# Glycochimie et Glycobiologie

M2 – 2012

Université de Poitiers, SFA

Dr Charles GAUTHIER

# Plan du cours

- 6 séances = 12 h de cours (6 h CM + 6 h TD)

1. Introduction aux carbohydrates
2. Réactions des groupements hydroxyles
3. Méthodes de glycosylation chimique
4. Synthèse d'oligosaccharides
5. Glycobiologie et glycomédecine
6. Synthèse totale de glycoconjugués

# Lectures suggérées

**Livres :**

Benjamin G. Davis and Antony J. Fairbanks, **Carbohydrate Chemistry**, Oxford Chemistry Primers, Oxford University Press, 2002, 453 pp.

Daniel E. Levy and Péter Fügedi, **The Organic Chemistry of Sugars**, Taylor & Francis Group, CRC Press, 2006, 879 pp. (*pdf disponible sur demande*)

Peter Collins and Robin Ferrier, **Monosaccharides : Their Chemistry and Their Roles in Natural Products**, John Wiley & Sons, 1995, 574 pp.

Carolyn R. Bertozzi *et al.* **Essentials of Glycobiology**, 2nd Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2008, 784 pp.

Stephen Hanessian, **Preparative Carbohydrate Chemistry**, Marcel Dekker Inc., 1997, 648 pp. (*pdf disponible sur demande*)

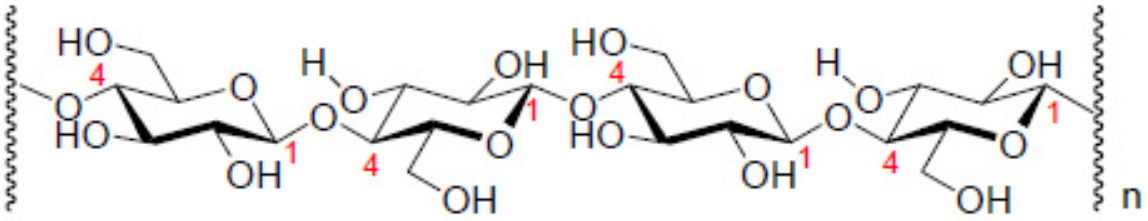
# 1. Introduction aux carbohydrates

## Sommaire de la 1ère partie

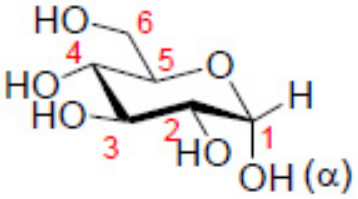
- Projections de Fischer, Haworth, Mills, Newman, chaise, …
- Nomenclature des aldoses et cétoses
- Sucres acycliques et cycliques
- Mutarotation
- Mobilité conformationnelle des glycopyranoses
- Effets anomérique et *exo*-anomérique
- Monosaccharides importants dans la nature
- Nomenclature des di- et oligosaccharides

# 1. Introduction aux carbohydrates

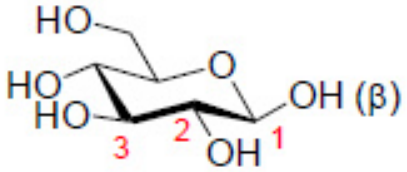
- Carbohydrates sont des **hydrates de carbone** de formule : $C_n(H_2O)_n$
- Mono- (1 sucre), di- (2 sucres), oligo- (3 à 9 sucres) et poly- (≥10 sucres) saccharides
- Molécules naturelles diversifiées : sources d'énergies, structure et activité biologique



*cellulose*: (1→4)-β-D-glucane (tous les substituants equatoriaux)



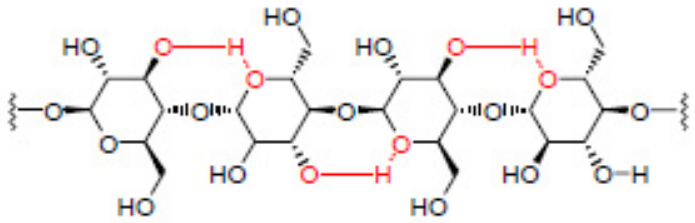
α-D-glucose
α-D-glucopyranose (α-D-Glc*p*)

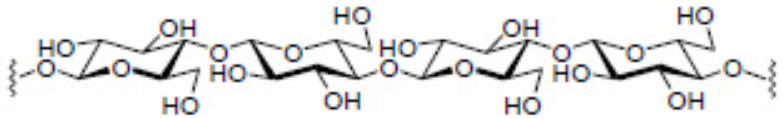


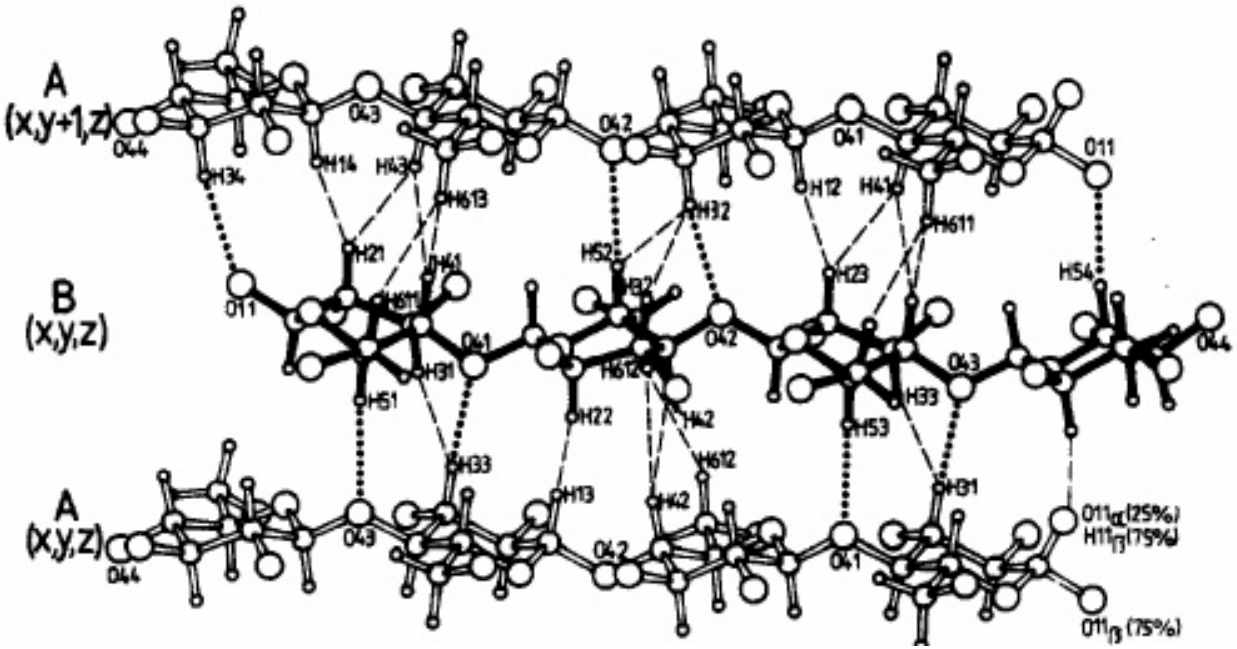
β-D-glucose
β-D-glucopyranose (β-D-Glc*p*)

N-acétyl-2-amino-2-déoxy-
β-D-glucopyranose (β-D-GlcNAc*p*)

# 1. Introduction aux carbohydrates

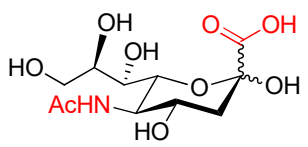


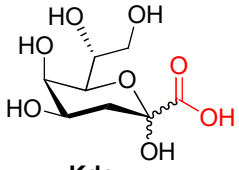



**Structure de la cellulose**

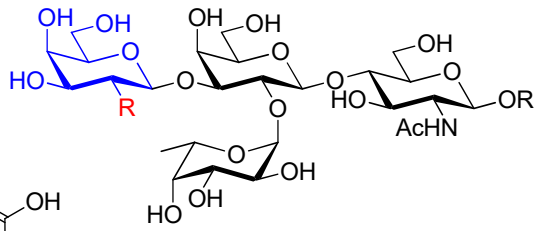
# 1. Introduction aux carbohydrates



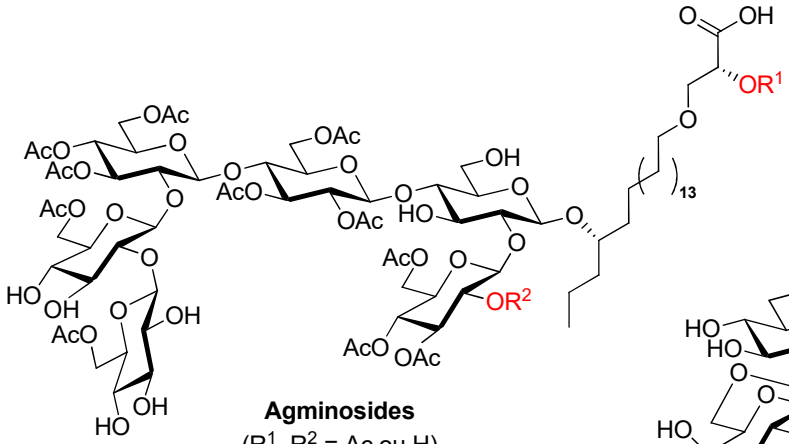
**sialic acid**



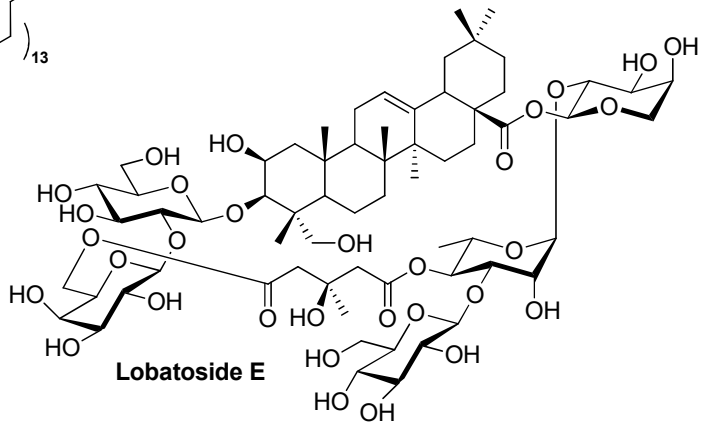
**Kdo**



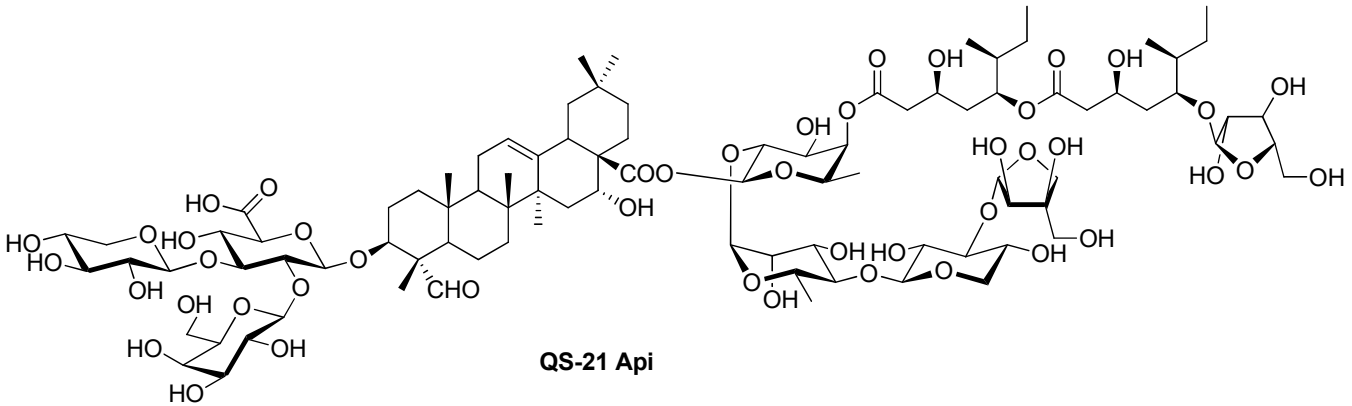
**Lewis blood group A** R = NHAc
**Lewis bloog group B** R = OH



**Agminosides**
($R^1$, $R^2$ = Ac ou H)



**Lobatoside E**



**QS-21 Api**

# 1. Introduction aux carbohydrates

**« Carbohydrate structures are unrivalled in the density of information that they can convey »**

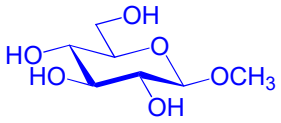
*Prof. Benjamin G. Davis, University of Oxford, UK*

- Nature liaison glycosidique (alpha, bêta)
- Position de la liaison glycosidique (1-1, 1-2, 1-3, 1-4, 1-6)
- Furanose (cycle à 5), pyranose (cycle à 6) + flexibilité ($^4C_1$, $^1C_4$, etc.)
- Méthylation, phosphorylation, acylation, déoxysucres, etc.
- Contraste avec la linéarité des acides nucléiques et protéines

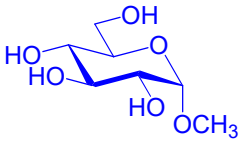
| Oligomer size | Numbers of different oligomers | | |
|---|---|---|---|
| | Nucleotides | Peptides | Carbohydrates |
| 1 | 4 | 20 | 20 |
| 2 | 16 | 400 | 1 360 |
| 3 | 64 | 8 000 | 126 080 |
| 4 | 256 | 160 000 | 13 495 040 |
| 5 | 1 024 | 3 200 000 | 1 569 745 920 |
| 6 | 4 096 | 64 000 000 | 192 780 943 360 |

# 1. Introduction aux carbohydrates

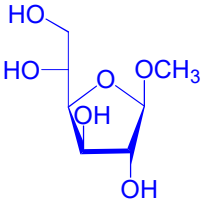
β-D-Glc*p*



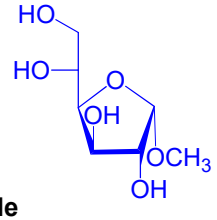
α-D-Glc*p*



β-D-Glc*f*



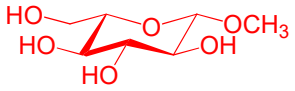
α-D-Glc*f*



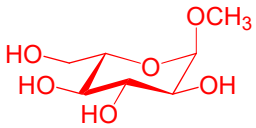
**methyl D-glucoside**

**methyl L-glucoside**

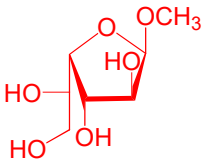
β-L-Glc*p*



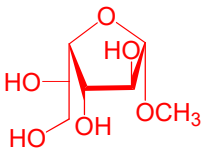
α-L-Glc*p*



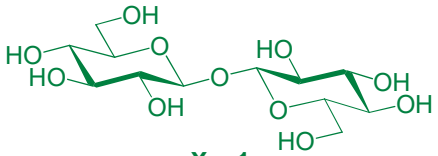
β-L-Glc*f*



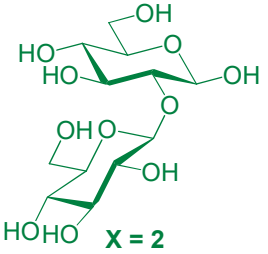
α-L-Glc*f*



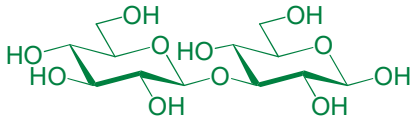
**β-D-Glc*p*(1-X)β-D-Glc*p***



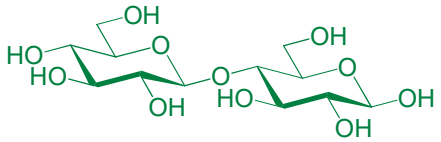
**X = 1**



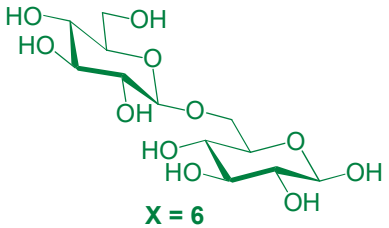
**X = 2**



**X = 3**



**X = 4**



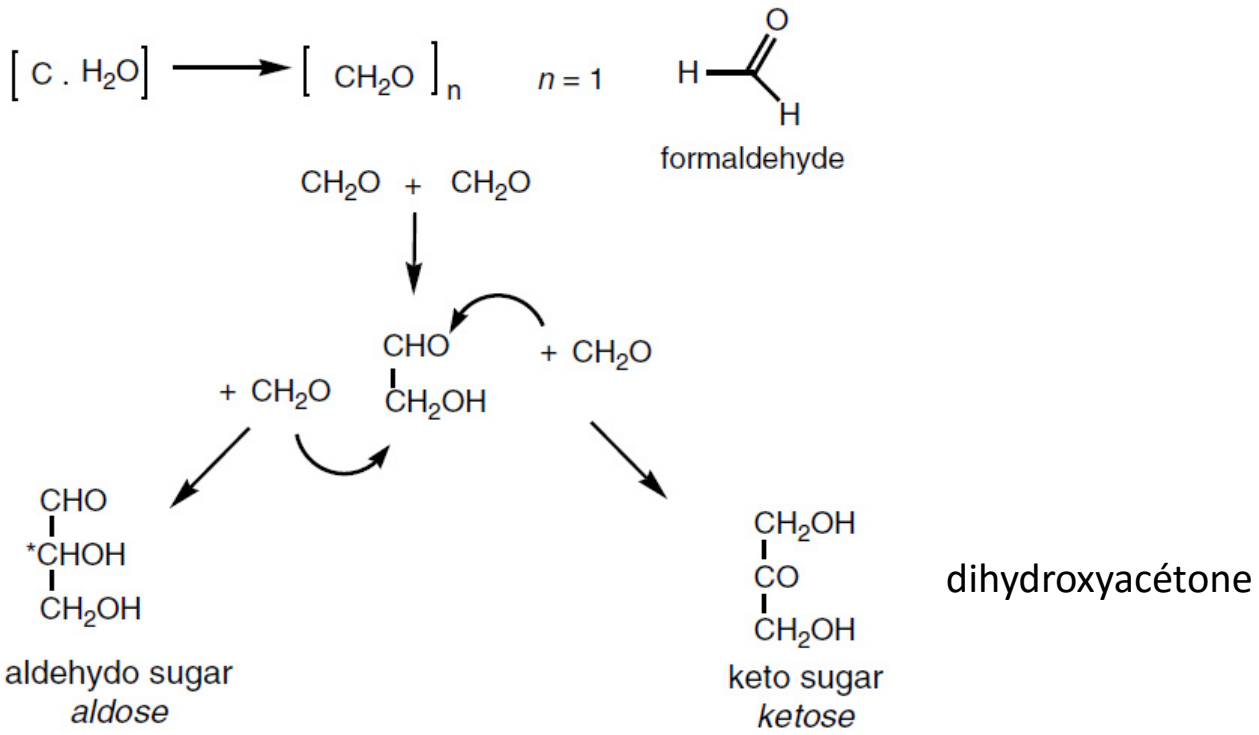
**X = 6**

# 1. Introduction aux carbohydrates

- Carbohydrates synthétisés par plantes selon processus biochimiques multi-étapes :

$$CO_2 + H_2O \rightarrow CH_2O + O_2 \text{ (équation générale)}$$

- En 1861, Alexandre Butlerov montra que, sous conditions basiques, le formaldéhyde ($CH_2O$) peut polymériser pour générer un mélange visqueux de polyhydroxyaldéhydes (**aldoses**) et polyhydroxycétones (**cétoses**) avec un goût sucré

