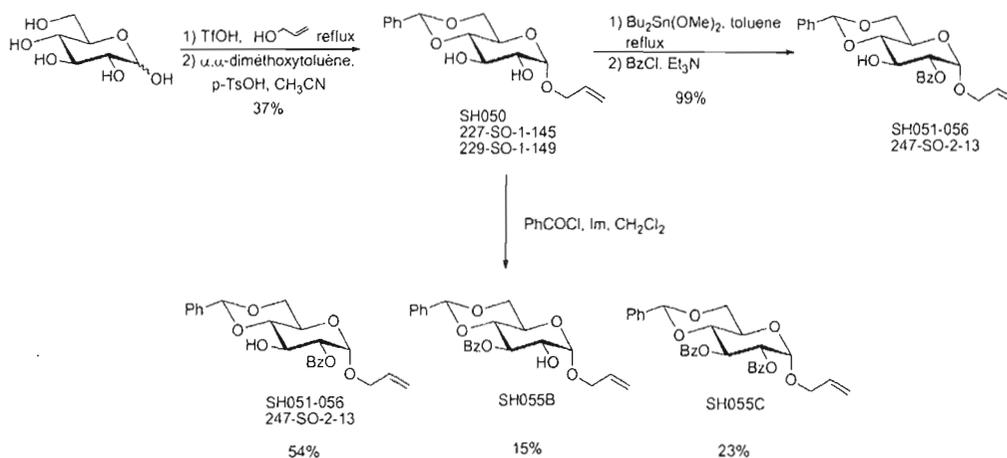


Schéma 18. Synthèse de l'accepteur D-glucopyranoside avec et sans réactif d'étain.

Selon les conditions de Fischer, l'alcool allylique, préalablement distillé, est utilisé comme solvant pour former un D-glucoside préférentiellement d'anomérie « α » (configuration axiale), selon l'effet anomérique après l'activation du glucose à reflux lors d'une catalyse acide. L' α -D-glucopyranoside d'allyle ainsi formé est directement engagé dans la réaction de protection sélective des positions 4 et 6 sous la forme d'un benzyldène dans les mêmes conditions que la trans-acétalation du galactoside **22**. L'isolation du précurseur **33** a été effectuée à hauteur de 37% après cristallisation. Les multiples signaux caractéristiques du système allylique et du benzyldène sont observés par RMN du proton (^1H) et du carbone (^{13}C).

À partir de ce synthon commun, une stratégie de synthèse va être engagée dans le but de conduire aux cibles principales, dont l'acide glucuronique tétraglycosylé. La formation de l'accepteur débute par la protection régiosélective de la position O-2 par un benzoate *via* un intermédiaire de type stannylidène (**Schéma 18**). Le diol **33** est alors traité avec du diméthoxyde de dibutylétain pour former un intermédiaire de type acétal d'étain entre les oxygènes de l'hydroxyle en position O-2 et du groupement allyle anomérique. La donation électronique de l'orbitale *d* de l'étain plus le doublet d'oxygène anomérique qui est en « α » forme le phénomène de rétrodonation électronique et contrecarré, l'effet inductif de la position O-3. Le nuage électronique est alors localisé sur la position O-2. En conséquence, la

nucléophilie de l'oxygène du groupement hydroxyle en position 2 augmente.¹²⁹ L'équilibre de la réaction est déplacé en faveur de cet intermédiaire d'étain par l'élimination du méthanol, généré dans le milieu réactionnel, en utilisant un montage de type Dean-Stark. Ce pouvoir nucléophilique favorise la réaction avec le chlorure de benzoyle et permet d'obtenir uniquement le dérivé mono-benzoylé **34** en position *O*-2 avec un rendement de 99% et qui sera utilisé ultérieurement comme accepteur de glucosyle lors d'une glycosylation. Ce complexe intermédiaire n'a pas été prouvé par l'analyse en RMN. Cependant ce complexe d'étain est connu et employé lors de « l'inversion de la nucléophilicité » nécessaire à la protection sélective de la position *O*-2 d' α -D-glucosides par rapport à la position *O*-3. Cette protection sélective de la position 2 par un groupement benzoyle s'observe grâce au signal doublet dédoublé du proton *H*-2 à 5.04 ppm ($^3J_{2,3} = 9.6$ Hz), qui est déplacé à champ faible et dont la multiplicité est simplifiée. La corrélation entre *H*-3 (4.40 ppm, td, 1H, $^3J_{3,4} = 9.6$ et $^3J_{3,OH} = 2.1$ Hz) et *OH*-3 est également confirmé par l'expérience bidimensionnelle homonucléaire de type COSY. Les autres signaux restent relativement semblables à ceux du composé **33**, notamment celui du proton *H*-3. Néanmoins, une benzylation non sélective a été réalisée en utilisant un seul équivalent du chlorure de benzoyle dans la pyridine afin de confirmer l'utilité de ce réactif d'étain.

La benzylation non sélective (Schéma 18) réalisée dans les conditions standards en utilisant l'imidazole comme base conduit à la formation de trois composés facilement isolables : le composé **34** avec une benzylation en position *O*-2 dans un rendement de 54%, le composé **35** avec une benzylation en position *O*-3 dans un rendement de 15% et le composé dibenzoylé **36** avec un rendement de 23%. Cette observation confirme l'utilité d'effectuer cette benzylation sélective à l'aide du complexe d'étain, $Bu_2Sn(OMe)_2$. En revanche, la benzylation non sélective peut également s'avérer utile puisqu'elle génère trois dérivés isolables et diversement protégés en une seule étape. Par exemple, le composé **35** (*OH*-2) peut constituer l'accepteur pour l' α -D-galactosylation et ainsi atteindre l'heptasaccharide original du Cepacian. Le composé di-benzoylé **36** constitue quant à lui un intermédiaire dans la synthèse d'un trisaccharide cible final.

¹²⁹ Boons, G. J.; Castle, G. H.; Clase, J. A.; Grice, P.; Ley, S. V.; Pinel, C. *Synlett* **1993**, 12, 913-914.

Après la benzoylation sélective de la position *O*-2 conduisant au précurseur accepteur **34** du laminariobioside, la protection de la position *O*-3 suivie de la déprotection sélective du benzylidène et d'une acétylation finale pourrait conduire après la conversion en trichloroacétimidate à un glycosyle donneur en vue de la préparation d'un laminariobioside orthogonalement protégé. En effet, la position *O*-3 sera mise en jeu lors de la glycosylation avec du D-mannopyranosyle donneur pour former le squelette trisaccharidique répétitif du Cepacian. Dans ces conditions, le groupement silylé a été choisi en tant que groupement protecteur, puisque ce dernier est stable en milieu basique et labile en milieu acide et/ou en présence d'ions fluorures.

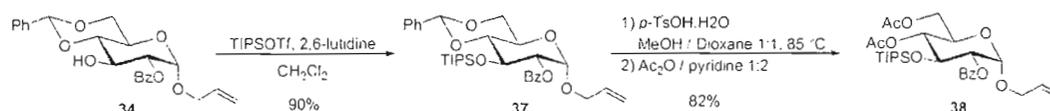


Schéma 19. Préparation du synthon pour la conversion de l'accepteur en du donneur D-glucopyranoside orthogonalement protégé.

Le groupement benzylidène du composé *O*-silylé **37** obtenu à partir du composé **34** avec un rendement de 90%, en présence de triisopropylsilyle trifluorométhanesulfonate (TIPSOTf) et de 2,6-lutidine comme base a par la suite été clivé dans un mélange de MeOH/dioxane 1:1 en utilisant l'acide *p*-toluènesulfonique comme catalyseur (**Schéma 19**). Ce catalyseur active l'oxygène 4 cyclique du groupement benzylidène qui est le plus basique des deux¹³⁰ (l'ion oxonium en C-6 est plus stable qu'en C-4). Le retour du doublet de l'oxygène 6 conduit à la formation d'un acétal activé et la première déprotection en même temps, suivie d'une attaque du méthanol ou du dioxane (qui ont également un rôle sur l'ouverture régiosélective du benzylidène)^{131,132} pour former un acétal caché. Celui-ci est ensuite re-activé par l'échange protonique et le retour du doublet de l'oxygène afin d'annuler la charge positive sur l'oxygène 4 du sucre. Finalement, l'attaque du solvant sur le carbonyle δ^+ activé conduit à la déprotection totale du benzylidène (réactivité augmentée par chauffage). La déprotection n'est pas régiosélective dans ce cas. Ce diol non isolé est ensuite acétylé dans les conditions standard pour obtenir le D-glucopyranoside **38** avec un rendement

¹³⁰ Garegg, P. J.; Hultberg, H. *Carbohydr. Res.* **1981**, *93*, C10-C11.

¹³¹ Lipták, A. *Tetrahedron Lett.* **1976**, *17*, 3551-3554.

¹³² Lipták, A.; Fügedi, P.; Nánási, P. *Carbohydr. Res.* **1976**, *51*, C19-C21.

de 82% sur deux étapes, qui est prêt pour être converti en donneur afin de procéder à la glycosylation pour former le laminariobioside. Le synthon **38** a été envisagé pour l'hexasaccharide cible final.

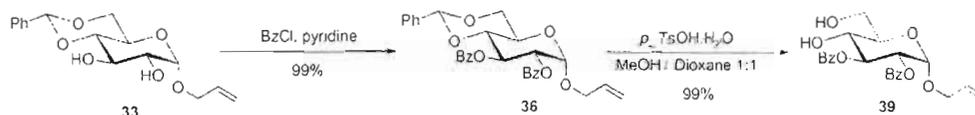


Schéma 20. Synthèse du précurseur de l'acide D-glucuronique.

En vue de l'obtention du trisaccharide cible, le synthon commun **33** a subi une benzoylation classique des deux fonctions hydroxyles restantes dans la pyridine avec 2 équivalents de chlorure de benzoyle, pour la formation du dérivé 2,3-*O*-benzoylé **36** (**Schéma 20**). La déprotection du groupement benzylidène **36** conduit au diol **39** isolé avec un rendement quantitatif qui servira par la suite dans la conversion du D-glucoside en acide D-glucuronique.

4.5 CONVERSION DE D-GLUCOPYRANOSIDE EN ACIDE D-GLUCURONIQUE

Suite à l'analyse structurale et rétrosynthétique du Cepacian, l'acide glucuronique est le glycoside tétraglycosylé central. Il représente donc la cible principale de la synthèse totale. Pour ce faire, deux cheminements ont été envisagés, à partir de D-glucoside discuté précédemment ainsi qu'une synthèse adaptée connue de la littérature en une seule étape.¹³³

Le diol **39**, obtenu après la déprotection du benzylidène **36**, est oxydé sélectivement au niveau de l'hydroxyle primaire en position 6 en aldéhyde puis en acide carboxylique (**Schéma 21**). La synthèse s'effectue selon un mécanisme ionique¹³⁴ illustré au **Schéma 22** mettant en jeu un oxydant en quantité catalytique, le radical 2,2,6,6-tétraméthyl-1-

¹³³ Von Roedern, E. G.; Lohof, E.; Hessler, G.; Hoffmann, M. and Kessler, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 10156-10167.

¹³⁴ De Mico, A.; Margarita, R.; Parlante, L.; Vescovi, A. and Piancatelli, G. *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 6974-6977.

pipridinyloxy (TEMPO), et un co-oxydant, le bisacétoxyiodobenzène (BAIB), qui permet dans un premier temps d'activer le TEMPO en sel d'oxoammonium, puis de le régénérer.¹³⁵ Le BAIB possède un iodure hypervalent qui joue également un rôle dans l'échange protonique durant la phase d'attaque de l'alcool sur le sel d'oxoammonium.^{136,137} L'intermédiaire d'acide glucuronique a été ensuite protégé sous la forme d'un ester méthylique afin de faciliter la suite de la synthèse. L'estérification a ainsi été effectuée dans l'acétonitrile en présence de carbonate de potassium afin d'augmenter la nucléophilicité δ^- de l'oxygène de la fonction acide permettant l'attaque sur l'iodométhane en excès (40 équivalent) *via* une S_N2 pour former l'accepteur D-glucuronate de méthyle **40**.

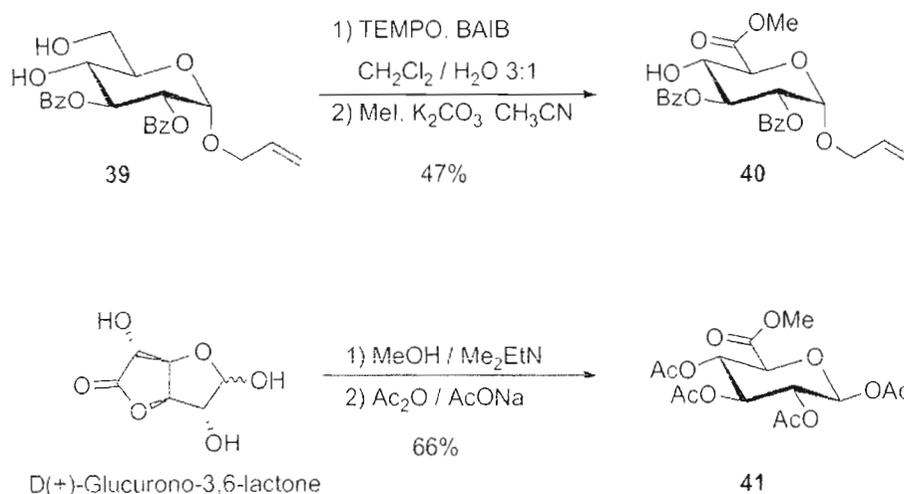


Schéma 21. Synthèse de l'acide D-glucuronique à partir de différents sucres.

¹³⁵ Codee, J. D. C.; Stubba, B.; Schiattarella, M.; Overkleeft, H. S.; Van Boeckel, C. A. A.; Van Boom, J. H.; Van der Marel, G. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 3767-3773.

¹³⁶ De Luca, L.; Giacomelli, G.; Masala, S.; Porcheddu, A. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 4999-5001.

¹³⁷ Zhao, M.; Li, J.; Mano, E.; Song, Z.; Tschäen, D. M.; Grabowski, E. J. J.; Reider, P. J. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 2564-2566.

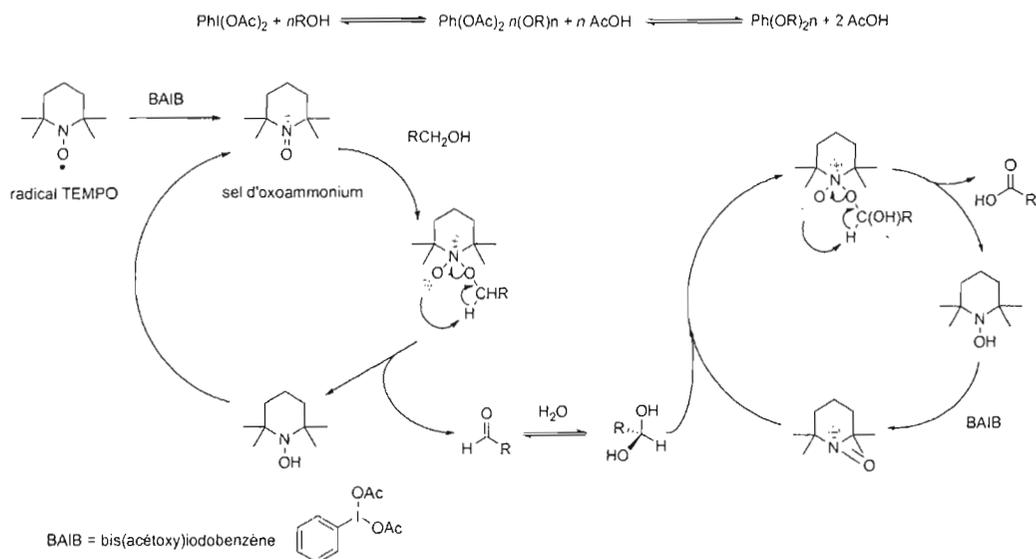


Schéma 22. Mécanisme d'oxydation sélective de l'hydroxyle primaire en utilisant le réactif TEMPO.

Il est à signaler que la séquence fastidieuse en six étapes pour obtenir l'accepteur de type acide glucuronique peut être remplacée par une autre voie de synthèse plus rapide. Selon le travail de Kessler *et al.*¹³³ le D-glucuronate de méthyle **41** peut être synthétisé à partir de la D(+)-glucurono-3,6-lactone dans du méthanol en présence du *N,N*-diméthyléthylamine suivi d'une acétylation avec un rendement de 66% sur deux étapes. Pour des raisons de problèmes inhérents aux transformations subséquentes nécessaires à une fonctionnalisation anomérique adéquate, cette voie a été abandonnée. Le tétra-acétate **41** peut être glycosidé en présence d'alcool allylique, mais des difficultés concernant l'anomérisation des produits synthétisés surviennent (effet anchimérique discuté dans la section 4.1.2 **Tableau III**). Une alternative consiste à passer par une glycosidation *via* un groupement thiolé suivi d'une trans-acétalation et d'une di-benzoylation sélective en contrôlant le nombre d'équivalent et la température afin d'avoir l'hydroxyle de la position 4 libre (le moins réactif) pour être un accepteur. Cependant, il en résulterait toujours un β -thioglycoside à cause de l'effet anchimérique et, de plus, la future conjugaison glycopeptidique a été envisagée par l'intermédiaire d'un groupement thiolé sur le peptidique Tc-épitope, un simple acide aminé « cystéine ». Pour l'ensemble de ces raisons, cette voie de synthèse a été abandonnée pour l'instant.

La préparation des synthons des deux glycosides situés aux extrémités, c'est-à-dire le D-galactoside et l'acide D-glucuronique central, ont été décrits jusqu'ici. Les derniers fragments monosaccharidiques du Cepacian restant à préparer sont donc le D-mannopyranoside et le D-rhamnopyranoside.

4.6 SYNTHÈSE DE RÉSIDUS D-MANNOPYRANOSIDES

Compte tenu du fait que la série D-rhamnoside appartient à la même « famille » que celle du D-mannoside, la synthèse a été stratégiquement divisée en deux voies indépendantes. En effet, le D-rhamnoside est le 6-deoxy-D-mannoside. Par conséquent, une réduction de la position 6 d'un mannoside conduira au rhamnoside correspondant. D'autre part, l'élaboration de synthèses permettant de fournir un accepteur en position 6 afin de le glycosyler avec un résidu D-gaïactosyle et un donneur pour un couplage avec un dérivé laminaribioside est nécessaire. Toutes ces synthèses ont été initiées à partir du D-mannose.

La per-(*O*)-acétylation du D-mannose **42** a dans un premier temps été effectuée dans les conditions standards (méthode de Behrend),¹³⁸ avec un mélange anhydride acétique/pyridine en présence de 4-diméthylaminopyridine (DMAP) comme catalyseur (**Schéma 23**). L' α -pentacétate **43** a ainsi été obtenu avec un rendement quantitatif sous la forme de cristaux. A la différence du pentacétate de galactose **13**, lors de cette réaction, on peut contrôler la proportion de chaque anomères formés en jouant sur la concentration en réactif : expérimentalement, nous avons pu observer qu'une forte concentration en sucre favorisait l'anomère α . De plus, la recristallisation peut également aider dans ce sens avec une prédominance pour l'anomère α .¹³⁹ L'analyse RMN ¹³C démontre clairement que dans la zone caractéristique du carbone anomérique situé autour de $\delta = 90$ -115 ppm, un seul signal est détecté à 90.5 ppm (**Figure 21**) et de même en RMN ¹H à $\delta = 6.09$ ppm pour l'anomère α .

¹³⁸ Johnson, T. B.; McCollum, E. V. *J. Biol. Chem.* **1906**, *1*, 437-449.

¹³⁹ Hudson, C. S.; Dale, J. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1915**, *37*, 1280-1282.

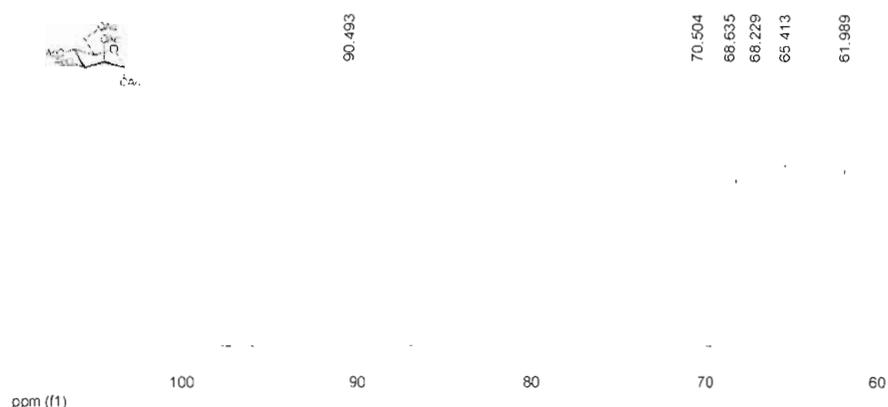


Figure 21. Spectre de la RMN ^{13}C du composé **43**.

Suite à la synthèse de l' α -pentacétyl-D-mannose **43** (Schéma 23), l'introduction du groupement *p*-méthoxyphényle en position axiale a été réalisée à l'aide des deux effets (anomérique et anchimérique), dans le dichlorométhane distillé en utilisant comme acide de Lewis l'acide trifluorométhansulfonique. La glycosidation conduit à la formation exclusive de l'anomère α -D du *p*-méthoxyphényle **44** avec un rendement de 95% sous la forme de cristaux. L'activation de l'acétate, la formation d'un intermédiaire oxycarbénium et l'acétoxy carbénium avec l'assistance de la position 2 de type ester permet l'attaque du méthoxyphénol uniquement par la face α afin de conduire à l' α -glycosidation (mécanisme détaillé dans le Schéma 8).

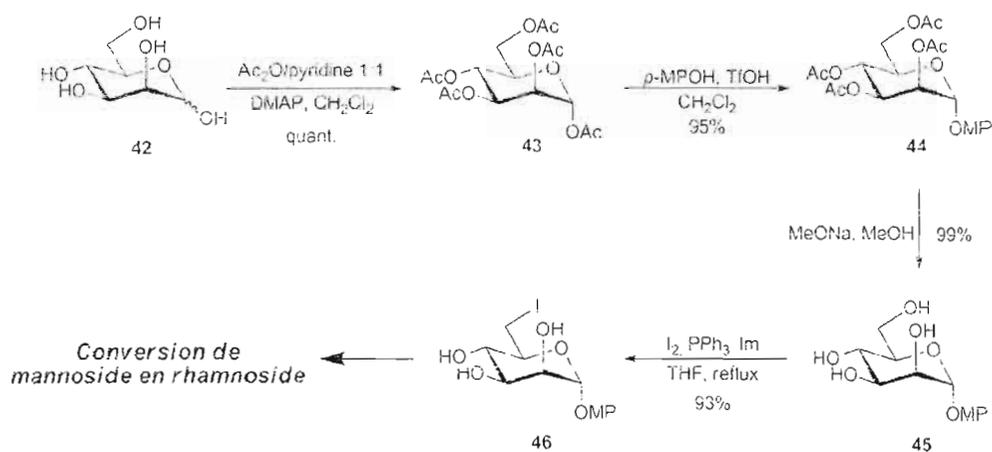


Schéma 23. Synthèse du précurseur D-Rhamnopyranoside de *p*-méthoxyphényle.

La déprotection des groupements acétates du composé **44** dans les conditions de Zemplén permet l'obtention du composé tétrahydroxylé **45** confirmée par analyse RMN : la disparition des signaux caractéristiques liés aux groupements acétyles et les déplacements des autres signaux vers des champs forts en RMN ^1H confirment une dé-*O*-acétylation complète.

L'iodation du composé **45** a été effectuée sélectivement sur l'hydroxyle primaire en présence de triphénylphosphine, d'imidazole et d'iode dans le THF à reflux pour obtenir le dérivé **46** qui sera utilisé pour la conversion du D-mannoside en D-rhamnoside.^{140,141} L'imidazole, utilisé en tant que base, accélère la réaction en captant le proton de l'hydroxyle primaire en position 6. La triphénylphosphine a été employée dans la réaction en raison de son affinité avec l'oxygène et permet la formation d'un intermédiaire de type phosphonium. L'addition d'iode (I_2) en présence de triphénylphosphine génère la formation d'ion iodure, qui peut ainsi substituer le groupement nucléofuge formé de type phosphonium (**Schéma 24**). *In fine*, le précipité d'oxyde de triphénylphosphine formé pendant la réaction a été éliminé complètement au moyen d'une filtration et/ou d'une cristallisation dans l'éther diéthylique à -80 °C. Finalement, le 6-deoxy-6-iodo mannoside **46** a été isolé comme l'unique composé avec un rendement de 93%. L'analyse RMN ^{13}C indique que le signal à 61.3 ppm caractéristique du C-6 du mannoside **45** est déplacé à 6.2 ppm, confirmant la réaction d'iodation désirée. Le synthon **46** ainsi obtenu représente un des précurseurs pour une conversion en D-rhamnoside.

¹⁴⁰ Bundle, D. R.; Gerken, M.; Peter, T. *Carbohydr Res.* **1988**, *174*, 239-251.

¹⁴¹ Skaanderup, P. R.; Poulsen, C. S.; Hyltoft, L.; Jørgensen, M. R.; Madsen, R. *Synthesis* **2002**, *12*, 1721-1727.

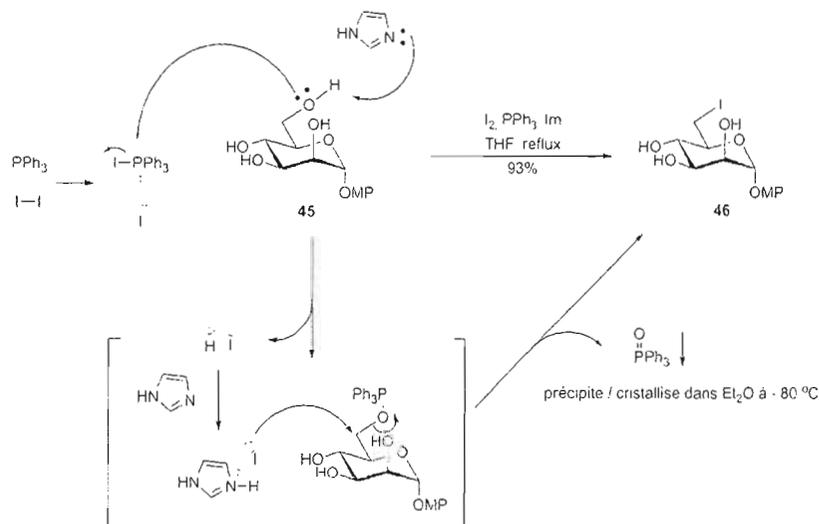


Schéma 24. Mécanisme d'iodation de la position 6.

Initialement, le *p*-méthoxyphényle a été envisagé comme aglycone du fait de sa stabilité dans diverses conditions réactionnelles. En dépit de cet avantage, la fonctionnalisation éventuelle de la position anomérique à partir de ce groupement nécessite des étapes supplémentaires. Afin de contourner ces désagréments synthétiques, un aglycone de type *O*-allylique a été installée à partir du D-mannose **42** selon une réaction de Fischer. Une réaction d'acétylation a ensuite permis d'obtenir le dérivé allylé tétra-acétylé **47** désiré. Le clivage des groupements acétates dans les conditions de Zemplén a conduit au dérivé α -D-*O*-mannoside d'allyle **48** dans un rendement quantitatif (Schéma 25).

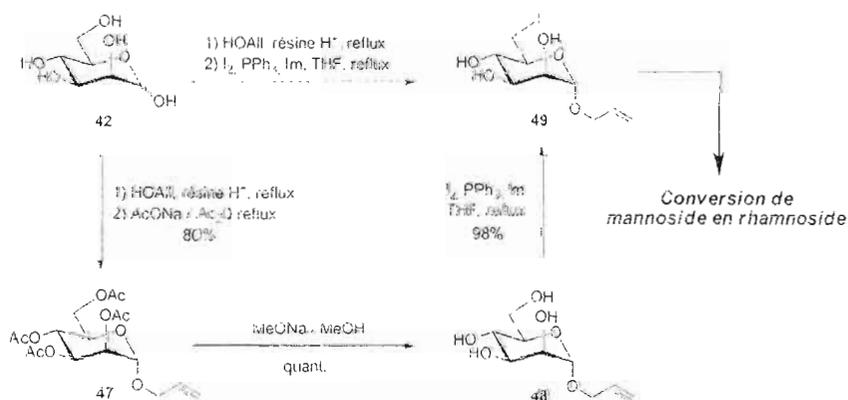


Schéma 25. Synthèse du précurseur D-Rhamnopyranoside d'allyle.

L'iodation quasi-quantitative dans les conditions réactionnelles décrites précédemment du composé **48** a alors été effectuée pour la synthèse du précurseur allylé iodé **49**. Compte tenu des étapes de protection-déprotection engagées dans cette séquence, une voie synthétique plus directe consistant en l'allylation/iodation « one-pot » du composé **42** pourrait être proposée.

Une seconde stratégie a été mise en réserve pour un autre type de conjugaison (Chapitre I). L' α -D-mannose de propargyle **50** est un de sucres les plus utilisés pour la synthèses de glycodendrimères ou de composés multivalents (Chapitre I).^{142,143} De ce fait, la synthèse du composé **50**, décrit dans la littérature¹⁴⁴ a été optimisée lors d'une glycosidation en utilisant le $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ comme acide de Lewis permettant d'isoler ce composé sous la forme de cristaux avec un rendement de 95% (contre 76% dans la littérature). Cette différence s'explique par l'utilisation du produit de départ d'anomère « α » et non d'un mélange d'anomères. Concernant la confirmation de la configuration « α », la valeur des angles entre $\text{H}_1\text{-C}_1\text{-C}_2\text{-H}_2$ pour l' α et le β selon la projection de Newman est identique (environ 45°) et celle de l'angle ϕ -dihédre ($\text{H}_1\text{-C}_1\text{-O}_1\text{-C}_2$ de aglycon) située normalement entre 45 et 60° est la même pour les deux configurations dans la série mannoside. Il est donc impossible de définir directement l'anoméris d'un sucre en série D-manno en se basant sur la valeur de la constante de couplage $^3J_{\text{H}_1\text{-H}_2}$ (Formule de Karplus). L'expérience RMN NOE permet de mettre en évidence des corrélations spatiales pour déterminer l'anoméris. L'expérience RMN ^{13}C non découplé de type HSQC (Heteronuclear Simple Quantum Correlation) permet simplement de mesurer la valeur du couplage $^1J_{\text{C}_1\text{-H}_1}$ et ainsi confirmer l'anomère α (~ 170 Hz. **Figure 22**).¹⁴⁵ Ces deux expériences confirment sans équivoque la configuration α exclusive du composé synthétisé.

¹⁴² Touaibia, M.; Shiao, T. C.; Papadopoulos, A.; Vaucher, J.; Wang, Q.; Benhamioud, K.; Roy, R. *Chem. Commun.* **2007**, 380-382.

¹⁴³ Touaibia, M.; Wellens, A.; Shiao, T. C.; Wang, Q.; Sirois, S.; Bouckaert, J.; Roy, R. *ChemMedChem.* **2007**, *2*, 119-1201.

¹⁴⁴ Das, S. K.; Corazon Trono, M.; Roy, R. *Methods Enzymol.* **2003**, *362*, 3-18.

¹⁴⁵ Bock, K.; Pedersen, C. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2: Physical Organic Chemistry.* **1974**, *3*, 293-297.

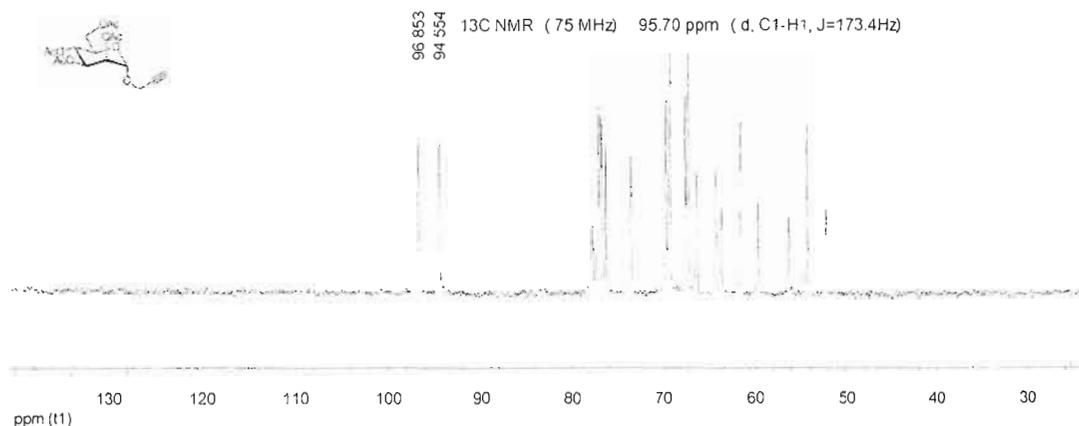


Figure 22. RMN ^{13}C non découplé de type HSQC du composé **50**.

Suite à la réaction de dé-*O*-acétylation, « transestérification », du composé **50**, le composé **51** déprotégé quantitativement a subi une iodation sélective sur la position 6 selon la même procédure que précédemment (Schéma 26). Cet iodure pourra de même être éventuellement précurseur de composés et fonctionnalisé en vue d'un couplage par « chimie click »¹⁴² pour la synthèse d'analogues.

L'iodure propargylé **52** a ensuite été mis en présence du catalyseur hétérogène au palladium de Lindlar afin de générer la fonction allylique terminale désirée. De façon surprenante, la réduction intégrale de la fonction alcyne en alcane a eu lieu, certainement provoquée par une sur-activation du catalyseur fournissant le composé **54** avec un rendement de 91%.

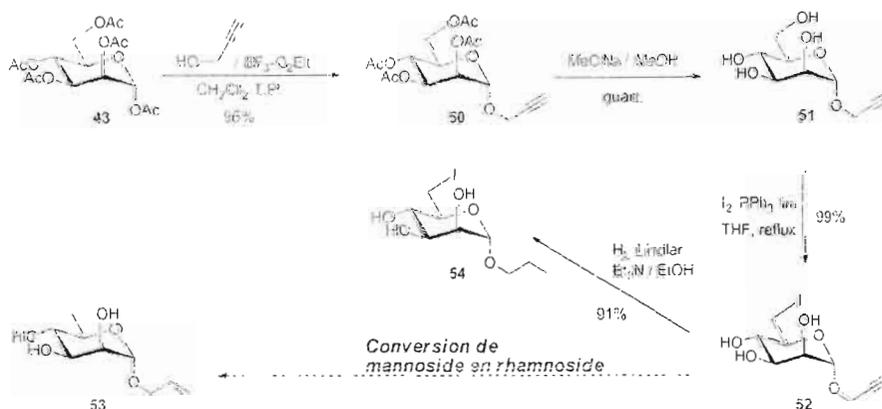


Schéma 26. Conversion de D-mannopyranoside propargylé en D-Rhamnopyranoside d'allyle.

Une tentative de réaction « one-pot » de déhalogénéation par voie radicalaire et d'hydrogénation de la fonction alcyne en présence du catalyseur de Lindlar n'a pas abouti au composé D-rhamnoside allylé **53**. L'iode est généralement sensible dans condition radicalaire et la réduction de l'alcyne en l'alcène est caractéristique du réactif Lindlar. Des études expérimentales concernant le choix des réactifs et des méthodes de synthèses pour générer les dérivés du D-rhamnoside, notamment à partir du dérivé **48**, seront l'objet des sections suivantes.

D'autre part, le D-mannose d'allyle **48** constitue également un précurseur de choix pour la synthèse d'accepteurs de type mannoside (**Schéma 27**). Dans un premier temps, le composé **48** a fait l'objet d'une protection sélective des positions 4 et 6 sous la forme de benzylidène dans des conditions différentes que celles décrites pour les composés galactosides **22** et **33**. En effet, dans la série mannoside, les positions 2 et 3 sont également susceptibles à la formation de benzylidène de part l'orientation axiale de la position 2, pouvant ainsi générer la formation d'un cycle à 6 membres. De ce fait, la synthèse a été réalisée en présence de $\text{HBF}_4 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, acide de Lewis plus doux pour obtenir le mono benzylidène **55** correspondant avec un rendement optimisé de 80% (**Schéma 27**), contre 25% dans la littérature.¹⁴⁶

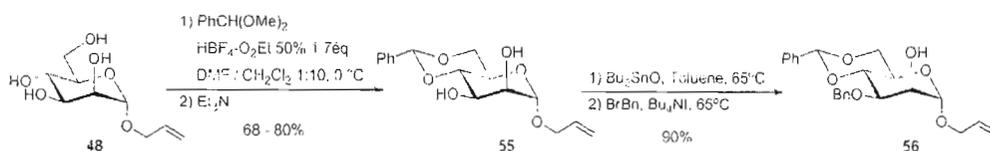


Schéma 27. Synthèse de l'accepteur analogue D-mannopyranoside.

La réaction de benzylation sélective a été effectuée selon les mêmes conditions que la mono benzylation du composé **33** en passant par l'intermédiaire stannylidène et la complexation des oxygènes en position 2 et 3 pour exhalter l'acidité du proton H-3. L'ajout de bromure de benzyle et d'un catalyseur par transfert de phase de type TBAI conduit à

¹⁴⁶ Hsu, M. C.; Lee, J.; Kishi, Y. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 1931-1940.

l'accepteur potentiel **56** monobenzylé sélectivement, analogue à l'accepteur de type D-rhamnoside que l'on décrira ultérieurement.

Suite à l'analyse structurale du motif de répétition heptasaccharidique du Cepacian, l'hydroxyle 6 du D-mannoside correspond à la position qui se lie au résidu D-galactosyle. D'après la planification des synthèses, la stratégie de glycosylation avec un donneur D-galactosyle représente l'étape finale pour la synthèse de l'hexassaccharide. Ainsi une protection orthogonale au niveau de la position 6 a été choisie et réalisé par voie enzymatique.¹⁴⁷ Dans ce cas, l'introduction non sélective du groupement lévulinyle a pu intervenir avec l'utilisation de l'anhydride lévulinique dans la pyridine selon une procédure décrite dans la littérature.¹⁴⁸ En revanche, une lipase a permis de réaliser spécifiquement la protection régiosélective à la position 6. Pour ce faire, la synthèse du dérivé lévulinate de trifluoroéthyle **58** a été nécessaire pour l'installation adéquate du groupement protecteur. Ainsi, à partir de l'acide lévulinique mis dans les conditions de couplage de type peptidique en présence de DCC en tant qu'agent de couplage activant, de DMAP, de triéthylamine puis du nucléophile trifluoroéthanol, ce précurseur **58** a été isolé au moyen d'une distillation avec un rendement de 84% (Schéma 28).¹⁴⁹

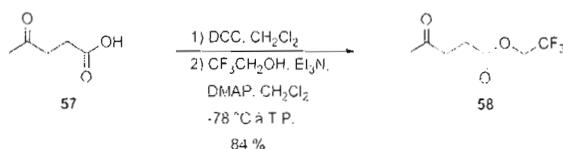


Schéma 28. Préparation du précurseur du groupement protecteur lévulinate.

L'acylation régiosélective *via* une transestérification enzymatique est alors effectuée à partir du composé **48** avec le réactif lévulinylé **58** en utilisant de la lipase *Candida Antarctica* immobilisée dans le THF par incubation à 40 °C (Schéma 29). Après 72 heures, le dérivé 6-O-lévulinate **59** a été isolé après filtration et purification par chromatographie sur gel de silice avec un rendement de 89%.

¹⁴⁷ Rencurosi, A.; Poltti, L.; Russo, G.; Lay, L. *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 1672-1680.

¹⁴⁸ Hassner, A.; Strand, G.; Rubinstein, M.; Patchornik, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, 97, 1614-1615.

¹⁴⁹ Lay, L.; Panza, L.; Riva, S.; Hkitri, M.; Tirendi, S. *Carbohydr. Res.* **1996**, 291, 197-204.

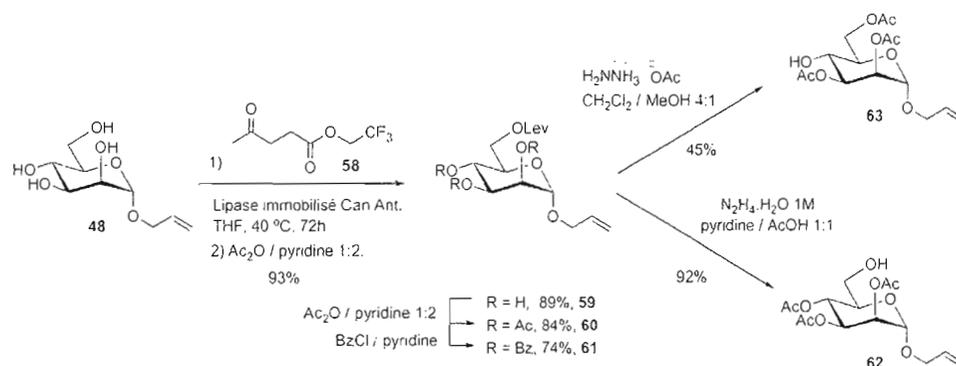


Schéma 29. Synthèse de l'accepteur D-mannopyranoside par voie enzymatique.

Le composé **59** ainsi isolé a par la suite été acétylé selon la méthode de Behrend¹³⁹ avec un rendement de 84%. Il est à signaler qu'une réaction d'acétylation directe classique effectuée « one-pot » après l'estérification enzymatique sur le composé formé non isolé conduit à un rendement supérieur de 93% (**Schéma 29**). Un dérivé tribenzoylé **61** a de même été obtenu à partir du composé **59** avec un rendement de 74% afin d'avoir des groupements de type ester plus encombrants et légèrement moins labiles en milieu basique. Suite à la protection régiosélective et orthogonale par le lévulinate, l'optimisation des conditions expérimentales permettant une déprotection sélective de ce groupement a été investiguée. Ainsi, le dérivé acétylé 6-*O*-lévulinate-mannopyranoside **60** a été mis en présence d'acétate d'hydrazine, permettant le clivage sélectif du lévulinate dans un mélange de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 4:1. En effet, la sélectivité provient du groupement lévulinyle même, comme illustré sur le **Schéma 30**. L'attaque nucléophile de l'hydrazine sur le carbonyle de la fonction cétone terminale du lévulinate engendre un processus intramoléculaire qui constitue la force motrice de la déprotection, conduisant à la formation d'un cycle à 6 membres. Cependant, une migration d'acétate, confirmée par analyse RMN de type COSY, a été observée expérimentalement après l'isolation du composé **63**. La comparaison des spectres RMN du proton du composé **62**, synthétisé par la suite après optimisation de la procédure, confirme bien cette réaction inattendue (**Figure 23**).

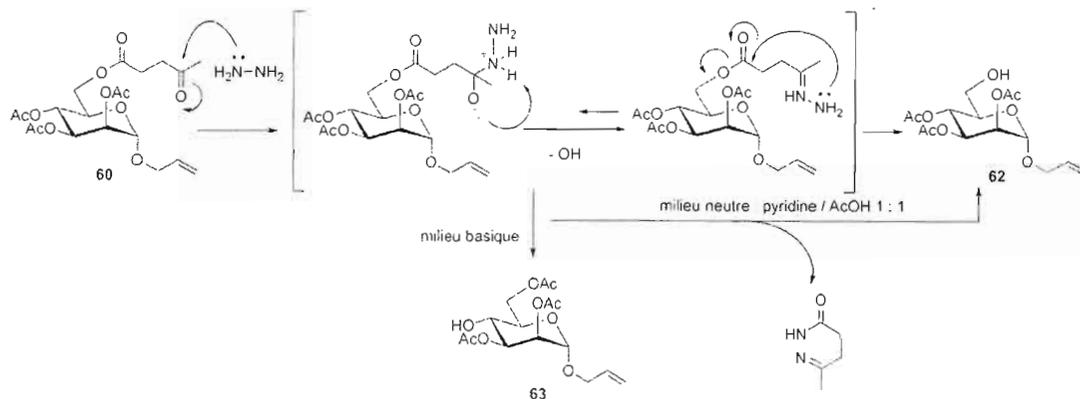


Schéma 30. Mécanisme de la déprotection du lévulinate.

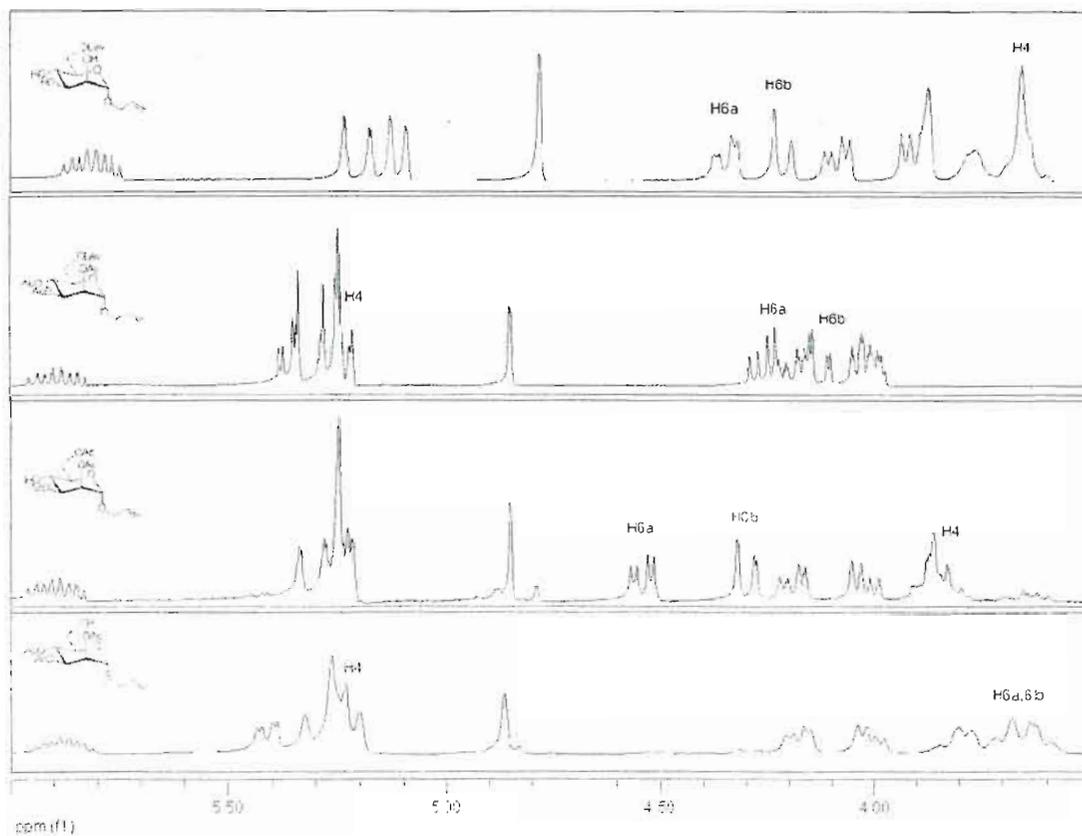


Figure 23. Comparaison des spectres RMN ^1H lors de la migration de l'acétate.

En effet, en milieu basique, l'hydroxyle primaire devient un peu plus réactif, ce qui favorise le déplacement de ses doublets vers le carbonyle δ^+ de l'acétate voisin le plus

proche, situé en position 4, et engendre la migration de ce dernier à la position 6 (selon un mécanisme décrit dans le **Schéma 14**). Cet effet indésirable a pu être annihilé selon un changement de pH du milieu réactionnel en utilisant un mélange pyridine/acide acétique en présence d'hydrazine monohydratée (1M). L'acide acétique sert dans ce cas de tampon du milieu afin de diminuer la nucléophilicité de l'hydroxyle libre. Finalement le composé **62** a été obtenu tel que désiré dans un rendement de 92%, sans réaction secondaire issu de ce phénomène de migration.¹⁵⁰

Les deux protons situés en position 4 et 6 sont identifiés par RMN et comparés entre eux avec le produit de départ **60** et le composé non protégé **59** (**Figure 23**). Dans le cas de la migration, le signal du proton 4 est déplacé vers un champ fort qui se retrouve dans la zone du déplacement chimique du proton 4 du composé libre **59**, tandis que H-4 protégé du composé **62** reste dans la même zone de champ faible que celui du produit de départ protégé **60** à 5.25 ppm. Dans ce cas-ci, le signal correspondant à H-6 est déplacé vers les champs faibles à 3.25 ppm en comparaison avec celui du composé **60** apparaissant entre 4.15-4.25 ppm.

Le composé benzoylé **61** est alors déprotégé sélectivement dans les conditions optimisées décrites précédemment. Le composé **64** a été obtenu avec un rendement de 89% selon la déprotection sélective et sans migration (**Schéma 31**).

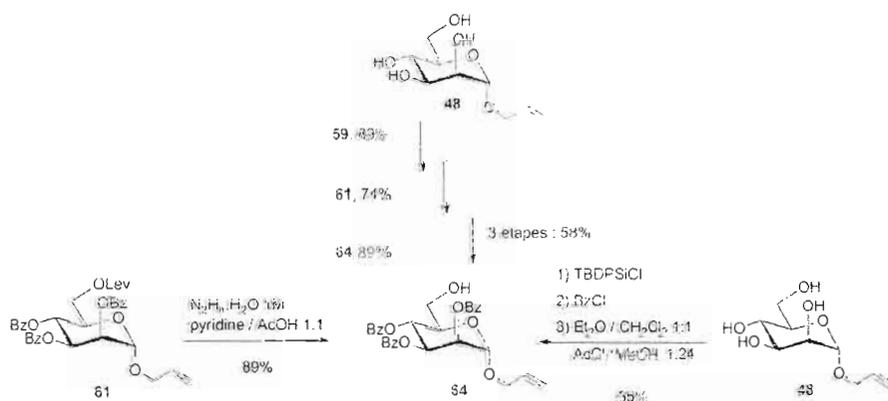


Schéma 31. Synthèse de l'accepteur D-mannopyranoside.

¹⁵⁰ Koeners, H. J.; Verhoeven, J.; van Boom, J. H. *Tetrahedron Lett.* 1980, 21, 381-382.

Le rendement global sur trois étapes pour le composé **64**, déprotégé sélectivement et obtenu à partir du dérivé **48**, est de 58%. Ce synthon a également été obtenu par voie exclusivement chimique en trois étapes et de façon *in situ* avec un rendement global de 55% (**Schéma 31**). Cette séquence synthétique « one-pot » a consisté dans un premier temps en une protection de la position 6 du composé **48** par un groupement encombré TBDPS de type silylé, labile en présence d'ions fluorures (TBAF) ou en milieu acide. Par la suite, une benzylation des fonctions hydroxyles restantes, suivie de la déprotection sélective du groupement TBDPS en conditions acides, ont permis l'obtention du composé cible **64**. En conclusion, les deux voies synthétiques demeurent équivalentes, engendrant un nombre d'étapes identiques et un rendement quasi-similaire. La spécificité de l'approche enzymatique peut ainsi s'avérer être une alternative utile à la chimie traditionnelle dans le cas de réactions secondaires ou imprévues.

Une fois les synthèses des dérivés D-mannoside de type accepteur optimisées, les composés de type donneur de cette famille ont pu être synthétisés afin de les engager dans des réactions de glycosylation avec le laminaribioside préalablement synthétisé.

Dans un premier temps, le composé lévulinate **60** décrit plus haut, contenant la fonction allyle en « α » au niveau de la position anomérique a été déprotégé en utilisant la « chimie du palladium » pour obtenir l'hémiacétal **65**, subséquemment converti en imidate **66** dans de bons rendements (**Schéma 32**).

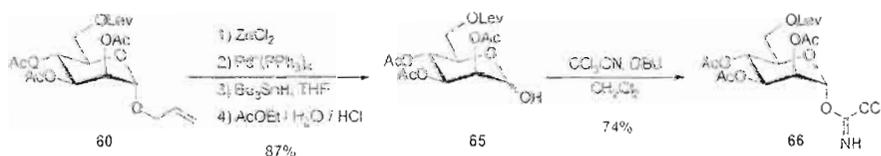


Schéma 32. Synthèse du donneur D-mannopyranosyle trichloroacétimidate.

Lors de cette réaction de déallylation, l'oxygène anomérique du composé **60** est d'abord activé par du chlorure de zinc et complexé par la suite avec du tétrakis $[Pd(PPh_3)_4]$. L'espèce Pd^0 est ainsi oxydée en Pd^{II} qui sera par la suite réduit à son état original (Pd^0) en présence d'hydruure de tributylétain (**Schéma 33**). Un autre complexe intermédiaire est alors

formé entre l'oxygène anomérique et le tributylétain conduisant à une isomérisation de la fonction allyle. Le traitement de la réaction en milieu acide conduit à la protonation de l'atome d'oxygène anomérique entraînant la formation de l'oxycarbénium. L'attaque d'une molécule d'eau présente dans le milieu réactionnel génère la formation « one pot » (4 étapes *in situ* sans aucun traitement intermédiaire) de l'hémiacétal **65** avec un rendement de 87%. L'avantage de cette méthode optimisée au laboratoire selon trois méthodologies décrites antérieurement réside dans le fait que la réaction est très propre et se déroule très rapidement.^{151,152,153}

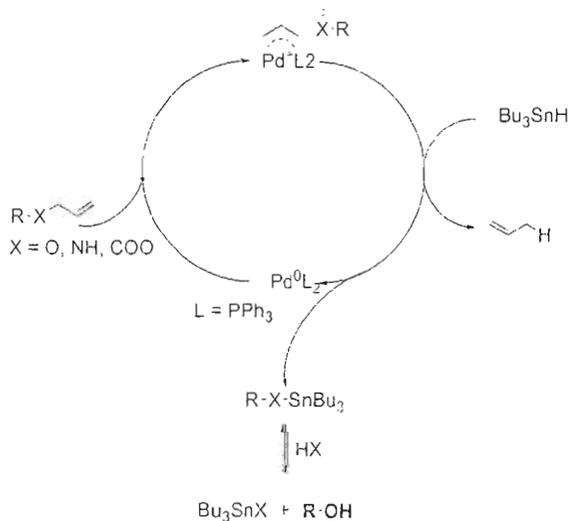


Schéma 33. Mécanisme de déallylation en présence de palladium.

L'hémiacétal **65** a par la suite été converti en trichloroacétimide sous la forme exclusive de l'anomère α dans le dichlorométhane, en présence de DBU et de trichloroacétonitrile, avec un rendement de 74%. Ce donneur imidate est donc prêt à être utilisé pour une glycosylation avec le laminaribioside.

¹⁵¹ Chandrasekhar, S.; Reddy, C. R.; Rao, R. J. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 3435-3438.

¹⁵² Guibé, O. D.; Balavoine, G. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 4984-4993.

¹⁵³ Garro-Helion, F.; Merzouk, A.; Guibé, F. *J. Org. Chem.* **1987**, *58*, 6109-6113.

Le synthon D-mannoside **45** contenant le groupement *p*-méthoxyphényle en « α » sur la position anomérique a également été protégé sélectivement sous la forme de 4,6-*O*-benzylidène, selon une procédure différente que celle employée pour le composé allylé **55**. Ceci a pour but de comparer les deux méthodes de benzylidénation sélective (Schéma 34). En conséquence, les hydroxyles en position 4 et 6 du composé **45** ont été protégés en utilisant l'acide *p*-toluènesulfonique à la place du $\text{HBF}_4 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (Schéma 27). Il en résulte que la régiosélectivité observée lors de l'installation du groupement benzylidène n'est pas aussi bonne que lors de la synthèse du composé **55**. Néanmoins, le rendement obtenu de 34% est comparable avec la littérature.¹⁴⁶

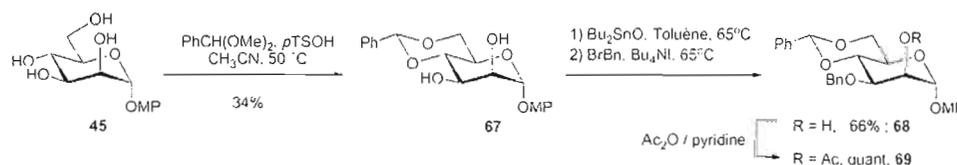


Schéma 34. Synthèse de l'accepteur D-mannopyranoside.

La séquence synthétique suivante a mené au composé **69** avec un rendement global de 66%, et a consisté en une benzylation sélective décrite pour la synthèse du dérivé **56**, suivie d'une acétylation. L'analyse par RMN du proton a mise en évidence l'apparition du signal caractéristique du groupement acétyle et le signal du H-2 a été déblindé vers les champs faibles par rapport au composé de départ **68**. Par ailleurs, la corrélation entre les protons effectuée par COSY confirme la sélectivité lors de l'utilisation de réactifs à base d'étain. L'accepteur **68** ainsi synthétisé constitue alors un synthon pour la conception d'un analogue disaccharidique du Cepacian. Cet analogue pourra être converti en disaccharide comportant un résidu D-rhamnosyle en utilisant la méthode développée par Crich.^{154, 155}

¹⁵⁴ Crich, D.; Yao, Q. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 2189-2191.

¹⁵⁵ Beynon, L. M.; Bundle, D. R.; Perry, M. B. *Can. J. Chem.* **1990**, *68*, 1456-1466.

4.7 SYNTHÈSE DE RÉSIDUS D-RHAMNOPYRANOSIDES

Le principal saccharide potentiellement antigénique proposé dans l'hypothèse de concevoir un vaccin entièrement synthétique (Chapitre I, II et III) est le D-rhamnose car ce résidu retrouvé fréquemment dans des motifs oligosaccharidiques présent en surface de parois bactériennes est absent du répertoire monosaccharidique humain. De ce fait, le développement des synthèses sur ce sucre rare est au centre de la conception d'oligosaccharides retrouvés en surface ou excrété par CBC. Comme décrit précédemment pour la synthèse des dérivés D-mannosides, les composés **46** et **49** ont été préparés stratégiquement en vue d'une conversion efficace ces composés en D-rhamnopyranosides selon un processus radicalaire (**Schéma 35**).

Les dérivés iodés **46** et **49** ont de ce fait été engagés dans des conditions réactionnelles identiques décrites dans le **Schéma 35**. Dans ce cas, l'initiateur radicalaire, le 2,2'-azo-bis-isobutyronitrile (AIBN) agit sur l'hydrure de tributylétain pour créer un radical tributylétain. Ce dernier intervient dans la phase de propagation pour former un radical en position 6 qui réagit alors avec le radical de l'hydrure de tributylétain selon un processus homolytique. Les déoxy sucre sont alors formés et le radical tributylétain est ainsi régénérer *in situ* jusqu'à la phase de terminaison. Les D-rhamnosides **53** et **70** ont été obtenus respectivement avec des rendements de 84 et 98% (**Schéma 36**). La réduction est confirmée en RMN du proton par l'apparition d'un signal doublet à 1.22 ppm avec une constante de couplage $^3J_{5,6} = 6.2$ Hz et dont l'intégration correspond aux trois protons du groupement méthyle en position 6 pour le composé **70**. Le signal C-6 en RMN du carbone du composé **53** est déplacé vers les champs forts à 17.2 ppm (**Figure 24**).

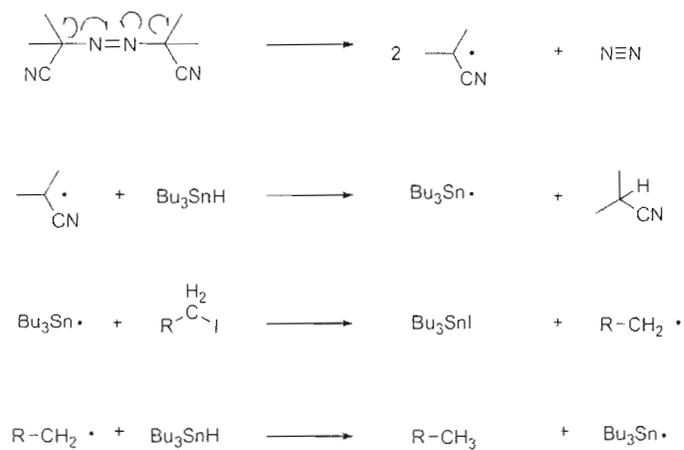


Schéma 35. Mécanisme radicalaire de la déhalogénéation.

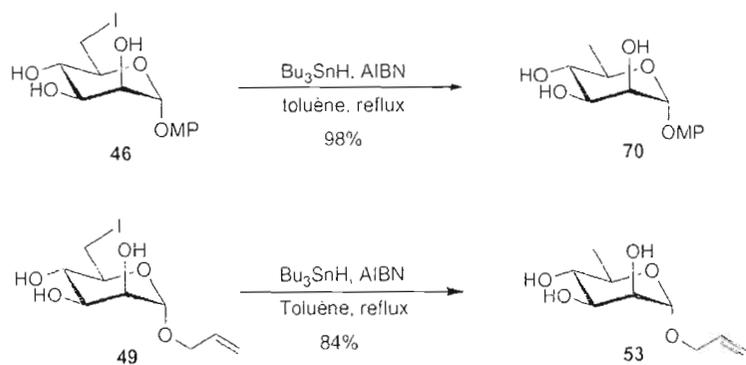


Schéma 36. Conversion de D-mannopyranoside en D-rhamnopyranoside.

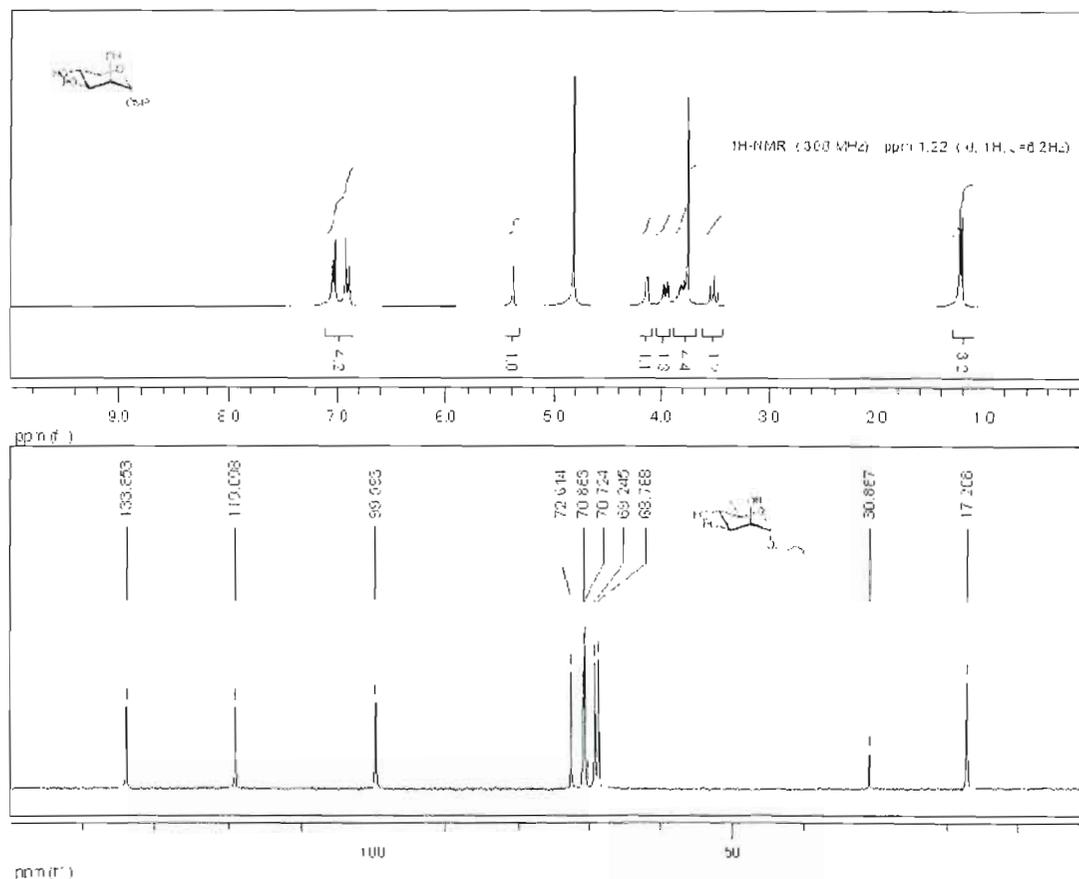


Figure 24. Confirmation de la réduction: composés 70 et 53.

D'après les structures moléculaires des deux trisaccharides cibles du lipopolisaccharide de *B. cepacia* représentées, l' α -D-Rhap-(1 \rightarrow 3)- α -D-Rhap-(1 \rightarrow 4)- α -D-Galp, l' α -D-Rhap-(1 \rightarrow 3)- α -D-Rhap-(1 \rightarrow 2)- α -D-Rhap, et d'après les structures des oligosaccharides cibles du Cepacian, le résidu D-rhamnosyle est présent dans tous les motifs saccharidiques (**Figure 6**, Chapitre 1). Plus précisément, les positions 2 et 3 doivent être orthogonalement protégées pour conduire aux synthons de type accepteur tout en prenant également en compte le groupement anomérique pour aboutir à des D-rhamnosides donneurs.

La protection du 3,4-*trans*-diol du D-rhamnopyranoside 70 en présence du 2,3-*cis*-diol, a été effectuée sous la forme d'un bisacétal dont la seule conformation possible passe par un cycle à 6 membres (diol diéquatorial vicinal, **Schéma 37**). Cette réaction met en jeu la

2,3 butanedione, le triméthylorthoformiate, ainsi que l'acide de Lewis $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$.¹⁵⁶ Le mécanisme de cette réaction est illustré **Schéma 38**. L'acétate masqué du triméthylorthoformiate est activé par l'acide de Lewis dans ce milieu acide et la double attaque sur les deux carbonyles de la 2,3 butanedione permet la formation du cycle à 6 membres dans un premier temps. Par la suite, les deux fonctions hydroxyles du cycle sont activées par l'acide de Lewis et sont déshydratés selon le déplacement du doublet des atomes oxygènes 3 et 4, pour former un autre carbonyle endocyclique activé. Finalement, ce carbonyle subit l'attaque du méthanol produit par l'attaque de l'eau déplacée auparavant sur l'acétate activé de l'orthoformiate. Le composé **71** est alors obtenu sous la forme de 4 diastéréoisomères avec un rendement de 99%.^{157,158,159} La structure indiquée dans le **Schéma 37** correspond à l'isoimère le plus stable dans lequel les groupements 2 méthoxyles sont axiaux et sont stabilisés par l'effet anomérique *via* un recouvrement favorable entre l'orbitale « n » non liante de chaque oxygène endocyclique du bisacétal et l'orbitale σ^* des liaisons « aglyconiques » (carbone-méthoxy). Les signaux caractéristiques des substituants méthoxy et méthyles en position 3' et 4' du groupement protecteur sont observés lors de l'analyse en RMN ^1H à $\delta = 3.34, 3.26$ (2s, 6H, OCH_3), 1.34, 1.33 (2s, 6H, CH_3), et 17.8, 17.7 (CH_3), tandis que la présence de l'hydroxyle de la position 2 a été vérifiée par une expérience de type COSY.

¹⁵⁶ Hense, A.; Ley, S. V.; Osborn, H. M. I.; Owen, D. R.; Poisson, J.-F.; Warriner, S. L.; Wesson, K. E. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1997**, 2023-2031.