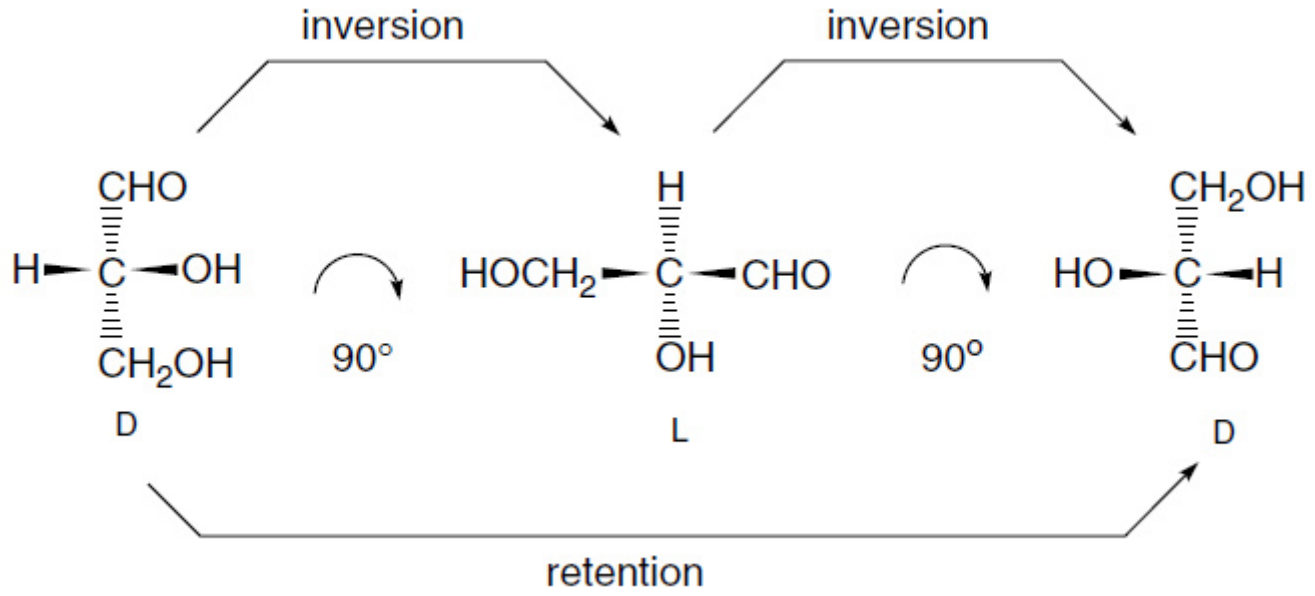



D- ou L-glycéraldéhyde

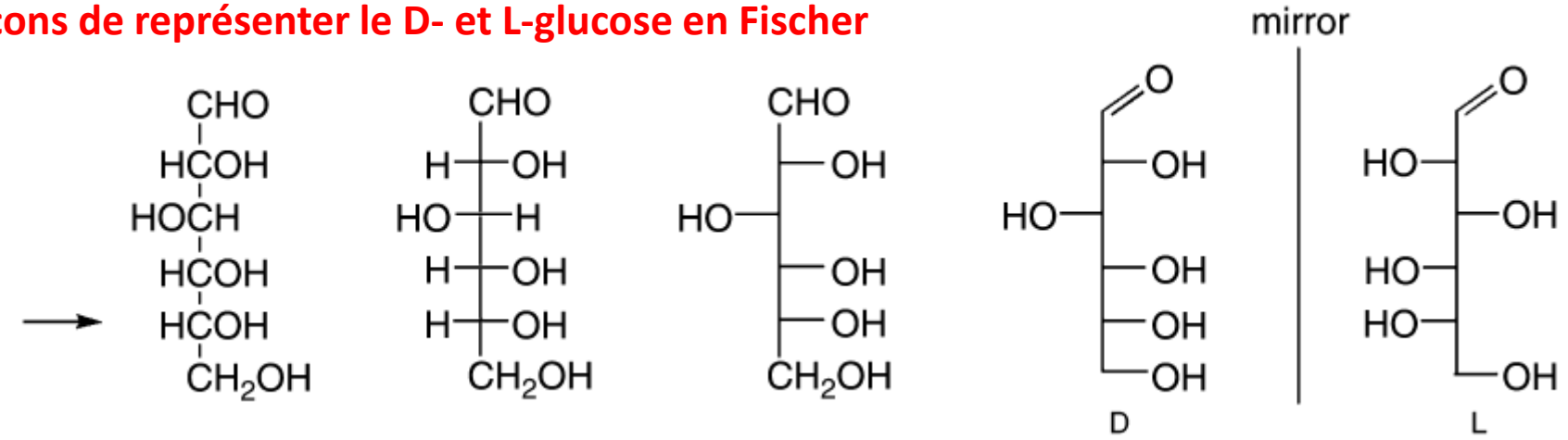
dihydroxyacétone

# 1. Introduction aux carbohydrates

## Transformation des projections de Fischer




## Façons de représenter le D- et L-glucose en Fischer



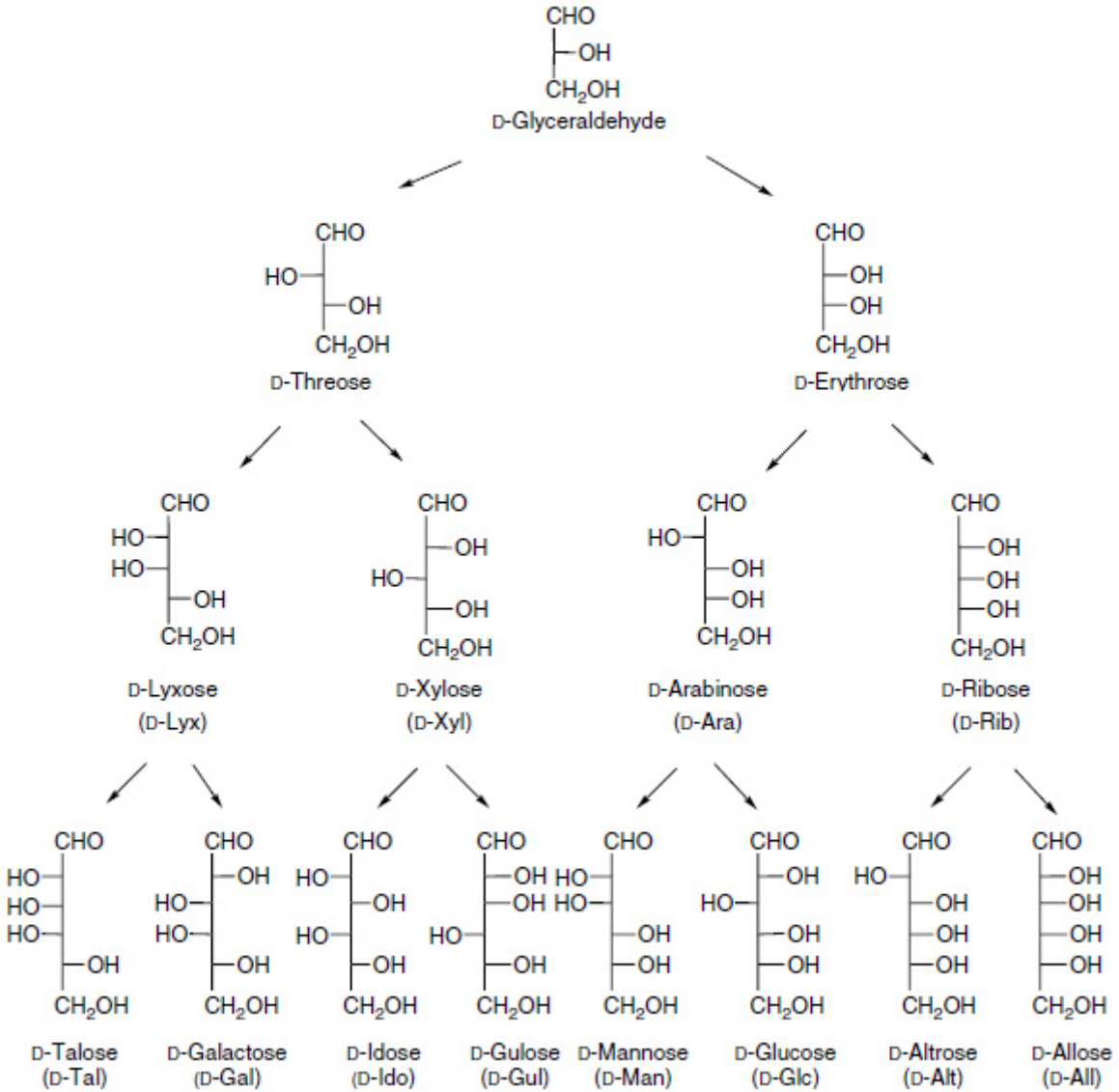
# 1. Introduction aux carbohydrates

Triose

Tétrose

Pentose

Hexose



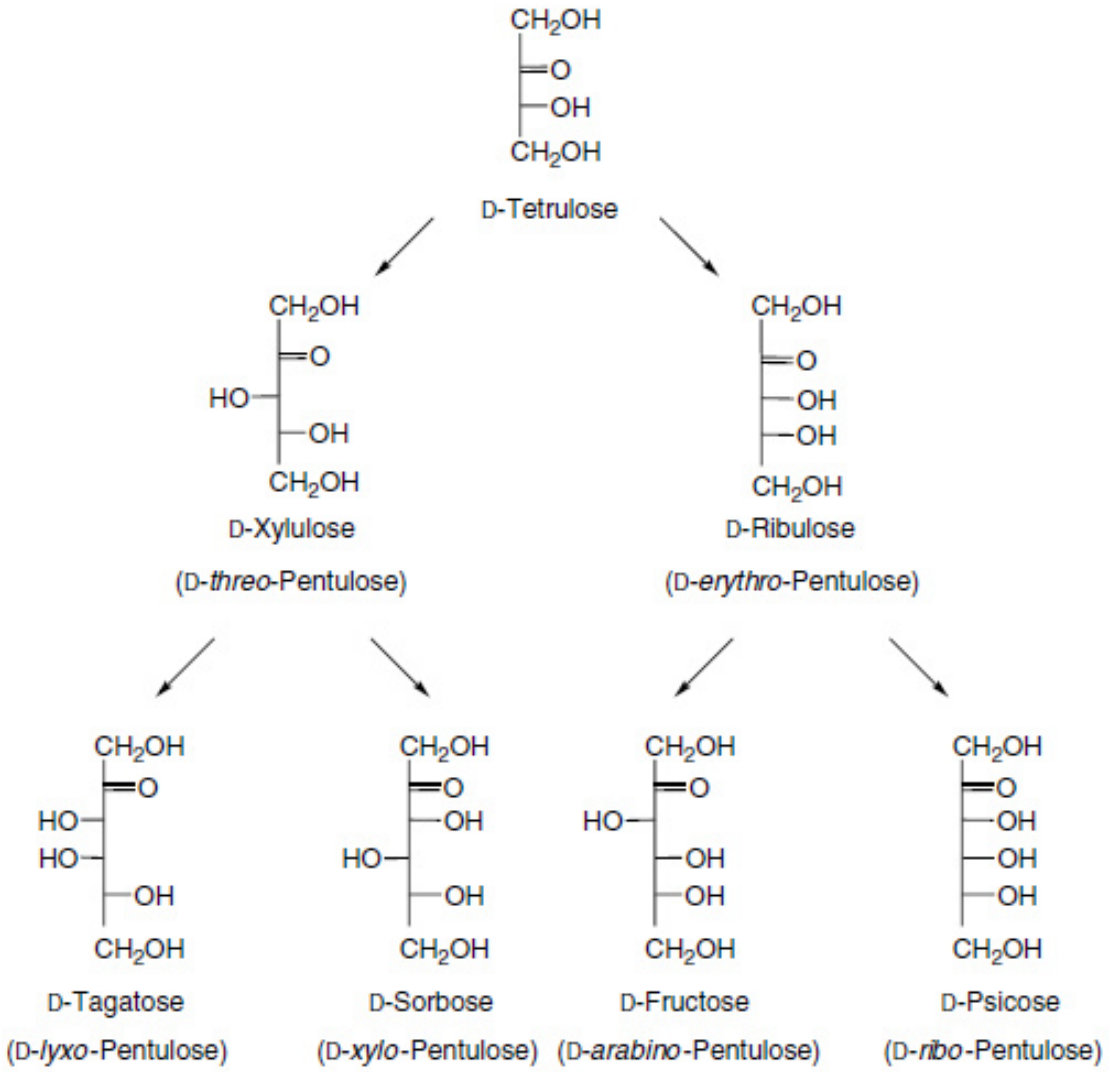

**Formes acycliques, noms triviaux et abbréviations des D-aldoses en Fischer**

# 1. Introduction aux carbohydrates

Tétrulose

Pentulose

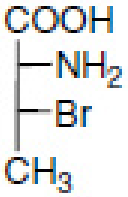
Hexulose



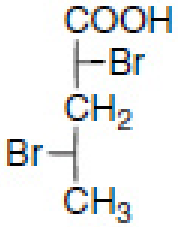

**Noms triviaux, systématiques et abbréviations des D-cétoses en Fischer**

# 1. Introduction aux carbohydrates

**Utilisations des préfixes pour la nomenclature de dérivés**

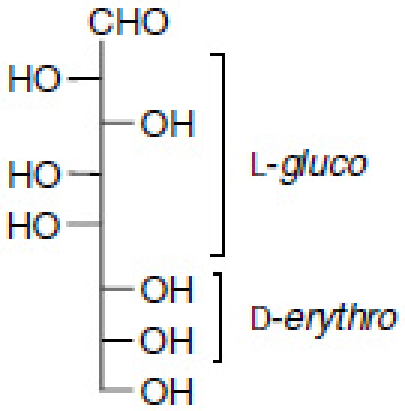



2-Amino-3-bromo-D-*erythro*-butanoic acid

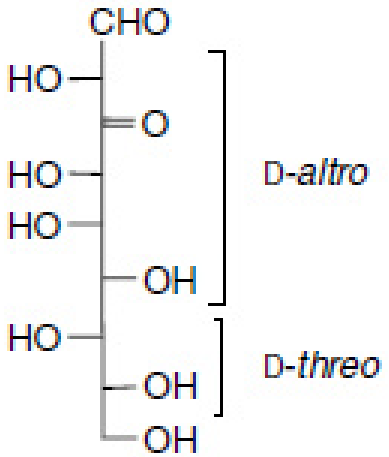



2,4-Dibromo-L-*threo*-pentanoic acid

**Noms systématiques des sucres avec >4 centres chiraux**



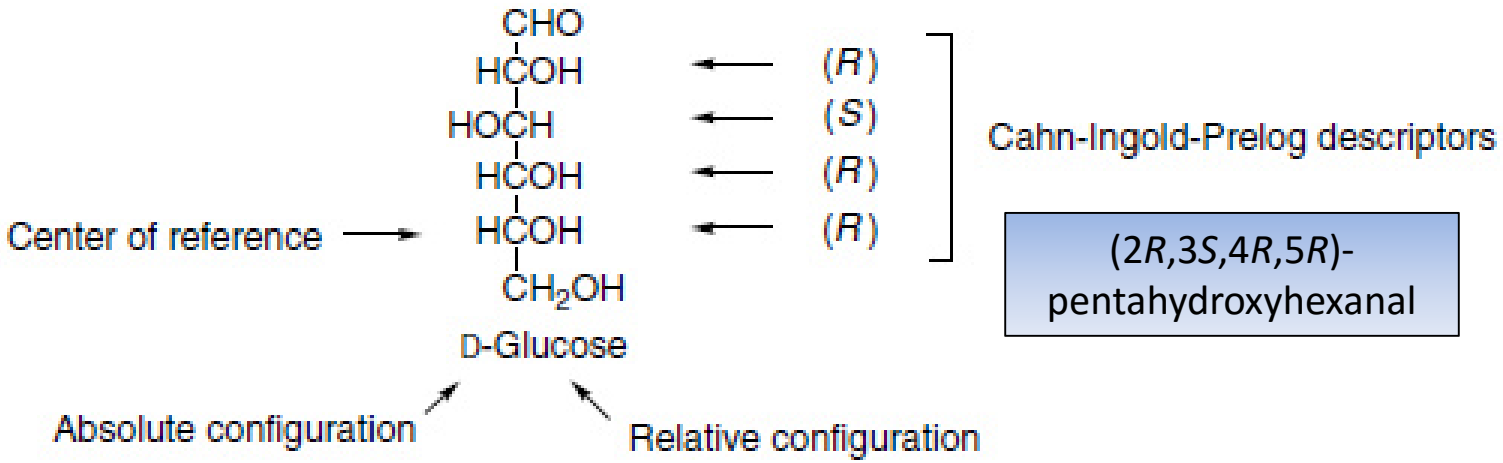

D-*erythro*-L-*gluco*-Octose



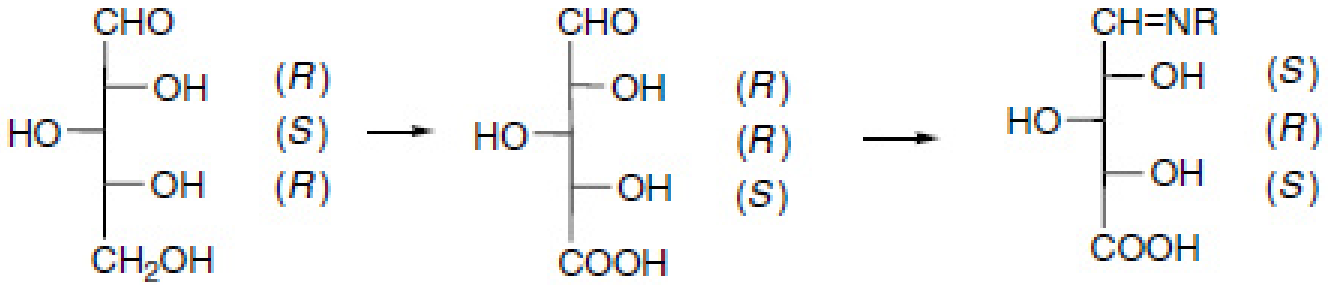

D-*threo*-D-*altro*-Non-3-ulose

# 1. Introduction aux carbohydrates

## Configurations absolue et relative des sucres

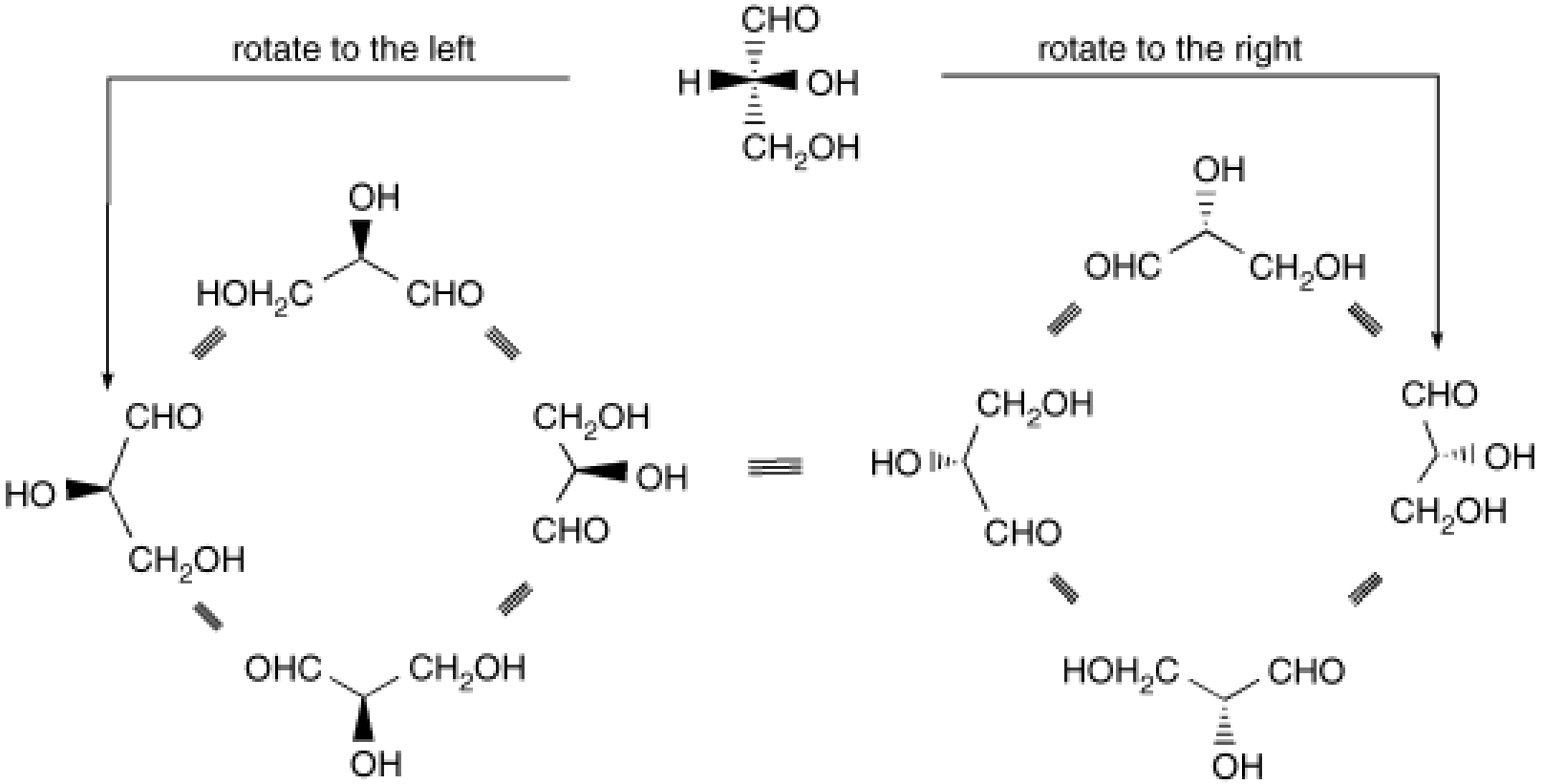



## Flip de configuration absolue après dérivatisation



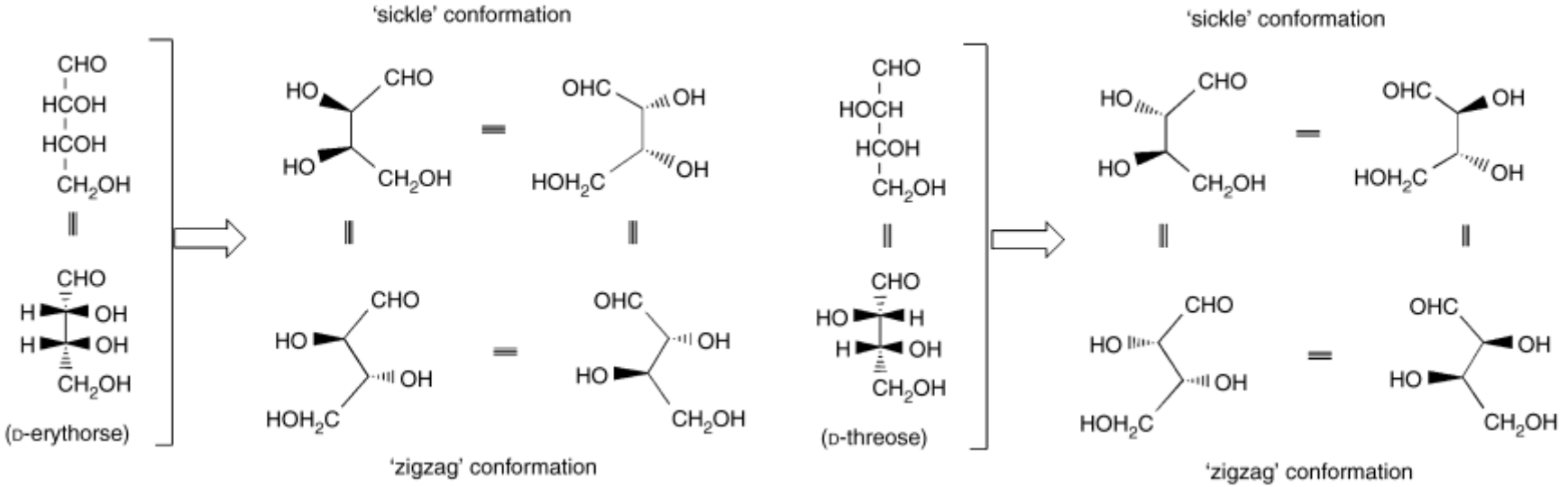
# 1. Introduction aux carbohydrates

## Conformation du D-glycéraldéhyde

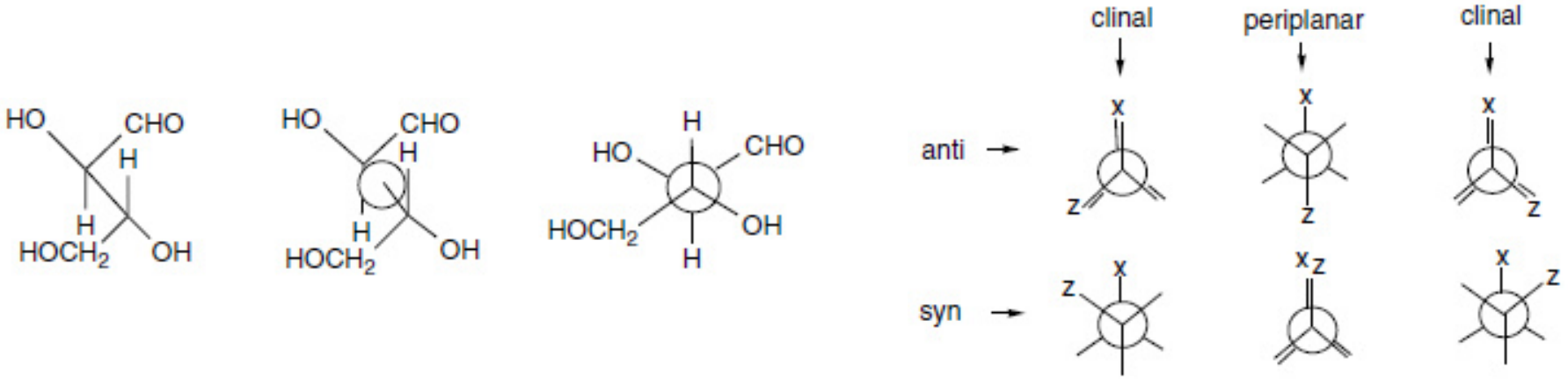


# 1. Introduction aux carbohydrates

## Projection de Fischer et conformations des tétroses

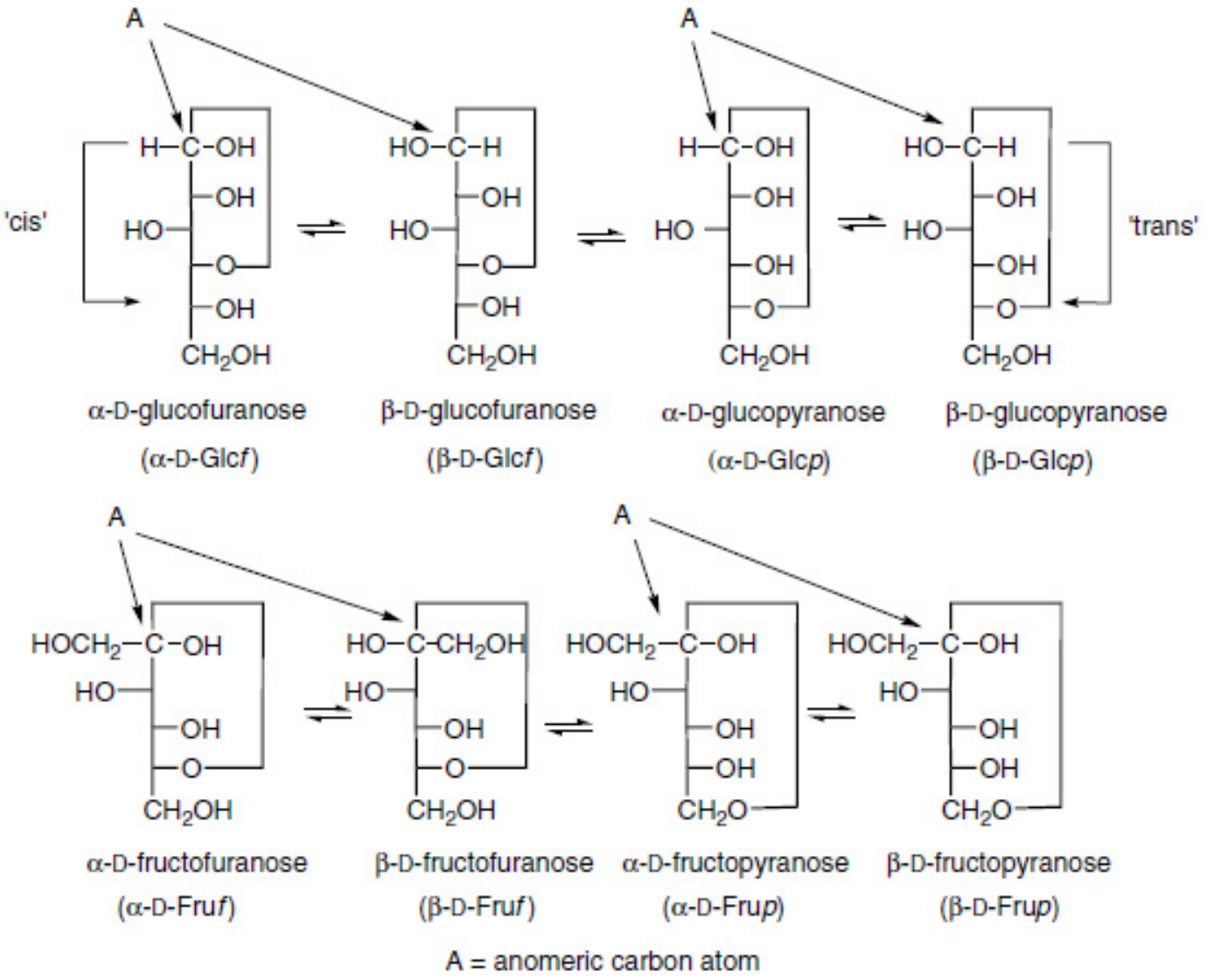



## Projection de Newman et conformations avec deux substituants vicinaux



# 1. Introduction aux carbohydrates

**Formes cycliques (hémiacétal) du D-glucose et D-fructose en projections de Fischer**

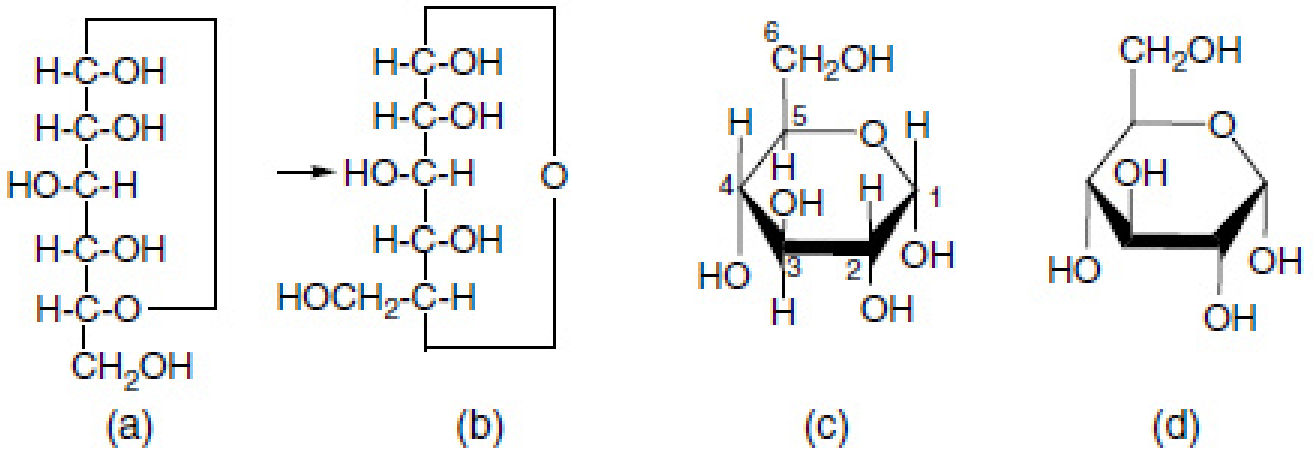



A = anomeric carbon atom

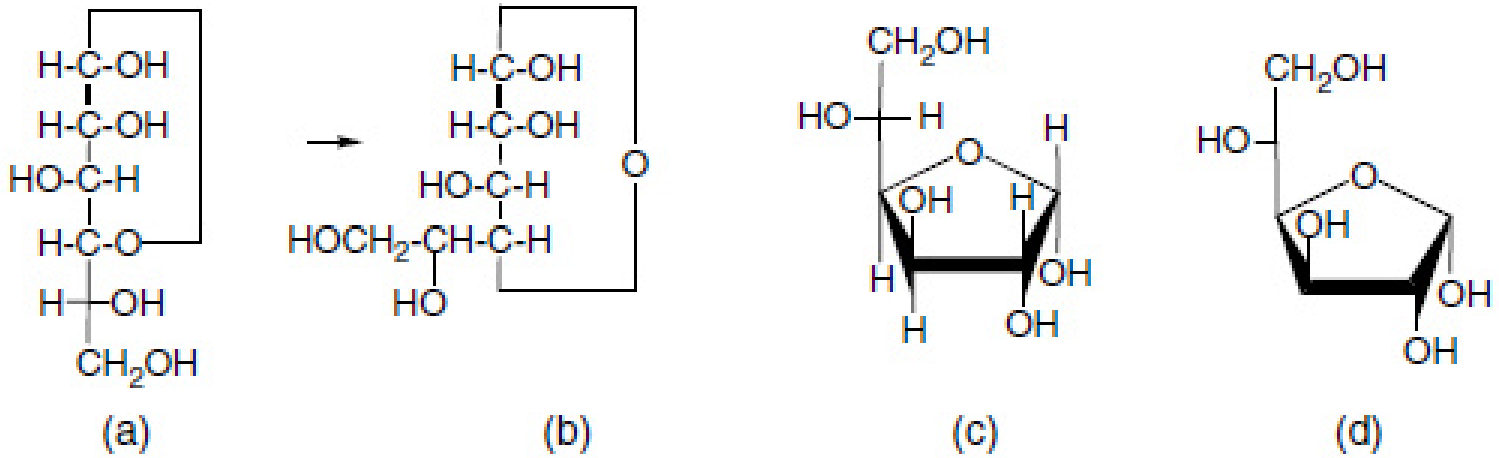
# 1. Introduction aux carbohydrates

**Projections de (a) Fischer (b) Fischer modifié (c) Haworth (d) Haworth simplifié**

**α-D-glucopyranose**

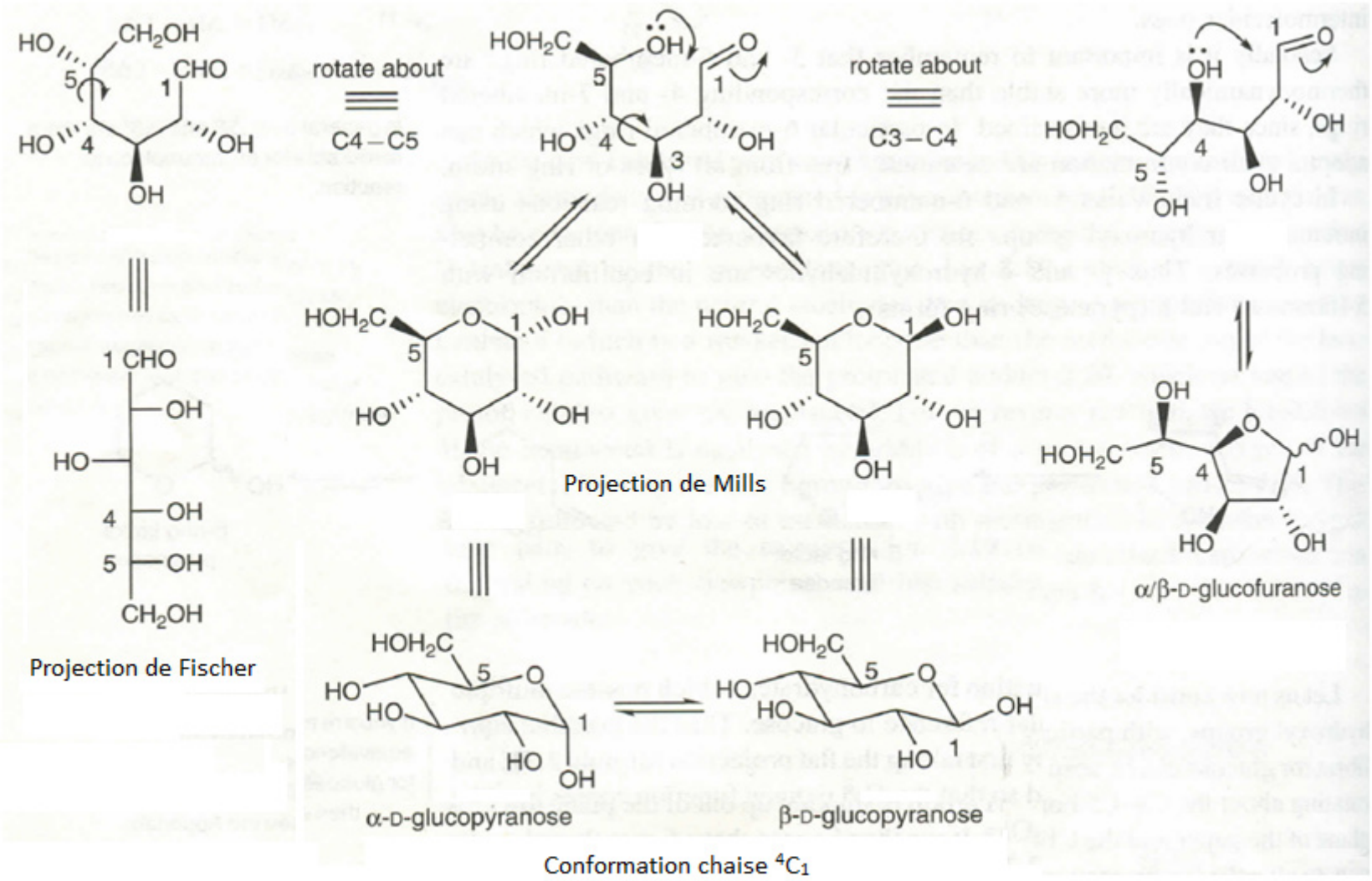



**α-D-glucofuranose**



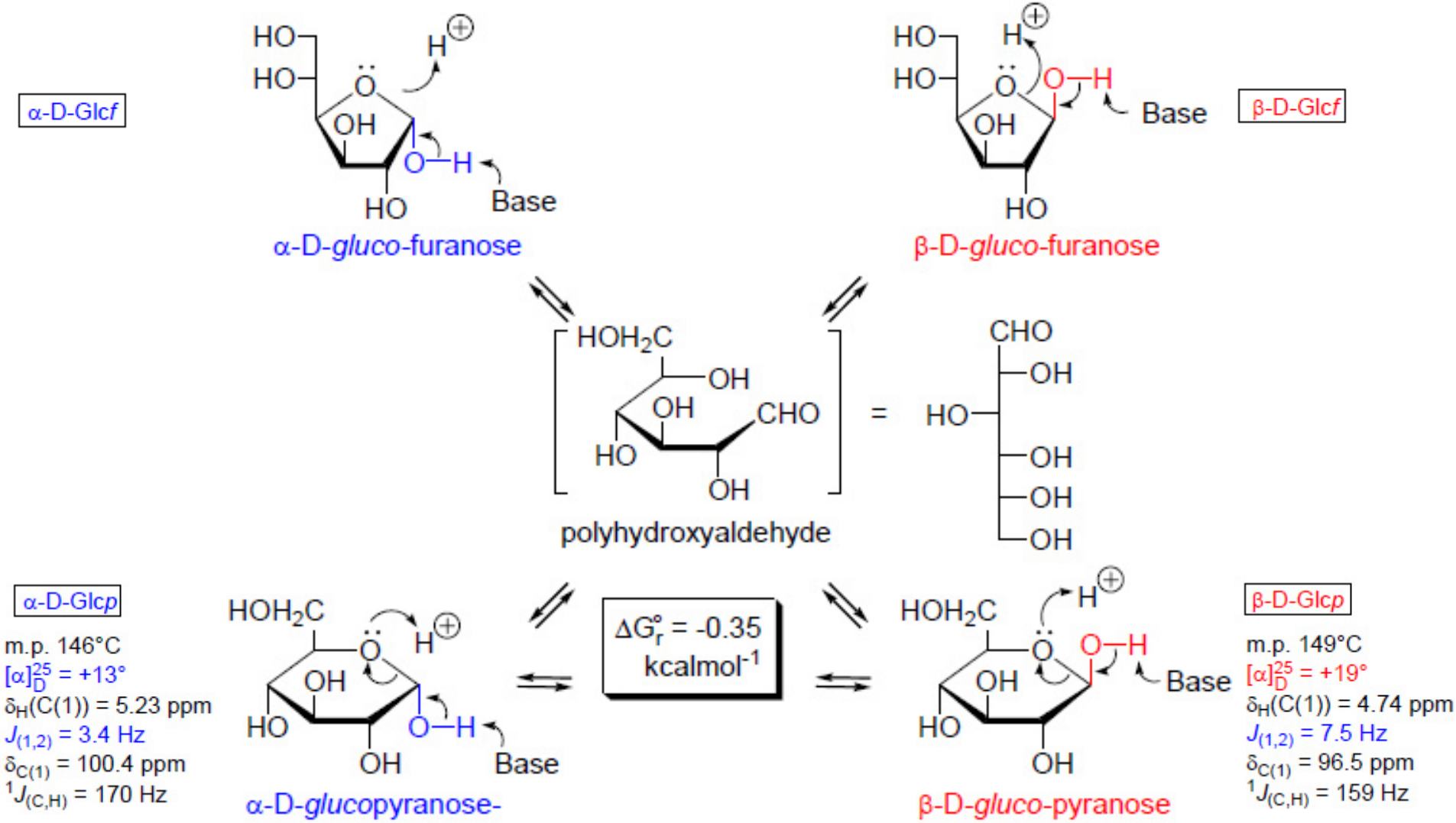
# 1. Introduction aux carbohydrates

**Comment passer de la projection de Fischer à Mills à conformation chaise $^4C_1$ ?**



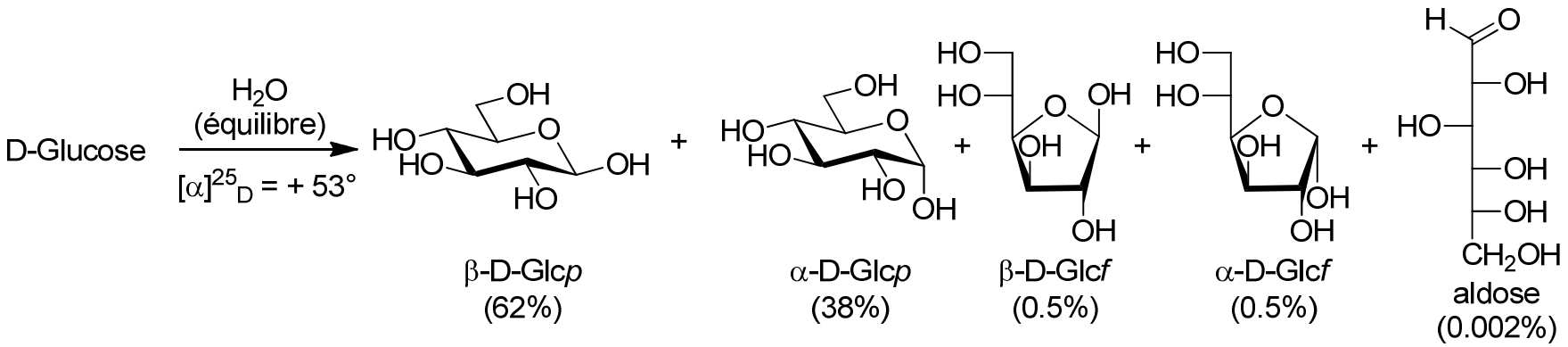
# 1. Introduction aux carbohydrates

## Mutarotation du D-glucose dans $H_2O$



# 1. Introduction aux carbohydrates

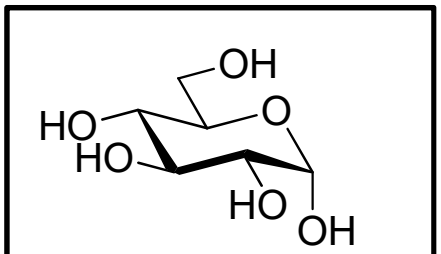
## Mutarotation de différents monosaccharides dans $H_2O$




| Carbohydrate | Pyranose | | Furanose | | Acyclic (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| | α-Anomer (%) | β-Anomer (%) | α-Anomer (%) | β-Anomer (%) | |
| Glucose | 38.0 | 62.0 | 0.5 | 0.5 | 0.002 |
| Mannose | 65.6 | 34.5 | 0.6 | 0.3 | 0.005 |
| Galactose | 30.0 | 64.0 | 2.5 | 3.5 | 0.02 |
| Rhamnose | 65.5 | 34.5 | 0.6 | 0.3 | 0.005 |
| Fructose | 2.5 | 65.0 | 6.5 | 25.0 | 0.8 |
| Xylose | 36.5 | 63.0 | 0.3 | 0.3 | 0.002 |
| Ribose | 31.5 | 58.5 | 6.4 | 13.5 | 0.05 |

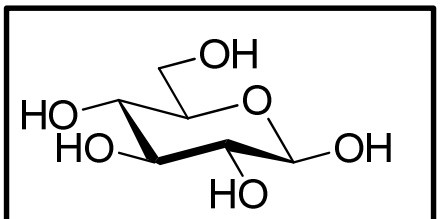
# 1. Introduction aux carbohydrates

**RMN $^1$H (500 MHz) D-glucose dans $D_2O$**



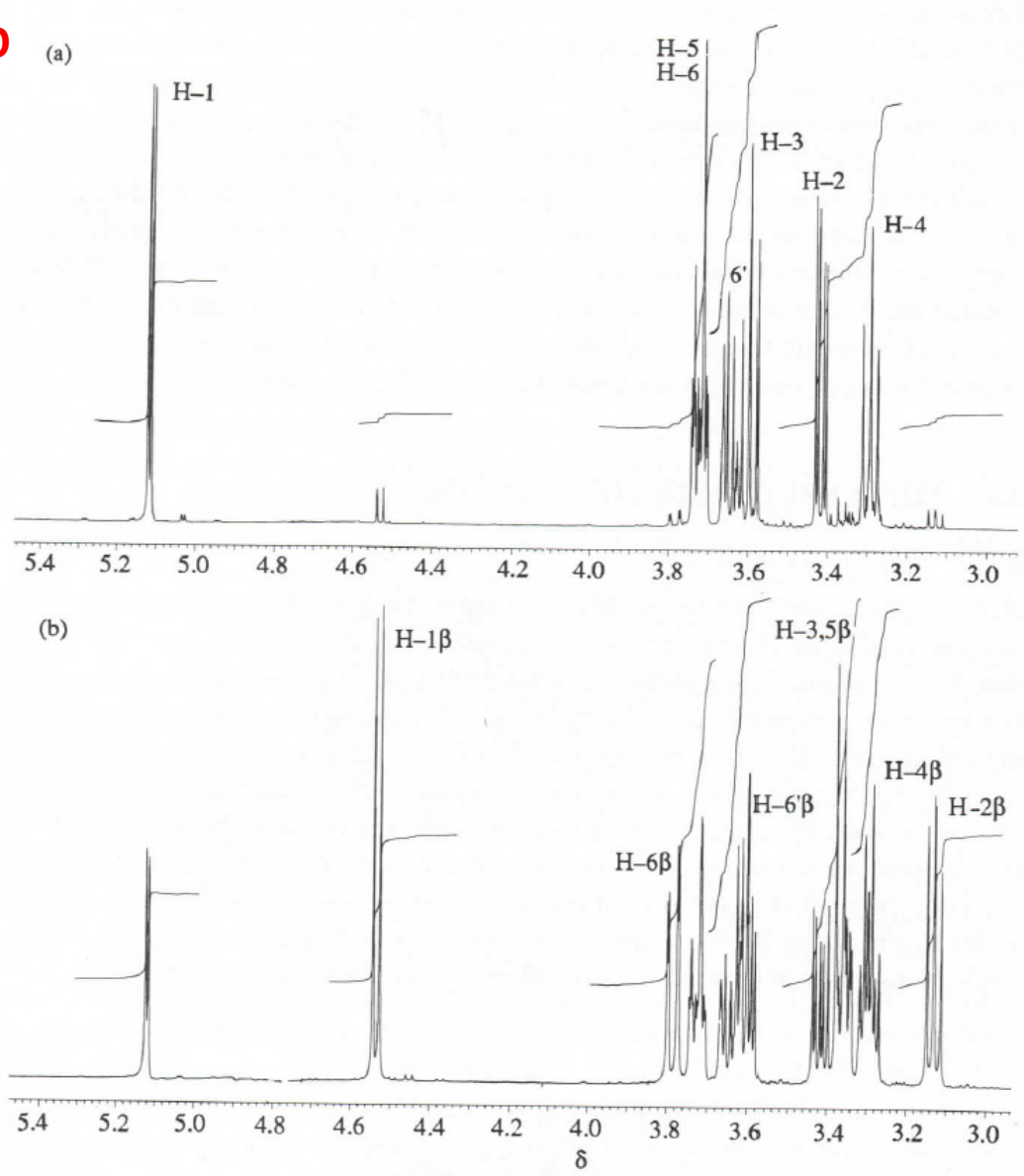

α-D-Glc*p*
(majo)

**(a) après dissolution**



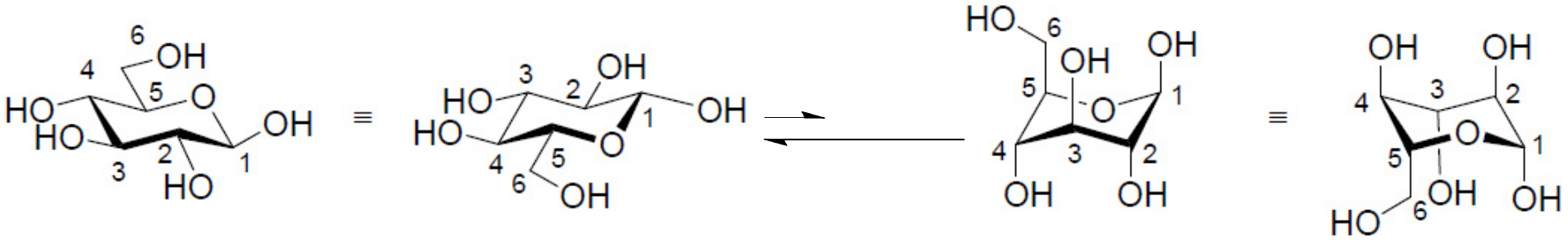

β-D-Glc*p*
(majo)

**(b) à l'équilibre**

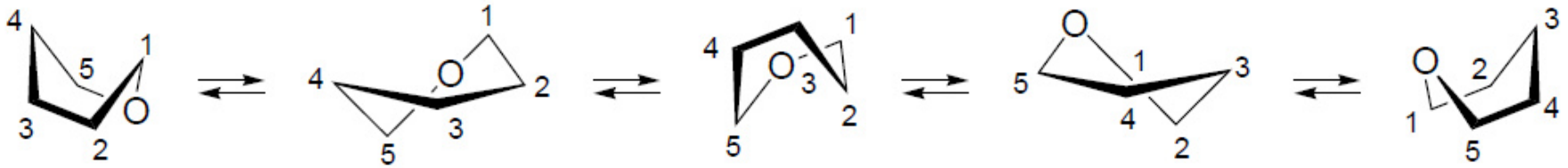


# 1. Introduction aux carbohydrates

**Interconversion chaise $^4C_1$ (à gauche) – chaise $^1C_4$ (à droite) du β-D-glucopyranose**



**Mobilité conformationnelle des aldopyranoses bateau (B) – bateau-croisé (S)**



$^{1,4}B$ $^1S_4$ $B_{2,5}$ $^0S_2$ $^{0,3}B$

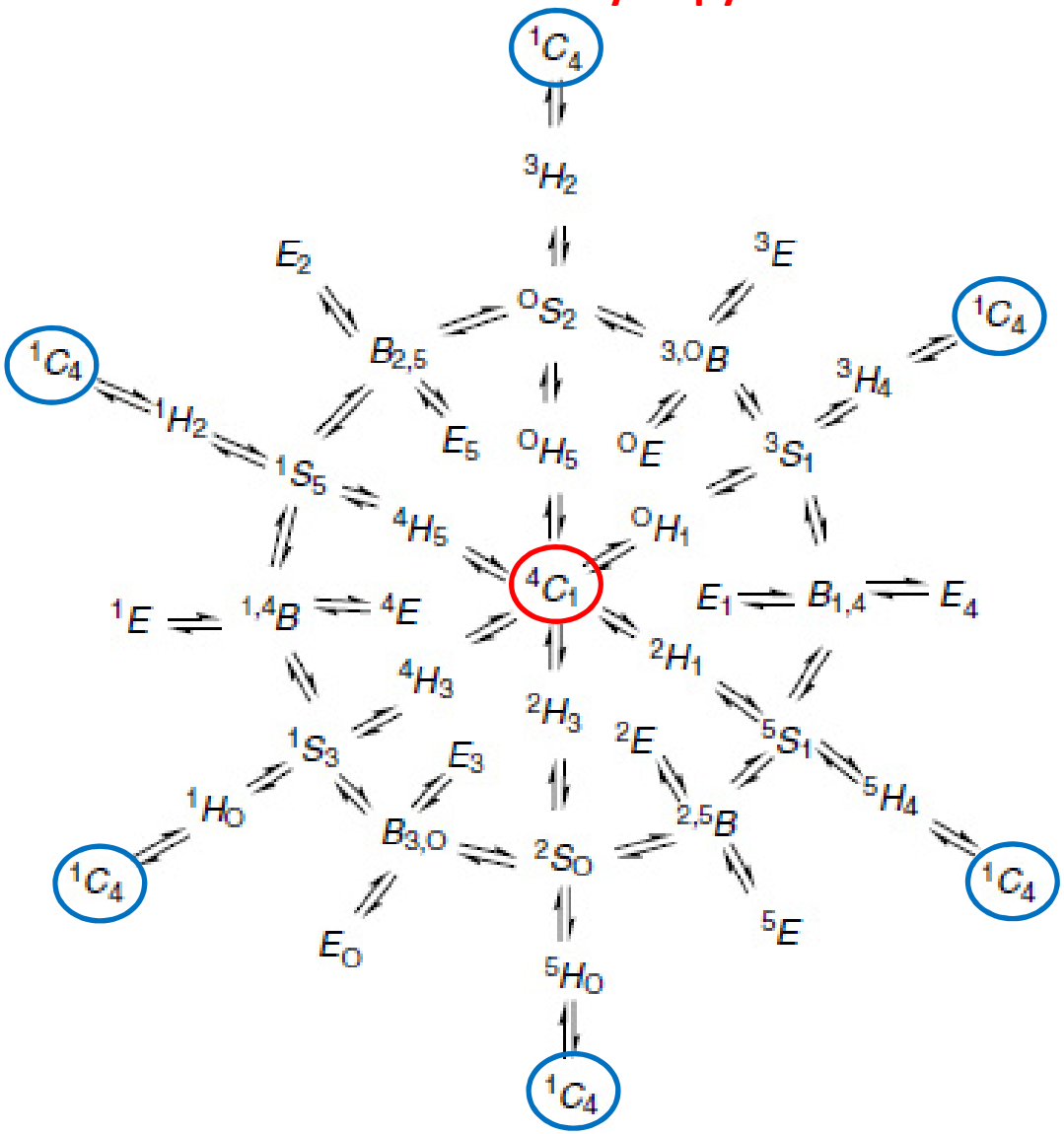
**Variations des conformations chez les aldopyranoses**

***C = chaise, H = demi-chaise, S = bateau-croisé, B = bateau, E = enveloppe***

$^1C_4$ $^5H_O$ $^5S_O$ $^{1,4}B$ $^1E$

# 1. Introduction aux carbohydrates

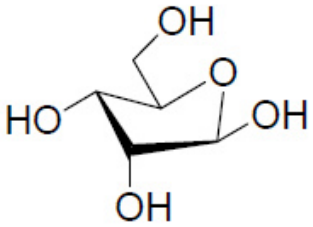
**Carte conformationnelle de l'interconversion du cycle pyranose**



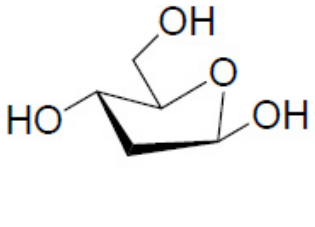
# 1. Introduction aux carbohydrates

**Plus importants carbohydrates dans la nature et leur conformation préférentielle**

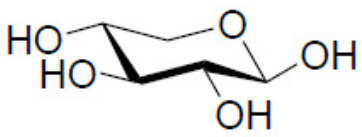
Pentoses



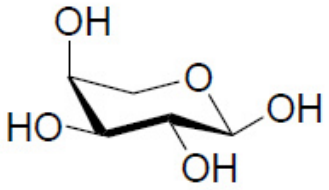
β-D-*ribo*-furanose-$^{3}E$



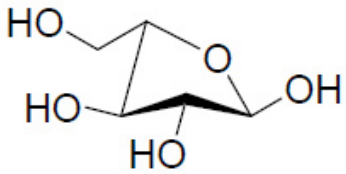
2-Deoxy-β-D-*erythro*-pentafuranose-$^{3}E$ (2-Deoxy-D-ribose)



β-D-*xylo*-pyranose-$^{4}C_1$

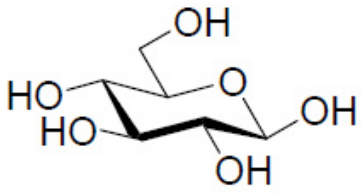


α-L-*arabino*-pyranose-$^{4}C_1$

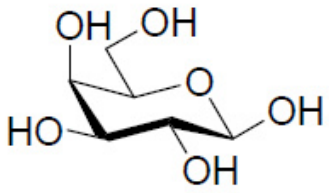


α-L-*arabino*-furanose-$E_3$

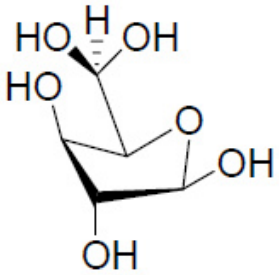
Hexoses



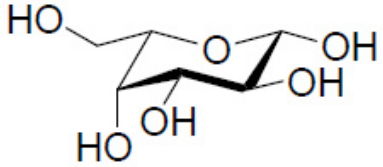
β-D-*gluco*-pyranose-$^{4}C_1$



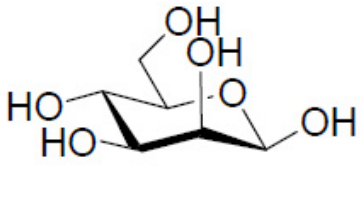
β-D-*galacto*-pyranose-$^{4}C_1$



β-D-*gluco*-furanose-$^{3}E$



β-L-*galacto*-pyranose-$^{4}C_1$

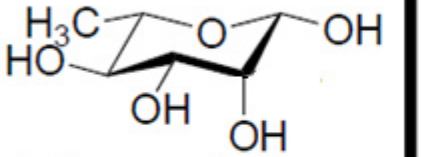


β-D-*manno*-pyranose-$^{4}C_1$

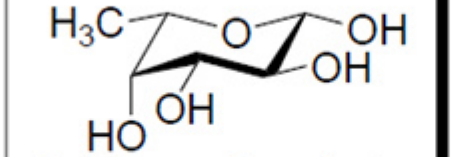
# 1. Introduction aux carbohydrates

**Plus importants carbohydrates dans la nature et leur conformation préférentielle**

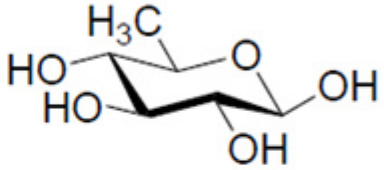
## Deoxyhexoses



6-deoxy-β-L-*manno*-pyranose-$^{1}C_{4}$
(L-Rhamnopyranose)

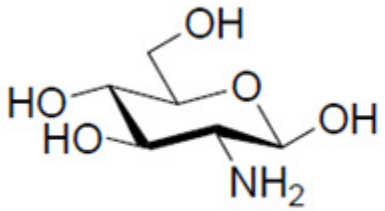


6-deoxy-β-L-*galacto*-pyranose-$^{1}C_{4}$
(L-Fucopyranose)

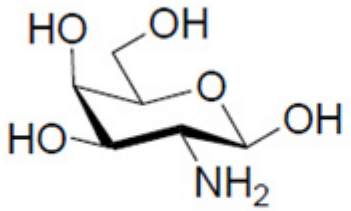


6-deoxy-β-D-*gluco*-pyranose-$^{4}C_{1}$
(D-Quinovopyranose)

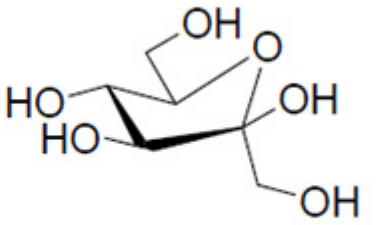
## 2-Amino-2-deoxyhexoses



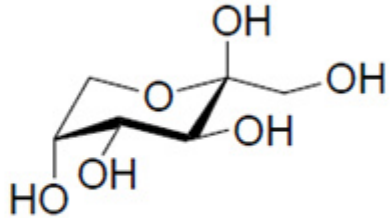
2-amino-2-deoxy-β-D-*gluco*-pyranose-$^{4}C_{1}$
(Glucosamine)



2-amino-2-deoxy-β-D-*galacto*-pyranose-$^{4}C_{1}$
(Galactosamine)



β-Fructofuranose-$^{3}E$

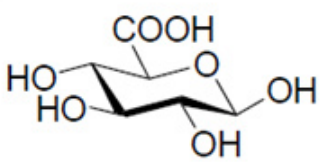


α-D-Fructofuranose-$^{1}C_{4}$

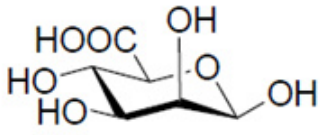
# 1. Introduction aux carbohydrates

**Plus importants carbohydrates dans la nature et leur conformation préférentielle**

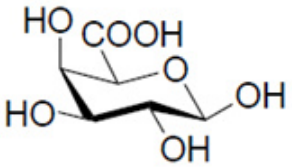
Hexuronic acids



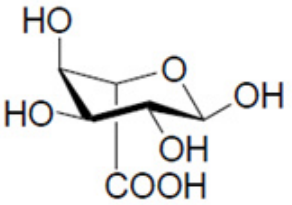
β-D-*gluco*-pyranuronic acid-$^4C_1$



β-D-*manno*-pyranuronic acid-$^4C_1$

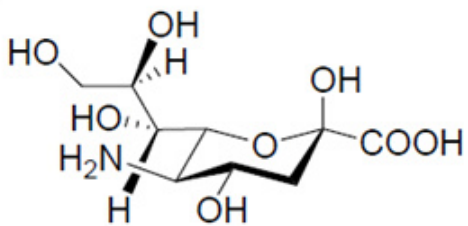


β-D-*galacto*-pyranuronic acid-$^4C_1$

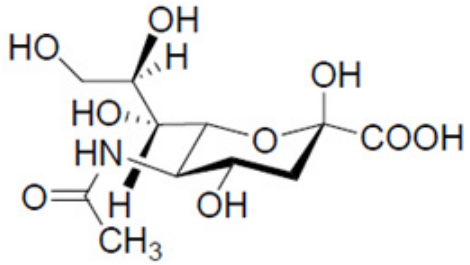


α-L-*ido*-pyranuronic acid-$^4C_1$

Neuraminic acids



5-amino-3,5-dideoxy-D-*glycero*-β-D-*galacto*-2-nonulopyranonic acid-$^1C_4$ (Neuraminic acid)

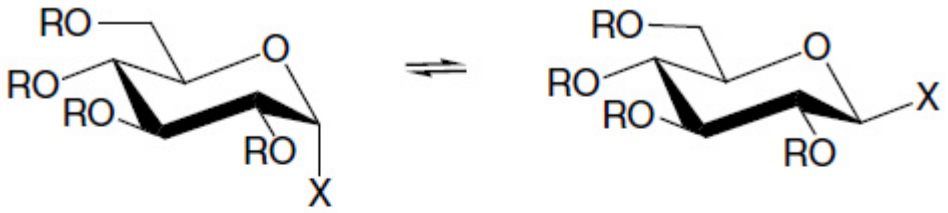


5-acetamido-3,5-dideoxy-D-*glycero*-β-D-*galacto*-2-nonulopyranonic acid-$^1C_4$ (N-Acetylneuraminic acid)

# 1. Introduction aux carbohydrates

**Effet anomérique des glycopyranoses :**

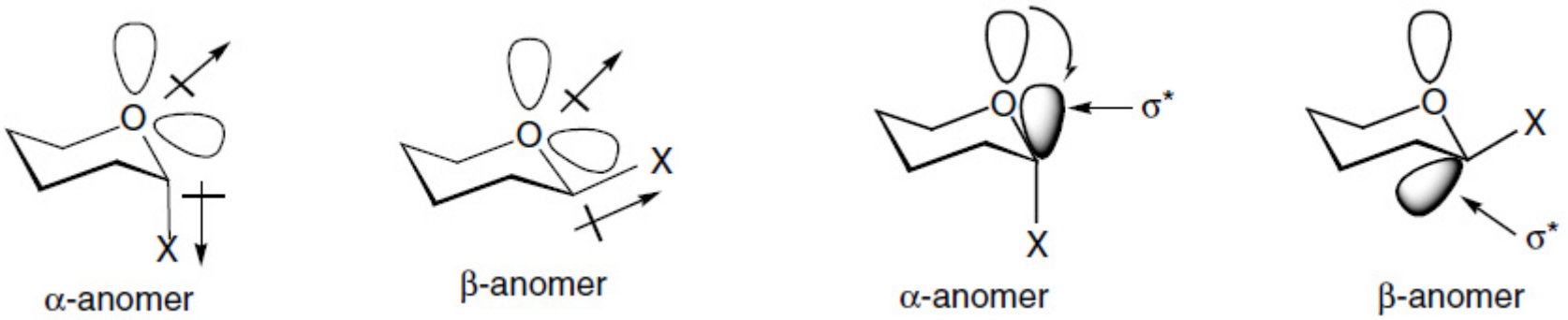
***stabilisation des anomères α fonction de la polarité du lien C-X***




α-D-Glc*p* ⇌ β-D-Glc*p*

| | | |
|---|---|---|
| X = OH | 36% | 64% |
| X = OMe | 67% | 33% |
| X = Cl | 94% | 6% |
| X = Br | >99% | <1% |

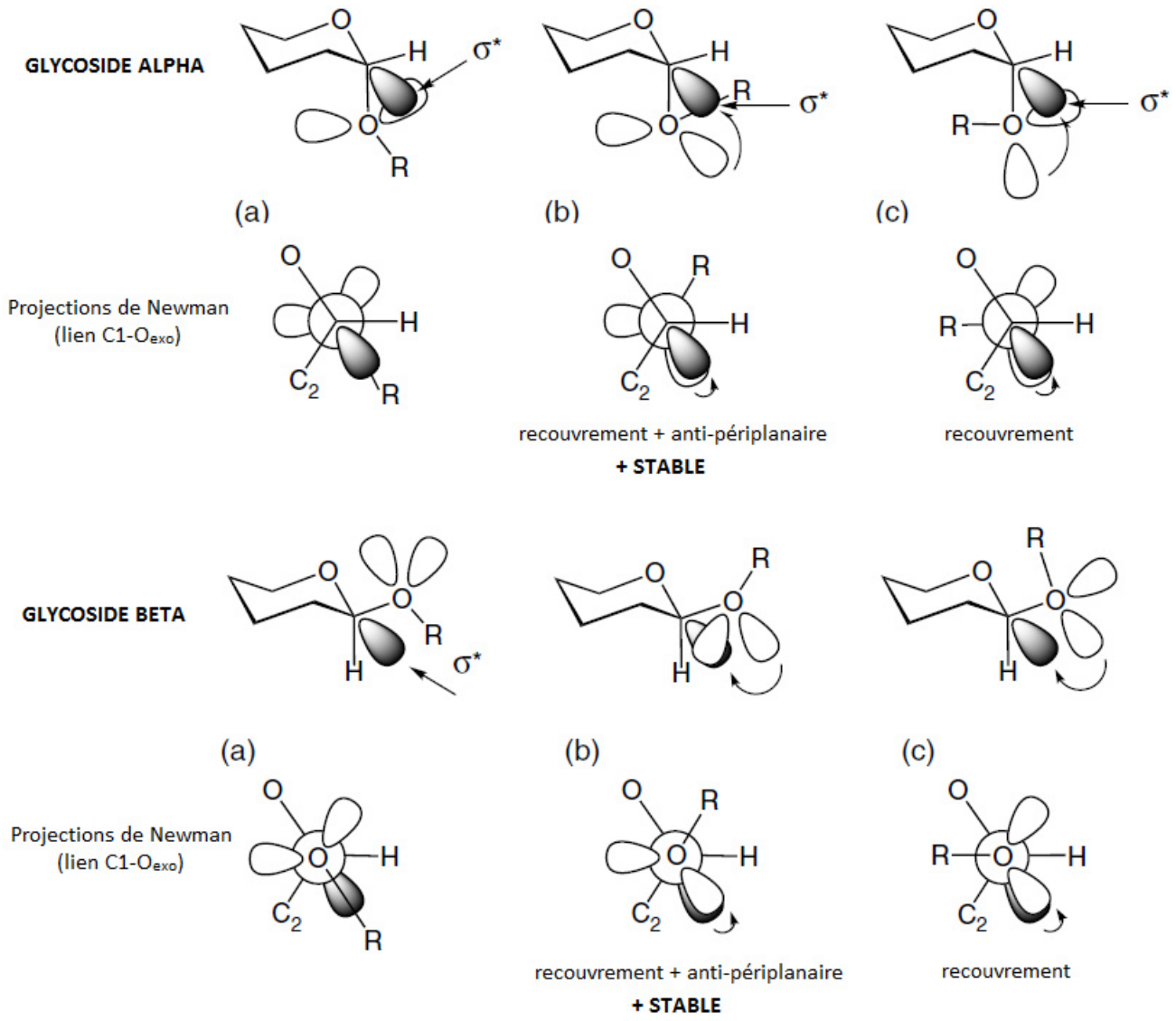
**Deux explications alternatives…**




***Interaction dipôle-dipôle*** ***Effet stéréoélectronique***

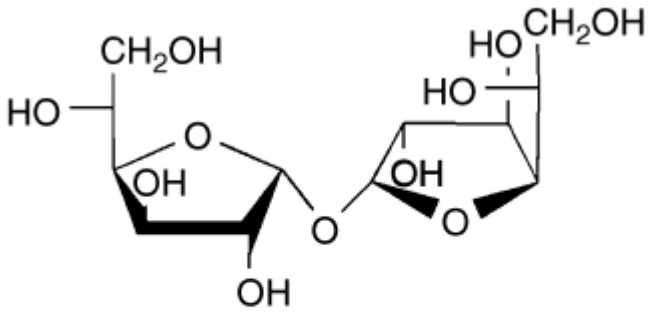
# 1. Introduction aux carbohydrates

**Effet *exo*-anomérique des glycosides : *stabilisation par effet stéréoélectronique***

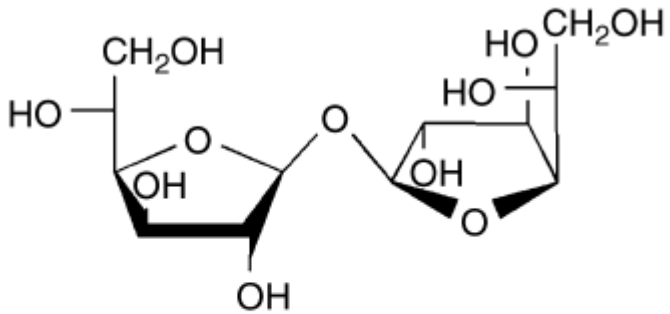


# 1. Introduction aux carbohydrates

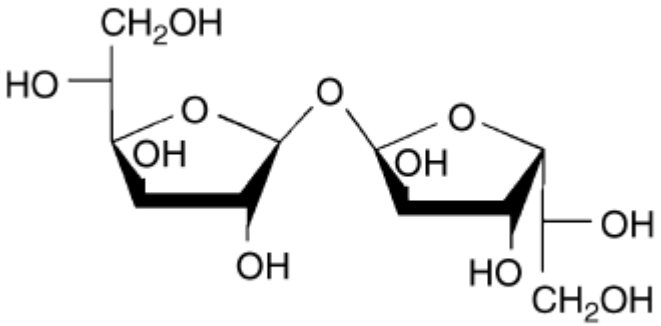
**Disaccharides « non-réducteurs » de D-glucofuranose (trois possibilités)**



α-D-Glc*f*-(1 ↔ 1)-α-D-Glc*f*

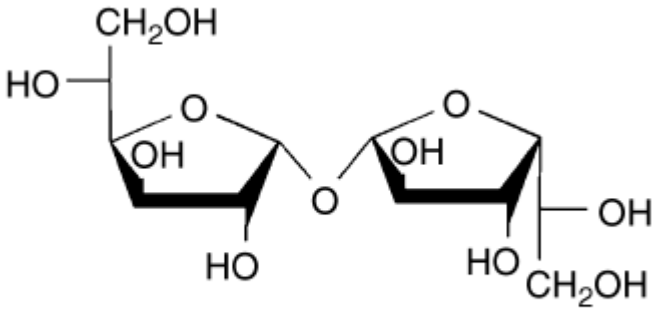


β-D-Glc*f*-(1 ↔ 1)-β-D-Glc*f*



β-D-Glc*f*-(1 ↔ 1)-α-D-Glc*f*

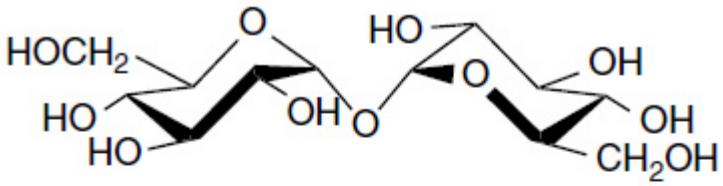
≡



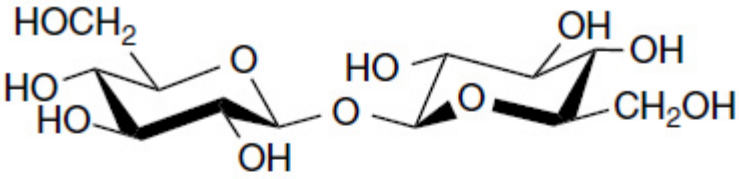
α-D-Glc*f*-(1 ↔ 1)-β-D-Glc*f*

# 1. Introduction aux carbohydrates

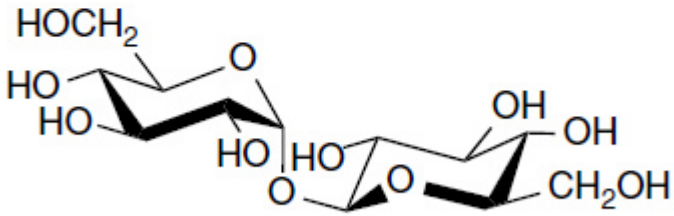
**Disaccharides « non-réducteurs » de D-glucopyranose (trois possibilités)**



α-D-Glc*p*-(1↔1)-α-D-Glc*p*

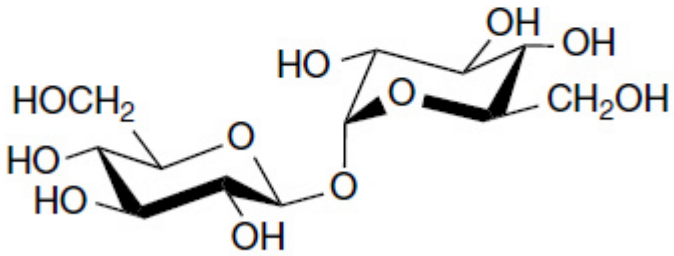


β-D-Glc*p*-(1↔1)-β-D-Glc*p*



α-D-Glc*p*-(1↔1)-β-D-Glc*p*

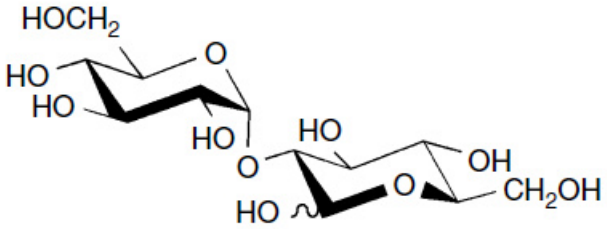
≡



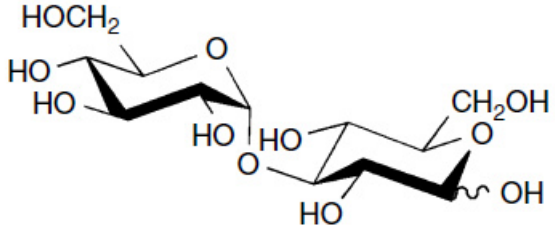
β-D-Glc*p*-(1↔1)-α-D-Glc*p*

# 1. Introduction aux carbohydrates

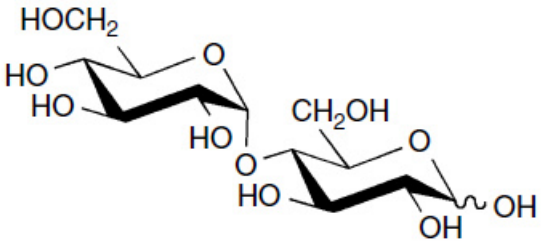
**Disaccharides « réducteurs » de D-glucose (cinq possibilités)**



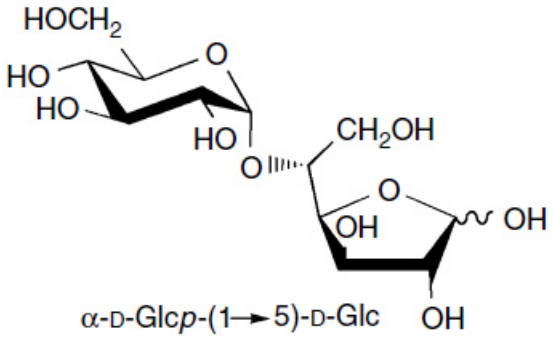
α-D-Glc*p*-(1→2)-D-Glc



α-D-Glc*p*-(1→3)-D-Glc

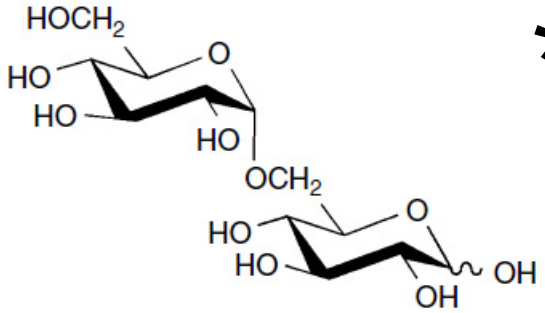


α-D-Glc*p*-(1→4)-D-Glc



α-D-Glc*p*-(1→5)-D-Glc

*

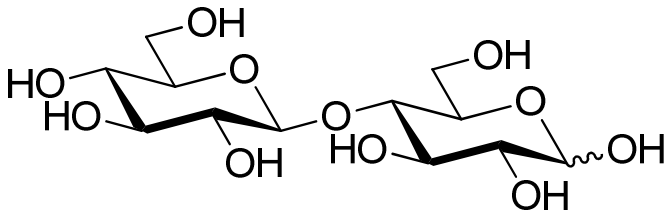


α-D-Glc*p*-(1→6)-D-Glc

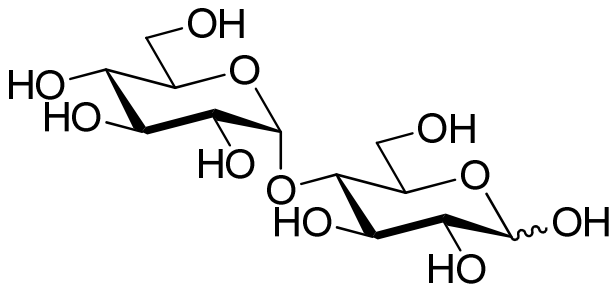
# 1. Introduction aux carbohydrates

**Noms triviaux de disaccharides courants**

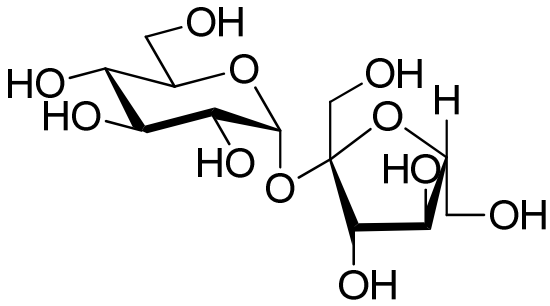
| | | |
|---|---|---|
| Cellobiose | β-D-Glucopyranosyl-(1 → 4)-D-glucose | β-D-Glc*p*-(1 → 4)-D-Glc |
| Maltose | α-D-Glucopyranosyl-(1 → 4)-D-glucose | α-D-Glc*p*-(1 → 4)-D-Glc |
| Gentiobiose | β-D-Glucopyranosyl-(1 → 6)-D-glucose | β-D-Glc*p*-(1 → 6)-D-Glc |
| Isomaltose | α-D-Glucopyranosyl-(1 → 6)-D-glucose | α-D-Glc*p*-(1 → 6)-D-Glc |
| Lactose | β-D-Galactopyranosyl-(1 → 4)-D-glucose | β-D-Gal*p*-(1 → 4)-D-Glc |
| Melibiose | α-D-Galactopyranosyl-(1 → 6)-D-glucose | α-D-Gal*p*-(1 → 6)-D-Glc |
| Trehalose | α-D-Glucopyranosyl-(1 ↔ 1)-α-D-glucopyranose | α-D-Glc*p*-(1 ↔ 1)-α-D-Glc*p* |
| Sucrose | β-D-Fructofuranosyl-(2 ↔ 1)-α-D-glucopyranose | β-D-Fru*f*-(2 ↔ 1)-α-D-Glc*p* |



**Cellobiose**
**(Glc*p*β1-4Glc*p*)**



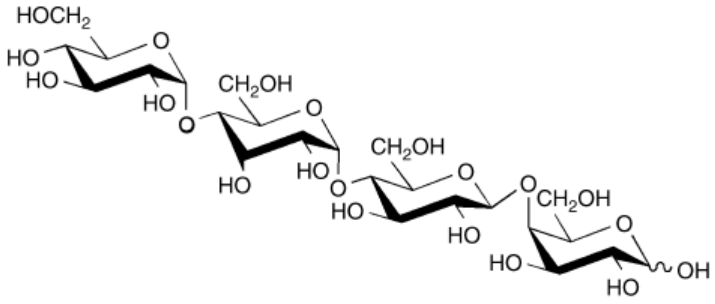
**Maltose**
**(Glc*p*α1-4Glc*p*)**



**Sucrose**
**(Glc*p*α1-2Fru*f*β)**

# 1. Introduction aux carbohydrates

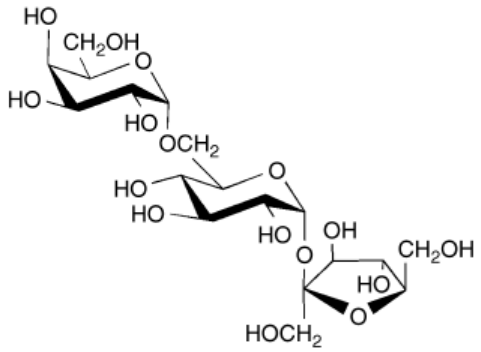
## Oligosaccharides réducteurs, non-réducteurs, linéaires et branchés



(reducing tetrasaccharide)

α-D-Glc*p*-(1→4)-α-D-All*p*-(1→4)-β-D-Glc*p*-(1→4)-D-Gal

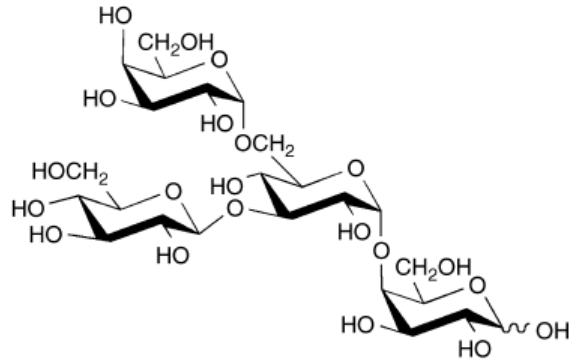
short form: Glc(α1-4)All(α1-4)Glc(β1-4)Gal



(non-reducing trisaccharide)

α-D-Gal*p*-(1→6)-α-D-Glc*p*-(1↔2)-α-D-Fru*f*

short form: Gal(α1-6)Glc(α1-2α)Fru*f*



(branched tetrasaccharide)

β-D-Glc*p*-(1→3)-[α-D-Gal*p*-(1→6)]-α-D-Glc*p*-(1→4)-D-Gal

short form: Glc(b1-3)Glc(a1-4)Gal

Gal(α1-6)

or

Glc(β1-3)[Gal(α1-6)]Glc(α1-4)Gal

# 2. Réaction des groupements hydroxyles

## Sommaire de la 2e partie

- Groupements protecteurs
- Position anomérique
- Protection/déprotection régiosélective
- Acétal cycliques
- Orthoesters et ouvertures
- Oxydation
- Réduction

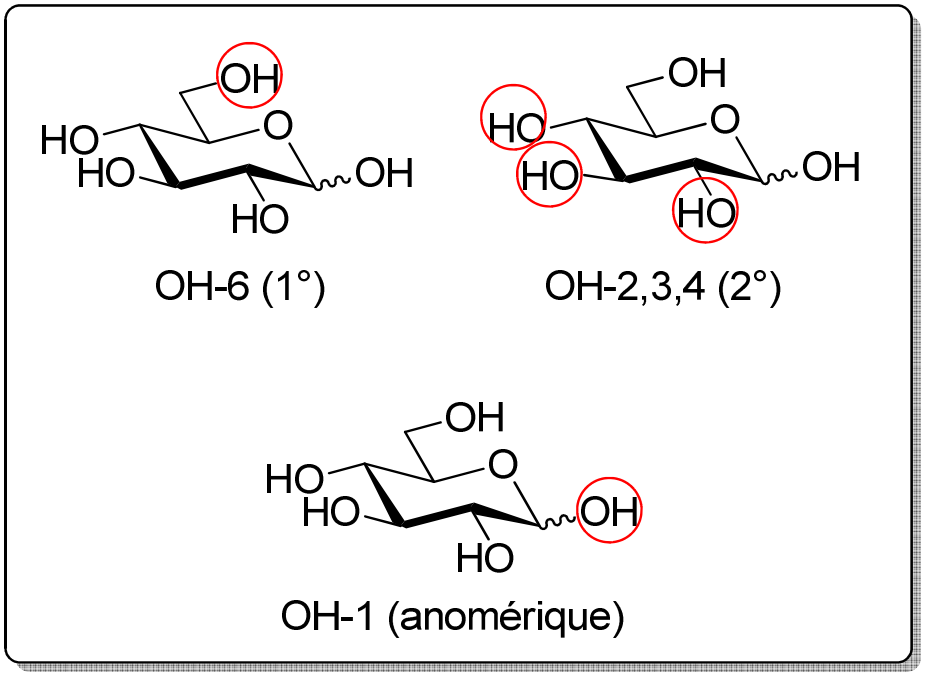
# 2. Réaction des groupements hydroxyles

**Trois types de groupements hydroxyles dans les glycopyranoses :**

1) Hydroxyle primaire (-$CH_2OH$) en C-6

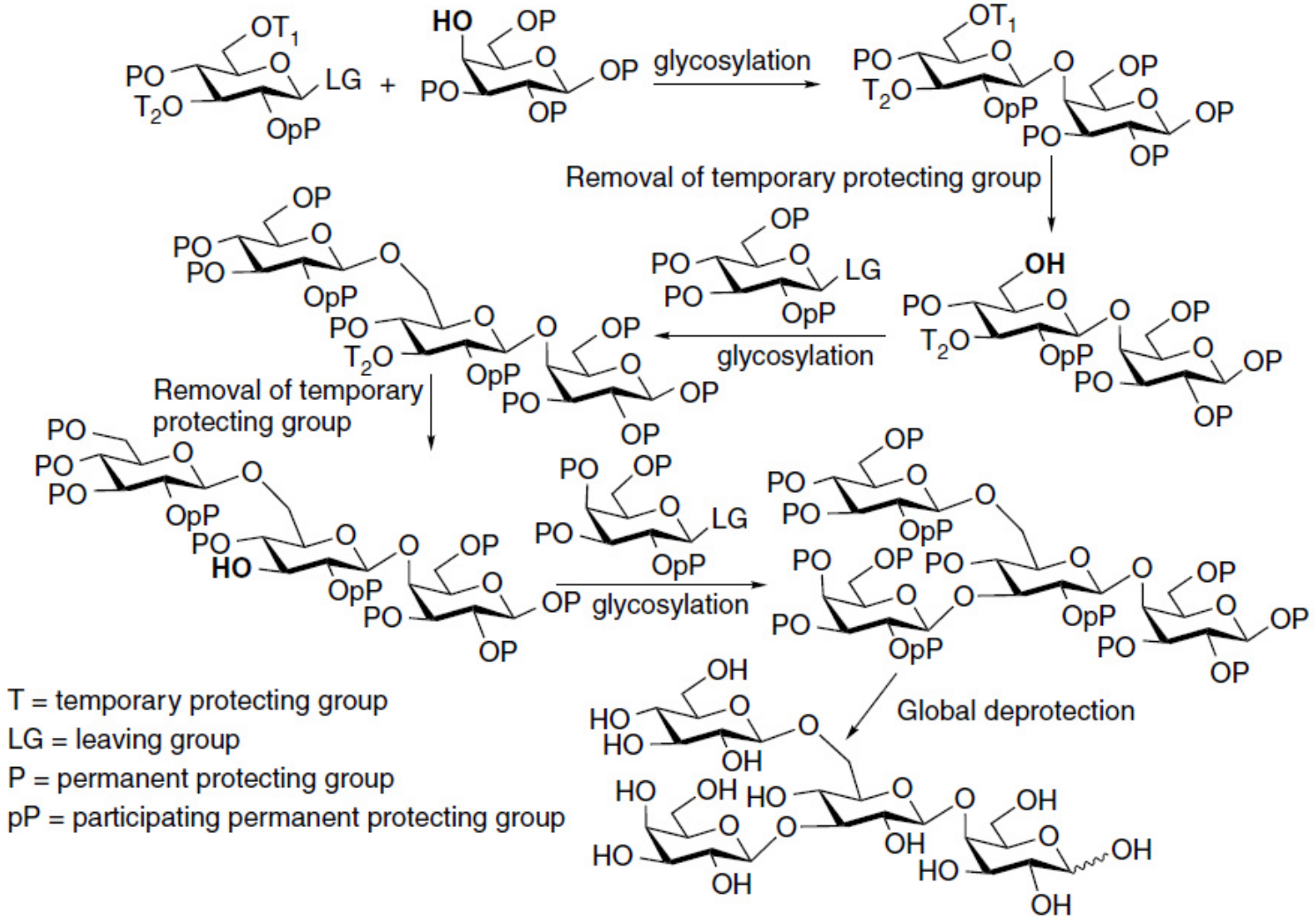
2) Hydroxyles secondaires (-CH(OH)-) en C-2, C-3 et C-4

3) Hydroxyle anomérique en C-1



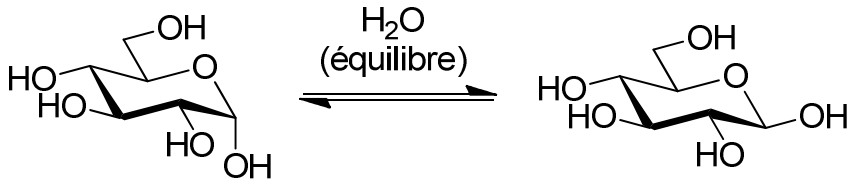
# 2. Réaction des groupements hydroxyles

**Synthèse schématique d'un tétrasaccharide branché**

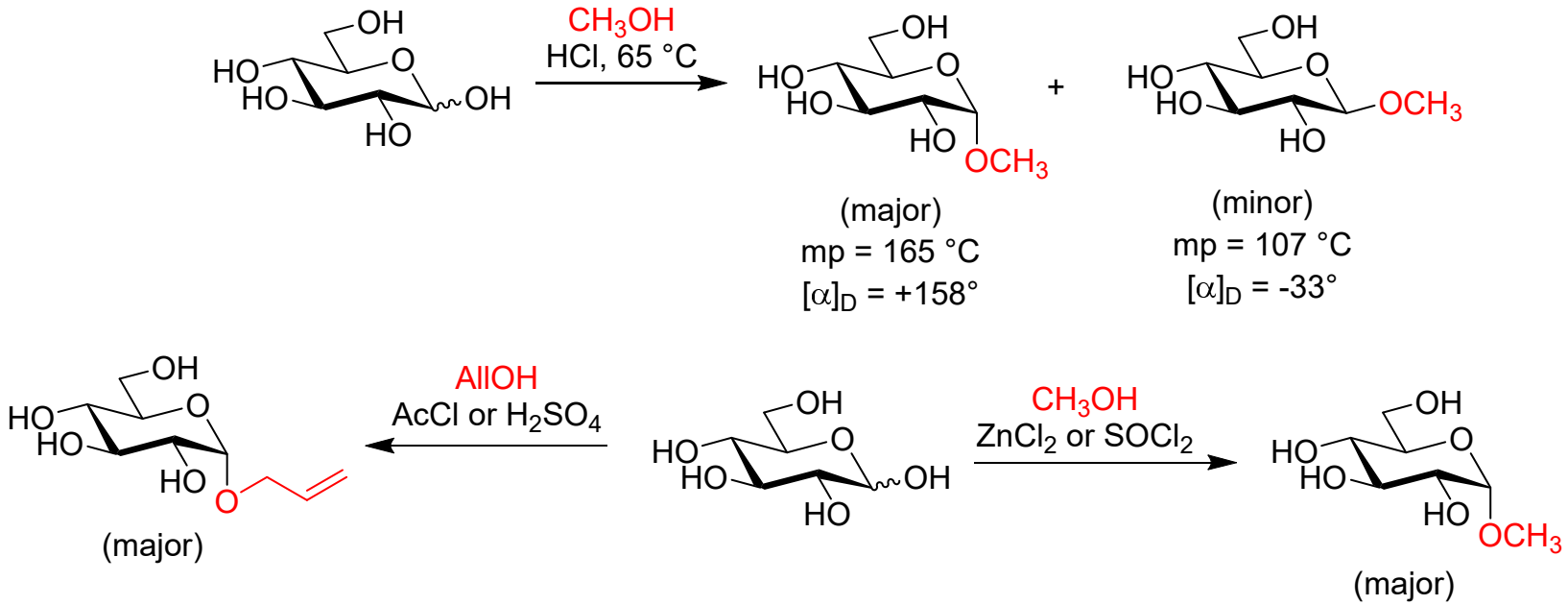


# 2. Réaction des groupements hydroxyles

## Rappel sur la mutarotation des sucres

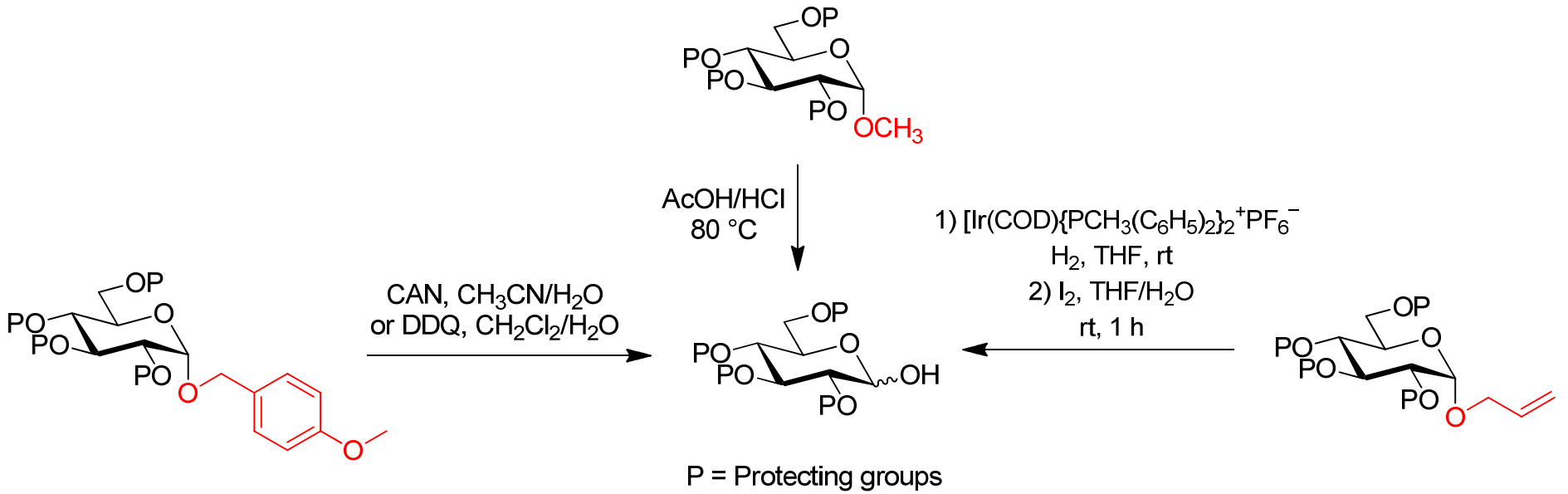


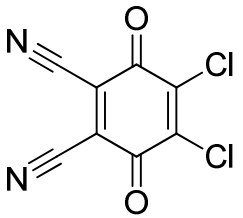

## Protection de la position anomérique : *Glycosidation de Fischer*



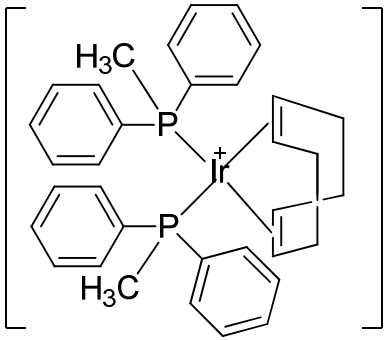
# 2. Réaction des groupements hydroxyles

## Déprotection de la position anomérique (OMe, OAll, OPMB)



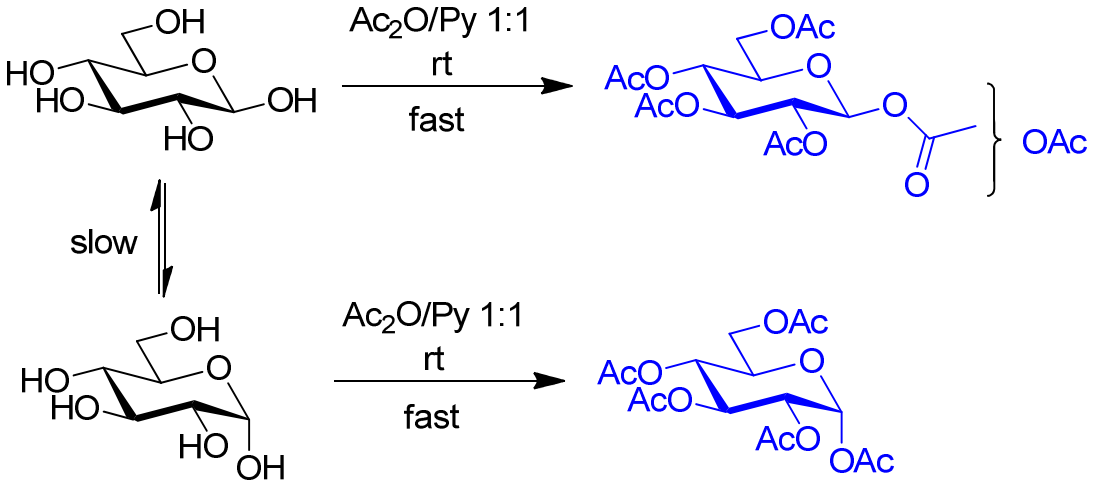

DDQ = 

CAN = $(NH_4)_2Ce(NO_3)_6$

$[Ir(COD)\{PCH_3(C_6H_5)_2\}_2^+PF_6^-]$ = 

# 2. Réaction des groupements hydroxyles

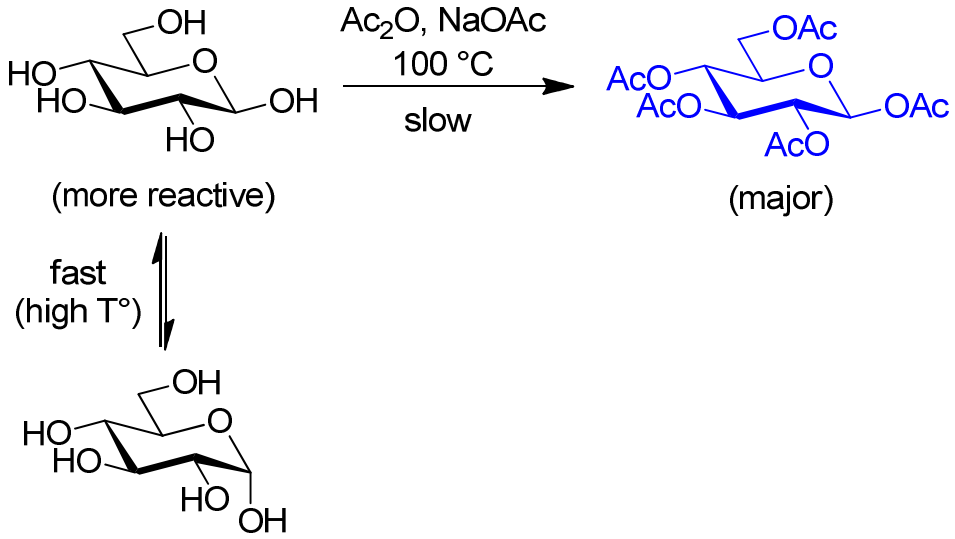
**Acétylation avec $Ac_2O$/Pyridine :**




- ratio α/β du produit final = ratio α/β du produit initial

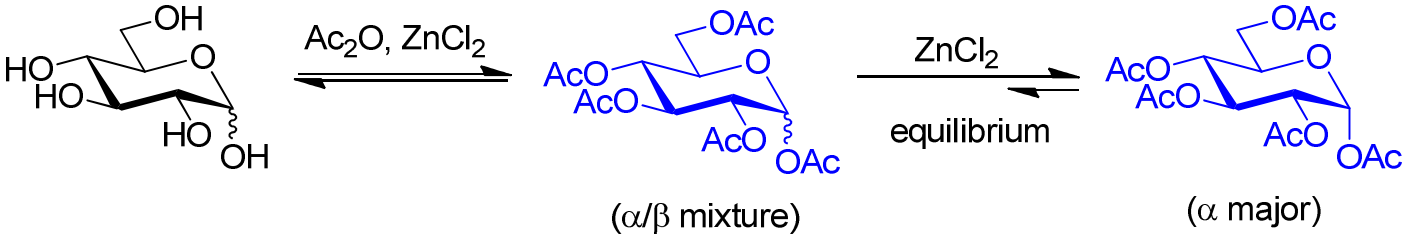
**Acétylation avec $Ac_2O$/NaOAc**

- anomère β-OH plus réactif car plus nucléophile



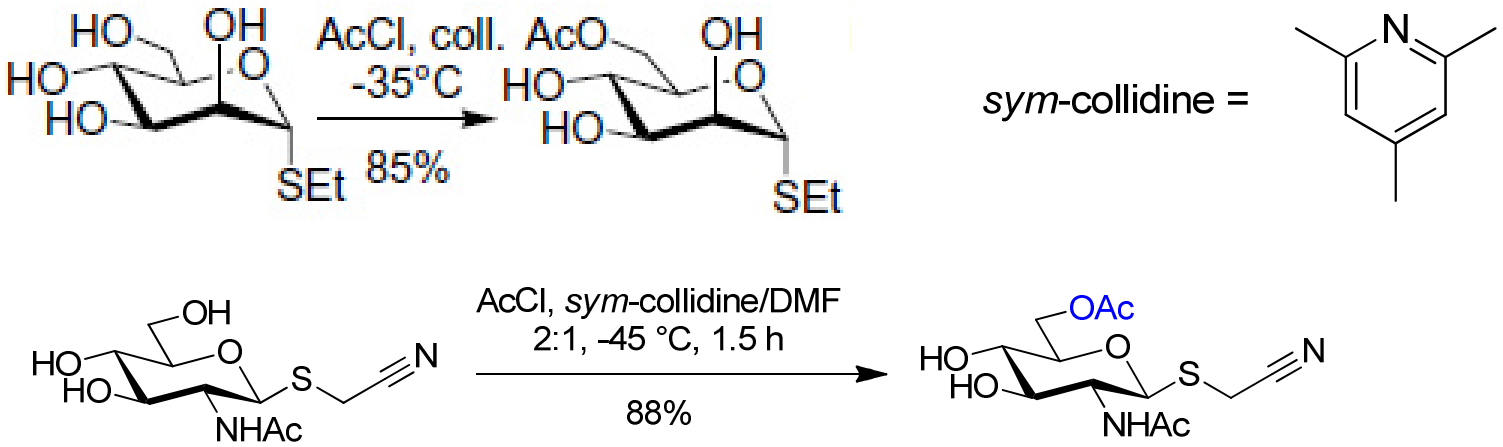
# 2. Réaction des groupements hydroxyles

**Acétylation avec $Ac_2O$/Lewis acid :**



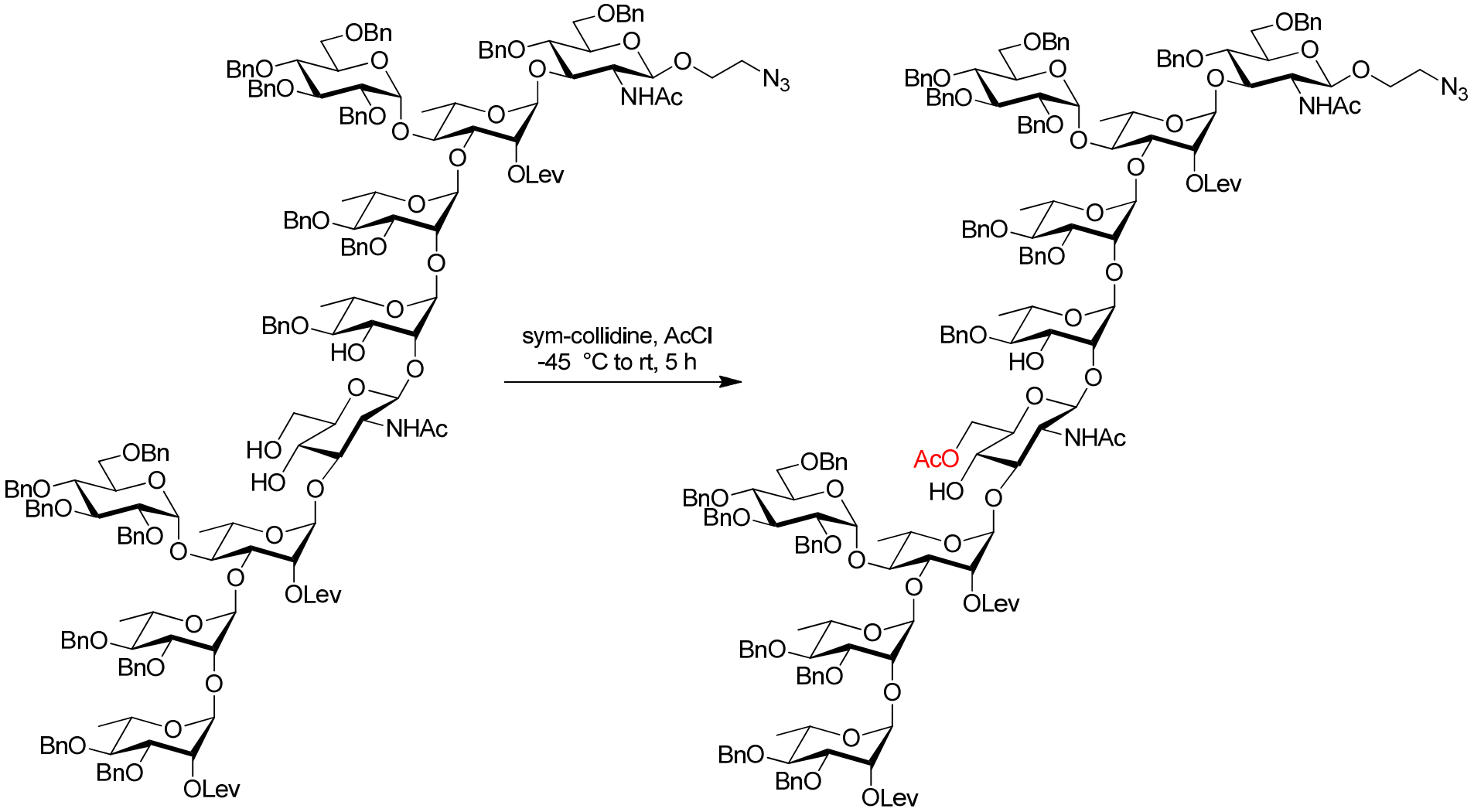

- Produit α majoritaire en raison de l'effet anomérique

**Acétylation régiosélective de Yamamoto :**



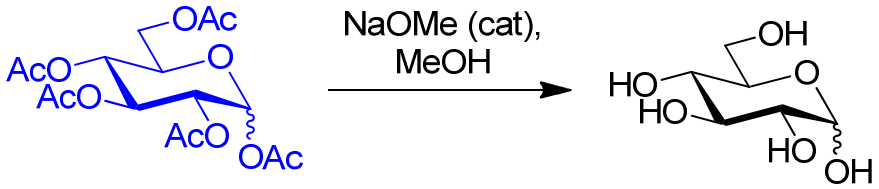
# 2. Réaction des groupements hydroxyles

**Acétylation régiosélective de Yamamoto sur polysaccharide**



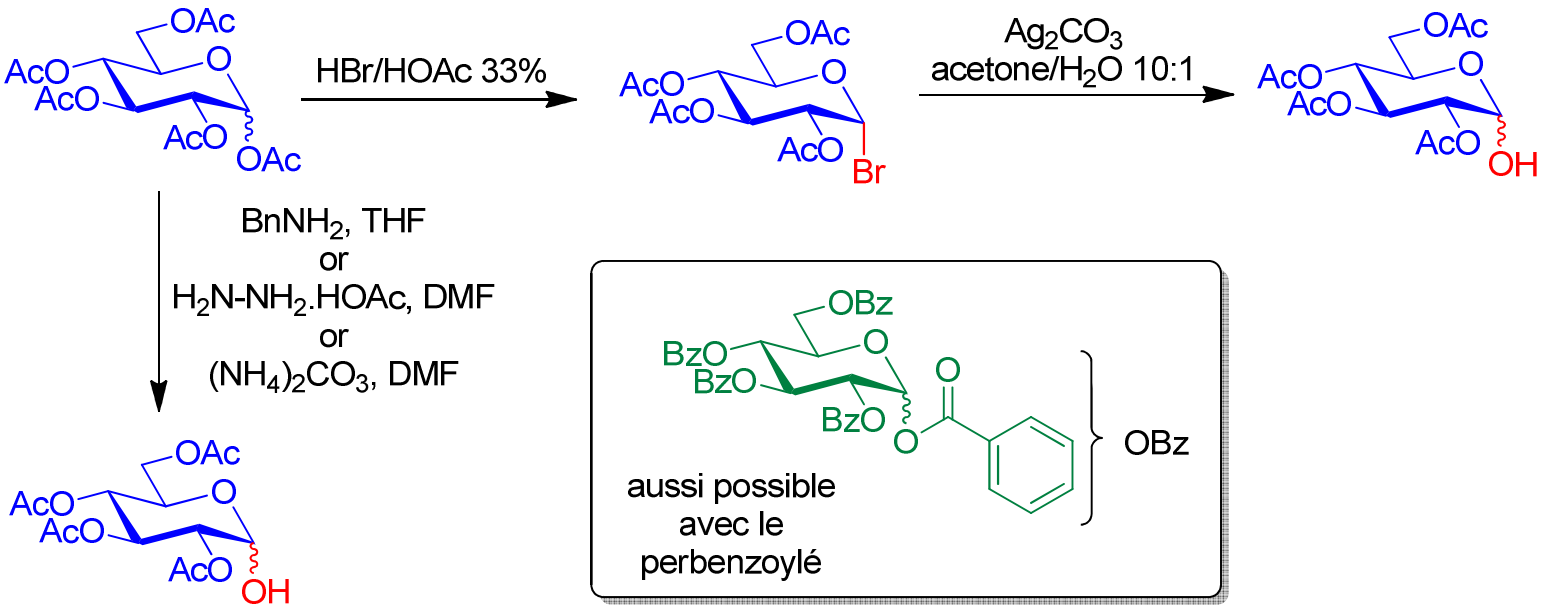
# 2. Réaction des groupements hydroxyles