¹⁵⁷ Montchamp, J.-L.; Tian, F.; Hart, M. E.; Frost, J. W. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 3897-3899.

¹⁵⁸ Ley, S. V.; Baeschlin, D. K.; Dixon, D. J.; Foster, A. C.; Ince, S. J.; Priepeke, H. W. M.; Reynolds, D. J. *J. Chem. Rev.* **2001**, *101*, 53-80.

¹⁵⁹ Douglas, N. L.; Ley, S. V.; Osborn, H. M. I.; Owen, D. R.; Priepeke, H. W. M.; Warriner, S. L. *Synlett* **1996**, 793-794.

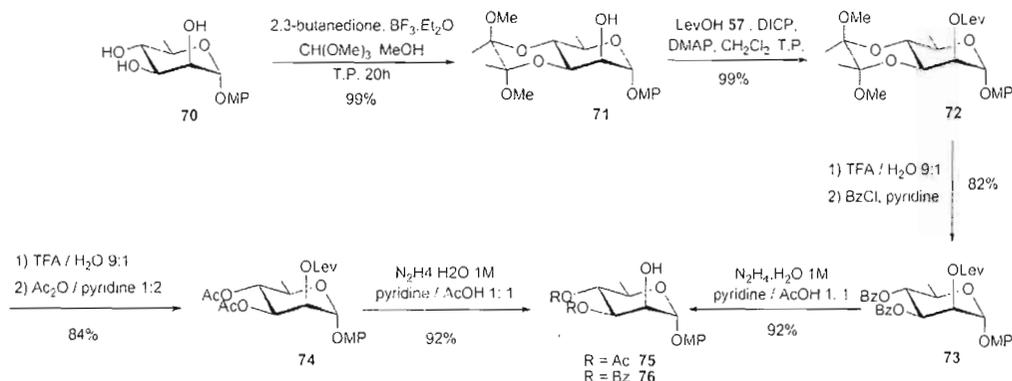


Schéma 37. Synthèse de l'accepteur D-rhamnopyranoside.

Le bisacétal **71** a ensuite été protégé en position 2 par un groupement lévulinyle¹⁶⁰, afin de profiter de l'orthogonalité conférée par ce groupement protecteur dont le clivage sélectif a été optimisé et décrit précédemment. Il est à signaler que l'intervention d'une voie enzymatique n'a pas été nécessaire. Dans ce cas, un couplage de type peptidique en présence de l'agent activant *N,N*-diisopropylcarbodiimide (DIPC, Chapitre III), et de DMAP dans le dichlorométhane a permis l'obtention du composé **72** avec un rendement quasi-quantitatif.¹⁶¹

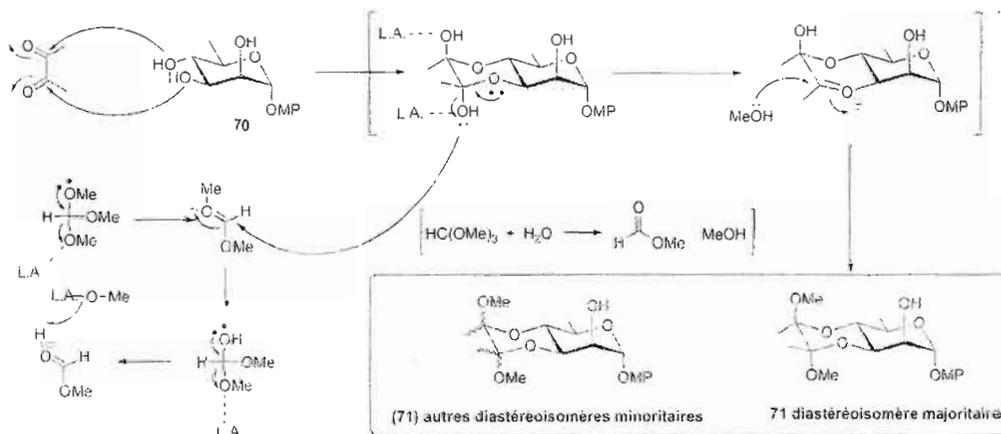


Schéma 38. Mécanisme de la protection des positions 3 et 4 sous la forme d'un bisacétal.

¹⁶⁰ van Boom, J. H.; Burgers, P. M. J. *Tetrahedron Lett.* **1976**, *17*, 4875-4878.

¹⁶¹ Bendini, E.; Carabellese, A.; Corsaro, M. M.; De Castro, C.; Parrilla, M. *Carbohydr. Res.* **2004**, *339*, 1907-1915.

Les bisacétates **71** et **72** ont été déprotégés et reprotégés sous la forme des dérivés benzoylé **73** et d'acétylé **74**. La déprotection très rapide du bistacétal a été accomplie avec un mélange acide trifluoroacétique/eau 9:1. Considérant la difficulté avec laquelle le TFA est évaporé sous pression réduite, le processus de déprotection se déroule directement lors de l'évaporation du milieu réactionnel.¹⁵⁷ Les deux fonctions hydroxyles libérées ont ensuite été protégées conduisant au di-benzoate **73** avec un rendement de 82% sur 2 étapes, et au dérivé di-acétylé **74** avec un rendement de 84%. La disparition des signaux caractéristiques du bisacétal mentionné précédemment et l'apparition des signaux des fonctions acétyles pour **74** et benzoyles pour **73** confirment l'obtention des deux composés désirés.

La déprotection du lévulinate des deux composés **73** et **74** a été effectuée selon la même procédure que pour les analogues mannosides **62** et **64** (Schéma 37) pour obtenir les deux accepteurs rhamnosides **75** et **76** avec un rendement de 92%.

Parallèlement, le composé **73** a fait l'objet d'une dérivatisation différente afin de synthétiser des dérivés D-rhamnosides de type donneur (**78**) et accepteur (**81**) portant un groupement allyle anomérique (Schéma 39).

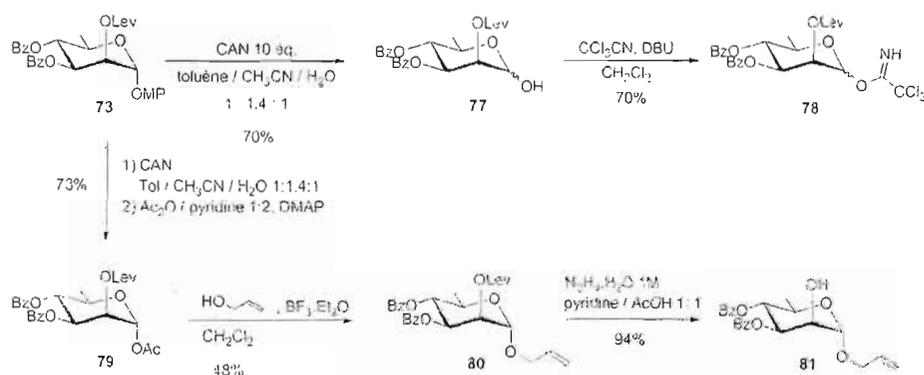


Schéma 39. Synthèse d'un donneur et d'un accepteur D-rhamnopyranoside.

Afin d'accéder au donneur **78**, le groupement *p*-méthoxyphényle du composé **73** a d'abord été clivé au moyen de l'oxydant CAN responsable de la donation de deux électrons et du réarrangement électronique sur le groupement aromatique (équilibre du type quinone-hydroxyquinone). La double protonation du CAN conduit à la formation du sous-produit de

type quinone et l'oxycarbénium intermédiaire est stabilisé par l'eau présente dans le milieu réactionnel. La formation de l'hémiacétal **70** est réalisée avec un rendement de 70% (Schéma 39). L'imidate **78** a été synthétisé dans les mêmes conditions décrites pour l'imidate glucoside **29** avec un rendement de 70% et constitue un synthon idéal pour une glycosylation avec l'acide glucuronique ou des analogues oligosaccharidiques.

La synthèse de l'accepteur **81** passe également par le clivage du groupement protecteur anomérique de type *p*-méthoxyphényle qui ne constitue donc pas une fonction utile pour des réactions de conjugaison. Deux voies de synthèse de ce composé ont été étudiées.

La première nécessite dans un premier temps le clivage du groupement anomérique dans les conditions décrites précédemment et l'installation d'une fonction acétyle anomérique sélectivement en α avec un rendement global de 73%. Une étape subséquente de glycosidation du dérivé **79** obtenu, en présence d'alcool allylique et de $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (ou TMSOTf) comme acide de Lewis conduit au composé **80** avec un rendement non-optimisé de 48%. Le clivage sélectif final du groupement lévulinate en présence d'hydrazine permet l'obtention du donneur **81** désiré avec un rendement de 94%. En résumé, la séquence synthétique aboutissant au composé α -*O*-allylé **81** à partir de **73** a nécessité 4 étapes et trois purifications pour un rendement global de 33%.

La seconde voie nécessite l'utilisation du composé hydroxylé **76** en présence de CAN et d'alcool allylique fraîchement distillé (Schéma 40).

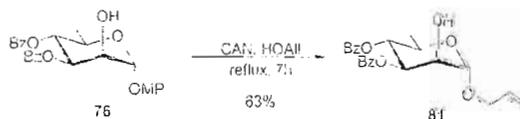


Schéma 40. Conversion de l'aglycone *O*-*p*-méthoxyphényle en *O*-allyle.

Cette fonctionnalisation directe mise au point et optimisée dans le laboratoire du Pr. R. Roy a été effectuée à partir du dérivé D-rhamnoside **76** comportant un hydroxyle en

position 2. Ce choix a été motivé par cette fonctionnalisation spécifique, sans utiliser l'effet anchimérique mais en mettant à profit uniquement l'effet anomérique. Ainsi, l'oxocarbenium formé lors du clivage du groupement *p*-méthoxyphényle, est engagé dans une réaction de Fischer pour réaliser la glycosidation de l'*O*-allyle en « α », tel que décrit pour les composés **33** et **47**. Le composé **81** résultant est alors isolé avec un rendement de 63% en une seule étape, ce qui constitue un réel avantage par rapport au premier cheminement synthétique préalablement rapporté. Cette réaction sera engagée dans une future investigation, car une de nouvelles contributions originales dans le domaine de la chimie de sucre sont pratique et demandés.

Les **Figure 25** et **26** proposent une comparaison des spectres des spectres RMN ^1H et ^{13}C du produit de départ **76** et du composé allylique **81**.

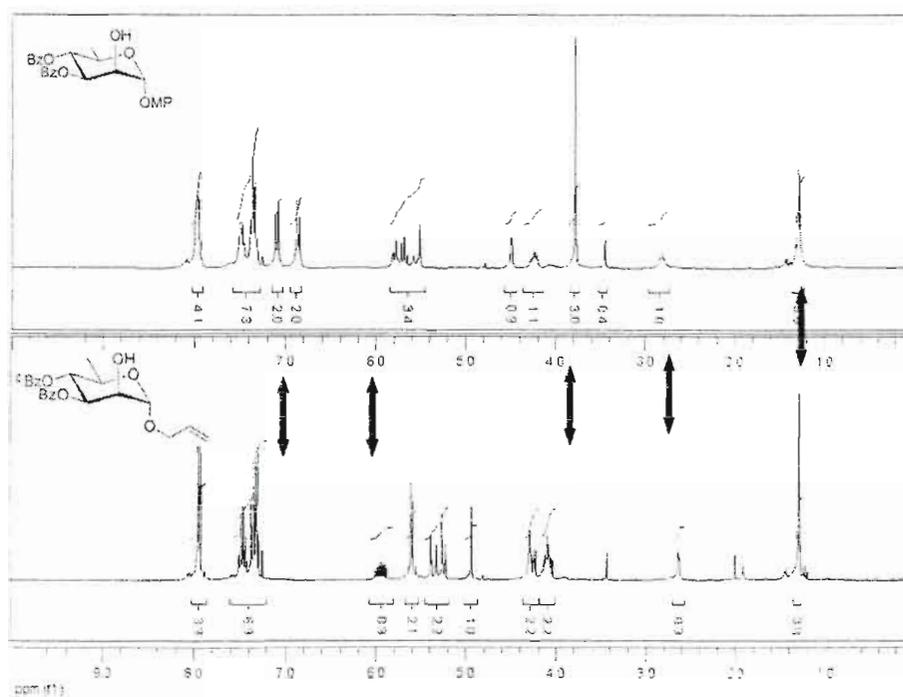


Figure 25. RMN ^1H des composés **76** et **81**.

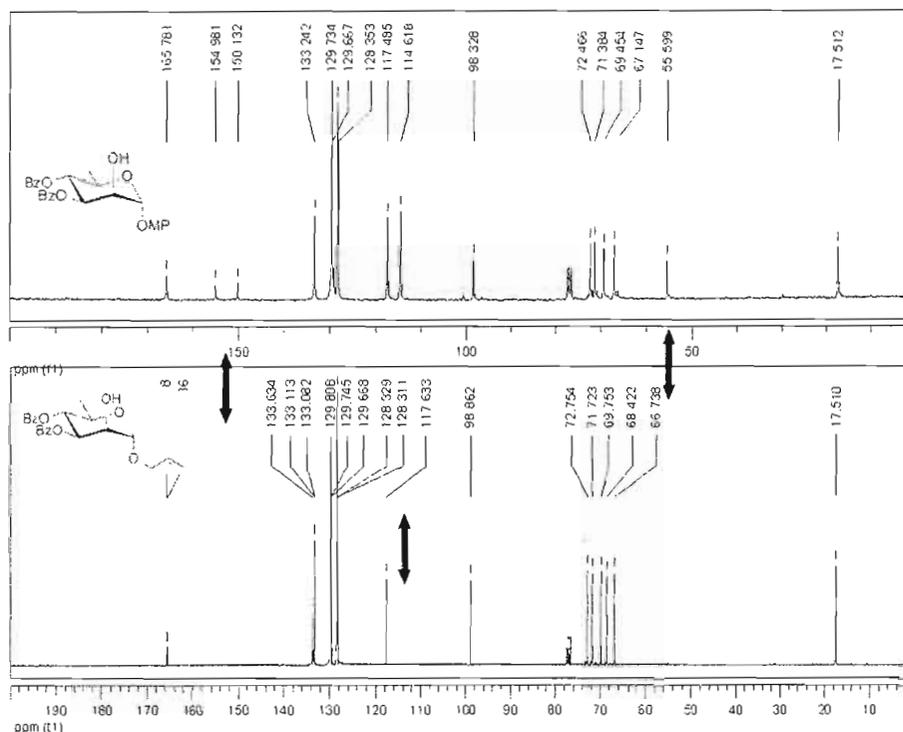


Figure 26. RMN ^{13}C des composés 76 et 81.

D'après la structure trisaccharide majeur et mineur du lipopolysaccharide de la bactérie *B. cepacia* et du disaccharide cible du motif de répétition du Cepacian, les synthèses du donneur et des accepteurs libres en position 2 et 3 ont été réalisées par la suite.

A cet effet, le D-rhamnoside 70 a été acétylé et benzoylé selon la méthode de Behrend dans les conditions standards discutées précédemment dans plusieurs réactions. Les composés acétylé 82 et benzoylé 83 ont été obtenus quantitativement et ont été engagés dans une étape de déprotection anomérique visant à cliver sélectivement le groupement protecteur *p*-méthoxyphényle selon la procédure précédemment mentionnée pour former les hémiacétals 84 et 85 avec des rendements de 76 et 99%, respectivement. La conversion des ces hémiacétals en trichloroacétimidates a par la suite été envisagée dans les conditions optimisées pour conduire aux donneurs 86 et 87, diversement protégés, avec des rendements de 67 et 97% (Schéma 41).

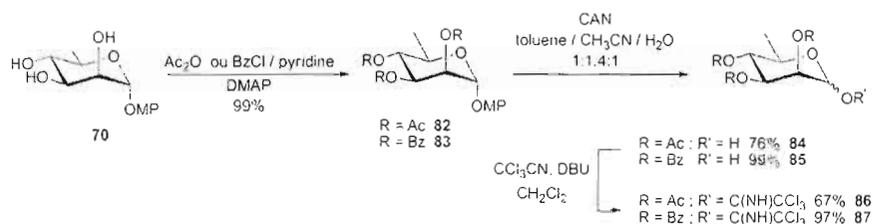


Schéma 41. Synthèse des donneurs D-rhamnopyranosides avec des groupements protecteurs différents.

La synthèse de l'accepteur rhamnoside a également été initiée à partir du D-rhamnose **70** en protégeant sélectivement la position 3 par un groupement encombré silylé de type TIPS en présence de 2,6-lutidine comme base. Les fonctions hydroxyles restantes sur les positions 2 et 4 ont ensuite été benzoylées pour fournir le composé **88** avec un rendement de 70% sur deux étapes (**Schéma 42**). Le clivage du groupement TIPS par un réactif spécifique fluoré, le fluorure de tétrabutylammonium (TBAF), dans le THF avec ajout d'acide acétique jusqu'à pH 5 a permis l'obtention du dérivé **89** avec 63% de rendement. Cette méthode de déprotection sera d'ailleurs utilisée pour les composés **37** et **38** engagés dans notre synthèse multi-étapes des oligosaccharides cibles. En revanche, on observe expérimentalement que lorsque le milieu réactionnel n'est pas suffisamment acide (pH 5), une migration de type acétate a lieu, même en présence de groupement benzoate, conduisant à l'isolation d'un mélange de **89** (13%) et de **76** (42%). En dépit des faibles rendements, les deux composés formés représentent des accepteurs intéressants pour la synthèse de chaque trisaccharide cible.

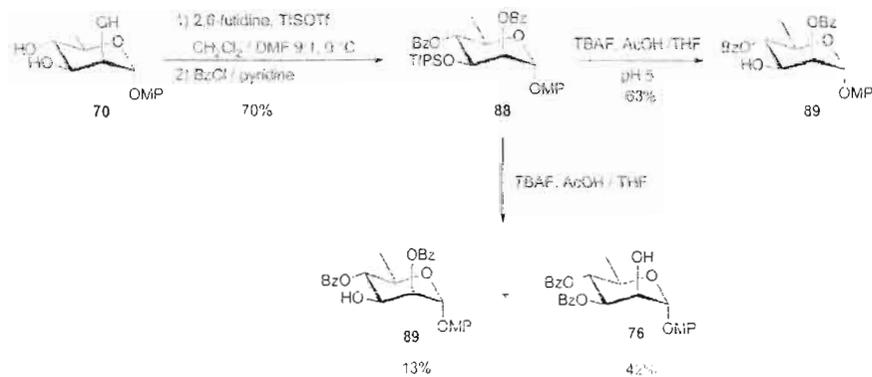


Schéma 42. Synthèse de l'accepteur D-rhamnopyranoside.

Parallèlement, la benzylation et l'allylation régiosélective du composé **70** sur la position 3 ont été effectuées selon la chimie de l'étain décrite précédemment (voir la synthèse des composés **34**, **56** et **68**) menant aux composés **90** et **91** avec des rendements de 78 et 65%. Une benzylation des fonctions hydroxyles restantes a été menée pour l'obtention quantitative des dérivés **92** et **93**, respectivement. La débenzylation du composé **92** par une réaction d'hydrogénolyse en présence d'une quantité catalytique de palladium sur charbon 10% activé avec quelques gouttes d'HCl concentré, a mené au composé **89** dans un rendement de 99%. La réaction de dé-*O*-allylation¹⁶¹ du composé **93** a, quant à elle, été réalisée dans un mélange MeOH/CH₂Cl₂ 3:2 et catalysée par du dichlorure de palladium, afin de synthétiser l'accepteur **89** avec un rendement de 74% (**Schéma 43**). En conclusion, la synthèse de cet accepteur par l'intermédiaire des groupements benzyles est plus efficace en termes de rendements par rapport à la voie allylique ou silylé.

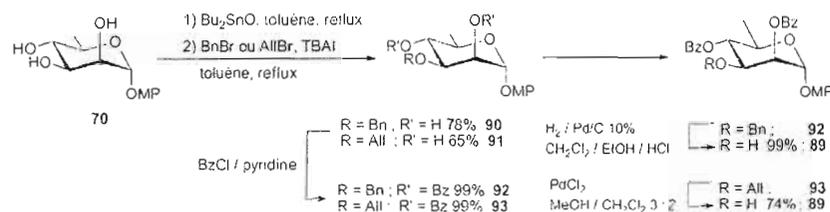


Schéma 43. Synthèse de l'accepteur D-rhamnopyranoside.

Les dérivés D-rhamnosides de type accepteur par la position 2 ont également été synthétisés à partir des D-rhamnosides **70** et **53**. Les deux groupements protecteurs anomériques *p*-méthoxyphényle et allylique ont ainsi été étudiés en parallèle dans des conditions réactionnelles semblables (**Schémas 44** et **45**).

Dans un premier temps, une manipulation synthétique proposée par Evans et al.¹⁶² consiste en une protection sélective des positions 2 et 3 sous la forme d'isopropylidène **94** et **98** dans un mélange de 2,2- diméthoxyprone et d'acétone 1:1 en présence d'acide *p*-toluènesulfonique monohydraté. Le cycle à 5 membres sera spécifiquement formé entre les positions 2 et 3 dans la série D-mannoside, conduisant quantitativement aux dérivés protégés

¹⁶² Evans, M. E., *Carbohydr Res.*, 1977, 54, 104-114.

94 et **98**, *p*-méthoxyphényle et allylique, respectivement. Une benzylation de la position 4 subséquente des ces deux composés dans le DMF en présence d'hydrure de sodium permettant de générer l'alcoolate pour une réaction de substitution nucléophile de type S_N2 , sur le bromure de benzyle a été réalisée. L'ajout d'un catalyseur iodé de type TBAI permet l'échange d'halogénure *in situ*, l'iodure étant meilleur nucléofuge que le bromure. Les composés correspondants **95** et **99** ont ainsi été obtenus avec des rendements de 99%.

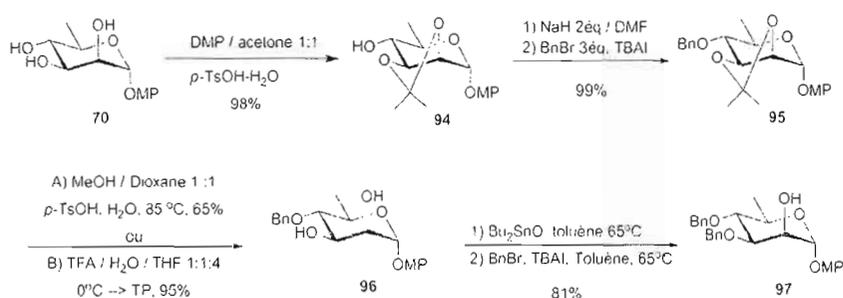


Schéma 44. Synthèse de l'accepteur D-rhamnopyranoside à partir de **70**.

Le groupement isopropylidène de ces deux analogues, connu pour être labile dans des conditions acides, a été clivé selon deux méthodes différentes. L'isopropylidène **95** dissout dans un mélange MeOH/dioxane 1:1 chauffé à 85°C en présence d'acide *p*-toluènesulfonique monohydraté, a été déprotégé avec un rendement de 65%. L'utilisation d'un mélange TFA/H₂O/THF 1:1:4 a permis d'isoler quasi-quantitativement le composé déprotégé **96**. Cette différence peut s'expliquer par la trop faible acidité de l'acide *p*-toluènesulfonique monohydraté. La présence de TFA dans la seconde méthode permet de réaliser la réaction dans des conditions de chauffage plus douces. Une fois optimisées, ces conditions ont été utilisées pour la synthèse de l'analogue allylé **100** à partir du composé **99**. La dernière étape de synthèse des deux accepteurs **97** et **101** consiste en la protection sélective de l'hydroxyle en position 3 en utilisant la chimie de l'étain décrite précédemment. Les résultats indiquent une influence de la nature du groupement anomérique sur la benzylation régiosélective puisque les rendements obtenus sont différents. Les accepteurs finaux **97** et **101** ont ainsi été synthétisés avec des rendements de 81 et 96% respectivement pour cette réaction. Si l'on considère maintenant ces deux séquences synthétiques à partir des dérivés trihydroxylés **70** et **53**, on s'aperçoit que l'utilisation du groupement *p*-méthoxyphényle conduit à un moins bon

rendement global en dérivé fonctionnalisé. Bien qu'excellent, le rendement global de 75% calculé sur 6 étapes synthétiques pour la synthèse de **97** demeure bien inférieur à celui obtenu pour le dérivé **101** qui est de 95% étant donné le caractère quantitatif de chaque réaction mise en jeu. De plus, le groupement *p*-méthoxyphényle doit être fonctionnalisé par la suite et une optimisation de la conversion de *p*-méthoxyphényle en *O*-allyle précédemment discutée est souhaitable pour la synthèse des divers oligosaccharides cibles fonctionnalisés.

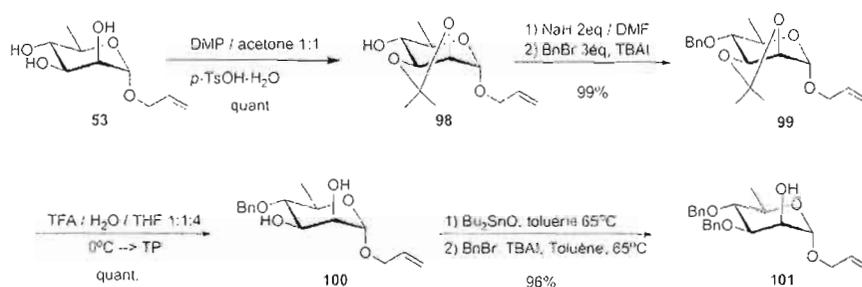


Schéma 45. Synthèse de l'accepteur D-rhamnopyranoside à partir de **53**.

Une différence de réactivité des dérivés rhamnosides très intéressante a été observée expérimentalement lors de leur synthèse. En comparant les résultats décrits dans la littérature,^{163,164} la réactivité des hydroxyles du D-mannoside a été classée de la façon suivante: HO-3 > HO-2 > HO-4. En revanche, le D-rhamnoside qui appartient pourtant à la même famille des D-mannosides possède une réactivité différente⁵⁵ (Schéma 46 A). En théorie, la réactivité de l'hydroxyle situé en position 2 qui est en position axiale est légèrement plus grande que celle de la position 3 équatoriale. Les résultats expérimentaux indiquent que dans la série du D-rhamnoside, la classification des réactivités est inversée au niveau des positions 2 et 3: HO-2 > HO-3 > HO-4.

¹⁶³ Lee, E.; Bruzzi, A.; O'Brien, E.; O'Colla, P. S. *Carbohydr. Res.* **1979**, *71*, 331-334.

¹⁶⁴ William, J. M.; Richardson, A. C. *Tetrahedron* **1967**, *23*, 1369-1378.

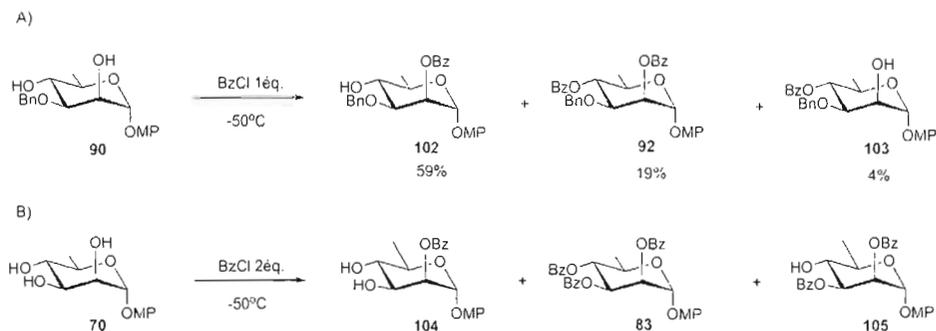


Schéma 46. Test de la réactivité des trois positions du D-rhamnopyranoside. **A)** Résultats publiés dans la littérature⁵⁵ ; **B)** Nouvel essai à la même température.

La curiosité que provoque cette différence de réactivité a engendré la réalisation de tests supplémentaires sur un substrat légèrement modifié tri-hydroxylé **70** (Schéma 46 B). Dans des conditions identiques (basse température) à celles reportées dans la littérature¹⁶⁵ (-50 °C) et l'utilisation de 2 équivalents de chlorure de benzoyle ont été préconisées. Ainsi, les composés **104**, **83** et **105** ont été isolés respectivement dans le but de comprendre ce phénomène sans tenir compte du rendement. D'après l'analyse par RMN ¹H et l'expérience bidimensionnelle homonucléaire de type COSY, les résultats indiquent que la position 2 de chaque produit a été benzoylée. Cependant, la substitution de la position 3 n'opère que dans deux des trois composés **83** et **105**. Comme attendu, seul le composé tribenzoylé **83** présente une protection sur la position 4. Une preuve que la position 2 axiale du rhamnoside est plus réactive que la position 3 équatoriale peut être fournie lors de la synthèse des composés **97** et **101** via la chimie de l'étain (Schémas 44 et 45). En effet, si la position 3 était plus réactive, la protection sélective par ce type de chimie ne serait pas nécessaire. La caractéristique de l'étain est une rétrodonation électronique en déplaçant les électrons de l'orbital σ de l'oxygène plus nucléophile vers l'orbital d de l'étain qui retournent ensuite dans la σ^* du second oxygène complexé avec pour conséquence une inversion de nucléophilicité. Ayant pris connaissance des résultats observés pour les composés **97** et **101** discutées précédemment, on peut affirmer que la position 2 axiale du rhamnoside est plus nucléophile que la position 3 équatoriale. D'ailleurs, les benzylidènes mannosides **56** et **68** (Schémas 27 et 34) ont été benzylés sélectivement en position 3 dans des conditions similaires. Si

¹⁶⁵ Yang, G.; Kong, F.; Zhou, S. *Carbohydr. Res.* **1991**, *211*, 179-182.

l'explication précédente et les résultats sont valides, les réactivités demeurent non concordantes avec la littérature. En revanche, les positions 4 et 6 des ces deux composés sont protégées sous la forme de benzylidène, donc la position 6 du mannoside ce qui diffère celle 6-deoxy du rhamnoside doit avoir une influence sur la réactivité.

Une autre observation issue de la protection sélective par le groupement TIPS sur le composé **70** (**Schéma 42**) s'explique par l'encombrement stérique qui oriente l'accessibilité facilitant plutôt la position 3 que la position 2. Lors de la déprotection pour conduire au composé **88**, en milieu faiblement acide, le benzoate migre de la position 2 vers la position 3, alors que l'acidité du milieu joue un rôle dans le contrôle de la réactivité des groupements hydroxyles.

Une autre observation intéressante peut également être faite concernant le comportement des dérivés D-rhamnosides en chromatographie sur couche mince. Lorsque la position 2 est libre (OH-2), le composé présente une polarité inférieure à celle d'un analogue protégé, indépendamment des groupements protecteurs installés (OP-2).

Des investigations supplémentaires visant à déterminer l'influence de certains paramètres réactionnels sont nécessaires pour évaluer et comprendre les réactivités respectives de ces deux positions. Par exemple, des réactions analogues à celle décrite dans le **Schéma 46 B** en utilisant seulement un équivalent de chlorure de benzoyle, ainsi qu'en jouant sur les conditions de température et/ou en engageant un groupement protecteur anomérique différent pourraient fournir des indications quant à l'influence de l'aglycone par exemple. L'optimisation et le contrôle de ces différents paramètres pourraient conduire à des séquences synthétiques plus expéditives et efficaces vers les composés saccharidiques cibles.

CHAPITRE V

ASSEMBLAGE SACCHARIDIQUES

5.1 INTRODUCTION

Un oligosaccharide est composé au minimum d'un disaccharide, c'est-à-dire deux hydrates de carbone reliés entre eux de façon covalente par une liaison nommée lien glycosidique. Cette liaison peut être établie entre un sucre « donneur » et d'un sucre « accepteur ». En effet, dans la chimie des glucides, le substrat donneur est sous une forme activée anomériquement, tandis que le substrat accepteur possède un pouvoir nucléophilique.

Dans ce Chapitre, la synthèse de chacun des synthons des cibles oligosaccharidiques du CBC sera présentée dans un premier temps, avec notamment l'installation d'un groupement protecteur anomérique qui sont ou peuvent être activés en donneur par une réaction dite de glycosidation, c'est-à-dire que l'aglycone n'est pas un sucre. Cette stratégie diffère de la glycosylation mentionnée précédemment, donc l'installation d'un aglycone, de type glucidique, en la position anomérique. Une fois les synthons obtenus, l'étape de glycosylation sera considérée afin de former les motifs oligosaccharidiques cibles.

Une des clés de l'étape de glycosylation réside dans le choix du type de donneur à utiliser. Dans le **Tableau 4**, une série des donneurs couramment utilisés est illustrée en compagnie des promoteurs chimiques associés, c'est-à-dire des réactifs nécessaires pour activer le donneur et exalter la nucléofugacité du groupement partant utilisé. Ces promoteurs peuvent être des acides de Lewis $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ ou TMSOTf afin d'activer des donneurs trichloroacétimidates¹⁶⁶, le couple NIS^{167} - TfOH^{168} pour les thioglycosides.¹⁶⁹

¹⁶⁶ Schmidt, R. R. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, 212-235.

¹⁶⁷ (a) Fraser-Reid, B. ; Konradsson, P.; Mootoo, D. R.; Udodong, U. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1988**, 823-825; (b) Ratcliffe, A. J.; Mootoo, D. R.; Andrew, C. W.; Fraser-Reid, B. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 7661-7662.

¹⁶⁸ Konradsson, P.; Mootoo, D. R.; McDevit, R. E.; Fraser-Reid, B. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1990**, 270-272.

Actuellement, les trichloroacétimidates et les thioglycosides sont les donneurs les plus fréquemment utilisés, tandis que la chimie des glucides moins récentes préconisait plutôt l'utilisation de dérivés de type halogénures comme donneurs.¹⁷⁰ Cependant, plusieurs autres types de fonctions chimiques conférant aux sucres des propriétés de donneurs sont également utilisés, chacun présentant ses propres avantages et inconvénients : pentényle glycoside/orthoester¹⁷¹; époxyde glycale¹⁷², activation de l'hydroxyle *in situ* (méthode de Gin)¹⁷³, etc....

De plus en plus, une méthode moderne « armé/désarmé », prend place dans ce type de réactions de conjugaison. Elle est basée sur l'utilisation simultanée de deux donneurs, l'un contenant un caractère donneur, mais moins prononcé que l'autre. En plus de leurs influences sur la stéréochimie des réactions (influence de la protection de la position 2 due à l'effet anchimérique), les groupements protecteurs ont une énorme importance d'un point de vue de la réactivité. S'ils sont électrodonneurs comme les benzyles (donneur armés), l'énergie d'activation diminue et la réaction est donc accélérée, contrairement à l'utilisation de groupements électroattracteurs (donneur désarmés).¹⁷⁴ Il existe également un effet comparable concernant les substrats accepteurs. On peut ainsi jouer sur toute une échelle de réactivités pour réaliser les réactions de glycosylation.

Parmi tous les types de donneurs décrits dans le **Tableau 4**, le groupement trichloroacétimide reste le choix prioritaire par sa vitesse d'activation pour les étapes de glycosylation selon les critères présentés dans le Chapitre IV. Ainsi, outre quelques réactions impliquant certains synthons sous la forme de thioglycosides, la plupart des donneurs utilisés dans ce mémoire seront tous de type trichloroacétimide.

¹⁶⁹ Garegg, P. J. *Adv. Carbohydr Chem. Biochem.* **2004**, *59*, 69-134.

¹⁷⁰ Paulsen, H. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1982**, *155*-173.

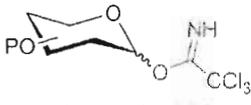
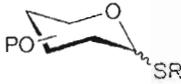
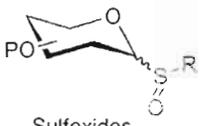
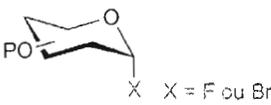
¹⁷¹ Fraser-Reid, B.; Udodong, U. E.; Wu, Z.; Ottosson, H.; Merritt, J. R.; Rao, C. S.; Roberts, C.; Madsen, R. *Synlett* **1992**, 927-942.

¹⁷² Danichefsky, S. J.; Bilodeau, M. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, 1381-1419.

¹⁷³ Nguyen, H. M.; Chen, Y.; Duron, S. G.; Gin, D. Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 8766-8772.

¹⁷⁴ Mootoo, D. R.; Date, V.; Fraser-Reid, B. O. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 2662-2663.

Tableau 4. Différents types de donneurs avec les promoteurs correspondants.

| Donneurs de glycosyle | Promoteurs |
|---|--|
|  Trichloroacétimidates | TMSOTf BF ₃ .Et ₂ O |
|  Thioglycosides | NIS / TfOH NIS / TMSOTf IDCP DMTST |
|  Sulfoxides | Tf ₂ O |
|  Fluorures ou Bromures | AgOTf / HfCp ₂ Cl ₂ |

5.2 STRATÉGIE DES SYNTHÈSES D'OLIGOSACCHARIDES

Les deux trisaccharides contenus dans le lipopolysaccharide *B. cepacia* sont les cibles principales, car ils demeurent ancrés directement en surface de la bactérie, même si ces motifs sont moins exposés que le Cepacian qui est l'exopolysaccharide excrété par le CBC. Ces deux motifs, déjà décrits précédemment, seront accessibles selon des stratégies de synthèses multi-étapes. Ces dernières s'appuieront sur des séquences linéaires.

La deuxième partie de ce chapitre décrira l'assemblage de tous les synthons rencontrés tout au long de ce mémoire en commençant par le laminaribioside, puis son élongation pour accéder aux différents oligosaccharides cibles dont l'hexasaccharide. Dans le même temps, les di-, tri- et tétrasaccharides feront l'objet d'une étude pour des étapes ultérieures de glycosylation.

5.2.1 Synthèse du dirhamnoside donneur

L'accepteur D-rhamnoside **89** a été synthétisé à partir du D-mannose **42** selon une séquence regroupant 9 étapes avec un rendement global de 66%: 1) l'installation préliminaire du groupement *p*-méthoxyphényle en position anomérique, 2) une réaction d'iodation sélective de la position 6, 3) une réduction radicalaire pour la conversion en D-rhamnoside, 4) une benzylation régiosélective par la chimie de l'étain, 5) une réaction de benzylation, 6) une hydrogénolyse sur la position 3. La synthèse du donneur imidate **87** impliqué dans la réaction de conjugaison a précédemment été décrite dans le Chapitre IV.

Le donneur **87** a donc été glycosylé avec l'accepteur **89** en utilisant le promoteur triméthyltrifluorométhanesulfonate de triméthylsilyle (TMSOTf) en présence de tamis moléculaire activé et à basse température pour obtenir le dirhamnoside **106** dans un rendement quasi-quantitatif (**Schéma 47**). Du fait de la grande réactivité du groupement anomérique porté par le donneur, il est important d'effectuer les glycosylations en milieu anhydre et sous atmosphère inerte afin d'éviter une compétition entre l'eau et l'accepteur. De ce fait, les réactions de glycosylation demeurent délicates à mettre en œuvre. Le **Schéma 48** illustre le mécanisme de la glycosylation en utilisant le trichloroacétimidate comme donneur, impliquant la formation d'un intermédiaire de type oxocarbénium puis acétoxycarbénium.

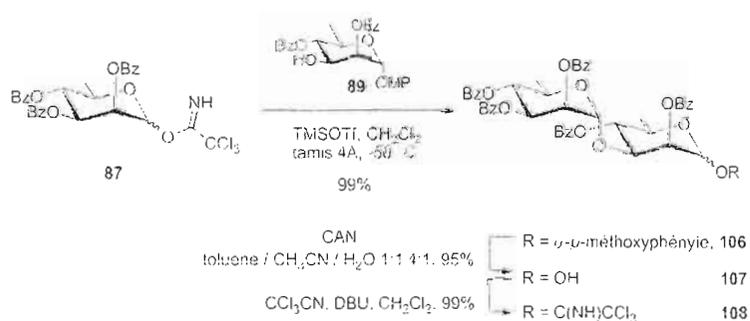


Schéma 47. Synthèse du donneur disaccharide **108**.

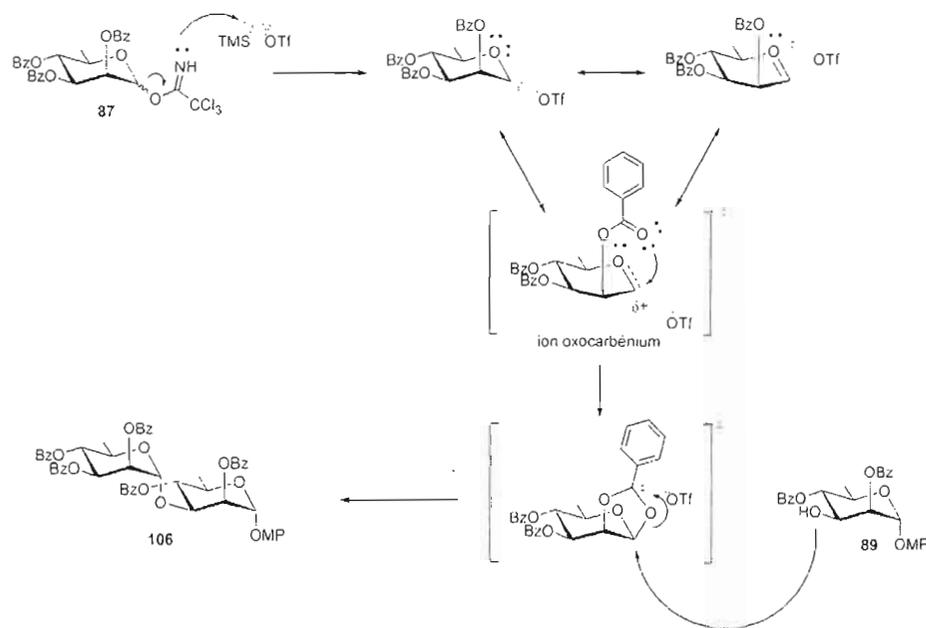


Schéma 48. Mécanisme réactionnel de la glycosylation à partir du donneur imidate en utilisant le TMSOTf comme promoteur.

Comme le rhamnoside appartient à la même famille que les mannosides, la constante de couplage H1-H2 ne confirme pas directement l'anométrie. De ce fait, une expérience de type HSQC permet de confirmer le caractère « α » de la liaison glycosidique (~ 170 Hz, **Figure 27**).

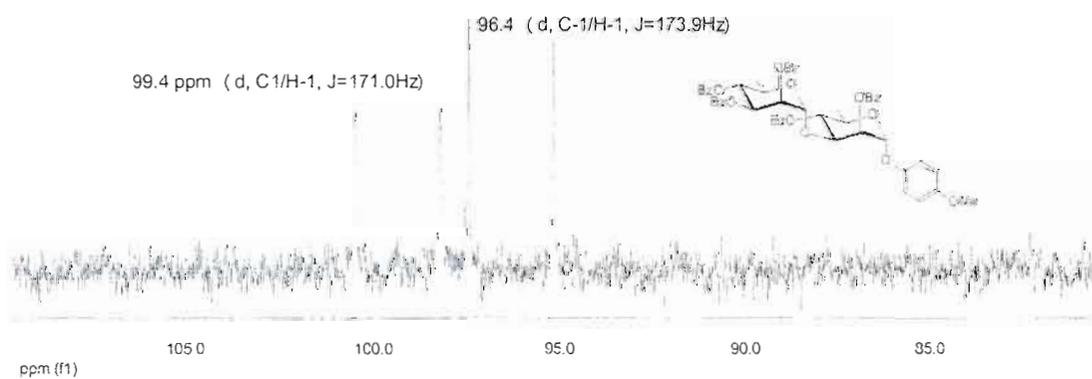


Figure 27. Spectre de RMN ^{13}C non découplé de type HSQC du disaccharide **106**.

La déprotection oxydative en utilisant le CAN, discuté précédemment, a permis l'obtention de l'hémiacétal **107** avec un rendement de 95%, suivie de l'introduction de la

fonction trichloroacétimide pour conduire au dirhamnoside activé donneur **108** avec un rendement optimisé de 99%.

5.2.2 Synthèse du trisaccharide mineur

Le trisaccharide cible a été synthétisé selon la même procédure de glycosylation optimisée décrite précédemment. Ainsi, le donneur dirhamnoside **108** a été mis en présence de l'accepteur **76** synthétisé à partir du D-mannose **42** (63% en 10 étapes ou 33% en 8 étapes par migration de type acétate **88**→**76**), pour synthétiser le trisaccharide, α -D-Rhap-(1→3)- α -D-Rhap-(1→2)- α -D-Rhap qui a été obtenu avec un rendement de 85% (**Schéma 49** et **Figure 28**).

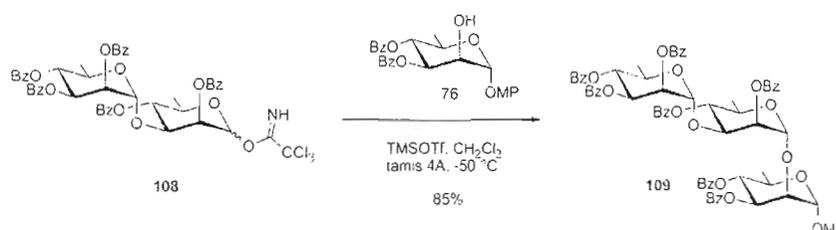


Schéma 49. Synthèse du trisaccharide mineur **109**.

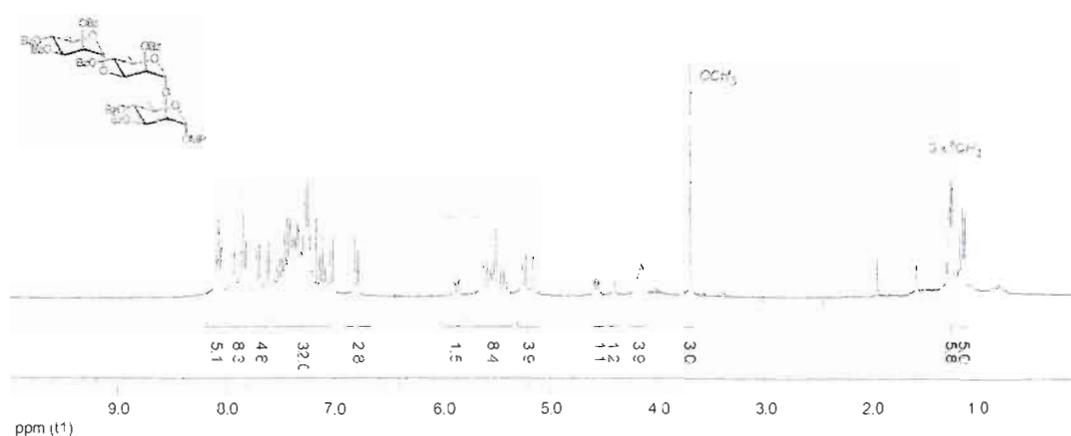


Figure 28. Spectre de RMN ¹H du trisaccharide **109**.

Le rendement global de cette synthèse totale linéaire à partir du D-mannose **42** est de 37% en 21 étapes (ou 19% en 18 étapes optimisables). D'ailleurs, ce motif trisaccharidique n'est pas encore fonctionnel.

Quatre éventualités peuvent être envisagées dans ce but: 1) une réaction tandem de déprotection oxydative-imidate-glycosylation; 2) une réaction tandem de déprotection-acétylation-glycosidation; 3) un échange direct du groupement anomérique *p*-méthoxyphényle en allyle tel que proposé lors de la synthèse du composé **81** (Schéma 40) ou 4) une réaction de glycosylation avec l'accepteur **81** déjà fonctionnalisé.

5.2.3 Synthèse du trisaccharide majeur

La deuxième synthèse trisaccharidique majeur du lipopolysaccharide a été effectuée selon une réaction de glycosylation impliquant le donneur trichloroacétimide de dirhamnosyle **108** et l'accepteur **110**¹⁷⁵ préalablement sélectivement benzoylé en profitant de la faible réactivité de la position 4 axiale à basse température.^{176,56} Le trisaccharide majeur **111** a donc été synthétisé dans des conditions similaires discutées auparavant en utilisant le TMSOTf en tant que promoteur. Un rendement de 66% a été obtenu pour ce trisaccharide fonctionnalisé (Schéma 50, Figure 29).

De façon identique à l'assignation sans équivoque de l'anomérie « α » de la liaison *O*-glycosidique du dirhamnoside **106**, l'expérience HSQC a permis de déterminer les constantes de couplage $^1J_{C-H}$ de chaque unité saccharidique du trisaccharide **111**: 171.4, 172.3 et 173.4 Hz (*O*-allyle), caractéristiques d'une anomérie « α » (Figure 30).

¹⁷⁵ El-Shenawy, H. A.; Schuerch, C. *Carbohydr. Res.* **1984**, *131*, 227-238.

¹⁷⁶ Le composé **110** a été synthétisé par D. Giguère au laboratoire de chimie thérapeutique à l'UQAM.

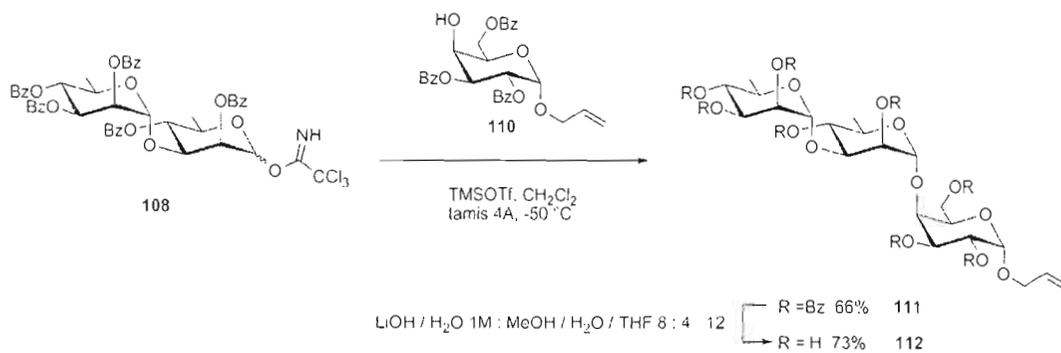
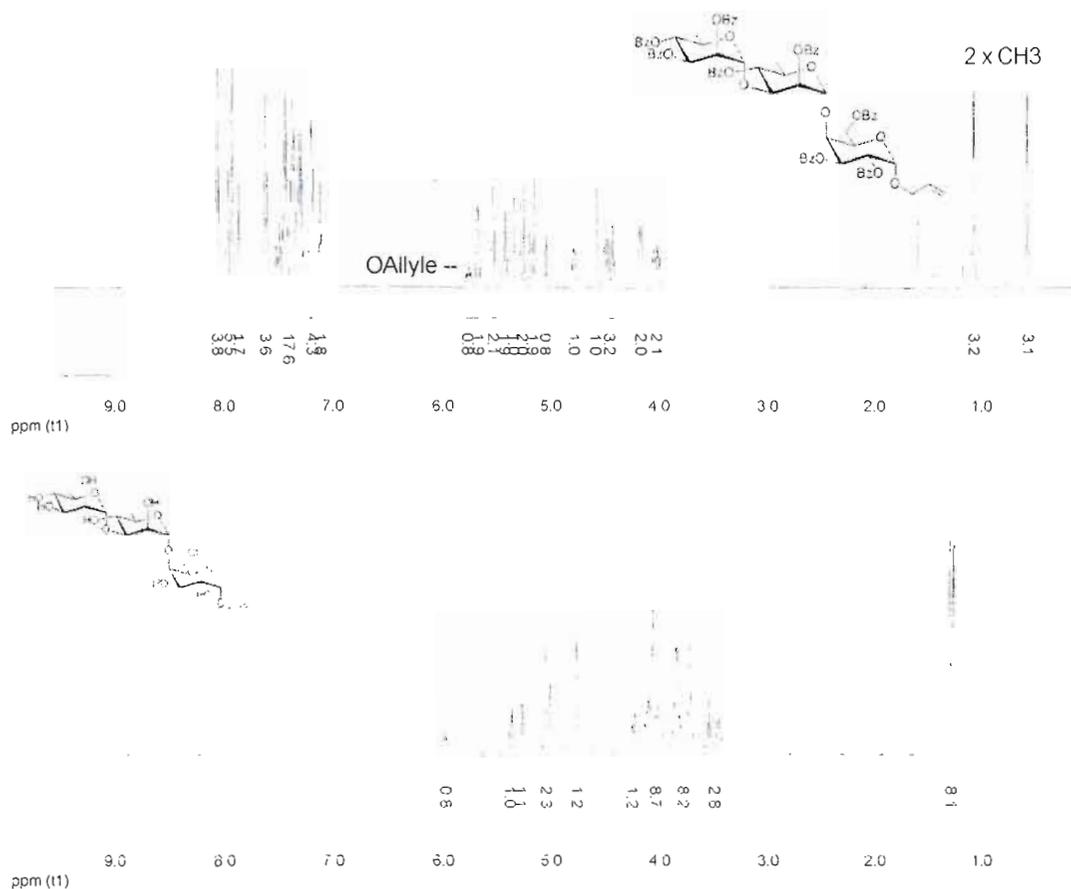


Schéma 50. Synthèse du trisaccharide majeur 112.

Figure 29. Spectres RMN ^1H des trisaccharides 111 et 112.

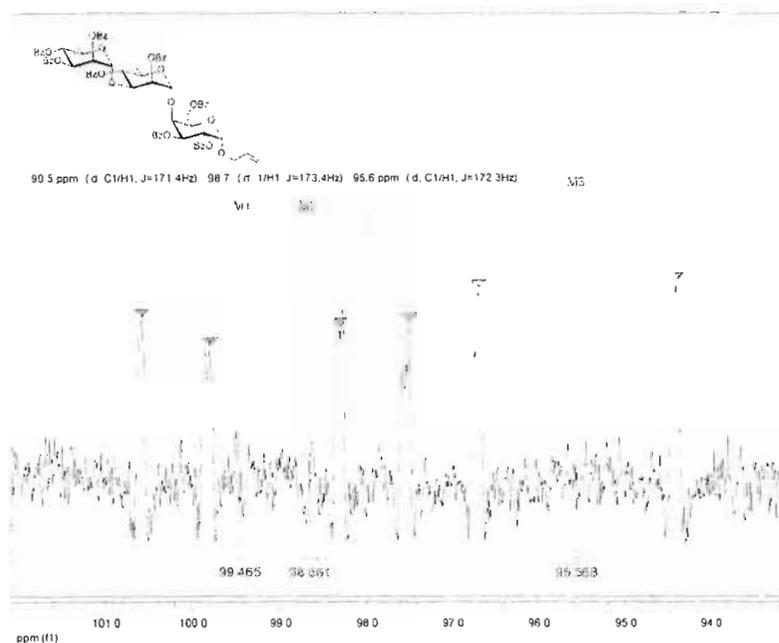


Figure 30. Spectre de RMN ^{13}C non découplé de type HSQC du trisaccharide **111**.

La déprotection des groupements benzoates a été par la suite réalisée afin de coupler le trisaccharide libre avec des peptides Tc-épitopes synthétisés auparavant (Chapitre III). La déprotection a été effectuée avec un rendement de 73%, dans un mélange MeOH/H₂O/THF 8:4:12 et en utilisant l'hydroxyde de lithium comme base. L'analyse par RMN du proton confirme la disparition des groupements benzoates dont les signaux caractéristiques se situent entre 7 et 8 ppm (dans CDCl₃) (**Figure 29**). Le trisaccharide final a été isolé avec un rendement global sur 17 étapes de 28%, selon une séquence synthétique linéaire.

5.3 STRATÉGIE DE LA SYNTHÈSE VERS LES MOTIFS OLIGOSACCHARIDIQUE DU CEPACIAN

Le CBC peut entraîner des complications sévères chez les patients atteints de FK en développant le « syndrome cepacia » responsable notamment de graves problèmes respiratoires. Des oligosaccharides du motif de répétition du Cepacian, EPS excrété par le CBC représentent les cibles principales spécifiques potentiellement antigéniques du CBC après couplage avec un Tc-épitope en vue de la préparation d'un vaccin entièrement

synthétique. Pour ce faire, l'analyse rétrosynthétique discutée précédemment au Chapitre IV révèle l'importance de l'acide glucuronique « tétraglycosylé ». Le laminaribioside constitue le point de départ des synthèses d'oligosaccharides cibles, initiées par l'utilisation du synthon commun 4,6-*O*-benzylidène- α -D-glucopyranoside d'allyle **33** et de ses dérivés protégés.

5.3.1 Synthèse du laminaribiose

Suite à l'optimisation de la réaction de glycosylation (**Schéma 47**; composé **116**), la standardisation et l'application systématique des conditions réactionnelles mises en jeu à savoir l'utilisation d'un donneur de type trichloroacétimide, du TMSOTf comme promoteur dans le dichlorométhane fraîchement distillé ont été préconisées pour ce type de réaction. La température réactionnelle peut être variable entre -80 à 0 °C, et adaptée au cas par cas selon la nucléophilicité de l'accepteur.

Lors de la glycosylation (**Schéma 51**), le promoteur TMSOTf par l'intermédiaire de l'atome de silicium se comporte comme un acide de Lewis, ce qui permet l'attaque du doublet de l'azote (trichloroacétimide **29**, **27**, **27- β**). Le départ du trichloroacétamide permet la formation d'un intermédiaire ion oxycarbénium qui, par l'intermédiaire de l'assistance anchimérique de la position 2 de type acétate, conduit à la formation d'un ion acétoxy carbénium. Cet intermédiaire encombre la face α , ne permettant ainsi que l'attaque de l'hydroxyle de l'accepteur **34** que par la face β du donneur de glucosyle **29**, **27** et **27- β** pour former le laminaribioside **113** avec des rendements de 82, 56 et 45%, respectivement.

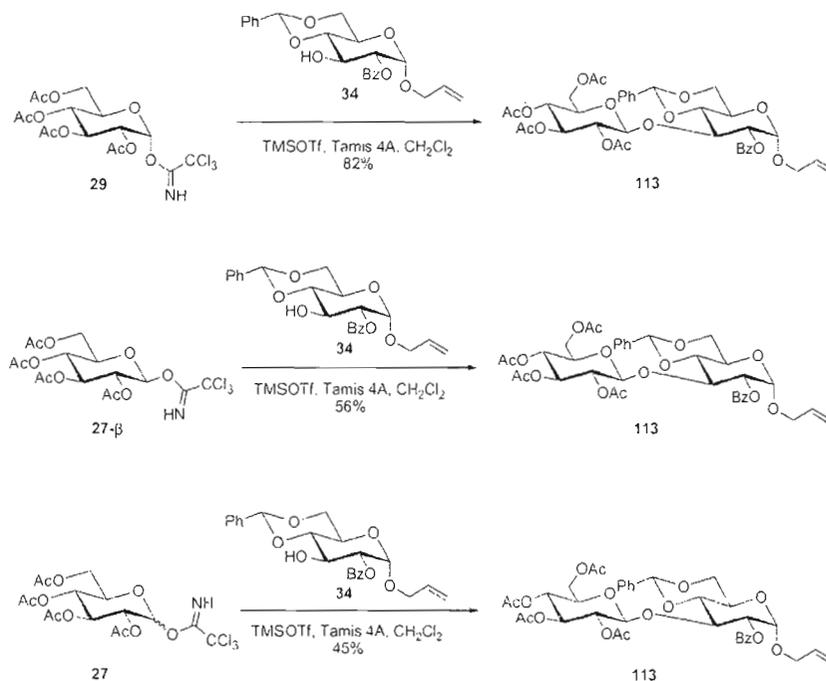


Schéma 51. Comparaison de la réactivité de différentes conformations du donneur lors de la synthèse de laminaribioside.

L'influence de la configuration des groupements en position anomérique sur la réaction de glycosylation a été étudiée. Ces synthèses de laminaribioside **113** ont été effectuées dans des conditions réactionnelles strictement identiques en utilisant des donneurs glucosides de différentes anoméries pour comparer leur réactivité respective : α , β et le mélange anomères α/β . Il ressort de cette étude comparative qu'un donneur trichloroacétimidate d'anomérie « α » est plus réactif qu'un trichloroacétimidate en « β », conduisant à un rendement en **113** de 82%, contre 56%. Cette réactivité peut être expliquée par le fait que la liaison aglyconique axiale, stabilisée par l'effet anomère, est plus longue que celle équatoriale donc plus facile à rompre sous l'action d'un promoteur. Le résultat appuie lors de la préparation des donneurs sur l'utilisation de la base de type DBU conduisant à la synthèse du donneur dont l'anomérie majoritaire est « α » (Chapitre IV, section 4.4, **Schéma 16**, composé **29**), contrairement à l'utilisation de K_2CO_3 .

5.3.2 Synthèse du disaccharide 114

La synthèse de la cible finale hexasaccharidique fût réfléchi selon une stratégie similaire aux autres oligosaccharides inférieurs mettant finalement en œuvre une dernière glycosylation avec une D-galactose donneur. Le synthon glucoside commun, glycosylé avec un analogue pour conduire au laminariobiose **113**, peut également être engagé dans une glycosylation avec le D-mannosyle **66** afin d'obtenir le disaccharide **114** (**Schéma 52**).

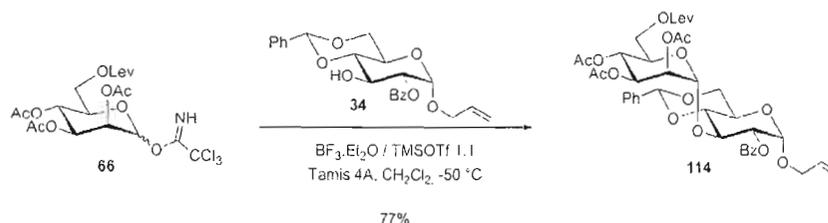


Schéma 52. Synthèse de disaccharide **114**.

Dans les conditions de glycosylation standardisées, le disaccharide **114** a été isolé avec un rendement de 77% à partir du donneur trichloroacétimidate de mannosyle **66** et de l'accepteur **34**. Les signaux caractéristiques des protons des groupements benzyldènes et lévulinate observés en RMN constituent d'excellents marqueurs permettant d'affirmer leur présence ou leur absence en cas de clivage sélectif de ceux-ci. Ainsi, le disaccharide **114** a été engagé dans des conditions de clivage sélectif du groupement lévulinate en présence d'hydrazine monohydratée pour conduire à l'accepteur **115** dans un rendement de 98% (**Schéma 53**). Ce dernier pourra éventuellement réagir avec le donneur galactoside pour la synthèse d'un trisaccharide d'intérêt dans le cadre de notre travail.

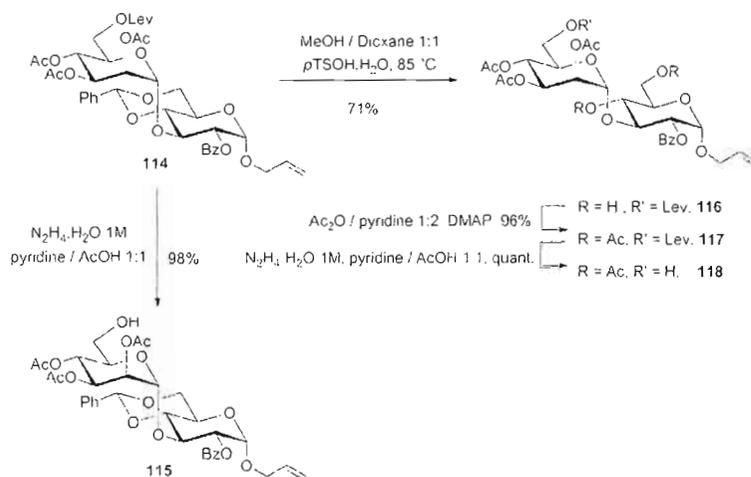


Schéma 53. Synthèse de l'accepteur et du précurseur du donneur disaccharidique.

La déprotection du dérivé benzylidène **114** a par la suite été effectuée dans conditions acides avec un rendement de 71%. L'acétylation de ce diol **116** ainsi généré, selon la méthode de Behrend a été complétée avec un rendement de 96%. Ce disaccharide lévulinylé **117** représente un synthon idéal prêt pour la conversion en trichloroacétimide pour être utilisé comme donneur dans une réaction de glycosylation. L'accepteur commun **34** a alors été utilisé dans le but de former le trisaccharide représentant le squelette répétitif du Cepacian. Parallèlement, le clivage du groupement lévulinate du composé **117** selon les conditions précédemment décrites a permis l'obtention de l'accepteur **118** avec un rendement quantitatif.

5.3.3 Essai de la glycosylation avec le donneur D-galactoside

Avant de s'engager dans la synthèse du tétrasaccharide central qui sera subséquemment glycosylé avec un dérivé galactoside, une optimisation des conditions réactionnelles s'est avérée nécessaire. Ainsi, une conjugaison engageant l'accepteur mannoside **64** avec le donneur galactoside **16** a préalablement été tentée (**Schéma 54**).

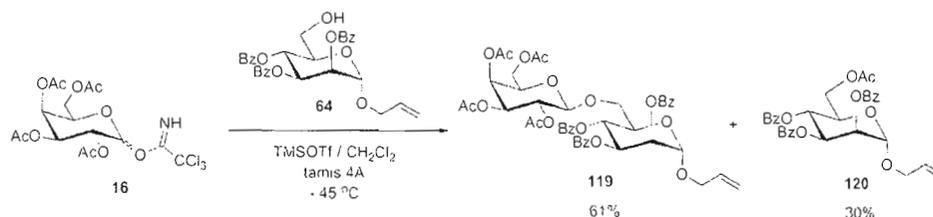


Schéma 54. Synthèse de disaccharide 119.

Cette glycosylation a été effectuée selon la procédure optimisée pour conduire au disaccharide **119** avec un rendement de 61%. De façon surprenante, un sous-produit de réaction correspondant à l'accepteur acétylé **120** a été isolé avec un rendement de 30%. La température réactionnelle a été scrupuleusement contrôlée et maintenue constante à -45°C tout au long de la réaction. Le rendement de formation du dissaccharide **119** donne une indication quant à la réactivité modérée du donneur trichloroacétimidate à cette température. Le trichloroacétimidate a été activé face à TMSOTf à cette température. Ainsi, en augmentant le pouvoir de l'acide de Lewis utilisé ($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ au lieu du TMSOTf) et en se plaçant à la même température, la formation de l'orthoester conduisant au produit indésirable **120** pourrait être évitée.

Selon un raisonnement similaire, la glycosylation du donneur galactoside **16** a été essayée avec les accepteurs **75**, **76** et **97**. pour constituer le côté latéral opposé de l'hexasaccharide. Les dissaccharides **121** et **122** à partir de **75** et **76** ont été isolés avec de faibles rendements de 8 et 16% respectivement. Connaissant la faible nucléophilicité de la position 2 axiale du rhamnoside, la réaction a été conduite à très basse température (-80°C) afin de stabiliser l'acétoxy carbénium formé, puis augmentée graduellement jusqu'à 0°C pour une attaque préférentielle nucléophile. L'utilisation de groupements protecteurs plus ou moins encombrants sur les positions 3 et 4 des accepteurs correspondants a de même été envisagée afin de jouer sur l'encombrement stérique dans le but d'éviter une migration d'acétate intermoléculaire (**Schéma 55**). Dans le cas de l'utilisation de groupement de type benzyle « accepteur armé », le disaccharide **124** désiré n'a pu être isolé, malgré le fait que sa présence ait pu être déterminée par spectroscopie de masse. En revanche, le 2-*O*-acétate **125** a été isolé avec un rendement de 23%, confirmant l'hypothèse de l'existence de l'orthoester.