## Désacétylation de Zemplén :



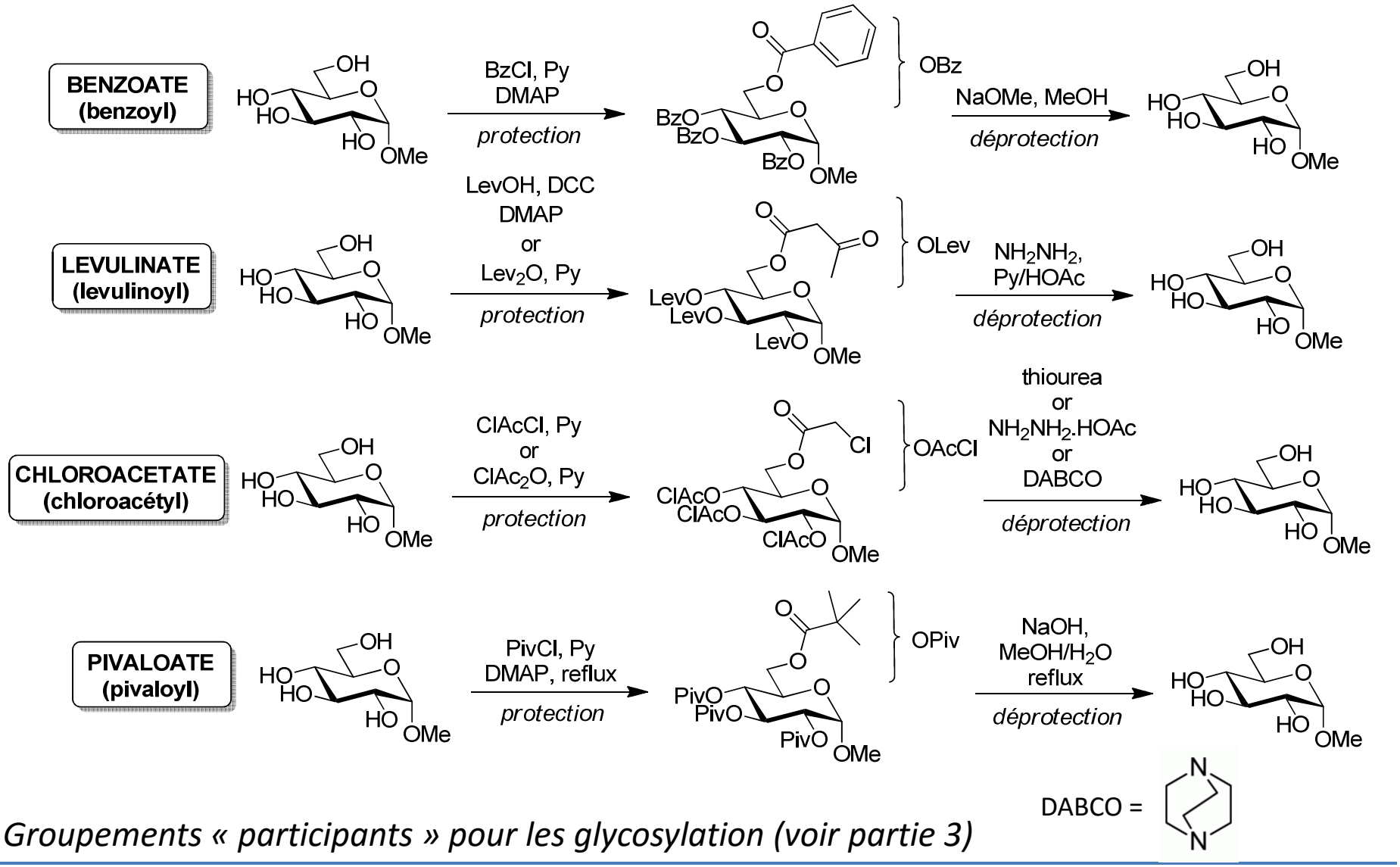

- Peut aussi se faire en présence de $Na_{(s)}$

## Désacétylation régiosélective de la position anomérique :



# 2. Réaction des groupements hydroxyles

**Autres groupements protecteurs de type « esters »* :**

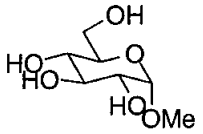
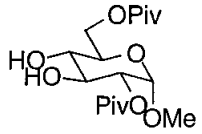
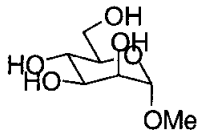
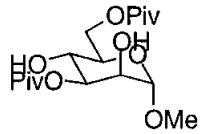
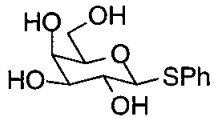
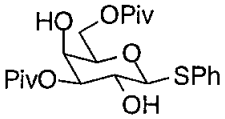
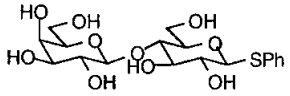
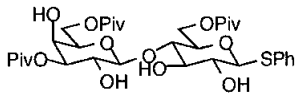
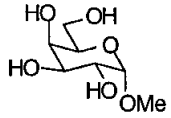
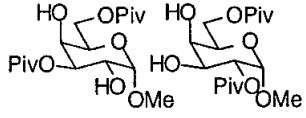
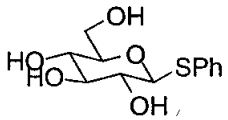
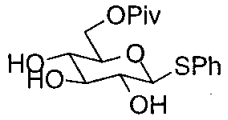
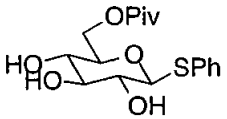
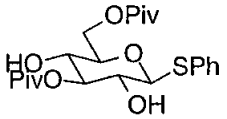



** Groupements « participants » pour les glycosylation (voir partie 3)*

# 2. Réaction des groupements hydroxyles

## Pivaloylation régiosélective

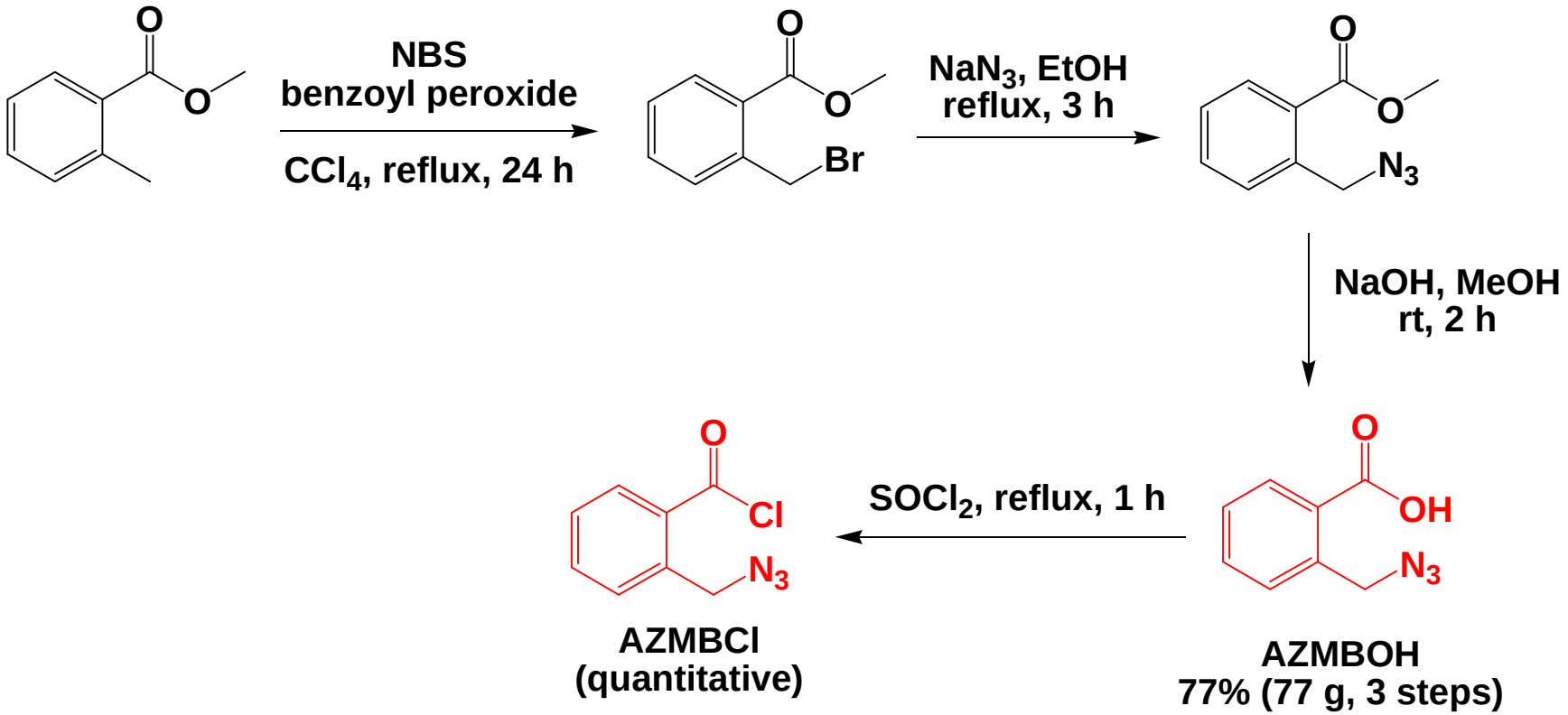
- Conditions :
  PivCl (1,5 ou 3 equiv), Py, 0 °C

| Substrate | Product | Isolated Yield (%) | |
|---|---|---|---|
|  |  | 83 | αGlc |
|  |  | 91 | αMan |
|  |  | 78 | βGal |
|  |  | 73 | βLac |
|  |  | 88 (1:1) | αGal |
|  |  | 77 | βGlc |
|  |  | 74 | βGlcPiv |

# 2. Réaction des groupements hydroxyles

**Nouveaux groupements esters participants *azidométhylbenzoyl* (AZMB) :**

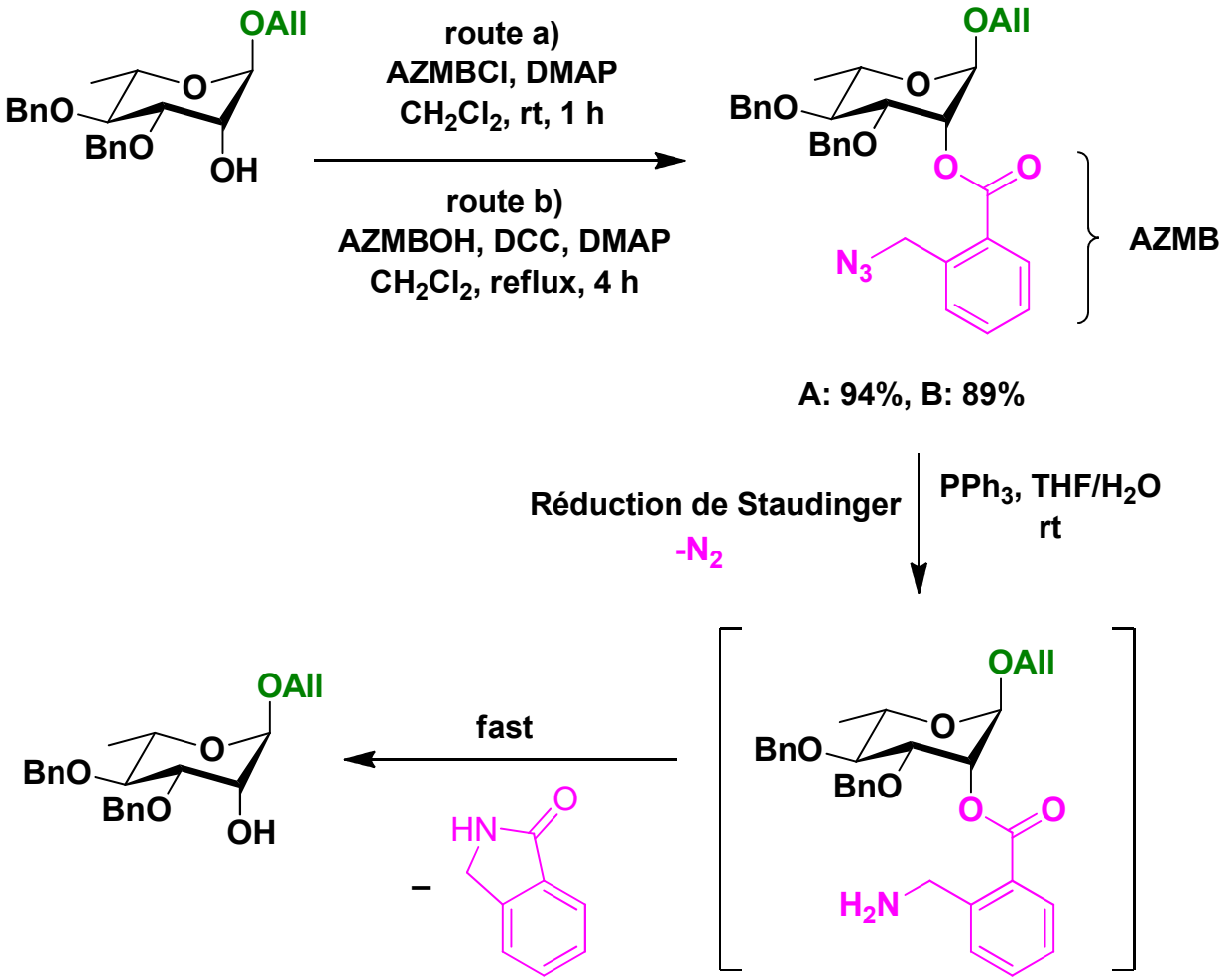
**1) Voie de synthèse de l'AZMBOH et AZMBCl**



# 2. Réaction des groupements hydroxyles

**Nouveaux groupements esters participants *azidométhylbenzoyl* (AZMB) :**

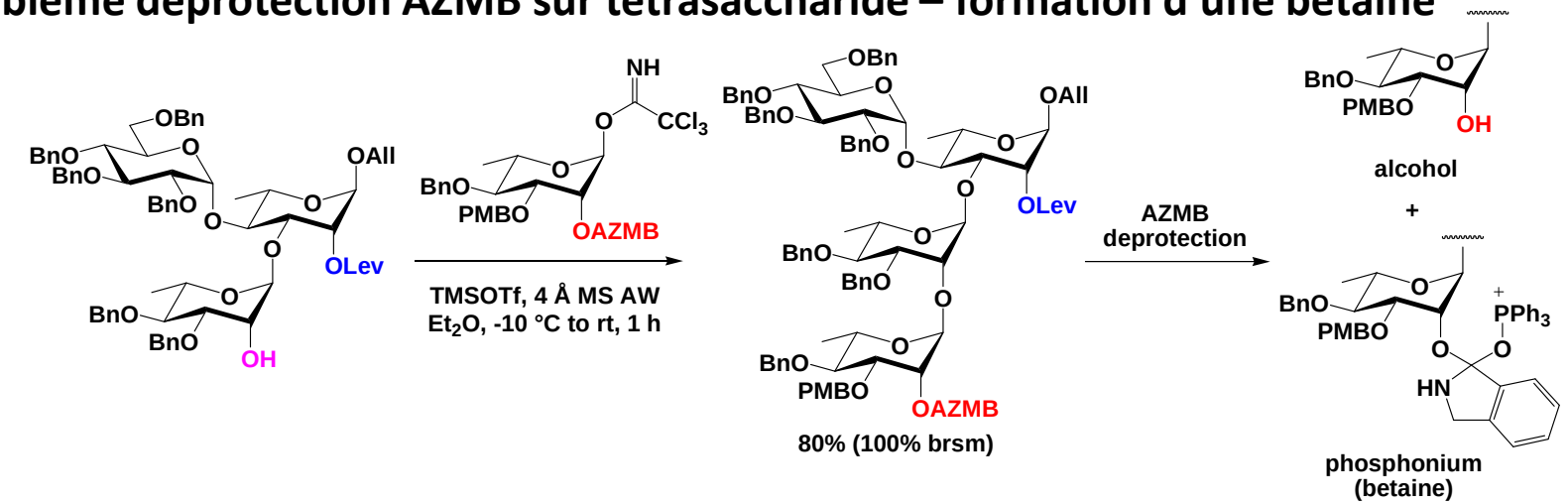
**2) Exemple protection/déprotection d'un 2-OH**



# 2. Réaction des groupements hydroxyles

**Nouveaux groupements esters participants *azidométhylbenzoyl* (AZMB) :**

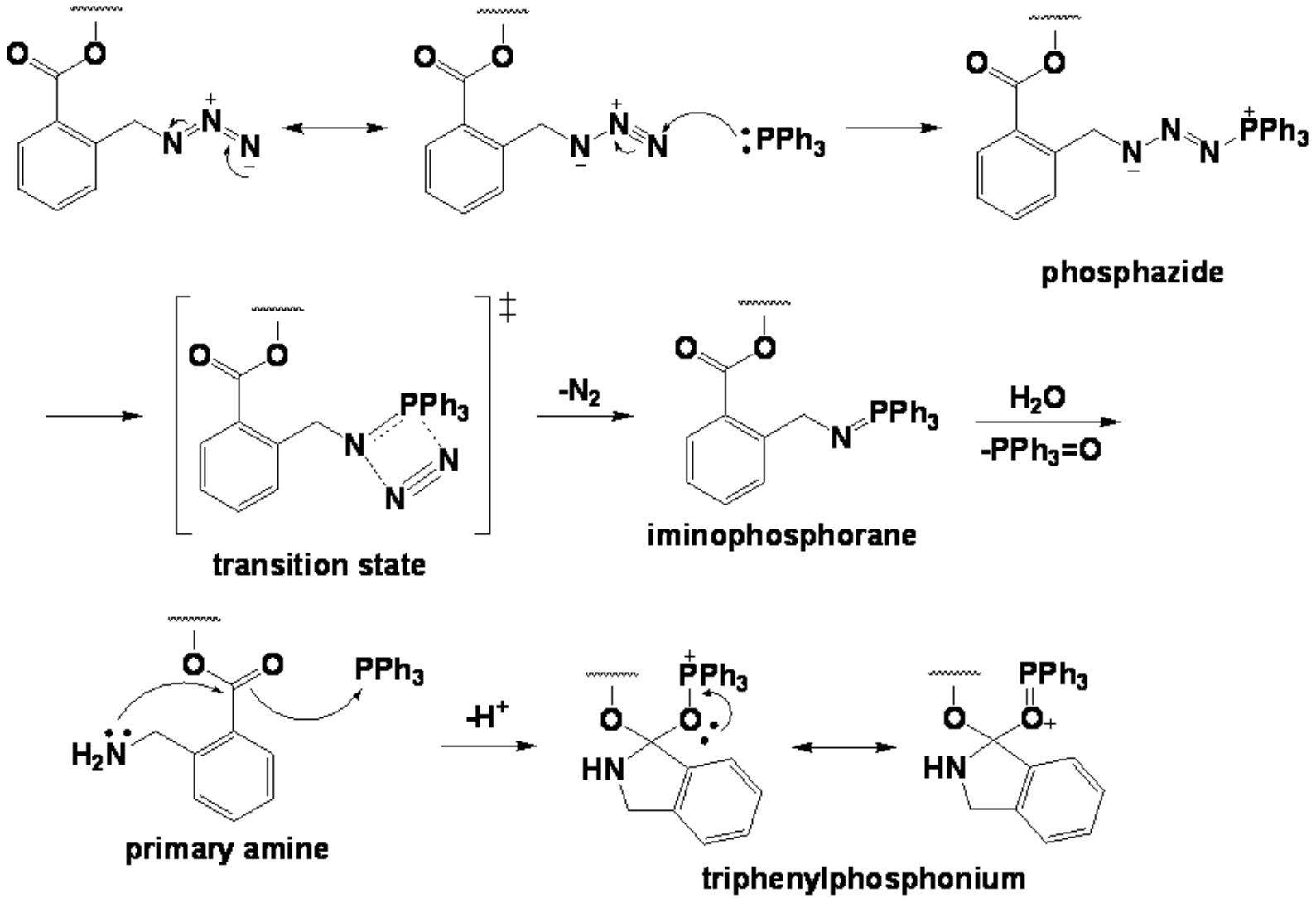
### 3) Problème déprotection AZMB sur tétrasaccharide – formation d'une bêtaïne




| Entry | Conditions | Solvent | Temp. / *Time* | Yield (*brsm*) |
|---|---|---|---|---|
| 1 | $PBu_3$ (3.0 equiv)<br>$H_2O$ (5.0 equiv) | THF | rt, *4 h* | 47% (*53%*) |
| 3 | $PBu_3$ (3.0 equiv),<br>then $H_2O$ (5.0 equiv) | THF | rt, *2 h* | phosphonium majo |
| 4 | $PPh_3$ (10 equiv)<br>$SiO_2$ | THF/$H_2O$ 9:1 | reflux, *6 h* | phosphonium majo |
| 6 | $H_2S$ | Py/HOAc 4:1 | 140 °C (MW), *4 h* | 37% |
| 7 | $HS(CH_2)_3SH$ (50 equiv)<br>$Et_3N$ (10 equiv) | $CH_2Cl_2$/MeOH 1:1 | reflux, *2 d* | degradation |

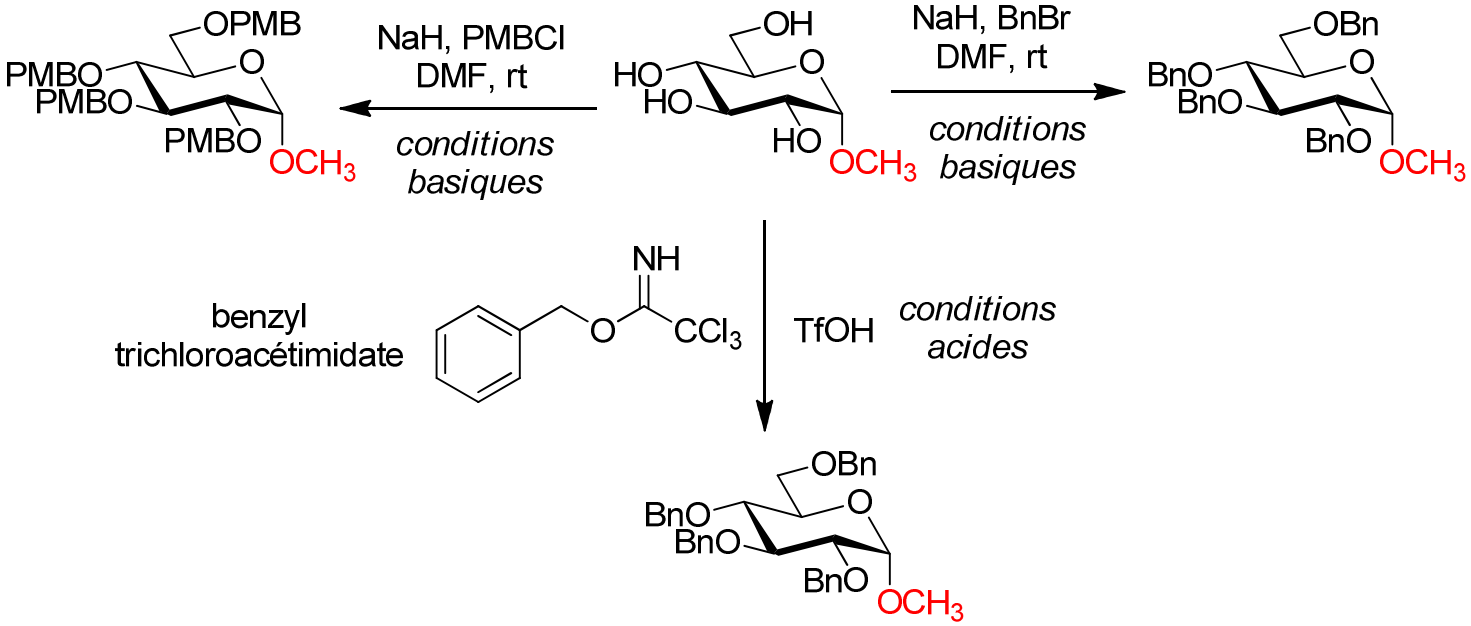
# 2. Réaction des groupements hydroxyles

**4) Mécanisme de la réaction de Staudinger formant bêtaïne**

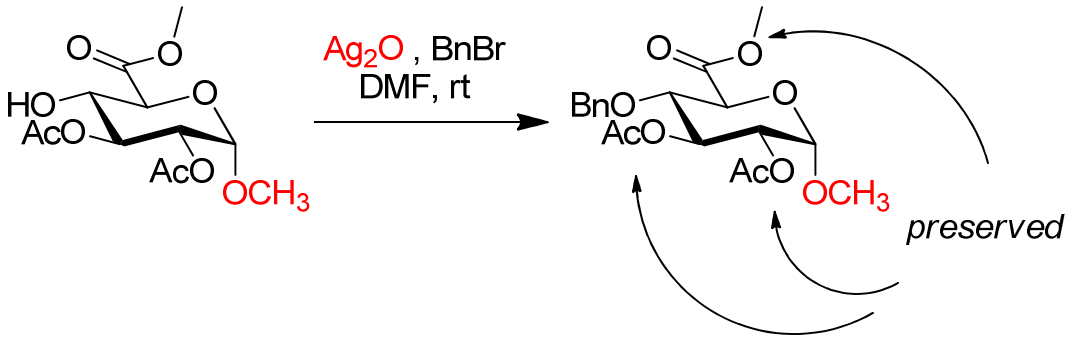


# 2. Réaction des groupements hydroxyles

## Groupements protecteurs de type éthers – benzyl (Bn) et *para*-méthoxybenzyl (PMB)

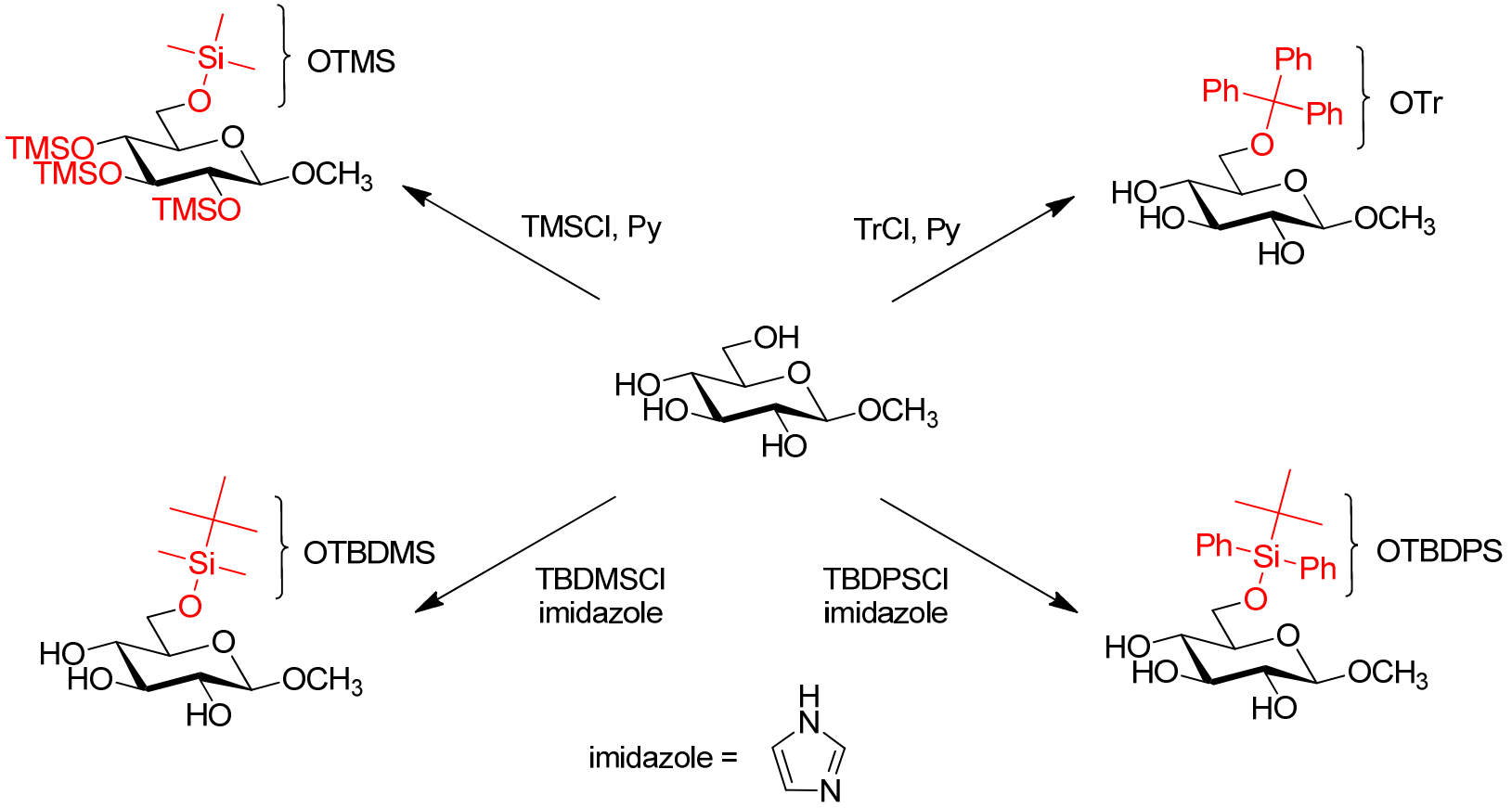



## Benzylation en présence de fonctions esters



# 2. Réaction des groupements hydroxyles

**Groupements protecteurs de type éthers – trityl (Tr, $CPh_3$) et silyl (TMS, TBDMS, TBDPS)**




**Stabilité relative des groupements silylés**

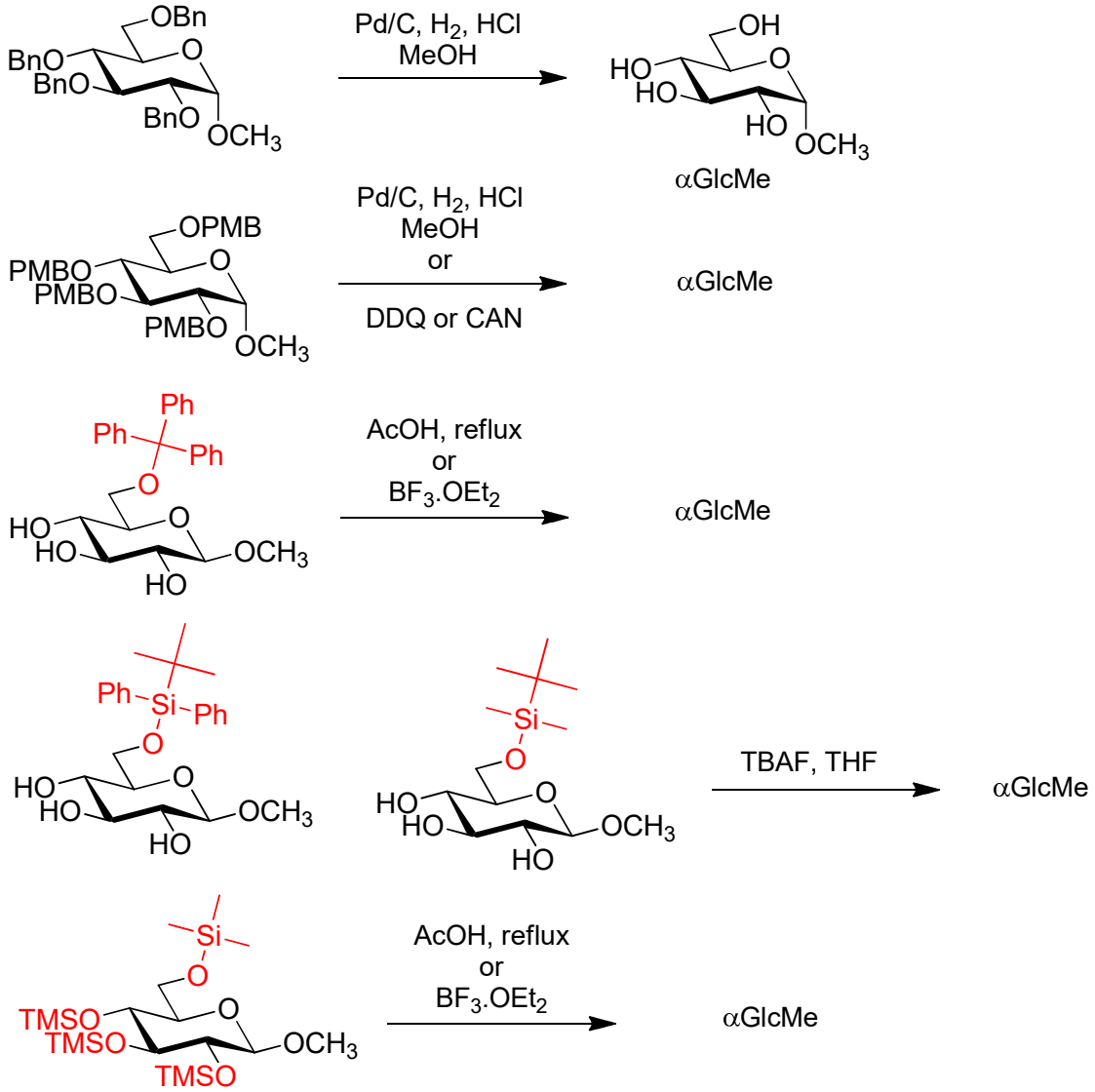
R-OTMS = 1

R-OTBDMS = $1 \times 10^{-3}$

R-OTBDPS = $1 \times 10^{-5}$

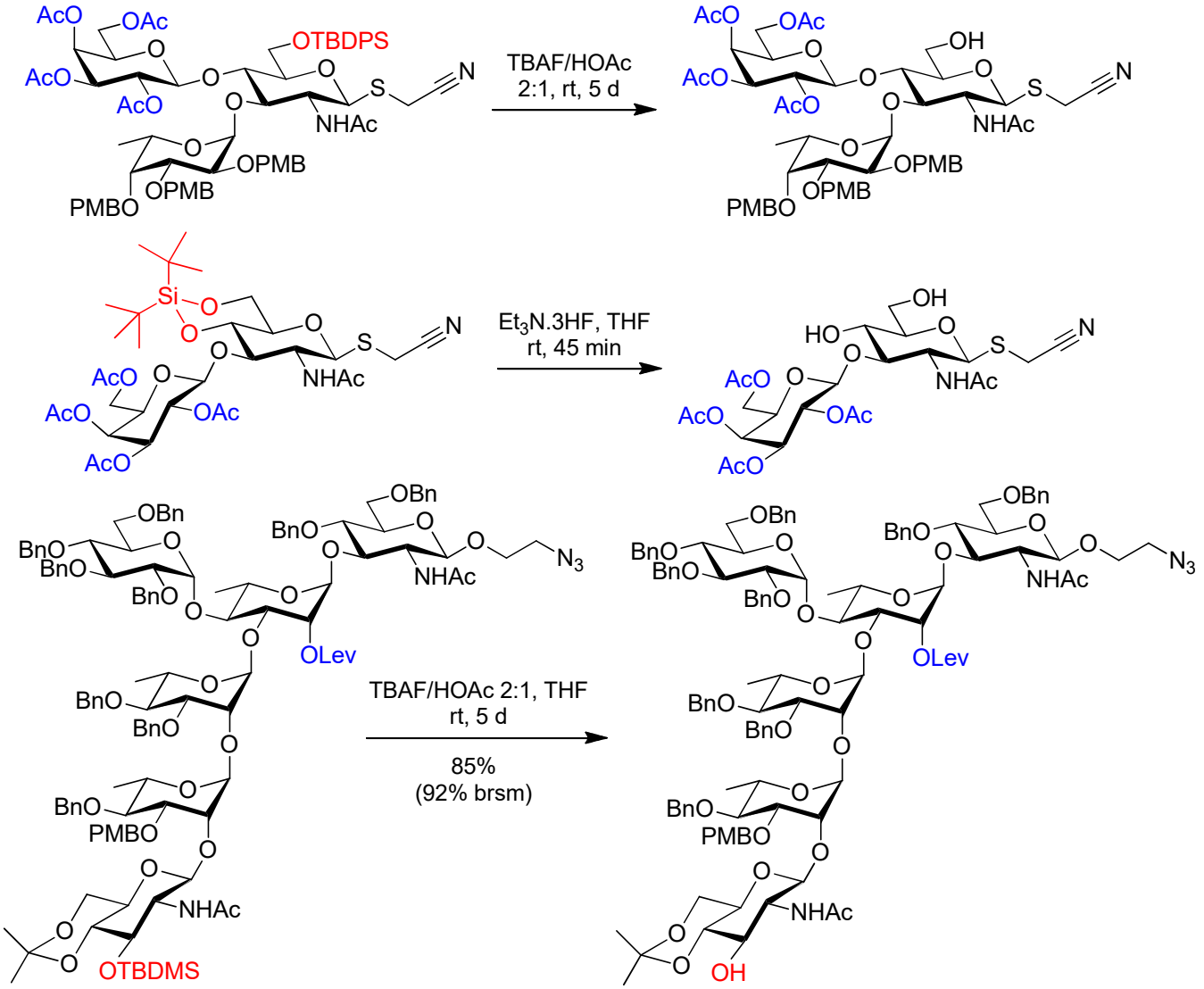
# 2. Réaction des groupements hydroxyles

## Déprotection des groupements O-éthers



# 2. Réaction des groupements hydroxyles

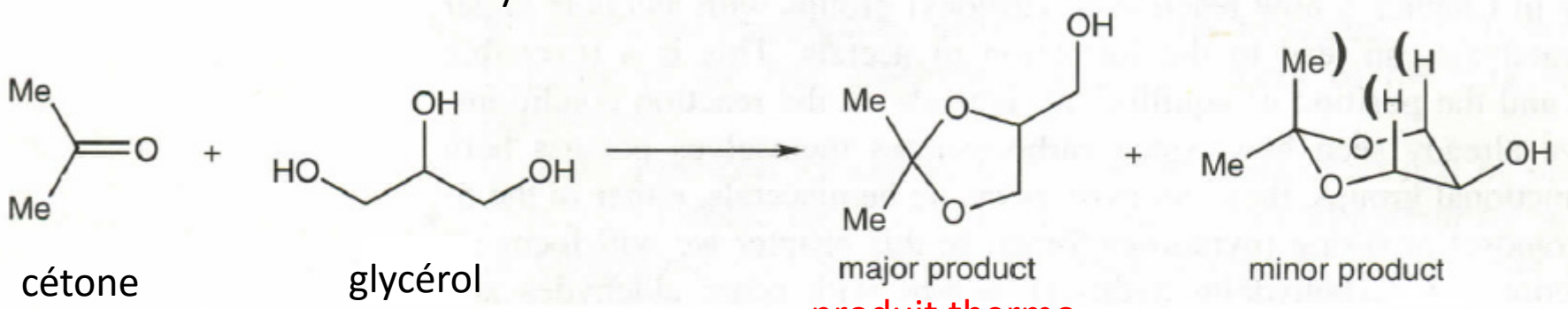
## Déprotection des groupements TBS et TBDPS en présence d'esters :



# 2. Réaction des groupements hydroxyles

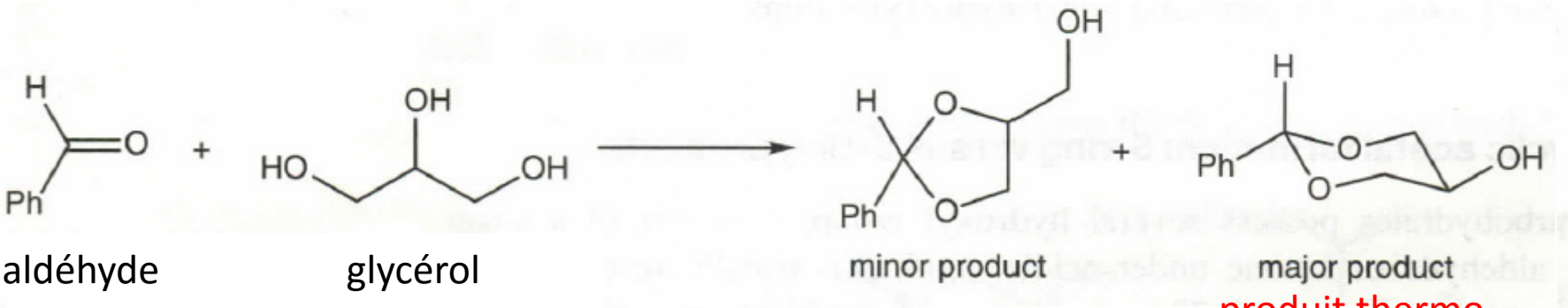
## Acétal cycliques et protection régiosélective des diols

- Possibilité de formation de cycles à 5 ou à 6 membres




cétone glycérol

produit thermo




aldéhyde glycérol

produit thermo

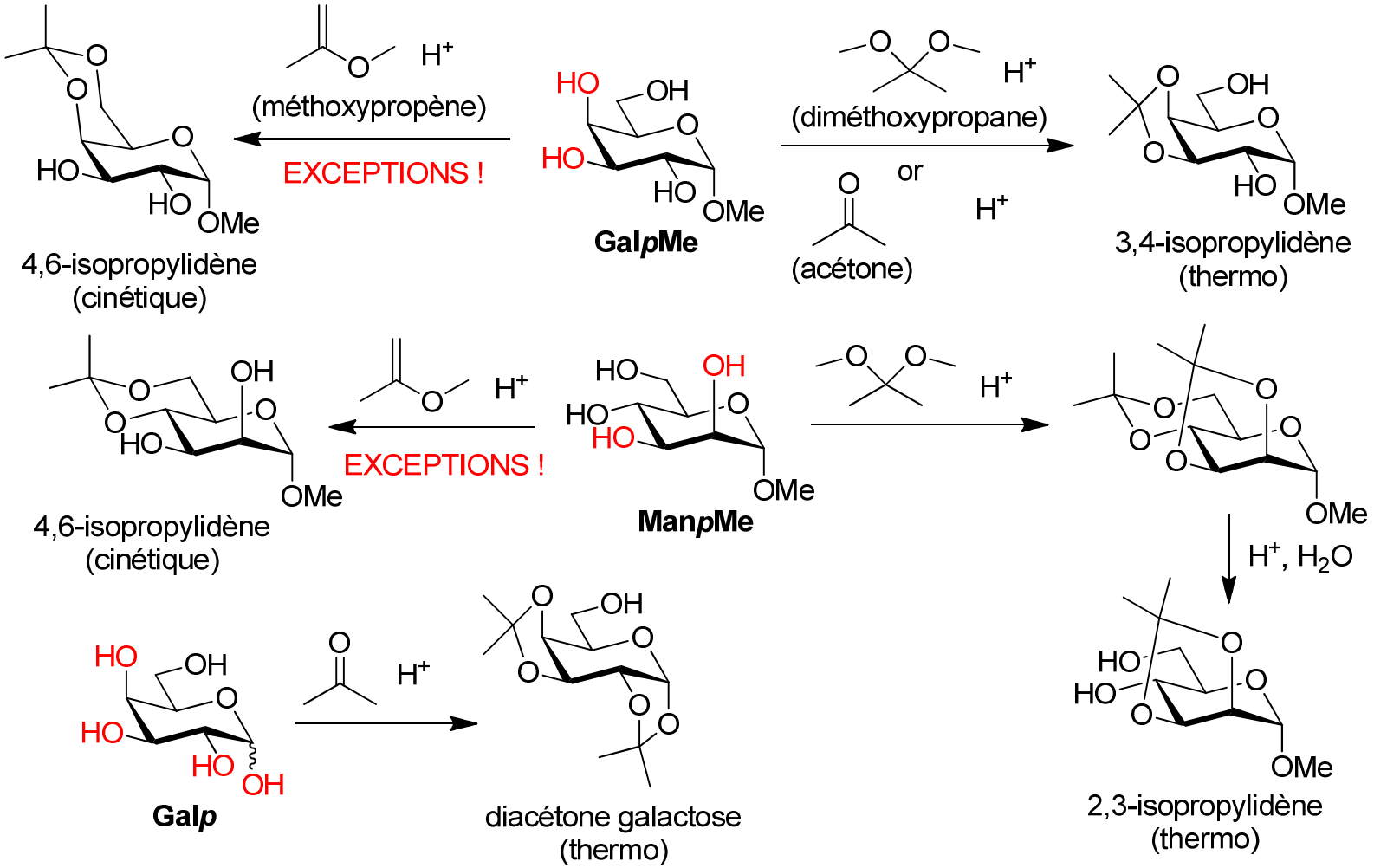
- Règle empirique (pas toujours vraie) :

*« Avec les composés polyhydroxylés, les cétones forment préférentiellement des cycles à 5 tandis que les aldéhydes forment préférentiellement des cycles à 6 »*

# 2. Réaction des groupements hydroxyles

## Acétals cycliques et protection régiosélective des diols

**1) Acétonides ou acétals d'isopropylidène** : *formation de cycle à 5 de configuration cis*

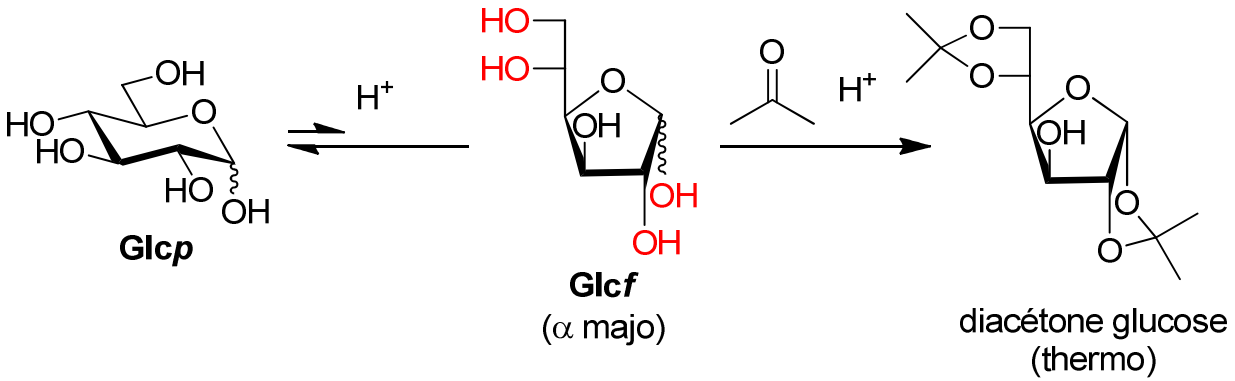


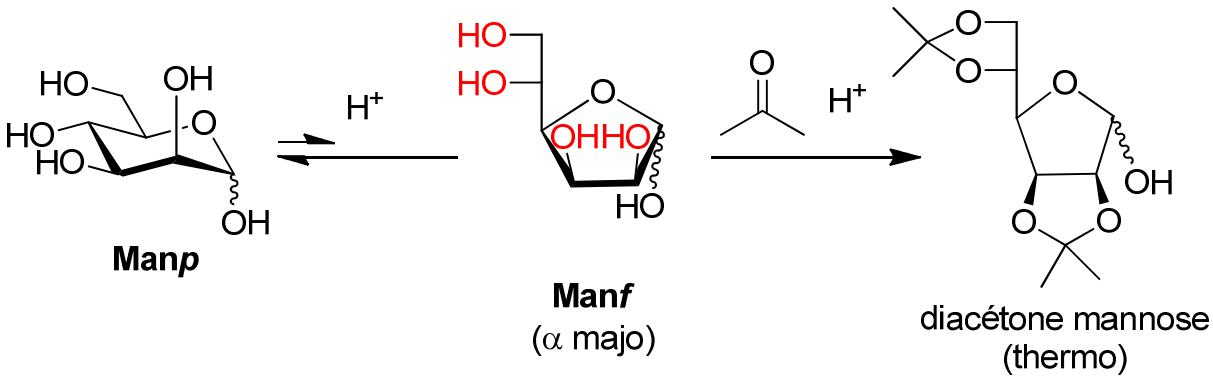

**formes pyranoses majoritaires**

# 2. Réaction des groupements hydroxyles

## Acétals cycliques et protection régiosélective des diols

**1) Acétonides ou acétals d'isopropylidène** : *formation de cycle à 5 de configuration cis*



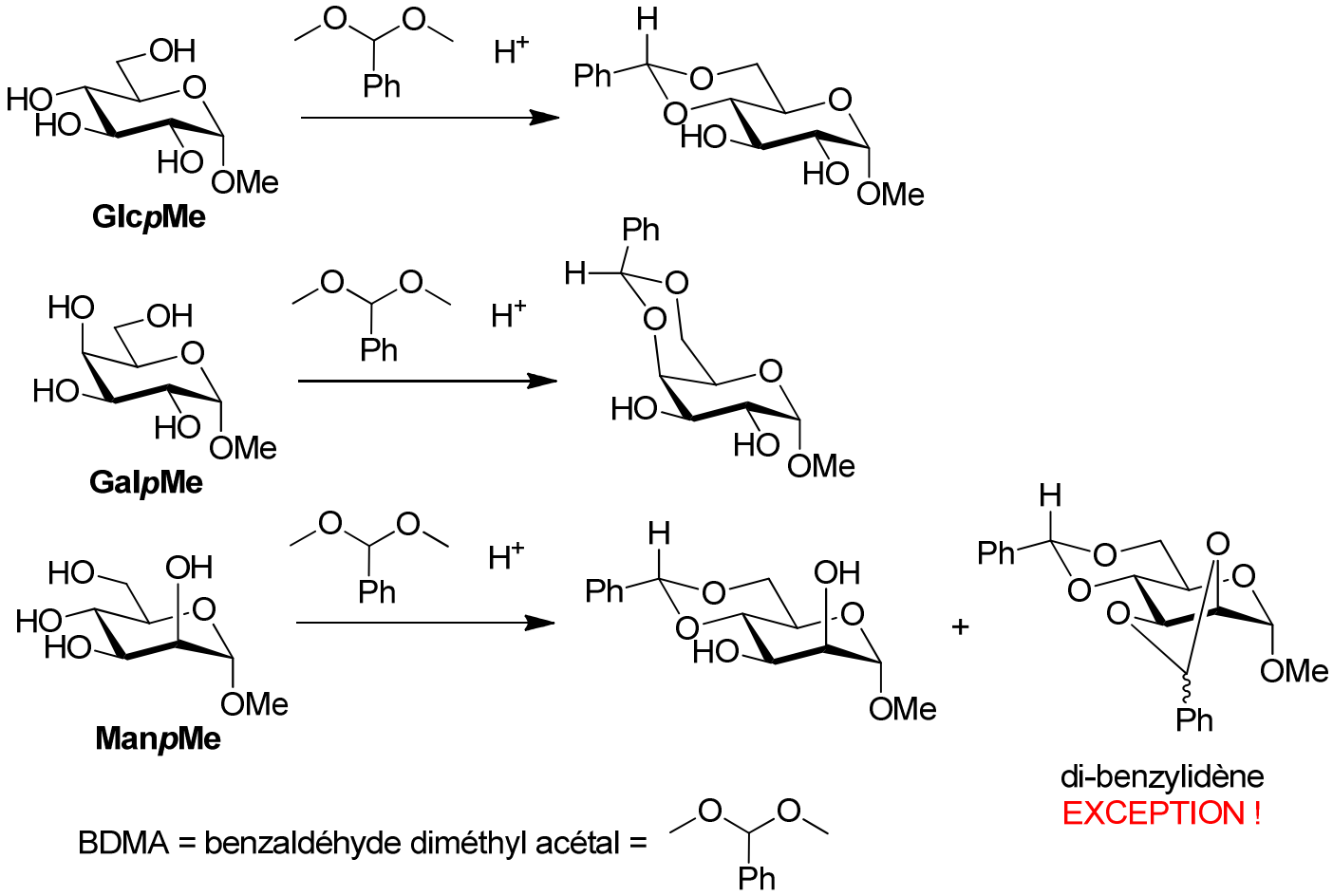




**formes furanoses majoritaires**

# 2. Réaction des groupements hydroxyles

## Acétals cycliques et protection régiosélective des diols

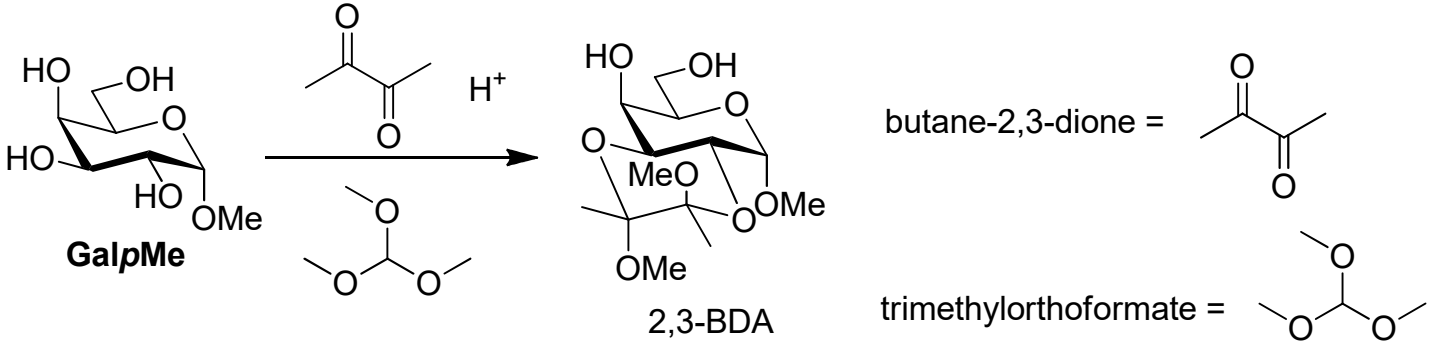
**2) Acétals de benzylidène** : *formation de cycle à 6 de configuration cis ou trans*

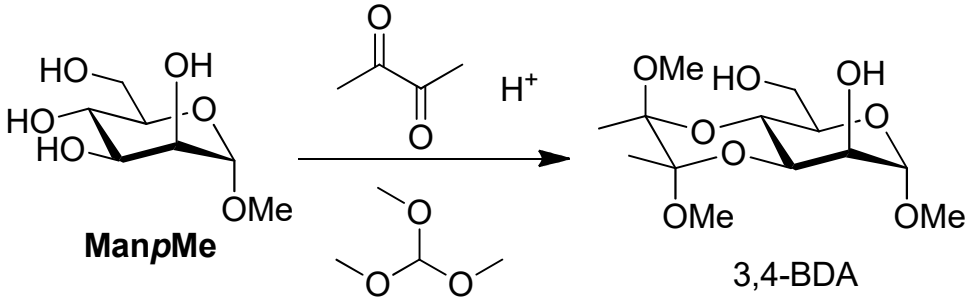


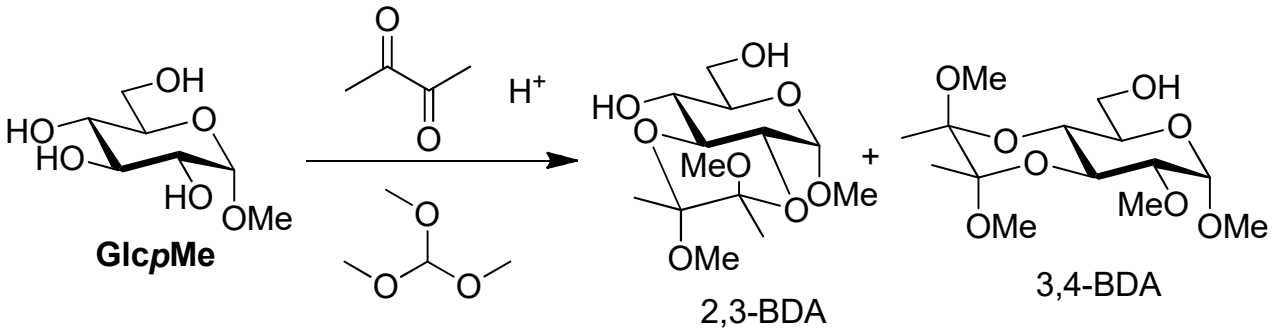
# 2. Réaction des groupements hydroxyles

## Acétals cycliques et protection régiosélective des diols

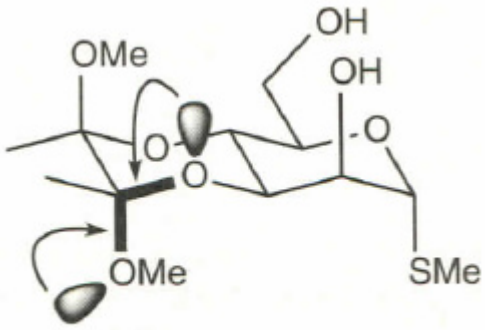
### 3) Butane diacétals (BDA) : *formation de diols 1,2-trans*



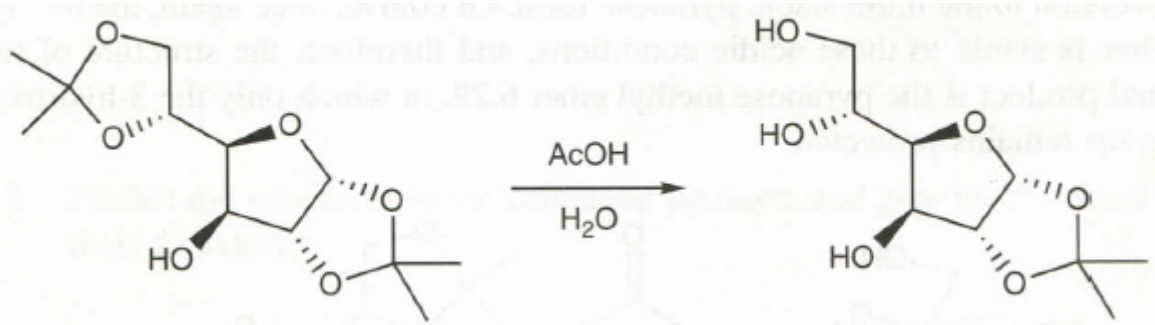

Pk OMe en axial ?
Double effet anomérique



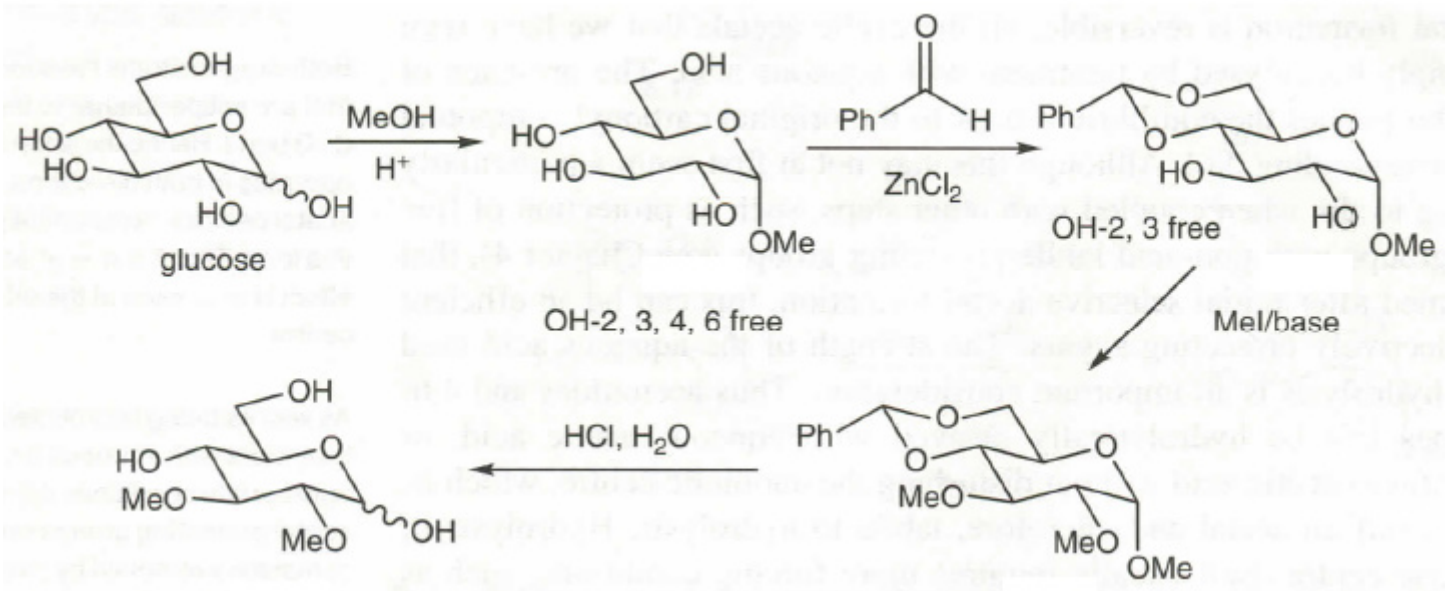
# 2. Réaction des groupements hydroxyles

## Acétals cycliques et protection régiosélective des diols

### 4) Hydrolyse des acétal cycliques




***Hydrolyse régiosélective***



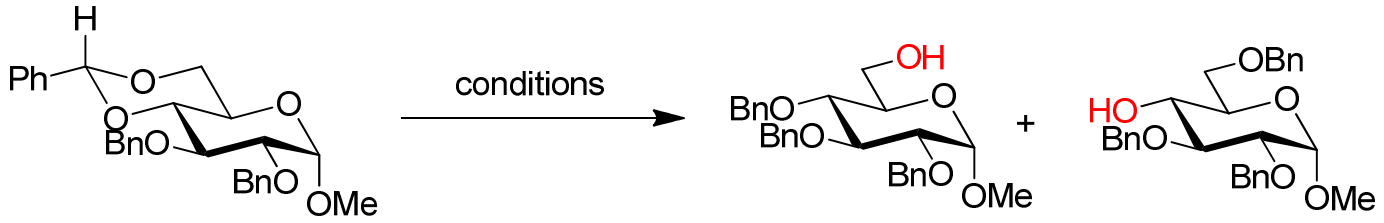

***Protection/déprotection régiosélective***

# 2. Réaction des groupements hydroxyles

## Acétals cycliques et protection régiosélective des diols

### 5) Ouverture régiosélective des benzylidènes

- Sélectivité fonction de l'électrophile, de l'agent réducteur et/ou du solvant (!!!)




**6-OH** **4-OH**

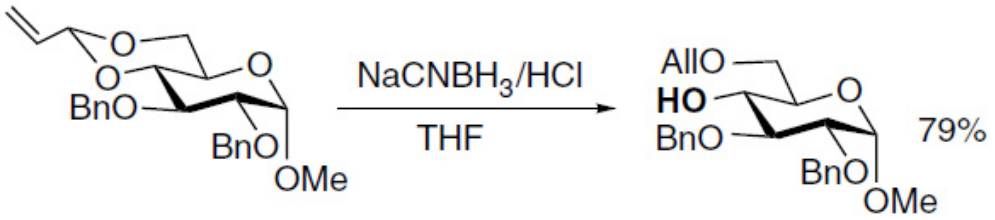
| Electrophile | Reducing agent | Solvent | Product |
|---|---|---|---|
| $AlCl_3$ | $LiAlH_4$ | $Et_2O$, $CH_2Cl_2$ | 6-OH |
| $Ph_2BBr$ | PhSH or $THF.BH_3$ | $CH_2Cl_2$ | 6-OH |
| $Bu_2BOTf$ | $THF.BH_3$ | $CH_2Cl_2$ | 6-OH |
| $AlCl_3$ | $Me_3NBH_3$ | $PhCH_3$ or $CH_2Cl_2$ | 6-OH |
| | | THF | 4-OH |
| $Et_2OBF_3$ | $Me_2NHBH_3$ | $CH_2Cl_2$ | 6-OH |
| | | $CH_3CN$ | 4-OH |
| HCl | $NaCNBH_3$ | THF | 4-OH |
| $CF_3COOH$ $Et_2OBF_3$ | $Et_3SiH$ | $CH_2Cl_2$ | 4-OH |
| $CF_3SO_3H$ | $NaCNBH_3$ | THF | 4-OH |

# 2. Réaction des groupements hydroxyles

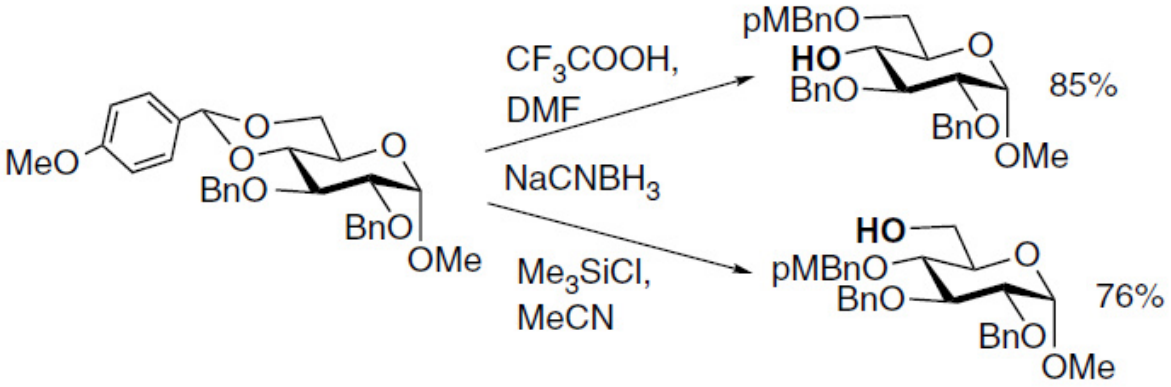
## Acétals cycliques et protection régiosélective des diols

**5) Ouverture régiosélective des benzylidènes :** *autres exemples de clivage réductif*

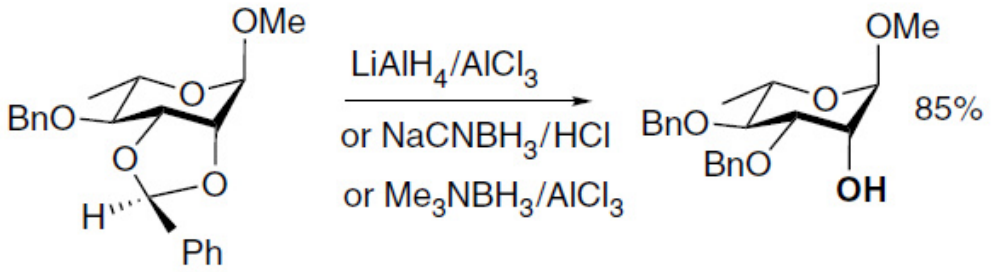
Allylidène




*p*-méthoxybenzylidène



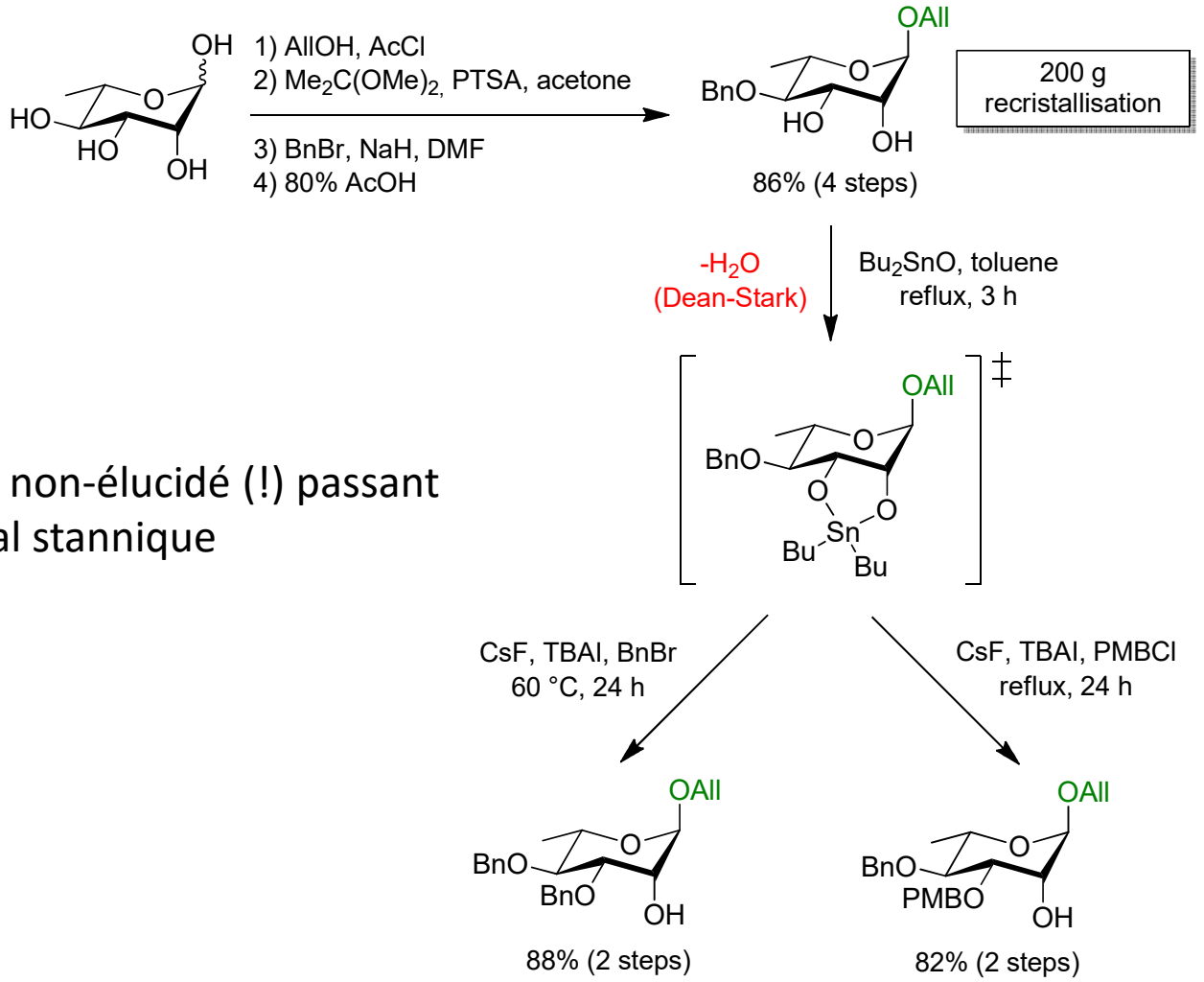

benzylidène cycle à 5



# 2. Réaction des groupements hydroxyles

## Acétals cycliques et protection régiosélective des diols

### 6) Activation de dérivés stannylènes : *protection régiosélective en position équatoriale*

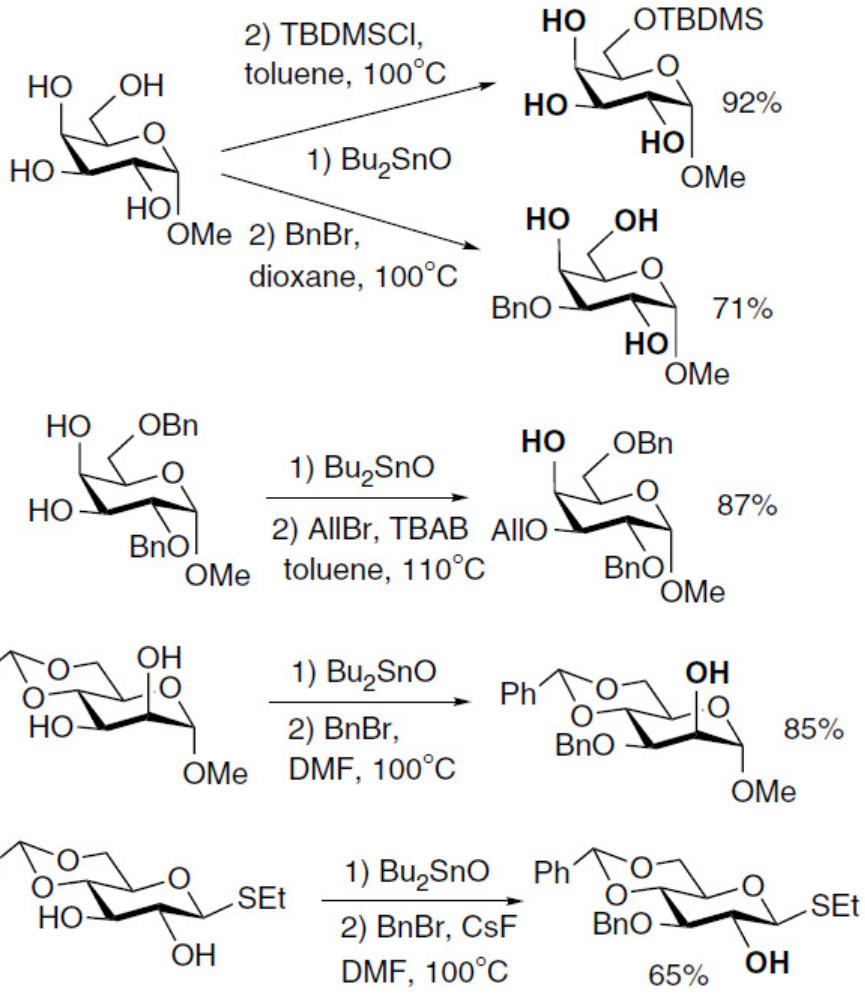



- Mécanisme non-élucidé (!) passant par un acétal stannique

# 2. Réaction des groupements hydroxyles

## Acétals cycliques et protection régiosélective des diols

### 6) Activation de dérivés stannylènes : *autres exemples*

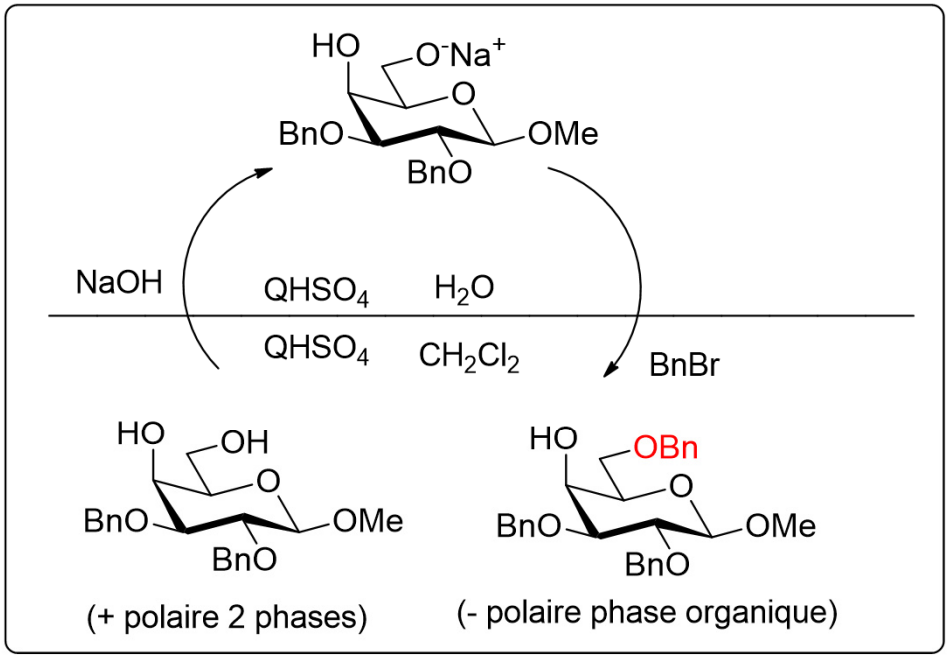


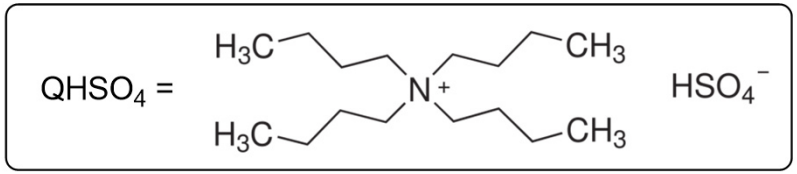
# 2. Réaction des groupements hydroxyles

## Acétals cycliques et protection régiosélective des diols

**7) Alkylation et acylation par transfert de phase :** *sélectivité pour les OH axiaux*

- Conditions : NaOH ($5\%_{aq.}$), $QHSO_4$, BnBr, $CH_2Cl_2/H_2O$, reflux

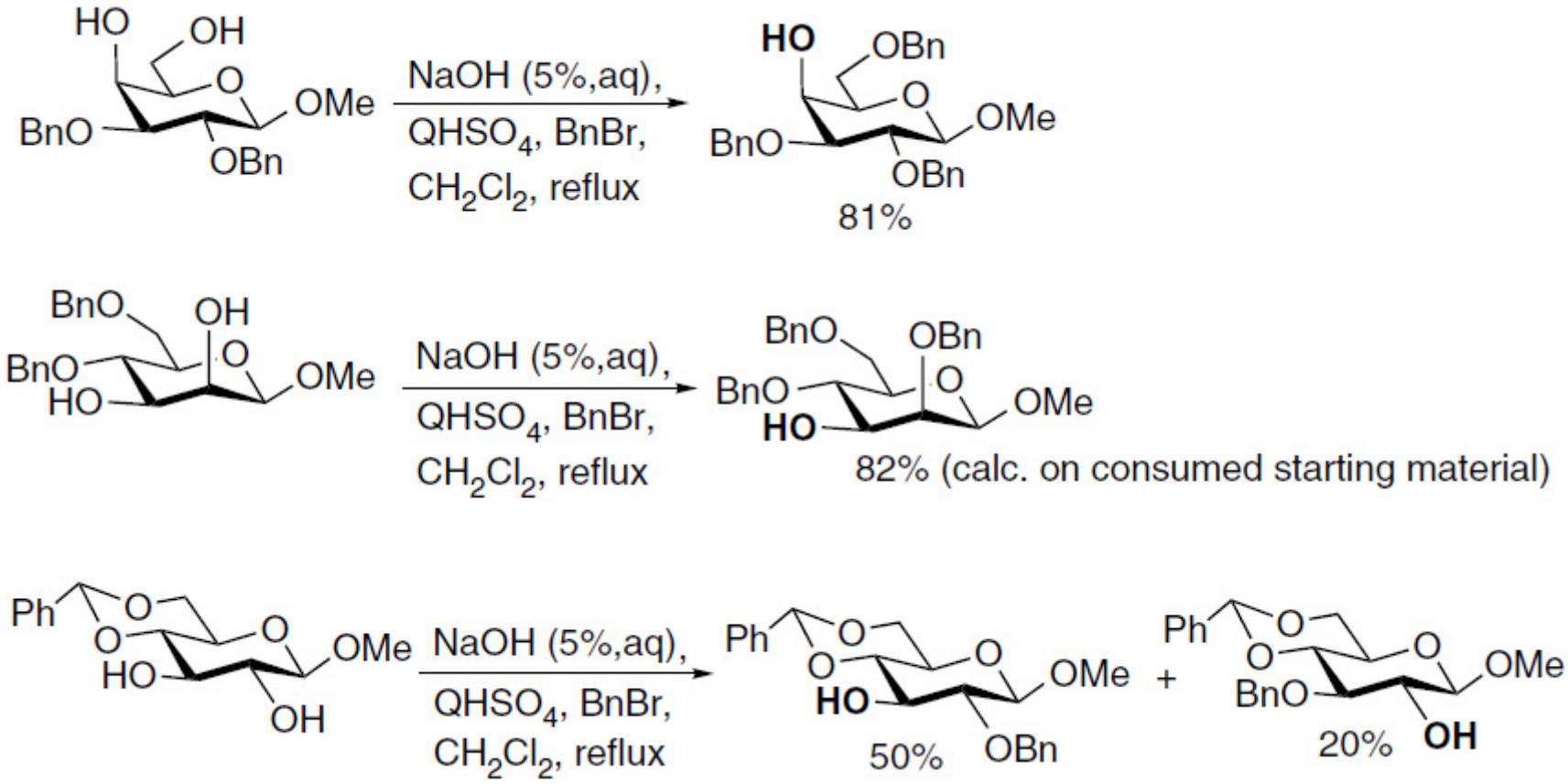


# 2. Réaction des groupements hydroxyles

## Acétals cycliques et protection régiosélective des diols

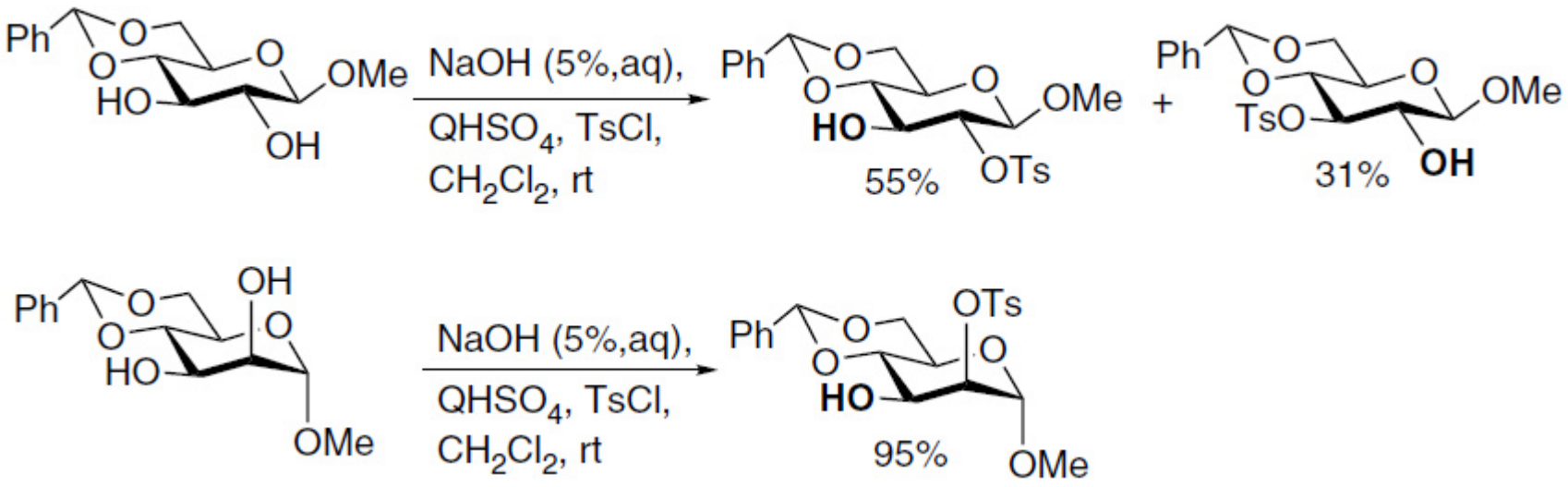
**7) Alkylation et acylation par transfert de phase :** *exemples de benzylation*



# 2. Réaction des groupements hydroxyles

## Acétals cycliques et protection régiosélective des diols

**7) Alkylation et acylation par transfert de phase :** *exemples de tosylation (Ts)*

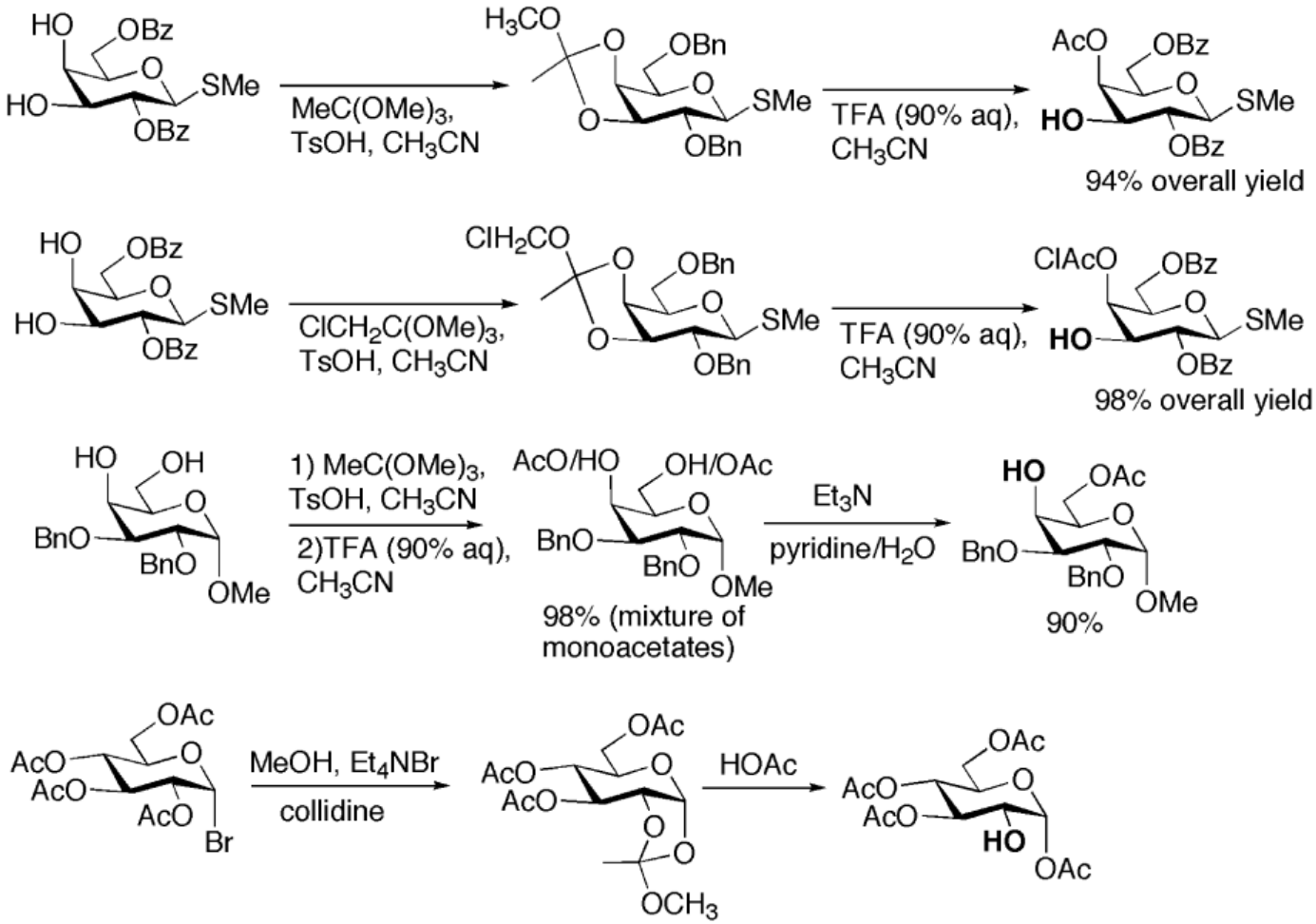


# 2. Réaction des groupements hydroxyles

## Acétals cycliques et protection régiosélective des diols

**8) Ouverture des orthoesters en milieu acide :** *estérification en position axiale*

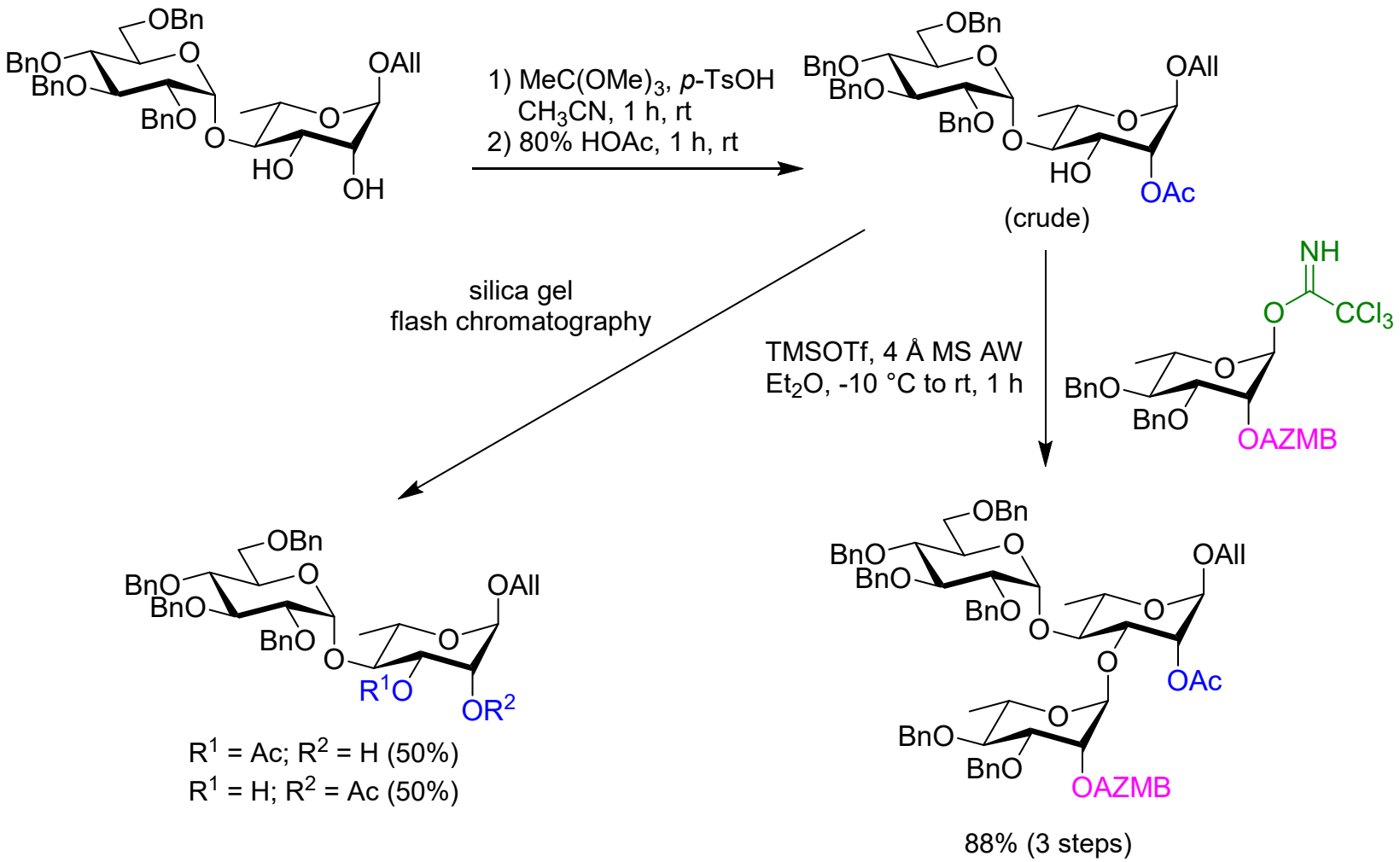
* Attention à la migration des acétyles ! (lent en milieu acide)