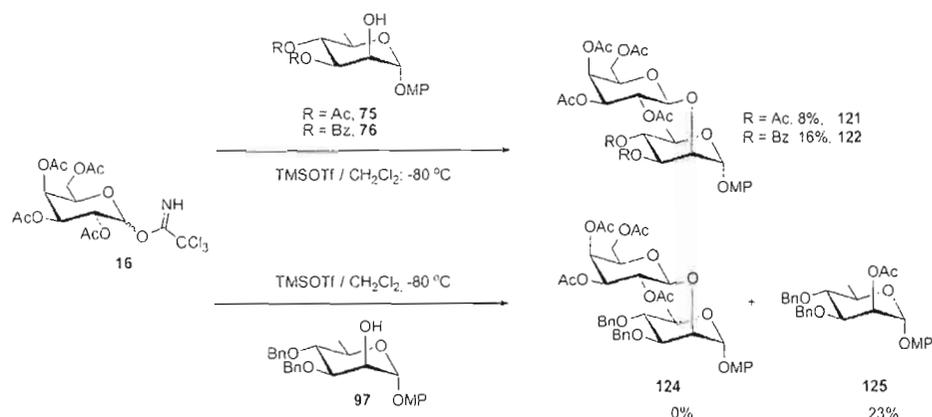


Schéma 55. Synthèse de disaccharides et comparaison avec des accepteurs protégés sous différentes formes.

Devant ces résultats peu encourageants, des essais supplémentaires ont été effectués, notamment en utilisant différents accepteurs. L'accepteur fonctionnalisé allylé **101** a ainsi été engagé selon la même procédure. Malheureusement, les résultats obtenus se sont avérés identiques à ceux observés auparavant, à savoir la synthèse quasi-exclusive (50%) du monosaccharide acétylé **127** analogue à l'accepteur utilisé (**Schéma 56**).

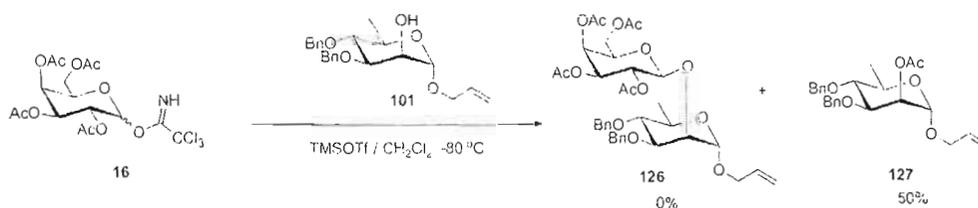


Schéma 56. Tentative de synthèse du disaccharide cible **126**.

Considérant que la migration intermoléculaire d'acétate se produit pendant la réaction dans ces conditions réactionnelles, l'accepteur **68** synthétisé en vue de la synthèse du disaccharide **128** a alors été engagé afin de déterminer si le groupement benzylidène a un effet sur le devenir de la glycosylation. Cet encombrement stérique pourrait permettre d'éviter l'attaque sur l'acétoxy carbénium en faveur de celle désirée sur le carbone anomérique. Les résultats indiquent que le disaccharide **128** attendu a été isolé avec 48% de rendement, également en présence de substrat accepteur **68** à hauteur de 13%. L'accepteur

acétylé a une fois de plus été isolé mais avec un rendement beaucoup plus faible de 4% (**Schéma 57**).

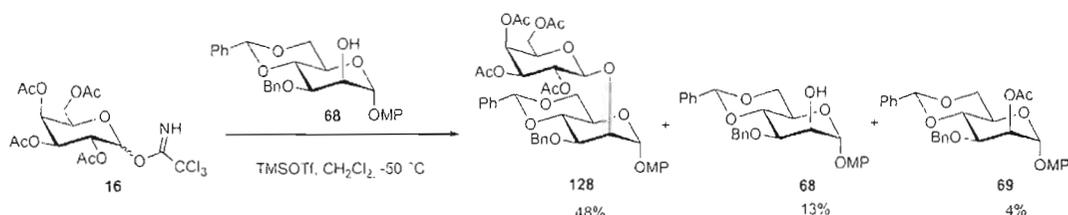


Schéma 57. Synthèse du disaccharide analogue **128** et la vérification de la réactivité de la position 2 du mannoside lors de la glycosylation.

L'effet bénéfique du benzylidène utilisé afin d'éviter la migration d'acétate a été confirmé par le rendement faible du composé **69** isolé. Cependant, 13% d'accepteur **68** n'ont pas réagi et la faible nucléophilicité dans ces conditions réactionnelles pourrait expliquer ce résultat.

Une réaction supplémentaire consistant en l'utilisation de l'accepteur D-rhamnoside **76** protégé par des fonctions benzoates aux positions 3 et 4 en présence du donneur galactoside **20** de type thioéthyle (plus réactif que les analogues thiophényle et thiosulfoxyde) (**Schéma 58**). La glycosylation a été réalisée à -40°C en utilisant le promoteur NIS et l'acide trifluorométhanesulfonique (TfOH). Le dissaccharide attendu **122** a été isolé avec un faible rendement de 29%, et l'accepteur acétylé **123** a constitué une nouvelle fois le composé majoritairement isolé (50%).

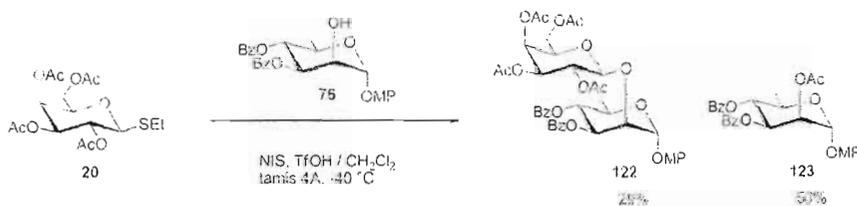


Schéma 58. Synthèse de disaccharide **122**.

5.3.4 Tentative de synthèse du trisaccharide cible du *Cepacian*

Nos efforts se sont également portés sur la synthèse du trisaccharide selon une stratégie similaire. Ainsi, l'accepteur disaccharidique **129**¹⁷⁷ a été glycosylé avec le donneur thiophényle **17**, dans les mêmes conditions de température à -78 °C ou 0 °C. La formation du trisaccharide **130** n'a pas été observée. L'utilisation d'un donneur **23** de type thiophényle, dans le but de « tordre » l'angle dièdre ϕ et d'augmenter la surface d'attaque en « β », en présence du donneur **23** à -50 °C a conduit aux mêmes résultats décevants (Schéma 59). En revanche, on soupçonne la formation de l'accepteur acétylé **132**.

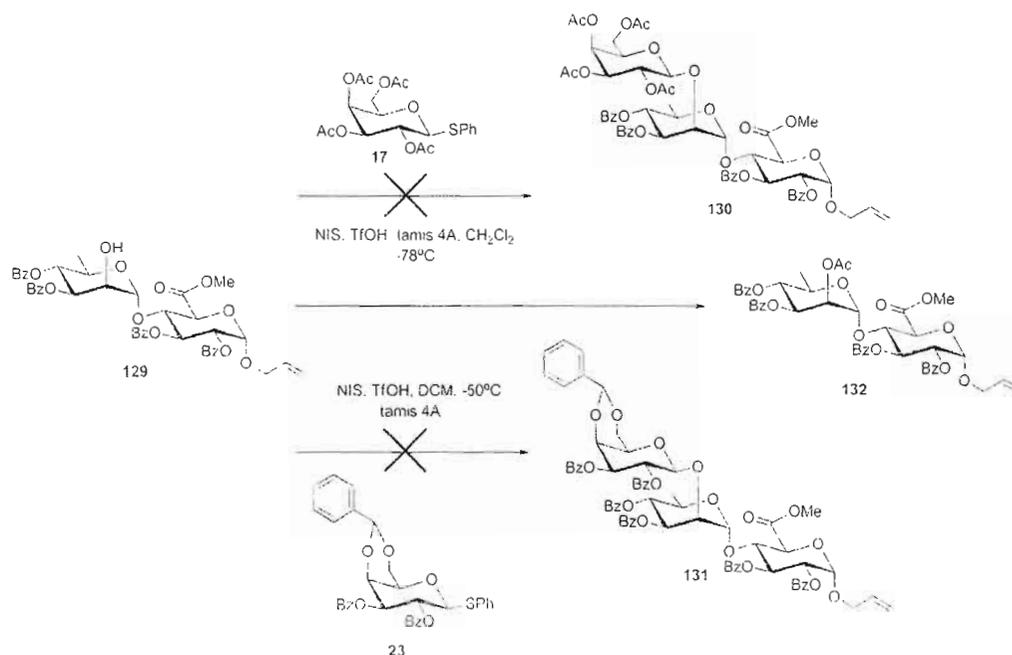


Schéma 59. Synthèse de trisaccharide cible.

En conclusion de cette section, tous les types d'accepteurs synthétisés ont été engagés dans des tests de glycosylation. De tous, la seule nous ayant fourni des résultats satisfaisants concernait la synthèse du disaccharide **119** avec un rendement de 61% à partir d'un accepteur présentant une fonction hydroxyle primaire libre en position 6. A partir de ce constat, notre

¹⁷⁷ Composé synthétisé et fourni par le Dr. R. Fauré, impliqué dans la synthèse du vaccin contre *B. cepacia*.

recherche s'est intensifiée pour améliorer les résultats de ces étapes critiques de glycosylation. En ce sens, une nouvelle stratégie alternative sera décrite dans la prochaine section. De même, l'utilisation de substrats différents, de diverses conditions réactionnelles seront l'objet d'intenses investigations.

5.4 NOUVELLE STRATÉGIE

Du fait des résultats « médiocres » obtenus lors des étapes de glycosylation engageant les dérivés galactosides donneurs, une stratégie visant à glycosyler *in fine* l'accepteur tétrasaccharide avec le donneur galactoside a été développée sans pour autant affecter les synthons synthétisés au préalable. Effectivement, cette alternative propose seulement un changement de stratégie au niveau de la synthèse des oligosaccharides en vue d'obtenir l'hexasaccharide (**Schéma 60**).

Dans un premier temps, l'étape de glycosylation entre le donneur galactoside et l'accepteur rhamnoside constitue la priorité synthétique pour laquelle une optimisation est absolument nécessaire, ce motif disaccharidique étant indispensable à la formation de l'hexasaccharide désiré. La stratégie de la synthèse du dérivé laminaribioside tétraglycosylé central à partir du même synthon le glucoside **33** demeure quant à elle inchangée. Enfin, le disaccharide β -D-Galp-(1→6)- α -D-Manp **119** discuté précédemment (**Schéma 54**) peut de même faire l'objet d'études pour une optimisation. Finalement, les trois dissaccharides pourront être couplés entre eux pour former l'hexasaccharide dans une séquence qui reste à définir : soit le disaccharide rhamnoside sera couplé avec le dérivé du laminaribiose en premier; soit ce dernier pourra être initialement glycosylé avec le donneur converti à partir du disaccharide **119**; et enfin la conjugaison entre le disaccharide et le tétrasaccharide nouvellement formé et adéquatement fonctionnalisé.

Entre outre, d'autres cibles ont également été déterminées pour la synthèse d'oligosaccharides. Compte tenu du manque de connaissance sur le potentiel antigénique des différents fragments saccharidiques du Cepacian excrété par le CBC, responsable de

complications lié à la FK, de nombreux « petits » oligosaccharides (di-, tri- et tétrasaccharides comme ceux représentés **Figure 6**) constituent également des cibles synthétiques dont l'étude pourrait être utile par la suite.

Le **Schéma 60** illustre la structure du motif heptasaccharidique répétitif du Cepacian et l'analyse rétrosynthétique de ce dernier, à partir de différents types d'hydrates de carbones déjà rencontrés précédemment.

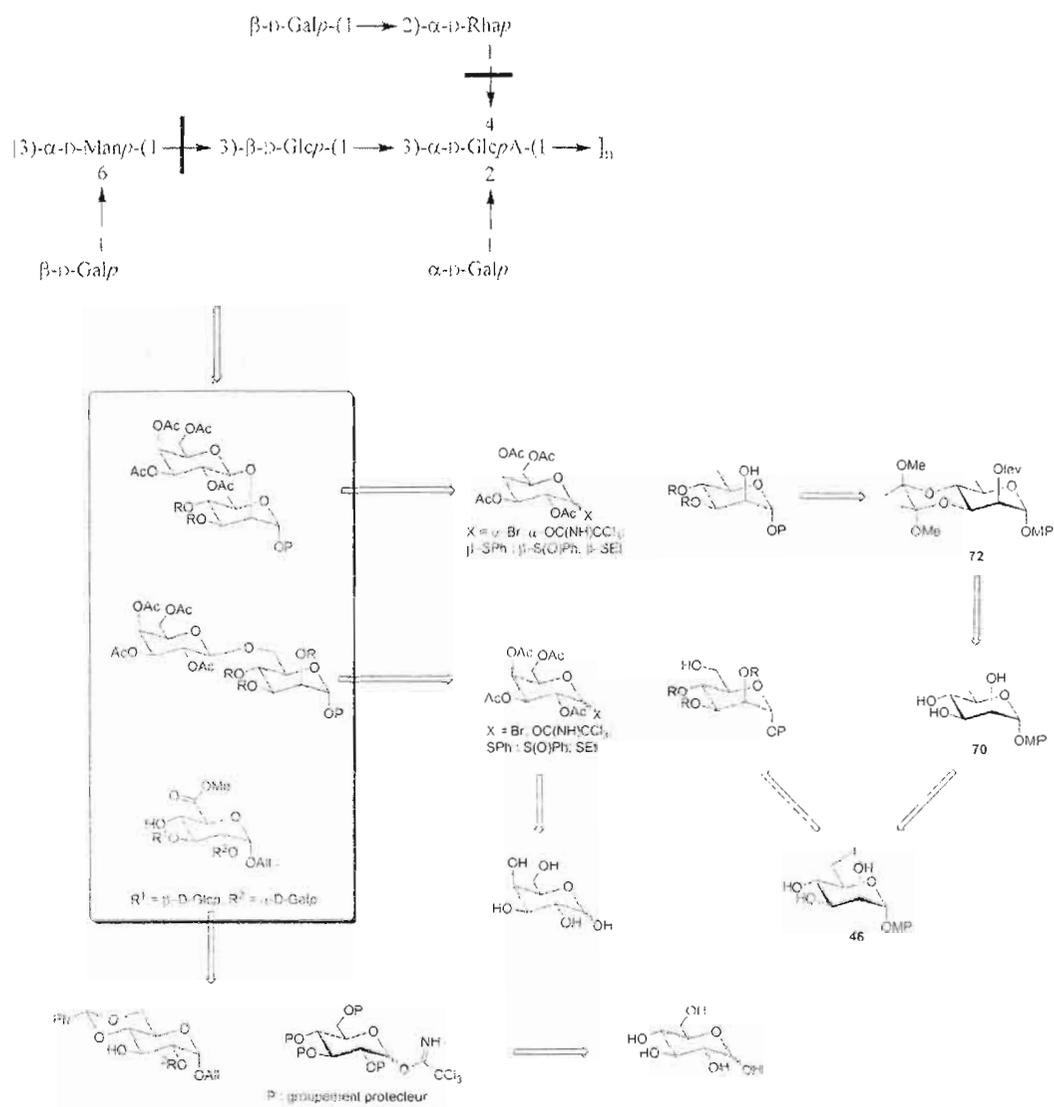


Schéma 60. Analyse rétrosynthétique de la nouvelle stratégie jusqu'au motif hexasaccharidique.

Dans un premier temps, le disaccharide *p*-méthoxyphényle **122** précédemment synthétisé a été engagé dans des conditions réactionnelles permettant sa conversion efficace en donneur **134** (Schéma 61). Son activation a donc été effectuée à partir de l'hémiacétal **133** en utilisant le DBU comme base pour produire le trichloroacétimidate d'anomérie majoritaire « α » avec un rendement de 83%. Le donneur **134** qui est le motif principal est alors prêt pour les glycosylations afin d'atteindre les tri- et le tétra- ainsi que l'hexasaccharide cibles.

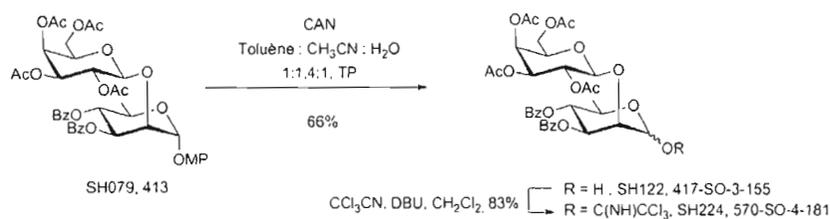


Schéma 61. Synthèse du donneur disaccharidique **134**.

Concernant la modification du laminaribioside **113** en un dérivé acide accepteur, une première étape de clivage du groupement de benzylidène selon des conditions précédemment optimisées a été effectuée avec un rendement de 74%. Le dérivé diol ainsi généré a ensuite subi une oxydation sélective de l'hydroxyle en position 6 par voie radicalaire impliquant le TEMPO, suivie d'une méthylation en présence de K₂CO₃ et d'iodure de méthyle. Ces deux étapes synthétiques ont conduit efficacement à l'accepteur laminaribioside fonctionnalisé **136** avec un rendement global de 72% (Schéma 62).

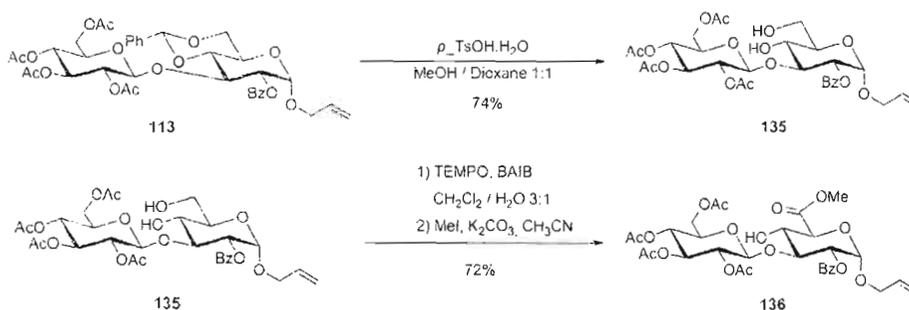


Schéma 62. Synthèse de l'accepteur disaccharidique **136**.

Les deux synthons disaccharidiques décrits plus haut, l'accepteur disaccharidique central **136** et le donneur **134** sont idéalement fonctionnalisés pour une étape de glycosylation afin d'obtenir le tétrasaccharide **137** (Schéma 63). Compte tenu de la nature « α » de la liaison glycosidique entre ces deux motifs, la glycosylation s'effectuera sans assistance anchimérique.

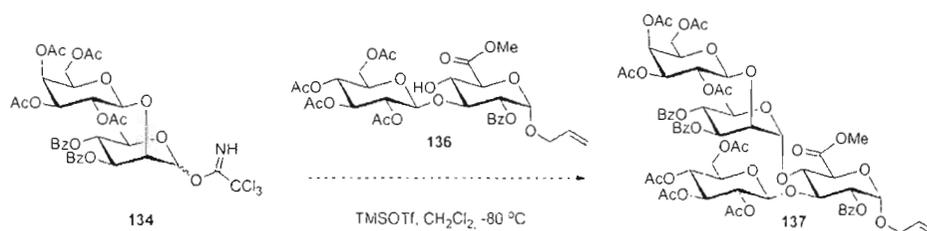


Schéma 63. Synthèse du tétrasaccharide cible.

Parallèlement, des essais de glycosylations impliquant le donneur **23** et différents accepteurs de type *p*-méthoxyphényle ou allyle **76**, **56** et **101**, dans le dichlorométhane distillé à -50°C en utilisant le NIS et le TfOH comme promoteur. La formation des disaccharides **138**, **139** et **140** n'a malheureusement pas été observée.

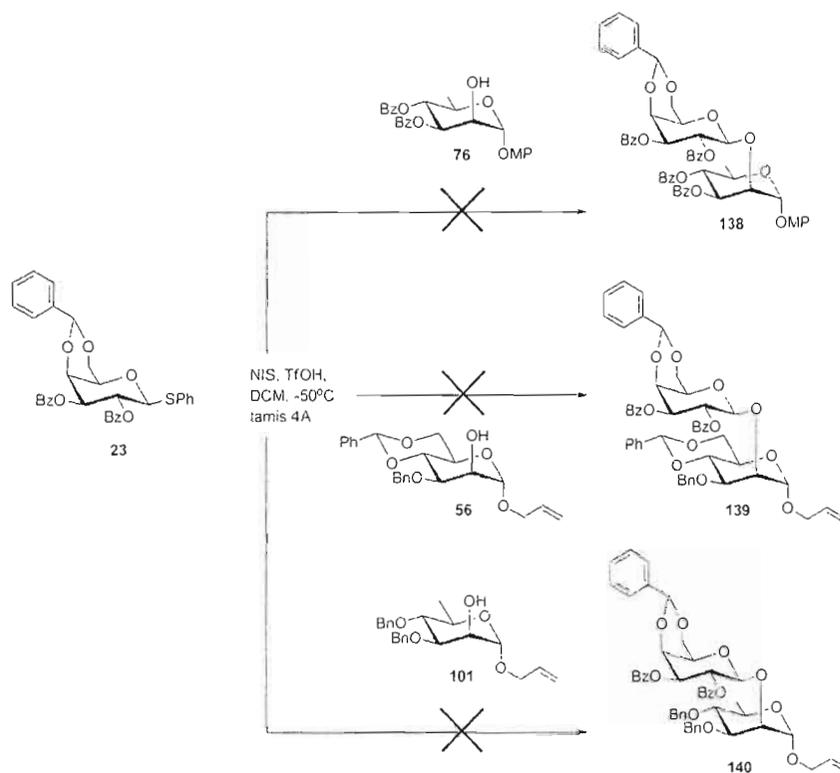


Schéma 64. Essais des synthèses de disaccharide à partir de différents accepteurs.

Comme nous l'avons mentionné précédemment, l'optimisation de la synthèse du trisaccharide **141** est nécessaire avant la glycosylation, la synthèse pourra éventuellement être engagée dans une nouvelle méthode comme la préparation du composé **81** à partir du composé **76** (Schéma 40), c'est-à-dire la déprotection du groupement *p*-méthoxyphényle par réduction oxydative dans un milieu anhydride concerté avec la formation de l'oxycarbénium qui subira l'attaque du doublet nucléophilique de l'accepteur par la face dicté par l'effet anomérique. En résumé, une réduction oxydative suivi d'une glycosylation *in situ*.

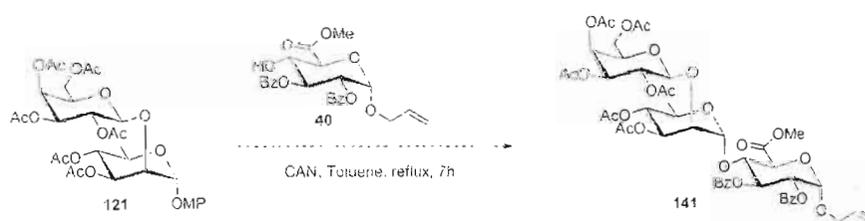


Schéma 65. Synthèse de trisaccharides cible.

En effet, le but de la méthode décrite dans le **Schéma 40** pour la synthèse du composé **81** à partir du composé **76** qui a un hydroxyle libre en position 2 était prévu pour ce genre de synthèse, d'une part pour confirmer la prédominance de l'effet anomérique et d'autre part pour son utilisation lors d'une synthèse sans participation anchimérique.

5.5 GLYCOPEPTIDE: VACCINS

La dernière partie du projet concerne la conjugaison dans le but de concevoir un vaccin glycopeptidique entièrement synthétique permettant d'activer le système immunitaire de façon universelle (Tc-épitope universel) avec la spécificité antigénique (motif oligosaccharidique de surface de *B. cepacia*). Ainsi, le trisaccharide **111** synthétisé précédemment a été engagé dans deux types de conjugaison, selon des réactions de métathèse croisée ou d'addition radicalaire, avant d'être conjugué avec des Tc-épitope synthétiques (Chapitre III).

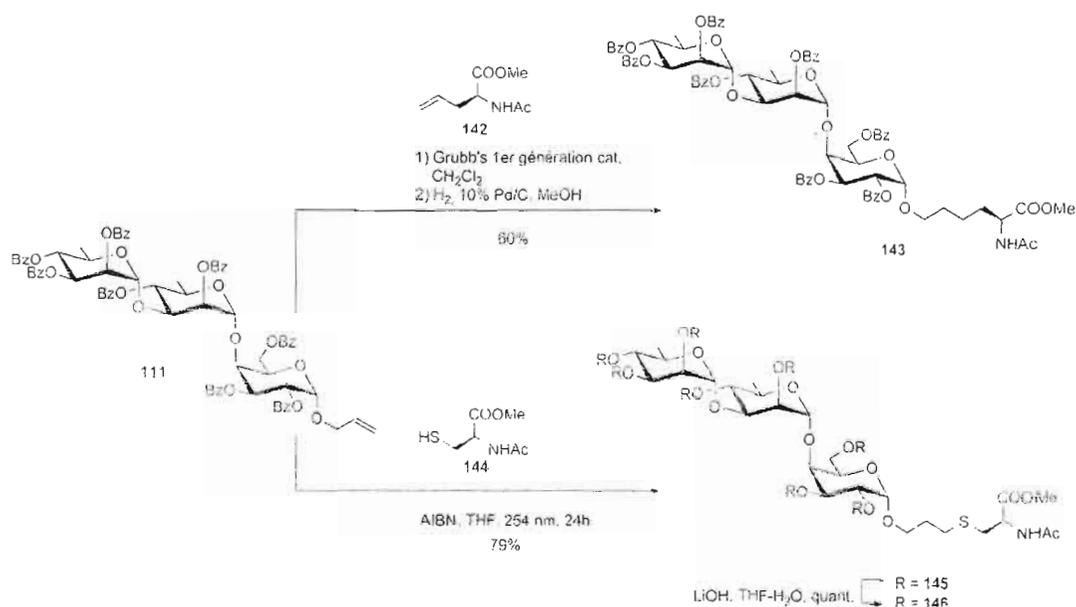


Schéma 66. Synthèse de trisaccharides fonctionnalisés par deux méthodes différentes.

La première voie de conjugaison implique l'utilisation du trisaccharide fonctionnalisé **111** avec le *N*-acétyl-L-allylglycine **142** pour une réaction de métathèse croisée^{178,179} en utilisant le catalyseur Grubbs de première génération suivie d'une hydrogénolyse avec un catalyseur au palladium sur charbon activé. Cette réduction permet de résoudre le mélange de stéréoisomères *E/Z* formés. Le glycopeptide **143** a ainsi été obtenu avec un rendement de 60% (**Schéma 66**).^{56,180} Le même trisaccharide **111** a parallèlement été conjugué au *N*-acétyl-L-cystéine méthyle ester **144** selon une addition radicalaire.¹⁸¹ Il est à noter que cette réaction de conjugaison a été planifiée au début de cette synthèse totale, avec la préparation de synthons fonctionnalisés sous la forme de « *O*-allyle », notamment l'acide glucuronique tétraglycosylé central. Le glycopeptide désiré **145** a été isolé avec un rendement de 79% et a subi une déprotection totale avec le clivage de tous les groupements benzoates en présence de la base LiOH dans un mélange THF/H₂O pour obtenir le glycoconjugué/vaccin final **146** avec un rendement quantitatif (**Schéma 66**).^{56,182}

La conjugaison entre un groupement « thiol » d'une cystéine et la fonction allyle anomérique selon une addition radicalaire a été établie avec un bon rendement. Ainsi, la fonctionnalisation finale préférentielle des vaccins synthétiques s'effectuera selon l'addition radicalaire en utilisant l'activation de type photonique (**Schéma 67**).

¹⁷⁸ Wan, Q.; Young, S.; Lambert, T. H.; Danishefsky, S. J. *J. Carbohydr. Chem.* **2005**, *24*, 425-440.

¹⁷⁹ Roy, R. and, Das, S. K. *Chem. Commun.* **2000**, *7*, 519-529.

¹⁸⁰ Synthèse effectuée par D. Giguère, étudiant au doctorat dans le laboratoire du Pr. Roy.

¹⁸¹ Roy, R.; Baek, M.-G.; Rittenhouse-Olsen, K., *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 1809-1816.

¹⁸² Synthèses effectuées par Dr. D. Lagnoux, post-doctorant dans le laboratoire du Pr. Roy.

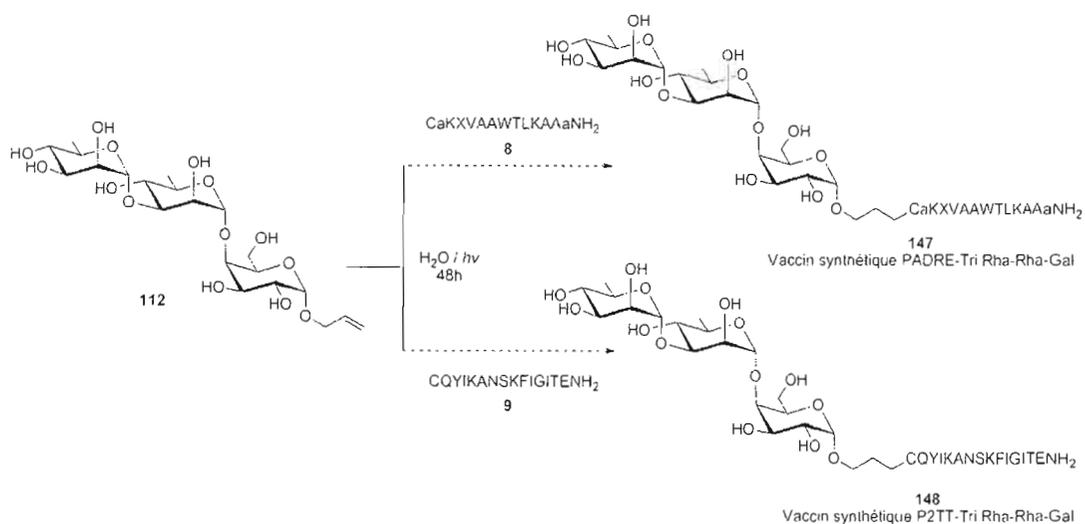


Schéma 67. Synthèse des vaccins potentiels: conjugaison entre trisaccharide et des peptides immunogènes, PADRE et P2TT.

En conclusion, les synthèses des deux trisaccharides **109** et **111** ont été accomplies et optimisées (**Schéma 68**). La conjugaison entre le trisaccharide **112** et deux Tc-épitopes ont permis d'obtenir les glycopeptides Tc-épitope **147** et **148**. La présence des deux vaccins potentiels a été confirmée par analyse de spectrométrie de masse avant d'être totalement isolés.

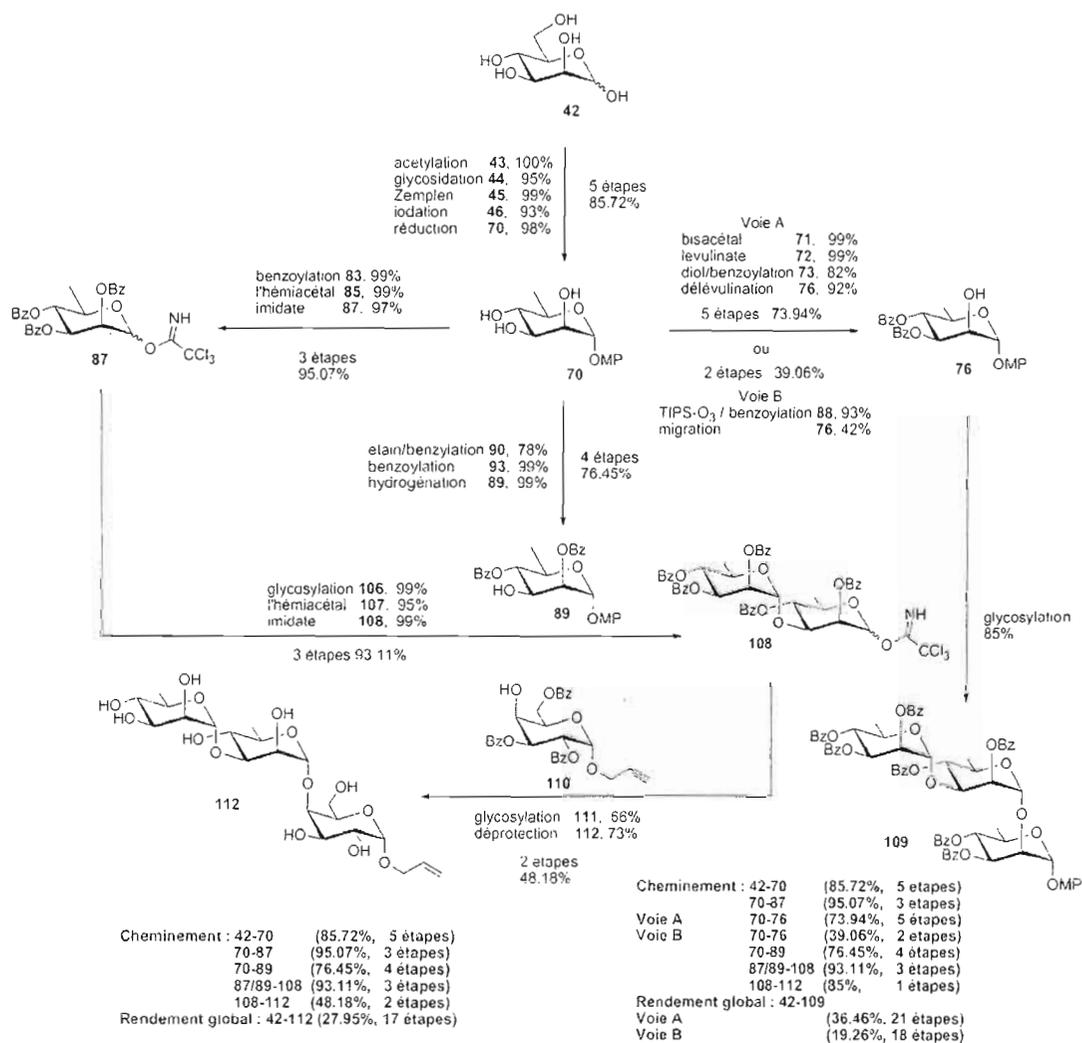


Schéma 68. Schéma de synthèse des deux trisaccharides du LPS de *B. cepacia* 109 et 111.

CHAPITRE VI

CONCLUSIONS GÉNÉRALES ET PERSPECTIVES

L'objectif principal consistant en la synthèse des deux tri-*O*-saccharides du lipopolysaccharide de *B. cepacia* a été atteint. Le trisaccharide mineur a été obtenu avec un rendement global de 37% en 21 étapes séquentielles (ou 19% en 18 étapes optimisables) à partir du D-mannose. Le trisaccharide majeur a été synthétisé pour sa part en 17 étapes, avec un rendement global de 28% (**Schéma 68**).

Des peptides Tc-épitopes universels ont de même été synthétisés par SPPS et obtenus après précipitation sans aucune autre étape de purification supplémentaire. L'ester 3-maléimidopropionique *N*-hydroxysuccinimide, le précurseur de nombreuses séquences synthétiques entreprises dans ces travaux a été synthétisé à l'échelle de plusieurs grammes avec une grande pureté et de hauts rendements.

Des stratégies synthétiques préalablement décrites ont largement été raccourcies en termes de nombre d'étapes de synthèse, ce qui permet d'augmenter les rendements globaux de manière importante. L'acide glucuronique tétraglycosylé central et le dérivé acide laminaribioside ont été synthétisés à partir d'un synthon commun le 4,6-*O*-benzylidène- α -D-glucopyranoside d'allyle **33** permettant la réalisation d'une stratégie de synthèse efficace et orthogonale. La performance des routes de synthèses optimisées à partir de D-mannose permettant l'accès au en D-rhamnoside, sucre rare retrouvé dans les glycoconjugés de parois bactériennes de plusieurs souches pathogènes. Ce résidu potentiellement antigénique et spécifique est présent dans tous les oligosaccharides cibles du projet. Le développement de méthodes orthogonales de protections-déprotections en utilisant plusieurs types de réactions chimiques a conduit à de nouvelles routes synthétiques pour la préparation de vaccin à base d'hydrate de carbone. Les résultats de cette stratégie, ainsi que l'application synthétique ont été valorisés par des publications (voir LIST DE PUBLICATION). Le but final de ce projet

est alors restreint par deux réactions, l'optimisation de la glycosylation de β -D-Galp-(1→2)- α -D-Rhap et la conjugaison finale.

6.1. LISTE DES PUBLICATIONS ET CONFÉRENCES

Publications:

1. Practical synthesis of valuable D-rhamnoside building blocks for oligosaccharide synthesis. Fauré, R.; **Shiao, T. C.**; Damerval, S. and Roy, R. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 2385-2388.
2. En route to a carbohydrate-based vaccine against *Burkholderia cepacia*. Fauré, R.; **Shiao, T. C.**; Lagnoux, D.; Giguère, D. and Roy, R. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 2740-2708.
3. En route vers un vaccin synthétique contre *Burkholderia cepacia* impliqué dans la fibrose kystique. **T. C. Shiao**, et R. Roy, Xe Colloque Annuel des Étudiants-chercheurs en Chimie et en Biochimie de l'UQAM, Montréal, 2-4 mai (2007) http://sciences.uqam.ca/scexp/16avril07/vol6_no8_art_rech5.html
4. Progress toward synthetic glyconjugate vaccine against *Burkholderia cepacia*. Fauré, R.; **Shiao, T. C.**; Damerval, S. and Roy, R. (accepté)
5. Tri- and hexavalent mannoside clusters as potential inhibitors of type 1 fimbriated bacteria using pentaerythritol and triazole linkages. Touaibia, M.; **Shiao, T. C.**; Papadopoulos, A.; Vaucher, J.; Wang, Q.; Benhamioud. K. and Roy, R. *Chem. Comm.*, **2007**, 380-382.
6. Mannosylated G(0) Dendrimers with Nanomolar Affinities to *Escherichia coli* FimH. Touaibia. M.; Wellens, A.; **Shiao, T. C.**; Wang, Q.; Sirois, S.; Bouckaert. J and Roy, R. *ChemMedChem.*, **2007**, *2*, 1190-1201.
7. Expeditive synthesis of glycodendrimer scaffolds based on original TRIS and mannoside derivatives. Chabre, Y. M.; Contino-Pépin. C.; Placide, V.; **Shiao, T. C.** and Roy, R. *J. Org. Chem.*, **2008**, *73*, 5602-5605.

Conférences:

1. XXIIIrd International Carbohydrate Symposium (23-28 juillet 2006, Whistler - Canada).
 - a. Progress toward a Synthetic Carbohydrate-based Vaccine against *Burkholderia cepacia*. R. Fauré, **T. C. Shiao**, R. Roy.
2. Xe Colloque Annuel des Étudiants-chercheurs en Chimie et en Biochimie de l'UQÀM, Montréal, 2-4 mai (2007).
 - a. En route vers un vaccin synthétique contre *Burkholderia cepacia* impliqué dans la fibrose kystique. **T. C. Shiao**, et R. Roy,

Résumé :

La bactérie *Burkholderia cepacia* est un agent pathogène opportuniste qui colonise les poumons des personnes atteintes de Fibrose Kystique (FK) et cause dans 20% des cas une pneumonie nécrotique fatale. Ce complexe *B. cepacia* (CBC) est composé de neuf souches et possède un exopolysaccharide que l'on retrouve parmi huit de celles-ci. Ce polysaccharide, appelé Cepacian, est formé d'un motif de répétition heptasaccharidique, comportant un acide D-glucuronique central tétraglycosylé, un sucre rare le D-rhamnose, ainsi que trois autres motifs saccharidiques différents : trois résidus D-galactopyranosyles, une unité D-glucopyranosyle, et une autre unité D-mannopyranosyle. L'objectif de ce projet de recherche est de produire un vaccin entièrement synthétique à partir de fragments du Cepacian et donc spécifiquement ciblé contre le CBC. Une stratégie générale a été développée et différents épitopes ont été synthétisés. Une autre voie de synthèse a également été développée pour l'obtention en 16 étapes linéaires avec 36% de rendement global d'un motif de répétition trisaccharidique, α -D-Rhap-(1→3)- α -D-Rhap-(1→4)- α -D-Galp. contenu dans un des O-polysaccharides de lipopolysaccharide de *B. cepacia*. Ce trisaccharide a été fonctionnalisé en vue d'obtenir un vaccin entièrement synthétique contre *B. cepacia* par conjugaison avec un peptide immunogène, permettant l'activation du système immunitaire spécifique contre *B. cepacia*.

CHAPITRE VII

PARTIE EXPÉRIMENTALE

La nomenclature utilisée a été adaptée de celle publiée en anglais : "International Union of Pure and Applied Chemistry and International Union of Biochemistry and Molecular Biology" (1997) Nomenclature of carbohydrates, *J. Carbohydr. Chem.*, **16**, 1191-1280.

7.1 GÉNÉRALITÉS

7.1.1 Solvants

Les solvants sont distillés¹⁸³ comme indiqué ci-dessous puis conservés sur tamis moléculaire, sur hydroxyde de potassium ou sur hydrure de calcium. Le dichlorométhane est distillé sur anhydride phosphorique (P₂O₅). La pyridine est distillée sur hydroxyde de potassium. Le toluène est distillé sur hydrure de calcium. Le THF est distillé sur sodium/benzophénone et l'éther sur hydrure de lithium-aluminium. Le DMF est distillé sur ninhydrine puis conservé sur tamis moléculaire. L'acétone est séchée sur sulfate de calcium. Le méthanol est distillé sur sodium métallique et conservé sur tamis moléculaire. Lors des étapes de glycosidation et de glycosylation, les solvants utilisés ont été fraîchement distillés. Les solvants employés pour la chromatographie sont de qualité ACS et n'ont pas été distillés avant leur utilisation. Les solvants sont évaporés sous pression réduite (trompe à eau).

¹⁸³ Perrin, D.D; Armarego, W. L. F. and Perrin, D. R. Purification of Laboratory Chemicals. 1997, Pergamon Press Pub.

7.1.2 Chromatographies

Le progrès des réactions est suivi par chromatographie sur couche mince (CCM) sur plaque de gel de silice (Merk 60 F₂₅₄) en utilisant des systèmes d'éluants appropriés. La révélation est effectuée par irradiation sous lumière UV ($\lambda = 254$ nm) et par trempage dans des révélateurs spécifiques, un mélange acide (acide sulfurique/méthanol/eau : 5/45/45 ; v/v/v) pour les composés protégés ou une solution oxydante de molybdate (préparée à partir de 25 g de molybdate d'ammonium et de 10 g de sulfate cérique dissout dans 900 ml d'eau et 100 mL d'acide sulfurique concentré), puis par chauffage à 300 °C. Les séparations par chromatographie rapide sont réalisées sous pression d'air comprimé sur colonne de gel de silice (Silice-P Flash Silica Gel, Silicycle) avec l'éluant indiqué. L'éluant utilisé pour la séparation des composés « OH libre » est le suivant :
gradient A : acétonitrile puis acétonitrile / eau : 95 : 5 à 90 : 10.

7.1.3 Analyses physico-chimiques

7.1.3.1 Généralités

Les pouvoirs rotatoires sont mesurés sur un polarimètre JASCO P-1010 et sont enregistrés à la température correspondante. Les points de fusion sont mesurés sur un appareil de type Fisher Jones et ne sont pas corrigés. Les lyophilisations sont effectuées sur un appareil Freeze Mobile 24 (Virtis). Les mesures de masse nominale sont réalisées sur un instrument LC-MSD et les mesures de masses exactes par spectrométrie de masse haute résolution sont réalisées sur un instrument LC-MSD-TOF (liquid chromatography mass spectrometry time of flight) modèle 6210 d'Agilent technologies par le Laboratoire de Spectrométrie de Masse de l'Université de Montréal en ionisation par électrospray (ESI) et par le Laboratoire « Plateforme analytique pour molécules organiques » de l'Université du Québec à Montréal. La source utilisée sur le MS-TOF est l'électrospray en mode positif. La source utilisée sur le MS-TOF est l'électrospray en mode positif avec la condition de la

source (capillaire à 4000V pour le scan ; température du gaz à 350 °C ; débit du gaz à 12 L/min ; nébuliser à 35 PSI) et, avec la condition du MS (fragmenteur à 100V ; skimmer à 60V). Un volume de 1 µL est injecté en utilisant une phase mobile de ACN/H₂O 50% avec 0.1% d'acide formique. Les analyses élémentaires sont réalisées par Laboratoire d'Analyse Élémentaire de l'Université de Montréal.

7.1.3.2 Spectroscopie par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

Les spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN) proton (¹H) et carbone (¹³C) sont enregistrés avec des appareils Varian-Gemini 2000 ou Varian-Innova AS600. Les spectres du ¹H sont enregistrés à une fréquence de 300 MHz ou 600 MHz et ceux du ¹³C à 75 MHz ou 150 MHz.

Les déplacements chimiques (δ) sont exprimés en partie par million (ppm) par rapport au tétraméthylsilane utilisé comme référence interne et en utilisant comme solvants ceux indiqués ; les constantes de couplages (J) sont mesurées en Hz. La notation utilisée pour la description des spectres est la suivante : s (singulet), sl (singulet large), d (doublet), dd (doublet de doublet), m (massif ou multiplet), H_{arom} (protons aromatiques), C_q (carbone quaternaire) et C_{arom} (carbone aromatique).

Pour les composés libres, les échantillons sont analysés après lyophilisation dans D₂O 99.9 %. Les mesures sont effectuées dans l'eau lourde, ≥ 99.97 %. La référence utilisée est alors le pic résiduel de l'eau pour les spectres de protons (étalonné par l'équation $\delta = 5.051 - 0.0111T$ où T correspond à la température au moment de l'acquisition en °C, et l'acétone de qualité spectrale est utilisé pour les spectres du ¹³C (référence interne : signal méthyle de l'acétone ajusté à $\delta - 29.8$ ppm).¹⁸⁴

¹⁸⁴ Gottlieb, H. E.; Kotlyar, V.; Nudelman, A. (1997) NMR chemical shifts of common laboratory solvents as trace impurities. *J. Org. Chem.*, **62**, 7512-7515.

Pour les composés protégés et/ou solubles dans le chloroforme, la référence utilisée est alors le signal du CHCl_3 pour les spectres de protons (étalonné à $\delta = 7.27$ ppm quelque soit la température utilisée) ou la raie centrale du signal du CDCl_3 pour les spectres du ^{13}C (étalonné à $\delta = 77.0$ ppm). Les expériences bidimensionnelles homo- ou hétéronucléaires sont calibrées par analogie avec les spectres à une dimension correspondants.

L'assignation des protons est faite à l'aide de l'expérience de corrélation de déplacement chimique bidimensionnelle homonucléaire de type COSY (CORrelated SpectroscopY). Ces séquences permettent de mettre en évidence les noyaux de même nature possédant entre eux un couplage scalaire plus ou moins fort. Tandis que l'assignation des carbones est complétée par des expériences de type DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer) qui permet de différencier les carbones quaternaires, les carbones secondaires et les carbones liés à un nombre impair de protons (carbones primaires et tertiaires), APT (Attached Proton Test) qui permet d'identifier les carbones liés à un nombre pair et impair de protons et, la corrélation de déplacement chimique bidimensionnelle hétéronucléaire inverse de type HETCOR (Heteronuclear Chemical Shift Correlation) permettant de mettre en évidence deux noyaux de natures différentes possédant entre eux un couplage plus ou moins fort. L'anomérie en série D-mannone est déterminée par l'expérience de ^{13}C non découplé de type HSQC (Heteronuclear Simple Quantum Correlation) permettant la visualisation de la multiplicité entre $^{13}\text{C}/^1\text{H}$ grâce au couplage $^1J_{\text{C-H}}$ et permet d'associer le carbone anomérique au proton qui lui est lié. La valeur de la constante de couplage est corrélée avec la stéréochimie de la liaison (ca. 170 Hz pour l'anomère α ; 165 Hz pour β).¹⁸⁵

7.2 PROTOCOLES GÉNÉRAUX

7.2.1 Protocole A : Procédure générale de la protection d'une amine par un groupement Fmoc¹⁸⁵

¹⁸⁵ Atherton, E. ; Sheppard, R. C. Solid phase peptide synthesis : a practical approach. IRL Press, OXFORD UNIVERSITY PRESS, Oxford, 1989.

L'acide aminé (1.0 éq.) est dissous dans une solution aqueuse de carbonate de sodium (3M) à une concentration de 0.1M à 0 °C. Une solution de 9-fluorenylméthylesuccimidyle (1.5 éq, 0.5M) dans un minimum de dioxane y est ajoutée goutte à goutte sur une période de 60 min, en maintenant toujours la solution à pH 9-10 (ajustement effectué en ajoutant du NaOH concentré). Le mélange est alors agité à T.P. durant 72h. La solution est ensuite diluée dans H₂O (400 mL), extraite à l'éther diéthylique, acidifiée à pH 2 avec du HCl concentré, puis extraite avec de l'AcOEt (3 x 150 mL), et enfin lavée avec H₂O. La phase organique est séchée avec Na₂SO₄, filtrée et concentrée. Le produit désiré est obtenu par cristallisation dans un mélange AcOEt/éther de pétrole.

7.2.2 Protocole B : Procédure générale de la SPPS

La résine Rink Amide (0.6 mmol/g) est « gonflée » dans du dichlorométhane pendant 20 min, filtré et conditionnée dans du DMF pendant 1h.

1. Le groupement Fmoc de la résine ou de l'acide aminé du peptide attachée sur la résine est déprotégé avec 5 mL de pipéridine/DMF 20% (v/v) (2 x 15 min).
2. Lavages consécutifs de la résine avec du DMF, du dichlorométhane et du méthanol (3 x 5 mL).
3. Test de Kaiser ou TNBS.
4. Couplage : la résine lavée et séchée puis mise en contact avec la solution de l'acide aminé à coupler déjà pré-activé (acide aminé (1 éq.) + agent activant, BOP (3-5 éq.), ou autres agents activateurs, voir Figure 9 du chap. III, + et une quantité catalytique de HOBT, dans du DMF distillé à 4 °C pendant 10-15 min). Après ajout de 9 équivalents de DIPEA, le mélange est agité à température ambiante pendant 1h30 (répéter deux à trois fois pour le premier couplage).
5. Lavages identiques à l'étape 2.
6. Test de Kaiser ou TNBS.
7. « Capper » les sites qui n'ont pas réagi avec une solution anhydride acétique/DIPEA/DMF (1:1:8), et rincer pour éliminer tout l'anhydride acétique avant

de déprotéger le groupement Fmoc (procédure nécessaire ou obligatoire pour le premier couplage seulement).

8. Déprotection du groupement Fmoc (comme l'étape 1).
9. Lavages.
10. Test.
11. Continuation de la synthèse (étape 4) ou arrêt de la synthèse (clivage de peptide de la résine : Protocole G).

7.2.3 Protocole C : Test de Kaiser¹⁸⁶

Préparation des solutions : 1) 5 g de ninhydrine dans 100 mL d'éthanol; 2) 80 g de phénol liquifié dans 20 mL d'éthanol; 3) 2 mL de la solution aqueuse de cyanide de potassium 0.001M dans 98 mL de pyridine. La résine à tester est lavée plusieurs fois avec de l'éthanol et séchée, puis transférée dans un tube conique de 2-3 mL. Deux gouttes de chaque solution préparée précédemment sont ajoutées, suivi d'un chauffage à 120 °C pour 5 min. La couleur bleue donne l'indication d'un test positif : -NH₂, une couleur rougeâtre pour le test négatif.

7.2.4 Protocole D : Test de révélation au TNBS

Préparation des solutions : 1) 10% de DIPEA dans DMF; 2) 1% l'acide 2,4,6-trinitrobenzenesulfonique (TNBS) dans DMF. La résine à tester est lavée plusieurs fois avec du DMF et suspendue dans du DMF (2 gouttes). Une goutte de chaque solution est ajoutée à la suspension (quelques grains de résines dans une goutte de DMF). Après 5 min à température ambiante, la résine est lavée avec du DMF pour enlever la solution rougeâtre. La résine rouge (observée à l'œil ou au microscope) indique le test positif: -NH₂, ou reste transparente dans le cas au contraire.

¹⁸⁶ Novabiochem, catalog 2006/2007, EMD Biosciences.

7.2.5 Protocole F : Test de Ellman^{97,187}

1. Préparation du réactif DTNB : dissoudre DTNB (40 mg) dans du tampon phosphate de sodium 0.1M, pH8 (10 mL).
2. L'échantillon à analyser provenant du milieu réactionnel est dilué avec du tampon pour avoir une solution de 3 mL contenant 0.1-0.2 µmole de peptide.
3. Le réactif DTNB (0.1 mL) est ajouté à la solution peptidique.
4. Après 15 min, l'absorbance de la solution est mesurée à 412 nm en utilisant une cellule à UV de 1 cm. La solution de référence est préparée en ajoutant le réactif DTNB (0.1 mL) dans du tampon (3 mL).
5. La concentration du groupement sulfhydryle est calculée par l'équation suivante :

$$[\text{SH}] = [\text{Abs } 412 \text{ nm (échantillon)} - \text{Abs } 412 \text{ nm (référence)}] / 13650$$

7.2.6 Protocole G : Clivage du lien entre peptide et la résine¹⁸⁸

La résine (support solide) contenant le peptide désiré est lavée avec du méthanol et bien séchée avant d'être transférée dans un tube à centrifugation. La solution de clivage (5 mL), qui dépend du type de l'acide aminé du peptide, est ajoutée dans le tube contenant la résine. Le mélange est mis à réagir pendant une durée minimale de 1h (maximale de 3h). Du *tert*-butylmethylether (15 mL) est ensuite ajouté dans la suspension. Le mélange est agité vigoureusement afin de précipiter le peptide. Le surnageant est récupéré après la centrifugation (20 min à 2000 rpm). L'ajout de *tert*-butylmethylether et l'étape de centrifugation sont répétés trois fois consécutivement. Le précipité obtenu à la fin est séché à l'air. Le peptide est séparé de la résine par la solubilisation dans l'eau suivie d'une étape de centrifugation (3 fois). Le peptide est finalement obtenu après lyophilisation.

La composition de la solution de clivage :

- Solution de clivage A (pour un peptide qui ne contient pas Arg(MTr) ou Trp non protégé, et pas de Cys(Trt) et Met également) : 95% TFA; 2.5% H₂O; 2.5% TIS.

¹⁸⁷ Ellman, G.L. *Arch. Biochem. Biophys.* **1958**, 74, 443-450.

¹⁸⁸ Strategies In Peptide Synthesis : Introduction to Cleavage techniques. **1990**, Applied Biosystems, Inc.

- Solution de clivage B (pour un peptide qui ne contient pas Arg(MTr) ou Trp non protégé, mais contient de Cys(Trt) et/ou de Met) : 94.5% TFA; 2.5% H₂O; 2.5% EDT; 1% TIS.
- Solution de clivage C (pour un peptide qui contient plus que 2 groupements Arg(MTr) et/ou Trp non protégé) : 1M TMSBr/thioanisole dans TFA avec m-cresol/EDT.
- Solution de clivage D (pour un peptide qui contient moins de 2 groupements Arg(MTr) et/ou Trp non protégé) : 81.5% TFA; 5% thioanisole; 5% phénol; 5% H₂O; 2.5% EDT; 1% TIS.

7.2.7 Protocole H : Condition d'analyse sur HPLC

- Type de colonne : RP C18, Taxil-3.3 micron, 50x4.6 mm, metachem Varian.
- Phase mobile : A = eau + 0.05% TFA, B = acétonitrile + 0.05% TFA
- Gradient : 0-3 min 2% B ; 3-16 min 2 à 50% B; 16-18 min 50% B; 18-21 min 50 à 2% B et 21-25 min 2% B, avec un débit de 1 mL/min.
- Détection : 214 ou 254 nm ; Volume injecté : 100 µL ; Appareil : HPLC Shimadzu ou Varian *ProStar* ; logiciel : Class-VP 7.2.1 SP1 ou Varian.

7.2.8 Protocole I : Transestérification ou de-O-acétylation par le méthanolate de sodium ou « Zemplén »

Le composé est dissout dans du MeOH sec (0.1M) ou directement dans une solution de méthanolate de sodium dans du méthanol distillé (pH 10). Une quantité catalytique (généralement 0.1 équivalent) de méthanolate de sodium est ajoutée, maintenant la solution à pH 9-10, et le mélange est agité à température ambiante sous atmosphère d'azote. Lorsque la déprotection est terminée, la solution est neutralisée par de la résine Amberlite IR-120 (H⁺), filtrée et concentrée. Si nécessaire, le produit est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice par gradient A.

7.2.9 Protocole J : Débenzylation par l'hydroxyle de lithium

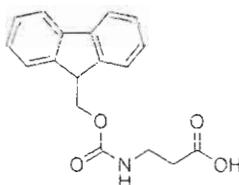
Le composé est dissout dans un mélange MeOH/H₂O/THF 8:4:12 (v/v/v). Une solution de LiOH/H₂O (1M, 1.2 éq./benzoate) est ajoutée puis le mélange est agité à température ambiante. Lorsque la déprotection est terminée, la solution est neutralisée par de la résine Amberlite IR-120 (H⁻), filtrée, concentrée, puis re-dissout dans l'eau. L'acide benzoïque est extrait par de l'AcOEt, la phase aqueuse est isolée puis lyophilisée. Si nécessaire, le produit est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice en utilisant le gradient A.

7.2.10 Protocole K : Débenzylation par hydrogénation catalytique

Le composé est dissout dans du méthanol ou de l'éthanol (0.02 M à 0.05M), et un minimum de dichlorométhane est ajouté dans le cas où la dissolution n'est pas totale. Le milieu réactionnel est hydrogéné en présence de dihydroxyde de palladium sur charbon à 10% en présence de deux gouttes d'HCl concentré. Lorsque la déprotection est terminée, le mélange est filtré sur papier lorsque le produit est complètement déprotégé, sinon filtré sur célite, évaporé et, si nécessaire, une colonne chromatographique sur gel de silice est effectuée en utilisant le gradient A.

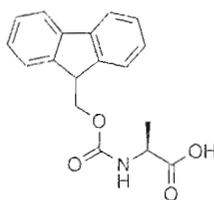
7.3 MODES OPÉRATOIRES ET CARACTÉRISATIONS

Fmoc-βAlanine (1)



À une solution de β -Ala-OH (260 mg, 2.00 mmol) et de NaHCO_3 (1.680 g, 20.00 mmol, 10.00 éq.) dans H_2O (20 mL) est ajoutée une solution du 9-Fmoc-ONSu (1.00 g, 3.00 mmol, 1.50 éq.), dissout dans un minimum de dioxane, conduisant d'après le *protocole A* au composé **1** sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 99%. (620 mg, 2.00 mmol). $R_f = 0.46$ ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{AcOH}$, 95:3:2) ; pf: 144-145 °C ($\text{AcOEt}/\text{éther de pétrole}$) (Litt.¹⁸⁹ 144-147 °C) ; $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 13.75$ (sl, 1H, COOH), 7.42-7.38 (m, 8H, H_{arom}), 4.36 (m, 3H, $\text{OCH}_2\text{CH}_{\text{arom}}$), 3.30 (m, 2H, NHCH_2), 2.49 ppm (m, 2H, CH_2COH et $\text{DMSO-}d_6$) ; $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 172.8$ (COOH), 156.0 (COONH), 143.9, 140.7 (4 x $C_{\text{q-arom}}$), 127.6, 127.0, 125.2, 120.6 (8 x C_{arom}), 65.4 (OCH_2CH), 46.8 (NHCH_2), 36.6 (OCH_2CH), 34.2 ppm (CH_2COOH).

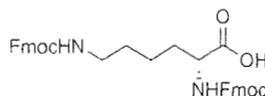
Fmoc-L-Alanine (**2**)



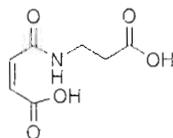
Le composé L-Alanine (340 mg, 3.80 mmol) est utilisé selon le *protocole A* pour obtenir le composé **2** sous la forme d'un solide semi-cristallin blanc avec un rendement de 93%. (1.09 g, 3.50 mmol). $R_f = 0.41$ ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{AcOH}$ 95:3:2) ; pf: 142-144 °C ($\text{AcOEt}/\text{éther de pétrole}$) (Litt.¹⁸⁹ 144-145 °C) ; $[\alpha]_D^{24} -19$ ($c=1.0$, DMF)¹⁹⁰ ; $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 13.75$ (sl, 1H, COOH), 7.86-7.29 (m, 8H, H_{arom}), 4.32-4.20 (m, 3H, $\text{OCH}_2\text{CH}_{\text{arom}}$), 4.13-4.06 (m, 1H, NHCH), 1.32 ppm (d, 1H, $^3J_{\text{CH}_3-\text{CH}} = 7.1$ Hz, CH_3) ; $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 174.6$ (COOH), 156.0 (COONH), 143.9, 140.8 (4 x $C_{\text{q-arom}}$), 127.7, 127.2, 125.4, 120.2 (8 x C_{arom}), 65.8 (OCH_2CH), 49.4 (NHCH), 46.8 (OCH_2CH), 17.2 ppm (CH_3).

¹⁸⁹ Caprino, L. A. and Han, G. Y. *J. Org. Chem.*, 1972, 37, 3404-3409.

¹⁹⁰ Atherton, E. and Sheppard, R. C. *Solid phase peptide synthesis. a practical approach*. IRL Press, OXFORD UNIVERSITY PRESS, Oxford, 1989.

***N*^α,*N*^ε-di-Fmoc-L-Lysine ou Fmoc-L-Lys(Fmoc)OH (3)**

Le composé acide α,ϵ -diaminocaproïque chlorure monohydrate (L-Lysine-HCl) (690 mg, 3.80 mmol) est utilisé selon le *protocole A* pour obtenir le composé **3** sous la forme d'une poudre blanche avec un rendement de 96%. (2.14 g, 3.60 mmol). $R_f = 0.46$ (CHCl₃/MeOH/AcOH 95:3:2) ; ¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆): $\delta = 11.75$ (sl, 1H, COOH), 7.87-7.29 (m, 16H, H_{arom}), 4.30 (m, 4H, 2 x OCH₂CH), 4.22 (t, 2H, ³ $J_{\text{CH-CH}_2} = 6.0$ Hz, 2 x OCH₂CH), 3.97 (m, 1H, NHCH), 3.02 (m, 2H, CHCOOH), 1.71-1.22 ppm (m, 6H, 3 x CH₂ β , γ et δ) ; ¹³C RMN (75 MHz, DMSO-*d*₆): $\delta = 174.6$ (COOH), 156.0 (COONH), 143.9, 143.8, 143.8, 140.7 (8 x C_{q-arom}), 127.6, 127.5, 127.0, 125.2, 125.1, 120.0 (16 x C_{arom}), 65.6, 65.2 (2 x OCH₂CH), 53.9 (CHCOOH), 46.8, 46.7 (2 x OCH₂CH), 39.5 (CH₂NH ϵ et DMSO-*d*₆), 30.5, 29.0 (2 x CH₂ β et δ), 22.92 ppm (CH₂ γ).

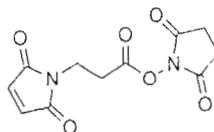
Acide (2Z)-4-[(2-carboxyethyle)amino]-4-oxo-2-buténoïque (4)

Les réactifs commerciaux β -alanine (20.00 g, 224.5 mmol, 1.00 éq.) et anhydride maléique (22.00 g, 224.5 mmol, 1.00 éq.) sont dissous dans un mélange DMF/CH₂Cl₂ 10% (v/v) distillé (500 mL). Le milieu réactionnel est porté à 90°C pendant 24h. Après filtration et séchage sous vide, le composé **4** est obtenu avec un rendement de 98% (41.30 g, 220.90 mmol) (Litt.¹⁹¹ : 69%, produit commercial, CAS : 57079-11-5) sous la forme d'une poudre blanche ; ¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆, 25 °C) : $\delta = 9.16$ (s, 1H, CO₂H), 6.42 (d, 1H, $J_{\text{CHC(O)NH}} = 12.6$ Hz), 6.25 (d, 1H, $J_{\text{C=C/COOH}} = 12.5$ Hz), 3.38 (q, 2H, $J_{\text{NHCHH}} = 6.1$ Hz).

¹⁹¹ Ma, Z.; Taylor, J. S. *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 2501-2510.

2.49ppm (t, 2H, $J_{\text{CH}_2\text{CHCOOH}} = 6.6$ Hz) ; ^{13}C RMN (75 MHz, DMSO- d_6 , 25 °C) : $\delta = 172.6$ (COOH), 165.6 (CH=CHCOOH), 165.4 (CH=CHCONH), 132.7 (CH=CHCOOH), 131.4 (CH=CHCOOH), 35.3 (NHCH₂CH₂), 33.0 ppm (NHCH₂CH₂). Les données spectrales concordent avec la littérature.¹⁹² **ESI⁺-HRMS** : m/z calculée pour C₇H₁₀NO₅ [M + H]⁺ : 188.05535 ; trouvée : 188.05533 ; m/z calculée pour C₇H₉O₅Na [M + Na]⁻ : 210.03729 ; trouvée : 210.03739.

Acide 3-Maléimidopropionique *N*-hydroxysuccinimide ester ou *N*-succinimidyl-3-maleimidopropionate (5)

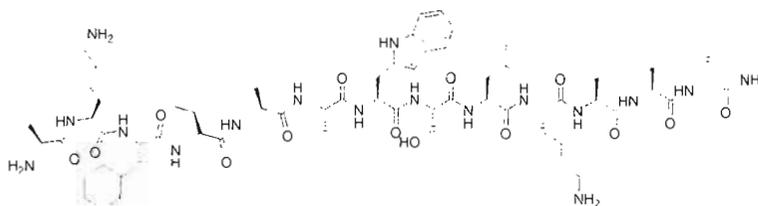


À une solution d'acide (2Z)-4-[(2-carboxyéthyle)amino]-4-oxo-2-buténoïque **4** (10.00 g, 53.40 mmol) et de *N*-hydroxysuccinimide (11.00 g, 96.12 mmol, 1.80 éq.) dans un minimum de DMF distillé (250 mL) est ajouté à 0 °C par petites fractions du DCC (30.80 g, 149.5 mmol, 2.80 éq.). Le milieu réactionnel est mis à réagir pour la nuit à 4 °C sous atmosphère d'azote. Le précipité DCU du milieu réactionnel est filtré et lavé avec de l'AcOEt froid. Le filtrat est lavé par la suite avec une solution saturée d'hydrogénocarbonate de sodium en présence d'hexane (1/4 du volume de AcOEt), d'hydrogénosulfate de potassium, de chlorure de sodium, séché sur sulfate de sodium anhydre puis concentrée. Le sous-produit DCU restant est séparé du composé désiré par chromatographie sur gel de silice (CH₂Cl₂/MeOH 99.5 : 0.5) au besoin et par cristallisation dans l'AcOEt 100% si nécessaire. Le composé **5** est recristallisé après filtration et concentration dans CHCl₃ ou CHCl₃/hexane ou AcOEt/éther de pétrole. Le composé **5** (Produit commercial, CAS : 55750-62-4) est obtenu avec un rendement de 92% (13.08 g, 49.13 mmol) sous la forme de cristal blanc. $R_f = 0.76$ (CH₂Cl₂/MeOH 95 : 5) ; pf : 91-92 °C (AcOEt/éther de pétrole) ; ^1H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C) : $\delta = 6.74$ (d, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 0.8$ Hz, CH=CH), 3.93 (t, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz,

¹⁹² Pouchert, C. J., Behnke, J., "The Aldrich Library of ^{13}C and ^1H FT NMR Spectra", Aldrich Chemical Company, Inc., Milwaukee, WI, 1992.