# 2. Réaction des groupements hydroxyles

## Acétals cycliques et protection régiosélective des diols

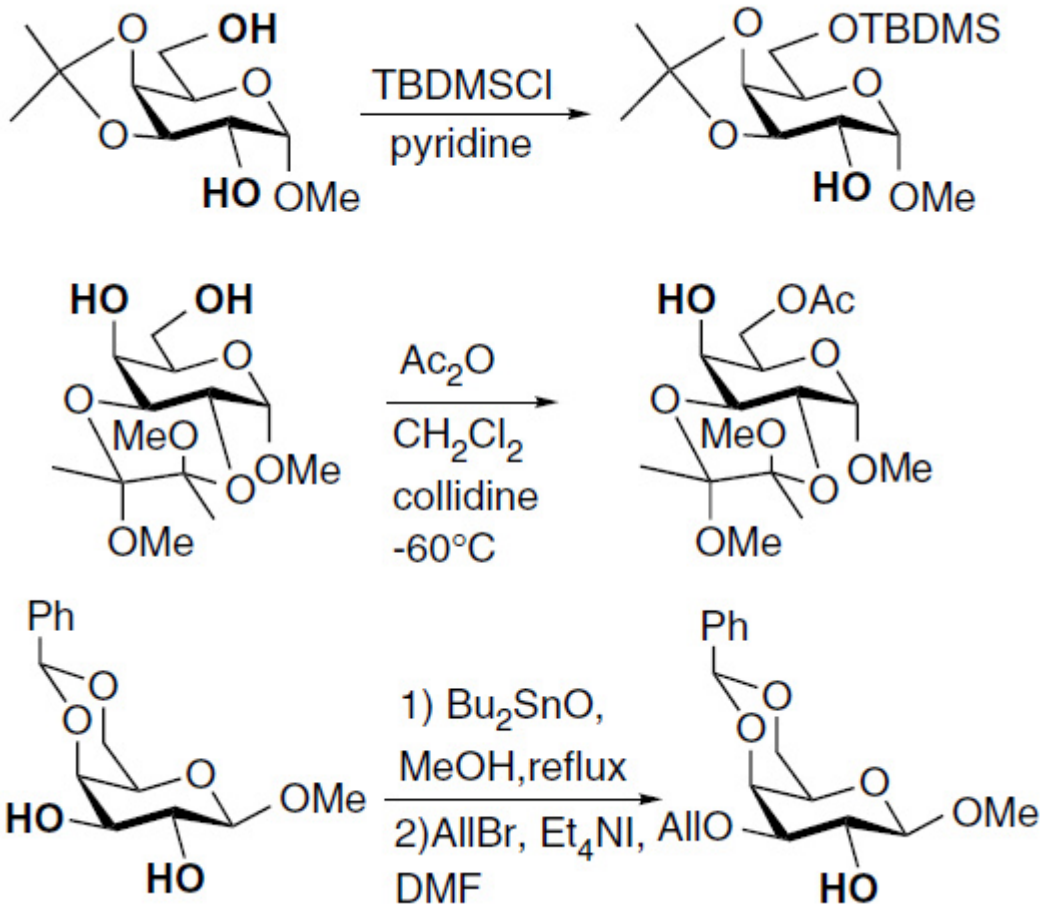
### 8) Ouverture des orthoesters en milieu acide : *exemple de migration acyl*



# 2. Réaction des groupements hydroxyles

## Protection régiosélective des monosaccharides

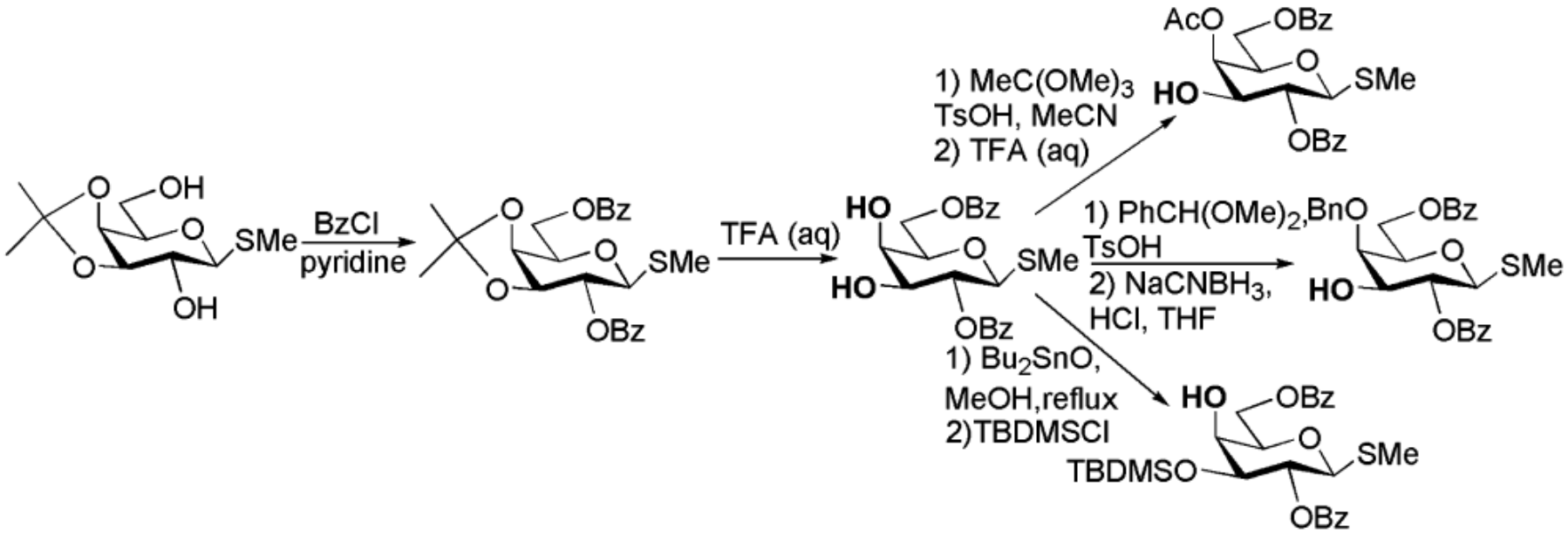
### 1) Le cas des D-galactosides



# 2. Réaction des groupements hydroxyles

## Protection régiosélective des monosaccharides

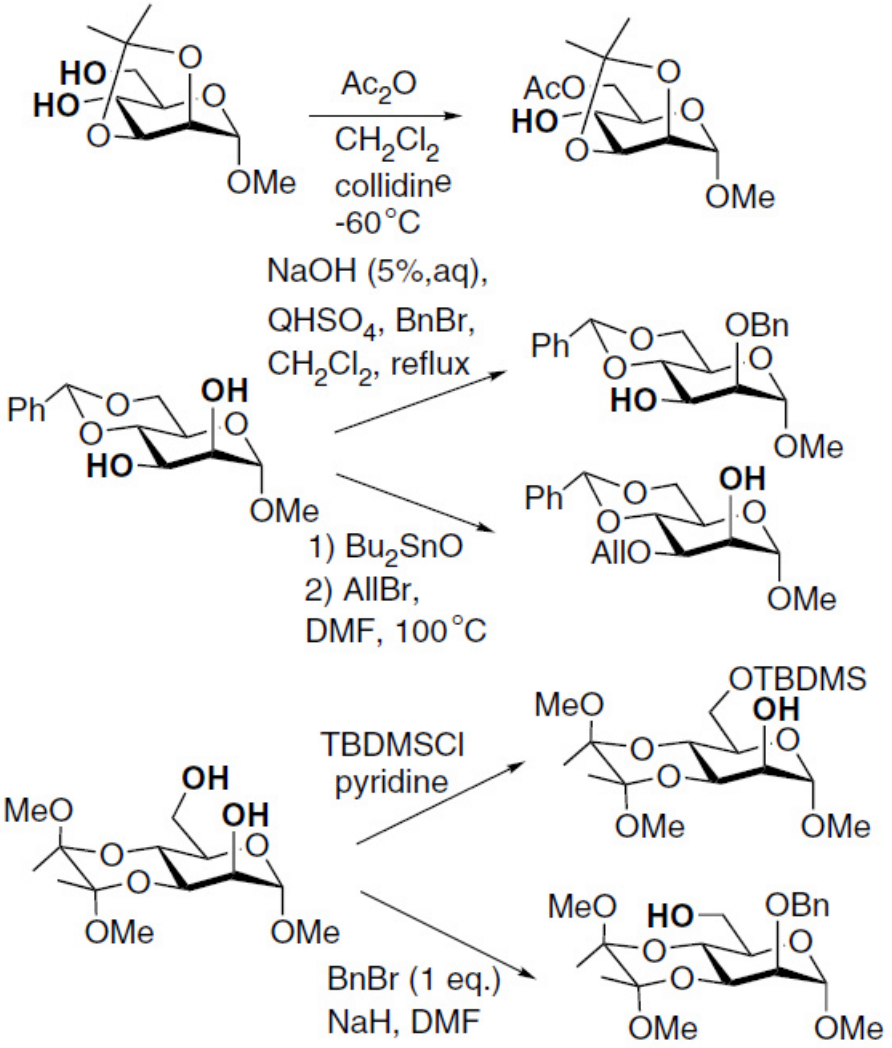
### 1) Le cas des D-galactosides



# 2. Réaction des groupements hydroxyles

## Protection régiosélective des monosaccharides

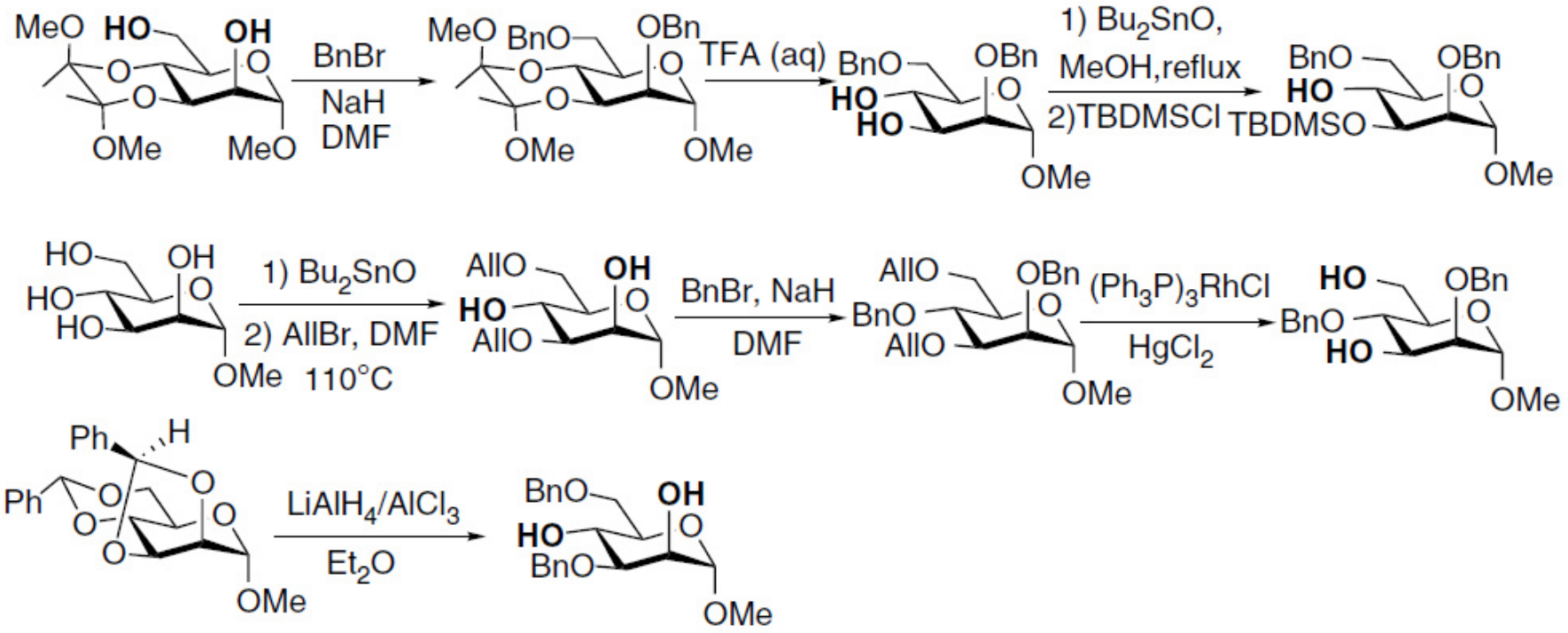
### 2) Le cas des D-mannosides



# 2. Réaction des groupements hydroxyles

## Protection régiosélective des monosaccharides

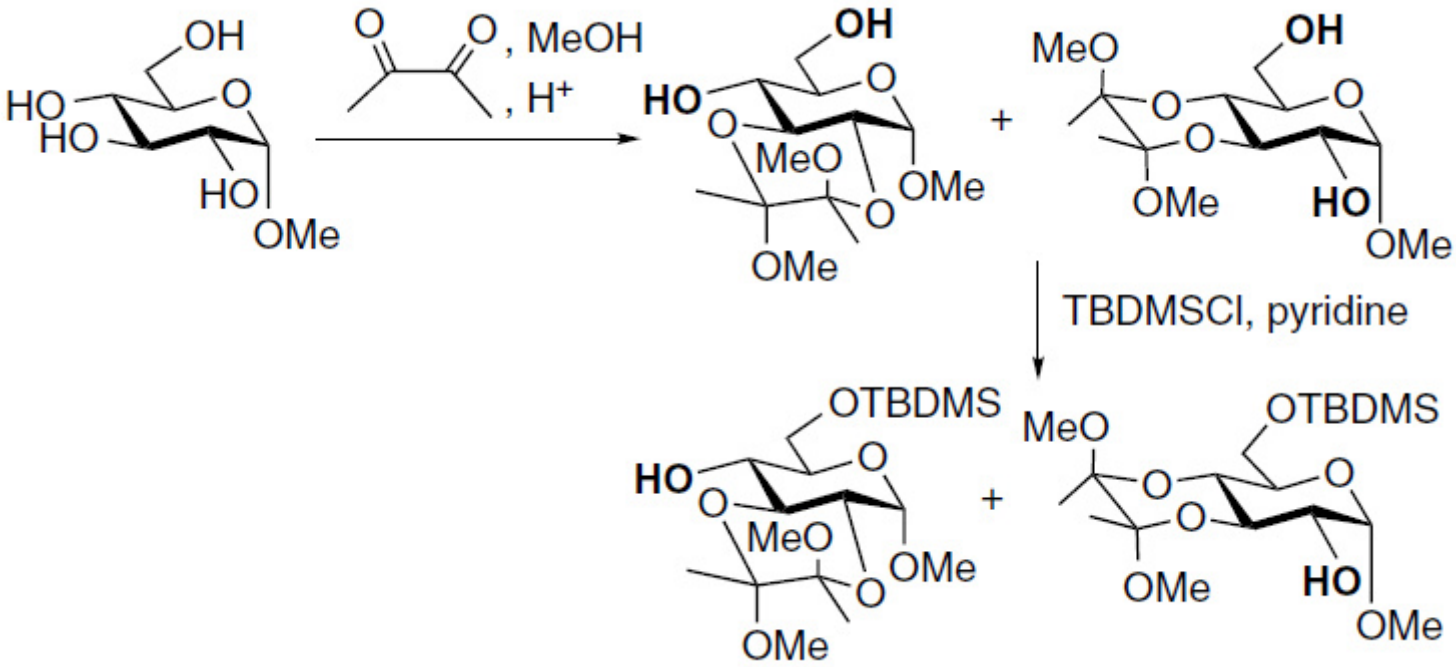
### 2) Le cas des D-mannosides



# 2. Réaction des groupements hydroxyles

## Protection régiosélective des monosaccharides

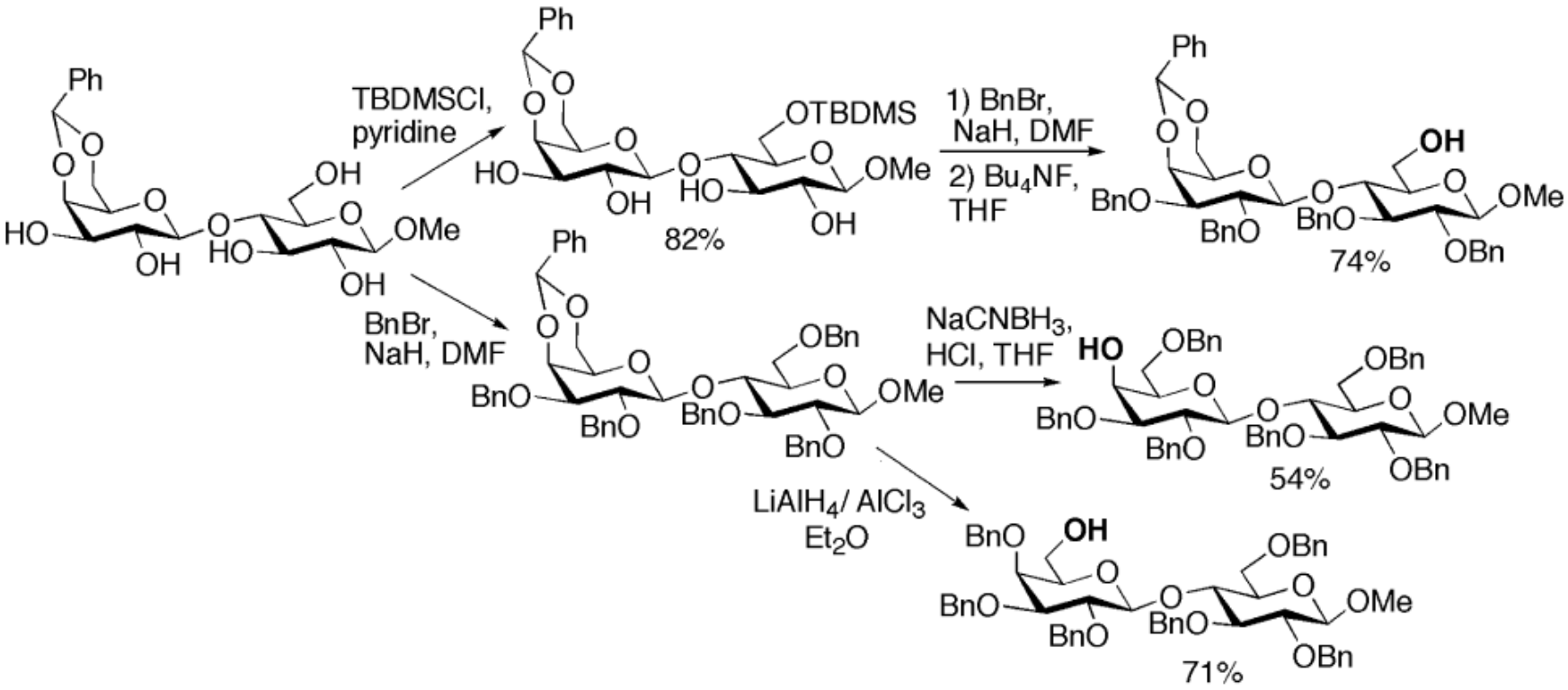
### 3) Le cas des D-glucosides



# 2. Réaction des groupements hydroxyles

## Protection régiosélective des disaccharides

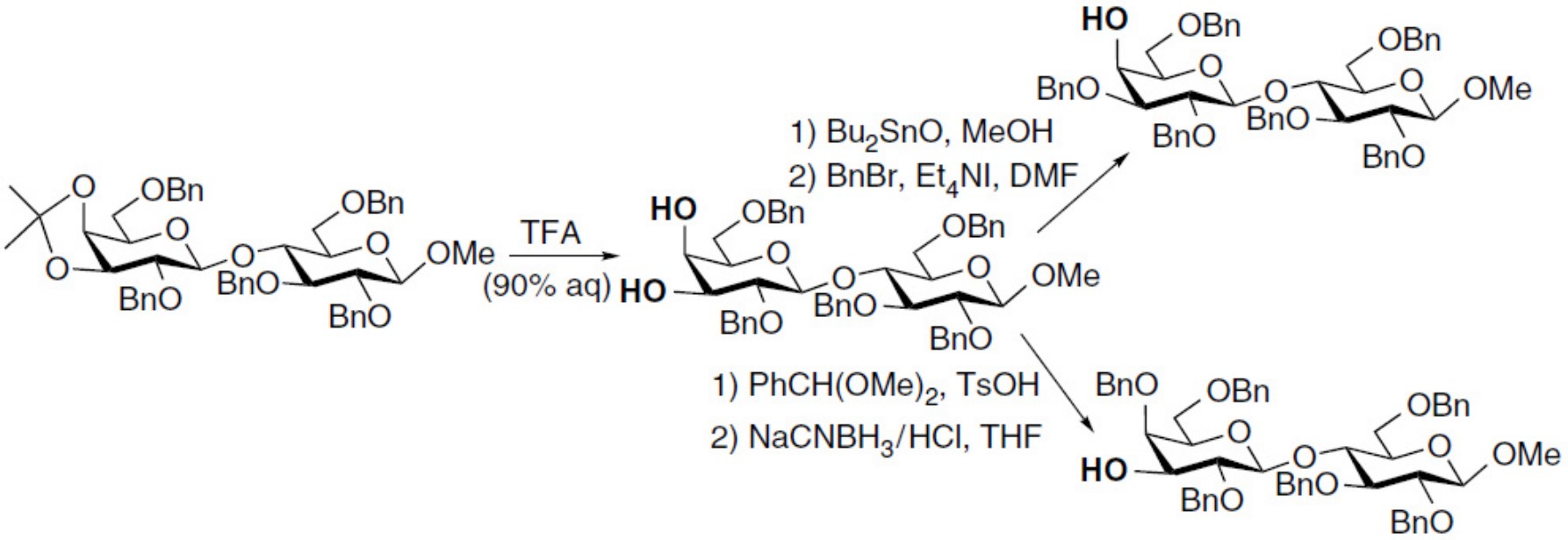
**1) Le cas des D-lactosides [Gal*p*β(1→4)Glc*p*] :** *synthèse des dérivés 6-, 4' et 6'-OH*



# 2. Réaction des groupements hydroxyles

## Protection régiosélective des disaccharides

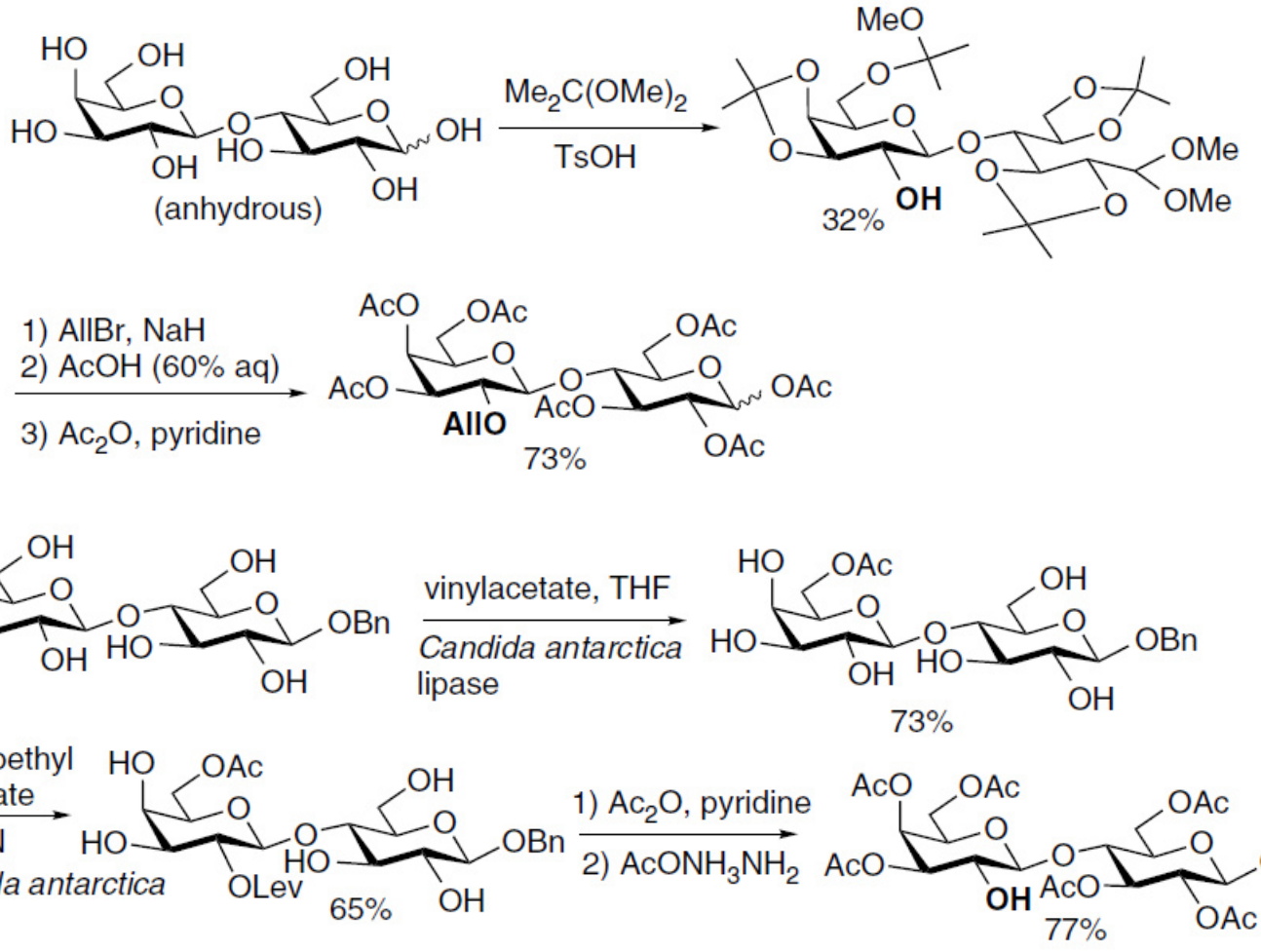
**1) Le cas des D-lactosides [Gal*p*β(1→4)Glc*p*] :** *synthèse des dérivés 4'- et 3'-OH*



# 2. Réaction des groupements hydroxyles

## Protection régiosélective des disaccharides

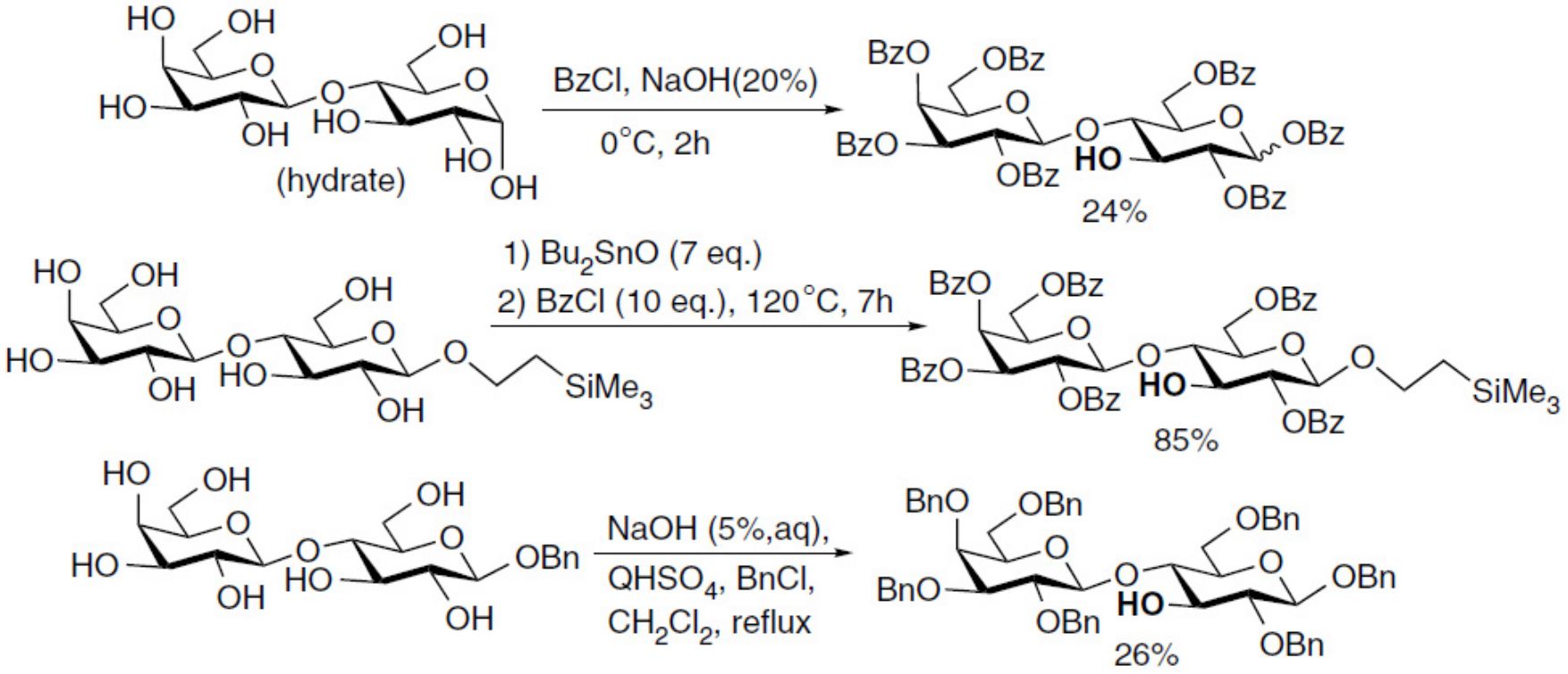
**1) Le cas des D-lactosides [Gal*p*β(1→4)Glc*p*] :** *synthèse de dérivés 2'-OH*



# 2. Réaction des groupements hydroxyles

## Protection régiosélective des disaccharides

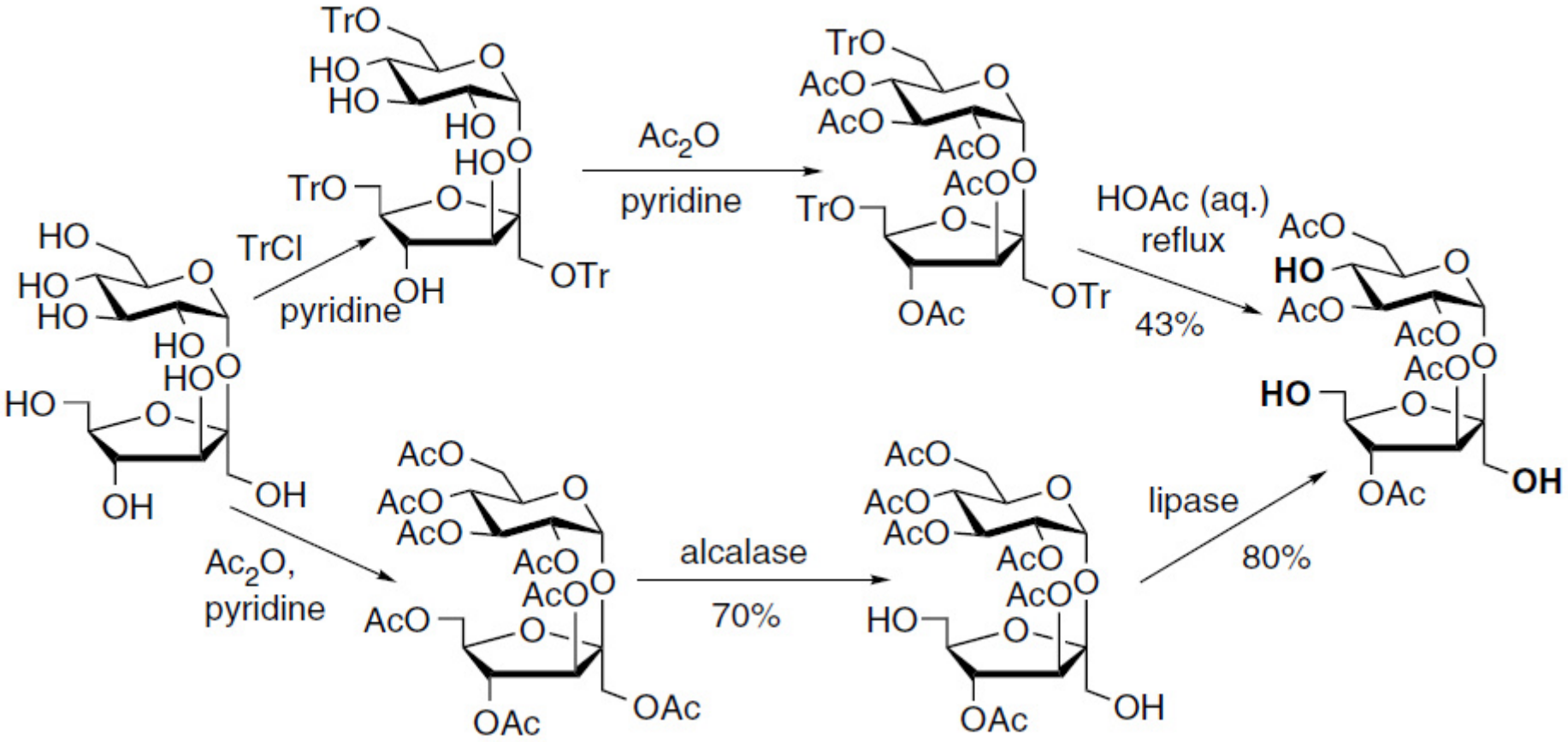
**1) Le cas des D-lactosides [Gal*p*β(1→4)Glc*p*] :** *synthèse de dérivés 3-OH*



# 2. Réaction des groupements hydroxyles

**Protection régiosélective des disaccharides**

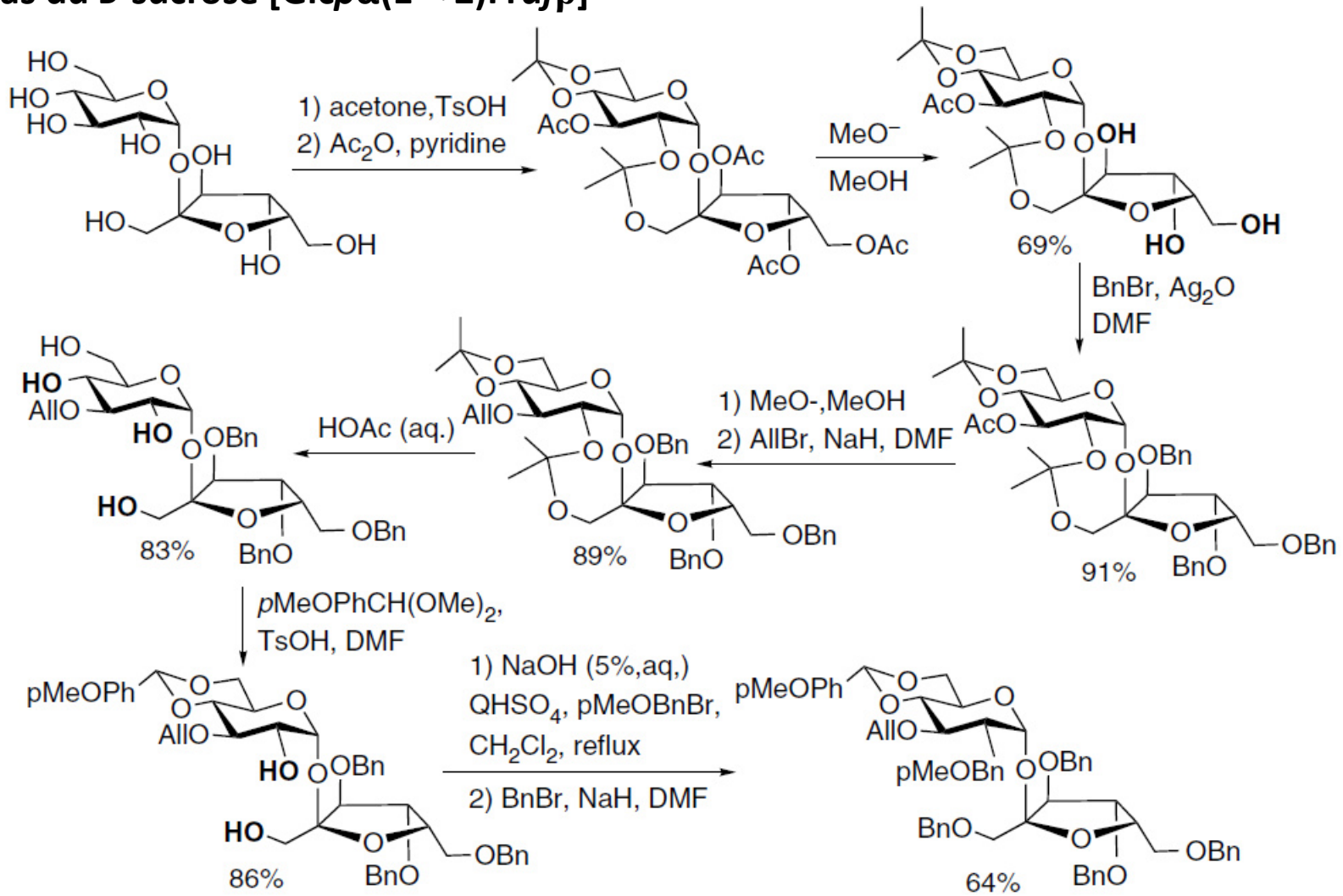
**2) Le cas du D-sucrose [Glc*p*α(1→2)Fru*f*β] :** *synthèse du 2,3,6,3',4'-penta-*O*-acétyl-sucrose*



# 2. Réaction des groupements hydroxyles

## Protection régiosélective des disaccharides

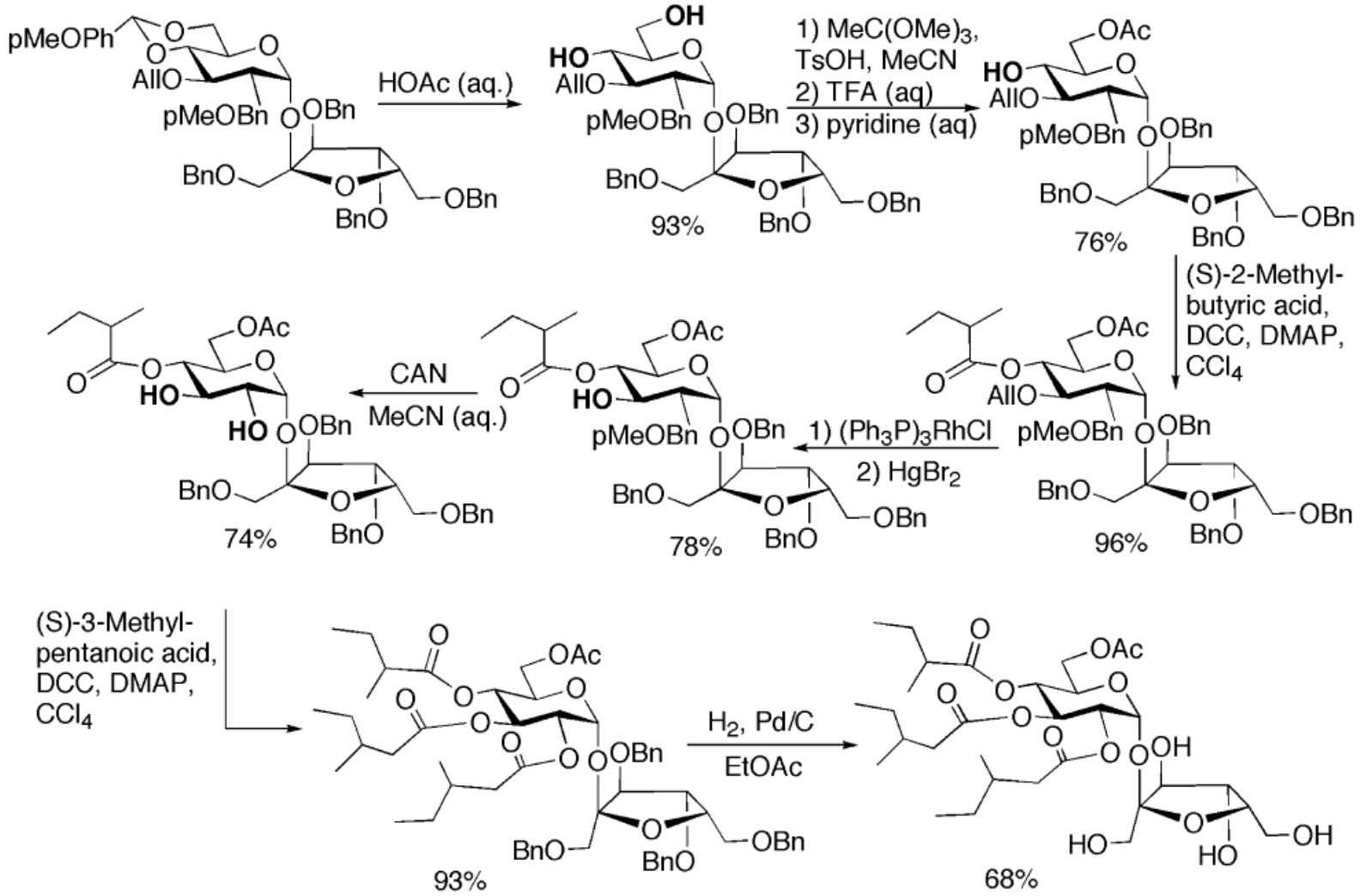
### 2) Le cas du D-sucrose [Glc*p*α(1→2)Fru*f*β]



# 2. Réaction des groupements hydroxyles

## Protection régiosélective des disaccharides

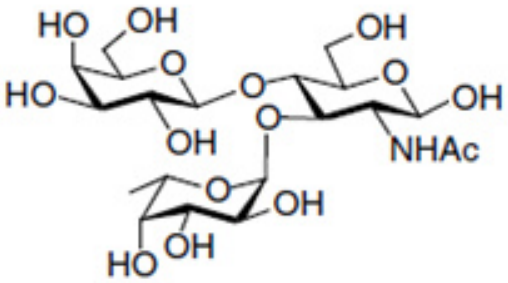
**2) Le cas du D-sucrose [Glc*p*α(1→2)Fru*f*β] :** *synthèse de dérivés partiellement estérifiés*



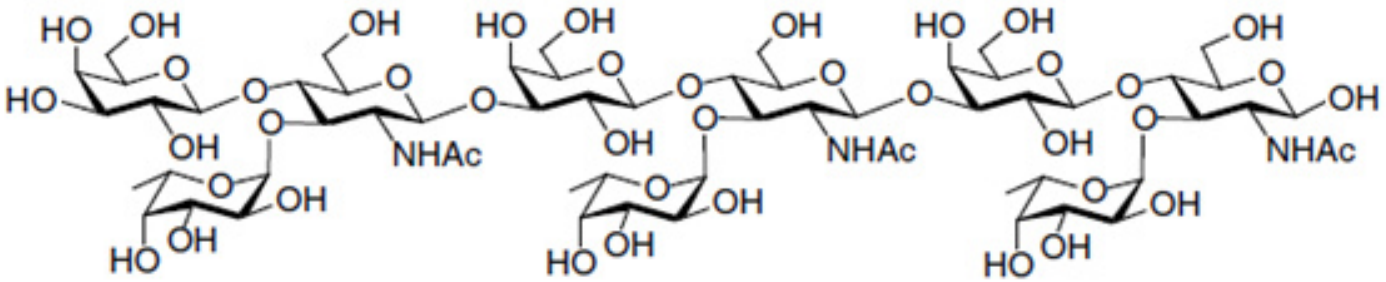
# 2. Réaction des groupements hydroxyles

**Groupements protecteurs pour la synthèse d'oligosaccharides**

- **Exemple pour la synthèse du Lewis-X trimérique**



Lewis-X trisaccharide

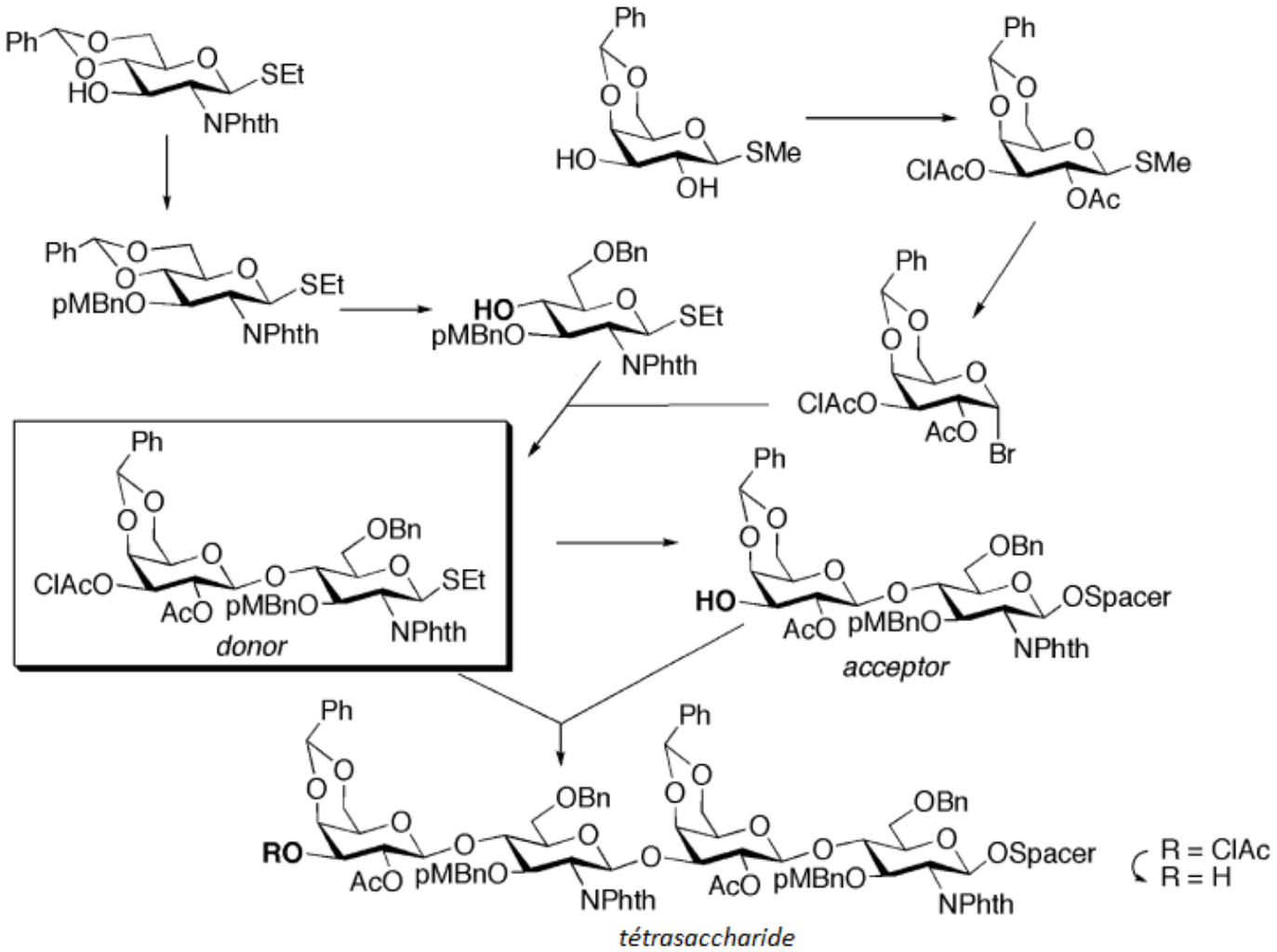


Lewis-X trimérique nonasaccharide

# 2. Réaction des groupements hydroxyles

**Groupements protecteurs pour la synthèse d'oligosaccharides**

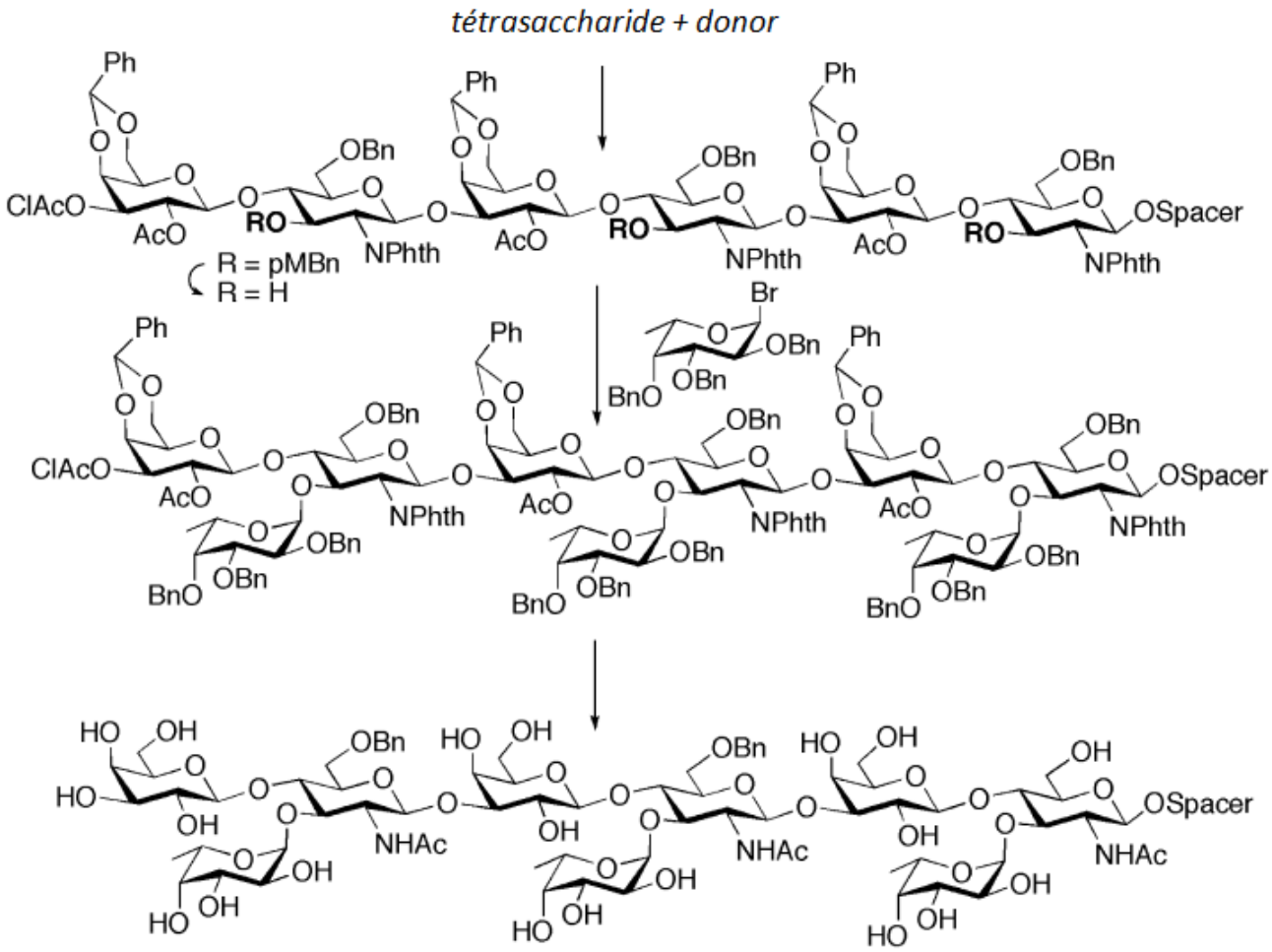
**1) Synthèse du Lewis-X trimérique (Norberg *et al.*)**



# 2. Réaction des groupements hydroxyles

**Groupements protecteurs pour la synthèse d'oligosaccharides**

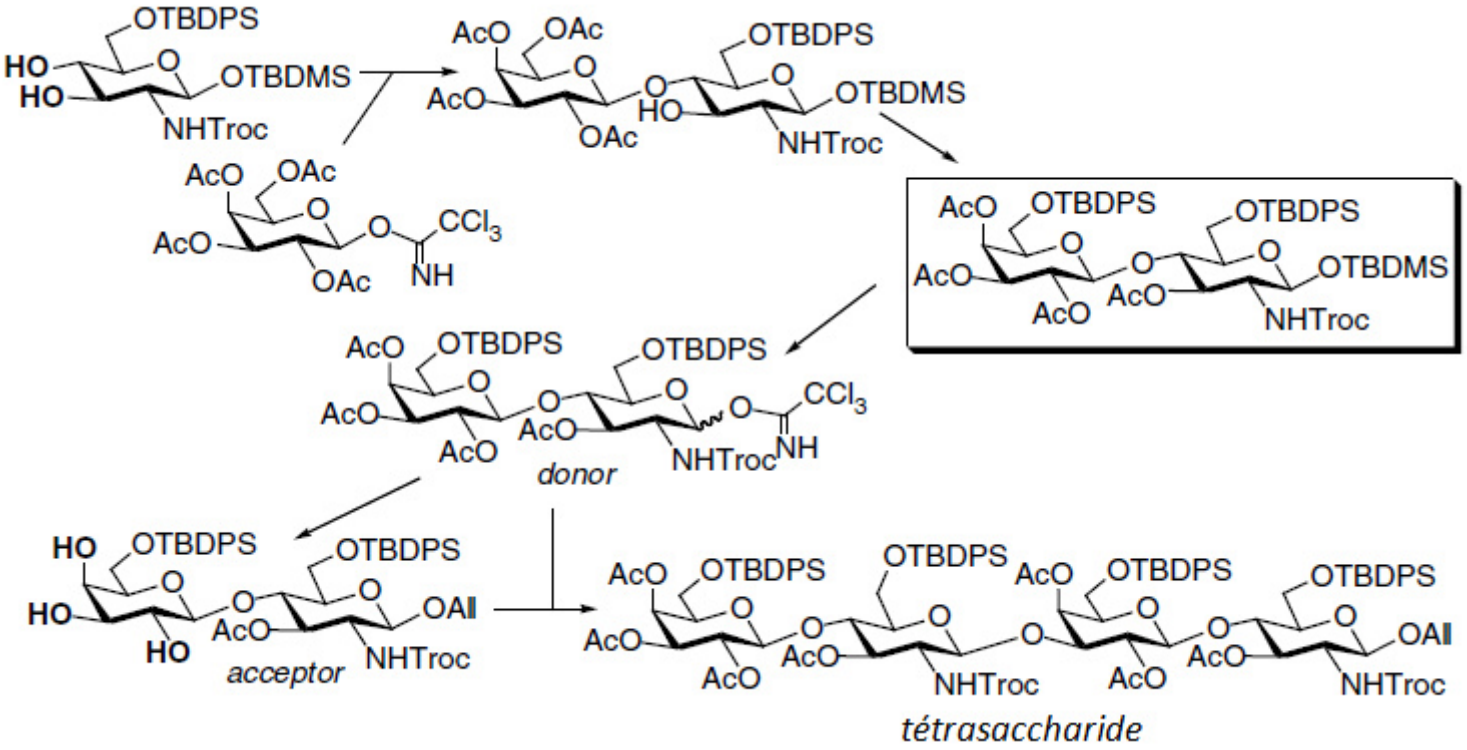
**1) Synthèse du Lewis-X trimérique (Norberg *et al.*)**



# 2. Réaction des groupements hydroxyles

**Groupements protecteurs pour la synthèse d'oligosaccharides**

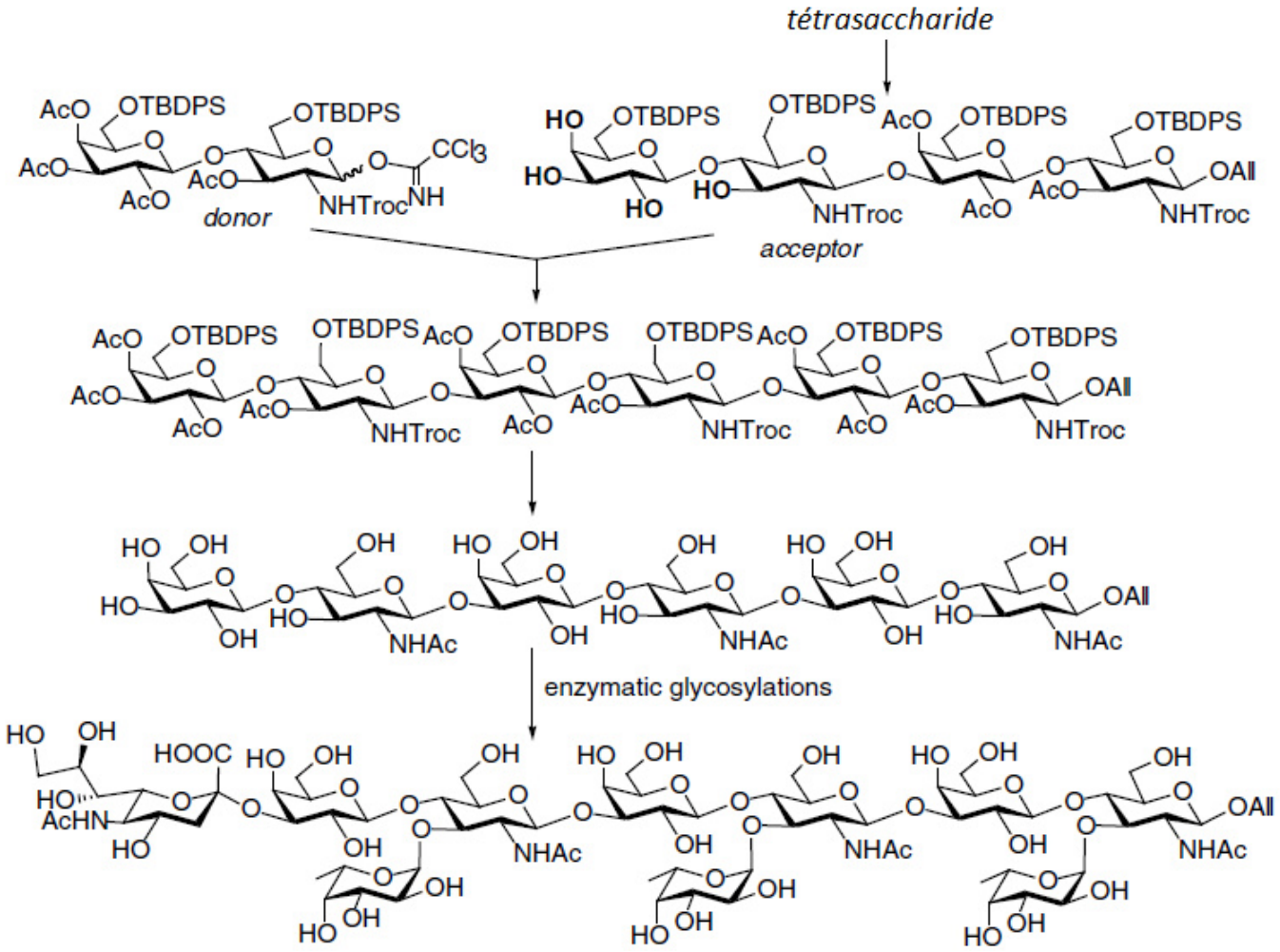
**2) Synthèse du Lewis-X trimérique (Wong *et al.*)**



# 2. Réaction des groupements hydroxyles

**Groupements protecteurs pour la synthèse d'oligosaccharides**

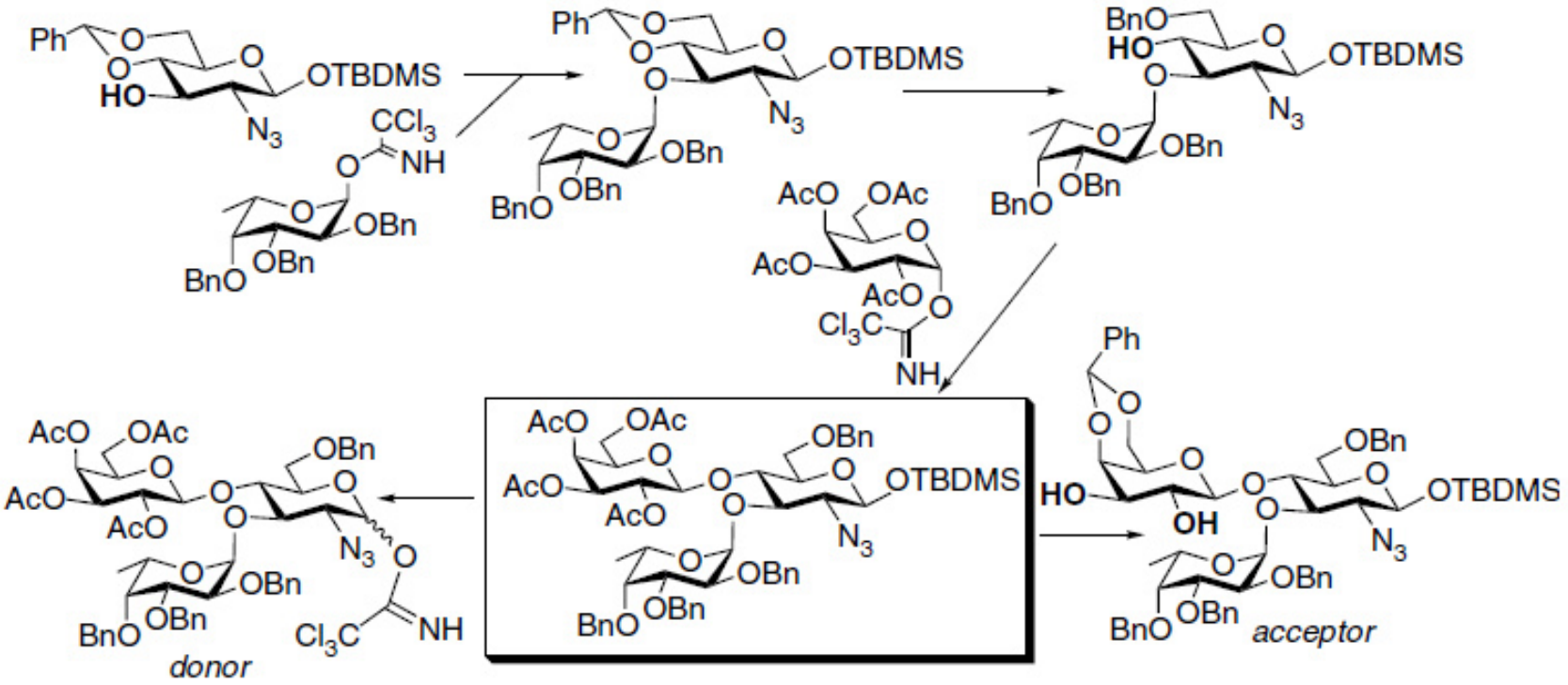
**2) Synthèse du Lewis-X trimérique (Wong *et al.*)**



# 2. Réaction des groupements hydroxyles

**Groupements protecteurs pour la synthèse d'oligosaccharides**

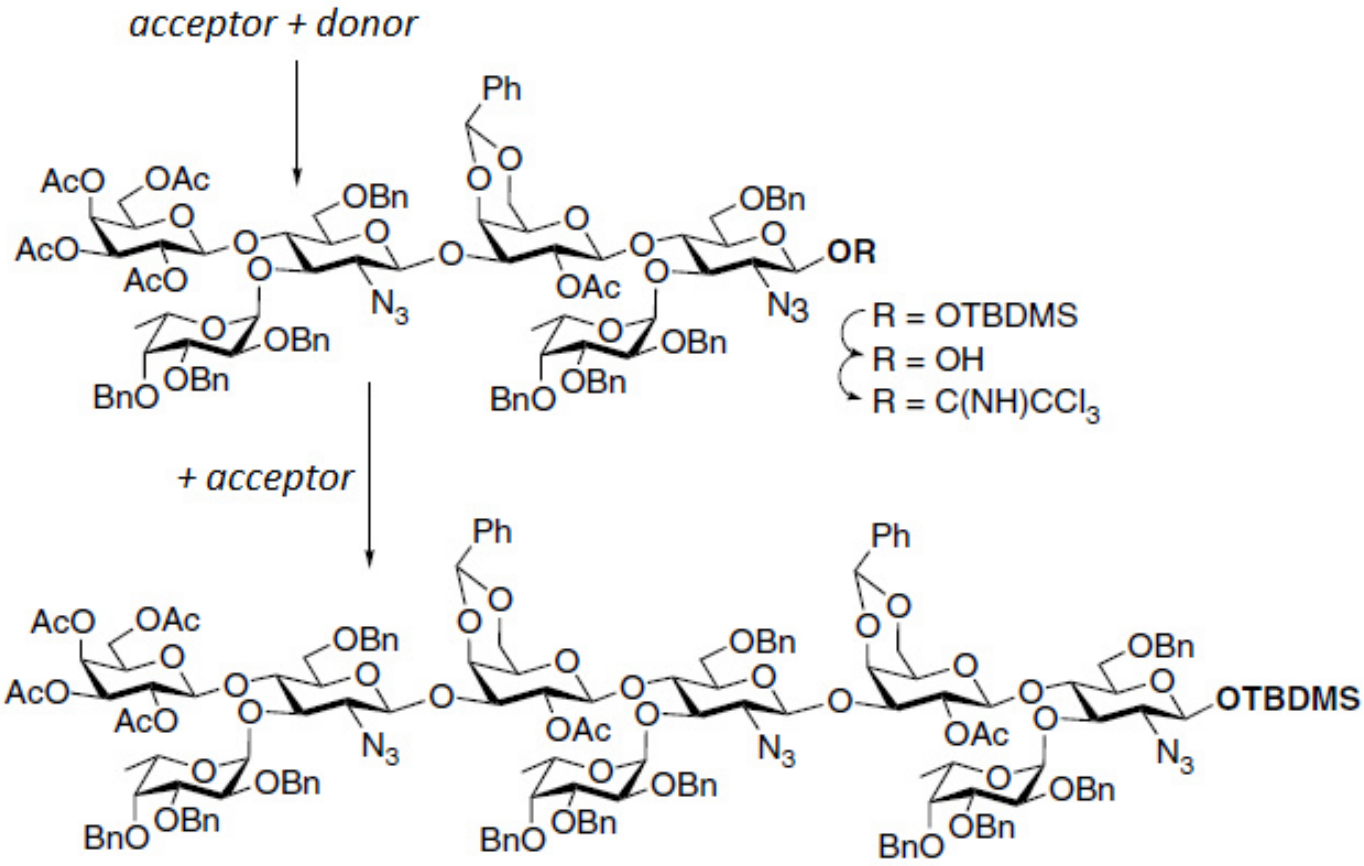
**3) Synthèse du Lewis-X trimérique (Schmidt *et al.*)**



# 2. Réaction des groupements hydroxyles

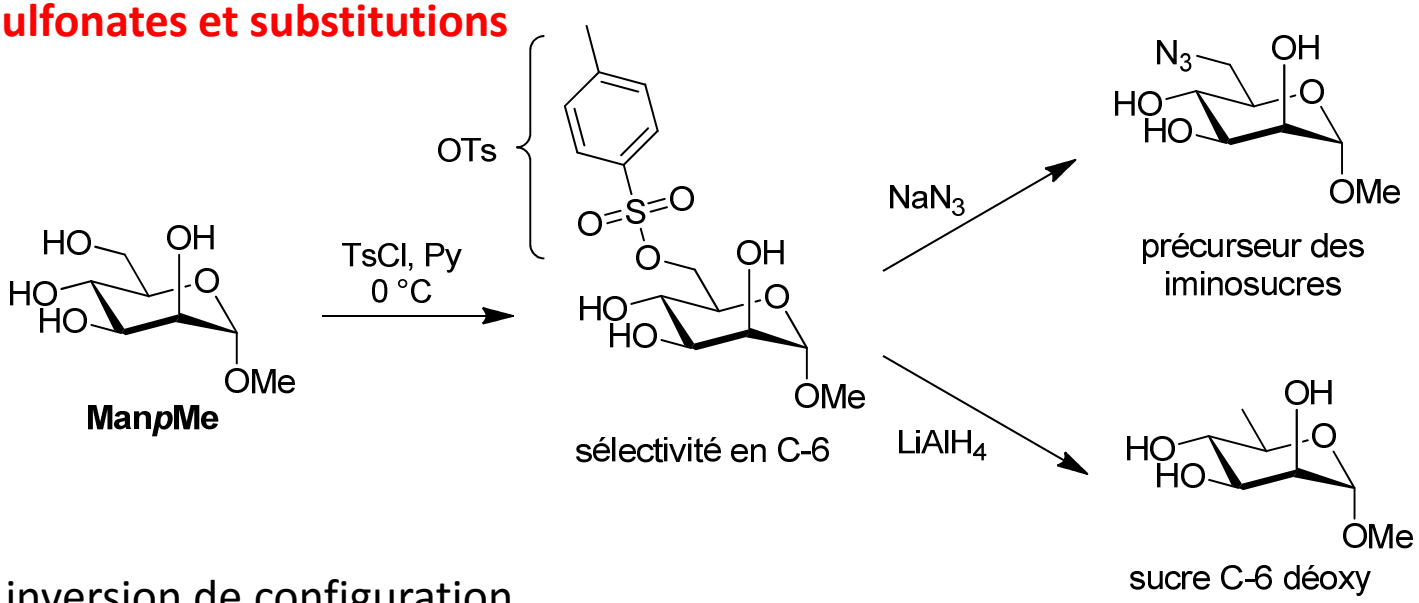
**Groupements protecteurs pour la synthèse d'oligosaccharides**

**3) Synthèse du Lewis-X trimérique (Schmidt *et al.*)**

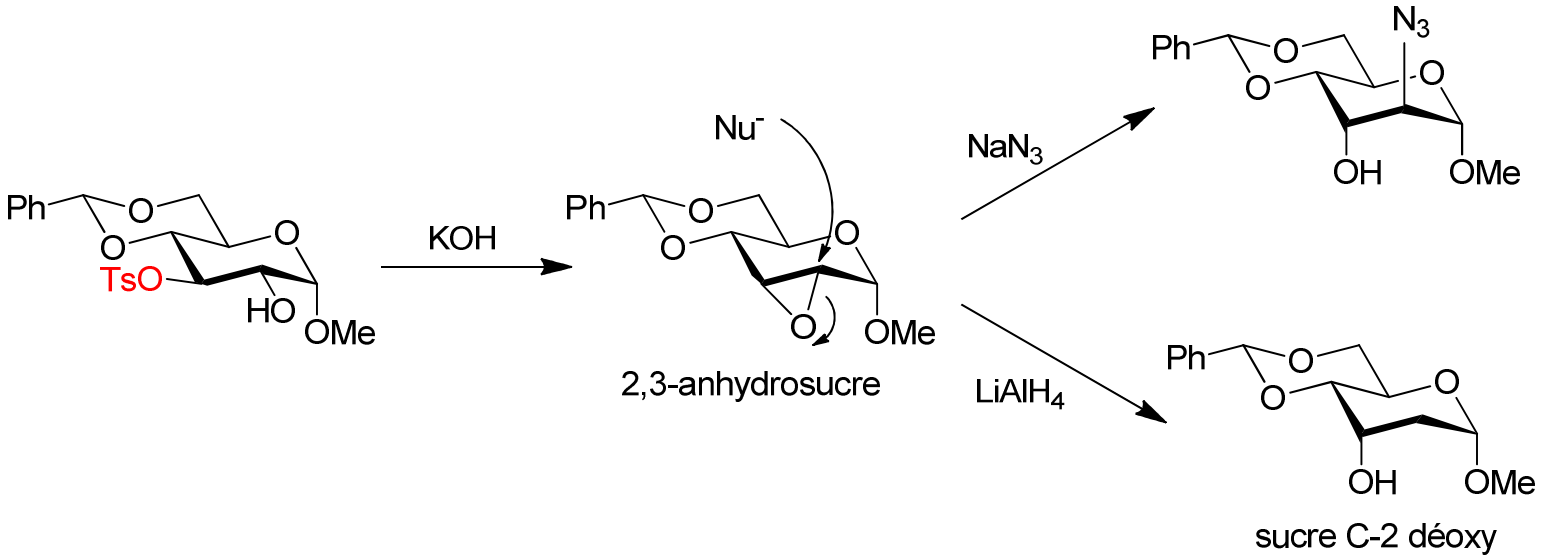


# 2. Réaction des groupements hydroxyles

## Esters de sulfonates et substitutions

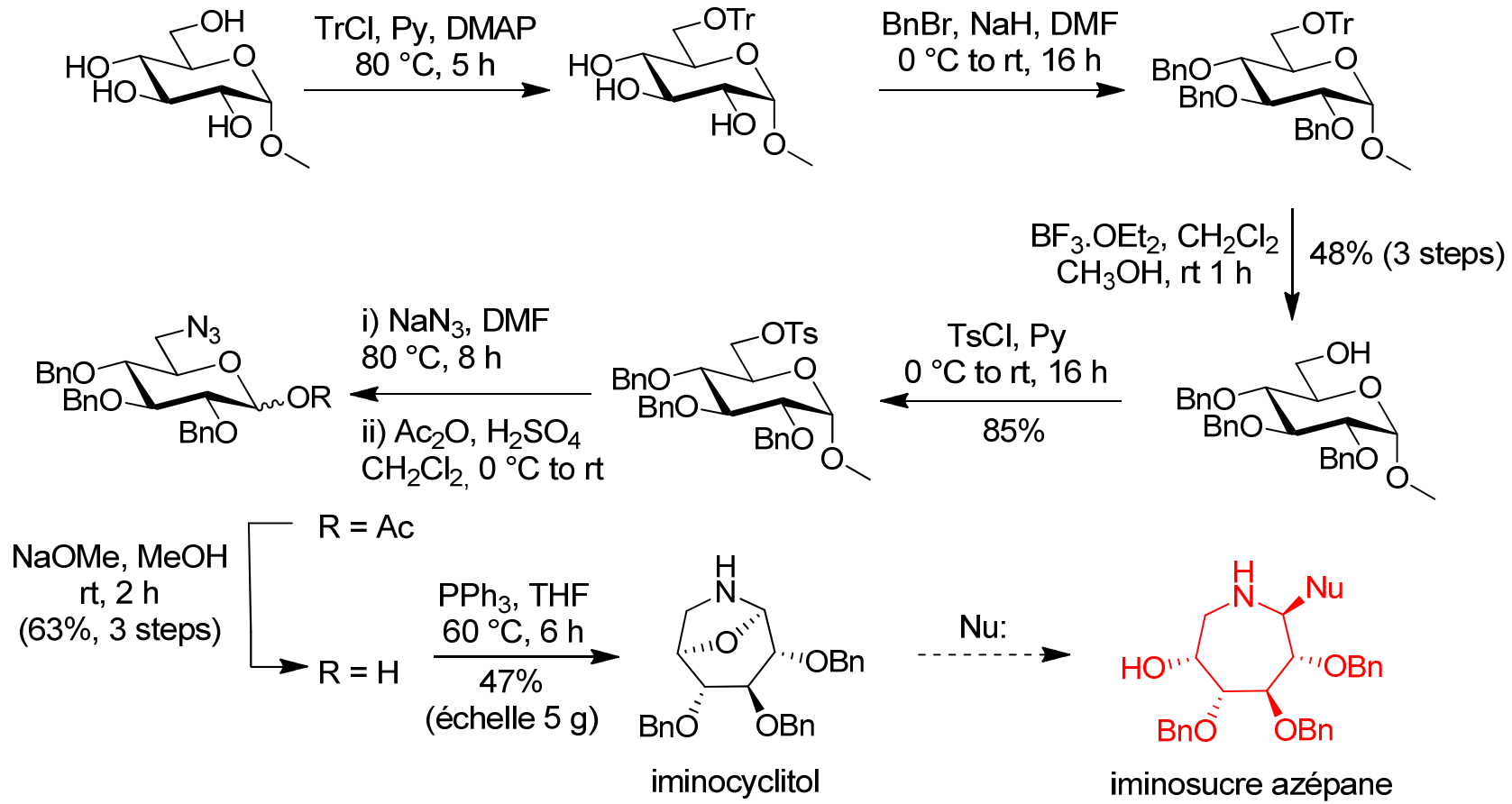



- Double inversion de configuration



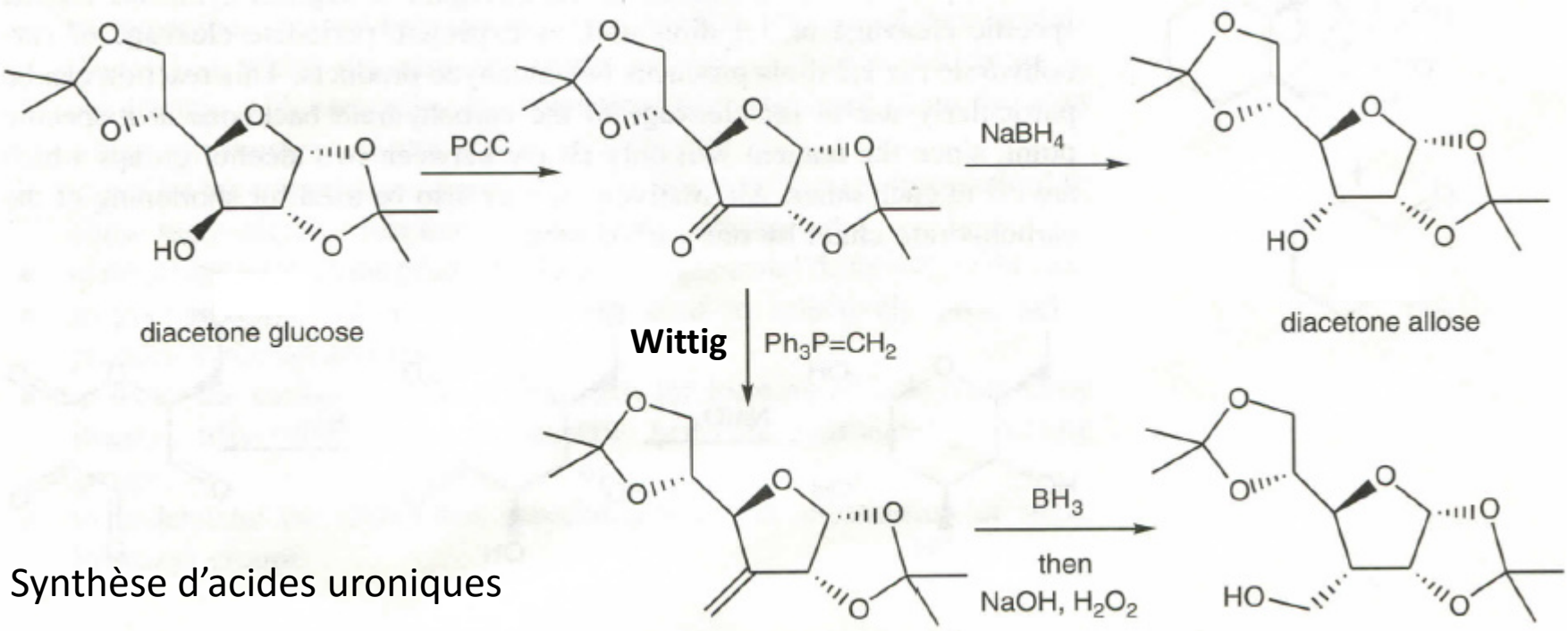
# 2. Réaction des groupements hydroxyles

**Esters de sulfonates et substitutions :** *exemple de synthèse précurseur d'iminosucre*

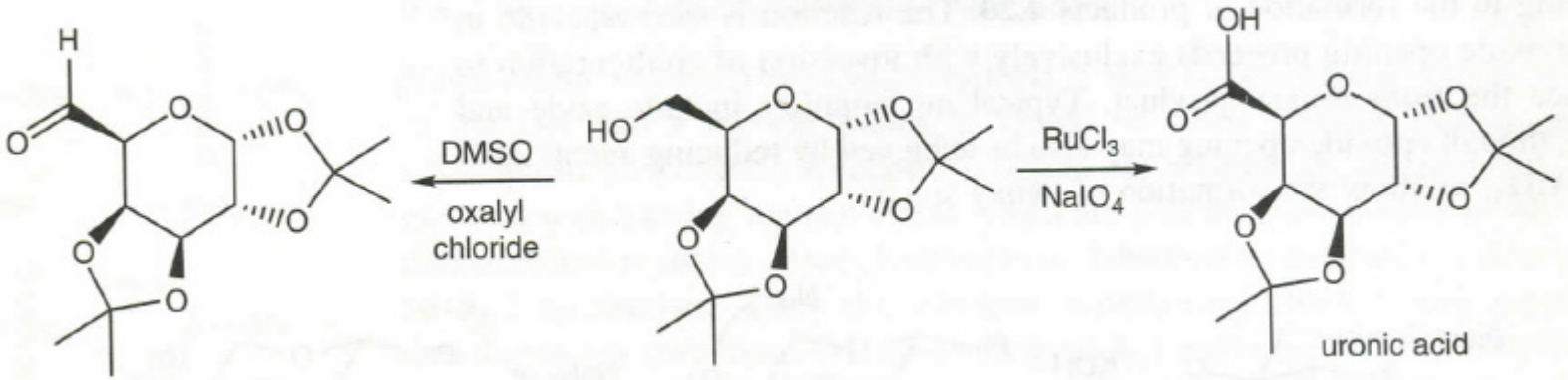


# 2. Réaction des groupements hydroxyles

## Oxydation des monosaccharides



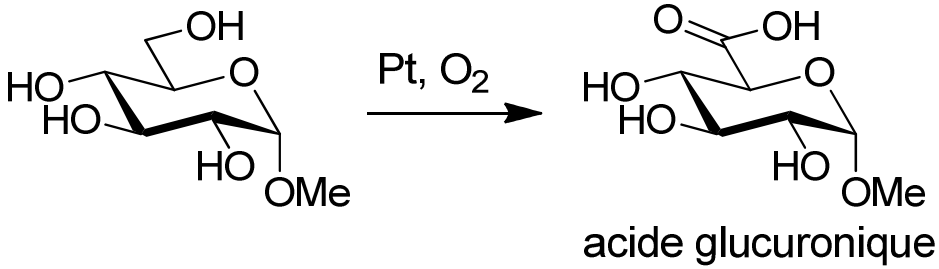

- Synthèse d'acides uroniques



# 2. Réaction des groupements hydroxyles

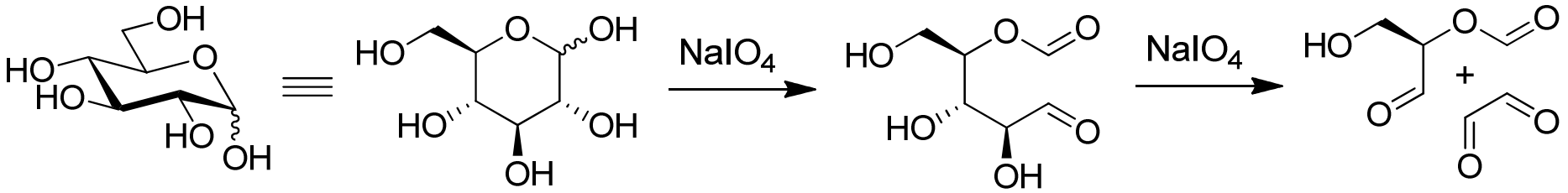
## Oxydation des monosaccharides

- Oxydation régiosélective de la position C-6




acide glucuronique

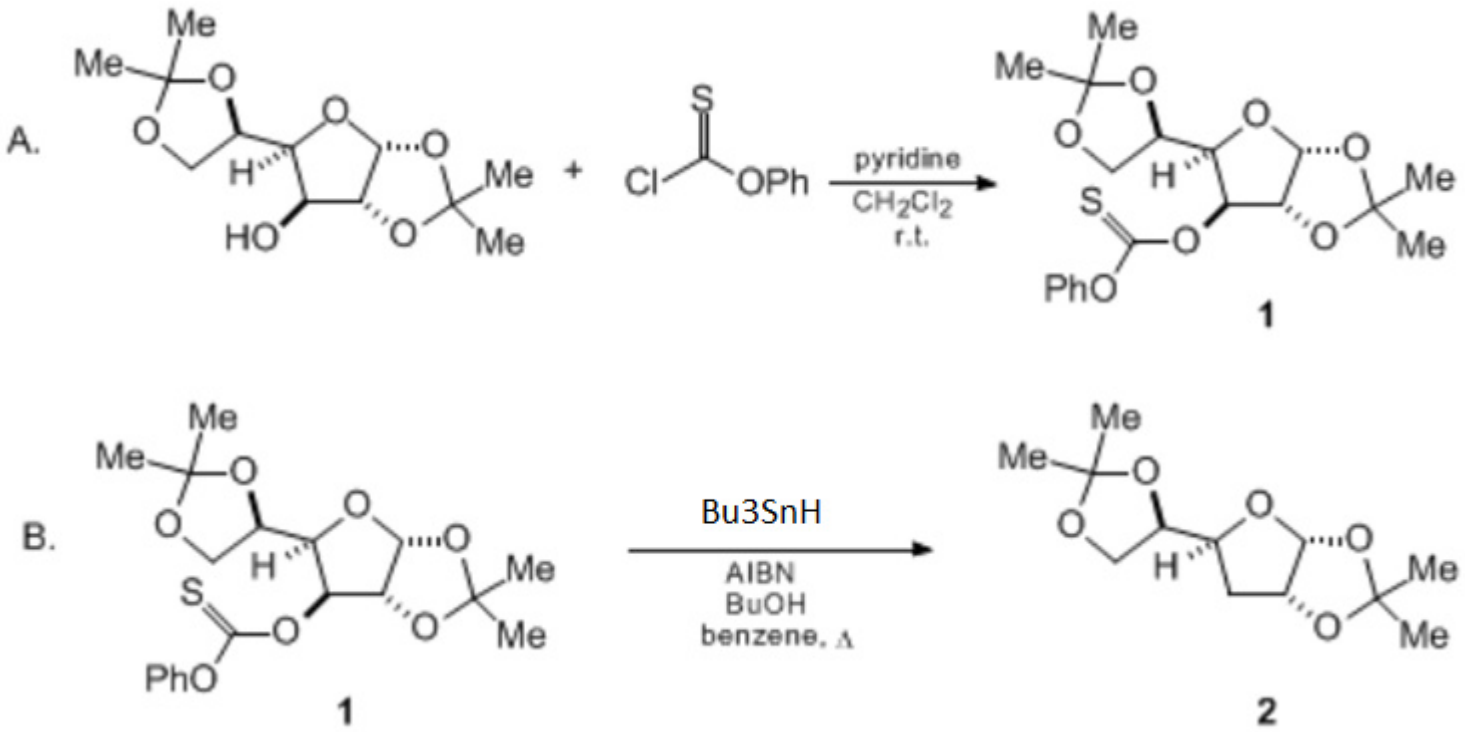
- Clivage des diols 1,2-*cis* à l'acide périodique ($HIO_4$)