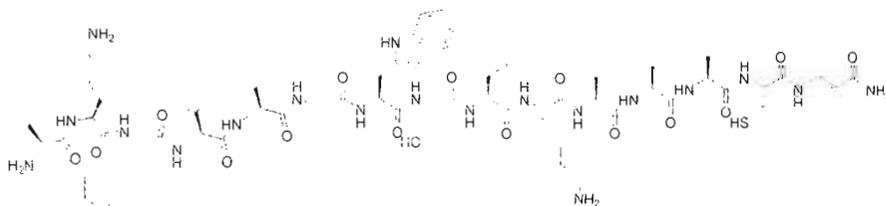
$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{N}$), 3.02 (t, 2H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.7$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{N}$), 3.02ppm (s. 4H, $\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})$) : ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3 , 25 °C) : $\delta = 170.0$ (C=CCOON), 168.7 (COON), 166.0 (ONC(O)CH₂), 13.2 (CH=CH), 32.9 (NCH₂=CH₂), 29.6 (NCH₂CH₂), 25.5 ppm (C(O)CH₂CH₂). Les données spectrales concordent avec la littérature.^{192,193} **ESI⁺-HRMS** : m/z calculée pour $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_6$ [M + H]⁺ : 267.06116 ; trouvée : 267.06125 ; m/z calculée pour $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_6\text{Na}$ [M + Na]⁺ : 289.04311 ; trouvée : 289.04321.

PADRE : H₂N-D-Ala-Lys-Cyclohexylalanine-Val-Ala-Ala-Trp-Thr-Leu-Lys-Ala-Ala-D-Ala-COONH₂ (6)



La séquence peptidique du PADRE original est effectuée à partir de la résine Rink Amide AM (200-400 mesh, 0.54 mmol/g) (250 mg, 0.14 mmol) selon le *Protocole B* en utilisant le test colorimétrique [*Protocole C* (Kaiser) ou *D* (TNBS)] et par le *Protocole G* pour la séparation et l'isolation. Le composé **6** est obtenu sous la forme d'une poudre blanche avec un rendement global de 58% avec une pureté de 90% (130 mg, 0.08 mmol) analysé par HPLC selon le *Protocole H* (temps de rétention 10.8 min.) **ESI⁺-HRMS** : m/z calculée pour $\text{C}_{65}\text{H}_{111}\text{N}_{17}\text{O}_{14}$ [M + 2H]²⁺ : 676.92455 ; trouvée : 676.92461.

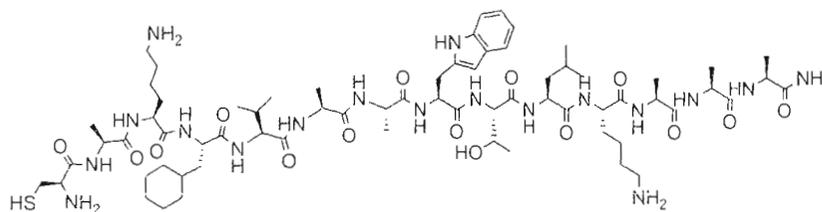
H₂N-PADRE-Cys-βAlaCOONH₂ (7)



¹⁹³ Dendrinou, K. G. and Kalivretenos, A. G., *Tetrahedron Lett.*, 1998, 39, 1321-1324.

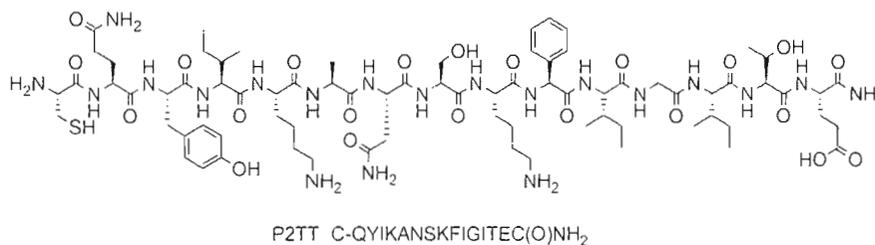
La séquence peptidique du PADRE modifiée est effectuée à partir de la résine Rink Amide AM (200-400 mesh, 0.54 mmol/g) (250 mg, 0.14 mmol) par le *Protocole B* en utilisant test colorimétrique [*Protocole C* (Kaiser) ou *D* (TNBS)] et par le *Protocole G* pour la séparation et l'isolation. Le composé **7** est obtenu sous la forme d'une poudre blanche avec un rendement gloabl de 58% avec une pureté de 57% (130 mg, 0.08 mmol) analysé par HPLC selon le *Protocole H* (temps de rétention 11.9 min.). Le peptide **7** isolé (0.23 mg, 150 nmol) est suivi le test de Ellman, le *Protocole F*, afin d'être confirmé l'absence de dimère (D.O. = 0.173, 412 nm, $y = 0.0016x$, [SH] = 126 nmol). **ESI⁺-MS** : m/z calculée pour $C_{71}H_{121}N_{19}O_{16}S$ [M + 2H]²⁺ : 763.94797 ; trouvé : 763.95 ; m/z calculée pour $C_{71}H_{122}N_{19}O_{16}S$ [M + 3H]³⁺ : 509.6345867 ; trouvé : 509.64.

H₂N-Cys-PADRE-COONH₂ (**8**)

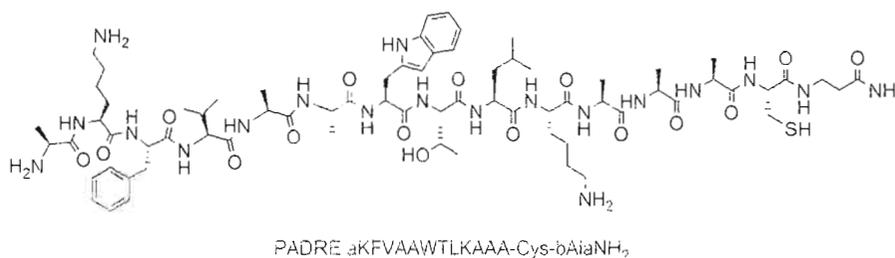


PADRE C-aKXVAAWTLKAAaNH₂

La séquence peptidique du PADRE original-Cystéine est effectuée à partir de la résine Rink Amide AM (200-400 mesh, 0.54 mmol/g) (250 mg, 0.14 mmol) par le *Protocole B* en utilisant le test colorimétrique [*Protocole C* (Kaiser) ou *D* (TNBS)] et par le *Protocole G* pour la séparation et l'isolation. Le composé **8** est obtenu sous la forme d'une poudre blanche avec un rendement global de 55% avec une pureté de 90% (108 mg, 0.08 mmol) analysé par HPLC selon le *Protocole H* (temps de rétention 11.8 min.) **ESI⁺-HRMS** : m/z calculée pour $C_{68}H_{116}N_{18}O_{15}S$ [M + 2H]²⁺ : 728.42886 ; trouvée : 728.43066.

H₂N-Cys-P2TTCOONH₂ (9)

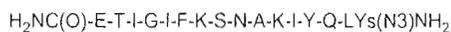
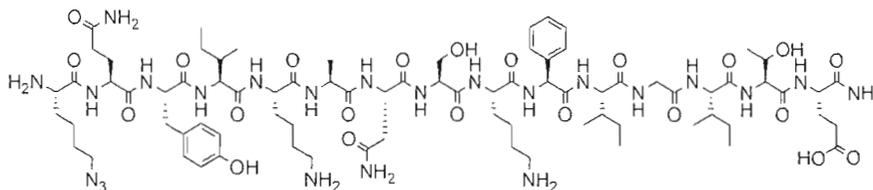
La séquence peptidique du P2TT-Cystéine est effectuée à partir de la résine Rink Amide AM (200-400 mesh, 0.54 mmol/g) (250 mg, 0.14 mmol) par le *Protocole B* en utilisant le test colorimétrique [*Protocole C* (Kaiser) ou *D* (TNBS)] et par le *Protocole G* pour la séparation et l'isolation. Le composé **9** est obtenu sous la forme d'une poudre blanche avec un rendement global de 55% avec une pureté de 88% (126 mg, 0.08 mmol) analysé par HPLC selon le *Protocole H* (temps de rétention 10.3 min.) **ESI⁺-HRMS**: *m/z* calculée pour C₇₆H₁₂₄N₂₀O₂₂S [M + 2H]²⁺ : 850.44544 ; trouvée : 850.44884.

H₂N-PADRE-Cys-βAlaCOONH₂ (10)

La séquence peptidique du PADRE-Cys-βAla est effectuée à partir de la résine Rink Amide AM (200-400 mesh, 0.54 mmol/g) (250 mg, 0.14 mmol) par le *Protocole B* en utilisant le test colorimétrique [*Protocole C* (Kaiser) ou *D* (TNBS)] et par le *Protocole G* pour la séparation et l'isolation. Le composé **10** est obtenu sous la forme d'une poudre blanche avec un rendement global de 51% avec une pureté de 58% (130 mg, 0.07 mmol)

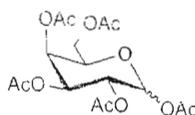
analysé par HPLC selon le *Protocole H* (temps de rétention 11.2 min.) **EZI⁺-MS** : m/z calculée pour $C_{71}H_{115}N_{19}O_{16}S$ $[M + 2H]^{2+}$: 760.924495 ; trouvée : 760.92.

H₂N-Lys(N₃)-P2TTC(O)NH₂ (11)



La séquence peptidique du P2TT-Lys(N₃) est effectuée à partir de la résine Rink Amide AM (200-400 mesh, 0.62 mmol/g) (150 mg, 0.10 mmol) par le *Protocole B* en utilisant le test colorimétrique [*Protocole C* (Kaiser) ou *D* (TNBS)] et par le *Protocole G* pour la séparation et l'isolation. Le composé **11** est obtenu sous la forme d'une poudre blanche avec un rendement global de 54% (132 mg, 0.05 mmol) analysé par HPLC selon le *Protocole H* (temps de rétention 10.2 min.) **ESI⁺-HRMS**: m/z calculée pour $C_{79}H_{128}N_{23}O_{22}$ $[M + H]^+$: 1750.95988 ; trouvée : 1750.96176 ; m/z calculée pour $C_{79}H_{126}N_{23}O_{22}$ $[M + 2H]^{2+}$: 875.98358 ; trouvée : 875.98494.

1,2,3,4,6-Penta-*O*-acétyl-D-galactopyranose (13)

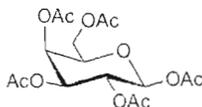


α β 2:98

À une solution de D-galactose **12** (5.57 g, 30.00 mmol) dissout dans un mélange anhydride acétique/pyridine distillé (1 : 2. v/v, 60 mL) est ajouté une quantité catalytique de 4-diméthylaminopyridine à 0 °C. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante durant la nuit. L'excès d'anhydride acétique est détruit par ajout de MeOH à 0 °C, et le

mélange est co-éaporé avec du toluène. Le résidu est dilué dans du dichlorométhane, puis lavé à l'eau glacée, et avec des solutions saturées de KHSO_4 , NaHCO_3 et NaCl . La phase organique est séchée sur Na_2SO_4 , filtré et concentrée. Le composé per-*O*-acétylé **13** est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/AcOEt 4 : 1 puis 3 : 2) conduisant au composé désiré sous la forme d'une poudre blanche avec un rendement de 99% mélange de α/β 98:2 (11.70 g, 29.97 mmol). $R_f(\alpha) = 0.57$, $R_f(\beta) = 0.45$, hexane/AcOEt 1 : 1. $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , 22 °C): $\delta = 5.38$ (d, 1H, $^3J_{1,2}=1.6\text{Hz}$, *H*-1), 5.51 (t, 1H, $^3J_{4,5}=1.2\text{Hz}$, *H*-4), 5.34 (m, 2H, *H*-3 et *H*-2), 4.37-4.32 (m, 1H, *H*-5), 4.12-4.07 (m, 2H, *H*-6), 2.15, 2.14, 2.03, 2.01, 1.99 ppm (5 x s, 15H, 5 x COCH_3); $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 170.3$, 170.2, 170.1, 169.8, 168.9 (COCH_3), 89.7 (*C*-1), 68.7 (*C*-5), 67.4 (*C*-3), 67.3 (*C*-2), 66.4 (*C*-4), 61.2 (*C*-6), 20.8, 20.6, 20.6, 20.5 ppm (5 x COCH_3). Voir le mode opératoire du composé **14** pour les constantes physiques de la configuration « β ».

1,2,3,4,6-Penta-*O*-acétyl- β -D-galactopyranose (**14**)¹⁹⁴



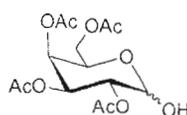
Une solution d'anhydride acétique (70 mL) contenant de l'acétate de sodium (5.00 g, 61.06 mmol, 1.1 éq.) est portée à reflux. Du D-galactose **12** (10.00 g, 55.51 mmol, 1 éq.) est ajouté par petites fractions. Le milieu réactionnel est maintenu à reflux pendant 20 min, puis est versé dans l'eau glacé, agité vigoureusement puis, extrait avec du dichlorométhane (3 x 150 mL). La phase organique est lavée avec des solutions saturées de NaHCO_3 et de NaCl , séchée sur Na_2SO_4 , filtré et concentrée. Le composé **14** est cristallisé dans EtOH 100% pour conduire à des cristaux blancs avec un rendement de 47% (9.70 g, 24.86 mmol). Pf : 142-143 °C (EtOH 100%) (Litt.¹⁹⁵ 142-144 °C); $R_f = 0.45$, hexane/AcOEt 1 : 1; $[\alpha]_D^{21} +23$ ($c=1.0$, CHCl_3) (Litt.¹⁹⁵ $[\alpha]_D^{22} 23.4$ ($c=1.0$, CHCl_3)); $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , 22 °C): $\delta = 5.66$ (d, 1H, $^3J_{1,2}=8.5\text{Hz}$, *H*-1), 5.33 (t, 1H, $^3J_{4,5}=1.4\text{Hz}$, *H*-4), 5.23 (t, 1H, $^3J_{3,4}=3.3\text{Hz}$, *H*-3), 5.05-

¹⁹⁴ Tai, C.-A.; Kulkarni, S. and Hung, S.-C.. *J. Org. Chem.*, **2003**, *68*, 8719-8722.

¹⁹⁵ Pozsgay, V. and Jennings, H. J., *Complex Carbohydr. Res.*, **1990**, *8*, 724-726.

4.98 (dd, 1H, $^3J_{2,3}=10.4\text{Hz}$, *H*-2), 4.09-4.05 (m, 1H, *H*-5), 4.03-4.01 (m, 2H, *H*-6), 2.10, 2.06, 2.00, 1.96, 1.90 ppm (5 x s, 15H, 5 x COCH₃) ; ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 170.8, 170.6, 170.4, 169.9, 169.5 (COCH₃), 92.6 (*C*-1), 72.2 (*C*-5), 71.3 (*C*-3), 68.4 (*C*-2), 67.4 (*C*-4), 61.6 (*C*-6), 20.8, 20.6, 20.6, 20.5 ppm (5 x COCH₃).

2,3,4,6-Tetra-*O*-acétyl-D-galactopyranose (**15**)¹⁹⁶



De l'acétate de l'hydrazine **28** (1.77 g, 19.22 mmol, 1.50 éq.) est ajouté à une solution, chauffé à 50 °C, de composé **14** (5.00 g, 12.80 mmol) dissout dans du DMF distillé (50 mL). Après 20 min sous agitation à 50 °C, la réaction est stoppée par ajout d'acétate d'éthyle. Le milieu réactionnel est lavé deux fois avec une solution saturée de NaCl, séchée sur Na₂SO₄, filtré et concentré. L'hémiacétate **15** est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/AcOEt 1 : 1) conduisant à un mélange de α/β 1 : 1 sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 84% (3.74 g, 10.74 mmol). Pf: 110-112 °C (éther), [Litt.¹⁹⁷ : mélanges $\alpha+\beta$: 110-112 °C ; 125-126 °C pour β et 130-131 °C pour α] ; R_f = 0.30, hexane/AcOEt 1 : 1 ; $[\alpha]_D^{24}$ +60 ($c=1.0$, CHCl₃) (Litt.¹⁹⁸ $[\alpha]_D^{22}$ 95 ($c=1.0$, CHCl₃ pour la forme β ; $[\alpha]_D^{22}$ +24.5 ($c=1.0$, CHCl₃ pour la forme α) ; ^1H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ = 5.45 (dd, 1H, $^3J_{4,5} = 1.1\text{Hz}$, *H*-4), 5.37 (dd, 1H, $^3J_{3,4} = 3.4\text{Hz}$, *H*-3), 5.19 (dd, 1H, $^3J_{1,2} = 3.5\text{Hz}$, $^3J_{2,3} = 8.8\text{Hz}$, *H*-2), 4.67 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 7.1\text{Hz}$, *H*-1 β), 4.42 (dt, 1H, $^3J_{5,6} = 6.5\text{Hz}$, *H*-5), 4.27 (sl, 1H, OH-1), 4.12 (m, 1H, *H*-6a), 3.92 (dd, 1H, $^3J_{6a,6b} = 11.5\text{Hz}$, *H*-6b), 2.18-1.99 ppm (s, COOCH₃) ; ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 170.6, 170.4, 170.2, 170.1 (COOCH₃), 95.88 (*C*-1 β), 90.5 (*C*-1 α), 70.9, 70.4, 68.3, 68.1, 67.2, 67.1, 66.1, 61.7, 61.4 (*C*-2 à *C*-6 α et

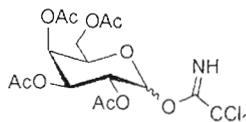
¹⁹⁶ Sim, M. M.; Kondo, H. And Wong, C.-H., *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, *115*, 2260-2267.

¹⁹⁷ Lacombe, J. M.; Rakotomanomana, N.; Pavia, A. A., *J. Carbohydr. Chem.*, **1990**, *9*, 85-92.

¹⁹⁸ Cheng, H.; Cao, X.; Zian, M.; Fang, L.; Cai, T. B.; Ji, J. J.; Tunac, J. B.; Sun, D. and Wang, P. G., *J. Med. Chem.*, **2005**, *48*, 645-652.

β), 20.7-20.5 ppm (COOCH₃). **ESI⁺-HRMS**: m/z calculée pour C₁₄H₂₀O₁₀Na [M + Na]⁻ : 371.09487 ; trouvée : 371.09491.

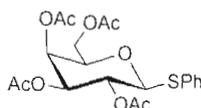
2,2,2-Trichloroacétimide de 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- α,β -D-galactopyranosyle (16)^{198,199}



À une solution du composé **15** (1.70 g, 4.88 mmol, 1.00 éq.) dissout dans du dichlorométhane distillé (30 mL) sont ajoutés du 2,2,2-trichloroacétonitrile 98% (2.5 mL, 5.00 éq.) et du DBU 98% (300 μ l, 0.40 éq.) à 0 °C. Le milieu réactionnel est agité à 0 °C en laissant revenir à température ambiante durant 2h sous atmosphère d'azote. Le produit brut est concentré puis purifié par chromatographie sur gel de silice en conditionnant la phase stationnaire avec 1% d'Et₃N (hexane/AcOEt 3 : 1). L'imide **16** (anomère α très majoritaire) est obtenu avec un rendement de 94% sous la forme d'un solide semi-cristallin (2.25 g, 4.58 mmol). Pf : 126-127 °C (Litt.¹⁹⁹, éther ou hexane) ; R_f (α) = 0.73, R_f (β) = 0.52, hex/AcOEt 1 : 1 ; $[\alpha]_D^{24} +124$ ($c=1.0$, CHCl₃) (Litt.¹⁹⁹ $[\alpha]_D^{22} +124$ ($c=1.0$, CHCl₃) ; **¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C)**: δ = 8.72 (s, 1H, NH), 6.60 (d, 1H, ³ $J_{1,2}$ = 3.3Hz, *H*-1 α), 5.84 (d, 1H, ³ $J_{1,2}$ = 8.2 Hz, *H*-1 β), 5.51 (dd, 1H, ³ $J_{4,5}$ = 1.1Hz, ³ $J_{3,4}$ = 2.9Hz, *H*-4), 5.40-5.28 (m, 2H, *H*-2 et *H*-3), 4.39 (t, 1H, ³ $J_{5,6}$ = 6.7Hz, *H*-5), 4.15-4.00 (m, 2H, *H*-6a et *H*-6b), 2.12, 1.98, 1.97, 1.96 ppm (4s, 12H, COCH₃) ; **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃)**: δ = 170.2, 170.1, 170.0, 169.9 (COCH₃), 160.9 (C=NH), 93.5 (C-1), 69.0 (C-5), 67.5 (C-3), 67.3 (C-2), 66.9 (C-4), 61.2 (C-6), 20.6, 20.6, 20.6, 20.5 ppm (COCH₃). **ESI⁺-HRMS**: m/z calculée pour C₁₆H₂₀NO₁₀Cl₃Na [M + Na]⁻ : 514.00450 ; trouvée : 514.00471.

¹⁹⁹ Ross, A. J.; Sizova, O. V. and Nikolaev, A. V., *Carbohydr. Res.*, **2006**, 341, 1954-1964.

2,3,4,6-Tétra-O-acétyl-1-thio-β-D-galactopyranoside de phényle (17)^{200,201}

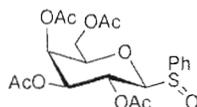


À une solution du β-acétate **14** (10.00 g, 26.78 mmol, 1.00 éq.) dissout dans du dichlorométhane distillé (200 mL) est ajouté du thiophénol (4.1 mL, 40.17 mmol, 1.50 éq.) à 0 °C. L'acide de Lewis BF₃.Et₂O (5.1 mL, 40.17 mmol, 1.5 éq.) est ensuite ajouté goutte à goutte à 0 °C. Après 3h sous agitation à 0 °C, le milieu réactionnel est dilué avec du dichlorométhane, lavé avec des solutions saturées de NaHCO₃ et NaCl. La phase organique est séchée sur Na₂SO₄, filtré et concentrée. Le composé thiolé **17** est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/AcOEt 2 : 1) conduisant au composé désiré sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 90% de la forme β (10.61 g, 24.10 mmol). Pf : 65-66 °C (Litt.²⁰² 65-67 °C) ; R_f = 0.33, hexane/AcOEt 2 : 1 ; $[\alpha]_D^{24} +4$ (c=1.0, CHCl₃) [Litt.²⁰² $[\alpha]_D^{26} +4.2$ (c=1.0, CHCl₃)]; ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ = 7.53-7.50 (m, 2H, H_{arom}), 7.33-7.30 (3H, m H_{arom}), 5.42 (d, 1H, ³J_{3,4} = 3.2Hz, H-4), 5.24 (t, 1H, ³J_{2,3} = 9.9Hz, H-2), 5.07 (dd, 1H, ³J_{3,4} = 3.3 Hz, ³J_{2,3} = 9.9Hz, H-3), 4.74 (d, 1H, ³J_{1,2} = 9.9Hz, H-1), 4.22-4.09 (m, 2H, H6a et H6b), 3.96 (m, 1H, H-5), 2.12, 2.10, 2.04, 1.97 ppm (s, 12H, COCH₃); ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 170.0, 169.9, 169.7, 169.1 (COCH₃), 132.4, 132.3, 128.7, 127.9 (C_{arom}), 86.2 (C-1), 74.2 (C-5), 71.8 (C-3), 67.1 (C-2), 67.1 (C-4), 61.5 (C-6), 20.5, 20.4, 20.4, 20.3 ppm (COCH₃). ESI⁺-HRMS : m/z calculée pour C₂₀H₂₄O₇SNa [M + Na]⁻ : 463.10332 : trouvée : 463.10267.

²⁰⁰ Agnihotri, G.; Tiwari, P. and Misra, A. K., *Carbohydr. Res.*, **2005**, 340, 1393-1396.

²⁰¹ Motawia, M. S.; Olsen, C. E.; Denyer, K.; Smith, A. M. and Møller, B. L., *Carbohydr. Res.*, **2001**, 330, 309-318.

²⁰² Weng, S.-S.; Lin, Y.-D. and Chen, C.-T., *Org. Lett.*, **2006**, 8, 5633-5636.

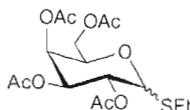
Phényl de 2,3,4,6-tétra-1-sulfinyl-*O*-acétyl- β -D-galactopyranosyle (**18**)²⁰³

À une solution du thiophényl **17** (200 mg, 0.45 mmol, 1.00 éq.) et de NaHCO₃ (3 mg, 0.03 mmol, 0.06 éq.) dissous dans du dichlorométhane distillé (10 mL) et refroidie à -50 °C, est ajoutée de l'acide *m*-chloroperbenzoïque (150 mg, 0.67 mmol, 1.50 éq.). Le milieu réactionnel est agité à -50 °C pour une durée de 30 min puis à -25 °C pendant 45 min. La réaction est arrêtée en ajoutant du DMSO (30 μ L). Le milieu réactionnel est dilué avec du dichlorométhane et le mélange lavé avec des solutions de H₂O/Na₂CO₃ 1 : 1 et Na₂CO₃/NaCl 1 : 1. La phase organique est séchée sur Na₂SO₄, filtré et concentrée. Le composé mono-oxydé **18** est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/AcOEt 1 : 1) conduisant au composé désiré sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 99% (204 mg, 0.45 mmol) ; pf : 119-120 °C (AcOEt/éther de pétrole) ; R_f = 0.18, hexane/AcOEt 1 : 1 ; $[\alpha]_D^{24}$ -43 ($c=1.0$, CHCl₃) [Litt.²⁰⁴ $[\alpha]_D^{24}$ -43.8 ($c=1.0$, CHCl₃)] ; ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C) : δ = 7.76-7.52 (m, 10H, H_{arom}), 5.55-5.51 [2 x (d, 1H, ³ $J_{3,4}$ = 3.2Hz, $H-4$)], 5.37-5.35 [2 x (t, 1H, ³ $J_{2,3}$ = 9.9Hz, $H-2$)], 5.13-5.06 [2 x (dd, 1H, ³ $J_{3,4}$ = 3.3 Hz, ³ $J_{2,3}$ = 9.9Hz, $H-3$)], 4.37, 4.27 [2 x (d, 1H, ³ $J_{1,2}$ = 9.9Hz, $H-1$)], 4.07-3.98 (m, 2H, H_{6a} et H_{6b}), 3.96-3.86 (m, 1H, $H-5$), 2.10-1.94 ppm (8 x s, 24H, COCH₃) ; ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) : δ = 170.19, 170.10, 169.95, 169.86, 169.60, 168.90 (C=O), 139.36, 138.91 (C_{q-arom}), 131.60, 131.50, 128.75, 128.69, 125.91, 125.83 (C_{arom}), 92.40, 90.24 (C-1), 75.28, 74.94 (C-5), 71.96, 71.52 (C-3), 66.82, 66.72 (C-2), 65.00, 64.51 (C-4), 61.17, 60.97 (C-6), 20.74, 20.59, 20.54, 20.51, 20.41 ppm (COCH₃). ESI⁺-HRMS : m/z calculée pour C₂₀H₂₄O₁₀SNa [M + Na]⁺ : 479.09824 ; trouvée : 479.09790.

²⁰³ Khiar, N.; Alonso, I.; Rodriguez, N.; Fernandez-Mayorales, A.; Jimenez-Barbero, J.; Nieto, O.; Cano, F.; Foces-Foces, C. and Martin-Lomas, M.. *Tetrahedron Lett.*, **1997**, *38*, 8267-8270.

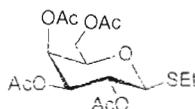
²⁰⁴ Geetanjali, A. and Anup Kumar, M.. *Tetrahedron Lett.*, **2005**, *46*, 8113-8116.

2,3,4,6-Tétra-*O*-acétyl-1-thio-D-galactopyranoside d'éthyle (19)



À une solution du composé β -acétate **14** (3.00 g, 7.68 mmol) dissout dans du dichlorométhane distillé (75 mL) est ajouté de l'éthanethiol (878 μ L, 11.52 mmol, 1.50 éq.) à 0 °C. De l'étherate de trifluorure de bore ($\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$ - 1.46 mL, 11.52 mmol, 1.50 éq.) est ajoutée goutte à goutte. Le milieu réactionnel est agité à 0 °C puis laissé à remonter à température ambiante. L'avancement de la réaction est suivi par CCM (8h). Le milieu réactionnel est dilué avec du dichlorométhane, lavé avec des solutions saturées de NaHCO_3 et NaCl . La phase organique est séchée sur Na_2SO_4 , filtré et concentrée. Le composé **19** est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/ AcOEt 3 : 1) conduisant au composé désiré sous la forme d'un solide avec un rendement de 82% (2.45 g, 6.30 mmol) [38% pour la configuration « α », (1.12 g) ; 40% pour la configuration « β », (1.19 g) et 4% pour un mélange de α/β]. $R_f(\alpha) = 0.70$; $R_f(\beta) = 0.65$, hexane/ AcOEt 1 : 1. Voir le mode opératoire du composé **20** pour les constantes physiques.

2,3,4,6-Tétra-*O*-acétyl-1-thio- β -D-galactopyranoside d'éthyle (20)^{205,206}



Méthode 1 :

À une solution du composé **14** (1.00 g, 2.56 mmol) dissout dans du dichlorométhane distillé (25 mL) en présence de tamis moléculaire 4 Å, est ajouté de l'éthanethiol (390 μ L, 5.12 mmol, 2.00 éq.) à -30 °C. Après 1h à -30 °C, de l'acide de Lewis SnCl_4 , 1M dans le dichlorométhane. (510 μ L, 2.82 mmol, 1.10 éq.) est ajouté goutte à goutte et la réaction est

²⁰⁵ Das, S. K. And Roy, N., *Carbohydr Res.*, **1996**, 296, 275-277.

²⁰⁶ Valerio, S.; Iadonisi, A.; Adinolfi, M. and Ravidà, A., *J. Org. Chem.*, **2007**, 72, 6097-6106.

laissée à la même température pendant 1h sous atmosphère d'azote. La réaction est arrêtée en ajoutant une solution saturée de NaHCO₃ (50 mL). Le mélange est filtré sur célite et extrait avec du dichlorométhane (3 x). Les phases organiques combinées sont lavées avec de l'eau, séchées sur Na₂SO₄, filtrées et concentrées. Le β-thiolé **20** est obtenu directement par cristallisation dans un mélange Et₂O/éther de pétrole et le filtrat contenant encore du produit est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/AcOEt 3 : 1) puis recristallisé. Le composé désiré est obtenu sous la forme de cristaux blancs avec un rendement de 85% (0.85 g, 2.18 mmol).

Méthode 2²⁰⁷ :

À une solution du composé **14** (3.00 g, 7.68 mmol) dissout dans un mélange de CH₂Cl₂/THF distillé 3:2 (75 mL) en présence de tamis moléculaire 4 Å, est ajouté de l'éthanthiol (1.17 mL, 15.36 mmol, 2.00 éq.) à -30 °C. Le milieu réactionnel est mis à réagir à -30 °C pendant une heure. L'acide de Lewis BF₃.Et₂O (1.528 mL, 8.45 mmol, 1.10 éq.) est ajouté goutte à goutte et la réaction est laissée pendant 1h sous atmosphère d'azote en laissant la température monter jusqu'à -4 °C, puis jusqu'à température ambiante. La réaction est arrêtée en ajoutant une solution saturée de NaHCO₃ (100 mL). Le mélange est filtré sur célite et extrait 3 fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques combinées sont lavées avec de l'eau, séchées sur Na₂SO₄, filtrées et concentrées. Le composé **20** est obtenu directement par cristallisation dans un mélange Et₂O/éther de pétrole et le filtrat contenant encore du produit est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/AcOEt 3 : 1) et recristallisé par la suite conduisant au composé désiré sous la forme de cristaux blancs avec un rendement de 72% (2.17 g, 5.53 mmol). Pf : 73-74 °C (Et₂O/EP) (Litt.²⁰⁸ 73-75 °C) ; *R*_f = 0.65, hexane/AcOEt 1 : 1 ; $[\alpha]_D^{21}$ -9 (*c*=1.0, CHCl₃) [Litt.²⁰⁹ $[\alpha]_D^{23}$ -9.2 ; (*c*=1.0, CHCl₃)] ; ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ = 5.43 (d, 1H, ³*J*_{1,2} = 3.3Hz, *H*-4), 5.25 (t, 1H, ³*J*_{2,3} = ³*J*_{1,2} = 9.9Hz, *H*-2), 5.02 (dd, 1H, ³*J*_{3,4} = 3.3Hz, ³*J*_{2,3} = 9.9Hz, *H*-3), 4.50 (d, 1H, ³*J*_{1,2} = 9.9Hz, *H*-1), 4.15 (m, 2H, *H*-6a et *H*-6b), 3.95 (t, 1H, ³*J*_{5,6} = 6.6Hz, *H*-5), 2.74 (m, 2H, SCH₂CH₃), 2.16, 2.08, 2.06, 1.99 (COCH₃), 1.30 ppm (t, 3H, ³*J*_{SCH₂,CH₃} = 7.7Hz, SCH₂CH₃) ; ¹³C RMN

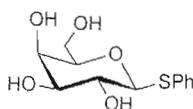
²⁰⁷ Vic, G.; Hastings, J. J.; Howarth, O. W. and Crout, D. H. G., *Tetrahedron: Asym.*, **1996**, 7, 709-720.

²⁰⁸ Contour, M. O.; Defye, J.; Little, M. and Wong, E., *Carbohydr. Res.*, **1989**, 193, 283-287.

²⁰⁹ Ibatullin, F. M.; Selivanov, S. I. and Shavva, A. G., *Synthesis*, **2001**, 419-422.

(75 MHz, CDCl₃): δ = 170.2, 170.0, 169.8, 169.4 (COCH₃), 83.8 (C-1), 74.2 (C-5), 71.7 (C-3), 67.1 (C-2), 67.0 (C-4), 61.3 (C-6), 24.1 (SCH₂CH₃), 20.6, 20.5, 20.4 (COCH₃), 14.7 ppm (SCH₂CH₃). ESI⁺-HRMS : m/z calculée pour C₁₆H₂₄O₉SNa [M + Na]⁺ : 415.10332 ; trouvée : 415.10289.

1-Thio- β -D-galactopyranoside de phényle (21)

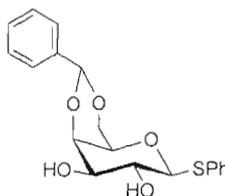


Le composé **17** (4.40 g, 10.00 mmol) est dé-*O*-acétylé suivant le *Protocole I* conduisant au composé désiré **21** sous la forme d'une poudre blanche avec un rendement quantitatif (2.72 g, 10.00 mmol). Pf : 97-101 °C²¹⁰ ; R_f = 0.54, CH₃CN/H₂O 9 : 1 ; $[\alpha]_D^{24}$ -52 ($c=1.0$, MeOH)²¹⁰ [Litt.²¹¹ $[\alpha]_D^{22}$ 31.0 ; ($c=1.0$, CHCl₃)] ; ¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆, 23 °C): δ = 7.44-7.41 (m, 2H, H_{arom}), 7.30-7.18 (m, 3H, H_{arom}), 5.14 (s, 1H, OH), 4.90 (s, 1H, OH), 4.63 (s, 1H, OH), 4.55 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 9.3\text{Hz}$, $H-1$), 3.68 (s, 1H, OH), 3.50-3.33 ppm (m, 7H, $H-2, H-3, H-4, H-5, H-6a, H-6b$) ; ¹³C RMN (75 MHz, D₂O + acétone): δ = 133.3, 131.7, 130.0, 128.5 (C_{arom}), 88.7 (C-1), 79.6 (C-5), 74.6 (C-3), 69.8 (C-2), 69.3 (C-4), 61.6 ppm (C-6). ESI⁻-MS: m/z calculée pour C₁₂H₁₆O₅SNa [M + Na]⁻ : 295.06107 ; trouvée : 295.06122.

²¹⁰ Osswald, M.; Zeitschrift fuer Naturforschung, B., *Chem. Sci.*, **2003**, 58, 764-774.

²¹¹ Imamura, A., *Chem. Eur. J.*, **2006**, 12, 8862-8870.

4,6-*O*-Benzylidène-1-thio-β-D-galactopyranoside de phényle (22)^{212,213}

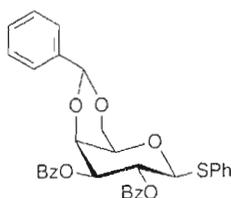


Le 4,6-diol **21** (273 mg, 1.00 mmol) est solubilisé dans de l'acétonitrile (3 mL) à 50 °C (15 min.). De l' α,α -diméthoxytoluène (450 μ l, 3.00 mmol, 3.00 eq.) et une quantité catalytique d'acide *p*-toluènesulfonique monohydraté (~4 mg) sont ajoutés. Le milieu réactionnel est agité à 65 °C pendant 3h30. De retour à température ambiante, le milieu réactionnel est neutralisé par ajout d' Et_3N (10 μ l) puis concentré. Le composé **22** est purifié par chromatographie sur gel de silice (CHCl_3 puis $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 97 : 3) conduisant avec un rendement de 90% (324 mg, 0.90 mmol) au benzylidène **22** désiré sous la forme d'un solide blanc. Pf : 164-165.5 °C (EtOH)²¹² (Litt.²¹⁴ 119-120 °C) ; R_f = 0.51, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9 : 1 ; $[\alpha]_D^{20}$ -30 ($c=1.0$, CHCl_3) (Litt.²¹³ -29.7) ; $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25 °C) : δ = 7.68-7.64 (2H, H_{arom}), 7.39-7.26 (8H, H_{arom}), 5.47 (s, 1H, CHPh), 4.46 (d, 1H, $^3J_{1,2}$ = 8.9Hz, $H-1$), 4.33 (dd, 1H, $^3J_{6a,6b}$ = 1.4Hz, $^3J_{5,6a}$ = 12.5Hz, $H-6a$), 4.13 (d, 1H, $^3J_{4,5}$ = 2.5Hz, $H-4$), 3.97 (dd, 1H, $^3J_{6a,6b}$ = 1.6Hz, $^3J_{5,6b}$ = 12.5Hz, $H-6b$), 3.70-3.58 (m, 2H, $H-2$ et $H-3$), 3.45 (sl, 1H, $H-5$), 3.04-3.00 ppm (m, 2H, OH-2 et OH-3) ; $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3) : δ = 137.6 ($C_{\text{q-arom}}$), 133.6 (C_{arom}), 130.9 ($C_{\text{q-arom}}$), 129.3, 128.9, 128.2, 128.1, 126.5 (C_{arom}), 101.4 (CHPh), 87.0 ($C-1$), 75.4 ($C-5$), 73.8 ($C-3$), 70.0 ($C-2$), 69.2 ($C-4$), 68.8 ppm ($C-6$). **ESI⁺-MS**: m/z calculée pour $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{O}_5\text{SNa}$ [$\text{M} + \text{Na}$]⁺ : 383.09237 ; trouvée : 383.09218.

²¹² Pallavi, T. and Misra, A. K. *Carbohydr. Res.* **2006**, *341*, 339-350.

²¹³ Ulf, E. and Göran, M., *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 9314-9322.

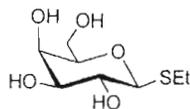
²¹⁴ Deng, S.; Yu, B.; Guo, Z.; Hui, Y. *J. Carbohydr. Chem.* **1998**, *17*, 439-452.

2,3-Di-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidène-1-thio-β-D-galactopyranoside de phényle (**23**)

À une solution du 2,3-diol **22** (360 mg, 1.00 mmol) dissout dans la pyridine distillée (10 mL) est ajouté du chlorure de benzoyle (1.12 mL, 2.4 mmol, 2.40 éq.) sous atmosphère d'azote et à 0 °C. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pour la nuit, puis dilué avec du dichlorométhane et versé dans l'eau glacée. La phase organique est lavée avec des solutions saturées de KHSO₄, NaHCO₃ et NaCl, séchée sur Na₂SO₄, filtré et concentrée. Le benzylidène **23** est purifié par cristallisation (CH₂Cl₂/éther de pétrole) conduisant au composé 2,3-dibenzoylé **23** désiré sous la forme de cristaux blancs avec un rendement de 97% (551 mg, 0.97 mmol). Pf : 165-167 °C (CHCl₃/EP) (Litt.²¹⁵ 163 °C ; Litt.²¹⁴ 169-170 °C) ; *R_f* = 0.56, hexane/AcOEt 3 : 1 ; $[\alpha]_D^{24} +65$ (*c* 1.0, CHCl₃) (Litt.²¹⁴ +64.2 *c*=1.1 CHCl₃) ; ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ = 7.99-7.91 (m, 4H, *H*_{arom}), 7.63-7.22 (m, 16H, *H*_{arom}), 5.81 (t, 1H, ³*J*_{1,2} = ³*J*_{2,3} = 9.9Hz, *H*-2), 5.51 (s, 1H, PhCH), 5.37 (dd, 1H, ³*J*_{3,4} = 3.3Hz, ³*J*_{2,3} = 9.9Hz, *H*-3), 4.96 (d, 1H, ³*J*_{1,2} = 9.9Hz, *H*-1), 4.60 (d, 1H, ³*J*_{3,4} = 3.3Hz, *H*-4), 4.45 (dd, 1H, ³*J*_{6a,6b} = 1.6Hz, ³*J*_{5,6} = 12.4Hz, *H*-6a), 4.10 (dd, 1H, *H*-6b), 3.76 ppm (sl, 1H, *H*-5) ; ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 166.1, 164.9 (COPh), 137.5, 133.8, 133.3, 133.1, 131.0, 130.0, 129.7, 129.6, 129.0, 128.8, 128.3, 128.2, 128.1, 126.4 (C_{arom}), 100.9 (C'-1), 85.2 (PhCH), 74.3 (C-5), 73.6 (C-3), 69.9 (C-2), 69.1 (C-4), 67.0 ppm (C'-6). ESI⁺-MS : *m/z* calculée pour C₃₃H₂₈O₇SNa [M + Na]⁺ : 591.14534 ; trouvée : 591.14.

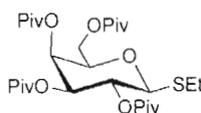
²¹⁵ Zeigler, T.; Eckhardt, E. and Herold, G. *Liebigs Ann. Chem.*, **1992**, 441-451.

1-Thio- β -D-galactopyranside d'éthyle (24)



Le tétra-acétylé **20** (393 mg, 1.00 mmol) est dé-*O*-acétylé suivant le *Protocole I* conduisant au composé désiré **24** sous la forme d'une poudre blanche avec un rendement quantitatif (224 mg, 1.00 mmol). Pf: 121.5-122.5 (EtOH/AcOEt)²¹⁶; R_f = 0.46, CH₃CN/H₂O 9 : 1; $[\alpha]_D^{24}$ -23.5 (*c* 1.1, H₂O)²¹⁷; ¹H RMN (300 MHz, D₂O, 20.1 °C): δ = 4.48 (d, 1H, ³ $J_{1,2}$ = 9.6Hz, *H*-1), 3.97 (d, 1H, ³ $J_{3,4}$ = ³ $J_{4,5}$ = 2.9Hz, *H*-4), 3.79-3.51 (m, 5H, *H*-5, *H*-6a, *H*-6b, *H*-3, *H*-2), 2.78-2.73 (m, 2H, SCH₂CH₃), 1.27 ppm (t, 1H, ³ $J_{CH_2-CH_3}$ = 7.4Hz, SCH₂CH₃); ¹³C RMN (75MHz, D₂O + acétone): δ = 86.2 (*C*-1), 79.5 (*C*-5), 74.5 (*C*-3), 70.2 (*C*-2), 69.4 (*C*-4), 61.6 (*C*-6), 24.8 (SCH₂CH₃), 15.1 ppm (SCH₂CH₃). ESI⁻-HRMS : m/z calculée pour C₈H₁₆O₅SNa [M + Na]⁺ : 247.06107 ; trouvée : 247.06098.

2,3,4,6-Tétra-*O*-pivaloyl-1-thio- β -D-galactopyranside d'éthyle (25)



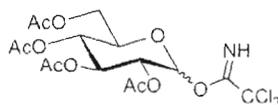
À une solution du composé **24** (160 mg, 0.71 mmol) dissout dans la pyridine distillée (10 mL) est ajouté du chlorure de triméthylacétate (1.06 mL, 8.52 mmol, 12.00 éq.) sous atmosphère d'azote à 0 °C. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pour la nuit puis dilué dans du dichlorométhane et versé dans l'eau glacée. La phase organique est lavée avec des solutions saturées de KHSO₄, NaHCO₃ et NaCl puis séchée sur Na₂SO₄, filtré et concentrée. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/AcOEt 4 : 1) conduisant au composé tétra-*O*-pivaloylé **25** désiré sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 90% (358 mg, 0.64 mmol). Pf: 153-154 °C (CHCl₂/EP) : R_f = 0.38,

²¹⁶ Fried, J.; Walz, D. E. *J. Am. Chem. Soc.*, **1949**, *71*, 140-143.

²¹⁷ Lemieux, R. U. *Can. J. Chem.*, **1951**, *29*, 1079-91.

hexane/AcOEt 4 : 1 ; $[\alpha]_D^{24} -10$ ($c=1.0$, CHCl_3); $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25 °C): $\delta =$ 5.41 (d, 1H, $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 3.0$ Hz, $H-4$), 5.28 (t, 1H, $^3J_{1,2} = ^3J_{2,3} = 9.9$ Hz, $H-2$), 5.12 (dd, 1H, $^3J_{3,4} = 2.1$ Hz, $^3J_{2,3} = 9.9$ Hz, $H-3$), 4.52 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 9.9$ Hz, $H-1$), 4.18-4.11 (m, 1H, $H-6a$), 4.02-3.95 (m, 2H, $H-5$ et $H-6b$), 2.78-2.62 (m, 2H, SCH_2), 1.28-1.09 ppm (m, 40H, 4 x CH_3 -Piv et SCH_2CH_3) ; $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3): $\delta =$ 177.8, 177.1, 176.7, 176.6 (CO Piv), 83.6 (C-1), 74.6 (C-5), 72.0 (C-3), 67.0 (C-2), 66.7 (C-4), 61.2 (C-6), 27.1, 27.0, 26.4 (3 x s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 23.6 (SCH_2), 14.9 ppm (SCH_2CH_3). **ESI⁺-HRMS** : m/z calculée pour $\text{C}_{28}\text{H}_{48}\text{O}_9\text{SNa}$ [$\text{M} + \text{Na}$]⁻ : 583.29112 ; trouvée : 583.29036.

2,2,2-trichloroacétimide de 2,3,4,6-Tétra-*O*-acétyl- α,β -D-glucopyranosyle (27)



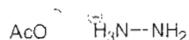
À une solution du D-glucose **26** (1.00 g, 5.55 mmol) dissout dans un mélange d'anhydride acétique/pyridine distillé (1 : 2, v/v, 30 mL) est ajouté une quantité catalytique de 4-diméthylaminopyridine (DMAP) à 0 °C. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pour la nuit. L'excès d'anhydride acétique est détruit par ajout de MeOH à 0 °C puis le mélange est co-évacué avec du toluène. Le résidu est dilué dans du dichlorométhane, lavé à l'eau glacée, et avec des solutions saturées de KHSO_4 , NaHCO_3 et NaCl . La phase organique est séchée sur Na_2SO_4 , filtré et concentrée.

Le résidu per-*O*-acétylé, solubilisé dans du dichlorométhane distillé (55 mL), est chauffé à reflux sous atmosphère d'azote en présence de tétrahydro-1,4-oxazine (morpholine) (1.94 mL, 22.2 mmol, 4 éq.). L'avancement de la réaction est suivi par CCM ($R_f = 0.50$, EP/AcOEt 1 : 1). Après 20h, le milieu réactionnel est lavé avec une solution d'HCl 1N (2 x 70 mL) et à l'eau (3 x 40 mL). La phase organique est séchée sur Na_2SO_4 , filtrée et concentrée.

À une solution d'hémiacétate dissout dans du dichlorométhane distillé (55 mL), sont ajoutés du K_2CO_3 (4.22 g, 30.53 mmol, 5.55 éq.) et du trichloroacétonitrile 98% (5.68 mL,

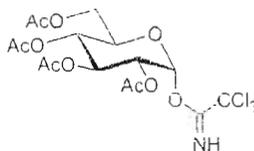
55.50 mmol, 10.00 éq.) sous atmosphère d'azote. Le milieu réactionnel est chauffé à 40 °C et l'avancement de la réaction est suivi par CCM (3h20). Le résidu obtenu après évaporation « à froid » est purifié par chromatographie sur gel de silice en conditionnant la phase stationnaire avec 1% d'Et₃N (hexane/AcOEt 3 : 2). L'imidate **27** est obtenu sous la forme d'une huile incolore avec un rendement global de 42% sur trois étapes (2.25 g, 2.33 mmol) dans un ratio α/β : 7-4. R_f (α) = 0.58, R_f (β) = 0.44, hexane/AcOEt 3 : 2 + Et₃N 1% ; ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 22 °C): δ = 8.73 et 8.70 (NH ^{α} et ^{β}), 6.57 (d, 1H, ³J_{1,2} = 3.6 Hz, H-1 ^{α}), 5.88 (d, 0.6H, ³J_{1,2} = 7.7 Hz, H-1 ^{β}), 5.58, 5.32-5.12, 4.37-4.09 et 4.94-4.90 (m, 12H, H-2 ^{α} et ^{β} , H-3 ^{α} et ^{β} , H-4 ^{α} et ^{β} , H-5 ^{α} et ^{β} , H-6a ^{α} et ^{β} et H-6b ^{α} et ^{β}), 2.12-2.02 ppm (m, 24H, C(O)CH₃ ^{α} et ^{β}).

Acétate d'hydrazine **28**



À une solution d'éther éthylique (50 mL) à 4 °C est ajouté de l'acide acétique (6 mL). De l'hydrate d'hydrazine (5.0 mL, 103.0 mmol, 1.00 éq.) est ensuite ajouté très lentement au mélange. Le milieu réactionnel est agité à 4 °C jusqu'à la formation d'un précipité. Le précipité est filtré et séché sous vide suivi d'une recristallisation (EtOH absolu) conduisant au composé désiré **28** avec un rendement de 72% sous la forme de cristaux blancs (6.85g, 74.16 mmol). Pf : 100-102 °C (EtOH).¹⁹²

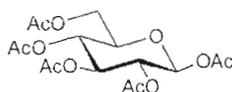
2,2,2-Trichloroacétimidate de 2,3,4,6-tétra-O-acétyl- α -D-glucopyranosyle (**29**)



L'obtention de l' α -imidate **29** à partir du D-glucose **26** (1.00 g, 5.55 mmol) s'effectue en suivant le même protocole que pour la synthèse du composé **27** avec l'utilisation de réactifs différents : lors de l'étape desacétylation anomérique, de l'acétate de hydrazine **28**

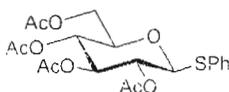
(767 mg, 8.32 mmol, 1.50 éq.) dissout dans du DMF distillé (40 mL) est utilisé en tant que base au lieu de la morpholine. Lors de la formation du glycoside activé, la base utilisée pour le composé **27**, K_2CO_3 , est substituée par du DBU (1.69 mL, 11.10 mmol, 2 éq.). Après la même purification, l'imidate **29** est isolé avec un rendement global de 59% sur trois étapes (1.61 g, 3.27 mmol) sous forme d'une huile incolore. $R_f = 0.44$, hexane/AcOEt 3 : 2 + Et_3N 1% ; 1H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, 22 °C): $\delta = 8.70$ (s, 1H, NH), 6.57 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 3.7$ Hz, H-1), 5.58, 5.32-5.12, 4.37-4.09 et 4.94-4.90 (m, 7H, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6a et H-6b), 2.12-2.02 ppm (m, 12H, C(O)CH₃).

1,2,3,4,6-Penta-O-acétyl- β -D-glucopyranose (**30**)



Du D-glucose **26** (20.00 g, 111.00 mmol) est per-O-acétylé dans les mêmes conditions que le composé **14** suivi d'une cristallisation dans EtOH absolu conduisant au composé désiré **30** avec un rendement de 66% (28.73 g, 73.60 mmol). Pf: 96 °C (EtOH 100%) ; $R_f = 0.50$, hexane/AcOEt 1 : 1 ; $[\alpha]_D^{24} +219$ ($c=1.0$, $CHCl_3$)²¹⁸ ; 1H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, 25 °C): $\delta = 5.72$ (d, 1H, $^3J_{1,2} = 8.4$ Hz, H-1), 5.29-5.10 (m, 3H, H-3, H-2, H-4), 4.30 (dd, 1H, $^3J_{6a-6b} = 4.5$ Hz, $^3J_{5,6} = 12.5$ Hz, H-6a), 4.11 (dd, 1H, H-6b), 3.87-3.86 (m, 1H, H-5), 2.12, 2.09, 2.047, 2.01 ppm (COCH₃) ; ^{13}C RMN (75 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 170.6$, 170.0, 169.3, 169.2, 168.9 (COCH₃), 91.6 (C-1), 72.7 (C-5), 72.7 (C-3), 70.2 (C-4), 67.7 (C-2), 61.4 (C-6), 20.8, 20.7, 20.6, 20.5 ppm (COCH₃).

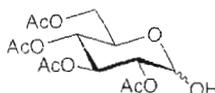
2,3,4,6-Tétra-O-acétyl-1-thio- β -D-glucopyranoside de phényle (**31**)



²¹⁸ Pallavi, T. and Anup, K. M., *J. Org. Chem.*, 2006, 71, 2911-2913.

L'acétate **30** (1.00 g, 2.68 mmol) est glycosidé avec du thiophénol (411 μL , 4.02 mmol, 4 éq.) dans du dichlorométhane (20 mL) en présence de l'acide de Lewis $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (510 μL , 4.02 mmol, 1.5 éq.) dans les mêmes conditions et selon la même procédure que pour la synthèse du thioglycoside **17**. Le composé β -thiolé **31** est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/AcOEt 2 : 1) conduisant au composé désiré sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 83% (0.97 g, 2.23 mmol). Pf: 117-119 $^\circ\text{C}$ (EtOH absolu) (Litt.²¹⁹ 118-120 $^\circ\text{C}$) ; $R_f = 0.25$, hexane/AcOEt 2 : 1 ; $[\alpha]_D^{22} -20$ ($c=1.0$, CHCl_3) (Litt.²¹⁹ -22.7 à 25 $^\circ\text{C}$) ; $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25 $^\circ\text{C}$) : $\delta = 7.52\text{-}7.49$ (m, 2H, H_{arom}), 7.35-7.31 (m, 2H, H_{arom}), 5.24 (t, 1H, $^3J_{2,3} = ^3J_{3,4} = 9.3\text{Hz}$, $H\text{-}3$), 5.07-4.94 (quant, 2 x t, 2H, $H\text{-}2$, $H\text{-}4$), 4.72 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 10.1\text{Hz}$, $H\text{-}1$), 4.26-4.15 (m, 2H, $H\text{-}6\text{a}$ et $H\text{-}6\text{b}$), 3.76-3.70 (m, 1H, $H\text{-}5$), 2.09, 2.08, 2.02, 1.99 ppm (COCH_3) ; $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3) : $\delta = 170.4$, 170.0, 169.3, 169.1 (COCH_3), 133.0, 131.6, 128.8, 128.3 (C_{arom}), 85.6 ($C\text{-}1$), 75.7 ($C\text{-}5$), 73.9 ($C\text{-}3$), 69.9 ($C\text{-}4$), 68.2 ($C\text{-}2$), 62.0 ($C\text{-}6$), 20.6, 20.6, 20.5, 20.4 ppm (COCH_3). ESI⁺-HRMS : m/z calculée pour $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_9\text{SNa}$ [$\text{M} + \text{Na}$]⁻ : 463.10332 ; trouvée : 463.10309.

2,3,4,6-Tétra-*O*-acétyl-D-glucopyranose (**32**)



Méthode 1 :

À une solution du composé **31** (62 mg, 0.14 mmol) dissout dans un mélange acétone/ H_2O 9 : 1 (1 mL) est ajouté à 0 $^\circ\text{C}$ du bromure de *N*-hydrosuccinimide (NBS) (100 mg, 0.56 mmol, 4.13 éq.). Le milieu réactionnel est agité en laissant revenir à température ambiante. La réaction est finie lorsque la couleur jaune du milieu réactionnel s'estompe et laissé place à un mélange incolore et transparent (environ 1h). Du NaHCO_3 (110 mg) est ajouté au milieu réactionnel qui est ensuite concentré. Le résidu est dilué dans mélange d'acétate d'éthyle (10 mL) et d'eau (3 mL). La phase organique est lavée avec une solution saturée de NaHCO_3 (3 x 5 mL), avec de l'eau et une solution aqueuse saturée de NaCl . La

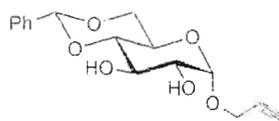
²¹⁹ Weng, S.-S.; Lin, Y.-D. and Chen, C.-T. *Org. Lett.*, **2006**, 8, 5633-5636.

phase organique est séchée sur Na_2SO_4 et concentrée. Le composé **32** est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle 1 : 1) conduisant au composé désiré sous forme d'une huile incolore avec un rendement de 78% (38 mg, 0.11 mmol).

Méthode 2 :

À une solution du composé **30** (2.00 g, 5.35 mmol, 1.00 éq.), dissout dans du DMF distillé (40 mL) et chauffé à 50 °C, est ajouté l'acétate d'hydrazine **28** (740 mg, 8.02 mmol, 1.50 éq.). Le milieu réactionnel est agité à 50 °C pendant 20 min. La réaction est arrêtée en diluant avec de l'acétate d'éthyle. Le milieu réactionnel est lavé 2 fois avec une solution saturée de NaCl. La phase organique est séchée sur Na_2SO_4 , filtrée, concentrée puis co-évaporée avec du toluène. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle 1 : 1) conduisant à l'hémiacétate **32** désiré sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 74% (1.37 g, 3.96 mmol). $R_f = 0.31$ pour α et β , hexane/AcOEt 1 : 1; $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25 °C): $\delta = 5.54$ (t, 1H, $^3J_{3,4} = 10.0\text{Hz}$, $H-3$), 5.47 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 3.5\text{Hz}$, $H-1\alpha$), 5.09 (t, 1H, $^3J_{4,5} = 10.5\text{Hz}$, $H-4$), 4.90 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 10.2\text{Hz}$, $H-2$), 4.76 (d, $^3J_{1,2} = 9.0\text{Hz}$, $H-1\beta$), 4.29-4.22 (m, 2H, $H-5$ et $H-6a$), 4.17-4.12 (m, 1H, $H-6b$), 2.10-2.02 ppm (COCH_3); $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 170.8$, 170.2, 170.1, 169.6 (COCH_3), 95.5 ($C-1\alpha$), 90.1 ($C-1\beta$), 73.2, 72.2, 72.0, 71.0, 69.8, 68.4, 67.1 ($C-2$ à $C-5$), 61.9 ($C-6$), 20.7-20.5 ppm (COCH_3). $\text{ESI}^+\text{-MS}$: m/z calculée pour $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{O}_{10}\text{Na}$ [$\text{M} + \text{Na}$] $^-$: 371.09487 ; trouvée : 371.09479.

4,6-*O*-Benzylidène- α -D-glucopyranoside d'allyle (**33**)

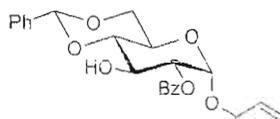


À une solution de D-glucose **26** (15.00 g, 83.26 mmol, 1 éq.) dissout dans l'alcool allylique distillé (100 mL), est ajouté goutte à goutte de l'acide trifluorométhanesulfonique (1.11 mL, 12.49 mmol, 0.15 éq.). Le milieu réactionnel est porté à reflux pendant 2h30,

neutralisé par l'ajout d'Et₃N (1.74 mL, 12.49 mmol, 0.15 éq.), puis concentré et co-évaporé plusieurs fois avec du toluène.

À une solution du produit brut précédent dissout dans l'acétonitrile (120 mL) sont ajoutés de l'acide *p*-toluènesulfonique (1.60 g, 8.33 mmol, 0.10 éq.) et de l' α , α -diméthoxytoluène (25.0 mL, 166.52 mmol, 2.00 éq.). Le milieu réactionnel est agité à 50 °C sous atmosphère d'azote. L'avancement de la réaction est suivi par CCM ($R_f = 0.32$, hexane/AcOEt 1 : 2 ; $R_f = 0.35$, AcOEt/MeOH 9 : 1). Après 7h30, le milieu réactionnel est dilué dans du dichlorométhane, lavé avec une solution saturée de NaHCO₃, à l'eau puis séché sur Na₂SO₄, filtré et concentré. Le composé **33** est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/AcOEt 1 : 2) conduisant au composé désiré sous la forme d'un solide blanc avec un rendement global sur 2 étapes de 37%, puis recristallisé dans EtOH absolu (9.50 g, 30.80 mmol). Pf: 133-135 °C (EtOH 100%); $[\alpha]_D^{24} +96$ ($c=1.0$, CH₂Cl₂) ; **¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C)**: $\delta = 7.53-7.48$ et $7.42-7.35$ (m, 5H, $H_{\text{arom.}}$), 6.00-5.87 (m, 1H, OCH₂CHCH₂), 5.55 (s, 1H, PhCH), 5.37-5.24 (m, 2H, OCH₂CHCH₂), 4.97 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 3.9$ Hz, *H*-1), 4.30 (dd, 1H, $^3J_{5,6a} = 4.7$ et $^3J_{6a,6b} = 9.9$ Hz, *H*-6a), 4.29-4.22 et 4.10-4.03 (m, 2H, OCH₂CHCH₂), 3.96 (td, 1H, $^3J_{2,3} = ^3J_{3,4} = 9.3$ et $^3J_{3,\text{OH}} = 1.0$ Hz, *H*-3), 3.91-3.83 (m, 1H, *H*-5), 3.74 (tl, 1H, $^3J_{5,6b} = 10.4$ Hz, *H*-6b), 3.64 (tld, 1H, $^3J_{2,\text{OH}} = 10.2$ Hz, *H*-2), 3.52 (t, 1H, $^3J_{4,5} = 9.3$ Hz, *H*-4), 2.50 (sl, 2H, OH-2 et OH-3) ; **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃)**: $\delta = 137.0-126.3$ ($C_{\text{arom.}}$), 133.2 (OCH₂CHCH₂), 118.3 (OCH₂CHCH₂), 101.9 (PhCH), 97.8 (*C*-1), 80.9 (*C*-5), 72.8 (*C*-3), 71.8 (*C*-4), 68.8 (*C*-2), 68.8 (OCH₂CHCH₂), 62.6 ppm (*C*-6). **ESI⁺-HRMS** : *m/z* calculée pour C₁₆H₂₁O₆ [M + H]⁺ : 309.13326 ; trouvée : 309.13291 ; *m/z* calculée pour C₁₆H₂₀O₆Na [M + Na]⁺ : 331.11521 ; trouvée : 331.11478.

2-*O*-Benzoyl-4,6-*O*-benzylidène- α -D-glucopyranoside d'allyle (**34**)



Méthode 1 :

À une solution du 2,3-diol **33** (750 mg, 2.43 mmol, 1.00 éq.) dissout dans du toluène distillé (100 mL) est ajouté du diméthoxide de dibutylétain (615 μ L, 2.67 mmol, 1.10 éq.). Le milieu réactionnel est concentré de moitié pendant 6h à reflux, en utilisant un montage de type Dean-Stark. De la triéthylamine (17 μ L, 0.12 mmol, 0.05 éq.) et du chlorure de benzaldéhyde (308 μ L, 2.67 mmol, 1.1 éq.) sont ajoutés au milieu réactionnel à 0 °C, puis le mélange est ramené à température ambiante. L'avancement de la réaction est suivi par CCM (R_f = 0.74, hexane/AcOEt 1 : 1). Après 3h, le milieu réactionnel est dilué avec de l'acétate d'éthyle, lavé avec une solution aqueuse saturée de NaHCO₃, à l'eau, puis avec une solution aqueuse saturée en NaCl, séché sur Na₂SO₄, filtré et concentré. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (toluène/AcOEt 9 : 1) conduisant au 2-benzoylé **34** désiré sous la forme d'une poudre blanche avec un rendement de 99% (992 mg, 2.41 mmol).

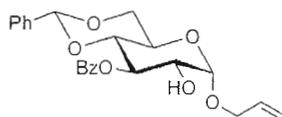
Méthode 2 :

À une suspension d'imizaole (302 mg, 4.44 mmol, 2.4 éq.) dissout dans du dichlorométhane (4 mL) est ajouté goutte à goutte du chlorure de benzoyle (256 μ L, 2.22 mmol, 1.2 éq.). Après filtration, le filtrat est ajouté goutte à goutte à la solution du composé **33** (570 mg, 1.85 mmol, 1.00 éq.) dissout dans du dichlorométhane (8 mL). Le milieu réactionnel est porté à reflux pendant 36h. Le milieu réactionnel est dilué dans du dichlorométhane, lavé avec la solution de NaCl 10% (w/v), séché et concentré. Le 2-benzoylé **34** est purifié par chromatographie sur gel de silice (toluène/AcOEt 95 : 5) conduisant au composé désiré sous la forme d'une poudre blanche avec un rendement de 54% (415 mg, 1.00 mmol). R_f = 0.27, toluène/AcOEt 9 : 1 : $[\alpha]_D^{24} +107$ ($c=1.0$, CHCl₃) (Litt.²²⁰ +99 à 20°C) ; ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ = 8.09-8.05 (m, 2H, H_{arom}), 7.58-7.34 (m, 8H, H_{arom}), 5.86-5.73 (m, 1H, OCH₂CHCH₂), 5.53 (s, 1H, PhCH), 5.30-5.22 (m, 1H, OCH₂CHCH₂), 5.19 (d, 1H, ³ $J_{1,2}$ = 3.8 Hz, $H-1$), 5.15-5.10 (m, 1H, OCH₂CHCH₂), 5.04 (dd, 1H, ³ $J_{2,3}$ = 9.6 Hz, $H-2$), 4.40 (td, 1H, ³ $J_{3,4}$ = 9.6 et ³ $J_{3,OH}$ = 2.1 Hz, $H-3$), 4.31 (dd, 1H, ³ $J_{5,6a}$ = 4.7 et ³ $J_{6a,6b}$ = 10.2 Hz, $H-6a$), 4.21-4.15 (m, 1H, OC(=O)CHCH₂), 4.01-3.90 (m, 2H, OCH₂CHCH₂ et $H-5$), 3.77 (t, 1H, ³ $J_{5,6b}$ = 10.2 Hz, $H-6b$), 3.66 (t, 1H, ³ $J_{4,5}$ = 9.6 Hz, $H-4$), 2.81 ppm (sl, 1H, OH-3) ; ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 166.2 (COPh), 137.0 (C_{q-arom} , PhCH), 133.3 (-CH=CH₂), 129.9-126.3 (C_{arom}), 117.7 (-CH=CH₂), 102.0 (PhCH), 95.9 (C-1),

²²⁰ Lefebvre, D. J.; Kamerling, J. P.; Vilegenthart, J. F. G., *Chem. Eur. J.*, **2001**, 7, 4411-4421.

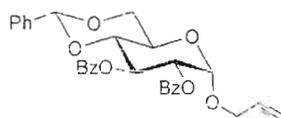
81.4 (C-5), 73.9 (C-3), 68.8 (C-4), 68.8 (C-2), 68.7 (OCH₂CH=CH₂), 62.3 ppm (C-6). **ESI⁺-HRMS**: *m/z* calculée pour C₂₃H₂₄O₇Na[M + Na]⁺ : 435.14142 ; trouvée : 435.14123 ; *m/z* calculée pour C₂₃H₂₅O₇[M + H]⁺ : 413.15948 ; trouvée : 413.15984.

3-*O*-Benzoyl-4,6-*O*-benzylidène- α -D-glucopyranoside d'allyle (35)



Lors de la synthèse du composé benzoylé **34** par la méthode 2. Le 3-benzoylé **35** est isolé avec un rendement de 15% (114 mg, 0.28 mmol). $R_f = 0.17$, toluène/AcOEt 9 : 1 ; $[\alpha]_D^{24} +107$ ($c=1.0$, CHCl₃) (Litt.²²¹ +55 $c=0.85$ à 20 °C) ; **¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C)**: $\delta = 8.12-8.10$ (m, 2H, H_{arom}), 7.63-7.29 (m, 8H, H_{arom}), 5.90-5.78 (m, 1H, OCH₂CHCH₂), 5.59 (s, 1H, PhCH), 5.33-5.26 (m, 1H, OCH₂CHCH₂), 5.23 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 3.8$ Hz, $H-1$), 5.15-5.10 (m, 1H, OCH₂CHCH₂), 5.04 (dd, 1H, $^3J_{3,4} = 9.6$, $H-3$), 4.42 (dd, 1H, $^3J_{5,6a} = 4.7$ et $^3J_{6a,6b} = 10.2$ Hz, $H-6a$), 4.33 (td, 1H, $^3J_{2,3} = 9.6$ Hz et $^3J_{2,OH} = 2.1$ Hz, $H-2$), 4.25-4.19 (m, 1H, OCH₂CHCH₂), 4.04-3.95 (m, 2H, OCH₂CHCH₂ et $H-5$), 3.76 (t, 1H, $^3J_{5,6b} = 10.2$ Hz, $H-6b$), 3.64 (t, 1H, $^3J_{4,5} = 9.6$ Hz, $H-4$), 2.63 ppm (d, 1H, $^3J_{H-2,OH} = 3.0$ Hz, OH-2) ; **¹³C RMN (CDCl₃, 75 MHz)**: $\delta = 166.2$ (COPh), 137.0 (C_{q-arom}), 133.3 (-CH=CH₂), 129.9-126.3 (C_{arom}), 117.6 (-CH=CH₂), 102.0 (PhCH), 95.9 (C-1), 81.4 (C-5), 73.9 (C-3), 68.8 (C-4), 68.8 (C-2), 68.7 (OCH₂CH=CH₂), 62.3 ppm (C-6). **ESI⁺-HRMS**: *m/z* calculée pour C₂₃H₂₅O₇ [M + Na]⁺ : 413.15948 ; trouvée : 413.15984.

2,3-Di-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidène- α -D-glucopyranoside d'allyle (36)



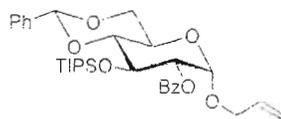
²²¹ Mehta, S., Jordan, K. L.; Weimar, T. Kreis, U. C.; Batchelor, R. J.; Einstein, F. W. B. and Pinto, B. M., *Tetrahedron-Asymmetr.*, **1994**, *5*, 2367-2396.

Méthode 1 :

Lors de la benzoylation du benzyldène **33** par la méthode 2. Le 2,3-dibenzoylé **36** est isolé avec un rendement de 23% (226 mg, 0.42 mmol).

Méthode 2 :

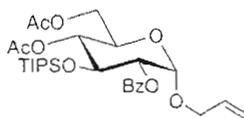
Le benzyldène **33** (308 mg, 1.00 mmol, 1.00 éq.) est di-benzoylé par la même procédure que lors de la synthèse du composé **23**. Le composé **36** est obtenu après la purification sur gel de silice avec un rendement de 99% (511 mg, 0.99 mmol) sous la forme d'un solide blanc. Pf : 164-166 °C (EtOH 100%) ; $R_f = 0.56$, toluène/AcOEt 9 : 1 ; $[\alpha]_D^{24} +22$ ($c=1.0$, CHCl₃) (Litt.²²⁰ +19 à 20 °C) ; ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C) : $\delta = 8.06-8.01$ (m, 4H, H_{arom}), 7.56-7.34 (m, 11H, H_{arom}), 6.16 (t, 1H, $^3J_{3,4} = ^3J_{2,3} = 9.6$ Hz, $H-3$), 5.94-5.81 (m, 1H, CH=CH₂), 5.61 (s, 1H, PhCH), 5.38-5.30 (m, 3H, H-1, H-2 et CH=CH₂), 5.21-5.16 (m, 1H, CH=CH₂), 4.41 (dd, 1H, $^3J_{6a,6b} = 4.8$ Hz et $^3J_{5,6} = 10.2$ Hz, $H-6a$), 4.32-4.04 (m, 3H, $H-5$ et OCH₂), 3.99-3.86 ppm (m, 2H, $H-4$ et $H-6b$) ; ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) : $\delta = 166.0$, 165.6 (COPh), 136.9-126.1 (C_{arom} et CH=CH₂), 117.8 (CH=CH₂), 101.6 (PhCH), 96.0 (C-1), 79.5 (C-5), 72.4 (C-3), 69.6 (C-4), 68.9 (OCH₂), 68.8 (C-2), 62.8 ppm (C-6). ESI⁺-HRMS : m/z calculée pour C₃₀H₂₉O₈ [M + H]⁺ : 517.18569 ; trouvée : 517.18530 ; m/z calculée pour C₃₀H₂₈O₈Na [M + Na]⁺ : 539.16764 ; trouvée : 539.16723.

2-O-Benzoyl-4,6-O-benzyldène-3-O-triisopropylsilyl- α -D-glucopyranoside d'allyle (37)

À une solution du composé **34** (1.00 g, 2.42 mmol, 1.00éq.) dissout dans du dichlorométhane distillé (30 mL) sont ajoutés de la 2,6-lutidine 99% (460 μ L, 3.87 mmol, 1.6 éq.) et du triisopropylsilyle trifluorométhanesulfonate (TIPSOTf) (805 μ L, 2.90 mmol, 1.20 éq.) sous atmosphère inerte à 0 °C. Le milieu réactionnel est agité à 0 °C pendant 1h. puis à température ambiante pendant 24h. Le milieu réactionnel est versé dans l'eau glacée, lavée avec des solutions aqueuses saturées de NaHCO₃, NaCl, séché sur Na₂SO₄, filtré et

concentré. Le composé **37** est purifié par chromatographie sur gel de silice (toluène 100% à toluène/AcOEt 99 : 1) conduisant au composé désiré sous la forme d'un solide semi-cristallin avec un rendement de 90% (1.23 g, 2.18 mmol). $R_f = 0.64$, toluène/AcOEt 95 : 5 ; $[\alpha]_D^{24} +80$ ($c=1.0$, CHCl_3) ; $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25 °C): $\delta = 8.11-8.01$ (m, 2H, H_{arom}), 7.62-7.36 (m, 8H, H_{arom}), 5.89-5.76 (m, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.54 (s, 1H, PhCH), 5.32-5.25 (m, 1H, CHCH_2), 5.16-5.10 (m, 3H, $\text{CH}=\text{CH}_2$, $H-1$ et $H-2$), 4.54 (t, 1H, $^3J_{2,3} = ^3J_{3,4} = 8.9$ Hz, $H-3$), 4.31 (dd, 1H, $^3J_{6a,6b} = 4.8$ Hz, $^3J_{5,6} = 10.1$ Hz, $H-6a$), 4.25-4.18 (m, 1H, OCH_2), 4.03-3.95 (m, 2H, OCH_2 et $H-5$), 3.80 (t, 1H, $H-6b$), 3.61 (t, 1H, $H-4$), 0.94-0.89 ppm (m, 21H, H_{TIPS}) ; $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 166.1$ (COPh), 137.2-126.3 (C_{arom} et $\text{CH}=\text{CH}_2$), 117.2 ($\text{CH}=\text{CH}_2$), 102.2 (PhCH), 96.1 ($C-1$), 82.6 ($C-5$), 74.8 ($C-3$), 69.9 ($C-4$), 69.0 ($C-2$), 68.5 (OCH_2), 62.6 ($C-6$), 18.0, 17.9, 17.7 (CH_3 -TIPS), 12.5, 12.3 ppm (CH -TIPS). **ESI⁺-HRMS** : m/z calculée pour $\text{C}_{32}\text{H}_{44}\text{O}_7\text{SiNa}$ [$\text{M} + \text{Na}$]⁺ : 591.27485 ; trouvée : 591.27472.

4,6-Di-*O*-acétyl-2-*O*-benzoyl-3-*O*-triisopropylsilyl- α -D-glucopyranoside d'allyle (**38**)

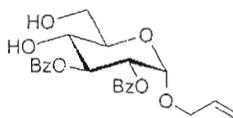


À une solution du benzylidène **37** (760 mg, 1.34 mmol, 1.00 éq.) dissout dans un mélange de MeOH/dioxane 1 : 1 (24 mL) est ajouté de l'acide *p*-toluènesulfonique monohydraté ($p\text{TSOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$, 98.5%) (26 mg, 0.13 mmol, 0.10 éq.). Le milieu réactionnel est chauffé à 85 °C. L'avancement de la réaction est suivi par CCM ($R_f = 0.28$, hexane/AcOEt 2 : 1). Après 6h. le milieu réactionnel est neutralisé par ajout d' Et_3N (20 μL) puis dilué avec de l'acétate d'éthyle. Le solvant est ensuite évaporé et le résidu obtenu est utilisé directement pour l'étape suivante.

Le diol est acétylé dans la condition standard (voir le composé **13**). Le 4,6-diacétyl **38** est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/AcOEt 4 : 1) conduisant au composé désiré sous la forme d'une huile jaunâtre avec un rendement de 82% (620 mg, 1.10 mmol). $R_f = 0.68$, hexane/AcOEt 2 : 1 ; $[\alpha]_D^{24} +104$ ($c=1.0$, CHCl_3) ; $^1\text{H RMN}$ (300 MHz,

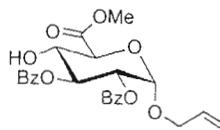
CDCl₃, 25 °C): δ = 8.08-8.04 (m, 2H, H_{arom}), 7.62-7.43 (m, 3H, H_{arom}), 5.87-5.74 (m, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.30-5.23 (m, 1H, CHCH_2), 5.16-5.03 (m, 4H, $\text{CH}=\text{CH}_2$, $H-1$, $H-2$ et $H-4$), 4.54 (t, 1H, $^3J_{2,3} = ^3J_{3,4} = 8.9$ Hz. $H-3$), 4.23-4.08 (m, 3H, $H-6a$, OCH_2), 4.00-3.94 (m, 2H, $H-5$ et $H-6b$), 2.13, 2.10 (2 x s, 6H, 2 x COCH_3), 1.00-0.94 ppm (m, 21H, H_{TIPS}); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃):** δ = 170.8, 169.5 (COCH_3), 166.0 (COPh), 133.4-128.3 (C_{arom} et $\text{CH}=\text{CH}_2$), 117.2 ($\text{CH}=\text{CH}_2$), 95.1 ($C-1$), 74.4 ($C-5$), 71.8 ($C-3$), 70.4 ($C-4$), 68.5 (OCH_2), 67.9 ($C-2$), 62.6 ($C-6$), 21.0, 20.8 (COCH_3), 17.9, 17.9 ($\text{CH}_3\text{-TIPS}$), 13.1 ppm (CH-TIPS). **ESI⁺-HRMS :** m/z calculée pour $\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{O}_9\text{SiNa}$ [$\text{M} + \text{Na}$]⁺ : 587.26468 ; trouvée : 587.26363 ; m/z calculée pour $\text{C}_{29}\text{H}_{45}\text{O}_9\text{Si}$ [$\text{M} + \text{H}$]⁻ : 565.28274 ; trouvée : 565.28300.

2,3-Di-*O*-benzoyl- α -D-glucopyranoside d'allyle (39)



Le diol **39** (900 mg, 1.74 mmol, 1.00 éq.) est synthétisé selon la même procédure que pour l'obtention du composé **38** (première étape). Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (en gradient de hexane/AcOEt 2 : 1 à 1 : 1) conduisant au diol **39** désiré sous forme d'une huile incolore avec un rendement de 99% (743 mg, 1.73 mmol). $R_f = 0.27$, hexane/AcOEt 1 : 1 ; $[\alpha]_D^{24} +149$ ($c=1.0$, CHCl_3); **¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 22 °C):** δ = 7.95-7.92 (m, 4H, H_{arom}), 7.49-7.28 (m, 6H, H_{arom}), 5.87-5.73 (m, 2H, $\text{CH}=\text{CH}_2$ et $H-3$), 5.38-5.01 (m, 4H, $H-1$, $H-2$ et $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.21-5.16 (m, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 4.41-3.89 (m, 5H, $H-4$, $H-5$, $H-6a$, $H-6b$ et $H-5$), 3.48 (sl, 1H, OH), 2.44 ppm (sl, OH); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃):** δ = 167.3, 166.0 (COPh), 133.4 ($\text{CH}=\text{CH}_2$), 133.2-128.4 (C_{arom}), 117.7 ($\text{CH}=\text{CH}_2$), 95.2 ($C-1$), 74.2 ($C-5$), 71.5 ($C-3$), 69.6 ($C-4$), 68.6 (OCH_2), 66.0 ($C-2$), 61.9 ppm ($C-6$). **ESI⁺-HRMS :** m/z calculée pour $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{O}_8\text{Na}$ [$\text{M} + \text{Na}$]⁺ : 451.13634 ; trouvée : 451.13537.

Méthyl 2,3-di-*O*-benzoyl- α -D-glucopyranosyluronate d'allyle (40)

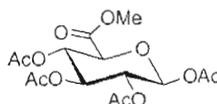


À une solution du diol **39** (535 mg, 1.25 mmol, 1.00 éq.) dissout dans un mélange du dichlorométhane/eau 3 : 1 (24 mL), sont ajoutés du 2,2,6,6-tétraméthylpipéridine-1-oxyle (radical TEMPO - 40 mg, 0.25 mmol, 0.2 éq.) et du bisacétoxyiodobenzène (BAIB - 1 g, 3.12 mmol, 2.5 éq.). Le mélange est agité vigoureusement pendant 30 minutes à température ambiante. La réaction est arrêtée par ajout d'une solution de thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2\text{O}_3\text{S}_2$ 1M, 30 mL). La phase aqueuse est acidifiée avec de l'HCl 1M, puis extraite 3 fois avec du dichlorométhane. La phase organique est séchée sur Na_2SO_4 , filtrée et concentrée. L'acide 2,3-di-*O*-benzoyl- α -D-glucopyranosyluronique d'allyle est purifié par chromatographie sur gel de silice ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{AcOH}$ 9:1:0.01), et directement engagé dans l'étape suivante.

L'intermédiaire l'acide est solubilisé dans l'acétonitrile (20 mL) en présence de K_2CO_3 (190 mg, 1.38 mmol, 1.10 éq.). De l'iodométhane (3.15 mL, 50.00 mmol, 40.00 éq.) est ajouté au milieu réactionnel. Après 8h sous agitation à température ambiante, le précipité formé est filtré et lavé avec du dichlorométhane et de l'acétonitrile. Le composé **40** contenu dans le filtrat, est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/AcOEt 2:1) conduisant au méthyle ester **40** désiré sous la forme d'une huile incolore avec un rendement global de 47% sur 2 étapes (269 mg, 0.59 mmol). $R_f = 0.32$ (hexane/AcOEt 2:1) ; $[\alpha]_D^{21} +129$ ($c=1.0$, CHCl_3) ; $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , 22 °C) : $\delta = 8.02\text{-}7.97$, $7.55\text{-}7.49$ et $7.41\text{-}7.38$ (m, 10H, $H_{\text{arom.}}$), $5.93\text{-}5.78$ (m, 2H, $H\text{-}3$ et $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 5.37 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 3.6$ Hz, $H\text{-}1$), 5.27 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 10.1$ Hz, $H\text{-}2$), $5.35\text{-}5.33$, $5.29\text{-}5.28$ et $5.19\text{-}5.14$ (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 4.44 (d, 1H, $^3J_{4,5} = 9.9$ Hz, $H\text{-}5$), $4.34\text{-}4.28$ (m, 1H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 4.20 (td, 1H, $^3J_{3,4} = 9.6$ et $^3J_{1,\text{OH}} = 3.9$ Hz, $H\text{-}4$), $4.17\text{-}4.06$ (m, 1H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 3.88 (s, 3H, CO_2CH_3), 3.40 ppm (d, 1H, $\text{OH}\text{-}4$) ; $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3) : $\delta = 170.2$ (CO_2CH_3), 166.6 et 165.8 (COPh), $133.4\text{-}128.3$ ($\text{C}_{\text{arom.}}$ et $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 118.1 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 95.5 ($\text{C}\text{-}1$), 72.4 ($\text{C}\text{-}5$), 70.9 ($\text{C}\text{-}3$), 70.7 ($\text{C}\text{-}4$), 70.6 ($\text{C}\text{-}2$), 69.0 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 52.9 (CO_2CH_3).

ESI⁺-HRMS : m/z calculée pour C₂₄H₂₄O₉Na [M + Na]⁻ : 479.13125 ; trouvée : 479.13138 ;
 m/z calculée pour C₂₄H₂₅O₉ [M + H]⁻ : 457.14931 ; trouvée : 457.14833.

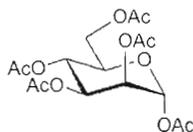
Méthyl 1,2,3,4-tétra-O-acétyl-β-D-glucopyranosyluronate (41)



À une suspension de D(+)-glucurono-3,6-lactone (21.50 g, 120.0 mmol, 1.00 éq.) dissout dans du MeOH sec, est ajouté du *N,N*-diméthyléthylamine (Me₂EtN) (500 μL) sous atmosphère inerte. Le mélange est agité à température ambiante jusqu'à solubilisation complète (environ 30 min.). L'avancement de la réaction est suivi par CCM ($R_f = 0.45$, CH₃CN/H₂O 9 : 1). Après 24h, le milieu réactionnel est concentré. Le résidu obtenu est utilisé directement sans purification.

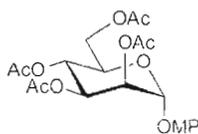
L'intermédiaire précédente est acétylé dans l'anhydride acétique (130 mL) en présence d'acétate de sodium (10.50 g, 130.00 mmol, 1.08 éq.). Le mélange est agité à température ambiante pendant 8 jours, puis le milieu réactionnel est ensuite versé dans l'eau glacée (500 mL) et agité puis décanté (3x). Le précipité est extrait avec du dichlorométhane, lavé avec des solutions aqueuses saturées de NaHCO₃ et de NaCl, puis la phase organique est séchée et concentrée. Le composé **41** est purifié par chromatographie sur gel de silice (avec gradient de hexane/AcOEt 3 : 2 à 1 : 1) conduisant au composé désiré sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 66% (29.63 g, 79.20 mmol). Pf: 175.5-176.5 °C (EtOH absolu) ; $R_f = 0.26$. hexane/AcOEt 3 : 2 ; $[\alpha]_D^{24} -20$ ($c=1.0$, CHCl₃) ; **¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆, 25 °C)**: δ = 6.02 (d, 1H, ³ $J_{1,2} = 8.1$ Hz, *H*-1), 5.51 (t, 1H, ³ $J_{2,3} = ^3J_{3,4} = 9.4$ Hz, *H*-3), 5.01 (t, 1H, ³ $J_{4,5} = ^3J_{3,4} = 9.4$ Hz, *H*-4), 4.97 (dd, 1H, *H*-2), 4.67 (d, ³ $J_{4,5} = 9.4$ Hz, *H*-5), 3.63 (s, 3H, OCH₃), 2.08-1.97 ppm (4s, 12H, COCH₃) ; **¹³C RMN (75 MHz, DMSO-*d*₆)**: δ = 169.4, 169.3, 169.0, 168.7 (COCH₃), 166.9 (CO₂CH₃), 90.6 (C-1β), 71.3 (C-5), 70.8 (C-3), 69.8 (C-4), 68.8 (C-2), 52.6 (CO₂CH₃), 20.4, 20.3, 20.3, 20.2 ppm (COCH₃). **ESI⁺-HRMS** : m/z calculée pour C₁₅H₂₀O₁₁Na [M + Na]⁻ : 399.08978 ; trouvée : 399.08885.

1,2,3,4,6-Penta-*O*-acetyl- α -D-mannopyranose (**43**)¹³⁹



Du D-mannose **42** (10.00 g, 55.50 mmol, 1.00 éq.) est per-*O*-acétylé selon la même procédure que le composé **13** en changeant le ratio du mélange anhydride acétique/pyridine (1 : 1). Le composé **43** cristallisé dans l'éther de pétrole, est obtenu avec un rendement de 99% sous la forme de cristaux blancs (21.45 g, 54.95 mmol). Pf : 64-65 °C (Litt.²⁰⁶ 64 °C, H₂O) ; $[\alpha]_D^{24} +55$ ($c=1.0$, CHCl₃)²⁰⁶ ; ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ = 6.07 (d, 1H, ³J_{1,2} = 1.9 Hz, *H*-1 α), 5.33 (m, 2H, *H*-3, *H*-4), 5.24 (dd, 1H, ³J_{2,3} = 2.2 Hz, *H*-2), 4.27 (dd, 1H, ³J_{6a,6b} = 4.8 Hz, ³J_{5,6} = 12.4 Hz, *H*-6a), 4.80 (m, 2H, *H*-6b, *H*-5), 2.16, 2.153, 2.08, 2.04, 1.99 ppm (5 x s, 15 H, COCH₃) ; ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 170.6, 169.9, 169.7, 169.5, 168.0 (COCH₃), 90.5 (C-1), 70.5 (C-5), 68.7 (C-3), 68.3 (C-2), 65.4 (C-4), 62.0 (C-6), 20.8, 20.7, 20.6, 20.6 ppm (COCH₃).

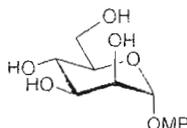
2,3,4,6-Tétra-*O*-acétyl- α -D-mannopyranoside de 4-méthoxyphényle (**44**)



À une solution de composé **43** (15.00 g, 38.43 mmol, 1.00 éq.) et de *p*-méthoxyphénole (9.54 g, 76.86 mmol, 2.00 éq.) dissous dans du dichlorométhane distillé est ajouté goutte à goutte de l'acide trifluorométhanesulfonique (TfOH, 510 μ L, 5.76 mmol, 0.15 éq.) à 0 °C sous atmosphère inerte. Le milieu réactionnel est agité à 0 °C pendant 15 min, puis à température ambiante jusqu'à la disparition du produit de départ (6h30). Le milieu réactionnel est ensuite dilué dans du dichlorométhane, lavé avec des solutions aqueuses saturées de NaHCO₃, NaCl, puis la phase organique est séchée, filtrée et concentrée. L' α -*p*-méthoxyphénylmannopyranoside **44** est purifié par chromatographie sur gel de silice (en

gradient hexane/AcOEt 2 : 1 puis 3 : 2) conduisant au composé désiré sous la forme d'un solide cristallin blanc avec un rendement de 95% (16.59 g, 36.51 mmol). Pf : 98-101 °C (CH₂Cl₂ ou CH₂Cl₂/EP) ; *R_f* = 0.40, hexane/AcOEt 3 : 2 ; $[\alpha]_D^{24} +65$ (*c*=1.0, CHCl₃) [Litt.²²² $[\alpha]_D^{24} +70$ (*c*=3.0, CHCl₃)] ; ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C) : δ = 7.01-6.97 (m, 2H, *H*_{arom}), 6.83-6.79 (m, 2H, *H*_{arom}), 5.52 (dd, 1H, ³*J*_{2,3} = 3.4 Hz, ³*J*_{3,4} = 10.0 Hz, *H*-3), 5.44 (dd, 1H, ³*J*_{1,2} = 1.8 Hz, ³*J*_{2,3} = 3.4 Hz, *H*-2), 5.41 (d, 1H, ³*J*_{1,2} = 1.8 Hz, *H*-1), 5.33 (t, 1H, ³*J*_{3,4} = ³*J*_{4,5} = 9.9 Hz, *H*-4), 4.26 (dd, 1H, *J*_{6a,6b} = 11.8 Hz, *J*_{5,6} = 5.0 Hz, *H*-6a), 4.12 (m, 1H, *H*-5), 4.08 (m, 1H, *H*-6b), 3.74 (s, 3H, OCH₃), 2.16, 2.03, 2.02, 2.00 ppm (4s, 4x3H, COCH₃) ; ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) : δ = 170.4, 169.8, 169.8, 169.6 (COCH₃), 155.3, 149.5 (*C*_{q-arom}), 117.7, 114.5 (*C*_{arom}), 96.5 (*C*-1), 69.3 (*C*-5), 68.9 (*C*-3), 68.8 (*C*-2), 65.9 (*C*-4), 62.1 (*C*-6), 55.5 (OCH₃), 20.7-20.5 ppm (COCH₃). ESI⁺-MS : *m/z* calculée pour C₂₁H₂₆O₁₁Na [M + Na]⁺ : 477.13673 ; trouvée : 477.13580 ; *m/z* calculée pour C₂₁H₂₇O₁₁ [M + H]⁺ : 455.15479 ; trouvée : 455.15415.

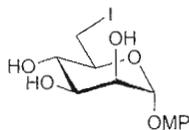
α-D-mannopyranoside de 4-méthoxyphényle (45)



Le tétra-*O*-acétyl **44** (10.00 g, 22.00 mmol, 1.00 éq.) est dé-*O*-acétylé dans les conditions de zemplén (*Protocole I*), conduisant au tétra-ol **45** désiré avec un rendement de 99% sous la forme d'un solide cristallin blanc (6.24 g, 21.78 mmol). Pf : 148-150 °C (MeOH ou H₂O ou EtOH/EP) ; *R_f* = 0.47, CH₃CN/H₂O 9 : 1 ; $[\alpha]_D^{25} +116$ (*c*=1.0, MeOH) ; ¹H RMN (300 MHz, D₂O, 21.5 °C) : δ = 7.06-6.88 (m, 4H, *H*_{arom}), 5.43 (sl, 1H, *H*-1), 4.13 (sl, 1H, *H*-2), 4.01-3.99 (m, 1H, *H*-3), 3.80-3.71 (m, 7H, *H*-4, *H*-5, *H*-6a, *H*-6b et OCH₃) ; ¹³C RMN (75 MHz, D₂O) : δ = 154.2, 149.3 (*C*_{q-arom}), 118.3, 114.6 (*C*_{arom}), 98.8 (*C*-1), 73.0(*C*-5), 70.1 (*C*-3), 69.6 (*C*-2), 66.2 (*C*-4), 60.3 (*C*-6), 55.3 ppm (OCH₃). ESI⁺-HRMS : *m/z* calculée pour C₁₃H₁₈O₇Na [M + Na]⁺ : 309.09447 ; trouvée : 309.09448.

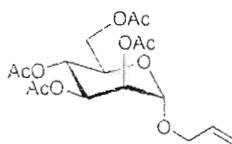
²²² Masato, M.; Yukishige, I. and Tomoya, O. *Carbohydr. Res.*, **1989**, *192*, 131-146.

6-Deoxy-6-iodo- α -D-mannopyranoside de 4-méthoxyphényle (46)



Une solution du tétraol **45** (3.00 g, 10.48 mmol, 1.00 éq.) dissout dans du THF distillé (80 mL) est portée à reflux. À cette solution sont ajoutés de la triphénylphosphine (PPh_3 , 5.500 g, 20.96 mmol, 2.00 éq.), de l'imidazole (1.780 g, 26.20 mmol, 2.50 éq.) puis une solution d' I_2 (5.320 g, 20.96 mmol, 2.00 éq.) dissout dans du THF distillé (40 mL) est ajouté goutte à goutte. Le milieu réactionnel est agité à reflux pendant 1h. L'oxyde de triphénylphosphine formé est séparé par filtration. Le filtrat est alors concentré et le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (en gradient de CHCl_3 100% à $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 95 : 5) conduisant au composé iodure **46** désiré sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 93% (3.85 g, 9.75 mmol). Pf : 133-135 °C (CHCl_3 ou EtOH/EP) ; R_f = 0.29, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9 : 1 ; $[\alpha]_{\text{D}}^{24} +14$ ($c=1.0$, MeOH) ; $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CD_3OD , 25 °C) : δ = 7.09-6.82 (m, 4H, H_{arom}), 5.33 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.8$ Hz, $H-1$), 3.99 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.6$ Hz, $H-2$), 3.89-3.85 (m, 1H, $H-3$), 3.75 (s, 3H, OCH_3), 3.60-3.54 et 3.29-3.27 (m, 4H, $H-4$, $H-5$, $H-6a$ et $H-6b$) ; $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CD_3OD) : δ = 156.6, 151.9 ($C_{\text{q-arom}}$), 119.3, 115.5 (C_{arom}), 101.1 ($C-1$), 74.6 ($C-5$), 72.5 ($C-3$), 72.1 ($C-2$), 72.0 ($C-4$), 56.0 (OCH_3), 6.2 ppm ($C-6$). **ESI⁺-HRMS** : m/z calculée pour $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{IO}_6$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 397.01426 ; trouvée : 397.01301.

2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- α -D-mannopyranoside d'allyle (47)

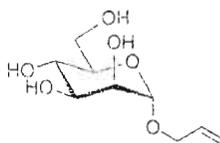


À une solution du D-mannose **42** (7.28 g, 40.00 mmol, 1.00 éq.) dissout dans l'alcool allylique distillé (40 mL), est ajouté une quantité catalytique de résine Amberlite IR-120

(H⁺). Le milieu réactionnel est porté à reflux pendant 7h ($R_f = 0.38$, CH₃CN/H₂O 9 : 1). La résine H⁺ est séparée par filtration. Après évaporation du filtrat, le résidu obtenu est directement engagé dans l'étape suivante sans purification supplémentaire.

Afin de faciliter la purification et l'isolation du D-mannopyranoside d'allyle **48**, le résidu précédent est per-*O*-acétylé en présence d'acétate de sodium 99% (3.65 g, 44.00 mmol, 1.10 éq.) dans l'anhydride acétique à reflux pendant 20 min selon la même procédure que pour la synthèse du composé **14**. Le composé **47** est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/AcOEt 2 : 1) conduisant au composé désiré sous la forme d'un solide blanc avec un rendement global sur 2 étapes de 80% (12.43 g, 32.00 mmol). Pf: 53-54 °C ; $R_f = 0.62$, hexane/AcOEt 1 : 1 ; $[\alpha]_D^{24} +50.4$ ($c=0.26$, CHCl₃)²²³ ; ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C): $\delta = 5.91-5.78$ (m, 1H, OCH₂CHCH₂), 5.34-5.17 (m, 5H, H-2, H-3, H-4 et CH=CH₂), 4.82 (d, 1H, ³J_{1,2} = 1.6 Hz, H-1), 4.23 (dd, 1H, ³J_{5,6} = 12.2 Hz, ³J_{6a,6b} = 5.3 Hz, H-6a), 4.18-4.10 (m, 1H, OCH₂), 4.05 (dd, 1H, H-6b), 4.02-3.93 (m, 2H, H-5 et OCH₂), 2.10, 2.05, 1.99, 1.94 ppm (4s, 12H, COCH₃) ; ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃): $\delta = 170.4$, 169.8, 169.6, 169.5 (COCH₃), 132.8 (CH=CH₂), 118.2 (CH=CH₂), 96.4 (C-1), 69.4 (C-5), 68.9 (C-3), 68.4 (C-2), 68.4 (OCH₂CH=CH₂), 66.0 (C-4), 62.3 (C-6), 20.7, 20.5, 20.5, 20.5 ppm (COCH₃). ESI⁺-MS : m/z calcd pour C₁₇H₂₄O₁₀Na [M + Na]⁺ : 411.12617 ; trouvée : 411.12526.

α -D-mannopyranoside d'allyle (**48**)²²⁴



Le composé **47** (3.88 g, 10.00 mmol, 1.00 éq.) est dé-*O*-acétylé selon les conditions Zemplén (*Protocole I*), conduisant au composé désiré **48** avec un rendement quantitatif sous la forme d'une poudre blanche (2.20 g, 10.00 mmol). Pf: 98-99 °C²²⁵ ; $R_f = 0.51$,

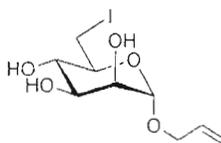
²²³ Martin, A.; Quintanal, L. M.; Suarez, E., *Tetrahedron Lett.*, **2007**, *48*, 5507-5511.

²²⁴ Winnik, F. M.; Carver, J. P.; Krepinsky, J. J., *J. Org. Chem.*, **1982**, *47*, 2701-2707.

²²⁵ Boss, R. and Scheffold, R., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1976**, *88*, 578-579.

CH₃CN/H₂O 9 : 1 ; $[\alpha]_D^{25} +116$ ($c=1.0$, MeOH) (Litt.²²⁶ +99, H₂O) ; **¹H RMN (300 MHz, D₂O, 22 °C)**: $\delta = 6.13-5.84$ (m, 1H, CH=CH₂), 5.10-5.27 (m, 2H, CH=CH₂), 4.92 (sl, 1H, H-1), 4.28-4.22 et 4.11-4.05 (m, 2H, OCH₂), 3.95-3.66 ppm (m, 6H, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6a et H-6b) ; **¹³C RMN (75 MHz, D₂O + acétone)**: $\delta = 133.9$ (CH=CH₂), 119.1 (CH=CH₂), 99.6 (C-1), 73.4 (C-5), 71.2 (C-3), 70.7 (C-2), 68.7 (OCH₂CH=CH₂), 67.4 (C-4), 61.5 ppm (C-6). **ESI⁺-HRMS**: m/z calculée pour C₉H₁₆O₆Na [M + Na]⁺ : 243.08391 ; trouvée : 243.08363.

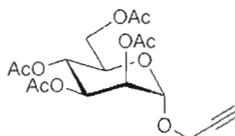
6-Deoxy-6-iodo- α -D-mannopyranoside d'allyle (49)



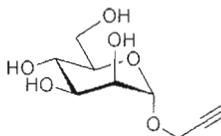
L'iodure **49** est synthétisé dans les mêmes conditions que le composé **46** à partir du tétra-ol **48** (2.20 g, 10.00 mmol, 1 éq.). Le 6-iodure **49** est obtenu après purification par chromatographie sur gel de silice (CHCl₃/MeOH 9 : 1) sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 98% (3.24 g, 9.80 mmol). $R_f = 0.25$, CHCl₃/MeOH 9 : 1 ; $[\alpha]_D^{24} +58$ ($c=1.0$, MeOH) ; **¹H RMN (300 MHz, D₂O, 21 °C)**: $\delta = 5.912-5.79$ (m, 1H, CH=CH₂), 5.26-5.09 (m, 2H, CH=CH₂), 4.69 (d, 1H, ³J_{1,2} = 1.8 Hz, H-1), 4.25-4.18 et 3.98-3.91 (m, 2H, OCH₂), 3.71 (dd, 1H, ³J_{2,3} = 3.6 Hz, ³J_{1,2} = 1.8 Hz, H-2), 3.60-3.43 (m, 2H, H-3 et H-4), 3.43-3.32 et 3.32-3.11 ppm (m, 3H, H-5, H-6a et H-6b) ; **¹³C RMN (75 MHz, DMSO-*d*₆)**: $\delta = 125.7$ (CH=CH₂), 108.1 (CH=CH₂), 91.1 (C-1), 64.9 (C-5), 63.0 (C-3), 62.8 (C-2), 62.6 (OCH₂), 59.3 (C-4), 3.0 ppm (C-6). **ESI⁺-HRMS** : m/z calculée pour C₉H₁₅I O₅Na [M + Na]⁺ : 352.98564 ; trouvée : 352.98563.

²²⁶ Talley, E. A.; Vale, M. D. and Yanovsky, E.. *J. Am. Chem. Soc.* **1945**, *67*, 2037-2039.

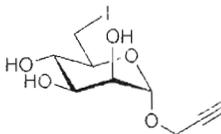
2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- α -D-mannopyranoside de prop-2-ynyle (50)



À une solution du per-*O*-acétate **43** (2.50 g, 6.40 mmol, 1.00 éq.) dissout dans du dichlorométhane distillé (50 mL), est ajouté goutte à goutte l'acide de Lewis $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (1.5 mL, 11.90 mmol, 1.9 éq.) à 0 °C et sous atmosphère d'azote. La solution est agitée pendant 4h, puis de l'alcool propargylique (1.5 mL, 25.60 mmol, 4.00 éq.) est ajouté à la solution à température ambiante. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant la nuit. Le milieu réactionnel est dilué dans du dichlorométhane, lavé avec une solution aqueuse de Na_2CO_3 20% (150 mL), à l'eau (100 mL). La phase organique est séchée, filtrée et concentrée. Le propargylé **50** est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/AcOEt 2 : 1) conduisant au composé désiré sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 95% (2.34g, 6.08 mmol). Pf: 99-100 °C (CH_2Cl_2 ou $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EP}$) (Litt.¹⁴⁴ 99-100 °C) ; $R_f = 0.19$, hexane/AcOEt 2 : 1 ; $R_f = 0.40$, hexane/AcOEt 3 : 2 ; $[\alpha]_D^{20.7} +61$ ($c=2.0$, CHCl_3) [Litt.²¹¹ $[\alpha]_D^{22} +61$ ($c=2.0$, CHCl_3)] : $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25 °C): $\delta = 5.31$ (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.4$ Hz, $^3J_{3,4} = 10.0$ Hz, $H-3$), 5.26 (t, 1H, $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 10.0$ Hz, $H-4$), 5.23 (dd, 1H, $^3J_{1,2} = 1.7$ Hz, $^3J_{2,3} = 3.4$, $H-2$), 4.99 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.7$ Hz, $H-1$), 4.24 (dd, 1H, $^3J_{6a,6b} = 5.2$ Hz, $^3J_{5,6} = 12.2$ Hz, $H-6a$), 4.24 (d, 2 H, $^4J_{H-1',H-2'} = 2.4$ Hz, $H-1'$), 4.07 (dd, 1 H, $^3J_{6a,6b} = 2.5$ Hz, $H-6a$), 4.00 (ddd, 1H, $H-5$), 2.44 (t, 1H, $^4J_{H-1',H-2'} = 2.4$ Hz, $H-2'$), 2.12, 2.07, 2.01, 1.96 ppm (4 x s, 12H, COCH_3) ; $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 170.5$, 169.9, 169.7, 169.6 (COCH_3), 96.1 (C-1), 77.8 (C-2'), 75.5 (C-1'), 69.2 (C-5), 68.9 (C-3), 68.8 (C-2), 65.9 (C-4), 62.2 (OCH_2), 54.9 (C-6), 20.8, 20.7, 20.6, 20.6 ppm (COCH_3). **ESI⁺-HRMS** : m/z calculée pour $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{O}_{10}\text{Na}$ [$\text{M} + \text{Na}$]⁻ : 409.11052 ; trouvée : 409.11004.

α -D-mannopyranoside de prop-2-ynyle (51)²²⁷

Le composé **50** (2.00 g, 5.18 mmol, 1.00 éq.) est dé-*O*-acétylé dans les conditions de zemplén (*Protocole D*), conduisant au composé désiré **51** avec un rendement quantitatif sous la forme d'une poudre blanche (1.12 g, 10.00 mmol). Pf : 122-123 °C (EtOH)²²⁸ $R_f = 0.48$, CH₃CN/H₂O 9 : 1 ; ¹H RMN (300 MHz, D₂O, 22 °C): $\delta = 5.03$ (sl, 1H, *H*-1), 4.32 (m, 2H, OCH₂), 3.95-3.65 (m, 7H, *H*-2, *H*-3, *H*-4, *H*-5, *H*-6a, *H*-6b), 2.91 ppm (sl, 1H, *H*-2') ; ¹³C RMN (D₂O + acétone, 75 MHz): $\delta = 98.6$ (C-1), 77.9 (C-2'), 75.7 (C-1'), 72.6 (C-5), 70.0 (C-3), 69.4 (C-2), 66.1 (C-4), 60.3 (OCH₂), 54.1 ppm (C-6). ESI⁺-MS: m/z calculée pour C₉H₁₄O₆Na [M + Na]⁺ : 241.1 ; trouvée : 241.1.

6-Deoxy-6-iodo- α -D-mannopyranoside de prop-2-ynyle (52)

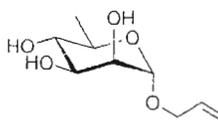
Le composé **52** est synthétisé dans les mêmes conditions que l'iodure **46** à partir du tétra-ol **51** (29 mg, 0.13 mmol, 1.00 éq.). L'iodure **52** est obtenu après purification par chromatographie sur gel de silice (CHCl₃/MeOH 9 : 1) sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 99% (33 mg, 0.13 mmol). $R_f = 0.24$, CHCl₃/MeOH 9 : 1 ; $[\alpha]_D^{24} +60$ ($c=1.0$, CHCl₃) ; ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C): $\delta = 5.06$ (sl, 1H, *H*-1), 4.59 (sl, 1H, OH), 4.51 (sl, 1H, OH), 4.36 (sl, 2H, OCH₂), 4.01 (sl, 2H, *H*-2 et OH), 3.84 (d, 1H, ³ $J_{3,4} = 9.3$

²²⁷ Hasegawa, T.; Numata, M.; Okumura, S.; Kimura, T.; Sakurai, K.; Shinkai, S. *Org. Biomol. Chem.*, **2007**, *5*, 2404-2412.

²²⁸ Van der Peet, P.; Gannon, C. T.; Walker, I.; Dinev, Z.; Angelin, M.; Tam, S.; Ralton, J. E.; McConville, M. J. and Williams, S. J., *ChemBioChem*, **2006**, *7*, 1384-1391.

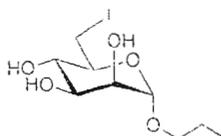
Hz, *H*-3), 3.61 (t, 2H, $^3J_{5,6} = 10$ Hz, *H*-6a,b), 3.50 (t, 1H, $^3J_{3,4} = 9.3$ Hz, *H*-4), 3.37 (t, 1H, $^3J_{5,6} = 10$ Hz, *H*-5), 2.57 ppm (sl, 1H, *H*-2'); ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 98.3$ (*C*-1), 78.6 (*C*-2'), 75.7 (*C*-1'), 71.9 (*C*-5), 71.5 (*C*-3), 71.3 (*C*-2), 70.7 (*C*-4), 54.7 (OCH_2), 7.0 ppm (*C*-6). **ESI⁺-HRMS**: *m/z* calculée pour $\text{C}_9\text{H}_{13}\text{IO}_5\text{Na}$ [$\text{M} + \text{Na}$]⁺ : 350.96999 ; trouvée : 350.96940.

α -D-Rhamnopyranoside d'allyle (53)



Le rhamnoside **53** (78 mg, 0.38 mmol) est obtenu avec un rendement de 84%, sous la forme d'une huile incolore, à partir du 6-iodure **49** (150 mg, 0.450 mmol) et dans les mêmes conditions que le composé **70**. $R_f = 0.60$, $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 9 : 1 ; $R_f = 0.30$, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9 : 1 ; $[\alpha]_{\text{D}}^{24} -4$ ($c=1.0$, MeOH) ; ^1H RMN (300 MHz, D_2O , 21.3 °C): $\delta = 6.04$ -5.91 (m, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.40-5.27 (m, 2H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 4.85 (sl, 1H, *H*-1), 4.26-4.19 et 4.10-4.04 (m, 2H, OCH_2), 3.95 (dd, 1H, $^3J_{1,2} = 1.7$ Hz, $^3J_{2,3} = 3.4$ Hz, *H*-2), 3.78-3.70 (m, 2H, *H*-3, *H*-5), 3.45 (t, 1H, $^3J_{4,5} = 9.6$ Hz, *H*-4), 1.3 ppm (d, 3H, $^3J_{3,6} = 6.3$ Hz, $^6\text{CH}_3$) ; ^{13}C RMN (75 MHz, D_2O + acétone): $\delta = 133.9$ ($\text{CH}=\text{CH}_2$), 119.2 ($\text{CH}=\text{CH}_2$), 99.7 (*C*-1), 72.7 (*C*-3), 70.9 (*C*-4), 70.8 (*C*-2), 69.3 (*C*-5), 68.9 ($\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 17.2 ppm (*C*-6). **ESI⁺-HRMS**: *m/z* calculée pour $\text{C}_9\text{H}_{16}\text{O}_5\text{Na}$ [$\text{M} + \text{Na}$]⁺ : 227.08899 ; trouvée : 227.08913.

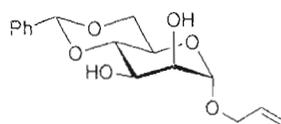
6-Deoxy-6-iodo- α -D-mannopyranoside de propyle (54)



À une solution du composé **52** (32 mg, 0.10 mmol, 1.00 éq.) dissout dans de l'éthanol absolu, sont ajoutés de la triéthylamine (3 gouttes) et d'une quantité catalytique du réactif de

« Lindlar ». Le milieu réactionnel est agité sous atmosphère d'hydrogène à température ambiante pendant une nuit. Le milieu réaction est filtré sur célite et concentré. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice (par gradient de $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 98 : 2 à 90 : 10) conduisant au composé **54** sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 91% (18 mg, 0.09 mmol). $R_f = 0.18$, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 94 : 6 ; $R_f = 0.43$, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9 : 1 ; $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, D_2O , 22.8 °C): $\delta = 4.86$ (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.6$ Hz, H-1), 3.95 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.3$ Hz, H-2), 3.83-3.34 (m, 7H, H-3, H-4, H-5, H-6a, H-6b et OCH_2), 1.63 (m, 2H, OCH_2CH_2), 0.94 ppm (t, $^3J_{\text{H,H}} = 7.4$ Hz, CH_2CH_3) ; $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, D_2O): $\delta = 99.4$ (C-1), 71.3 (C-5), 70.3 (C-3), 69.8 (C-2), 69.6 (C-4), 69.2 (OCH_2), 21.5 (CH_2CH_3), 9.5 (C-6), 5.6 ppm (CH_2CH_3). **ESI⁺-HRMS**: m/z calculée pour $\text{C}_9\text{H}_{17}\text{IO}_5\text{Na}$ [$\text{M} + \text{Na}$]⁺ : 355.00129 ; trouvée : 355.00055.

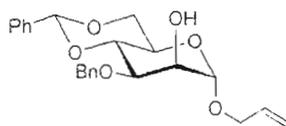
4,6-*O*-Benzylidène- α -D-mannopyranoside d'allyle (**55**)¹⁴⁶



À une solution, à 0 °C sous atmosphère d'azote, du composé **48** (1.37 g, 6.22 mmol, 1.00 équ.) et de diméthylacétate benzaldéhyde 99% (1.12 mL, 7.40 mmol, 1.19 équ.) dissous dans un mélange $\text{DMF}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (1 : 10, v/v, 30 mL), est ajoutée une solution de HBF_4 54% dans l'éther (30 mL, 10.57 mmol, 1.70 équ.). Le milieu réactionnel est agité à température ambiante et l'avancement de la réaction est suivi par CCM. Après 5h30, de la triéthylamine (1.73 mL, 12.44 mmol, 2.00 équ.) est ajoutée au milieu réactionnel qui est ensuite traité avec une solution de $\text{H}_2\text{O}/\text{EP}/\text{AcOEt}$ 1 : 1 : 5. La phase organique est séchée, filtrée et concentrée. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (par gradient de hexane 100% à hexane/ AcOEt 1 : 1) conduisant au benzylidène **55** désiré sous la forme d'une poudre blanche avec un rendement de 80% (1.53 g, 4.98 mmol). Pf : 148-149 °C²²⁴ ; $R_f = 0.44$, hexane/ AcOEt 1 : 2 ; $[\alpha]_{\text{D}}^{24} +62$ ($c=0.145$, CHCl_3) (Lit.²²⁴ +68.6 $c=0.26$) ; $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25 °C): $\delta = 7.48$ -7.46 (m, 2H, H_{arom}), 7.36-7.30 (m, 3H, H_{arom}), 5.96-5.83 (m, 1H, $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.55 (sl, 1H, PhCH), 5.32-5.20 (m, 2H, OCH_2), 4.85 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.6$

Hz, *H*-1), 4.28 (dd, 1H, $^3J_{6a,6b} = 3.4$ Hz, $^5J_{5,6} = 9.0$ Hz, *H*-6b), 4.22 (m, 1H, OCH₂=CH₂), 4.13 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.5$ Hz, $^3J_{3,4} = 9.2$ Hz, *H*-3), 4.09 (dd, 1H, $^3J_{1,2} = 1.4$ Hz, $^3J_{2,3} = 3.5$ Hz, *H*-2), 4.02 (m, 1H, OCH₂=CH₂), 3.94 (dd, 1H, $^3J_{4,5} = ^3J_{5,6} = 9.1$ Hz, *H*-5), 3.28, 3.23 ppm (2d, 2H, *OH*-2 et *OH*-3) ; ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl₃): $\delta = 137.2$ (*C*_{q-arom}), 133.5 (OCH₂CH=CH₂), 129.2, 128.3, 126.2 (*C*_{arom}), 117.7 (OCH₂CH=CH₂), 102.1 (PhCH), 99.4 (*C*-1), 78.8 (*C*-5), 70.9 (*C*-3), 68.7 (*C*-2), 68.6 (*C*-4), 68.2 (OCH₂), 63.3 ppm (*C*-6). **ESI⁺-MS**: *m/z* calculée pour C₁₆H₂₁O₆ [M + H]⁺ : 309.13326 ; trouvée : 309.13299 ; *m/z* calculée pour C₁₆H₂₀O₆Na [M + Na]⁺ : 331.11521 ; trouvée : 331.11470.

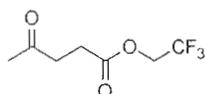
4,6-*O*-Benzylidène-3-*O*-benzyl- α -D-mannopyranoside d'allyle (**56**)



Une solution du benzylidène **55** (600 mg, 1.95 mmol, 1.00 éq.) et d'oxyde de dibutylétain (Bu₂SnO, 534 mg, 2.14 mmol, 1.10 éq.) dissous dans du toluène (20 mL) est chauffée à reflux pendant 2h. Du bromure de benzyle (BnBr, 260 μ L, 2.14 mmol, 1.10 éq.) et de l'iodure de tétrabutyleammonium (Bu₄NI, 800 mg, 2.14 mmol, 1.10 éq.) sont ajoutés sous atmosphère d'azote au milieu réactionnel. Le milieu réactionnel est agité à reflux et l'avancement de la réaction est suivi par CCM jusqu'à la disparition du produit de départ (7h). Après évaporation du mélange, le 3-benzylé **56** est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/AcOEt 4 : 1) conduisant au composé désiré sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 90% (700 mg, 1.76 mmol). $R_f = 0.44$, hexane/AcOEt 2 : 1 : $[\alpha]_D^{25} +37$ ($c=1.0$, CHCl₃) ; ^1H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C): $\delta = 7.53$ -7.33 (m, 10, *H*_{arom}), 5.98-5.85 (m, 1H, OCH₂CH=CH₂), 5.64 (s, 1H, PhCH), 5.34-5.21 (m, 2H, OCH₂), 4.94 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.4$ Hz, *H*-1), 4.88 (d, 1H, $^2J_{H,H} = 11.8$ Hz, OCH₂Ph), 4.73 (d, 1H, $^2J_{H,H} = 11.8$ Hz, OCH₂Ph), 4.33-3.83 (m, 8H, *H*-2, *H*-3, *H*-4, *H*-5, *H*-6a, *H*-6b, CH=CH₂), 2.71 ppm (d, 1H, $^3J_{H-2,OH-2} = 1.4$ Hz, *OH*-2) ; ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl₃): $\delta = 137.9$, 137.5 (*C*_{q-arom}), 133.4 (OCH₂CH=CH₂), 128.8, 128.3, 128.1, 127.7, 127.7, 125.9 (*C*_{arom}), 117.6 (OCH₂CH=CH₂), 101.4 (PhCH), 99.2 (*C*-1), 78.8, (C-5), 75.6 (*C*-3), 73.0 (*C*-2), 69.8 (*C*-4),

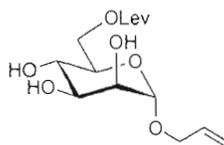
68.7, (OCH₂Ph), 68.0 (OCH₂), 63.3 ppm (C-6). **ESI⁺-HRMS**: *m/z* calculée pour C₂₃H₂₇O₆ [M + H]⁺ : 399.18022 ; trouvée : 399.17932 ; *m/z* calculée pour C₂₃H₂₆O₆Na [M + Na]⁺ : 421.16216 ; trouvée : 421.16134.

Lévulinate de 2,2,2-trifluoroéthyle (**58**)



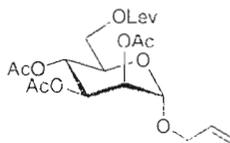
À une solution d'acide lévulinique **57** (19.82 g, 17 mL, 170.70 mmol, 1.00 éq.) dans du dichlorométhane, est ajouté du DCC (37 g, 85.35 mmol, 0.50 éq.) à 0 °C. Le milieu réactionnel est agité de 0 °C à température ambiante pendant 1h. Le précipité (DCU) est séparé par filtration. Le filtrat est ensuite ajouté goutte à goutte à -78 °C à une solution préalablement préparée contenant du trifluoroéthanol (12.44 mL, 170.70 mmol, 1.00 éq.), de l'Et₃N (23.8 mL, 179.24 mmol, 1.05 éq.) et une quantité catalytique de DMAP (100 mg). Le milieu est agité à la même température pendant 1h, puis à température ambiante durant 2h. Le mélange est ensuite lavé à l'eau, puis avec une solution aqueuse de NaHCO₃ 5% et lavé encore une fois à l'eau avant d'être concentré. Le composé **58** est purifié par distillation (90-100 °C) conduisant au composé désiré sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 84% (28.41 g, 143.39 mmol). Péb. : 92.5 °C ; **¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C)**: δ = 4.43 (q, 2H, ³J_{CH₂-CF₃} = 8.5 Hz, OCH₂CF₃), 2.78 (t, 2H, ³J_{H,H} = 6.8 Hz, COCH₂CH₂), 2.66 (t, 2H, ³J_{i,jH} = 6.8 Hz, COCH₂CH₂), 2.18 ppm (s, 3H, COCH₃). **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃)**: δ = 206.2 (C=O), 171.4 (OC(O)CH₂), 121.2 (C_q), 60.8 (OCH₂CF₃), 37.7 (COCH₂), 29.9 (COCH₃), 27.6 ppm (OCOCH₂). **ESI⁺-HRMS**: *m/z* calculée pour C₇H₁₀F₃O₃ [M + H]⁺ : 199.05766 ; trouvée : 199.05738 ; *m/z* calculée pour C₇H₉F₃O₃Na [M + Na]⁺ : 221.03960 ; trouvée : 221.03953.

6-*O*-Lévulinyl- α -D-mannopyranoside d'allyle (59)



À une solution du composé **48** (55 mg, 0.25 mmol, 1.00 éq.) et le composé **58** (941 mg, 4.75 mmol, 19 éq.) dissous dans du THF (10 mL), est ajouté de la lipase immobilisée de type *Candida Antarctica*. Le mélange est mis sous agitation dans un incubateur à 40 °C pendant 3 jours (suivi par CCM). Le mélange est filtré en rinçant avec du chloroforme puis concentré. Le lévulinat **59** est purifié par chromatographie sur gel de silice (par gradient de CHCl₃ 100% à CHCl₃/MeOH 9 : 1) conduisant au composé désiré sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 89% (71 mg, 0.22 mmol). $R_f = 0.3$, CHCl₃/MeOH 9 : 1 ; $[\alpha]_D^{24} +29$ ($c=1.0$, CHCl₃) ; $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl₃, 25 °C): $\delta = 5.92\text{-}5.79$ (m, 1H, CH=CH₂), 5.28-5.14 (m, 2H, CH=CH₂), 4.83 (s, 1H, H-1), 4.40 (dd, 1H, $^3J_{5,6} = 11.7$ Hz, $^3J_{6a,6b} = 4.0$ Hz, H-6a), 4.26 (d, 1H, $^3J_{5,6} = 11.7$ Hz, H-6b), 4.16-4.10, 3.98-3.92 (m, 3H, OCH₂ et H-2), 3.82 (d, 1H, $^3J_{2,3} = 5.8$ Hz, H-3), 3.70-3.64 (m, 2H, H-4 et H-5), 2.80-2.72 (m, 2H, OCOCH₂), 2.64-2.56 (m, 2H, OCOCH₂CH₂), 2.19 ppm (s, 3H, COCH₃) ; $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl₃): $\delta = 207.9$ (COCH₃), 173.2 (OCOCH₂), 133.6 (OCH₂CH=CH₂), 117.5 (OCH₂CH=CH₂), 99.0 (C-1), 71.5 (C-5), 70.6 (C-3), 70.4 (C-2), 68.0 (OCH₂), 67.3 (C-4), 63.7 (C-6), 37.9 (COCH₂), 29.8 (COCH₃), 27.9 ppm (OCOCH₂). **ESI⁺-HRMS**: m/z calculée pour C₁₄H₂₂O₈Na [M + Na]⁺ : 341.12069 ; trouvée : 341.12049.

2,3,4-Tri-*O*-acétyl-6-*O*-lévulinyl- α -D-mannopyranoside d'allyle (60)



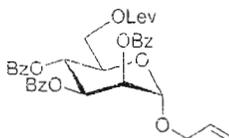
Méthode 1 :

Le tri-ol **59** (64 mg, 0.20 mmol, 1.00 éq.) est acétylé dans les mêmes conditions que le composé **13**. Le composé **60** est purifié par filtration sur gel de silice (hexane/AcOEt 1 : 1) conduisant au composé désiré sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 84% (74 mg, 0.17 mmol).

Méthode 2 :

Le composé **48** (400 mg, 1.81 mmol, 1.00 éq.) est « lévuliné » selon la même procédure que pour la synthèse du composé **59**. Puis sans aucune purification, le résidu est acétylé selon la méthode 1, conduisant au composé **60** désiré, avec un rendement global de 93% sur 2 étapes (748 mg, 1.68 mmol). $R_f = 0.32$, hexane/AcOEt 1 : 1 ; $[\alpha]_D^{24} +52$ ($c=1.0$, CHCl_3) ; $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25 °C): $\delta = 5.96\text{-}5.83$ (m, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.38-5.21 (m, 5H, $H\text{-}2$, $H\text{-}3$, $H\text{-}4$ et $\text{CH}=\text{CH}_2$), 4.83 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.5$ Hz, $H\text{-}1$), 4.26 (dd, 1H, $^3J_{5,6} = 12.2$ Hz, $^3J_{6a,6b} = 5.5$ Hz, $H\text{-}6a$), 4.23-4.15 (m, 3H, $H\text{-}6b$, et OCH_2), 4.11-3.98 (m, 1H, $H\text{-}5$), 2.83-2.71 (m, 2H, OCOCH_2), 2.65-2.60 (m, 2H, $\text{OCOCH}_2\text{CH}_2$), 2.19, 2.15, 2.03, 1.99 ppm (4 x s, 12H, COCH_3) ; $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 206.2$ (COCH_3), 172.2 (OCOCH_2), 169.9, 169.7, 169.6 (COCH_3), 132.8 ($\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 118.2 ($\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 96.3 ($C\text{-}1$), 69.4 ($C\text{-}5$), 68.9 ($C\text{-}3$), 68.9 ($C\text{-}2$), 68.4 (OCH_2), 66.0 ($C\text{-}4$), 62.5 ($C\text{-}6$), 37.6 (COCH_2), 29.6 (COCH_3), 27.6 (OCOCH_2), 20.7, 20.5, 20.5 (3 x COCH_3). **ESI⁺-MS**: m/z calculée pour $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_{11}\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 467.15238 ; trouvée : 467.15140.

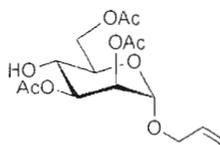
2,3,4-Tri-*O*-benzoyl-6-*O*-lévulinyl- α -D-mannopyranoside d'allyle (**61**)



Le lévulinate **59** (495 mg, 1.55 mmol, 1.00 éq.) est benzoylé dans les mêmes conditions que le composé **23**. Le tri-*O*-benzoylé **61** est purifié par chromatographie sur gel de silice (EP/AcOEt 2 : 1) conduisant au composé désiré sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 74% (723 mg, 1.17 mmol). $R_f = 0.39$, EP/AcOEt 2 : 1 ; $[\alpha]_D^{24} -98$

($c=1.0$, CHCl_3) ; $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25 °C): $\delta = 8.12-7.81$ (m, 6H, H_{arom}), 7.65-7.24 (m, 9H, H_{arom}), 6.13-5.91 (m, 3H, $\text{CH}=\text{CH}_2$, $H-3$, $H-4$), 5.69 (sl, 1H, $H-2$), 5.44-5.29 (m, 2H, OCH_2), 5.14 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.6$ Hz, $H-1$), 4.38-4.29 9 (m, 4H, $\text{CH}=\text{CH}_2$, $H-6a$, $H-5$), 4.18-4.11 (m, 1H, $H-6b$), 2.78-2.73 (m, 2H, OCOCH_3), 2.66-2.62 (m, 2H, $\text{OCOCH}_2\text{CH}_2$), 2.16 ppm (s, 3H, COCH_3) ; $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 206.3$ (COCH_3), 172.3 (OCOCH_2), 165.5, 165.4, 165.3 (COPh), 133.6, 133.4, 133.1, 133.0 ($C_{\text{q-arom}}$ et $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 129.8, 129.7, 129.7, 129.3, 129.0, 128.9, 128.6, 128.4, 128.2 (C_{arom}), 118.5 ($\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 96.6 ($C-1$), 70.5 ($C-5$), 69.9 ($C-3$), 68.9 ($C-2$), 68.7 (OCH_2), 67.0 ($C-4$), 63.0 ($C-6$), 37.8 (COCH_3), 29.8 (COCH_3), 27.7 ppm (OCOCH_2). **ESI⁺-HRMS**: m/z calculée pour $\text{C}_{35}\text{H}_{34}\text{O}_{11}\text{Na}$ [$\text{M} + \text{Na}$]⁺ : 653.19933 ; trouvée : 653.19870.

2,3,6-Tri-*O*-acétyl- α -*D*-mannopyranoside d'allyle (63)²²⁹

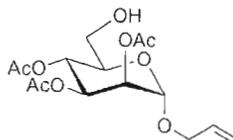


À une solution du lévulinate **60** (100 mg, 0.22 mmol, 1.00 éq.) dissout dans un mélange de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 4 : 1 (2 mL), est ajouté d'acétate d'hydrazine **28** (29 mg, 0.32 mmol, 1.4 éq.). Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 3h puis concentré. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/ AcOEt 3 : 2) conduisant au composé 4-hydroxyle **63** sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 45% (35 mg, 0.10 mmol). $R_f = 0.36$, hexane/ AcOEt 1 : 1 ; $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, C_6D_6 , 25 °C): $\delta = 5.70-5.50$ (m, 3H, $\text{CH}=\text{CH}_2$, $H-2$, $H-3$), 5.16-4.94 (m, 2H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 4.73 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.5$ Hz, $H-1$), 4.47 (m, 2H, $H-6^a$ et $H-6b$), 3.98 (t, 1H, $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 9.7$ Hz, $H-4$), 3.93-3.79 (m, 1H, $H-5$), 3.70-3.63 (m, 2H, OCH_2), 1.71, 1.65, 1.64 ppm (3 x s, 9H, COCH_3) ; $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 171.6$, 170.8, 169.9 (COCH_3), 133.0 ($\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 118.3 ($\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 96.7 ($C-1$), 71.5 ($C-5$), 70.9 ($C-3$), 69.8 ($C-2$), 68.5 (OCH_2), 65.8 ($C-4$),

²²⁹ Lim, Y.-B.; Park, S.; Lee, E.; Jeong, H.; Ryu, J.-H.; Lee, M. S. and Lee, M., *Biomacromolecules*, 2007, 8, 1404-1408.

63.3 (C-6), 20.8, 20.8, 20.8 (3 x COCH₃). **ESI⁺-HRMS**: m/z calculée pour C₁₅H₂₂O₉Na [M + Na]⁺ : 369.11560 ; trouvée : 369.11584.

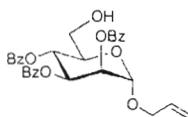
2,3,4-Tri-*O*-acetyl- α -D-mannopyranoside d'allyle (62)



À une solution du composé **60** (110 mg, 0.25 mmol, 1.00 éq.) dissout dans un mélange de pyridine/AcOH 1 : 1 (3 mL), est ajouté de l'hydrazine hydrate 1M dans H₂O (10 μ L, 0.30 mmol, 1.20 éq.) à 20 °C. Le milieu réactionnel est agité pendant 10 min puis dilué dans du dichlorométhane, lavé à l'eau, puis avec des solutions aqueuses saturées de KHSO₄, NaHCO₃, NaCl. La phase organique est ensuite séchée et concentrée. Le composé **62** est purifié par chromatographie sur gel de silice (EP/AcOEt 1 : 1) conduisant au composé désiré sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 92% (80 mg, 0.23 mmol). R_f = 0.33, EP/AcOEt 1 : 1 ; $[\alpha]_D^{24}$ +53.7 ($c=1.0$, CHCl₃)²³⁰ ; **¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C)**: δ = 5.94-5.81 (m, 1H, CH=CH₂), 5.43-5.20 (m, 5H, CH=CH₂, H-2, H-3, H-4), 4.86 (d, 1H, ³J_{1,2} = 1.6 Hz, H-1), 4.21-3.98 (m, 2H, OCH₂), 3.84-3.71 (m, 1H, H-5), 3.71-3.58 (m, 2H, H-6a,b), 2.47 (sl, 1H, OH-6), 2.13, 2.06, 1.99 ppm (3 x s, 9H, COCH₃) ; **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃)**: δ = 170.8, 170.0, 169.8 (COCH₃), 132.9 (CH=CH₂), 118.2 (CH=CH₂), 96.5 (C-1), 70.6 (C-5), 69.6 (C-3), 68.8 (C-2), 68.4 (OCH₂), 66.4 (C-4), 61.1 (C-6), 20.8, 20.6, 20.6 ppm (COCH₃). **ESI⁺-HRMS**: m/z calculée pour C₁₅H₂₂O₉Na [M + Na] : 369.11560 . trouvée . 369.11506.

²³⁰ Mari, S.; Sanchez-Medina, I.; Mereghetti, P.; Belvisi, L.; Jimenez-Barbero, J.; Bernardi, A., *Carbohydr. Res.*, **2007**, *342*, 1859-1868.

2,3,4-Tri-*O*-benzoyl- α -D-mannopyranoside d'allyle (64)



Méthode 1 :

Le composé **61** (567 mg, 0.90 mmol, 1.00 éq.) est traité suivant les mêmes conditions que le composé **62**. Une purification par chromatographie sur gel de silice (EP/AcOEt 4 : 1) conduit au composé désiré **64** sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 89% (427 mg, 0.80 mmol).

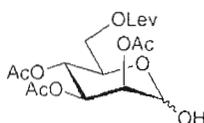
Méthode 2 :

À une solution du composé **48** (475 mg, 2.17 mmol, 1.00 éq.) dans de la pyridine distillée (25 mL), est ajouté du TBDPSiCl 98% (620 μ L, 2.37 mmol, 1.10 éq.) à 0 °C sous atmosphère d'azote. Le milieu réactionnel est agité pendant la nuit à température ambiante. Du chlorure de benzoyle (900 μ L, 7.81 mmol, 3.6 éq.) est ajouté par la suite à 0 °C. Le milieu réactionnel est agité en laissant remonter à température ambiante pendant 24h. Le milieu réactionnel est versé dans l'eau glacée, extrait avec du dichlorométhane, lavé avec des solutions aqueuses saturées de KHSO₄ (3 x), NaHCO₃, NaCl puis séché, filtré et concentré. Le résidu est dissout dans un mélange de Et₂O/CH₂Cl₂ 1 : 1 (24 mL). Une solution de AcCl/MeOH 1 : 24 (24 mL) est ajoutée au milieu réactionnel à 0 °C. Après 1h à 0 °C, puis 2h à température ambiante, le milieu réactionnel est neutralisé avec du NaHCO₃ (1.50 g), filtré et concentré. Le composé **64** est purifié par chromatographie sur gel de silice (EP/AcOEt 4 : 1) conduisant au composé désiré sous la forme d'une huile incolore avec un rendement global de 55% sur 3 étapes (635 mg, 1.19 mmol). $R_f = 0.22$, EP/AcOEt 3 : 1 ; $[\alpha]_D^{24} -108$ ($c=0.8$, CHCl₃)²³¹ ; ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C): $\delta = 8.13-7.81$ (m, 6H, H_{arom}), 7.63-7.22 (m, 9H, H_{arom}), 6.02 (dd, 1H, $^3J_{3,4} = 10.1$ Hz, $^3J_{2,3} = 3.4$ Hz, $H-3$), 5.99-5.93 (m, 1H, CH=CH₂), 5.87 (t, 1H, $^3J_{3,4} = ^3J_{1,2} = 10.1$ Hz, $H-4$), 5.71 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.4$ Hz, $^3J_{1,2} = 1.8$ Hz, $H-2$), 5.43-5.26 (m, 2H, OCH₂), 5.17 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.7$ Hz, $H-1$), 4.35-4.28 (m,

²³¹ Fu, M.; Zhang, G. and Ning J., *Carbohydr. Res.* **2005**, *340*, 25-30.

1H, CH=CH₂), 4.17-4.01 (m, 2H, H-5 et CH=CH₂), 3.88-3.76 (m, 2H, H-6a,b), 2.76 ppm (t, 1H, ³J_{H-6ab,OH-6} = 6.2 Hz, OH-6) ; ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 166.4, 165.4, 165.4 (COPh), 133.6, 133.4, 133.1, 133.0 (C_{q-arom} et OCH₂CH=CH₂), 129.8, 129.7, 129.7, 129.3, 129.0, 128.9, 128.6, 128.4, 128.2 (C_{arom}), 118.3 (OCH₂CH=CH₂), 96.7 (C-1), 71.0 (C-5), 70.6 (C-3), 69.6 (C-2), 68.7 (OCH₂), 67.2 (C-4), 61.2 ppm (C-6). **ESI⁺-HRMS**: *m/z* calculée pour C₃₀H₂₈O₉Na [M + Na]⁺ : 555.16255 ; trouvée : 555.16136.

2,3,4-Tri-*O*-acétyl-6-*O*-lévulinyl- α -D-mannopyranose (65)

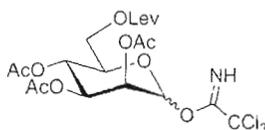


À une solution du composé allylé **60** (1.391 g, 3.130 mmol, 1.000 éq.) dissout dans du THF anhydre, est ajouté du chlorure de zinc (1.280 g, 9.390 mmol, 3.000 éq.) préalablement séché à la flamme et sous vide. Après 15 min, du tétrakis-triphénylphosphine de palladium (0.3620 g, 0.3130 mmol, 0.1000 éq.) est ajouté et le mélange est agité pendant 15 min. De l'hydruure de tributylétain 97% (3.420 mL, 12.52 mmol, 4.000 éq.) est enfin additionné et le mélange est agité pendant 1h supplémentaire à température ambiante. Un mélange d'acétate d'éthyle/eau/acide chlorhydrique (12.5/5.5/2) (20 mL) est ajouté au milieu réactionnel. Après 5 min, la phase organique est extraite à l'acétate d'éthyle, lavée à l'eau et avec une solution aqueuse saturée d'hydrogénocarbonate de sodium, séchée sur du sulfate de sodium, puis concentrée. Après purification par chromatographie sur gel de silice (EP/AcOEt 1 : 2), l'hémiacétate **65** est obtenu, sous la forme d'une huile incolore, avec un rendement de 87% (1.101 g, 2.723 mmol). *R_f* = 0.11, EP/AcOEt 1 : 1 ; ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ = 5.42 (dd, 1H, ³J_{2,3} = 3.3 Hz, ³J_{3,4} = 10.0 Hz, H-3), 5.28 (dd, 1H, ³J_{2,3} = 3.3 Hz, ³J_{1,2} = 1.5 Hz, H-2), 5.21 (d, 1H, ³J_{1,2} = 1.5 Hz, H-1), 5.21 (t, 1H, ³J_{3,4} = ³J_{4,5} = 10.0 Hz, H-4), 4.28-4.13 (m, 3H, H-5, H-6a, H-6b), 4.04 (d, 1H, ³J_{H-1,OH} = 3.4 Hz, OH-1), 2.83-2.77 (m, 2H, OCOCH₂), 2.62-2.57 (m, 2H, OCOCH₂CH₂), 2.20, 2.16, 2.06, 2.00 ppm (4 x s, 12H, COCH₃) ; ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 207.4 (COCH₃), 172.5 (OCOCH₂), 170.1, 169.9, 169.8 (COCH₃), (C-1), 92.0 (C-5), 70.0 (C-3), 68.8 (C-2), 68.0 (OCH₂), 66.3 (C-4), 62.7 (C-

6), 37.8 (COCH₂), 29.7 (COCH₃), 27.8 (OCOCH₂), 20.7, 20.6, 20.5 ppm (3 x COCH₃).

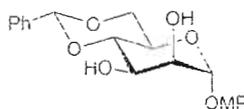
ESI⁺-HRMS: *m/z* calculée pour C₁₇H₂₄O₁₁Na [M + Na]⁺: 427.12108 ; trouvée : 427.12094.

2,2,2-Trichloroacétimide de 2,3,4-tri-*O*-acétyl-6-*O*-lévulinyl- α -D-mannopyranosyle (66)



L'hémiacétate **65** (700 mg, 1.73 mmol, 1.00 éq.) est traité dans les mêmes conditions que pour la synthèse du composé **27** en utilisant du DBU (161 μ L, 1.04 mmol, 0.60 éq.) comme base. Une purification par chromatographie sur gel de silice (EP/AcOEt 1 : 1) conduit à l'imide **66** sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 74% (702 mg, 1.28 mmol). *R_f* = 0.55, EP/AcOEt 1 : 1 : ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ = 8.79 (sl, 1H, NH), 6.25 (d, 1H, ³J_{1,2} = 1.6 Hz, H-1), 5.45 (dd, 1H, ³J_{2,3} = 3.3 Hz, ³J_{3,4} = 10.0 Hz, H-3), 5.37 (dd, 1H, ³J_{2,3} = 3.3 Hz, ³J_{1,2} = 1.6 Hz, H-2), 5.34 (t, 1H, ³J_{3,4} = ³J_{4,5} = 10.0 Hz, H-4), 4.30-4.08 (m, 3H, H-5, H-6a, H-6b), 2.79-2.72 (m, 2H, OCOCH₂), 2.66-2.59 (m, 2H, OCOCH₂CH₂), 2.18, 2.16, 2.04, 1.99 ppm (4 x s, 12H, COCH₃) : ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 206.2 (COCH₃), 172.2 (OCOCH₂), 169.7, 169.6, 169.5 (COCH₃), 159.6 (C=NH), (C-1), 94.3 (C-5), 90.4 (C_qCl₃), 71.1 (C-3), 68.7 (C-2), 67.7 (OCH₂), 65.2 (C-4), 62.2 (C-6), 37.7 (COCH₂), 29.7 (COCH₃), 27.6 (OCOCH₂), 20.7, 20.6, 20.5 (3 x COCH₃).

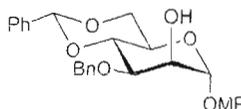
4,6-*O*-Benzylidène- α -D-mannopyranoside de 4-méthoxyphényle (67)



Le benzylidène **67** est obtenu à partir du mannopyranoside **45** (286mg, 1.00 mmol, 1.00 éq.) dans les mêmes conditions que les benzylidènes galactopyranoside **22** et

glucopyranoside **33**. La purification sur gel de silice (hexane/AcOEt 1 : 1) conduit au composé désiré sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 34% (126 mg, 0.34 mmol). $R_f = 0.36$, hexane/AcOEt 1 : 2 ; $[\alpha]_D^{24} +123$ ($c=1.0$, CHCl_3)²³² ; **¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆, 25 °C)**: $\delta = 7.42\text{-}7.40$ (m, 2H, H_{arom}), 7.30-7.28 (m, 3H, H_{arom}), 6.95-6.92 (m, 2H, $H_{\text{arom-OMP}}$), 6.80-6.76 (m, 2H, $H_{\text{arom-OMP}}$), 5.52 (sl, 1H, PhCH), 5.31 (d, 1H, ${}^3J_{1,2} = 1.6$ Hz, $H-1$), 5.23 (d, 1H, ${}^3J_{\text{H-2,OH}}$, OH-2), 5.07 (d, 1H, ${}^3J_{\text{H-3,OH}}$, OH-3), 4.07-3.88 (m, 4H, $H-2$, $H-4$, $H-6a$, $H-6b$), 3.81-3.62 (m, 2H, $H-3$, $H-5$), 3.69 ppm (s, 3H, OCH_3) ; **¹³C RMN (75 MHz, DMSO-*d*₆)**: $\delta = 154.3$, 149.5 ($C_{\text{q-arom}}$ de OMP), 137.5, ($C_{\text{q-arom}}$), 128.5, 127.6, 126.1 (5 \times C_{arom}) , 117.5, 114.1 (C_{arom} de OMP), 101.3 (PhCH), 99.7 ($C-1$), 70.6 ($C-5$), 67.9 ($C-3$), 67.2 ($C-2$), 64.2 ($C-4$), 64.1 ppm ($C-6$). **ESI⁺-HRMS**: m/z calculée pour $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{O}_7$ [$\text{M} + \text{H}$]⁺ : 375.14383 ; trouvée : 375.14293 ; m/z calculée pour $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_7\text{Na}$ [$\text{M} + \text{Na}$]⁻ : 397.12577 ; trouvée : 397.12479.

2-*O*-Benzyl-4,6-*O*-benzylidène- α -D-mannopyranoside de 4-méthoxyphényle (**68**)

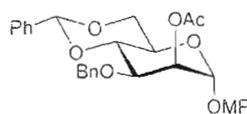


À une solution du benzylidène **67** (450 mg, 1.20 mmol, 1.00 éq.) et d'oxyde de dibutylétain (330 mg, 1.32 mmol, 1.10 éq.) dissous dans du toluène à 65 °C (2h), sont ajouté du bromure de benzyle (159 μL , 1.32 mmol, 1.10 éq.) et de l'iodure de tétrabutylammonium (498 mg, 1.32 mmol, 1.10 éq.) Le milieu réactionnel est agité à 65 °C et la réaction est suivie par CCM (hexane/AcOEt 1 : 1) jusqu'à la disparition du réactif **67** dihydroxylé. Après 7h, le milieu réactionnel est filtré puis concentré. Le 3-benzylé **68** est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle 1 : 1), conduisant au composé désiré sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 66% (370 mg, 0.79 mmol). $R_f = 0.66$, hexane/AcOEt 1 : 1 ; $[\alpha]_D^{25} +56$ ($c=1.0$, CHCl_3) ; **¹H RMN (300 MHz, CDCl_3 , 25 °C)**: $\delta = 7.54\text{-}7.50$ (m, 2H, H_{arom}), 7.44-7.33 (m, 8H, H_{arom}), 7.00-6.98 (m, 2H, $H_{\text{arom-OMP}}$), 6.87-6.84

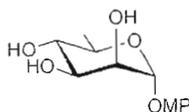
²³² Bodine, K. D.; Gin, D, Y, and Gin, M. S., *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, *126*, 1638-1639.

(m, 2H, $H_{\text{arom-OMP}}$), 5.65 (sl, 1H, PhCH), 5.50 (d, 1H, ${}^3J_{1,2} = 1.6$ Hz, $H-1$), 4.95 (d, 1H, ${}^2J_{\text{H,H}} = 11.8$ Hz, OCH₂Ph), 4.79 (d, 1H, ${}^2J_{\text{H,H}} = 11.8$ Hz, OCH₂Ph), 4.25-4.11 (m, 4H, $H-2$, $H-3$, $H-6a$, $H-6b$), 4.05-3.97 (m, 1H, $H-5$), 3.86 (t, 1H, ${}^3J_{3,4} = {}^3J_{4,5} = 10.1$ Hz, $H-4$), 3.79 (s, 3H, OCH₃), 2.89 ppm (d, 1H, ${}^3J_{\text{H-2,OH-2}} = 1.4$ Hz, OH-2) ; ${}^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl₃): $\delta = 155.1$, 149.7 ($C_{\text{q-arom}}$ de OMP), 137.9, 137.4 ($C_{\text{q-arom}}$), 128.5-126.0 (10 x C_{arom}), 117.7, 114.6 (C_{arom} de OMP), 101.6 (PhCH), 98.7 (C-1), 78.7 (C-5), 75.4 (C-3), 73.2 (C-2), 69.9 (C-4), 68.7 (OCH₂Ph), 63.8 (C-6), 55.6 ppm (OCH₃). **ESI⁺-MS**: m/z calculée pour C₂₇H₂₉O₇ [M + H]⁺ : 465.1 ; trouvée : 465.1.

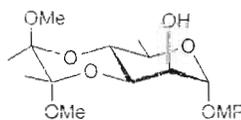
2-O-Benzyl-4,6-O-benzylidène- α -D-mannopyranoside de 4-méthoxyphényle (69)



Le composé **67** (5 mg, 0.01 mmol) est acétylé dans un mélange pyridine/acide acétique (1 : 1 v/v, 1 mL) suivant le protocole standard pour obtenir le composé acétylé **69**. $R_f = 0.81$, hexane/AcOEt 1 : 1 ; ${}^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl₃, 25 °C): $\delta = 7.59$ -7.56 (m, 2H, H_{arom}), 7.46-7.33 (m, 8H, H_{arom}), 7.04-7.00 (m, 2H, $H_{\text{arom-OMP}}$), 6.89-6.86 (m, 2H, $H_{\text{arom-OMP}}$), 5.71 (sl, 1H, PhCH), 5.66 (dd, 1H, ${}^3J_{1,2} = 1.7$ Hz, ${}^3J_{2,3} = 3.2$ Hz, $H-2$), 5.46 (d, 1H, ${}^3J_{1,2} = 1.7$ Hz, $H-1$), 4.82 (d, 1H, ${}^2J_{\text{H,H}} = 11.8$ Hz, OCH₂Ph), 4.78 (d, 1H, ${}^2J_{\text{H,H}} = 11.8$ Hz, OCH₂Ph), 4.28 (dd, 2H, ${}^3J_{6a,6b} = 3.8$ Hz, ${}^3J_{5,6} = 9.1$ Hz, $H-6a$), 4.26 (dd, 2H, ${}^3J_{6a,6b} = 3.8$ Hz, ${}^3J_{5,6} = 9.1$ Hz, $H-6b$), 4.21 (t, 1H, $H-3$), 4.15-4.01 (m, 1H, $H-5$), 3.89 (t, 1H, ${}^3J_{3,4} = {}^3J_{4,5} = 10.1$ Hz, $H-4$), 3.80 (s, 3H, OCH₃), 2.24 ppm (s, 3H, COCH₃) ; ${}^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl₃): $\delta = 170.0$ (COCH₃), 155.2, 149.5 ($C_{\text{q-arom}}$ de OMP), 137.8, 137.2 ($C_{\text{q-arom}}$), 128.8-126.0 (10 x C_{arom}), 117.8, 114.5 (C_{arom} de OMP), 101.4 (PhCH), 97.6 (C-1), 78.1 (C-5), 73.6 (C-3), 72.2 (C-2), 69.5 (C-4), 68.4 (OCH₂Ph), 64.3 (C-6), 55.4 (OCH₃), 20.9 ppm (COCH₃). **ESI⁺-MS**: m/z calculée pour C₂₉H₃₁O₈ [M + H]⁺ : 507.2 ; trouvée : 507.0.

α -D-Rhamnopyranoside de 4-méthoxyphényle (70)

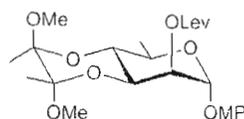
À une solution du composé iodure **46** (4.850 g, 12.24 mmol) dissout dans du toluène distillé à reflux, sont ajoutés de l'hydruure de tributylétain (5.02 mL, 18.4 mmol, 1.50 éq.) et du AIBN (0.201 g, 1.22 mmol, 0.1 éq.). Le milieu réactionnel est agité à reflux pendant 1h30 puis concentré. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (CHCl₃/MeOH 95 : 5), conduisant au composé déoxy **70** désiré sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 98% (3.24 g, 12.0 mmol). Pf : 101-103 °C (AcOEt/EP) ; R_f = 0.67, CH₃CN/H₂O 9 : 1 ; R_f = 0.14, CHCl₃/MeOH 95 : 5 ; $[\alpha]_D^{24}$ +96 (c =1.0, CHCl₃) ; **¹H RMN (300 MHz, D₂O, 22 °C)**: δ = 7.13-7.07, 7.00-6.96 (m, 4H, H_{arom}), 5.42 (d, 1H, $^3J_{1,2}$ =1.9 Hz, H -1), 4.16 (dd, 1H, $^3J_{2,3}$ = 3.3 Hz, H -2), 3.97 (dd, 1H, $^3J_{3,4}$ = 9.6 Hz, H -3), 3.90–3.81 (m, 1H, H -5), 3.81 (s, 3H, OCH₃), 3.51 (t, 1H, $^3J_{4,5}$ = 9.6 Hz, H -4), 1.23 (d, 3H, $^3J_{5,6}$ = 6.3 Hz, H -6) ; **¹³C RMN (75 MHz, D₂O)**: δ = 155.4, 150.1 ($C_{\text{q-arom}}$), 119.6, 115.8 (C_{arom}), 99.9 (C -1), 72.7 (C -3), 70.8 (C -4), 70.7 (C -2), 70.0 (C -5), 56.4 (OCH₃) 17.2 (C -6). **ESI⁺-HRMS** : m/z calculée pour C₁₃H₁₈O₆Na [M + Na]⁺ : 293.09956 ; trouvée : 293.09870.

(2',3')-Méthyl 3,4-O-(2'-3'-diméthoxybutane-2'-3'-diyl)- α -D-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphényle (71)

Après solubilisation du rhamnopyranoside **70** (2.67 g, 9.88 mmol, 1.00 éq.) dans du méthanol sec (100 mL), de la 2,3-butadione (0.95 mL, 10.87 mmol, 1.1 éq.) et du triméthylorthoformiate (4.32 mL, 39.52 mmol, 4.00 éq.) sont ajoutés. L'acide de Lewis BF₃.Et₂O (1.24 mL, 9.88 mmol, 1.00 éq.) est ensuite additionnée goutte à goutte sur une

période de 12 min à 0 °C et sous atmosphère d'azote. Après 20 h à température ambiante, le milieu réactionnel est neutralisé par l'ajout de triéthylamine (1.38 mL), et concentré. Le bisacétate **71** est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/AcOEt 3 : 1) conduisant au composé obtenu sous la forme d'une poudre blanche avec un rendement global de 99% (3.79 g, 9.78 mmol, 4 diastéréoisomères). Pf: 114-116 (EtOH 100%, 2 des 4 formes) ; R_f = 0.37-0.47 (hexane/AcOEt 3 : 1) ; $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25 °C) du diastéréoisomère majoritaire : δ = 7.00-6.96 et 6.85-6.81 (m, 4H, H_{arom}), 5.42 (d, 1H, $^3J_{1,2}$ = 1.5 Hz, $H-1$), 4.16 (dd, 1H, $^3J_{2,3}$ = 3.3 Hz et $^3J_{3,4}$ = 10.0 Hz, $H-3$), 4.12 (sl, 1H, $H-2$), 4.01-3.92 (m, 1H, $H-5$), 3.79 (t, 1H, $^3J_{4,5}$ = 10.0 Hz, $H-4$), 3.78 (s, 3H, OCH_3), 3.34 et 3.26 (2s, 2x3H, $[\text{C}(\text{CH}_3)\text{OCH}_3]_2$), 2.61 (d, 1H, $^3J_{\text{OH},2}$ = 2.2 Hz, $\text{OH}-2$), 1.34 et 1.33 (2s, 2x3H, $[\text{C}(\text{CH}_3)\text{OCH}_3]_2$) et 1.24 (d, 3H, $^3J_{5,6}$ = 6.3 Hz, $^6\text{CH}_3$) ; $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3) du diastéréoisomère majoritaire : δ = 154.9 et 150.1 ($\text{C}_{\text{q-arom}}$), 117.7 et 114.6 (C_{arom}), 100.3 et 99.9 ($\text{C}(\text{CH}_3)\text{OCH}_3$), 98.6 ($\text{C}-1$), 69.8 ($\text{C}-3$), 68.3 ($\text{C}-4$), 68.0 ($\text{C}-2$), 67.2 ($\text{C}-5$), 55.6 (OCH_3), 48.1 et 47.7 ($[\text{C}(\text{CH}_3)\text{OCH}_3]_2$), 17.8, 17.7 et 16.5 ppm ($[\text{C}(\text{CH}_3)\text{OCH}_3]_2$ et $\text{C}-6$). **ESI⁺-MS**: m/z calculée pour $\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{O}_8\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 407.16764 ; trouvée : 407.16746.

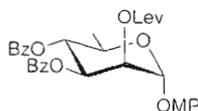
(2',3')-Méthyl 3,4-*O*-(2'-3'-diméthoxybutane-2'-3'-diyl)-2-*O*-lévulinyl- α -D-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphényle (72**)**



À une solution du bisacétate **71** (2.64 g, 6.86 mmol, 1 éq.) dissout dans du dichlorométhane distillé (12 mL) sont ajoutés successivement de la 4-diméthylaminopyridine (0.503 g, 4.12 mmol, 0.60 éq.), de l'acide lévulinique (4.01 mL, 38.42 mmol, 5.60 éq.) et du diisopropylcarbodiimide (7.15 mL, 45.3 mmol, 6.60 éq.). Après 5 h à température ambiante, le mélange réactionnel est filtré sur une couche de silice/célite, lavé à l'eau et concentré. Le mélange de 4 diastéréoisomères du composé **72** est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/AcOEt 3 : 1), obtenu avec un rendement de 99% pour les 4 formes (3.30 g, 6.80 mmol, poudre blanche). Pf: 124-125 (EtOH 100%, 2 des 4 formes) ; R_f = 0.15-0.22

(hexane/AcOEt 3 : 1); $[\alpha]_D^{25} +155$ ($c=1.0$, CHCl_3); $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25 °C) du diastéréoisomère majoritaire : $\delta = 6.97\text{-}6.93$ et $6.83\text{-}6.80$ (m, 4H, H_{arom}), 5.33 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.9$ Hz, $H-1$), 5.23 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.0$ Hz, $H-2$), 4.26 (dd, 1H, $^3J_{3,4} = 10.2$ Hz, $H-3$), 4.02-3.96 (m, 1H, $H-5$), 3.78 (s, 3H, OCH_3), 3.72 (t, 1H, $^3J_{4,5} = 10.2$ Hz, $H-4$), 3.31 et 3.28 (2s, 2x3H, $[\text{C}(\text{CH}_3)\text{OCH}_3]_2$), 2.84-2.70 (m, 4H, $(\text{CH}_2)_2\text{COCH}_3$), 2.22 (s, 3H, $(\text{CH}_2)_2\text{COCH}_3$), 1.31 et 1.30 (2s, 2x3H, $[\text{C}(\text{CH}_3)\text{OCH}_3]_2$), 1.25 (d, 3H, $^3J_{5,6} = 5.8$ Hz, $^6\text{CH}_3$); $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 206.3$ ($(\text{CH}_2)_2\text{COCH}_3$), 172.1 ($\text{OCO}(\text{CH}_2)_2\text{COCH}_3$), 155.0 et 150.0 ($C_{\text{q-arom}}$), 117.8 et 114.5 (C_{arom}), 100.0 et 99.8 ($[\text{C}(\text{CH}_3)\text{OCH}_3]_2$), 96.9 ($C-1$), 70.7 ($C-3$), 68.7 ($C-4$), 67.3 ($C-2$), 65.9 ($C-5$), 55.6 (OCH_3), 48.1 et 47.6 ($[\text{C}(\text{CH}_3)\text{OCH}_3]_2$), 38.1, 29.7, et 28.3 ($(\text{CH}_2)_2\text{COCH}_3$), 17.8, 17.7 et 16.5 ($[\text{C}(\text{CH}_3)\text{OCH}_3]_2$ et $C-6$). $\text{ESI}^+\text{-MS}$: m/z calculée pour $\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{O}_{10}\text{N}$ $[\text{M} + \text{NH}_4]^+$: 500.2 ; trouvée : 500.2.

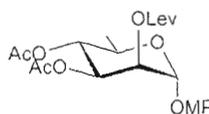
3,4-Di-*O*-benzoyl-6-*O*-lévulinyl- α -D-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphényle (73)



Le lévulinate **72** (650 mg, 1.34 mmol, 1.00 éq.) est solubilisé et concentré en même temps dans un mélange l'acide trifluoroacétique/eau 9 : 1 (10 mL). Le résidu contenant de la trace de TFA est coévaporé plusieurs fois avec un mélange acétone/cyclohexane. Le composé intermédiaire 6-*O*-lévulinyl- α -D-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphényle non isolé est benzoylé dans les mêmes conditions que le composé **23** conduisant au composé **73** désiré sous la forme d'un solide blanc avec un rendement global de 82% sur 2 étapes (634 mg, 1.10 mmol). $R_f = 0.28$, hexane/AcOEt 2 : 1 ; $[\alpha]_D^{25} +6$ ($c=1.0$, CHCl_3); $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25 °C): $\delta = 8.00\text{-}7.92$, $7.56\text{-}7.49$ et $7.42\text{-}7.36$ (m, 10H, H_{arom}), $7.03\text{-}6.97$ et $6.85\text{-}6.80$ (m, 4H, H_{arom}), 5.90 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.3$ Hz et $^3J_{3,4} = 10.1$ Hz, $H-3$), 5.64 (dd, 1H, $^3J_{1,2} = 1.6$ Hz, $H-2$), 5.60 (t, 1H, $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 10.4$ Hz, $H-4$), 5.46 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.6$ Hz, $H-1$), 4.30-4.25 (m, 1H, $H-5$), 3.80 (s, 3H, OCH_3), 2.79-2.65 (m, 4H, $(\text{CH}_2)_2\text{COCH}_3$), 2.18 (s, 3H, $(\text{CH}_2)_2\text{COCH}_3$), 1.31 ppm (d, 3H, $^3J_{5,6} = 6.0$ Hz, $^6\text{CH}_3$); $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 206.0$ ($(\text{CH}_2)_2\text{COCH}_3$), 171.7 ($\text{OCO}(\text{CH}_2)_2\text{COCH}_3$), 165.7 et 165.5 (OCOCH_3), 155.2 et

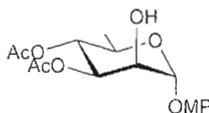
150.0 ($C_{q\text{ arom.}}$), 133.3-128.4 ($9 \times C_{\text{arom.}}$), 117.7, 114.6 ($C_{\text{arom-OMP}}$), 96.5 ($C-1$), 71.4 ($C-3$), 70.2 ($C-4$), 69.7 ($C-2$), 67.2 ($C-5$), 55.6 (OCH_3), 37.8, 29.7 et 27.9 ($(\text{CH}_2)_2\text{COCH}_3$), 20.8 et 20.7 (OCOCH_3), 17.4 ppm ($C-6$). **ESI⁺-HRMS** : m/z calculée pour $\text{C}_{32}\text{H}_{32}\text{O}_{10}\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 599.18877 ; trouvée : 599.18764 ; m/z calculée pour $\text{C}_{32}\text{H}_{33}\text{O}_{10}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 577.20682 ; trouvée : 577.20601.

3,4-Di-*O*-acétyl-6-*O*-lévulinyl- α -D-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphényle (74)



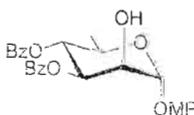
Le bisacétate **72** (1.200 g, 2.48 mmol, 1.00 éq.) est solubilisé et concentré en même temps dans un mélange l'acide trifluoroacétique/eau 9 : 1 (25 mL). Le résidu contenant de la trace de TFA est coévaporé plusieurs fois avec un mélange acétone/cyclohexane. Le composé intermédiaire 6-*O*-lévulinyl- α -D-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphényle non isolé est acétylé dans les mêmes conditions que le composé **13** conduisant au composé **74** désiré sous la forme d'une huile incolore avec un rendement global de 84% sur 2 étapes (942 mg, 2.08 mmol). $R_f = 0.42$, hexane/AcOEt 2 : 1 ; $[\alpha]_D^{25} +55$ ($c=1.0$, CHCl_3) ; **¹H RMN (300 MHz, CDCl_3 , 25 °C)**: $\delta = 7.03$ -6.97 et 6.85-6.80 (m, 4H, $H_{\text{arom.}}$), 5.50 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.4$ Hz et $^3J_{3,4} = 10.1$ Hz, $H-3$), 5.43 (dd, 1H, $H-2$), 5.33 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.6$ Hz, $H-1$), 5.12 (t, 1H, $^3J_{4,5} = 10.1$ Hz, $H-4$), 4.16-3.97 (m, 1H, $H-5$), 3.77 (s, 3H, OCH_3), 2.82-2.68 (m, 4H, $(\text{CH}_2)_2\text{COCH}_3$), 2.21 (s, 3H, $(\text{CH}_2)_2\text{COCH}_3$), 2.06 et 2.03 (2s, 2x3H, OCOCH_3), 1.20 ppm (d, 3H, $^3J_{5,6} = 5.8$ Hz, $^6\text{CH}_3$) ; **¹³C RMN (75 MHz, CDCl_3)**: $\delta = 206.0$ ($(\text{CH}_2)_2\text{COCH}_3$), 171.7 ($\text{OCO}(\text{CH}_2)_2\text{COCH}_3$), 170.1 et 169.9 (OCOCH_3), 155.2 et 149.9 ($C_{q\text{-arom.}}$), 117.6 et 114.6 ($C_{\text{arom.}}$), 96.3 ($C-1$), 71.0 ($C-3$), 69.9 ($C-4$), 68.9 ($C-2$), 66.9 ($C-5$), 55.6 (OCH_3), 37.8, 29.7 et 27.9 ($(\text{CH}_2)_2\text{COCH}_3$), 20.8 et 20.7 (OCOCH_3), 17.4 ppm ($C-6$). **ESI⁺-MS** : m/z calculée pour $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{O}_{10}\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 475.16 ; trouvée : 475.16.

3,4-Di-*O*-acétyl- α -D-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphényle (75)



Le lévulinate **74** (760 mg, 1.68 mmol, 1.00 éq.) est déprotégé dans les mêmes conditions que le composé **62**. Le 2-*O*-hydroxyle **75** est purifié par chromatographie sur gel de silice (EP/hexane/AcOEt 3 : 3 : 4) conduisant au composé désiré sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 92% (545 mg, 1.54 mmol). $R_f = 0.26$, EP/hexane/AcOEt 3 : 3 : 4 ; $[\alpha]_D^{24} +103$ ($c=1.0$, CHCl_3) ; $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25 °C): $\delta = 7.02$ -6.98 et 6.86-6.80 (m, 4H, $H_{\text{arom.}}$), 5.44-5.30 (m, 2H, $H-1$ et $H-3$), 5.17 (t, 1H, $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 10.2$ Hz, $H-4$), 4.24 (sl, 1H, $H-2$), 4.02-3.96 (m, 1H, $H-5$), 3.77 (s, 3H, OCH_3), 2.67 (d, 1H, $^3J_{\text{OH},2} = 4.4$ Hz, $\text{OH}-2$), 2.11 et 2.05 (2s, 2x3H, CO_2CH_3) et 1.19 ppm (d, 3H, $^3J_{3,6} = 6.3$ Hz, $H-6$) ; $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 170.2$ et 170.1 ($\text{C}'\text{O}_2\text{CH}_3$), 155.0 et 150.0 ($\text{C}_{\text{q-arom.}}$), 117.4 et 114.6 ($\text{C}_{\text{arom.}}$), 98.0 ($\text{C}-1$), 71.5 ($\text{C}-3$), 71.2 ($\text{C}-4$), 69.4 ($\text{C}-2$), 66.7 ($\text{C}-5$), 55.6 (OCH_3), 20.9 et 20.8 (CO_2CH_3) et 17.4 ppm ($\text{C}-6$). $\text{ESI}^+\text{-MS}$: m/z calculée pour $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{O}_8\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 377.12 ; trouvée : 377.12.

3,4-Di-*O*-benzoyl- α -D-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphényle (76)



Méthode 1 :

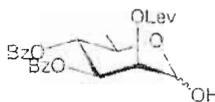
Le lévulinate **73** (500 mg, 0.87 mmol, 1.00 éq.) est déprotégé dans les mêmes conditions que les 6-*O*-hydroxyle mannopyranoside **62** et 2-*O*-hydroxyle rhamnopyranoside **75**. Le composé **76** est purifié par chromatographie sur gel de silice (EP/AcOEt 4 : 1) conduisant au composé déprotégé désiré sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 92% (545 mg, 1.54 mmol). Pf : 90-92 °C (AcOEt/EP) ; $R_f = 0.20$, EP/AcOEt 4 : 1 ; $[\alpha]_D^{25}$

+37 ($c=1.0$, CHCl_3); $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25 °C): $\delta = 8.01-7.97$, 7.54-7.52 et 7.38-7.33 (m, 10H, H_{arom}), 7.13-7.10 et 6.90-6.87 (m, 4H, H_{arom}), 5.82 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.1$ Hz, $^3J_{3,4} = 10.1$ Hz, $H-3$), 5.70 (t, 1H, $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 9.9$ Hz, $H-4$), 5.53 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.7$ Hz, $H-1$), 4.52 (dd, 1H, $^3J_{1,2} = 2.0$ Hz, $^3J_{2,3} = 2.8$ Hz, $H-2$), 4.31-4.21 (m, 1H, $H-5$), 3.81 (s, 3H, OCH_3), 2.85 (sl, 1H, OH-2), 1.32 ppm (d, 3H, $^3J_{5,6} = 6.3$ Hz, $^6\text{CH}_3$); $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 165.8$ (COPh), 155.1, 150.2 ($\text{C}_{\text{q-OMP}}$), 133.4, 133.2 ($\text{C}_{\text{q-arom}}$), 129.8-128.4 (6 x C_{arom}), 117.5, 114.7 ($\text{C}_{\text{arom-OMP}}$), 98.3 (C-1), 72.4 (C-3), 71.4 (C-4), 69.6 (C-2), 67.2 (C-5), 55.6 (OCH_3), 17.6 ppm (C-6). **ESI⁺-MS** : m/z calculée pour $\text{C}_{27}\text{H}_{27}\text{O}_8$ [$\text{M} + \text{H}$]⁺ : 479.1 ; trouvée : 479.1.

Méthode 2 (migration):

À une solution du composé **88** (247 mg, 0.39 mmol, 1.00 éq.) dissout dans du THF (10 mL), sont ajoutés 2 gouttes d'acide acétique glacial et du TBAF (1M dans THF, 430 μL , 0.43 mmol, 1.10 éq.) à 0 °C. Le mélange est agité pendant 45 min à 0 °C puis concentré. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (éther de pétrole/acétate d'éthyle 5 : 1) conduisant aux dex composés différents : **89** sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 13% isolé (24 mg, 0.05 mmol) (voir **89** pour les constantes physiques) ; le benzoate migré **76** sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 42% isolé (79 mg, 0.16 mmol) (voir **76** pour les constantes physiques) et 21% des mélanges des deux composés (40 mg, 0.08 mmol).

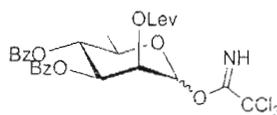
3,4-Di-*O*-benzoyl-6-*O*-lévulinyl- β -D-rhamnopyranose (**77**)



À une solution du *p*-méthoxyphényle rhamnopyranoside **73** (1.30 g, 2.26 mmol) dissout dans un mélange du toluène/acétonitrile/eau (1 : 1.4 : 1 v/v/v, 51 mL), est ajouté du CAN (12.36 g, 22.55 mmol, 10.0 éq.). Le mélange est agité à température ambiante pendant 2h30. Le milieu réactionnel est dilué dans du chloroforme, lavé avec des solutions aqueuses saturées de NaCl, NaHCO_3 puis avec de l'eau. La phase organique est séchée avec du Na_2SO_4 , filtré et concentrée. L'hémiacétate **77** est purifié par chromatographie sur gel de

silice (CHCl₃ 100%) conduisant au composé désiré sous la forme d'une huile jaunâtre avec un rendement de 70% (0.745 g, 1.58 mmol). $R_f = 0.31$ CHCl₃/MeOH 99 : 1 ; ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C): $\delta = 8.06$ -8.4, 7.90-7.88 (m, 4H, H_{arom}), 7.60-7.22 (m, 6H, H_{arom}), 5.75 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.4$ Hz et $^3J_{3,4} = 10.1$ Hz, H -3), 5.63 (dd, 1H, H -2), 5.41 (t, 1H, $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 9.9$ Hz, H -4), 5.38 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.6$ Hz, H -1), 4.41 (d, 1H, $^3J_{\text{H-1,OH}}, 5.7$ Hz, OH -1), 4.36-4.26 (m, 1H, H -5), 2.74-2.35 (m, 4H, (CH₂)₂COCH₃), 2.06 (s, 3H, (CH₂)₂COCH₃), 1.32 ppm (d, 3H, $^3J_{5,6} = 6.2$ Hz, $^6\text{CH}_3$) ; ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃): $\delta = 206.3$ ((CH₂)₂COCH₃), 171.8 (OCO(CH₂)₂COCH₃), 165.7, 165.5 (OCOPh), 133.2, 133.1 ($C_{\text{q-arom}}$), 129.7, 129.2, 128.4, 128.3 (C_{arom}), 92.0 (C -1), 71.7 (C -3), 70.8 (C -4), 69.6 (C -2), 66.4 (C -5), 37.8 (COCH₂), 29.7 (COCH₃), 27.9 (OCOCH₂), 17.4 ppm (C -6). **ESI⁺-HRMS** : m/z calculée pour C₂₅H₂₆O₉Na [M + Na]⁺ : 493.14690 ; trouvée : 493.14650.

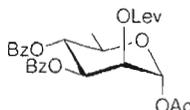
2,2,2-Trichloroacétimide de 3,4-di-*O*-benzoyl-6-*O*-lévulinyl-D-rhamnopyranosyle (78)



L'imide **78** est synthétisé à partir de l'hémiacétate **77** (0.630 g, 1.34 mmol, 1.00 éq.) dans les mêmes conditions que pour la synthèse d'imide galactopyranosyle **16**. Le composé **78** est purifié par chromatographie sur gel de silice (éther de pétrole/acétate d'éthyle 3 : 1) conduisant au composé désiré sous la forme d'une poudre légèrement jaunâtre avec un rendement de 70% (0.574 g, 0.938 mmol). $R_f = 0.58$, hex/AcOEt 1 : 1 ; ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C): $\delta = 8.80$ (sl, 1H, NH), 8.08-7.88 (m, 4H, H_{arom}), 7.62-7.34 (m, 6H, H_{arom}), 6.43 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.6$ Hz, H -1 β), 6.33 (1H, $^3J_{1,2} = 1.9$ Hz, H -1 α), 5.76 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.3$ Hz, $^3J_{3,4} = 10.1$ Hz, H -3), 5.68 (dd, 1H, $^3J_{1,2} = 1.9$ Hz, $^3J_{2,3} = 3.3$ Hz, H -2), 5.63 (t, 1H, $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 9.9$ Hz, H -4), 4.38-4.28 (m, 1H, H -5), 2.79-2.71 (m, 4H, (CH₂)₂COCH₃), 2.16 (s, 3H, (CH₂)₂COCH₃), 1.38 ppm (d, 3H, $^3J_{5,6} = 6.2$ Hz, $^6\text{CH}_3$) ; ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃): $\delta = 205.7$ ((CH₂)₂COCH₃), 171.5 (OCO(CH₂)₂COCH₃), 165.6, 165.4 (OCOPh), 160.0 (C =NH),

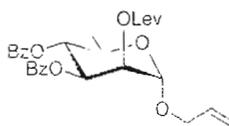
133.4, 133.3 ($C_{q\text{-arom}}$), 129.9-128.4 (C_{arom}), 92.7 ($C\text{-1}$), 70.8 ($C\text{-3}$), 69.6 ($C\text{-4}$), 69.5 ($C\text{-2}$), 68.7 ($C\text{-5}$), 37.7 (COCH_2), 29.7 (COCH_3), 27.9 (OCOCH_2), 17.6 ppm ($C\text{-6}$).

1-*O*-Acétyl-3,4-di-*O*-benzoyl-6-*O*-lévulinyl- α -D-rhamnopyranose (79)



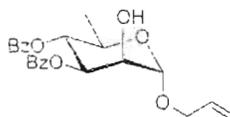
Le groupement *p*-méthoxyphényle du composé **73** (270 mg, 0.468 mmol, 1.00 éq.) est déprotégé dans les mêmes conditions que l'hémiacétate **77**. L'hémiacétate du composé non isolé est acétylé dans les conditions de l'acétylation standard (voir le composé **13**). L'acétate **79** est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle 2 : 1) conduisant au composé désiré sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 73% (174 mg, 0.34 mmol). $R_f = 0.63$, hexane/AcOEt 1 : 1 ; $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25 °C): $\delta = 7.99\text{-}7.97$, $7.92\text{-}7.89$ (m, 4H, H_{arom}), $7.62\text{-}7.35$ (m, 6H, H_{arom}), 6.14 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.7$ Hz, $H\text{-1}$), 5.71 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.4$ Hz, $^3J_{3,4} = 10.2$ Hz, $H\text{-3}$), 5.57 (t, 1H, $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 10.0$ Hz, $H\text{-4}$), 5.47 (dd, 1H, $^3J_{1,2} = 2.0$ Hz, $^3J_{2,3} = 3.2$ Hz, $H\text{-2}$), 4.23-4.14 (m, 1H, $H\text{-5}$), 2.73 (sl, 4H, $(\text{CH}_2)_2\text{COCH}_3$), 2.24 (s, 3H, COCH_3), 2.15 (s, 3H, $(\text{CH}_2)_2\text{COCH}_3$), 1.34 ppm (d, 3H, $^3J_{5,6} = 6.2$ Hz, $^6\text{CH}_5$); $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 205.8$ ($(\text{CH}_2)_2\text{COCH}_3$), 171.5 ($\text{OCO}(\text{CH}_2)_2\text{COCH}_3$), 168.4 (COCH_3), 165.6, 165.5 (OCOPh), 133.4, 133.3 ($C_{q\text{-arom}}$), 129.8-128.4 (C_{arom}), 90.7 ($C\text{-1}$), 70.9 ($C\text{-3}$), 69.5 ($C\text{-4}$), 69.2 ($C\text{-2}$), 69.0 ($C\text{-5}$), 37.7 (COCH_2), 29.7 (COCH_3), 27.9 (OCOCH_2), 21.0 (COCH_3), 17.6 ppm ($C\text{-6}$). $\text{ESI}^+\text{-HRMS}$: m/z calculée pour $\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{O}_{10}\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 535.15747 ; trouvée : 535.15640.

3,4-Di-*O*-benzoyl-6-*O*-lévulinyl-D-rhamnopyranoside d'allyle (80)



À une solution d'acétate **79** (30 mg, 0.05 mmol, 1.00 éq.) dissout dans du dichlorométhane distillé, est ajouté d'alcool allylique (14 μ L, 0.20 mmol, 4.00 éq.) distillé sous atmosphère d'inerte. L'acide de Lewis $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (13 μ L, 0.10 mmol, 2.00 éq.) est enfin ajouté à 0 °C. Le milieu réactionnel est agité sous atmosphère d'azote jusqu'à la disparition du composé **79**. Après 40h, de la triéthylamine (14 μ L, 0.10 mmol, 2.00 éq.) est ajoutée au milieu réactionnel avant d'être concentré. L'allylé **80** est purifié par chromatographie sur gel de silice (éther de pétrole/acétate d'éthyle 3 : 1) conduisant au composé désiré sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 48% (12 mg, 0.024 mmol). $R_f = 0.27$, EP/AcOEt 3 : 1 ; $[\alpha]_D^{24} -19$ ($c=1.0$, CHCl_3); $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25 °C): $\delta = 7.99\text{-}7.97$, $7.91\text{-}7.89$ (m, 4H, H_{arom}), $7.55\text{-}7.31$ (m, 6H, H_{arom}), $6.02\text{-}5.90$ (m, 1H, $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.73 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.4$ Hz, $^3J_{3,4} = 10.1$ Hz, $H\text{-}3$), 5.52 (t, 1H, $^3J_{4,5} = 9.9$ Hz, $H\text{-}4$), 5.48 (dd, 1H, $^3J_{1,2} = 1.8$ Hz, $H\text{-}2$), $5.40\text{-}5.25$ (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 4.90 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.1$ Hz, $H\text{-}1$), $4.30\text{-}4.24$, $4.19\text{-}4.05$ (m, 3H, OCH_2 , $H\text{-}5$), 2.72 (sl, 4H, $(\text{CH}_2)_2\text{COCH}_3$), 2.16 (s, 3H, $(\text{CH}_2)_2\text{COCH}_3$), 1.33 ppm (d, 3H, $^3J_{5,6} = 6.3$ Hz, $^6\text{CH}_3$); $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 205.8$ ($(\text{CH}_2)_2\text{COCH}_3$), 171.6 ($\text{OCO}(\text{CH}_2)_2\text{COCH}_3$), 165.6 , 165.3 (OCOPh), 133.2 , 133.1 ($C_{\text{q-arom}}$), 133.0 ($\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), $129.7\text{-}128.2$ (C_{arom}), 117.9 ($\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 96.5 ($C\text{-}1$), 71.5 ($C\text{-}3$), 70.3 ($C\text{-}4$), 69.8 ($C\text{-}2$), 68.4 (OCH_2), 66.6 ($C\text{-}5$), 37.7 (COCH_2), 29.6 (COCH_3), 27.9 (OCOCH_2), 17.4 ppm ($C\text{-}6$). **ESI⁺-HRMS** : m/z calculée pour $\text{C}_{28}\text{H}_{30}\text{O}_9\text{Na}$ [$\text{M} + \text{Na}$]⁺ : 533.17820 ; trouvée : 533.17820 .

3,4-Di-O-benzoyl- α -D-rhamnopyranoside d'allyle (**81**)



Méthode I :

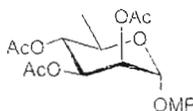
À une solution du lévulinate **80** (60 mg, 0.12 mmol) dissout dans un mélange pyridine/acide acétique (1 : 1 v/v, 3 mL) est ajouté une solution aqueuse d'hydrazine hydrate 1M dans H_2O (145 μ l, 1.20 éq.). Après 20 min d'agitation à 20 °C, le milieu réactionnel est dilué avec du dichlorométhane, lavé à l'eau glacée puis avec des solutions aqueuses saturées

de KHSO_4 , NaHCO_3 et NaCl . La phase organique est séchée, filtrée et concentrée. Le 2-*O*-hydroxyle **81** est purifié par chromatographie sur gel de silice (éther de pétrole/acétate d'éthyle 4 : 1) conduisant au composé déprotégé désiré sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 94% (45 mg, 0.11 mmol).

Méthode 2 :

Une solution du *p*-méthoxyphényle rhamnopyranoside **76** (20 mg, 0.04 mmol) et de CAN (219 mg, 0.40 mmol, 10.00 éq.) dissous dans alcool allylique distillé (4 mL) est portée à reflux pendant une nuit. Le milieu réactionnel est évaporé, redilué avec du dichlorométhane, puis lavé avec une solution aqueuse saturée en NaCl . La phase organique est séchée, filtrée et concentrée. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (éther de pétrole/acétate d'éthyle 3 : 1) conduisant au composé allylé **81** désiré sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 63% (10 mg, 0.02 mmol). $R_f = 0.36$, EP/AcOEt 3 : 1 ; $[\alpha]_D^{24} -20$ ($c=1.0$, CHCl_3); $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25 °C): $\delta = 7.95$ (m, 4H, H_{arom}), 7.42 (m, 6H, H_{arom}), 5.96 (m, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.62 (m, 2H, $H-3$ et $H-4$), 5.32 (m, 2H, OCH_2CH), 4.95 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.7\text{Hz}$, $H-1$), 4.28 (m, 2H, $H-2$ et $\text{CH}=\text{CH}_2$), 4.10 (m, 1H, $H-5$), 2.65 (d, 1H, $^3J_{2,\text{OH}} = 4.5\text{Hz}$, $\text{OH}-2$), 1.31 ppm (d, 1H, $^3J_{5,6} = 6.3\text{Hz}$, $H-6$); $^{13}\text{C RMN}$ (CDCl_3 , 75 MHz): $\delta = 165.8$, 165.6 (COPh), 133.6 ($\text{CH}=\text{CH}_2$), 133.1, 133.1 ($\text{C}_{\text{q-arom}}$), 129.8, 129.8, 129.7, 129.6, 129.5, 128.5, 128.3, 128.3 (C_{arom}), 117.6 ($\text{CH}=\text{CH}_2$), 98.9 ($\text{C}-1$), 72.8 ($\text{C}-3$), 71.7 ($\text{C}-4$), 69.8 ($\text{C}-2$), 68.4 (OCH_2), 66.7 ($\text{C}-5$), 17.5 ppm ($\text{C}-6$). **ESI⁺-HRMS** : m/z calculée pour $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{O}_7\text{Na}$ [$\text{M} + \text{Na}$]⁺ : 435.14142 ; trouvée : 435.14113.

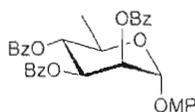
2,3,4-Tri-*O*-acétyl- α -D-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphényle (**82**)



Le rhamnopyranoside **70** (400 mg, 1.48 mmol, 1.00 éq.) est acétylé dans les mêmes conditions que le composé **13**. Le composé **82** est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle 2 : 1) conduisant au composé désiré sous la forme d'une poudre blanche avec un rendement de 99% (583 mg, 1.47 mmol). $R_f = 0.71$, hexane/AcOEt

1 : 1 ; $[\alpha]_D^{24} +70$ ($c=1.0$, CHCl_3) ; $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25 °C) : $\delta = 7.02\text{-}6.99$, 6.85-6.82 (m, 4H, H_{arom}), 5.51 (1H, dd, $^3J_{2,3} = 3.4$ Hz, $^3J_{3,4} = 9.9$ Hz, $H\text{-}3$), 5.43 (dd, 1H, $^3J_{1,2} = 0.9$ Hz, $^3J_{2,3} = 3.4$ Hz, $H\text{-}2$), 5.35 (1H, d, $^3J_{1,2} = 0.9$ Hz, $H\text{-}1$), 5.15 (t, 1H, $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 9.9$ Hz, $H\text{-}4$), 4.08-3.98 (m, 1H, $H\text{-}5$), 3.78 (s, 3H, OCH_3), 2.19, 2.06, 2.03 (3 x s, 9H, COCH_3), 1.22 ppm (d, 1H, $^3J_{5,6} = 6.2$ Hz, $^6\text{CH}_3$) ; $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3) : $\delta = 170.1$, 170.0, 170.0 (COCH_3), 155.2, 149.9 ($\text{C}_{\text{q-OMP}}$), 117.6, 114.6 (C_{arom}), 96.4 ($\text{C-}1$), 71.0 ($\text{C-}3$), 69.8 ($\text{C-}4$), 68.9 ($\text{C-}2$), 67.0 ($\text{C-}5$), 55.6 (OCH_3), 20.9, 20.8, 20.7 (COCH_3), 17.4 ppm ($\text{C-}6$). **ESI⁺-MS** : m/z calculée pour $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{O}_9\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^-$: 419.13125 ; trouvée : 419.13128.

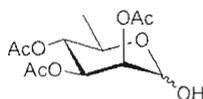
2,3,4-Tri-*O*-benzoyl- α -D-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphényle (83)



Le rhamnopyranoside **70** (0.540 g, 2.00 mmol) est benzoylé dans les mêmes conditions que le composé **61**. Le tri-*O*-benzoate **83** est purifié par chromatographie sur gel de silice (EP/AcOEt 3 : 1), conduisant au benzoate désiré avec un rendement de 99% (1.160 g, 1.99 mmol), sous la forme d'un solide blanc. Pf : 63-65 (CHCl_3/EP) ; $R_f = 0.51$, hexane/AcOEt 3 : 1 ; $R_f = 0.88$, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9 : 1 ; $[\alpha]_D^{24} -62$ ($c=1.0$, CHCl_3)²³³ ; $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , 22 °C) : $\delta = 8.14\text{-}7.25$ (15H, m, H_{arom}), 7.14-7.11, 6.89-6.86 (4H, m, $H_{\text{arom-OMP}}$), 6.05 (1H, dd, $^3J_{3,4} = 10.0$ Hz, $H\text{-}3$), 5.85 (1H, dd, $^3J_{2,3} = 3.2$ Hz, $H\text{-}2$), 5.76 (1H, t, $^3J_{4,5} = 10.0$ Hz, $H\text{-}4$), 5.63 (1H, d, $^3J_{1,2} = 1.6$ Hz, $H\text{-}1$), 4.40-4.31 (1H, m, $H\text{-}5$), 3.79 (3H, s, OCH_3), 1.36 (3H, d, $^3J_{5,6} = 6.2$ Hz, $H\text{-}6$) ; $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3) : $\delta = 165.7$, 165.6, 165.5 (COPh), 155.2, 150.1 ($\text{C}_{\text{q-arom-OMP}}$), 133.5-128.3 (C_{arom}), 117.7, 114.7 (C_{arom}), 96.6 ($\text{C-}1$), 71.7 ($\text{C-}3$), 70.7 ($\text{C-}4$), 69.8 ($\text{C-}2$), 67.3 ($\text{C-}5$), 55.6 (OCH_3), 17.7 ($\text{C-}6$) ; **ESI⁺-HRMS** : m/z calculée pour $\text{C}_{34}\text{H}_{31}\text{O}_9$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 583.19626 ; trouvée : 583.20356.

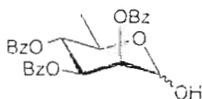
²³³ Valeur remesuré, corrigé sur l'erreur de publication : *Org. Biomol. Chem.*, 2007, 5, 2704-2708 +62 ($c=1.0$, CHCl_3).

2,3,4-Tri-*O*-acétyl- α -D-rhamnopyranose (**84**)



À une solution du *p*-méthoxyphényle **82** (500 mg, 1.26 mmol, 1.00 éq.) dissout dans un mélange de toluène/CH₃CN/H₂O (1 : 14 : 1 v/v/v, 24 mL) est ajouté du CAN (6.90 g, 12.60 mmol, 10.00 éq.). Après 2h d'agitation à température ambiante, le milieu réactionnel est concentré. Le résidu est dissout dans du dichlorométhane, lavé avec des solutions aqueuses saturées en NaCl, de NaHCO₃ et à l'eau. La phase organique est séchée, filtrée et concentrée. Après la purification par chromatographie sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle 3 : 2), l'hémiacétate **84** est obtenu avec un rendement de 76% (283 mg, 0.96 mmol) sous la forme d'un solide légèrement jaunâtre. Pf: 108-110 °C (CHCl₃/hexane) ; *R*_f = 0.41, hexane/AcOEt 1 : 1 ; ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ = 5.37 (dd, 1H, ³*J*_{2,3} = 3.4 Hz, ³*J*_{3,4} = 10.1 Hz, *H*-3), 5.26 (dd, 1H, ³*J*_{1,2} = 1.6 Hz, ³*J*_{2,3} = 3.4 Hz, *H*-2), 5.16 (1H, d, ³*J*_{1,2} = 1.5 Hz, *H*-1), 5.08 (t, 1H, ³*J*_{3,4} = ³*J*_{4,5} = 9.9 Hz, *H*-4), 4.18-4.08 (m, 1H, *H*-5), 2.15, 2.06, 2.00 (3 x s, 9H, COCH₃), 1.22 ppm (d, 1H, ³*J*_{5,6} = 6.2 Hz, ⁶CH₃) ; ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 170.3, 170.1, 170.1 (COCH₃), 92.1 (*C*-1), 71.1 (*C*-3), 70.2 (*C*-4), 68.8 (*C*-2), 66.3 (*C*-5), 20.9, 20.8, 20.7 (COCH₃), 17.4 ppm (*C*-6). ESI⁺-MS : *m/z* calculée pour C₁₂H₁₈O₈Na [M + Na]⁺ : 313.09 ; trouvée : 313.09.

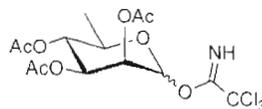
2,3,4-Tri-*O*-benzoyl-D-rhamnopyranose (**85**)



À une solution du *p*-méthoxyphényle **83** (0.890 g, 1.53 mmol, 1.00 éq.) dissout dans un mélange de toluène/CH₃CN/H₂O (1 : 14 : 1 v/v/v, 24 mL), est ajouté du nitrate de cerium IV ammoniacal (CAN, 8.370 g, 15.3 mmol, 10.00 éq.). Après 12h de réaction à température ambiante, le mélange est concentré. Le résidu est dissout dans du dichlorométhane, lavé avec

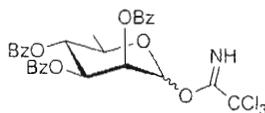
des solutions aqueuses saturées en NaCl, de NaHCO₃ et à l'eau. La phase organique est séchée, filtrée et concentrée. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle 3 : 1) conduisant au composé hémiacétate **85** désiré sous la forme d'un solide légèrement jaunâtre avec un rendement de 99% (720 mg, 1.52 mmol). Pf: 204-206 °C (EP/AcOEt) ; $R_f = 0.26$, hexane/AcOEt 3 : 1 ; $[\alpha]_D^{24} -20$ ($c=1.0$, CHCl₃) ; **¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C)**: $\delta = 8.12-7.23$ (15H, m, H_{arom}), 5.94 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.4$ et $^3J_{3,4} = 10.2$ Hz, $H-3$), 5.73–5.67 (m, 2H, $H-2$ et $H-4$), 5.47 (dd, 1H, $^3J_{1,2} = 1.6$ et $^3J_{H-1,OH} = 4.0$ Hz, $H-1$), 4.52–4.42 (m, 1H, $H-5$), 3.71 (d, 1H, $OH-1$), 1.37 (2d, 3H, $^3J_{3,6} = 6.3$ Hz, $H-6_{\alpha}$ et β) ; **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃)**: $\delta = 165.8, 165.7, 165.6$ (COPh), 133.5-128.2 (C_{arom}), 92.2 ($C-1$), 71.9 ($C-3$), 71.3 ($C-4$), 69.7 ($C-2$), 66.7 ($C-5$), 17.7 ($C-6$). **ESI⁺-MS** : m/z calculée pour C₂₇H₂₄O₈Na [M + Na]⁺ : 499.14 ; trouvée : 499.14.

2,2,2-Trichloroacétimide de 2,3,4-tri-*O*-acétyl-D-rhamnoopyranosyle (**86**)



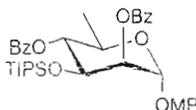
Le donneur imidate **86** est synthétisé à partir de l'hémiacétate **84** (0.143 g, 0.49 mmol, 1.00 éq.) dans les mêmes conditions que l'imidate galactopyranosyle **16**. Le composé **86** est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle 3 : 1) conduisant à l'imidate désiré sous la forme d'une poudre blanche avec un rendement de 67% (0.143 g, 0.33 mmol). $R_f = 0.35$, hex/AcOEt 3 : 1 ; **¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C)**: $\delta = 8.73$ (s, 1H, NH), 6.18 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.6$ Hz, $H-1$), 5.44 (dd, 1H, $^3J_{1,2} = 1.6$ Hz, $^3J_{2,3} = 3.4$ Hz, $H-2$), 5.34 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.4$ Hz, $^3J_{3,4} = 10.2$ Hz, $H-3$), 5.15 (t, 1H, $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 10.0$ Hz, $H-4$), 4.12-4.02 (m, 1H, $H-5$), 2.17, 2.06, 1.99 (3 x s, 9H, COCH₃), 1.25 ppm (d, 1H, $^3J_{5,6} = 6.2$ Hz, 6CH_3) ; **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃)**: $\delta = 169.8, 169.7, 169.7$ (COCH₃), 159.8 (C=NH), 94.6 ($C-1$), 90.6 (C_4 de CCl₃), 70.2 ($C-3$), 69.2 ($C-4$), 68.7 ($C-2$), 68.0 ($C-5$), 20.7, 20.7, 20.6 (COCH₃), 17.4 ppm ($C-6$).

2,2,2-Trichloroacétimide de 2,3,4-tri-*O*-benzoyl-*D*-rhamnopyranosyle (87)



L'hémiacétate **85** (318 mg, 0.66 mmol, 1.00 éq.) est converti en donneur imidate **87** dans les mêmes conditions que le composé **16**. L'imidate rhamnopyranosyle **87** est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle 3 : 1) conduisant au composé désiré sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 97% (397 mg, 0.64 mmol). $R_f = 0.46$, hex/AcOEt 3 : 1 ; $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25 °C): $\delta = 8.83$ (1H, s, NH), 8.13-7.25 (m, 15H, H_{arom}), 6.50 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.4$ Hz, $H-1$) 5.93-5.88 (m, 2H, $H-2$ et $H-3$), 5.79 (t, 1H, $^3J_{1,2} = ^3J_{2,3} = 9.9$ Hz, $H-4$), 4.46-4.37 (m, 1H, $H-5$), 1.43 (d, 3H, $^3J_{1,2} = 6.3$ Hz, $H-6$) ; $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 165.6, 165.4, 165.2$ (COPh), 160.0 (CNH), 133.6, 133.4, 133.2 ($C_{\text{q-arom}}$), 129.9-128.3 (C_{arom}), 94.7 ($C-1$), 90.7 (C_{q} de CCl_3), 71.0 ($C-3$), 69.6 ($C-4$), 69.6 ($C-2$), 69.0 ($C-5$), 17.7 ppm ($C-6$). $\text{ESI}^+\text{-MS}$: m/z calculée pour $\text{C}_{29}\text{H}_{24}\text{Cl}_3\text{NO}_8\text{Na}$ [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$: 642.05 ; trouvée : 642.05.

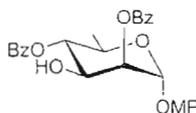
2,4-Di-*O*-benzoyl-3-*O*-triisopropylsilyl- α -*D*-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphényle (88)



À la solution du rhamnopyranoside **70** (108 mg, 0.40 mmol, 1.00 éq.) dissout dans du dichlorométhane distillé (30 mL), sont ajoutés de la 2,6-lutidine 99% (76 μL , 0.64 mmol, 1.6 éq.) et du triisopropylsilyle trifluorométhanesulfonate (TIPSOTf, 97%) (118 μL , 0.42 mmol, 1.05 éq.) sous atmosphère inerte à 0 °C. Le milieu réactionnel est agité à 0 °C pendant 4h, puis versé dans l'eau glacée, lavée avec des solutions aqueuses saturées de NaHCO_3 , NaCl . Les phases organiques sont séchées, filtrées et concentrées. L'intermédiaire diol non isolé est ensuite benzoylé dans les conditions classiques (chlorure de benzoyle (1.20 éq. par OH libre)

dans de la pyridine distillée). Le composé **88** est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/AcOEt 30 : 1) conduisant au composé désiré sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 70% (179 mg, 0.28 mmol). $R_f = 0.45$, hex/AcOEt 3 : 1 ; $[\alpha]_D^{25} -1$ ($c=1.0$, CHCl_3) ; $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25 °C): $\delta = 8.18-8.15$, $8.10-8.01$ (m, 4H, m, H_{arom}), $7.62-7.44$ (m, 6H H_{arom}), $7.07-7.04$, $6.87-6.84$ (m, 4H, H_{arom}), 5.60 (1H, t, $^3J_{4,5} = 10.0$ Hz, $H-4$), 5.56 (1H, d, $^3J_{1,2} = 1.6$ Hz, $H-1$), 5.51 (1H, dd, $^3J_{2,3} = 3.2$ Hz, $H-2$), 4.79 (1H, dd, $^3J_{3,4} = 10.0$ Hz, $H-3$), $4.17-4.01$ (1H, m, $H-5$), 3.79 (3H, s, OCH_3), 1.27 (3H, d, $^3J_{5,6} = 6.2$ Hz, $H-6$), 0.94 ppm (d, 18H, $\text{CH}_3\text{-TIPS}$) ; $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 166.2$, 165.8 (COPh), 155.1 , 150.3 ($\text{C}_{\text{q-OMP}}$), 133.3 , 133.1 ($\text{C}_{\text{q-arom}}$), $130.0-128.3$ (C_{arom}), 117.7 , 114.6 (C_{arom}), 96.6 (C-1), 74.8 (C-3), 73.5 (C-4), 68.8 (C-2), 67.6 (C-5), 55.6 (OCH_3), 17.8 ($\text{CH}_3\text{-TIPS}$), 17.7 (C-6), 12.5 ppm ($\text{CH}_2\text{-TIPS}$). **ESI⁺-MS** : m/z calculée pour $\text{C}_{36}\text{H}_{46}\text{O}_8\text{SiNa}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 657.28542 ; trouvée : 657.28538.

2,4-Di-*O*-benzoyl- α -D-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphényle (**89**)



Méthode 1 :

À une solution du composé **88** (247 mg, 0.39 mmol, 1.00 éq.) dissout dans du THF (10 mL), sont ajoutés de l'acide acétique glacial jusqu'à pH 5 ($\approx 5-6$ gouttes) et par la suite, du TBAF (1M dans THF, 430 μL , 0.43 mmol, 1.10 éq.) à 0 °C. Le mélange est agité pendant 45 min à 0 °C puis concentré. Le 3-hydroxyle **89** est purifié par chromatographie sur gel de silice (éther de pétrole/acétate d'éthyle 5 : 1) conduisant au composé désiré sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 63% (117 mg, 0.25 mmol).

Méthode 2 :

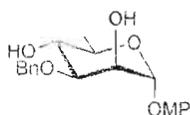
À une solution du composé benzylé **92** (370 mg, 0.65 mmol, 1.00 éq.) dissout dans un minimum du dichlorométhane distillé (1 mL), sont ajoutés de l'éthanol absolu (10 mL) et une goutte de HCl concentré. Une quantité catalytique du palladium sur charbon 10% est ajouté par la suite au milieu réactionnel. Après une nuit d'agitation sous atmosphère

d'hydrogène à température ambiante, le mélange est filtré sur célite, puis concentré. Le composé debenzylé **89** est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle 4 : 1) conduisant au 3-hydroxyle désiré sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 99% (306 mg, 0.64 mmol).

Méthode 3 :

À une solution du composé allylé **93** (64 mg, 0.12 mmol, 1.00 éq.) dissout dans un mélange de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (2 : 3, v/v, 5 mL), est ajouté une quantité catalytique du PdCl_2 . Le mélange est agité sous atmosphère d'hydrogène à température ambiante pendant 5h. Le mélange est filtré sur célite, puis concentré. Le 3-hydroxyle **89** est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle 4 : 1) conduisant au composé deallylé désiré sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 74% (42 mg, 0.09 mmol). Pf: 90-92 °C (AcOEt/EP) ; $R_f = 0.39$, EP/AcOEt 4 : 1 ; $R_f = 0.29$, hexane/AcOEt 4 : 1 ; $R_f = 0.36$, hexane/AcOEt 3 : 1 ; $[\alpha]_{\text{D}}^{24} +21$ ($c=1.0$, CHCl_3) ; $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25 °C): $\delta = 8.17\text{-}8.09$, 7.66-7.46 (m, 10H, H_{arom}), 7.10-7.04, 6.89-6.85 (m, 4H, $H_{\text{arom-OMP}}$), 5.60-5.58 (m, 2H, $H-1$, and $H-2$), 5.36 (t, 1H, $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 9.9$ Hz, $H-4$), 4.57-4.50 (m, 1H, $H-3$), 4.29-4.20 (m, 1H, $H-5$), 3.80 (s, 3H, OCH_3), 2.61 (d, 1H, $^3J_{3,\text{OH}} = 7.4$ Hz, OH-3), 1.33 ppm (d, 3H, $^3J_{5,6} = 6.3$ Hz, $H-6$) ; $^{13}\text{C RMN}$ (CDCl_3 , 75 MHz): $\delta = 167.0$, 166.0 (COPh), 155.2, 150.1 ($\text{C}_{\text{q-arom-OMP}}$), 133.6-128.5 (C_{arom}), 117.7, 114.6 ($\text{C}_{\text{arom-OMP}}$), 96.5 (C-1), 75.4 (C-3), 73.0 (C-4), 68.8 (C-2), 66.9 (C-5), 55.6 (OCH_3) 17.6 ppm (C-6). ESI⁺-MS : m/z calculée pour $\text{C}_{27}\text{H}_{26}\text{O}_8\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^-$: 501.2 ; trouvée : 501.2.

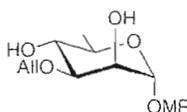
2-O-Benzyl- α -D-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphényle (**90**)



La fonction hydroxyle en position 3 du rhamnopyranoside **70** (135 mg, 0.50 mmol, 1.00 éq.) est benzylé dans les mêmes conditions que le benzylidène **56**. Le 3-O-benzylé **90** est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle 3 : 2) conduisant au

composé désiré sous la forme d'une poudre blanche avec un rendement de 78% (140 mg, 0.37 mmol). $R_f = 0.40$, hexane/AcOEt 1 : 1 ; $[\alpha]_D^{25} +57$ ($c=1.0$, CHCl_3) ; $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25 °C): $\delta = 7.42\text{-}7.41$ (m, 5H, $H_{\text{arom-Bn}}$), 7.02-6.99, 6.86-6.83 (m, 4H, $H_{\text{arom-OMP}}$), 5.46 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.6$ Hz, $H-1$), 4.81-4.65 (2d, 2H, $^2J_{\text{H,H}} = 10.9$ Hz, OCH_2Ph), 4.22 (m, 1H, $H-2$), 3.85 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.3$ Hz, $^3J_{3,4} = 9.2$ Hz, $H-3$), 3.81 (m, 1H, $H-5$), 3.79 (sl, 3H, OCH_3), 3.65 (dt, 1H, $^3J_{\text{H-4,OH-4}} = 2.9$ Hz, $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 9.3$ Hz, $H-4$), 2.54 (d, 1H, $^3J_{\text{H-2,OH-2}} = 2.0$ Hz, OH-2), 2.27 (d, 1H, $^3J_{\text{H-4,OH-4}} = 2.9$ Hz, OH-4), 1.29 ppm (d, 1H, $^3J_{5,6} = 6.2$ Hz, $^6\text{CH}_3$) ; $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 154.9, 150.2$ ($\text{C}_{\text{q-OMP}}$), 137.6 ($\text{C}_{\text{q-Bn}}$), 128.8, 128.3, 127.9 ($\text{C}_{\text{arom-Bn}}$), 117.6, 114.6 ($\text{C}_{\text{arom-OMP}}$), 98.2 (C-1), 79.6 (C-3), 71.9 (C-4), 71.6 (C-2), 68.4 (OCH_2Ph), 67.8 (C-5), 55.6 (OCH_3), 17.6 ppm (C-6). $\text{ESI}^+\text{-MS}$: m/z calculée pour $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_6\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 383.15 ; trouvée : 383.15.

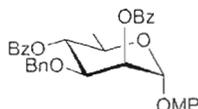
3-*O*-Allyl- α -D-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphényle (91)



La fonction hydroxyle en position 3 du rhamnopyranoside **70** (270 mg, 1.00 mmol, 1.00 éq.) est allylé dans les mêmes conditions que le mannopyranoside **56**. Le composé **91** est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle 2 : 1 à 1 : 1) conduisant au composé allylé désiré sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 65% (202 mg, 0.65 mmol). $R_f = 0.32$, hexane/AcOEt 1 : 1 ; $[\alpha]_D^{25} +96$ ($c=1.0$, CHCl_3) ; $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25 °C): $\delta = 7.02\text{-}6.99, 6.86\text{-}6.82$ (m, 4H, $H_{\text{arom-OMP}}$), 6.07-5.94 (m, 1H, $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.46 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.7$ Hz, $H-1$), 5.41-5.26 (m, 2H, OCH_2), 4.30-4.12 (m, 3H, $H-2$, $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 3.85 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.3$ Hz, $^3J_{3,4} = 9.2$ Hz, $H-3$), 3.81 (m, 1H, $H-5$), 3.78 (sl, 3H, OCH_3), 3.62 (dt, 1H, $^3J_{\text{H-4,OH-4}} = 2.9$ Hz, $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 9.3$ Hz, $H-4$), 2.55 (d, 1H, $^3J_{\text{H-2,OH-2}} = 2.0$ Hz, OH-2), 2.37 (d, 1H, $^3J_{\text{H-4,OH-4}} = 2.9$ Hz, OH-4), 1.29 ppm (d, 1H, $^3J_{5,6} = 6.2$ Hz, $^6\text{CH}_3$) ; $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 154.9, 150.2$ ($\text{C}_{\text{q-OMP}}$), 134.2 ($\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 118.1, 117.6 ($\text{C}_{\text{arom-OMP}}$), 114, 6 ($\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 98.2 (C-1), 79.2 (C-3),

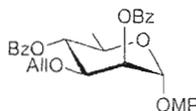
71.5 (C-4), 70.6 (C-2), 68.4 (OCH₂), 67.8 (C-5), 55.6 (OCH₃), 17.6 ppm (C-6). **ESI⁺-HRMS** : *m/z* calculée pour C₁₆H₂₂O₆Na [M + Na]⁻ : 333.13086 ; trouvée : 333.13000.

2,4-Di-*O*-benzoyl-3-*O*-benzyl- α -D-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphényle (**92**)



À une solution du diol **90** (470 mg, 1.30 mmol, 1.00 éq.) dissout dans de la pyridine distillée (20 mL), est ajouté du chlorure de benzoyle (360 μ L, 3.12 mmol, 2.40 éq.) à 0 °C sous atmosphère d'azote. Après une nuit d'agitation à température ambiante, le milieu réactionnel est dilué avec du dichlorométhane, puis lavé à l'eau glacée et avec des solutions aqueuses saturées de KHSO₄, NaHCO₃ et NaCl. La phase organique est séchée, filtrée et concentrée. Le dibenzoyle **92** est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle 4 : 1) conduisant au composé désiré sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 99% (732 mg, 1.29 mmol). Pf: 48-51 °C (CH₂Cl₂/EP) ; *R_f* = 0.66, hexane/AcOEt 2 : 1 ; $[\alpha]_{D}^{25}$ -58 (*c*=1.0, CHCl₃) ; **¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C)** : δ = 8.19-8.17, 8.06-8.03 (m, 4H, *H*_{arom-Bz}), 7.65-7.46, 7.20-7.13, 6.89-6.85 (m, 15H, *H*_{arom}), 5.83 (dd, 1H, ³*J*_{1,2} = 2.0 Hz, ³*J*_{2,3} = 3.2 Hz, *H*-2), 5.58 (d, 1H, ³*J*_{1,2} = 1.7 Hz, *H*-1), 5.56 (t, 1H, ³*J*_{3,4} = ³*J*_{4,5} = 9.8 Hz, *H*-4), 4.66 (2d, 2H, ²*J*_{H,H} = 10.9 Hz, OCH₂Ph), 4.29 (dd, 1H, ³*J*_{2,3} = 3.3 Hz, ³*J*_{3,4} = 9.8 Hz, *H*-3), 4.15 (m, 1H, *H*-5), 3.80 (sl, 3H, OCH₃), 1.32 ppm (d, 1H, ³*J*_{5,6} = 6.2 Hz, ^oCH₃) ; **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃)** : δ = 165.8, 165.7 (C^oPh), 155.2, 150.1 (C_q-OMP), 137.6 (C_q-Bn), 133.4, 133.2 (C_{arom-Bz}), 130.0-127.5 (C_{arom}), 117.7, 114.6 (C_{arom-OMP}), 97.0 (C-1), 74.0 (C-3), 73.0 (C-4), 71.0 (C-2), 68.9 (OCH₂Ph), 67.4 (C-5), 55.6 (OCH₃), 17.7 ppm (C-6). **ESI⁺-HRMS** : *m/z* calculée pour C₃₄H₃₅O₈ [M + H]⁺ : 569.21699 ; trouvée : 569.22632.

2,4-Di-*O*-benzoyl-3-*O*-allyl- α -D-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphényle (93)



À une solution du diol **91** (160 mg, 0.51 mmol, 1.00 éq.) dissout dans de la pyridine distillée (10 mL), est ajouté du chlorure de benzoyle (141 μ L, 1.22 mmol, 2.40 éq.) à 0 °C et sous atmosphère inerte. Le milieu réactionnel est agité pendant la nuit à température ambiante, puis dilué avec du dichlorométhane et lavé à l'eau glacée. La phase organique est lavée avec des solutions aqueuses saturées de KHSO₄, NaHCO₃, NaCl puis séchée, filtrée et concentrée. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle 4 : 1) conduisant au dibenzoyl **93** désiré sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 99% (262 mg, 0.50 mmol). $R_f = 0.75$, hexane/AcOEt 2 : 1 ; $[\alpha]_D^{25} -2$ ($c=1.0$, CHCl₃); ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C): $\delta = 8.21-8.13$ (m, 4H, $H_{\text{arom-Bz}}$), 7.65-7.48 (m, 6H, $H_{\text{arom-Bz}}$), 7.14-7.10, 6.91-6.88 (m, 4H, $H_{\text{arom-OMP}}$), 5.82 (dd, 1H, $^3J_{1,2} = 1.9$ Hz, $^3J_{2,3} = 3.2$ Hz, $H-2$), 5.75 (m, 1H, OCH₂CH=CH₂), 5.62 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.7$ Hz, $H-1$), 5.58 (t, 1H, $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 9.8$ Hz, $H-4$), 5.16 (m, 2H, OCH₂), 4.20 (m, 4H, $H-3$, $H-5$, OCH₂CH=CH₂), 3.77 (sl, 3H, OCH₃), 1.36 ppm (d, 1H, $^3J_{5,6} = 6.2$ Hz, 6CH_3); ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃): $\delta = 165.6$, 165.5 (COPh), 155.1, 150.0 ($C_{\text{q-OMP}}$), 134.2 (OCH₂CH=CH₂), 133.4, 133.2 ($C_{\text{q-arom-Bz}}$), 129.9-128.3 (C_{arom}), 117.6 ($C_{\text{arom-OMP}}$), 117.2 (OCH₂CH=CH₂), 114.5 ($C_{\text{arom-OMP}}$), 96.9 ($C-1$), 74.3 ($C-3$), 73.1 ($C-4$), 70.6 ($C-2$), 69.4 (OCH₂Ph), 67.3 ($C-5$), 55.4 (OCH₃), 17.6 ppm ($C-6$). ESI⁺-MS : m/z calculée pour C₃₀H₃₀O₈Na [M + Na]⁺ : 541.18 ; trouvée : 541.18.

2,3-*O*-Isopopylidene- α -D-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphényle (94)



Le rhamnopyranoside **70** (600 mg, 2.22 mmol, 1.00 éq.) et d'acide *p*-toluènesulfonique monohydraté (86 mg, 0.44 mmol, 0.20 éq.) sont dissouts dans un mélange 2,2-diméthoxyprone et acétone (1 : 1 v/v, 9 mL). Après 1h d'agitation à température ambiante, la réaction est stopée par ajout d'une solution aqueuse saturée de NaHCO₃ (4.5 mL). Le produit est extrait avec de l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée avec une solution aqueuse saturée de NaCl, séchée, filtrée et concentrée. L'isopropylidène **94** est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle 2 : 1) conduisant au composé désiré sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 98% (676 mg, 2.18 mmol). Pf: 82-84 °C (CH₂Cl₂/hexane); *R_f* = 0.39, hexane/AcOEt 2 : 1; [α]_D²⁴ +74 (*c*=1.0, CHCl₃); ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ = 7.02-6.99, 6.86-6.83 (m, 4H, *H*_{arom}), 5.61 (d, 1H, ³*J*_{1,2} = 1.6 Hz, *H*-1), 4.36 (dd, 1H, ³*J*_{2,3} = 3.3 Hz, *H*-2), 4.24 (t, 1H, ³*J*_{3,4} = 9.9 Hz, *H*-3), 3.83 (m, 1H, *H*-5), 3.78 (sl, 3H, OCH₃), 3.46 (ddd, ³*J*_{H-4,OH-4} = 4.3 Hz, ³*J*_{4,5} = 7.3 Hz, ³*J*_{3,1} = 9.7 Hz, *H*-4), 2.89 (d, 1H, ³*J*_{H-4,OH-4} = 4.3 Hz, OH-4), 1.57, 1.41 (2 x s, 6H, 2 x CH₃), 1.26 ppm (d, 3H, ³*J*_{5,6} = 6.3 Hz, ⁶CH₃); ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 154.8, 150.0 (C_{q-arom}), 117.6, 114.5 (C_{arom}), 109.6 (C_q), 96.1 (C-1), 78.5 (C-3), 75.8 (C-4), 74.4 (C-2), 66.3 (C-5), 55.5 (OCH₃), 27.9, 26.2 [C(CH₃)₂], 17.2 ppm (C-6). ESI⁺-HRMS : *m/z* calculée pour C₂₈H₃₀O₉Na [M + Na]⁻ : 533.17820 ; trouvée : 533.17820.

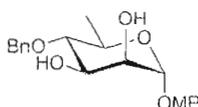
4-*O*-Benzyl-2,3-*O*-isopropylidène- α -D-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphényle (**95**)



À une suspension d'hydruide de sodium (NaH, 150 mg, 6.21 mmol, 3.00 éq.) préalablement lavé avec du hexane, dans du DMF (5 mL), est ajoutée goutte à goutte à 0 °C et sous atmosphère d'azote, une solution de l'isopropylidène **94** (645 mg, 2.07 mmol, 1.00 éq.) dissout dans du DMF (15 mL). La suspension est agitée pendant 30 min. Une quantité catalytique d'iodure de tétrabutylammonium (TBAI) et du bromure de benzyle (746 μ L, 6.21 mmol, 3.00 éq.) sont ajoutés à la suspension à 0 °C et sous atmosphère inerte. Après 24h d'agitation à température ambiante, le milieu est neutralisé par ajout du MeOH à 0 °C puis

concentré. Le résidu est repris dans du dichlorométhane, lavé à l'eau et une solution aqueuse saturée en NaCl. La phase organique est séchée, filtrée et concentrée. Le composé benzylé **95** est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle 9 : 1) conduisant au composé 4-*O*-benzyle désiré sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 99% (828 mg, 2.06 mmol). Pf: 65-67 °C (EtOH 100%) ; $R_f = 0.48$, hexane/AcOEt 4 : 1 ; $[\alpha]_D^{25} +84$ ($c=1.0$, CHCl₃) ; ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C): $\delta = 7.38-7.27$ (m, 5H, $H_{\text{arom-Bn}}$), 7.01-6.85 (m, 4H, $H_{\text{arom-OMP}}$), 5.61 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.6$ Hz, $H-1$), 4.96-4.65 (2d, 2H, $^2J_{\text{H,H}} = 10.9$ Hz, OCH₂Ph), 4.45 (t, 1H, $^3J_{3,4} = 9.9$ Hz, $H-3$), 4.38 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.3$ Hz, $H-2$), 3.90 (m, 1H, $H-5$), 3.78 (sl, 3H, OCH₃), 3.30 (dd, 1H, $^3J_{4,5} = 7.0$ Hz, $^3J_{3,4} = 9.8$ Hz, $H-4$), 1.56, 1.43 (2 x s, 6H, 2 x CH₃), 1.26 ppm (d, 3H, $^3J_{5,6} = 6.3$ Hz, $^6\text{CH}_3$) ; ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃): $\delta = 154.8$, 150.1 ($C_{\text{q-arom-OMP}}$), 138.2 ($C_{\text{q-arom-Bn}}$), 128.2, 127.9, 127.6 ($C_{\text{arom-Bn}}$), 117.6, 114.5 ($C_{\text{arom-OMP}}$), 109.4 (C_{q}), 96.1 ($C-1$), 81.0 (CH₂Ph), 78.6 ($C-3$), 76.0 ($C-4$), 72.9 ($C-2$), 65.3 ($C-5$), 55.5 (OCH₃), 27.9, 26.4 [C(CH₃)₂], 17.8 ppm ($C-6$). ESI⁺-HRMS : m/z calculée pour C₂₃H₂₈O₆Na [M + Na]⁺ : 423.17781 ; trouvé : 423.16746.

4-*O*-Benzyl- α -D-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphényle (**96**)



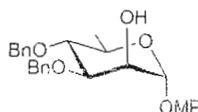
Méthode A :

À une solution de l'isopropylidène **95** (60 mg, 0.15 mmol, 1.00 éq.) dissout dans un mélange du MeOH/dioxane (1 : 1, v/v, 6 mL), est ajouté d'acide *p*-toluènesulfonique monohydraté (3 mg, 0.02 mmol, 0.1 éq.). Après 2h30 d'agité à reflux, le milieu réactionnel est neutralisé par ajout d'Et₃N (2 μ L, 0.02 mmol, 0.1 éq.) puis évaporé à sec. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle 3 : 2) conduisant au diol **96** désiré sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 65% (35 mg, 0.01 mmol).

Méthode B :

À une solution du composé **95** (290 mg, 0.72 mmol, 1.00 éq.) dissout dans un mélange de H₂O/THF 1 : 4 (15 mL), est ajouté d'acide trifluoacétique (TFA, 3 mL) à 0 °C. Après une nuit d'agitation à température ambiante, le milieu réactionnel est neutralisé par ajout d'ammoniaque (NH₄OH) puis dilué dans du dichlorométhane, lavé à l'eau et avec une solution aqueuse saturée en NaCl. Après séchage sur Na₂SO₄, filtration et évaporation de la phase organique, le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle 1 : 1) conduisant au diol **96** désiré sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 95% (245 mg, 0.68 mmol). Pf: 66-67 °C (AcOEt/EP) ; $R_f = 0.27$, hexane/AcOEt 1 : 1 ; $[\alpha]_D^{24} +104$ ($c=1.0$, CHCl₃) ; **¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C)**: $\delta = 7.38-7.31$ (m, 5H, $H_{\text{arom-Bn}}$), 7.00-6.97, 6.84-6.81 (m, 4H, $H_{\text{arom-OMP}}$), 5.40 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.6$ Hz, $H-1$), 4.77 (sl, 2H, OCH₂Ph), 4.16-4.10 (m, 2H, $H-2$, $H-3$), 3.93-3.84 (m, 1H, $H-5$), 3.78 (sl, 3H, OCH₃), 3.44 (dd, 1H, $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 9.2$ Hz, $H-4$), 2.96 (d, 1H, $^3J_{H-2,OH-2} = 3.6$ Hz, OH-2), 2.70 (d, 1H, $^3J_{H-3,OH-3} = 4.8$ Hz, OH-3), 1.33 ppm (d, 3H, $^3J_{5,6} = 6.3$ Hz, $^6\text{CH}_3$) ; **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃)**: $\delta = 154.8$, 150.1 ($C_{\text{q-arom-OMP}}$), 138.1 ($C_{\text{q-arom-Bn}}$), 128.6, 128.0, 127.9 ($C_{\text{arom-Bn}}$), 117.5, 114.6 ($C_{\text{arom-OMP}}$), 98.1 ($C-1$), 81.5 (CH₂Ph), 75.0 ($C-3$), 71.3 ($C-4$), 71.0 ($C-2$), 67.9 ($C-5$), 55.6 (OCH₃), 18.0 ppm ($C-6$). **ESI⁺-HRMS** : m/z calculée pour C₂₀H₂₄O₆Na [M + Na]⁺ : 383.14651 ; trouvée : 383.15498.

3,4-Di-*O*-benzyl- α -D-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphényle (**97**)



Le dibenzyle **97** est synthétisé à partir du diol **96** (100 mg, 0.277 mmol, 1.00 éq.) dans les mêmes conditions que le diol **90** (14h). Le composé **97** est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle 3 : 1) conduisant au 3-benzyle désiré sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 81% (101 mg, 0.224 mmol). $R_f = 0.20$, EP/AcOEt 3 : 1 ; $[\alpha]_D^{24} +84$ ($c=1.0$, CHCl₃) ; **¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C)**: $\delta = 7.44-7.31$ (m, 10H, $H_{\text{arom-Bn}}$), 7.02-6.96, 6.87-6.81 (m, 4H, $H_{\text{arom-OMP}}$), 5.46 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.7$ Hz, $H-1$), 4.93, 4.68 (2d, 2H, $^2J_{H,H} = 10.9$ Hz, OCH₂Ph), 4.24-4.22 (m, 1H, $H-2$), 4.06 (dd, 1H,

$^3J_{2,3} = 3.4$ et $^3J_{3,4} = 9.1$ Hz, $H-3$), 3.94-3.84 (m, 1H, $H-5$), 3.79 (s, 3H, OCH₃), 3.55 (t, 1H, $^3J_{4,5} = 9.4$ Hz, $H-4$), 2.68 (d, 1H, $^3J_{2,OH} = 1.8$ Hz, OH-2), 1.30 (d, 3H, $^3J_{5,6} = 6.2$ Hz, $H-6$) ; ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl₃): $\delta = 154.8, 150.1$ (C_{q-arom-OMP}), 138.3, 137.8 (C_{q-arom-Bn}), 128.6-127.7 (C_{arom-Bn}), 117.5, 114.6 (C_{arom-OMP}), 97.8 (C-1), 79.9, 79.8 (2 x OCH₂Ph), 75.4 (C-3), 72.2 (C-4), 68.5 (C-2), 67.9 (C-5), 55.6 (OCH₃), 17.9 ppm (C-6). ESI⁺-HRMS : m/z calculée pour C₂₇H₃₀O₆Na [M + Na]⁻ : 473.19346 ; trouvée : 473.18441.

2,3-*O*-Isopropylidene- α -D-rhamnopyranoside d'allyle (98)



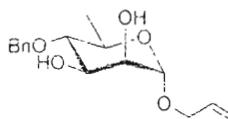
Le rhamnopyranoside **53** (70 mg, 0.34 mmol, 1.00 éq.) est engagé dans les mêmes conditions que l'isopropylidène **94** pour une protection sélective des groupements hydroxyles 2 et 3. L'isopropylidène **98** est purifié par chromatographie rapide sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle 1 : 1) conduisant au composé désiré sous la forme d'une huile incolore avec un rendement quantitatif (83 mg, 0.34 mmol). $R_f = 0.67$, hexane/AcOEt 1 : 1 ; ^1H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C): $\delta = 5.95$ -5.82 (m, 1H, OCH₂CH=CH₂), 5.32-5.17 (m, 2H, OCH₂CH=CH₂), 4.99 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.6$ Hz, $H-1$), 4.20 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.3$ Hz, $H-2$), 4.10 (t, 1H, $^3J_{3,4} = 9.9$ Hz, $H-3$), 4.02-3.95 (m, 2H, OCH₂CH=CH₂), 3.70-3.61 (m, 1H, $H-5$), 3.39-3.33 (ddd, $^3J_{H-4,OH-4} = 4.3$ Hz, $^3J_{4,5} = 7.3$ Hz, $^3J_{3,4} = 9.7$ Hz, $H-4$), 2.60 (d, 1H, $^3J_{H-4,OH-4} = 4.3$ Hz, OH-4), 1.51, 1.47 (2 x s, 6H, 2 x CH₃), 1.36 ppm (d, 3H, $^3J_{5,6} = 6.3$ Hz, CH₃) ; ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl₃): $\delta = 133.6$ (OCH₂CH=CH₂), 117.8 (OCH₂CH=CH₂), 109.5 (C_q), 96.2 (C-1), 78.3 (C-3), 75.8 (C-4), 74.4 (C-2), 68.0 (OCH₂), 65.9 (C-5), 27.9, 26.1 [C(CH₃)₂], 17.4 ppm (C-6). ESI⁺-HRMS : m/z calculée pour C₁₂H₂₀O₅Na [M + Na] : 267.12029 ; trouvée : 267.11973.

4-*O*-Benzyl-2,3-*O*-isopropylidene- α -D-rhamnopyranoside d'allyle (**99**)



La fonction hydroxyle en position 4 de l'isopropylidène **98** (1.10 g, 4.50 mmol, 1.00 équ.) est benzylé dans les mêmes conditions que le benzyle **95** (4h). La purification par chromatographie sur gel de silice (hexane 100%, puis CH₂Cl₂ 100%) conduit au composé désiré sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 99% (1.49 g, 4.46 mmol). R_f = 0.50, hexane/AcOEt 9 : 1 ; $[\alpha]_D^{25}$ +67 ($c=1.0$, CHCl₃) ; $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ = 7.38-7.24 (m, 5H, H_{arom}), 5.96-5.83 (m, 1H, OCH₂CH=CH₂), 5.32-5.17 (m, 2H, OCH₂CH=CH₂), 5.00 (d, 1H, $^3J_{1,2}$ = 1.6 Hz, $H-1$), 4.90, 4.62 (2d, 2H, $^2J_{\text{H,H}}$ = 11.5 Hz, OCH₂Ph), 4.28 (t, 1H, $^3J_{3,4}$ = 9.9 Hz, $H-3$), 4.19 (dd, 1H, $^3J_{2,3}$ = 3.3 Hz, $H-2$), 4.19-4.13 (m, 1H, OCH₂CH=CH₂), 4.01-3.94 (m, 1H, OCH₂CH=CH₂), 3.76-3.66 (m, 1H, $H-5$), 3.21 (dd, $^3J_{3,4}$ = 7.1 Hz, $^3J_{4,5}$ = 9.9 Hz, $H-4$), 1.50, 1.37 (2 x s, 6H, 2 x CH₃), 1.28 ppm (d, 3H, $^3J_{5,6}$ = 6.3 Hz, $^6\text{CH}_3$) ; $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl₃): δ = 138.3 ($C_{\text{q-arom-Bn}}$), 133.6 (OCH₂CH=CH₂), 128.2, 127.9, 127.5 (C_{arom}), 117.6 (OCH₂CH=CH₂), 109.1 (C'_{q}), 96.0 ($C-1$), 81.1 (OCH₂Ph), 78.6 ($C-3$), 76.0 ($C-4$), 72.9 ($C-2$), 67.7 (OCH₂), 64.5 ($C-5$), 27.9, 26.3 [C(CH₃)₂], 17.8 ppm ($C-6$). **ESI⁺-HRMS** : m/z calculée pour C₁₉H₂₆O₅Na [M + Na] : 357.16725 ; trouvée : 357.16658 ; m/z calculée pour C₁₉H₂₇O₅ [M + H]⁺ : 335.18530 ; trouvée : 335.18587.

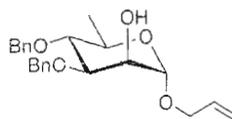
4-*O*-Benzyl- α -D-rhamnopyranoside d'allyle (**100**)



L'isopropylidène **99** (1.40 g, 4.18 mmol, 1.00 équ.) est déprotégé dans les mêmes conditions que le diol **96** en utilisant la méthode B. Une cristallisation dans un mélange de CH₂Cl₂/EP conduit au composé diol **100** désiré avec un rendement quantitatif (1.23 g, 4.18

mmol). Pf : 63-64 °C ; $R_f = 0.34$, hexane/AcOEt 1 : 1 ; $[\alpha]_D^{25} -70$ ($c=1.0$, CHCl₃) ; **¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C)** : $\delta = 7.41-7.29$ (m, 5H, $H_{\text{arom-Bn}}$), 5.95-5.82 (m, 1H, OCH₂CH=CH₂), 5.32-5.17 (m, 2H, OCH₂CH=CH₂), 4.81 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.6$ Hz, $H-1$), 4.75 (sl, 2H, OCH₂Ph), 4.20-4.14 (m, 1H, OCH₂CH=CH₂), 4.01-3.91 (m, 3H, $H-2$, $H-3$, OCH₂CH=CH₂), 3.81-3.71 (m, 1H, $H-5$), 3.36 (t, 1H, $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 9.3$ Hz, $H-4$), 2.46 (d, 1H, $^3J_{H-2,OH-2} = 3.6$ Hz, $OH-2$), 2.38 (d, 1H, $^3J_{H-3,OH-3} = 4.8$ Hz, $OH-3$), 1.36 ppm (d, 3H, $^3J_{5,6} = 6.3$ Hz, 6CH_3) ; **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃)** : $\delta = 138.1$ ($C_{\text{q-arom-Bn}}$), 133.7 (OCH₂CH=CH₂), 128.6, 128.0, 128.0 ($C_{\text{arom-Bn}}$), 117.4 (OCH₂CH=CH₂), 98.4 ($C-1$), 81.7 (CH₂Ph), 75.0 ($C-3$), 71.5 ($C-4$), 71.2 ($C-2$), 67.9 (OCH₂), 67.2 ($C-5$), 18.0 ppm ($C-6$). **ESI⁺-HRMS** : m/z calculée pour C₁₆H₂₂O₃Na [M + Na]⁺ : 317.13594 ; trouvée : 317.13535.

3,4-Di-*O*-benzyl- α -D-rhamnopyranoside d'allyle (**101**)

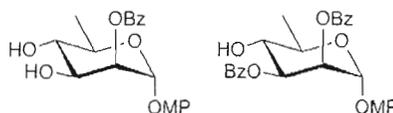


Le diol **100** (18 mg, 0.06 mmol, 1.00 éq.) est engagé dans les mêmes conditions que les composés **90** et **97**, pour une protection sélective de la fonction hydroxyle en position 3 (4h). Le benzyle **101** est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/AcOEt 4 : 1) conduisant au composé 3-*O*-benzylé désiré sous la forme d'une huile incolore, avec un rendement de 96% (22 mg, 0.06 mmol). $R_f = 0.26$, hexane/AcOEt 3 : 1 ; $[\alpha]_D^{26} +35$ ($c=1.0$, CHCl₃) ; **¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C)** : $\delta = 7.40-7.28$ (m, 10H, $H_{\text{arom-Bn}}$), 5.96-5.83 (m, 1H, OCH₂CH=CH₂), 5.32-5.18 (m, 2H, OCH₂CH=CH₂), 4.90 (d, 1H, $^2J_{H,11} = 10.9$ Hz, OCH₂Ph), 4.87 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.6$ Hz, $H-1$), 4.71 (d, 1H, $^2J_{H,11} = 10.9$ Hz, OCH₂Ph), 4.21-4.14 (m, 1H, OCH₂CH=CH₂), 4.08 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.6$ Hz, $H-2$), 4.02-3.91 (m, 1H, OCH₂CH=CH₂), 3.90 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.3$ Hz, $^3J_{3,4} = 9.3$ Hz, $H-3$), 3.82-3.73 (m, 1H, $H-5$), 3.48 (t, 1H, $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 9.3$ Hz, $H-4$), 2.54 (sl, 1H, $OH-2$), 1.33 ppm (d, 3H, $^3J_{5,6} = 6.3$ Hz, 6CH_3) ; **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃)** : $\delta = 138.3$, 137.9 ($C_{\text{q-arom}}$), 133.7 (OCH₂CH=CH₂), 128.5-127.7 (C_{arom}), 117.4 (OCH₂CH=CH₂), 98.0 ($C-1$), 80.0, 79.9 (2 x CH₂Ph), 75.4 ($C-3$).

72.0 (C-4), 68.5 (C-2), 67.8 (OCH₂), 67.3 (C-5), 17.8 ppm (C-6). **ESI⁺-HRMS** : *m/z* calculée pour C₂₃H₂₈O₅Na [M + Na]⁺ : 407.18290 ; trouvée : 407.18196.

2-*O*-Benzoyl- α -D-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphényle (104)

2,3-Di-*O*-benzoyl- α -D-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphényle (105)



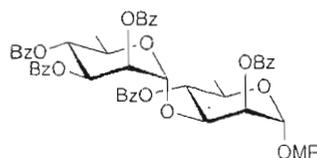
À une solution du rhamnopyranoside **70** (180 mg, 0.660 mmol) dissout dans de la pyridine distillée, est ajouté du chlorure de benzoyle (152 μ L, 1.32 mmol, 2.00 eq.) à -50 °C sous atmosphère d'azote. Après 1h d'agitation à -50 °C, le milieu réactionnel est dilué avec du dichlorométhane, lavé à l'eau glacée et avec des solutions aqueuses saturées de KHSO₄, NaHCO₃ et NaCl. La phase organique est séchée, filtrée et concentrée. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle 4 : 1) conduisant aux trois composés : **83**, **104** et **105**.

Le diol **104** est obtenu sous la forme d'une huile incolore. R_f = 0.13, hexane/AcOEt 7 : 3 ; $[\alpha]_D^{26} +55$ ($c=1.0$, CHCl₃); **¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C)**: δ = 8.14-8.09 (m, 2H, H_{arom}), 7.65-7.47 (m, 3H, H_{arom}), 7.07-7.02, 6.88-6.83 (m, 4H, $H_{\text{arom-OMP}}$), 5.50 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.0$ Hz, $^3J_{3,4} = 10.0$ Hz, $H-3$), 5.45 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.6$ Hz, $H-1$), 4.37 (dd, 1H, $^3J_{1,2} = 1.9$ Hz, $^3J_{2,3} = 3.3$ Hz, $H-2$), 3.95 (m, 1H, $H-5$), 3.89 (t, 1H, $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 9.6$ Hz, $H-4$), 3.79 (s, 3H, OCH₃), 1.37 (d, 3H, $^3J_{5,6} = 5.7$ Hz, OCH₃); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃)**: δ = 166.9, (COPh), 155.0, 150.1 (C_{q-arom-OMP}), 133.6, 129.9, 129.8 (C_{arom}), 117.5, 114.6 (C_{arom-OMP}), 98.3 (C-1), 75.3 (C-3), 71.4 (C-4), 69.8 (C-2), 69.2 (C-5), 55.6 (OCH₃), 17.6 (C-6). **ESI⁺-HRMS** : *m/z* calculée pour C₂₀H₂₂O₇Na [M + Na]⁺ : 397.12577 ; trouvée : 397.12441

Le dibenzoyl **105** est obtenu sous la forme d'une poudre blanche. R_f = 0.47, hexane/AcOEt 7 : 3 ; **¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C)**: δ = 8.13-8.07 (m, 2H, H_{arom}), 7.99-7.93 (m, 2H, H_{arom}), 7.67-7.33 (m, 6H, H_{arom}), 7.12-7.05, 6.89-6.83 (m, 4H, $H_{\text{arom-OMP}}$), 5.80 (dd, 1H, $^3J_{1,2} = 1.6$ Hz, $^3J_{2,3} = 3.3$ Hz, $H-2$), 5.75 (dd, 1H, $^3J_{3,4} = 10.0$ Hz, $H-3$), 5.56 (d, 1H, $^3J_{1,2} =$

1.6 Hz, $H-1$), 4.10 (m, 1H, $H-5$), 4.02 (t, 1H, ${}^3J_{3,4} = {}^3J_{4,5} = 9.6$ Hz, $H-4$), 3.79 (s, 3H, OCH_3), 1.44 (d, 3H, ${}^3J_{5,6} = 5.8$ Hz, 6CH_3); ${}^{13}C$ RMN (75 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 166.9, 165.5$ ($COPh$), 155.1, 150.0 ($C_{q\text{-arom-Omp}}$), 133.6-128.4 (C_{arom}), 117.7, 114.6 ($C_{arom-Omp}$), 96.6 ($C-1$), 72.9 ($C-3$), 71.9 ($C-4$), 70.8 ($C-2$), 69.3 ($C-5$), 55.6 ($C_6H_4OCH_3$), 17.7 ($C-6$). **ESI⁺-HRMS**: m/z calculée pour $C_{27}H_{26}O_8Na$ [$M + Na$]⁻ : 501.15199 ; trouvée : 501.15089 ; m/z calculée pour $C_{27}H_{27}O_8$ [$M + H$]⁺ : 479.17004 ; trouvée : 479.17060.

2,3,4-Tri-*O*-benzoyl- α -D-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-2,4-di-*O*-benzoyl- α -D-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphényle (106)

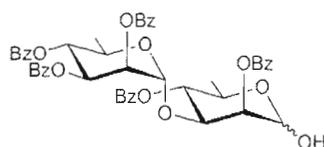


Une suspension de trichloroacétimidate **87** (316 mg, 0.51 mmol, 1.30 éq.), de l'accepteur **89** (188 mg, 0.39 mmol, 1.00 éq.) et de tamis moléculaire 4 Å fraîchement activé, dans du dichlorométhane distillé (10 mL) est agitée pendant 1h à température ambiante sous atmosphère inerte, puis refroidi à -50 °C. À cette température, une solution de TMSOTf (36 μ L, 0.20 mmol, 0.50 éq.) dans du dichlorométhane distillé (800 μ L) est ajoutée. Après 30 min d'agitation à -50 °C puis à température ambiante, le milieu réactionnel est neutralisé par l'addition de la triéthylamine. Après filtration sur célite et concentration du filtrat, le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/AcOEt, 7 : 1 v/v), conduisant au disaccharide **106** désiré sous la forme d'une poudre blanche avec un rendement de 99% (366 mg, 0.50 mmol). Pf: 78-80 °C (AcOEt/EP/éther) ; $R_f = 0.49$ (hexane/AcOEt, 2 : 1, v/v) : $[\alpha]_D^{25} - 78$ (c 1.0, $CHCl_3$)²³⁴ ; 1H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, 25 °C): $\delta = 8.31-7.19$ (m, 25H, H_{arom}), 7.13-7.08, 6.91-6.86 (m, 4H, H_{arom}), 5.75-5.63 (m, 4H), 5.55 (t, 1H ${}^3J_{3,4} = {}^3J_{4,5} = 9.8$ Hz, $H-4^{II}$), 5.36-5.34 (m, 2H), 4.72 (dd, 1H, ${}^3J_{2,3} = 3.3$ et ${}^3J_{3,4} = 9.6$ Hz, $H-3^I$), 4.29-4.16 (m, 2H, $H-5^{I\text{ et }II}$), 3.80 (s, 3H, OCH_3), 1.38 (d, 3H, ${}^3J_{5,6} = 6.3$ Hz, $H-6^I$), 1.21 ppm (d, 3H, ${}^3J_{5,6} = 6.3$ Hz, $H-6^{II}$); ${}^{13}C$

²³⁴ Valeur remesuré, corrigé sur l'erreur de publication : *Org. Biomol. Chem.*, 2007, 5, 2704-2708 : +78 (c 1.0, $CHCl_3$).

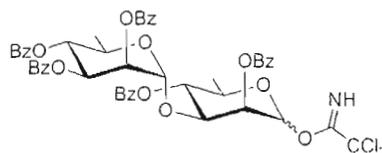
RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 166.1, 165.8, 165.5, 165.0, 164.7 (COPh), 155.2, 150.0 (C_q-OMP), 133.6-128.1 (C_{arom}-Bz), 117.7, 114.7 (C_{arom}-OMP), 99.4, 96.4 (C-1^I et II, ¹J_{C-1,H-1} = 171.2 et 173.8 Hz), 76.3, 72.9, 72.2, 71.5, 70.7, 69.3, 67.5, 67.4 (C-2 à C-5^I et II), 55.6 (OCH₃), 17.8, 17.4 ppm (C-6^I et II).
ESI⁺-HRMS : *m/z* calculée pour C₅₄H₄₈O₁₅Na [M + Na]⁻ : 959.28854 ; trouvée : 959.28967.

2,3,4-Tri-*O*-benzoyl- α -D-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-2,4-di-*O*-benzoyl-D-rhamnopyranose (107)



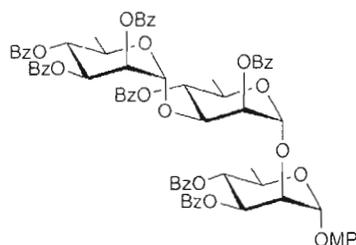
Une solution du disaccharide **106** (93 mg, 0.10 mmol) et de nitrate d'ammonium cérique IV (CAN, 548 mg, 1.00 mmol, 10.00 éq.) dissous dans un mélange toluène/acétonitrile/eau (1 : 1.4 : 1, v/v/v, 3.4 mL) est agité à température ambiante pendant 12h. Le mélange réactionnel est concentré et dilué dans du dichlorométhane, puis lavé successivement avec des solutions aqueuses saturées de NaCl, NaHCO₃, puis à l'eau. Après séchage de la phase organique, filtration et évaporation à sec, le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/EtOAc, 2 : 1, v/v), conduisant à l'hémiacétate **107** sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 95% (78 mg, 0.095 mmol). Pf : 68-70 (AcOEt/EP) ; *R_f* = 0.28 (hexane/AcOEt, 2 : 1) ; ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C) : δ = 8.27-7.18 (m, 25H, *H*_{arom}), 5.66-5.47 (m, 5H, *H*-1^I, *H*-2^I, *H*-4^I, *H*-3^{II} et *H*-4^{II}), 5.31 (dd, 1H, ³*J*_{2,3} = 3.3 Hz, *H*-2^{II}), 5.25 (d, 1H, ³*J*_{1,2} = 1.7 Hz, *H*-1^{II}), 4.59 (dd, 1H, ³*J*_{2,3} = 3.4 et ³*J*_{3,1} = 9.6 Hz, *H*-3^I), 4.39-4.29 (m, 1H, *H*-5^I), 4.20-4.11 (m, 1H, *H*-5^{II}), 3.08 (sl, 1H, OH-1), 1.37 (d, 3H, ³*J*_{5,6} = 6.3 Hz, *H*-6^I), 1.18 ppm (d, 3H, ³*J*_{5,6} = 6.2 Hz, *H*-6^{II}) ; ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) : δ = 166.2, 165.8, 165.6, 165.0, 164.7 (COPh), 133.5-128.1 (C_{arom}), 99.2, 92.0 (C-1^I et II), 75.8, 73.1, 72.6, 71.5, 70.7, 69.3, 67.4, 66.9 (C-2 à C-5^I et II), 17.8, 17.4 ppm (C-6^I et II). ESI⁺-MS : *m/z* calculée pour C₄₇H₄₂O₁₄Na [M + Na]⁻ : 853.8 ; trouvée : 853.3.

2,2,2-Trichloroacétimide de 2,3,4-tri-*O*-benzoyl- α -D-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-2,4-di-*O*-benzoyl-D-rhamnopyranosyle (108)



À une solution de l'hémiacétate **107** (47 mg, 56 μ mol, 1.00 éq.) dissout dans du dichlorométhane distillé (5 mL), est ajouté du trichloroacétonitrile (29 μ L, 283 μ mol, 5.00 éq.) puis du DBU (4 μ L, 26 μ mol, 0.50 éq.). Après 1h d'agitation à température ambiante, le milieu réactionnel est concentré puis purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/EtOAc, 3 : 1 v/v) en utilisant le gel de silice préalablement traité avec de la triéthylamine, conduisant au trichloroacétimide **108** sous la forme d'une poudre blanche avec un rendement de 99% (54 mg, 55 μ mol). $R_f = 0.20$ (hexane/AcOEt, 3 : 1) ; $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25 °C): $\delta = 8.83$ (s, 1H, NH), 8.29-7.18 (m, 25H, H_{arom}), 6.51 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.6$ Hz, $H-1^I$), 5.75-5.69 (m, 2H, $H-2^{\text{IouII}}$ et $H-4^{\text{IouII}}$), 5.61 (dd, 1H, $^3J_{3,4} = 10.0$ Hz, $H-3^{\text{II}}$), 5.52 (t, 1H, $^3J_{4,5} = 10.0$ Hz, $H-4^{\text{IouII}}$), 5.34 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.3$ Hz, $H-2^{\text{IouII}}$), 5.26 (sl, 1H, $H-1^{\text{II}}$), 4.60 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.3$ et $^3J_{3,4} = 9.9$ Hz, $H-3^{\text{I}}$), 4.33-4.18 (m, 2H, $H-5^{\text{IouII}}$), 1.41 (d, 3H, $^3J_{5,6} = 6.3$ Hz, $H-6^{\text{IouII}}$), 1.20 ppm (d, 3H, $^3J_{5,6} = 6.0$ Hz, $H-6^{\text{IouII}}$) ; $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 165.8, 165.6, 165.5, 164.9, 164.7$ (COPh), 159.9 (CNH), 133.7-128.1 (C_{arom}), 99.3, 94.6 ($C-1^{\text{terII}}$), 75.1, 72.5, 71.4, 70.7, 70.4, 69.8, 69.2, 67.6 ($C-2$ à $C-5^{\text{I et II}}$), 17.8, 17.4 ppm ($C-6^{\text{I et II}}$). **ESI⁺-MS** : m/z calculée pour $\text{C}_{49}\text{H}_{42}\text{Cl}_3\text{NO}_{14}\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 996.16 ; trouvée : 996.16.

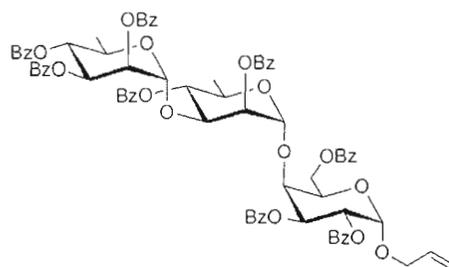
2,3,4-Tri-*O*-benzoyl- α -D-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-2,4-di-*O*-benzoyl- α -D-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-3,4-di-*O*-benzoyl- α -D-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphényle (109)



Une suspension de trichloroacétimide **108** (16 mg, 16 μ mol, 1.00 eq.), de l'accepteur **76** (15 mg, 32 μ mol, 2.00 eq.) et de tamis moléculaire 4 \AA fraîchement activé, dans du dichlorométhane distillé (2 mL), est agitée pendant 1h sous atmosphère d'azote à $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$. Une solution de TMSOTf (1.5 μ L, 8 μ mol, 0.50 eq.) dans du dichlorométhane distillé (800 μ L) est additionnée par la suite. Après 30 min d'agitation à $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ puis à température ambiante, le milieu réactionnel est neutralisé par ajout d' Et_3N . Après filtration sur Célite et évaporation du filtrat, le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/EtOAc, 5 : 1 v/v) conduisant au trisaccharide **109** sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 85% (17 mg, 14 μ mol).

$R_f = 0.49$ (hexane/AcOEt, 3 : 2, v/v) ; $[\alpha]_{\text{D}}^{26} -30$ ($c=1.0$, CHCl_3) ; $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , $25\text{ }^{\circ}\text{C}$): $\delta = 8.20\text{-}7.19$ (m, 35H, H_{arom}), 4.14-7.11, 6.91-6.88 (m, 4H, $H_{\text{arom-OMP}}$), 5.97 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 2.9$ et $^3J_{3,4} = 10.0$ Hz, $H\text{-}3^{\text{I}}$), 5.73 (dd, 1H, $^3J_{1,2} = 1.8$ Hz, $H\text{-}2^{\text{III}}$), 5.69 (t, 1H, $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 10.0$ Hz, $H\text{-}4^{\text{I}}$), 5.66 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 2.9$ et $^3J_{3,4} = 10.0$ Hz, $H\text{-}3^{\text{III}}$), 5.64 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.8$ Hz, $H\text{-}1^{\text{II}}$), 5.64, 5.60 (2 x t, 2H, $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 10.0$ Hz, $H\text{-}4^{\text{II et III}}$), 5.35 (dd, 1H, $^3J_{1,2} = 1.8$ Hz, $H\text{-}2^{\text{II}}$), 5.32 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.8$ Hz, $H\text{-}1^{\text{I}}$), 5.26 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.8$ Hz, $H\text{-}1^{\text{III}}$), 4.66 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 2.9$ et $^3J_{3,4} = 10.0$ Hz, $H\text{-}3^{\text{II}}$), 4.50 (dd, 1H, $^3J_{1,2} = 1.8$ Hz, $H\text{-}2^{\text{I}}$), 4.29-4.24 (m, 3H, $H\text{-}5^{\text{I et III}}$), 3.79 (s, 3H, OCH_3), 1.35, 1.25, 1.21 ppm (3 x d, 9H, $^3J_{5,6} = 6.1$ Hz, $^6\text{CH}_3^{\text{I et III}}$) ; $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 165.8, 165.6, 165.5, 164.8, 164.7$ (COPh), 155.2, 150.2 ($\text{C}_{\text{q-OMP}}$), 133.4-128.1 (C_{arom}), 117.6, 114.7 ($\text{C}_{\text{arom-OMP}}$) 99.5, 99.1, 97.7 ($\text{C}\text{-}1^{\text{II et III}}$, $^1J_{\text{C}\text{-}1,\text{H}\text{-}1} = 171.4, 173.4$ et 172.3 Hz), 75.0, 73.0, 72.0, 71.8, 71.6, 71.7, 70.8, 70.5, 69.4, 67.8, 67.5, 67.5 ($\text{C}\text{-}2$ à $\text{C}\text{-}5^{\text{I, II et III}}$), 55.6 (OCH_3), 17.8, 17.7, 17.4 ppm ($\text{C}\text{-}6^{\text{I et III}}$). **ESI $^+$ -HRMS** : m/z calculée pour $\text{C}_{74}\text{H}_{66}\text{O}_{21}\text{Na}$ [$\text{M} + \text{Na}$] $^-$: 1313.39888 ; trouvée : 1313.39382.

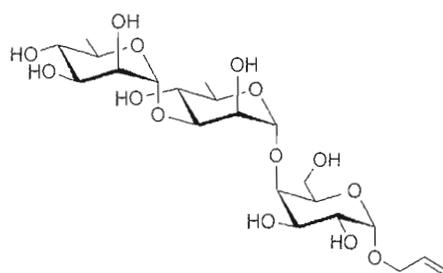
2,3,4-Tri-*O*-benzoyl- α -D-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-2,4-di-*O*-benzoyl- α -D-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-tri-*O*-benzoyl- α -D-galactopyranoside d'allyle (111)



Une suspension de trichloroacétimide **108** (149 mg, 150 μ mol, 1.00 eq.), de l'accepteur **110** (160 mg, 300 μ mol, 2.00 eq.) et de tamis moléculaire 4Å fraîchement activé, dans du dichlorométhane distillé (5 mL), est agitée pendant 1h sous atmosphère d'azote à $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$. Une solution de TMSOTf (14 μ L, 76 μ mol, 0.50 eq.) dans du dichlorométhane distillé (800 μ L) est ensuite additionnée. Après 30 min d'agitation à $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$, le mélange est laissé remonter à température ambiante puis neutralisé par l'addition de la triéthylamine. Après filtration sur Célite et évaporation du filtrat. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/EtOAc, 5 : 1 v/v) pour obtenir le trisaccharide **111** avec un rendement de 66% (132 mg, 99.0 μ mol) sous la forme d'un solide blanc. Pf: 103-105 $^{\circ}\text{C}$ (EtOH 100%) ; $R_f = 0.48$ (hexane/AcOEt, 3 : 2, v/v) ; $[\alpha]_D^{23} -7$ ($c=1.0$, CHCl_3) ; $^1\text{H RMN (300 MHz, CDCl}_3, 25\text{ }^{\circ}\text{C)}$: $\delta = 8.16\text{-}7.17$ (m, 40H, H_{arom}), 5.92-5.73 (m, 3H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ et $H\text{-}3^{\text{I}}$), 5.64-5.60 (m, 2H, inclu $H\text{-}2^{\text{II}}$), 5.56-5.47 (m, 2H, $H\text{-}4^{\text{II et III}}$), 5.43 (d, 1H, $^3J_{2,3} = 2.7$ Hz), 5.38-5.34 (m, 2H), 5.24 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.4$ Hz), 5.30-5.11 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 4.88 (dd, 1H, $^3J_{5,6a} = 5.5$ et $^3J_{6a,6b} = 9.9$ Hz, $H\text{-}6a^{\text{I}}$), 4.66 (dl, 1H, $^3J_{4,5} = 1.9$ Hz, $H\text{-}4^{\text{I}}$), 4.61-4.89 (m, 3H, $H\text{-}3^{\text{II}}$, $H\text{-}5^{\text{I}}$ et $H\text{-}6b^{\text{I}}$), 4.29-4.23 (m, 2H, $H\text{-}5^{\text{II}}$ et $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 4.18-4.06 (m, 2H, $H\text{-}5^{\text{III}}$ et $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 1.16 (d, 3H, $^3J_{5,6} = 6.0$ Hz, $H6^{\text{III}}$), 0.66 ppm (d, 3H, $^3J_{5,6} = 6.0$ Hz, $H\text{-}6^{\text{II}}$) ; $^{13}\text{C RMN (75 MHz, CDCl}_3)$: $\delta = 166.1, 166.1, 166.0, 165.9, 165.7, 165.5, 164.9, 164.7$ (COPh), 133.4-128.1 (C_{arom} et $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 117.8 ($\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 99.5, 98.7, 95.6 ($C\text{-}1^{\text{II et III}}$, $^1J_{C\text{-}1\text{H}\text{-}1} = 171.4, 173.4$ et 172.3 Hz), 76.2, 75.9, 72.6, 72.5, 71.5, 70.5, 70.1, 69.5, 68.8, 68.8, 67.8, 67.7, 67.5 ($C\text{-}2$ à $C\text{-}5^{\text{I, II et III}}$ et $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 62.0 ($C\text{-}6^{\text{I}}$), 17.3, 17.2 ppm ($C\text{-}6^{\text{II et III}}$). **ESI⁺-HRMS** : m/z calculée pour $\text{C}_{77}\text{H}_{68}\text{O}_{22}\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 1367.40944 ;

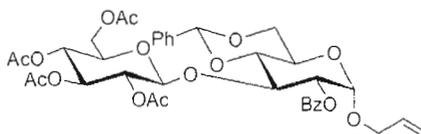
trouvée : 1367.4062. Anal. Élem. (C₇₇H₆₈O₂₂) : calculée %C, 68.74 ; %H, 5.09 ; trouvée : %C 68.85, %H 5.71.

α -D-Rhamopyranosyl-(1→3)- α -D-rhamnopyranosyl-(1→4)- α -D-galactopyranoside d'allyle (112)



Le trisaccharide **111** (49 mg, 30 μ mol, 1.00 eq.) est engagé dans les conditions réactionnelles décrites dans le *Protocole J* conduisant au trisaccharide libre **112** avec un rendement de 73%, après purification par chromatographie sur gel de silice en utilisant le gradient A, sous la forme d'une poudre blanche après lyophilisation. (11 mg, 22 μ mol). $R_f = 0.21$, CH₃CN/H₂O 9 : 1 ; $[\alpha]_D^{25} +120$ ($c=0.1$, MeOH); $^1\text{H RMN}$ (600 MHz, D₂O, 22 °C): $\delta = 6.02\text{-}5.96$ (m, 1H, OCH₂CHCH₂), 5.39-5.01 (m, 2H, OCH₂CHCH₂), 5.05 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.6$ Hz, $H\text{-}1^{\text{I,II ou III}}$), 5.01 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.6$ Hz, $H\text{-}1^{\text{I,II ou III}}$), 4.77 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.6$ Hz, $H\text{-}1^{\text{I,II ou III}}$), 4.24 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 5.1$ Hz, $^3J_{3,4} = 12.8$ Hz, $H\text{-}3^{\text{I,II ou III}}$), 4.14-3.70 (m, 13H, $H\text{-}2^{\text{I,II et III}}$, $H\text{-}3^{\text{I,II et/ou III}}$, $H\text{-}4^{\text{I ou II ou III}}$, $H\text{-}5^{\text{I,II et III}}$, $H\text{-}6\text{a,b}^{\text{I}}$ et OCH₂CHCH₂), 3.55 (t, 1H, $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 9.8$ Hz, $H\text{-}4$), 3.47 (t, 1H, $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 9.8$ Hz, $H\text{-}4$), 1.30, 1.27 ppm (2 x d, $^3J_{5,6} = 6.1$ Hz, $^6\text{CH}_3^{\text{I,II et III}}$); $^{13}\text{C RMN}$ (150 MHz, D₂O + acetone, 22 °C): $\delta = 133.3$ (OCH₂CHCH₂), 117.6 (OCH₂CHCH₂), 101.7 (C-1^{II}), 101.1 (C-1^{III}), 97.2 (C-1^I), 78.1 (C-3^{II}), 77.4 (C-3^{III}), 71.6 (C-5^I), 70.9 (C-4^{II}), 70.8 (C-4^{III}), 69.8 (C-3^I), 69.7 (C-2^{II}), 69.6 (C-2^{III}), 69.0 (C-2^I), 68.7 (OCH₂), 68.4 (C-5^{II}), 68.3 (C-5^{III}), 68.0 (C-4^I), 60.3 (C-6^I), 16.3 (C-6^{II}), 16.1 ppm (C-6^{III}). **ESI⁺-HRMS** : m/z calculée pour C₂₁H₃₆O₁₄Na [M + Na]⁺ : 535.19973 ; trouvée : 535.19938.

2,3,4,6-Tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidène- α -D-glucopyranoside d'allyle (113)



Glycosylation avec un α -donneur

Une suspension du α -trichloroacétimidate **16** (222 mg, 450 μ mol, 1.50 éq.), de l'accepteur **34** (124 mg, 300 μ mol, 1.00 éq.) et de tamis moléculaire 4Å fraîchement activé, dans du dichlorométhane distillé (10 mL), est agité pendant 1h sous atmosphère d'azote à 0 °C. Une solution de TMSOTf (28 μ L, 150 μ mol, 0.50 éq.) dans du dichlorométhane distillé (800 μ L) est ensuite additionnée. Après 1h d'agitation à 0 °C, le mélange est laissé revenir à température ambiante puis neutralisé par l'addition de la triéthylamine (100 μ L). Après la filtration sur Célite et évaporation du filtrat, le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/EtOAc, 2 : 1 v/v), conduisant au disaccharide **113** sous la forme d'un solide blanc avec un rendement de 82% (183 mg, 369 μ mol).

Glycosylation avec un β -donneur

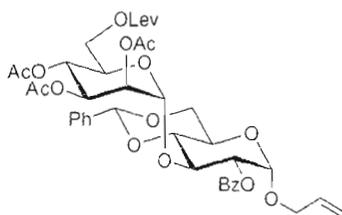
Mêmes quantités stoechiométriques : le laminaribiose **113** est obtenu avec un rendement de 56%.

Glycosylation avec un mélange α,β -donneur

Mêmes quantités stoechiométriques ; le composé **113** est obtenu avec un rendement de 45%. Pf: 166-168 °C (CH₂Cl₂/EP ou éther) ; R_f = 0.34 (hexane/AcOEt, 3 : 2, v/v) ; $[\alpha]_D^{25}$ +39 (c =1.0, CHCl₃) ; ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ = 8.09-8.05, 7.66-7.60, 7.53-7.48 et 7.36-7.32 (m, 10H, $H_{arom.}$), 5.88-5.75 (m, 1H, OCH₂CHCH₂), 5.60 (s, 1H, PhCH), 5.29-5.22

(m, 1H, OCH₂CHCH₂), 5.18-5.10 (m, 3H, H-1^I, H-2^I et OCH₂CHCH₂), 5.06-4.99 (m, 3H, H-2^{II}, H-3^{II} et H-4^{II}), 4.77 (d, 1H, ³J_{1,2} = 7.4 Hz, H-1^{II}), 4.41 (t, 1H, ³J_{2,3} = ³J_{3,4} = 9.3 Hz, H-3^I), 4.28 (dd, 1H, ³J_{5,6a} = 4.4 et ³J_{6a,6b} = 9.9 Hz, H-6a^I), 4.22-4.15 (m, 2H, H-6a^{II} et OCH₂CHCH₂), 4.03-3.94 (m, 3H, H-5^I, H-6b^{II} et OCH₂CHCH₂), 3.81 (t, 1H, ³J_{5,6b} = 10.4 Hz, H-6b^I), 3.75 (t, 1H, ³J_{4,5} = 9.3 Hz, H-4^I), 3.63-3.59 (m, 1H, H-5^{II}), 1.98, 1.97, 1.90 et 1.56 ppm (4s, 4x3H, OCOCH₃) ; ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) : δ = 170.7, 170.2, 169.3 et 169.1 (OCOCH₃), 165.7 (OCOPh), 137.2-126.0 (C_{arom.} et OCH₂CHCH₂), 118.1 (OCH₂CHCH₂), 101.1 et 100.8 (PhCH et C-1^{II}), 95.8 (C-1^I), 79.2, 76.5, 73.3, 72.9, 71.5, 71.0, 68.8, 68.7, 68.2, 62.7 et 61.9 (C-2 à C-6^{I et II} et OCH₂CHCH₂), 20.6, 20.5, 20.4 et 19.9 ppm (OCOCH₃). **ESI⁺-MS** : m/z calculée pour C₃₇H₄₂O₁₆Na [M + Na]⁺ : 765.2 ; trouvée : 765.3.

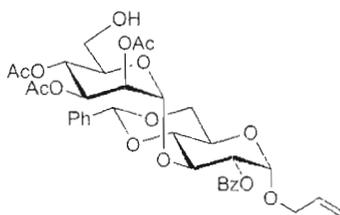
2,3,4-Tri-O-acétyl-6-O-lévulinyl-α-D-mannopyranosyl-(1→3)-2-O-benzoyl-4,6-O-benzylidène-α-D-glucopyranoside d'allyle (114)



Une suspension de l'imidate **66** (131 mg, 238 μmol, 1.20 éq.), de l'accepteur benzylidène **34** (82 mg, 200 μmol, 1.00 éq.) et de tamis moléculaire 4Å fraîchement activé, dans du dichlorométhane distillé (2 mL), est agitée pendant 1h sous atmosphère d'azote à -50 °C. Une solution de TMSOTf (20 μL, 100 μmol, 0.50 éq.) dans du dichlorométhane distillé (800 μL) est ensuite additionnée. Après 1h d'agitation à -50 °C puis à -10 °C (45 min) et ensuite à température ambiante, le milieu réactionnel est neutralisé par ajout d'Et₃N (10 μL, 100 μmol, 0.50 éq.). Après la filtration sur Célite et évaporation du filtrat, le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (EP/EtOAc, 3 : 2 v/v), conduisant au disaccharide 114 sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 77% (122 mg, 154 μmol). *R_f* = 0.56 (hexane/AcOEt, 2 : 3, v/v) ; $[\alpha]_D^{26} -1$ (c=0.5, CHCl₃) ; ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C) : δ = 8.10-8.07 (m, 2H, H_{arom.}), 7.68-7.32 (m, 8H, H_{arom.}), 5.90-5.77 (m, 1H, OCH₂CH=CH₂), 5.60

(s, 1H, PhCH), 5.36-5.10 (m, 8H, OCH₂CH=CH₂, H-1^{et II}, H-2^{et II}, H-3^{II}, H-4^{II}), 4.49 (t, 1H, ³J_{2,3} = ³J_{3,4} = 9.4 Hz, H-3^I), 4.33 (dd, 1H, ³J_{6a,6b} = 4.7 Hz, ³J_{5,6} = 10.1 Hz, H-6a^I), 4.25-4.19 (m, 1H, OCH₂), 4.05-3.77 (m, 7H, OCH₂, H-4^I, H-5^{I et II}, H-6a^{II}, H-6b^{I et II}), 2.84-2.52 (m, 4H, ⁶OCOCH₂CH₂COCH₃), 2.18, 2.05, 1.92, 1.70 ppm (4 x COCH₃) ; ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 206.2 (CH₂COCH₃), 172.3 (OCOCH₂), 169.6, 169.5, 169.3 (COCH₃), 165.4 (COPh), 136.7, 133.5 (C_{q-arom}), 133.2 (CH=CH₂), 129.7-125.9 (C_{arom}), 117.8 (CH=CH₂), 101.2 CHPh), 97.7 (C-1^{II}), 95.8 (C-1^I), 82.1, 72.5, 71.5, 69.0, 68.9, 68.7, 68.6, 68.1, 65.2 (C-2 à C-5^{I et II}, OCH₂), 62.2, 61.9 (C-6^{I et II}), 37.7 (CH₂CO), 29.7 (CH₂COCH₃), 27.9 (OCOCH₂CH₂), 20.6, 20.5, 20.3 ppm (COCH₃). ESI⁺-HRMS : m/z calculée pour C₄₀H₄₆O₁₇Na [M + Na]⁺ : 821.26272 ; trouvée : 821.26158.

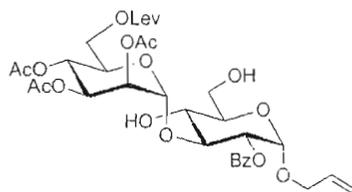
2,3,4-Tri-O-acétyl-α-D-mannopyranosyl-(1→3)-2-O-benzoyl-4,6-O-benzylidène-α-D-glucopyranoside d'allyle (115)



À une solution du lévulinate **114** (34 mg, 40 μmol) dissout dans un mélange pyridine/acide acétique (1 : 1 v/v, 1 mL), est ajouté une solution aqueuse d'hydrazine hydrate 1M dans H₂O (1.6 μl, 1.2 équ.). Après 10 min d'agitation à 20 °C, le milieu réactionnel est ensuite dilué avec du dichlorométhane, puis lavé à l'eau glacée et avec des solutions aqueuses saturées de KHSO₄, NaHCO₃ et NaCl. La phase organique est séchée, filtrée et concentrée. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle 2 : 3), conduisant à l'accepteur disaccharidique **115** désiré sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 98% (28 mg, 39 μmol). R_f = 0.70, hexane/AcOEt 2 : 3 ; [α]_D²⁶ +70 (c=1.0, CHCl₃) ; ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ = 8.10-8.07 (m, 2H, H_{arom}), 7.68-7.32 (m, 8H, H_{arom}), 5.90-5.77 (m, 1H, OCH₂CH=CH₂), 5.61 (s, 1H, PhCH), 5.39 (dd, 1H, ³J_{1,2} = 1.9 Hz, ³J_{2,3} = 3.3 Hz, H-2^{II}), 5.32 (d, 1H, ³J_{1,2} = 1.6 Hz, H-1^{II}), 5.26-5.14 (m, 5H,

OCH₂CH=CH₂, *H*-1^I, *H*-2^I, *H*-3^{II}), 5.07 (t, 1H, ³*J*_{3,4} = ³*J*_{4,5} = 10.0 Hz, *H*-4^{II}), 4.47 (t, 1H, ³*J*_{2,3} = ³*J*_{3,4} = 9.4 Hz, *H*-3^I), 4.34 (dd, ³*J*_{6a,6b} = 4.7 Hz, ³*J*_{5,6} = 10.1 Hz, *H*-6a^I), 4.26-4.19 (m, 1H, OCH₂), 4.05-3.95 (m, 2H, OCH₂ et *H*-5^I), 3.84 (t, 1H, ³*J*_{3,4} = ³*J*_{4,5} = 9.6 Hz, *H*-4^I), 3.83 (dd, 1H, ³*J*_{6a,6b} = 4.7 Hz, ³*J*_{5,6} = 10.1 Hz, *H*-6b^I), 3.70-3.65 (m, 1H, *H*-5^{II}), 3.49-3.42 (m, 1H, *H*-6a^{II}), 3.17-3.13 (m, 1H, *H*-6b^{II}), 2.30 (sl, 1H, OH-6^{II}), 2.04, 1.94, 1.78 ppm (COCH₃); ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 170.7, 169.7, 169.6 (COCH₃), 165.4 (COPh), 136.8, 133.4 (C<sub>q-
arom</sub>), 133.2 (CH=CH₂), 129.8-125.9 (C_{arom}), 117.8 (CH=CH₂), 101.2 (CHPh), 98.0 (C-1^{II}), 95.8 (C-1^I), 82.0, 73.2, 71.6, 70.3, 69.0, 68.7, 68.7, 68.6, 65.9 (C-2 à C-5^{I et II}, OCH₂), 62.2, 60.8 (C-6^{I et II}), 20.7, 20.6, 20.4 ppm (COCH₃). ESI⁺-HRMS: *m/z* calculée pour C₃₅H₄₀O₁₅Na [M + Na]⁺: 723.22594; trouvée: 723.22574.

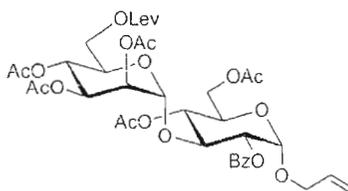
2,3,4-Tri-*O*-acétyl-6-*O*-lévulinyl- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-2-*O*-benzoyl- α -D-glucopyranoside d'allyle (116)



Le benzylidène **114** (280 mg, 0.35 mmol) et d'acide *p*-toluènesulfonique (6.7 mg, 0.03 mmol, 0.10 éq.) sont dissous dans un mélange MeOH/dioxane (1 : 1 v/v, 5 mL) à 85 °C. Le mélange réactionnel est agité pendant 4h à 85 °C puis concentré. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice (éther de pétrole/acétate d'éthyle 1 : 2), conduisant au diol disaccharidique **116** sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 71% (175 mg, 0.25 mmol). *R*_f = 0.01. EP/AcOEt 1 : 2; $[\alpha]_D^{26} +102$ (*c*=0.5, CHCl₃); ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ = 8.10-8.07 (m, 2H, *H*_{arom}), 7.61-7.44 (m, 8H, *H*_{arom}), 5.90-5.75 (m, 1H, OCH₂CH=CH₂), 5.36-5.10 (m, 8H, OCH₂CH=CH₂, *H*-1^{I et II}, *H*-2^{I et II}, *H*-3^{II}, *H*-4^{II}), 4.32 (t, 1H, ³*J*_{2,3} = ³*J*_{3,4} = 9.4 Hz, *H*-3^I), 4.23 (dd, 1H, ³*J*_{6a,6b} = 4.7 Hz, ³*J*_{5,6} = 10.1 Hz, *H*-6a^I), 4.20-4.15 (m, 1H, OCH₂), 4.01-3.88 (m, 7H, OCH₂, *H*-4^I, *H*-5^{I et II}, *H*-6a^{II}, *H*-6b^{I et II}), 3.77-3.65 (m, 6H, ⁶OCOCH₂CH₂COCH₃, OH-4 et 6), 2.18, 2.12, 1.95, 1.80 ppm (4 x

COCH₃) ; ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 207.0 (CH₂COCH₃), 172.3 (OCOCH₂), 170.4, 170.1, 169.5 (COCH₃), 165.7 (COPh), 133.5 (C_{q-*arom*}), 133.4 (CH=CH₂), 129.8, 129.6, 128.5 (C_{*arom*}), 117.5 (CH=CH₂), 98.1 (C-1^{II}), 95.4 (C-1^I), 77.6, 71.6, 71.3, 71.0, 69.6, 69.2, 68.6, 68.5, 65.4 (C-2 à C-5^{I et II}, OCH₂), 62.0, 61.7 (C-6^{I et II}), 37.8 (CH₂CO), 29.9 (CH₂COCH₃), 27.7 (OCOCH₂CH₂), 20.9, 20.7, 20.5 ppm (COCH₃). **ESI⁺-HRMS** : *m/z* calculée pour C₃₃H₄₂O₁₇Na [M + Na]⁻ : 733.23142 ; trouvée : 733.23066.

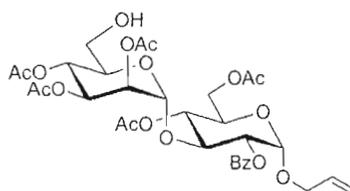
2,3,4-Tri-*O*-acétyl-6-*O*-lévulinyl- α -D-mannopyranosyl-(1→3)-4,6-di-*O*-acétyl-2-*O*-benzoyl- α -D-glucopyranoside d'allyle (117)



Le diol **116** (62 mg, 87 μ mol, 1.00 eq.) est acétylé dans les conditions classiques, en présence d'un mélange anhydride acétique/pyridine 1 : 2 (9 mL) avec une quantité catalytique du DMAP. Après un traitement classique, le disaccharide **117** est purifié par chromatographie sur gel de silice (en gradient de EP/AcOEt 1 : à AcOEt 100%), conduisant au composé acétylé désiré sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 96% (66 mg, 84 μ mol). R_f = 0.46, EP/AcOEt 1 : 2 ; $[\alpha]_D^{26} +90$ ($c=0.5$, CHCl₃) ; **¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C)**: δ = 8.06-8.03 (m, 2H, *H*_{*arom*}), 7.61-7.44 (m, 8H, *H*_{*arom*}), 5.90-5.75 (m, 1H, OCH₂CH=CH₂), 5.36-5.10 (m, 8H, OCH₂CH=CH₂, *H*-1^{I et II}, *H*-2^{I et II}, *H*-3^{II}, *H*-4^{II}), 4.32 (t, 1H, ³*J*_{2,3} = ³*J*_{3,4} = 9.4 Hz, *H*-3^I), 4.23 (dd, 1H, ³*J*_{6a,6b} = 4.7 Hz, ³*J*_{5,6} = 10.1 Hz, *H*-6a^I), 4.20-4.15 (m, 1H, OCH₂), 4.01-3.88 (m, 7H, OCH₂, *H*-4^I, *H*-5^{I et II}, *H*-6a^{II}, *H*-6b^{I et II}), 3.77-3.65 (m, 6H, ⁶OCOCH₂CH₂COCH₃, OH-4 et 6), 2.17, 2.13, 2.11, 2.10, 1.94, 1.80 ppm (6 x COCH₃) ; **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃)**: δ = 206.1 (CH₂COCH₃), 172.1 (OCOCH₂), 170.6, 169.8, 169.5, 169.4, 169.3 (COCH₃), 165.4 (COPh), 133.5 (C_{*q-*arom**}), 133.0 (CH=CH₂), 129.6, 129.2, 128.4 (C_{*arom*}), 117.9 (CH=CH₂), 98.2 (C-1^{II}), 95.0 (C-1^I), 77.6, 71.6, 69.9, 69.8, 68.6, 68.5, 68.4, 67.6, 65.2 (C-2 à C-5^{I et II}, OCH₂), 61.8, 61.6 (C-6^{I et II}), 37.6 (CH₂CO), 29.7

(CH₂COCH₃), 27.5 (OCOCH₂CH₂), 20.7, 20.6, 20.6, 20.5, 20.4 ppm (COCH₃). **ESI⁺-MS**: *m/z* calculée pour C₃₇H₄₆O₁₉Na [M + Na]⁻: 817.25255 ; trouvée : 817.25238.

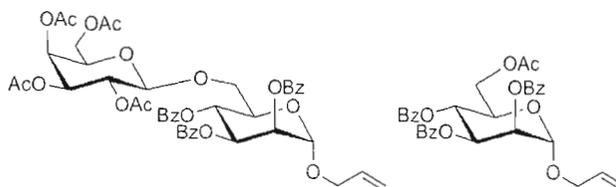
2,3,4-Tri-*O*-acétyl- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-4,6-di-*O*-acétyl-2-*O*-benzoyl- α -D-glucopyranoside d'allyle (118**)**



Le lévulinate **117** (80 mg, 0.10 mmol, 1.00 éq.) est déprotégé dans les mêmes conditions que le benzylidène **115**. L'accepteur **118** est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle 1 : 3), conduisant au composé désiré sous la forme d'une huile incolore avec un rendement quantitatif (69 mg, 0.10 mmol). *R_f* = 0.3, hexane/AcOEt 1 : 3 ; [α]_D²⁶ +54 (*c* = 0.5, CHCl₃); **¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C)**: δ = 8.06-8.03 (m, 2H, *H*_{arom}), 7.61-7.44 (m, 8H, *H*_{arom}), 5.90-5.75 (m, 1H, OCH₂CH=CH₂), 5.36-5.10 (m, 8H, OCH₂CH=CH₂, *H*-1^{I et II}, *H*-2^{I et II}, *H*-3^{II}, *H*-4^{II}), 4.32 (t, 1H, ³*J*_{2,3} = ³*J*_{3,4} = 9.4 Hz, *H*-3^I), 4.23 (dd, 1H, ³*J*_{6a,6b} = 4.7 Hz, ³*J*_{5,6} = 10.1 Hz, *H*-6a^I), 4.20-4.15 (m, 1H, OCH₂), 4.01-3.88 (m, 7H, OCH₂, *H*-4^I, *H*-5^{I et II}, *H*-6a^{II}, *H*-6b^{I et II}), 3.77-3.65 (m, 6H, ⁶OCOCH₂CH₂COCH₃, OH-4 et 6), 2.17, 2.13, 2.11, 2.10, 1.94, 1.80 ppm (6 x COCH₃); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃)**: δ = 170.8, 170.0, 169.7, 169.5 (COCH₃), 165.7 (COPh), 133.6 (C_{q-arom}), 133.0 (CH=CH₂), 129.8, 129.4, 128.5 (C_{arom}), 118.0 (CH=CH₂), 98.6 (C-1^{II}), 95.2 (C-1^I), 77.4, 71.9, 71.2, 69.8, 69.7, 68.7, 68.3, 67.6, 65.7 (C-2 à C-5^{I et II}, OCH₂), 61.9, 60.5 (C-6^{I et II}), 20.8, 20.7, 20.6, 20.5, 20.5 ppm (COCH₃). **ESI⁺-HRMS** : *m/z* calculée pour C₃₂H₄₀O₁₇Na [M + Na]⁻: 719.21577 ; trouvée : 719.21494.

2,3,4,6-Tétra-*O*-acétyl- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-2,3,4-tri-*O*-benzoyl- α -D-mannopyranoside d'allyle (119**)**

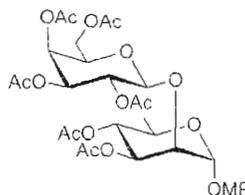
6-*O*-Acétyl-2,3,4-tri-*O*-benzoyl- α -D-mannopyranoside d'allyle (120**)**



Une suspension de trichloroacétimide **16** (455 mg, 0.74 mmol, 2.50 éq.), de l'accepteur mannopyranoside **64** (200 mg, 0.37 mmol, 1.00 éq.) et de tamis moléculaire 4Å fraîchement activé, dans du dichlorométhane distillé (9 mL), est agitée pendant 1h sous atmosphère d'azote à $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$. Une solution de TMSOTf (135 μL , 0.74 mmol, 2.00 éq.) dans du dichlorométhane distillé (800 μL) est ensuite additionnée. Après 1h d'agitation à $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$, le mélange est neutralisé par l'addition de la triéthylamine (104 μL , 0.74 mmol, 2.00 éq.). Après la filtration sur Célite et évaporation du filtrat, une purification par chromatographie sur gel de silice (EP/EtOAc, 3 : 2 v/v) conduit au disaccharide **119**, produit principal désiré, sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 61% (194 mg, 0.22 mmol). $R_f = 0.32$ (EP/AcOEt, 3 : 2, v/v) ; $[\alpha]_{\text{D}}^{23} -111$ ($c=1.0$, CHCl_3) ; $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , $25\text{ }^{\circ}\text{C}$): $\delta = 8.12\text{-}8.11$ (m, 2H, H_{arom}), 7.96-7.96 (m, 2H, H_{arom}), 7.80-7.79 (m, 2H, H_{arom}), 7.62-7.25 (m, 8H, H_{arom}), 6.00-5.96 (m, 1H, $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.89 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.4$ Hz, $^3J_{3,4} = 10.0$ Hz, $H\text{-}3^{\text{I}}$), 5.77 (t, 1H, $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 10.1$ Hz, $H\text{-}4^{\text{I}}$), 5.69 (dd, 1H, $^3J_{1,2} = 1.7$ Hz, $^3J_{2,3} = 3.4$ Hz, $H\text{-}2^{\text{I}}$), 5.46-5.27 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$, $H\text{-}2^{\text{II}}$, $H\text{-}4^{\text{II}}$), 5.11 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.6$ Hz, $H\text{-}1^{\text{I}}$), 5.01 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.4$ Hz, $^3J_{3,4} = 10.5$ Hz, $H\text{-}3^{\text{II}}$), 4.52 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 7.9$ Hz, $H\text{-}1^{\text{II}}$), 4.35-4.29 (m, 2H, $H\text{-}5^{\text{I}}$, $H\text{-}6\text{a}^{\text{II}}$), 4.14-3.86 (m, 4H, OCH_2 , $H\text{-}6\text{b}^{\text{II}}$, $H\text{-}6\text{a}^{\text{I}}$), 3.73 (dd, $^3J_{6\text{a},6\text{b}} = 6.6$ Hz, $^3J_{5,6} = 10.8$ Hz, $H\text{-}6\text{b}^{\text{I}}$), 2.11, 2.01, 1.99, 1.97 ppm (4 x s, 12H, COCH_3) ; $^{13}\text{C RMN}$ (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 170.1$, 170.0, 169.9, 169.3 (COCH_3), 165.4, 165.2, 165.2 (COPh), 133.2 ($\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 133.1, 132.9 ($\text{C}_{\text{q-arom}}$), 129.8-128.1 (C_{arom}), 118.1 ($\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 101.4 ($\text{C-}1^{\text{II}}$), 96.3 ($\text{C-}1^{\text{I}}$), 70.9 ($\text{C-}5^{\text{II}}$), 70.7 ($\text{C-}5^{\text{I}}$), 70.5 ($\text{C-}3^{\text{II}}$), 70.2 ($\text{C-}3^{\text{I}}$), 69.8 ($\text{C-}2^{\text{II}}$), 68.6 ($\text{C-}2^{\text{I}}$), 68.4 ($\text{C-}4^{\text{II}}$), 68.3 (OCH_2), 67.1 ($\text{C-}4^{\text{I}}$), 67.0 ($\text{C-}6^{\text{II}}$), 61.0 ($\text{C-}6^{\text{I}}$), 20.6, 20.4, 20.4, 20.3 ppm (COCH_3). **ESI** $^+$ -**HRMS** : m/z calculée pour $\text{C}_{44}\text{H}_{46}\text{O}_{18}\text{Na}$ [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$: 885.25764 ; trouvée : 885.25666.

L'accepteur acétylé **120** est isolé comme le produit secondaire en même temps sous la forme d'une huile incolore, avec un rendement de 30% (63 mg, 0.11 mmol). $R_f = 0.69$ (EP/AcOEt, 3 : 2, v/v); $[\alpha]_D^{23} -64$ ($c=1.0$, CHCl_3); $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25 °C): $\delta = 8.12-8.10$ (m, 2H, H_{arom}), 7.98-7.96 (m, 2H, H_{arom}), 7.85-7.82 (m, 2H, H_{arom}), 7.66-7.25 (m, 9H, H_{arom}), 6.07-5.99 (m, 1H, $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.95 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 2.8$ Hz, $^3J_{3,4} = 9.1$ Hz, $H-3$), 5.93 (t, $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 9.1$ Hz, $H-4$), 5.70 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.9$ Hz, $H-2$), 5.36 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.16 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.8$ Hz, $H-1$), 4.42-4.28 (m, 4H, $H-5$, $H-6a$, $H-6b$, OCH_2), 4.20-4.13 (m, 1H, OCH_2), 2.11 ppm (s, 3H, COCH_3); $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 170.5$ (COCH_3), 165.6, 165.4, 165.4 (COPh), 133.5 ($\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 133.4, 133.3, 133.1 ($\text{C}_{\text{q-arom}}$), 129.9-128.2 (C_{arom}), 118.4 ($\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 96.8 (C-1), 70.6 (C-5), 70.0 (C-3), 69.0 (C-2), 68.9 (C-4), 67.2 (OCH_2), 62.9 (C-6), 20.5 ppm (COCH_3). $\text{ESI}^+\text{-HRMS}$: m/z calculée pour $\text{C}_{32}\text{H}_{30}\text{O}_{10}\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 597.17312 ; trouvée : 597.17254 ; m/z calculée pour $\text{C}_{32}\text{H}_{31}\text{O}_{10}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 575.19117 ; trouvée : 575.19071.

2,3,4,6-Tétra-*O*-acétyl- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-3,4-di-*O*-acétyl- α -D-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphényle (**121**)

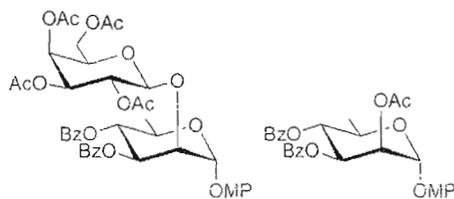


Une suspension de trichloroacétimidate **16** (198 mg, 0.40 mmol, 2.00 éq.), de l'accepteur rhamnopyranoside **75** (71 mg, 0.20 mmol, 1.00 éq.) et de tamis moléculaire 4Å fraîchement activé, dans du dichlorométhane distillé (9 mL), est agitée pendant 1h sous atmosphère inerte à température ambiante, puis refroidie à 0 °C. Une solution de TMSOTf (36 μL , 0.20 mmol, 1.00 éq.) dans du dichlorométhane distillé (800 μL) est ensuite additionnée. Après 2h d'agitation de 0 °C puis à température ambiante, le mélange est neutralisé par l'addition de la triéthylamine (30 μL , 0.20 mmol, 1.00 éq.), ensuite filtré sur Célite et concentré. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/EtOAc, 3 : 1 v/v), conduisant au disaccharide

121, produit principal désiré, sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 8% (11 mg, 16 μmol). $R_f = 0.46$ (hexane/AcOEt, 1 : 1, v/v) ; $[\alpha]_D^{25} +19$ ($c=1.0$, CHCl_3) ; $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25 °C) : $\delta = 7.02\text{-}6.86$ et $6.85\text{-}6.83$ (m, 4H, $H_{\text{arom.}}$), 5.37 (dd, 1H, $^3J_{3,4} = 3.6$ Hz et $^3J_{4,5} = 1.1$ Hz, $H\text{-}4^{\text{II}}$), 5.28 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 10.5$ Hz, $H\text{-}2^{\text{II}}$), 5.23-5.20 (m, 2H, $H\text{-}1^{\text{I}}$ et $H\text{-}3^{\text{I}}$), 5.12 (t, 1H, $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 9.7$ Hz, $H\text{-}4^{\text{I}}$), 4.98 (dd, 1H, $H\text{-}3^{\text{II}}$), 4.43 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 8.0$ Hz, $H\text{-}1^{\text{II}}$), 4.33 (dd, 1H, $^3J_{1,2} = 1.4$ Hz et $J_{2,3} = 3.3$ Hz, $H\text{-}2^{\text{I}}$), 4.10-4.07 (m, 2H, $H\text{-}6a^{\text{II}}$ et $H\text{-}6b^{\text{II}}$), 3.91-3.85 (m, 2H, $H\text{-}5^{\text{I}}$ et $H\text{-}5^{\text{II}}$), 3.78 (s, 3H, OCH_3), 2.20, 2.08, 2.06, 2.05, 2.03, 1.99 ppm (6s, 6 x 3H, COCH_3), 1.15 (d, 3H, $J_{5,6} = 6.0$ Hz, $^6\text{CH}_3^{\text{I}}$) ; $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3) : $\delta = 170.6$, 170.4, 170.3, 170.1, 169.6, 169.0 (COCH_3), 155.2 et 150.1 ($\text{C}_{\text{q-arom.}}$), 117.5, 114.7 ($\text{C}_{\text{arom.}}$), 100.8 ($\text{C}\text{-}1^{\text{I}}$), 96.5 ($\text{C}\text{-}1^{\text{II}}$), 75.1, 70.9, 70.6, 70.5, 70.1, 68.3, 67.1, 67.0 et 61.3 ($\text{C}\text{-}2^{\text{I}}$ et $^{\text{II}}$, $\text{C}\text{-}3^{\text{I}}$ et $^{\text{II}}$, $\text{C}\text{-}4^{\text{I}}$ et $^{\text{II}}$, $\text{C}\text{-}5^{\text{I}}$ et $^{\text{II}}$, $\text{C}\text{-}6^{\text{II}}$), 55.6 (OCH_3), 20.9, 20.8, 20.7, 20.7, 20.6, 20.5 (COCH_3), 17.5 ppm ($\text{C}\text{-}6$). **ESI⁺-HRMS** : m/z calculée pour $\text{C}_{31}\text{H}_{40}\text{O}_{17}\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 707.21577 ; trouvée : 707.21000.

2,3,4,6-Tétra-O-acétyl- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-3,4-di-O-benzoyl- α -D-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphényle (122)²³⁵

2-O-Acétyl-3,4-di-O-benzoyl- α -D-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphényle (123)

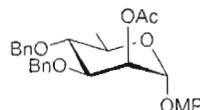


Une suspension du donneur thiolé **20** (290 mg, 0.74 mmol, 1.50 équ.), de l'accepteur rhamnopyranoside **76** (236 mg, 0.49 mmol, 1.00 équ.) et de tamis moléculaire 4Å fraîchement activé, dans du dichlorométhane distillé (9 mL), est agitée pendant 1h sous atmosphère d'azote à température ambiante puis refroidie à -40 °C. Du NIS (175 mg, 0.74 mmol, 1.50 équ.) et d'une solution de TfOH (22 μL , 0.24 mmol, 0.50 équ.) dans du dichlorométhane distillé (800 μL) sont ajoutés à cette température. Après 1h d'agitation à -40 °C et 2h à température ambiante, le mélange

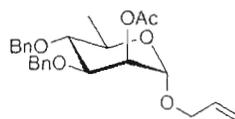
²³⁵ Alpe, M. and Oscarson, S. *Carbohydr. Res.*, **2002**, 337, 1715-1722.

est neutralisé par l'addition de la triéthylamine, filtré sur Célite et concentré. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/EtOAc, 4 : 1 v/v), conduisant au disaccharide **122**, produit principal désiré, sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 29% (115 mg, 0.14 mmol). $R_f = 0.44$ (hexane/AcOEt, 1 : 1, v/v); $[\alpha]_D^{23} -13$ ($c=1.0$, CHCl₃); **¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C)**: $\delta = 8.06-7.99$ (m, 4H, $H_{\text{arom-Bz}}$), 7.55-7.50, 7.41-7.37 (m, 6H, $H_{\text{arom-Bz}}$), 7.10-7.08, 6.90-6.87 (m, 4H, $H_{\text{arom-OMP}}$), 5.69 (dd, 1H, ${}^3J_{2,3} = 3.1$ Hz et ${}^3J_{3,4} = 10.1$ Hz, $H-3^I$), 5.60 (t, 1H, ${}^3J_{3,4} = {}^3J_{4,5} = 10.1$ Hz, $H-4^I$), 5.35 (d, 1H, ${}^3J_{1,2} = 1.1$ Hz, $H-1^I$), 5.33-5.26 (m, 2H, $H-2^{II}$, $H-4^{II}$), 4.96 (dd, 1H, ${}^3J_{2,3} = 3.3$ Hz, ${}^3J_{3,4} = 10.6$ Hz, $H-3^{II}$), 4.51 (dd, 1H, $H-2^I$), 4.48 (d, 1H, ${}^3J_{1,2} = 7.9$ Hz, $H-1^{II}$), 4.21-4.11 (m, 1H, $H-5^I$), 3.81 (s, 3H, OCH₃), 3.73 (dd, 1H, ${}^3J_{6a,6b} = 6.5$ Hz, ${}^3J_{5,6} = 11.2$ Hz, $H-6a^{II}$), 3.60-3.54 (m, 1H, $H-5^{II}$), 3.44 (dd, 1H, ${}^3J_{6a,6b} = 6.5$ Hz, ${}^3J_{5,6} = 11.2$ Hz, $H-6b^{II}$), 2.14, 2.12, 2.00, 1.90 (4s, 12H, COCH₃), 1.27 ppm (d, 3H, $J_{5,6} = 6.2$ Hz, ${}^6CH_3^I$); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃)**: $\delta = 170.2, 170.1, 170.1, 169.0$ (COCH₃), 166.1, 165.4 (COPh), 155.2, 150.3 (C_{q-OMP}), 133.1, 133.1 (C_{q-arom}), 130.0-128.1 ($C_{arom-Bz}$), 117.6, 114.7 ($C_{arom-OMP}$), 100.8 ($C-1^I$), 96.9 ($C-1^{II}$), 75.6 ($C-2^I$), 71.2 ($C-4^I$), 70.6 ($C-3^I$), 70.6 ($C-3^{II}$), 70.6 ($C-5^{II}$), 68.6 ($C-2^{II}$), 67.4 ($C-5^I$), 66.8 ($C-4^{II}$), 60.7 ($C-6^{II}$), 55.6 (OCH₃), 20.8, 20.6, 20.6, 20.5 (COCH₃), 17.6 ppm ($C-6$). **ESI⁺-HRMS**: m/z calculée pour C₄₁H₄₄O₁₇Na [M + Na]⁺: 831.24707; trouvé: 831.24840. Le produit secondaire **123** est isolé en même temps sous la forme d'un solide blanc, avec un rendement de 50% (126 mg, 0.24 mmol). $R_f = 0.77$ (hexane/AcOEt, 1 : 1, v/v); $[\alpha]_D^{26} -14$ ($c=1.0$, CHCl₃); **¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C)**: $\delta = 8.01-7.93, 7.53-7.50$ et 7.41-7.37 (m, 10H, $H_{\text{arom-Bz}}$), 7.12-7.09 et 6.90-6.87 (m, 4H, $H_{\text{arom-OMP}}$), 5.82 (dd, 1H, ${}^3J_{2,3} = 3.3$ Hz, ${}^3J_{3,4} = 10.1$ Hz, $H-3$), 5.69 (dd, 1H, ${}^3J_{1,2} = 1.7$ Hz, ${}^3J_{2,3} = 3.3$ Hz, $H-2$), 5.66 (t, 1H, ${}^3J_{4,5} = 10.1$ Hz, $H-4$), 5.50 (d, 1H, ${}^3J_{1,2} = 1.7$ Hz, $H-1$), 4.35-4.26 (m, 1H, $H-5$), 3.79 (s, 3H, OCH₃), 2.20 (s, 3H, COCH₃), 1.34 ppm (d, 3H, ${}^3J_{5,6} = 6.2$ Hz, 6CH_3); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃)**: $\delta = 169.9$ (COCH₃), 165.6, 165.4 (COPh), 155.2, 150.0 (C_{q-OMP}), 133.3, 133.2 (C_{q-arom}), 129.6-128.3 (C_{arom}), 117.6, 114.6 ($C_{arom-OMP}$), 96.5 ($C-1$), 71.4 ($C-3$), 70.0 ($C-4$), 69.6 ($C-2$), 67.2 ($C-5$), 55.5 (OCH₃), 20.8 (COCH₃), 17.5 ppm ($C-6$). **ESI⁺-HRMS**: m/z calculée pour C₂₉H₂₉O₉ [M + H]⁺: 521.18061; trouvé: 521.17829.

2-*O*-Acétyl-3,4-di-*O*-benzyl- α -D-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphényle (125)

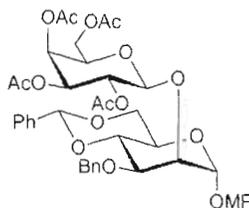


Une suspension du donneur trichloroacétimidate **16** (43 mg, 87 μ mol, 3.00 éq.), d'accepteur **97** (13 mg, 29 μ mol, 1.00 éq.) et de tamis moléculaire 4Å fraîchement activé, dans du dichlorométhane distillé (3 mL), est agitée pendant 1h sous atmosphère d'azote à température ambiante puis refroidie à -80 °C. Une solution de TMSOTf (3 μ L, 14 μ mol, 0.50 éq.) dans du dichlorométhane distillé (800 μ L) est ensuite additionnée. Après 1h d'agitation à -80 °C et 2h à température ambiante, le mélange est neutralisé par l'addition de la triéthylamine. Après la filtration sur Célite et évaporation du filtrat, le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/EtOAc, 4 : 1 v/v). Le disaccharide **124**, produit principal désiré, n'est pas été isolé proprement : **ESI⁺-MS** : m/z calculée pour $C_{41}H_{48}O_{15}Na$ $[M + Na]^+$: 803.29 ; trouvée : 803.3 ; m/z calculée pour $C_{41}H_{52}O_{15}N$ $[M + NH_4]^+$: 798.33 ; trouvée : 798.1. Le composé secondaire **125** est isolé sous la forme d'une poudre blanche avec un rendement de 23% (5 mg, 6 μ mol). $R_f = 0.26$ (hexane/AcOEt, 4 : 1, v/v) ; **¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C)** : $\delta = 7.42-7.30$ (m, 10H, $H_{\text{arom-Bn}}$), 6.98-6.95, 6.84-6.81 (m, 4H, $H_{\text{arom-OMP}}$), 5.55 (dd, 1H, $^3J_{1,2} = 1.9$ Hz, $^3J_{2,3} = 3.4$ Hz, $H-2$), 5.36 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.8$ Hz, $H-1$), 4.96, 4.78 (2d, 2H, $^2J_{11,11} = 11.0$ Hz, OCH_2Ph), 4.63 (dd, 2H, $^2J_{11,11} = 9.3$ Hz et 10.9 Hz, OCH_2Ph), 4.14 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.4$ Hz, $^3J_{3,4} = 9.4$ Hz, $H-3$), 3.97-3.87 (m, 1H, $H-5$), 3.78 (s, 3H, OCH_3), 3.52 (t, 1H, $^3J_{4,5} = 9.4$ Hz, $H-4$), 2.20 (s, 3H, $COCH_3$), 1.32 ppm (d, 3H, $^3J_{5,6} = 6.2$ Hz, 6CH_3) ; **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃)** : $\delta = 170.4$ ($COCH_3$), 155.0, 150.0 (C_{q-OMP}), 138.4, 137.9 ($C_{q-arom-Bn}$), 128.4-127.7 (C_{arom}), 117.7, 114.6 ($C_{arom-OMP}$), 96.7 ($C-1$), 79.9, 77.8 (OCH_2Ph), 75.5 ($C-3$), 71.9 ($C-4$), 68.8 ($C-2$), 68.4 ($C-5$), 55.6 (OCH_3), 21.1 ($COCH_3$), 18.0 ppm ($C-6$). **ESI⁺-HRMS** : m/z calculée pour $C_{29}H_{32}O_7Na$ $[M + Na]^+$: 515.20402 ; trouvée : 515.20365.

2-*O*-Acétyl-3,4-di-*O*-benzyl- α -D-rhamnopyranoside d'allyle (**127**)

Une suspension de trichloroacétimide **16** (455 mg, 0.74 mmol, 2.50 éq.), d'accepteur **101** (144 mg, 0.37 mmol, 1.00 éq.) et de tamis moléculaire 4Å fraîchement activé, dans du dichlorométhane distillé (9 mL), est agitée pendant 1h sous atmosphère d'azote à -45 °C. Une solution de TMSOTf (135 μ L, 0.74 mmol, 2.00 éq.) dans du dichlorométhane distillé (800 μ L) est ensuite additionnée. Après 1h d'agitation à -50 °C, le mélange est neutralisé par l'addition de la triéthylamine (104 μ L, 0.74 mmol, 2.00 éq.) à -50 °C, filtré sur Célite et concentré. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (EP/EtOAc, 3 : 2 v/v), conduisant à l'accepteur acétylé **127** sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 50% (79 mg, 0.19 mmol). $R_f = 0.84$ (EP/AcOEt, 3 : 2, v/v) ; $[\alpha]_D^{22} +17$ ($c=1.0$, CHCl_3) ; $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25 °C) : $\delta = 7.41\text{-}7.28$ (m, 10H, H_{arom}), 5.96-5.83 (m, 1H, $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.42 (dd, 1H, $^3J_{1,2} = 1.8$ Hz, $^3J_{2,3} = 3.3$ Hz, $H\text{-}2$), 5.32-5.21 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 4.95 (d, 1H, $^2J_{\text{H,H}} = 10.8$, OCH_2Ph), 4.80 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.6$ Hz, $H\text{-}1$), 4.73, 4.64, 4.56 (3d, 3H, $^2J_{\text{H,H}} = 11.0$ Hz, OCH_2Ph), 4.20-4.16, 4.01-3.95 (m, 3H, OCH_2 , $H\text{-}3$), 3.85-3.76 (m, 1H, $H\text{-}5$), 3.47 (t, 1H, $^3J_{4,5} = 9.4$ Hz, $H\text{-}4$), 2.17 (s, 3H, COCH_3), 1.36 ppm (d, 3H, $^3J_{5,6} = 6.2$ Hz, $^6\text{CH}_3$) ; $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3) : $\delta = 170.2$ (COCH_3), 138.6, 138.2 ($C_{\text{q-arom}}$), 133.6 ($\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 128.3-127.6 (C_{arom}), 117.4 ($\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 96.9 ($C\text{-}1$), 80.2, 78.1 (OCH_2Ph), 75.3 ($C\text{-}3$), 71.8 ($C\text{-}4$), 69.2 ($C\text{-}2$), 68.1 (OCH_2), 67.8 ($C\text{-}5$), 21.0 (COCH_3), 18.0 ppm ($C\text{-}6$). **ESI⁺-HRMS** : m/z calculée pour $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{O}_6\text{Na}$ [$M + \text{Na}$]⁺ : 449.19346 ; trouvée : 449.19339.

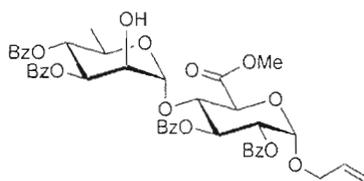
2,3,4,6-Tétra-*O*-acétyl- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-3,4-di-*O*-benzoyl- α -D-rhamnopyranoside de 4-méthoxyphényle (128)



Une suspension de trichloroacétimide **16** (636 mg, 1.29 mmol, 3.00 éq.), d'accepteur **68** (200 mg, 0.43 mmol, 1.00 éq.) et de tamis moléculaire 4Å fraîchement activé, dans du dichlorométhane distillé (4 mL), est agitée pendant 1h sous atmosphère d'azote à -50 °C. Une solution de TMSOTf (94 μ L, 0.52 mmol, 1.20 éq.) dans du dichlorométhane distillé (800 μ L) est ensuite additionnée. Après 2h d'agitation à -50 °C et 4h à température ambiante, le mélange est neutralisé par l'addition de la triéthylamine (72 μ L, 0.52 mmol, 1.20 éq.), filtré sur Célite et concentré. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/EtOAc, 4 : 1, v/v), conduisant au disaccharide **128**, produit principal désiré, sous la forme d'une huile incolore avec un rendement de 48% (164 mg, 0.20 mmol). $R_f = 0.53$ (hexane/AcOEt, 1 : 1, v/v); $[\alpha]_D^{26} +54$ ($c=0.5$, CHCl₃); $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl₃, 25 °C): $\delta = 7.50\text{-}7.28$ (m, 10H, $H_{\text{arom-Bn}}$), 6.96-6.93, 6.86-6.83 (m, 4H, $H_{\text{arom-OMP}}$), 5.63 (s, 1H, CHPh), 5.43-5.37 (m, 2H, $H\text{-}2^{\text{II}}$, $H\text{-}4^{\text{II}}$), 5.35 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.4$ Hz, $H\text{-}1^{\text{I}}$), 5.04 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.4$ Hz et $^3J_{3,4} = 10.6$ Hz, $H\text{-}3^{\text{II}}$), 4.81 (s, 2H, OCH_2Ph), 4.58 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 8.0$ Hz, $H\text{-}1^{\text{II}}$), 4.29 (m, 1H, $H\text{-}5^{\text{II}}$), 4.21-4.15 (m, 5H, $H\text{-}2^{\text{I}}$, $H\text{-}3^{\text{I}}$, $H\text{-}6a^{\text{I}}$, $H\text{-}6b^{\text{I}}$, $H\text{-}6a^{\text{II}}$), 3.94 (m, 2H, $H\text{-}4^{\text{I}}$, $H\text{-}6b^{\text{II}}$), 3.79 (s, 4H, OCH_3 , $H\text{-}6b^{\text{II}}$), 2.16, 2.07, 2.03, 2.01 ppm (4s, 12H, COCH_3); $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl₃): $\delta = 170.4$, 170.3, 170.1, 169.1 (COCH_3), 155.2, 149.7 ($\text{C}_{\text{q-OMP}}$), 138.3, 137.5 ($\text{C}_{\text{q-arom}}$), 128.8-126.0 (C_{arom}), 117.6, 114.7 ($\text{C}_{\text{arom-OMP}}$), 101.4 (CHPh), 101.0 ($\text{C}\text{-}1^{\text{II}}$), 97.4 ($\text{C}\text{-}1^{\text{I}}$), 78.0 (OCH_2Ph), 76.6 ($\text{C}\text{-}2^{\text{I}}$), 74.0 ($\text{C}\text{-}4^{\text{I}}$), 72.1 ($\text{C}\text{-}3^{\text{I}}$), 71.0 ($\text{C}\text{-}3^{\text{II}}$), 70.6 ($\text{C}\text{-}5^{\text{II}}$), 68.4 ($\text{C}\text{-}2^{\text{II}}$), 66.8 ($\text{C}\text{-}5^{\text{I}}$), 64.8 ($\text{C}\text{-}4^{\text{II}}$), 61.4 ($\text{C}\text{-}6^{\text{II}}$), 55.6 (OCH_3), 20.8, 20.7, 20.6, 20.5 ppm (COCH_3). **ESI⁻-MS** : m/z calculée pour C₄₁H₄₇O₁₆ [M + H]⁻ : 795.3 ; trouvée : 795.3. Le produit secondaire **69** (4%, 7.6 mg, 0.018 mmol), ainsi que l'accepteur **68** (13%, 25 mg, 0.055 mmol) sont aussi isolés présentant les

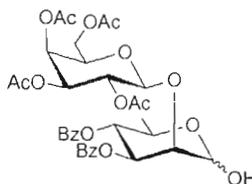
mêmes caractéristiques physiques que les produits isolés à partir des conditions appropriées décrites précédemment.

Méthyl-[2,3-di-*O*-benzoyl- α -D-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)]-2,3-di-*O*-benzoyl- α -D-glucopyranosyluronate d'allyle (129**)**



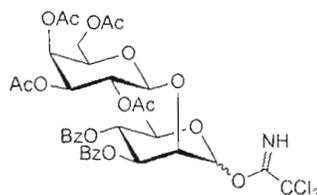
Le composé **129** est synthétisé par Dr. R. Fauré et caractérisé par l'auteur afin de continuer la synthèse. $[\alpha]_D^{26} +6$ ($c=0.5$, CHCl_3) ; $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3 , 25 °C): $\delta = 8.00\text{-}7.88$ (m, 8H, H_{arom}), 7.54-7.44, 7.40-7.30 (m, 12H, H_{arom}), 6.13 (t, 1H, $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 9.6$, $H\text{-}4^{\text{I}}$), 5.87 (m, 1H, $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.59-5.19 (m, 3H, $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$, $H\text{-}3^{\text{II}}$), 5.47 (t, 1H, $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 9.9$ Hz, $H\text{-}3^{\text{I}}$), 5.38 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 3.6$ Hz, $H\text{-}1^{\text{I}}$), 5.25 (dd, 1H, $^3J_{1,2} = 3.6$ Hz, $^3J_{2,3} = 10.3$ Hz, $H\text{-}2^{\text{I}}$), 5.10 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.6$ Hz, $H\text{-}1^{\text{II}}$), 4.58 (d, 1H, $^3J_{4,5} = 9.8$ Hz, $H\text{-}5^{\text{I}}$), 4.44 (t, 1H, $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 9.4$ Hz, $H\text{-}4^{\text{II}}$), 4.33-4.10 (m, 2H, OCH_2), 4.01 (dd, 1H, $^3J_{1,2} = 1.6$ Hz, $^3J_{2,3} = 3.4$ Hz, $H\text{-}2^{\text{II}}$), 3.99 (m, 1H, $H\text{-}5^{\text{II}}$), 3.91 (s, 3H, OCH_3), 2.10 (d, 1H, $^3J_{\text{H-}2,\text{OH-}2} = 4.0$ Hz, $\text{OH-}2^{\text{II}}$), 1.29 ppm (d, 3H, $^3J_{5,6} = 6.2$ Hz. $^6\text{CH}_5^{\text{II}}$) ; $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3) : $\delta = 168.9$ ($\text{C}=\text{O}_2\text{CH}_3$), 165.8, 165.7, 165.4, 165.1 ($\text{C}=\text{OPh}$), 133.4, 133.2, 133.1, 132.8 ($\text{C}_{\text{q-arom}}$) 132.8 ($\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 129.8-128.3 (C_{arom}), 118.3 ($\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 100.6, 95.4 ($\text{C-}1^{\text{I et II}}$). ($\text{C-}1^{\text{I et II}}$. $^1J_{\text{C-}1,\text{H-}1} = 170.6$ et 173.7 Hz), 76.5, 71.9, 71.7, 71.4, 71.2, 70.5, 69.7, 69.1, 67.6 ($\text{C-}2$ à $\text{C-}5^{\text{I et II}}$, OCH_2), 52.8 (CO_2CH_3), 17.4 ppm ($\text{C-}6^{\text{II}}$). **ESI⁺-HRMS**: m/z calculée pour $\text{C}_{44}\text{H}_{42}\text{O}_{15}\text{Na}$ [$\text{M} + \text{Na}$]⁺ : 833.24159 ; trouvée : 833.24014.

2,3,4,6-Tétra-*O*-acétyl- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-3,4-di-*O*-benzoyl-D-rhamnopyranose (133)



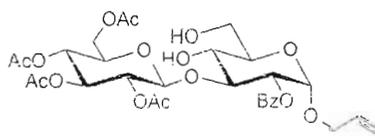
Une solution du *p*-méthoxyphényle disaccharidique **122** (70 mg, 87 μ mol) et de nitrate d'ammonium cérique IV (CAN, 475 mg, 870 μ mol, 10.00 éq.) dissous dans un mélange toluène/acétonitrile/eau (1 : 1.4 : 1, v/v/v, 3.4 mL), est agitée à température ambiante pendant 12h. Le mélange réactionnel est concentré et dilué dans du dichlorométhane, puis lave successivement avec des solutions aqueuses saturées de NaCl, NaHCO₃ et enfin à l'eau. Après séchage, filtration et évaporation des phases organiques, le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/EtOAc, 1 : 1, v/v), conduisant à l'hémiacétate **133** sous la forme d'une huile légèrement jaunâtre avec un rendement de 66%, β/α 5 : 1 (40 mg, 57 μ mol). R_f = 0.25 (hexane/AcOEt, 1 : 1) ; ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C) : δ = 8.06-7.99 (m, 4H, $H_{\text{arom-Bz}}$), 7.58-7.34 (m, 6H, $H_{\text{arom-Bz}}$), 5.69 (dd, 1H, ³ $J_{2,3}$ = 3.1 Hz et ³ $J_{3,4}$ = 10.1 Hz, $H-3^I$), 5.60 (t, 1H, ³ $J_{3,4}$ = ³ $J_{4,5}$ = 10.1 Hz, $H-4^I$), 5.35 (d, 1H, ³ $J_{1,2}$ = 1.1 Hz, $H-1^I$), 5.33-5.26 (m, 2H, $H-2^{II}$, $H-4^{II}$), 4.96 (dd, 1H, ³ $J_{2,3}$ = 3.3 Hz, ³ $J_{3,4}$ = 10.6 Hz, $H-3^{II}$), 4.51 (dd, 1H, $H-2^I$), 4.48 (d, 1H, ³ $J_{1,2}$ = 7.9 Hz, $H-1^{II}$), 4.21-4.11 (m, 1H, $H-5^I$), 3.73 (dd, 1H, ³ $J_{6a,6b}$ = 6.5 Hz, ³ $J_{5,6}$ = 11.2 Hz, $H-6a^{II}$), 3.60-3.54 (m, 1H, $H-5^{II}$), 3.44 (dd, 1H, ³ $J_{6a,6b}$ = 6.5 Hz, ³ $J_{5,6}$ = 11.2 Hz, $H-6b^{II}$), 3.07 (d, 1H, ³ $J_{1,1-OH-1}$ = 3.3 Hz, OH-1), 2.14, 2.12, 2.00, 1.90 (4s, 12H, COCH₃), 1.27 ppm (d, 3H, $J_{5,6}$ = 6.2 Hz, CH₃^I) ; ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) : δ = 170.2, 170.1, 170.1, 169.0 (COCH₃), 166.1, 165.4 (COPh), 133.4, 133.2, 133.1, 133.0 (C_{q-arom}), 130.0-128.1 (C_{arom}), 102.3, 100.8 (C-1^I), 93.4, 92.5 (C-1^{II}), 75.8, 72.8, 71.4, 70.8, 70.8, 70.7, 70.6, 70.5, 70.4, 69.7, 68.6, 66.9, 66.8 (C-2 à C-5^{I et II}, C-6^{II}), 60.7, 60.4 (OCH₃), 20.8, 20.7, 20.6, 20.6, 20.6, 20.5 (COCH₃), 17.6, 17.6 ppm (C-6). ESI⁺-HRMS : m/z calculée pour C₃₄H₃₈O₁₆Na [M + Na]⁺ : 725.20521 ; trouvée : 725.20578.

2,2,2-Trichloroacétimide de 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-3,4-di-*O*-benzoyl-D-rhamnopyranoside de (134)



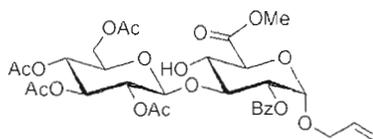
À une solution d'hémiacétate disaccharidique **133** (5 mg, 7 μ mol) dans du dichlorométhane distillé (2 mL), sont ajoutés du trichloroacétonitrile (4 μ L, 35 μ mol, 5.00 éq.) et du DBU (1 goutte, 0.40 éq.). Après 1h d'agitation à température ambiante sous atmosphère inerte, le mélange est concentré puis purifié par chromatographie sur gel de silice (hexane/EtOAc, 2 : 1 v/v) en utilisant le gel de silice préalablement traité avec de la triéthylamine, conduisant à l'imide disaccharidique **134** sous la forme d'une huile jaunâtre avec un rendement de 83% (5 mg, 5.8 μ mol). R_f = 0.57 (hexane/AcOEt, 1 : 1) ; $[\alpha]_D^{22}$ -17 ($c=0.5$, CHCl₃) ; $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ = 8.72 (s, 1H, NH), 8.03-7.99 (m, 4H, H_{arom}), 7.56-7.35 (m, 6H, $H_{\text{arom-Bz}}$), 6.24 (d, 1H, $^3J_{1,2}$ = 1.8 Hz, $H-1^I$), 5.64 (t, 1H, $^3J_{3,4} = ^3J_{4,5} = 10.1$ Hz, $H-4^I$), 5.51 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.1$ Hz et $^3J_{3,4} = 10.1$ Hz, $H-3^I$), 5.27 (m, 2H, $H-1^{II}$, $H-4^{II}$), 5.00 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.3$ Hz, $^3J_{3,4} = 10.6$ Hz, $H-3^{II}$), 4.55 (2dd, 2H, $H-2^{I \text{ et } II}$), 4.25 (m, 1H, $H-5^I$), 3.73 (dd, 1H, $^3J_{6a,6b} = 6.5$ Hz, $^3J_{5,6} = 11.2$ Hz, $H-6a^{II}$), 3.60-3.54 (m, 1H, $H-5^{II}$), 3.44 (dd, 1H, $^3J_{6a,6b} = 6.5$ Hz, $^3J_{5,6} = 11.2$ Hz, $H-6b^{II}$), 2.14, 2.13, 2.00, 1.90 (4s, 12H, COCH₃), 1.27 ppm (d, 3H, $J_{5,6} = 6.2$ Hz, $^6\text{CH}_3^I$). **ESI⁺-HRMS** : m/z calculée pour C₃₆H₃₈Cl₃NO₁₆Na [M + Na]⁺ : 868.11484 ; trouvée : 868.11378.

2,3,4,6-Tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-2-*O*-benzoyl- α -D-glucopyranoside d'allyle (135)



À une solution, chauffée à 85 °C, de benzylidène **113** (131 mg, 180 µmol, 1 éq.) dans un mélange méthanol/dioxane (1 : 1, v/v, 3 mL) est ajouté de l'acide *p*-toluène sulfonique monohydraté (4 mg, 18 µmol, 0.1 éq.). Après 1h30 sous agitation à 85 °C, le milieu réactionnel est neutralisé par ajout d'Et₃N, puis concentré. Une purification par chromatographie sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle, 2 : 3) permet d'obtenir le diol **135** avec 74 % de rendement (87 mg, 133 µmol).²³⁶

Méthyl-[2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-β-D-glucopyranosyl-(1→3)]-2-*O*-benzoyl-α-D-glucopyranosyluronate d'allyle (136)

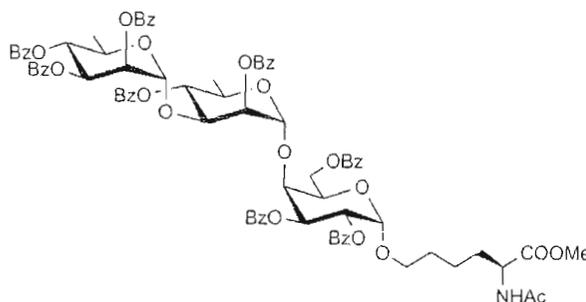


À une solution de diol **135**²³⁶ (301 mg, 0.46 mmol, 1 éq.) dans un mélange dichlorométhane/eau (3 : 1, 8 mL) sont ajoutés du 2,2,6,6-tétraméthylpipéridine-1-oxyle (radical TEMPO - 15 mg, 0.09 mmol, 0.2 équiv.) et du bisacétoxyiodobenzène (BAIB - 379 mg, 1.18 mmol, 2.5 éq.). Le mélange est agité vigoureusement pendant 40 minutes à température ambiante puis la réaction est arrêtée par ajout d'une solution de thiosulfate de sodium (1M, 40 mL). La phase aqueuse, acidifiée avec de l'acide chlorhydrique (1M), est extraite plusieurs fois au dichlorométhane. Les phases organiques sont regroupées, séchées sur sulfate de sodium anhydre puis concentrées. Le résidu est repris dans l'acétonitrile sec (10 mL), puis du carbonate de potassium anhydre (60 mg, 0.42 mmol, 1.1 éq.) ainsi que de l'iodométhane (0.48 mL, 7.71 mmol, 20 éq.) est ajouté. Après 3 jours sous agitation à température ambiante, de l'iodométhane est rajouté (0.24 mL, 3.35 mmol, 10 équiv.). Après 2 jours supplémentaires, le milieu réactionnel est filtré puis concentré. Une purification par chromatographie rapide sur gel de silice (hexane/acétate d'éthyle : 2 : 1, puis 1 : 1) permet d'obtenir le produit **136** (225 mg, 0.33 mmol) avec 72% de rendement sur 2 étapes. $R_f = 0.34$ (hexane/acétate d'éthyle: 1-1) . $[\alpha]_D^{25} +64$ ($c=1.0$, CHCl₃); ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25

²³⁶ Produit synthétisé et fourni par Dr. R. Fauré.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): δ = 8.07-8.04 (m, 2H, H_{arom}), 7.65-7.60 (m, 1H, H_{arom}), 7.52-7.47 (m, 2H, H_{arom}), 5.86-5.73 (m, 1H, $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.29-4.96 (m, 7H, $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$, $H-1^I$, $H-2^I$, $H-2^{II}$, $H-3^{II}$ et $H-4^{II}$), 4.70 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 8.0$ Hz, $H-1^{II}$), 4.29-3.82 (m, 10H, $H-3^I$, OCH_2 , $H-6a^I$, $H-6a^{II}$, $H-5^I$, $H-6b^{II}$, $H-6b^I$, $H-4^I$, $H-5^{II}$), 3.84 (s, 3H, OCH_3), 2.10, 2.02, 1.93 et 1.34 ppm (4s, 4x3H, OCOCH_3) ; $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3): δ = 170.5, 170.0, 169.2 et 169.0 (CO_2CH_3 et OCOCH_3), 165.4 (OCOPh), 133.6 ($\text{C}_{\text{q-arom}}$), 132.9 ($\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 129.7, 129.1, 128.6 (C_{arom}), 118.3 ($\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 101.2 ($\text{C}-1^{II}$), 95.4 ($\text{C}-1^I$), 82.0, 72.5, 71.9, 71.5, 70.8, 70.7, 70.3, 68.9, 68.2, 61.7 ($\text{C}-2$ à $\text{C}-6^I$ et II et $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 52.6 (CO_2CH_3), 20.5, 20.4, 20.4 et 19.5 ppm (OCOCH_3). **ESI⁺-HRMS** : m/z calculée pour $\text{C}_{31}\text{H}_{38}\text{O}_{17}\text{Na}$ [$\text{M} + \text{Na}$]⁺ : 705.20012 ; trouvée : 705.20067.

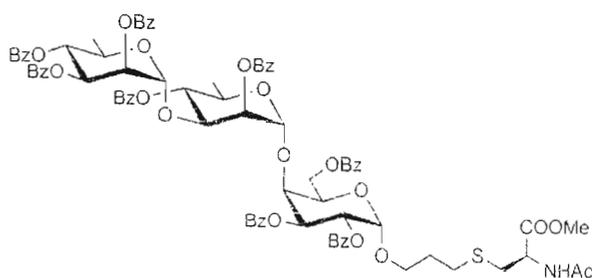
Méthyl 2-(S)-acétamido-6-[2,3,4-Tri-O-benzoyl- α -D-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-2,4-di-O-benzoyl- α -D-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-tri-O-benzoyl- α -D-galactopyranosyloxy]-hexanoate (143)



À une solution de trisaccharide **112** (20.6 mg, 15.3 μmol , 1.00 éq.) et du *N*-acetyl-L-allylglycine methyl ester **142** (13.1 mg, 76.5 μmol , 5 éq.) dans du dichlorométhane (1 mL) est ajouté le catalyseur Grubbs de première génération (1.2 mg, 1.5 μmol , 0.10 éq.) et la réaction est portée à reflux. Après 8h, le milieu réactionnel est concentré et purifié par chromatographie sur gel de silice (toluène-AcOEt, 1 : 1 v/v). Le mélange résiduel d'isomères est dissout dans du MeOH (1 mL), et Pd/C (1 mg) est ajouté. La suspension est agitée sous pression d'hydrogène jusqu'à la disparition du produit de départ. Le milieu réactionnel est filtré sur Célite, concentré et purifié par chromatographie sur gel de silice (toluène/AcOEt, 1 : 1 v/v) conduisant au composé

143 avec un rendement de 60% (13.6 mg, 9.2 μmol). $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +3$ ($c=1.0$, CHCl_3) ; $^1\text{H RMN}$ (600 MHz, CDCl_3 , 25 °C): δ = 8.16-7.05 (m, 40H, H_{arom}), 6.20 (d, 1H, $^3J = 8.1$ Hz, NH), 5.74-5.68 (m, 2H, $H-3^{\text{I}}$ et $H-2^{\text{II}}$), 5.64-5.60 (m, 2H), 5.55-5.48 (m, 2H, $H-4^{\text{II}}$ et $^{\text{III}}$), 5.36-5.33 (m, 3H), 5.29-5.25 (m, 1H), 4.90-4.87 (m, 1H, $H-6a^{\text{I}}$), 4.67-4.57 (m, 2H, $\text{O}(\text{CH}_2)_4\text{CH}$ et $H-4^{\text{I}}$), 4.55-4.45 (m, 3H, $H-3^{\text{II}}$, $H-5^{\text{I}}$ et $H-6b^{\text{I}}$), 4.31-4.22 (m, 1H, $H-5^{\text{II}}$), 4.17- 4.06 (m, 1H, $H-5^{\text{III}}$), 3.78-3.75 (m, 1H, $\text{OCH}_2(\text{CH}_2)_3\text{CH}$), 3.69 (s, 3H, CO_2CH_3), 3.54-3.47 (m, 1H, $\text{OCH}_2(\text{CH}_2)_3\text{CH}$), 2.01 (s, 1H, NHCOCH_3), 1.66-1.58 (m, 2H, $\text{O}(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2\text{CH}$), 1.36-1.26 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}$), 1.15 (d, 3H, $^3J_{5,6} = 6.3$ Hz, $H-6^{\text{III}}$), 0.65 ppm (d, 3H, $^3J_{5,6} = 6.1$ Hz, $H-6^{\text{II}}$) ; $^{13}\text{C RMN}$ (125 MHz, CDCl_3): δ = 170.1, 169.6 (NHCOCH_3 et CO_2CH_3), 166.5, 166.3, 166.2, 166.1, 166.1, 166.0, 165.8, 165.5 (COPh), 133.3-128.1 (C_{arom}), 99.5, 98.7, 96.3 ($\text{C}-1^{\text{I}}$, $^{\text{II}}$ et $^{\text{III}}$), 77.9, 76.5, 72.6, 72.6, 71.4, 70.5, 69.4, 68.9, 68.8, 68.1, 67.6, 67.5, 67.3 ($\text{C}-2$ à $\text{C}-5^{\text{I}}$, $^{\text{II}}$ et $^{\text{III}}$ et $\text{OCH}_2(\text{CH}_2)_3\text{CH}$), 61.8 ($\text{C}-6^{\text{III}}$), 52.3, 51.9 ($\text{O}(\text{CH}_2)_4\text{CH}$ et CO_2CH_3), 32.1, 29.7, 28.8, 21.9 ($\text{OCH}_2(\text{CH}_2)_3\text{CH}$ et NHCOCH_2), 17.3, 17.2 ppm ($\text{C}-6^{\text{I}}$ et $^{\text{II}}$) ; **ESI⁺-HRMS** : m/z calculée pour $\text{C}_{83}\text{H}_{80}\text{NO}_{25}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 1490.50139 ; trouvée : 1490.50130.

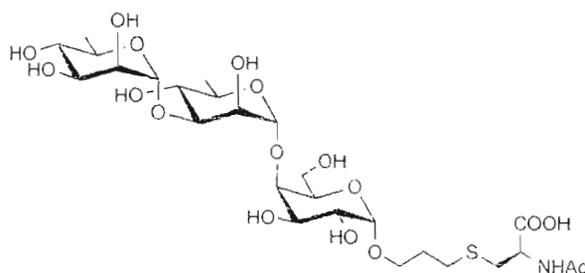
***N*-Acétyl-(*S*)-{3-[2,3,4-Tri-*O*-benzoyl- α -D-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-2,4-di-*O*-benzoyl- α -D-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-tri-*O*-benzoyl- α -D-galactopyranosyloxy]-propyle}-*L*-cystéine méthyl ester (**145**)**



À une solution du trisaccharide **112** (33.2 mg, 25.0 μmol , 1.00 éq.) dans du THF déoxygené (3 mL), est ajouté du *N*-acetyl-*L*-cystéine methyl ester **144** (22.4 mg, 126 μmol , 5 éq.) et une quantité catalytique de AIBN. La réaction est irradiée à 254 nm sous atmosphère d'azote pendant 24 h, concentré et le résidu est repris dans du dichlorométhane (4 mL). Resin Trt-Cl (350 mg, 0.90 mmol g^{-1}) et DIPEA (20 μL , 121 μmol , 5 éq.) sont ajoutés et agité pendant 2 h. La

solution est filtrée et concentrée. Le composé **145** est purifié par chromatographie sur gel de silice (toluène/AcOEt, 7: 3, v/v) conduisant au composé désiré avec un rendement de 79% (29.7 mg, 20 μ mol). $[\alpha]_D^{25} +10$ ($c=1.0$, CHCl₃) ; ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ = 8.16-7.20 (40H, m, H_{arom}), 6.47 (d, 1H, ³ J = 7.8 Hz, NH), 5.78-5.67 (m, 2H), 5.64-5.59 (m, 2H), 5.56-5.47 (m, 2H, $H-4^{\text{II}}$ et $^{\text{III}}$), 5.38-5.34 (m, 3H), 5.24 (d, 1H, ³ J = 1.5 Hz), 4.87 (dd, 1H, ³ J = 6.2 et 10.7 Hz), 4.80-4.74 (m, 1H, SCH₂CH), 4.63-4.46 (m, 4H), 4.29-4.23 (m, 1H, $H-5^{\text{II}}$), 4.15-4.10 (m, 1H, $H-5^{\text{III}}$), 3.89-3.82 (m, 1H, OCH₂CH₂CH₂S), 3.73 (s, 3H, CO₂CH₃), 3.58 (m, 1H, OCH₂CH₂CH₂S), 2.93-2.80 (m, 2H, SCH₂CH), 2.58-2.53 (m, 2H, OCH₂CH₂CH₂S), 2.03 (s, 3H, NHCOCH₃), 1.88-1.78 (m, 2H, OCH₂CH₂CH₂S), 1.15 (d, 3H, ³ $J_{5,6}$ = 6.3 Hz, $H-6^{\text{III}}$), 0.66 ppm (d, 3H, ³ $J_{5,6}$ = 6.0 Hz, $H-6^{\text{II}}$) ; ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 171.2, 169.8 (NHCOCH₃ et CO₂CH₃), 166.1, 166.1, 166.1, 166.0, 165.7, 165.5, 164.9, 164.7 (COPh), 133.5-128.1 (C_{arom}), 99.5, 98.7, 96.5 ($C-1^{\text{II}}$ et $^{\text{III}}$), 76.2, 75.8, 72.6, 72.5, 71.5, 70.5, 70.1, 69.5, 69.0, 67.7, 67.6, 67.5, 66.5 ($C-2$ à $C-5^{\text{II}}$ et $^{\text{III}}$ et OCH₂(CH₂)₂S), 62.0 ($C-6^{\text{I}}$), 52.6, 51.8 (SCH₂CH et CO₂CH₃), 34.3, 29.5, 29.0, 23.0 (OCH₂(CH₂)₂SC₂H₅ et NHCOCH₃), 17.3, 17.2 ppm ($C-6^{\text{I}}$ et $^{\text{II}}$). **ESI**⁺-**HRMS** : m/z calculée pour C₈₃H₈₀NO₂₅S [M + H]⁺ : 1522.47346 ; trouvée : 1522.47240.

***N*-Acétyl-(*S*)-{3-[α -D-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -D-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -D-galactopyranosyloxy]-propyle}-*L*-cystéine méthyl ester (**146**)**



À une solution du composé **145** (19.8 mg, 13 μ mol, 1.00 éq.) dans du THF (0.2mL) est ajoutée une solution de LiOH (9.0 mg, 210 μ mol, 16 éq.) dans H₂O (0.5 mL). La réaction est agitée pour la nuit à température ambiante, puis neutralisé par la résine de type Amberlite IR-120 (H⁺). Après filtration et évaporation du filtrat, le résidu est lyophilisé, conduisant au composé final trisaccharide **146** avec un rendement quantitatif (8,7 mg, 13 μ mol). $[\alpha]_D^{25} +86$ ($c=0.1$, MeOH) ;

¹H RMN (300 MHz, D₂O, 22 °C): δ = 5.05 (d, 1H, ³J = 1.2 Hz), 4.95-4.76 (m, 3H), 4.36 (q, 1H, ³J = 4.5 et 8.1 Hz), 4.18-3.78 (m, 11H), 3.72-3.70 (m, 2H), 3.63-3.44 (m, 3H), 3.05 (dd, 1H, ³J = 4.1 et 13.8 Hz), 2.91-2.83 (m, 1H), 2.70 (t, 2H, ³J = 6.7 Hz), 2.05 (s, 3H), 2.00-1.89 (m, 2H), 1.30 (d, 3H, ³J₅₋₆ = 6.3 Hz, H-6^{II} ou III), 1.26 ppm (d, 3H, ³J₅₋₆ = 6.2 Hz, H-6^{II} ou III); **¹³C RMN (75 MHz, D₂O + acétone):** δ = 180.8, 180.8 (NHCOCH₃ et CO₂H), 103.0, 102.2, 99.0 (C-1^I et III), 79.1, 78.5, 72.6, 71.9, 71.8, 70.8, 70.8, 70.7, 70.0, 69.8, 69.5, 69.1, 67.3 (C-2 à C-5^{I,II} et III et OCH₂(CH₂)₂S), 61.3 (C-6^I), 55.1 (SCH₂CH), 34.4, 29.2, 29.0, 23.1 (OCH₂(CH₂)₂SCH₂CH et NHCOCH₃), 17.3, 17.2 ppm (C-6^I et II). **ESI⁺-HRMS :** *m/z* calculée pour C₂₆H₄₅NO₁₇SNa [M + Na]⁺ : 698.23004 ; trouvée : 698.2279.

ANNEXES

Poster : *En route vers un vaccin synthétique contre Burkholderia cepacia impliqué dans la fibrose kystique –*

Cystic fibrosis synthetic vaccine pathway

Schéma des synthèses effectuées durant la période de maîtrise afin d'obtenir des vaccins synthétiques potentiels contre la bactérie *B. cepacia* présenté sous forme de l'affiche.