# 2. Réaction des groupements hydroxyles

**Réduction des monosaccharides :** *Barton-McCombie radical deoxygenation reaction*

- Synthèse de C-3 déoxy sucres dérivés de xanthates (**1**)



Sir D. H. R. Barton
Nobel Prize 1969
(1918-1998)

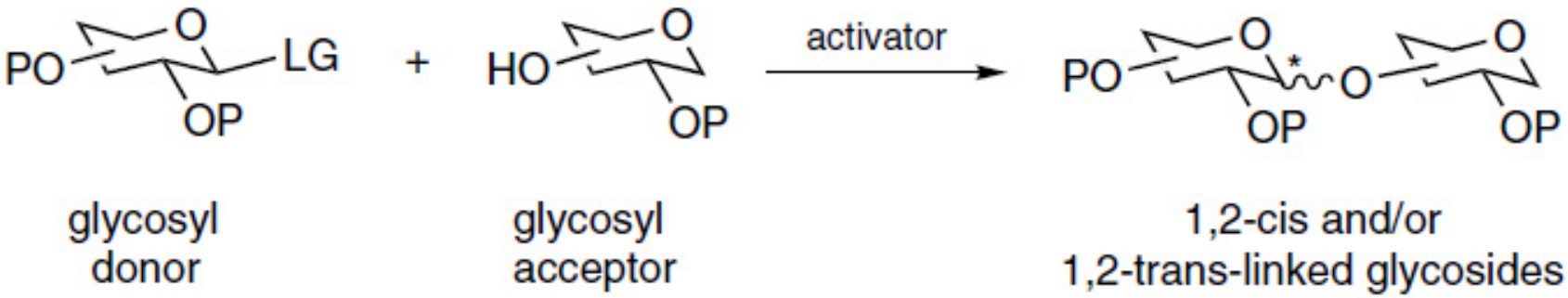
# 3. Méthode de glycosylation chimique

## Sommaire de la 3e partie

- Accepteurs, donneurs, promoteurs, solvants, etc.
- Glycosylations stéréosélectives
- Groupements participants
- Glycosyls fluorides
- Glycosyls bromides
- Glycosyls iodides
- Thioglycosides
- Trichloroacétimidates (TCA)
- *N*-Phényltrifluoroacétimidates (PTFA)

# 3. Méthodes de glycosylation chimique

## Généralités de la réaction de glycosylation




**P = Groupements protecteurs** (participant ou non en position 2)

**LG = Groupement activant à la position anomérique** (type de glycosyl donneur)

**Activator = Promoteur de la réaction de glycosylation** (souvent acide de Lewis catalytique)

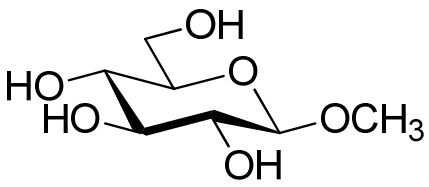
**Glycosyl donor =** Electrophile (sucre activé)

**Glycosyl accepteur =** Nucléophile (sucre OH)

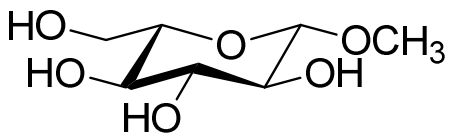
**Glycosides 1,2-*trans* (β-D ou α-L) ou 1,2-*cis* (α-D ou β-L)**

# 3. Méthodes de glycosylation chimique

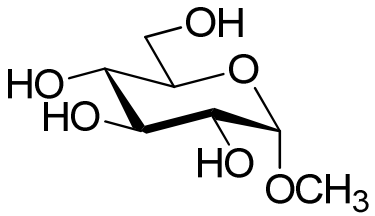
***Cis* et *trans* glycosides**



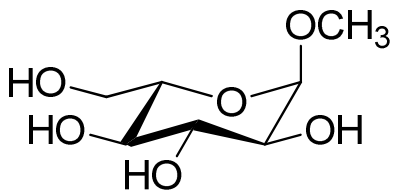

β-D-Glc*p*



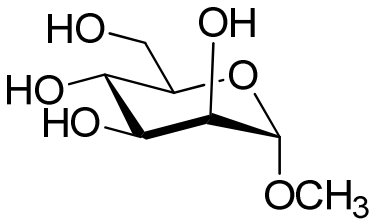

β-L-Glc*p*



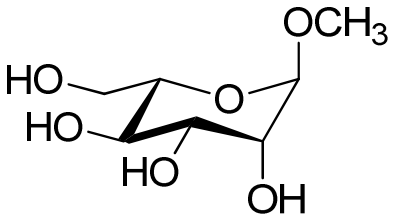

α-D-Glc*p*



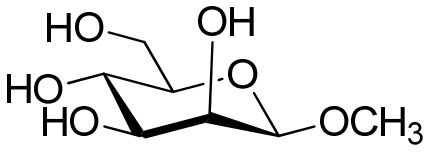

α-L-Glc*p*



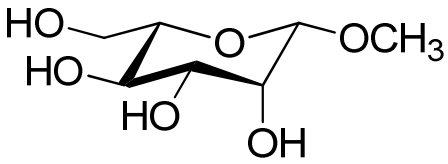

α-D-Man*p*




α-L-Man*p*




β-D-Man*p*




β-L-Man*p*

**1,2-*trans*-glycosides**

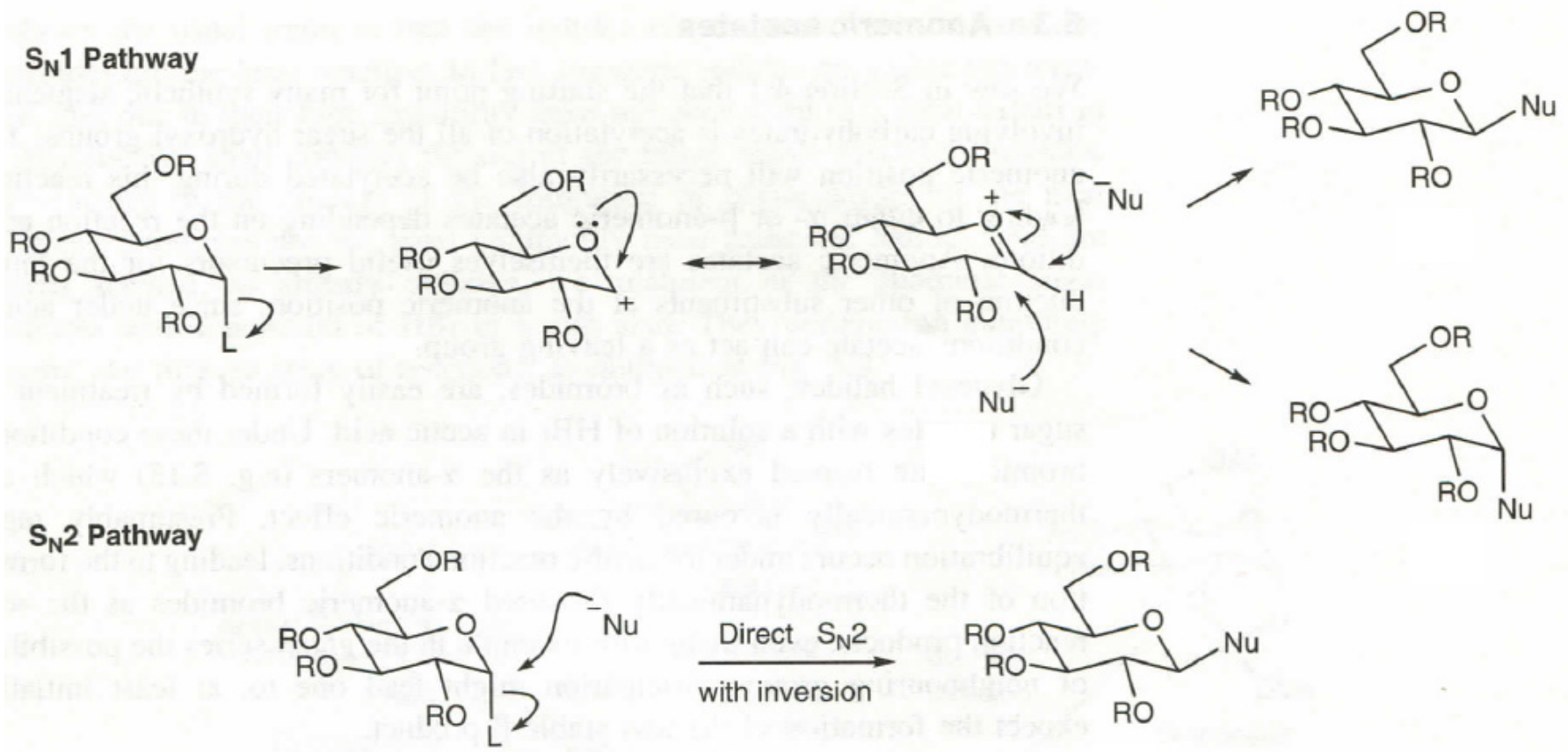
**1,2-*cis*-glycosides**

- Synthèse des 1,2-*trans*-glycosides est facilitée par l'utilisation de groupements participants en C-2.

- Synthèse des 1,2-*cis*-glycosides est plus difficile et nécessite d'autres approches.

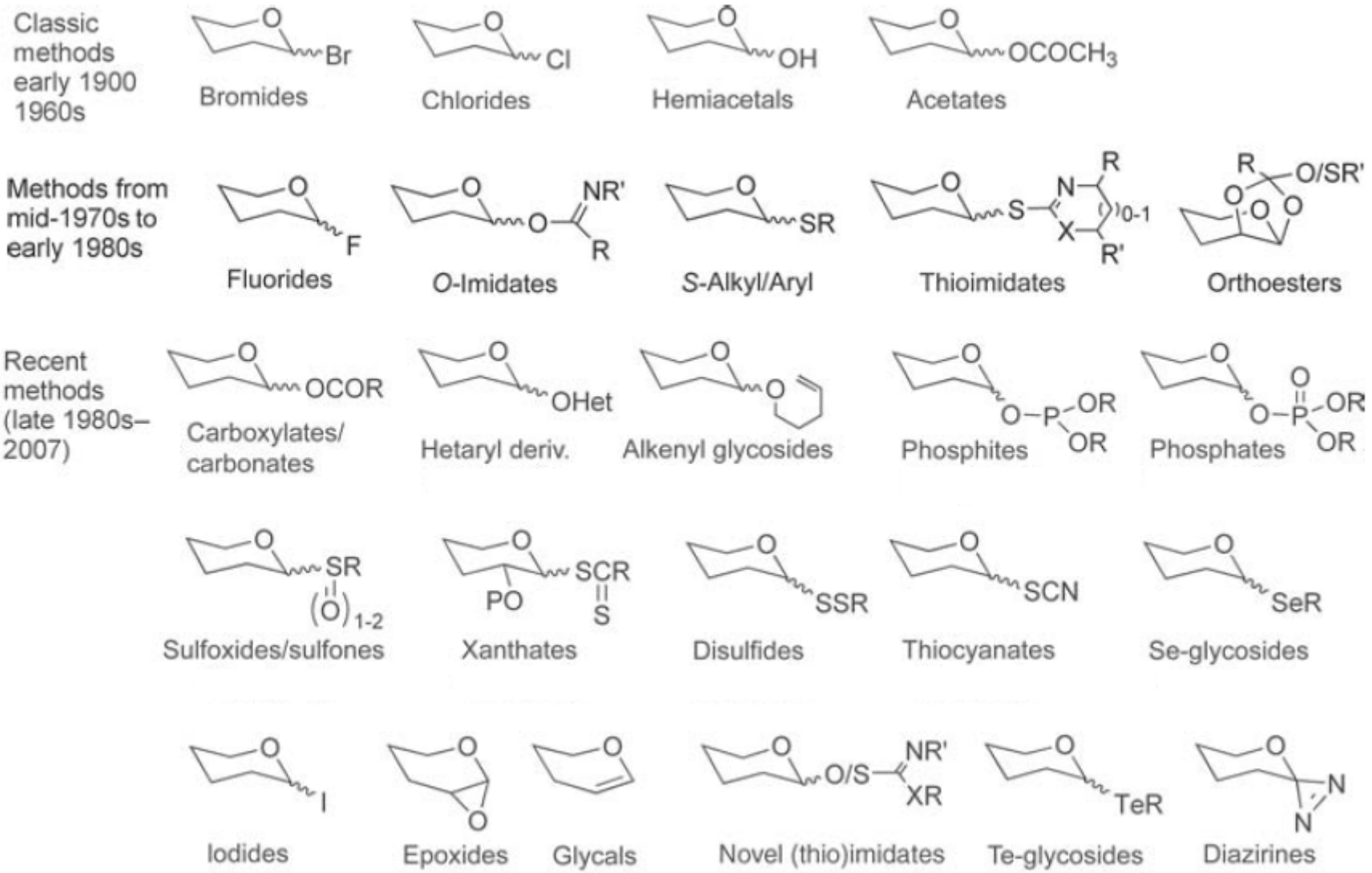
# 3. Méthodes de glycosylation chimique

**Mécanisme de la réaction de glycosylation : $S_N1$ ou $S_N2$ ?**



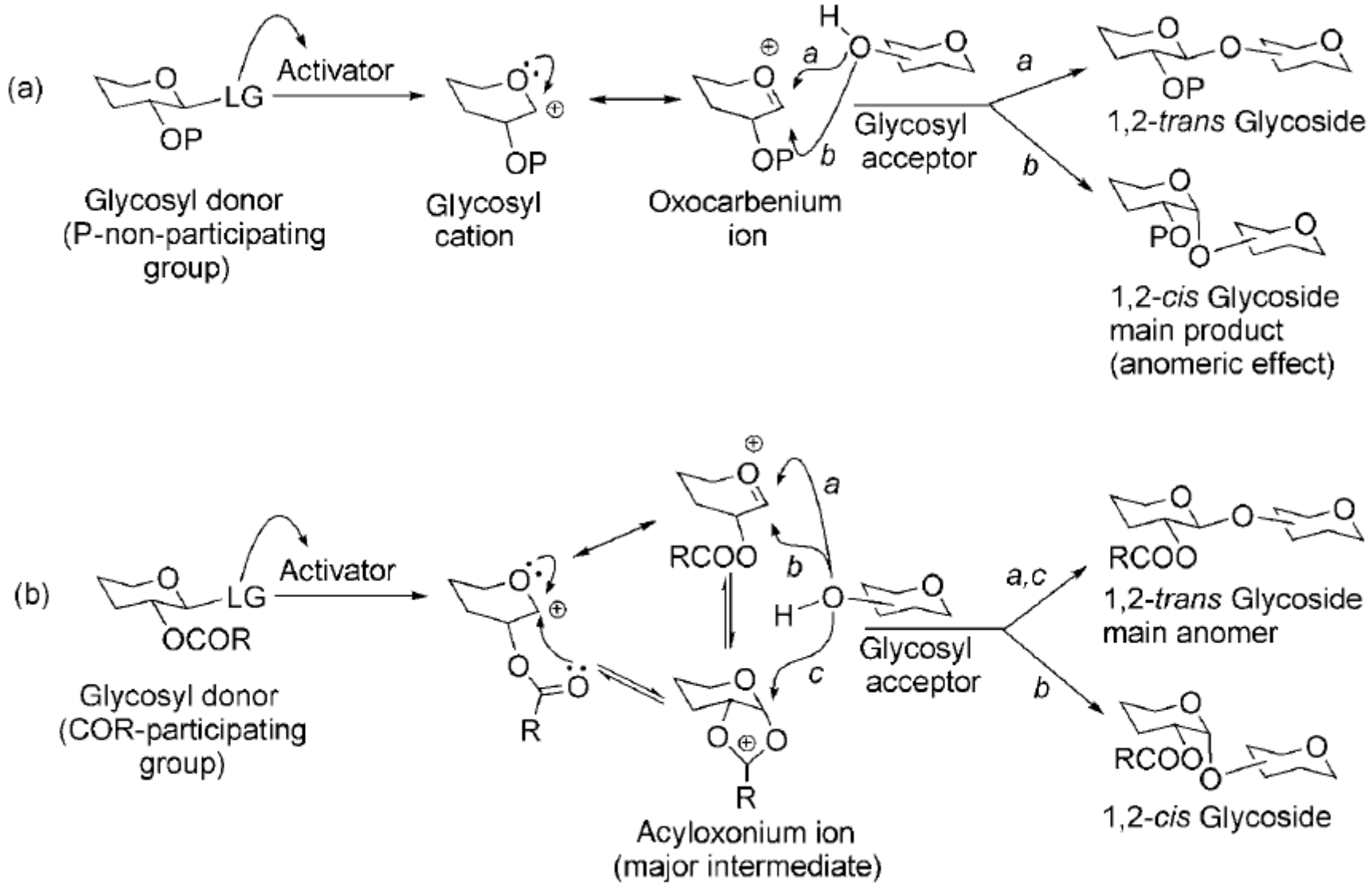
# 3. Méthodes de glycosylation chimique

## Diversité des glycosyls donneurs



# 3. Méthodes de glycosylation chimique

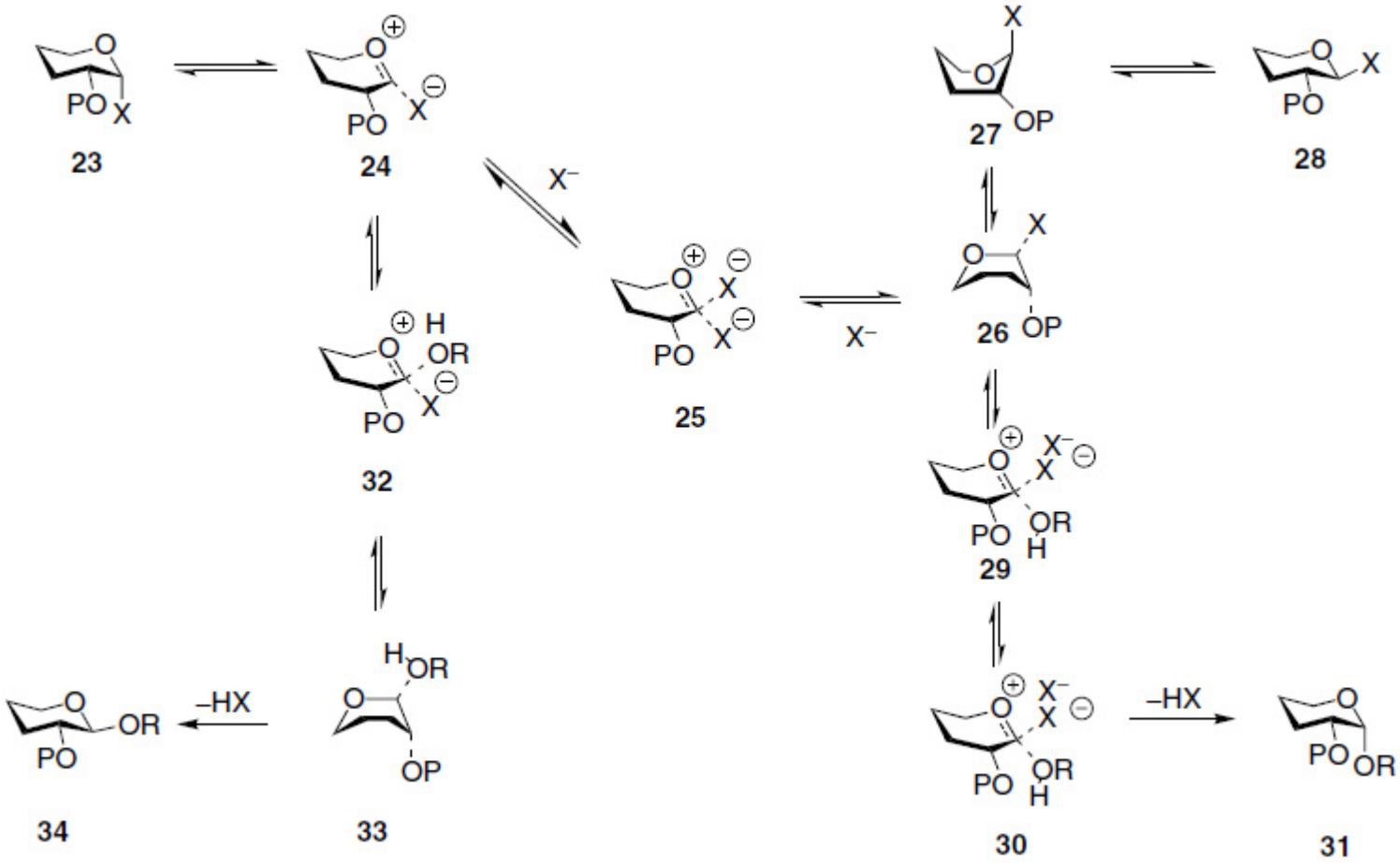
**Glycosylation avec (b) ou sans (a) groupements participants**

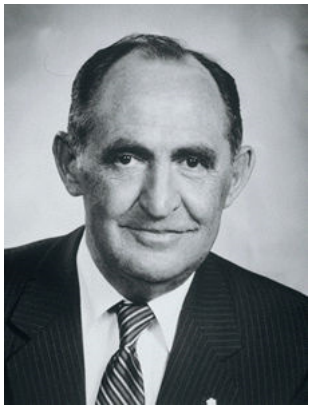


# 3. Méthodes de glycosylation chimique

**Glycosylation sans groupements participants en présence de $Bu_4NBr$ ($X^-$) :**

- Equilibre entre α-Br (**23**) et β-Br (**28**) après ajout catalytique de $Br^-$
- Energie < entre **28** et *cis*-glycoside (**31**) qu'entre **23** et *trans*-glycoside (**34**)
- Favorise la formation du *cis*-glycoside (**31**)



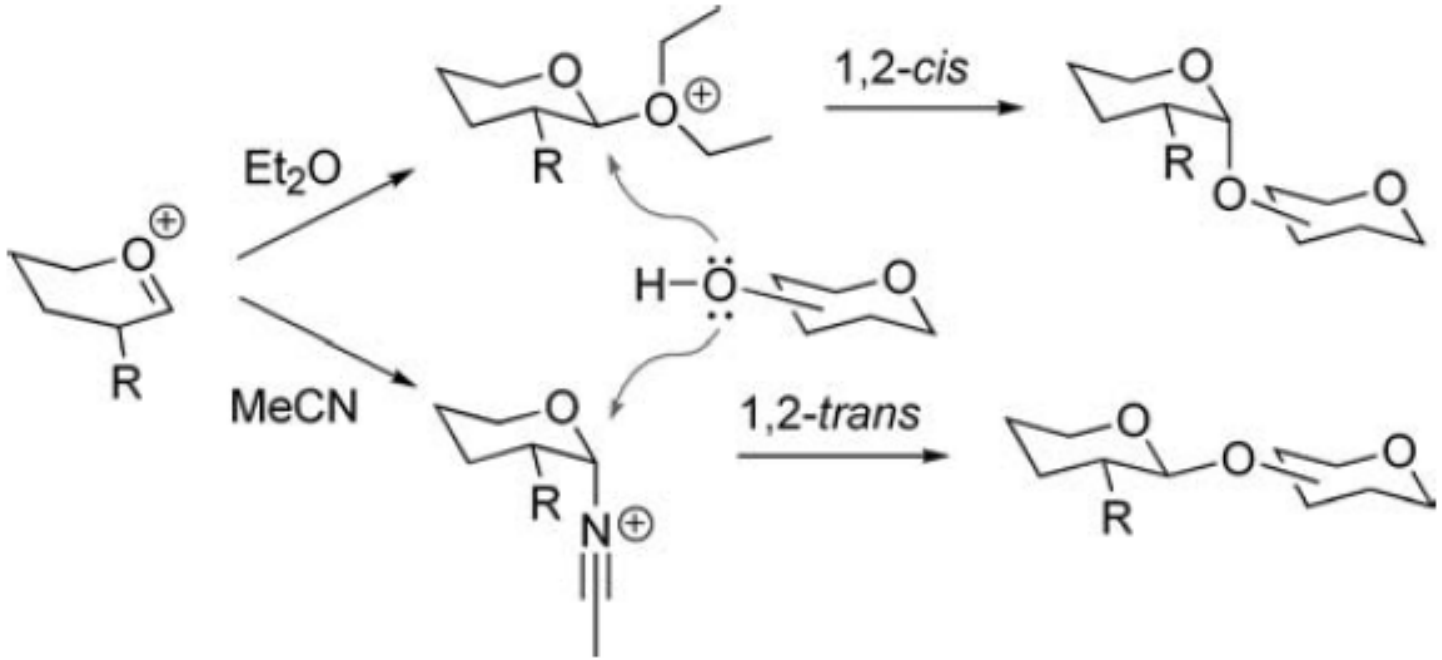
Raymond Lemieux
« Sugar » Ray

# 3. Méthodes de glycosylation chimique

**Influence du solvant pour les glycosylations sans groupements participants :**

- Solvants polaires favorisent la formation de glycosides équatoriaux (β-D ou α-L)
- Solvants non-polaires ($CH_2Cl_2$ ou toluène) favorisent glycosides axiaux (α-D ou β-L)

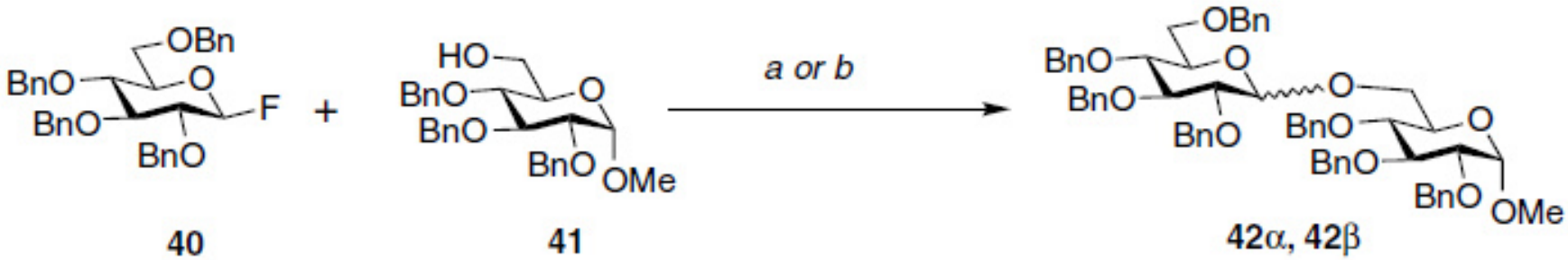
- Solvants avec effets participants :
  - $Et_2O$ et THF participe en équatorial et favorise axial (1,2-*cis*-glycosides)
  - $CH_3CN$ participe en axial (cation nitrilium) et favorise équatorial (1,2-*trans*-glycosides)



# 3. Méthodes de glycosylation chimique

**Influence du promoteur pour les glycosylations sans groupements participants :**

- Exemple avec inversion complète de stéréosélectivité !

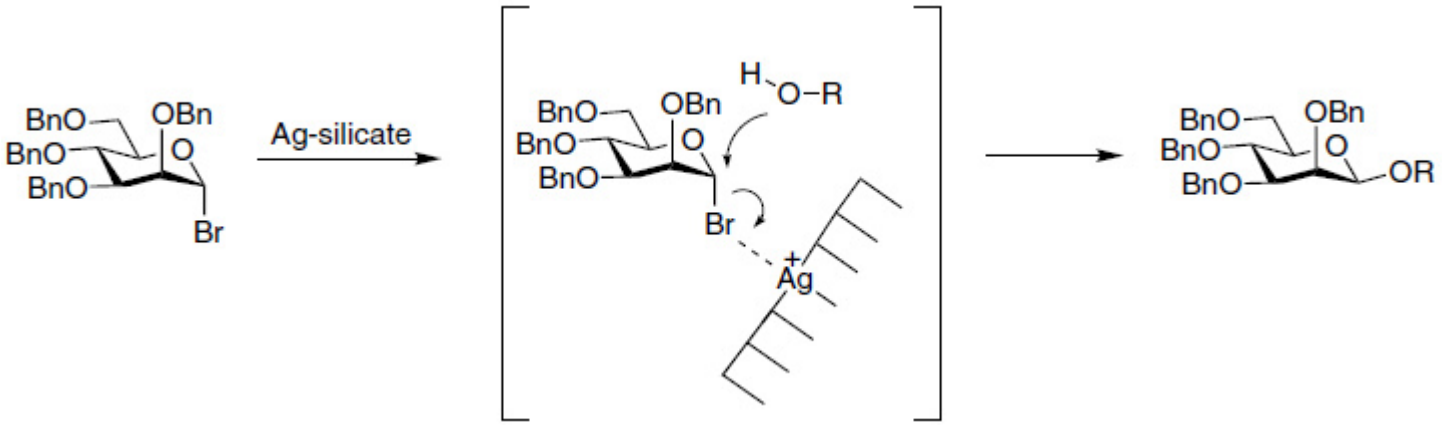



**40** **41** **42α, 42β**

*a)* $HClO_4$, $Et_2O$, RT — *a)* 98%, α : β = 92 : 8

*b)* $HB(C_6F_5)_4$, BTF-*t*BuCN, 0°C — *b)* 99%, α : β = 7 : 93

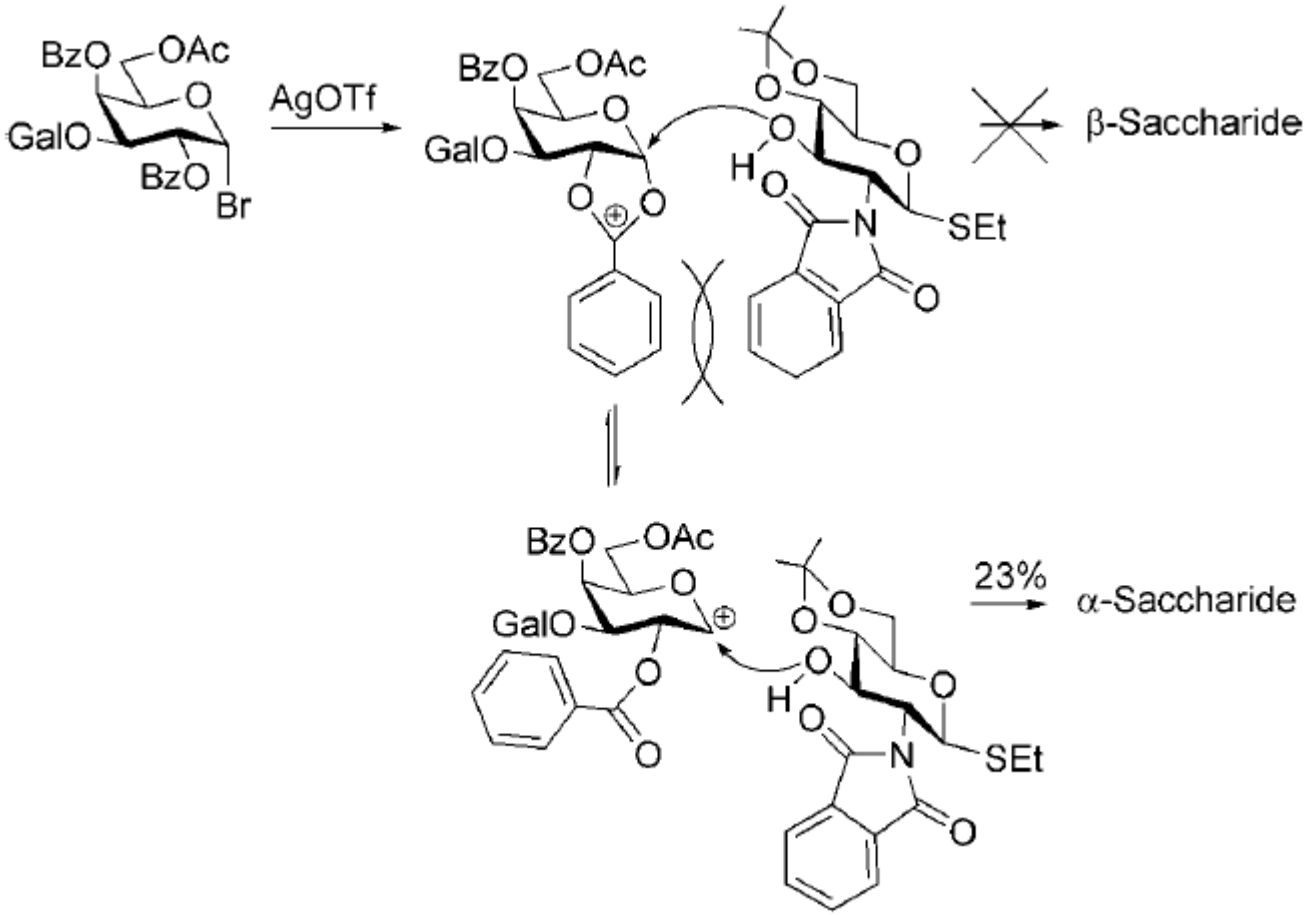
- Utilisation de catalyseur hétérogène (silicate d'argent) : mécanisme $S_N2$



# 3. Méthodes de glycosylation chimique

**Encombrement stérique pour les glycosylations avec groupements participants :**

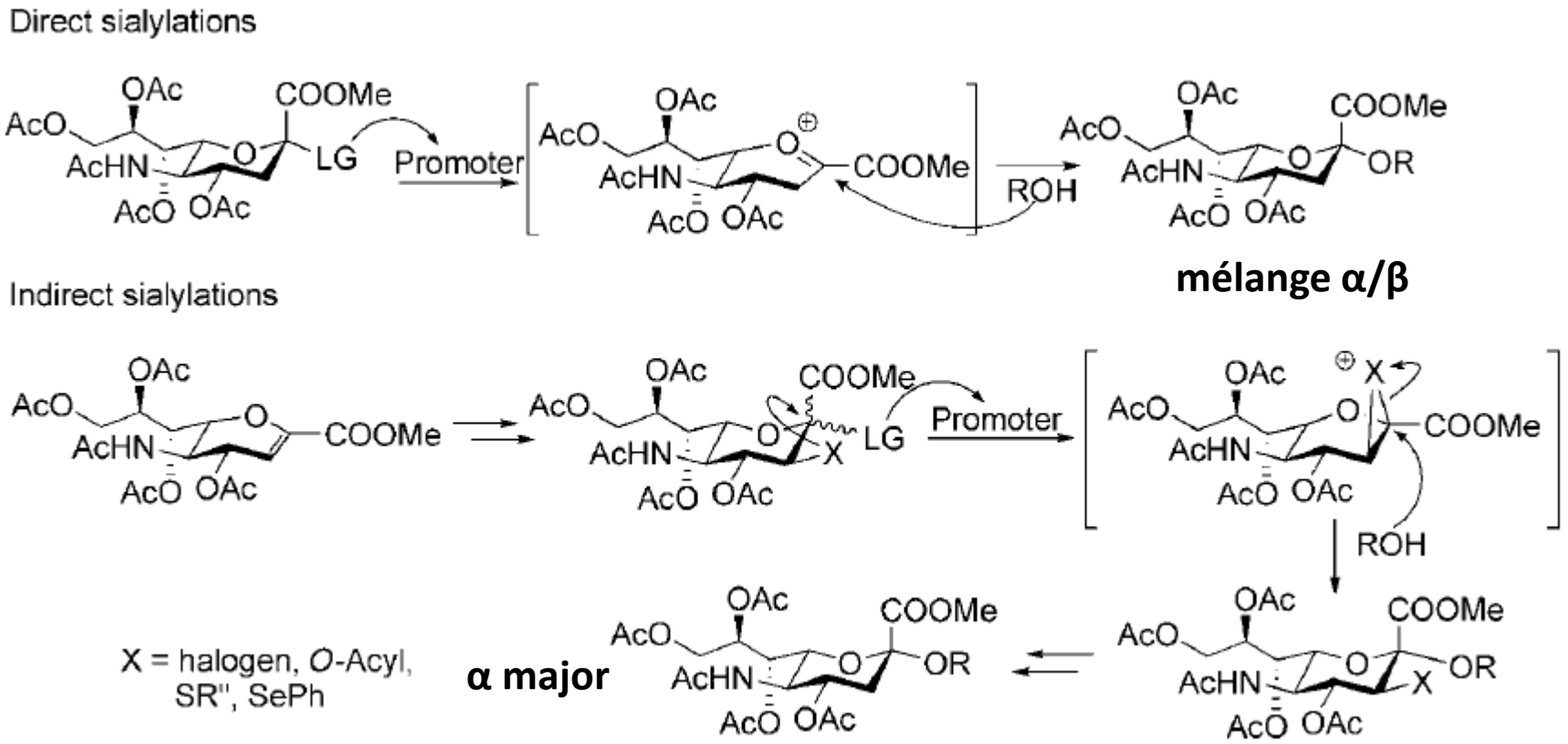
- Présence de groupements volumineux empêche la participation du benzoyl
- 1,2-*cis*-glycoside favorisé avec faible rendement : mécanisme $S_N2$



# 3. Méthodes de glycosylation chimique

## Sialosidation stéréosélective en présence d'auxiliaires participants

- Mélange α/β pour les sialylations directes
- Sialosides α favorisé par l'utilisation d'auxiliaires donneurs d'électrons (X)



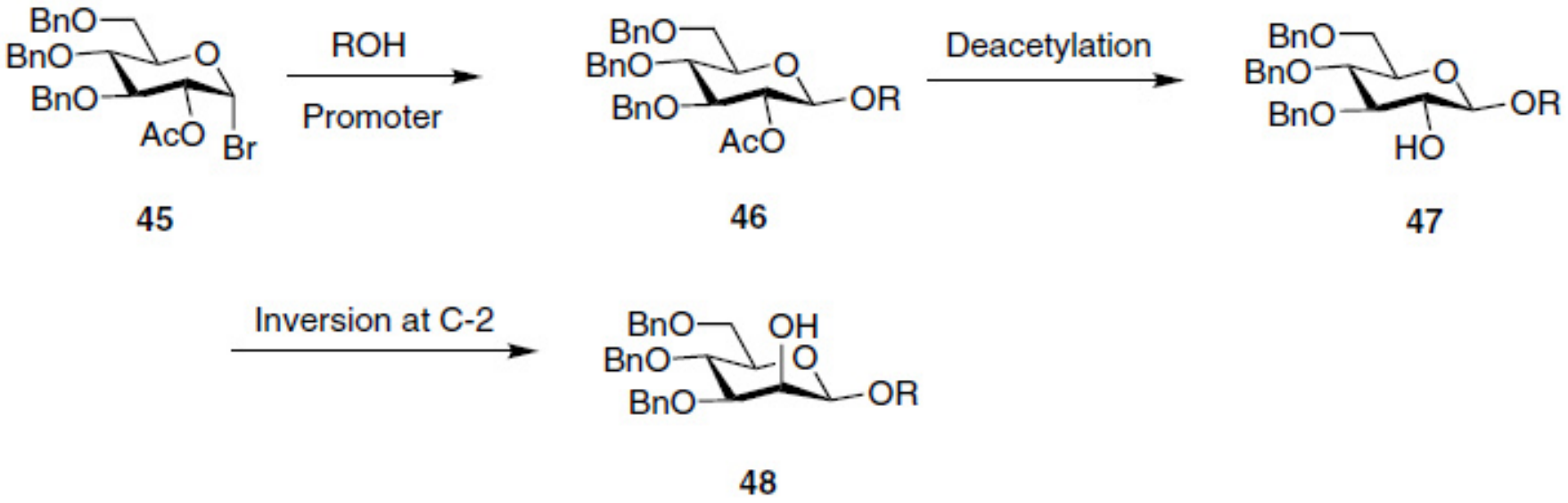
# 3. Méthodes de glycosylation chimique

## Synthèse de 1,2-*cis*-mannosides par inversion de configuration

- Synthèse de β-glucosides favorisée par utilisation d'un groupement participant (Ac)
- Comment passer de **47** à **48** ?

Mitsunobu ou

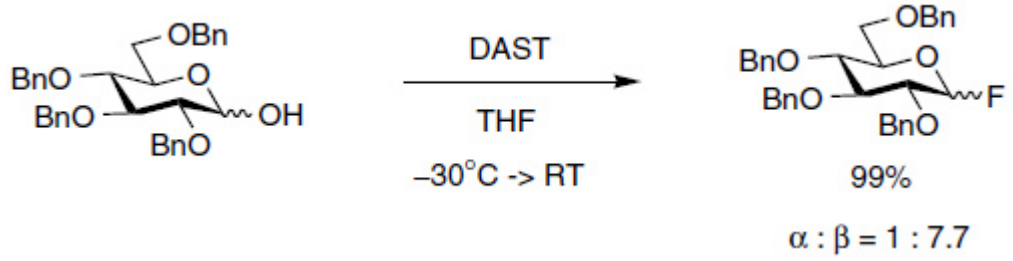
1) TsCl, Py; 2) KOAll, 1,4-dioxane; 3) complexe Ir, $H_2$, THF then $I_2$, THF/$H_2O$



# 3. Méthodes de glycosylation chimique

## Glycosylation par SN au carbone anomérique : *glycosyl fluorides*

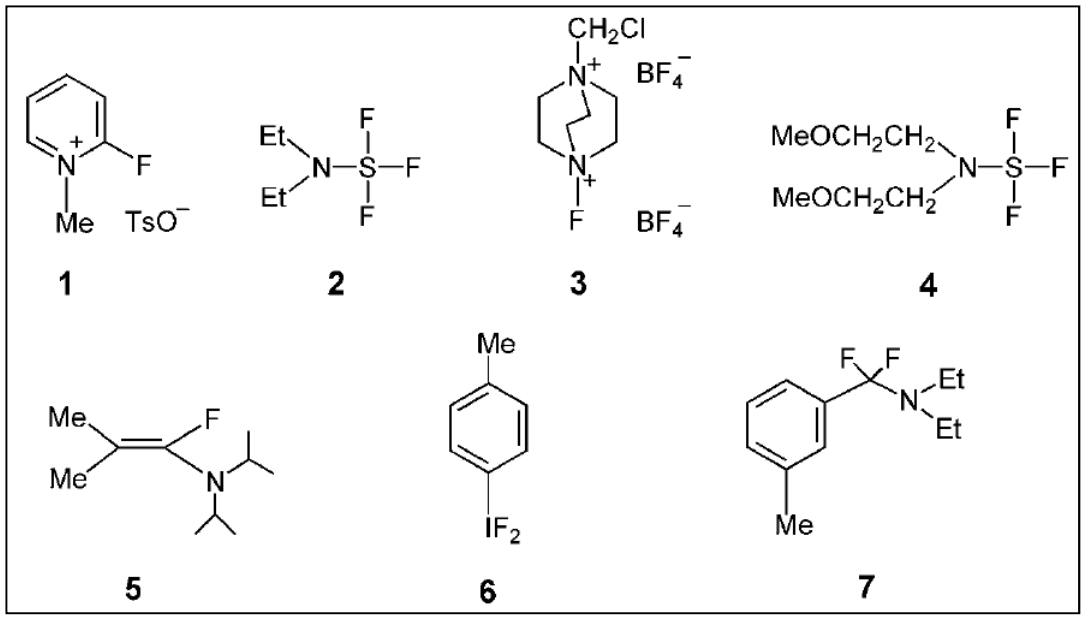
- Synthèse des glycosyl fluorides avec DAST




Exemples d'agents fluorants

**1** : 2-fluoro-1-méthylpyridinium fluorate
**2** : diethylaminosulfur trifluoride (DAST)
**3** : Selectfluor
**4** : Deoxo-Fluor
**5** : *N,N*-diisopropyl(1-fluoro-2-methyl-1-propenyl)amine
**6** : 4-methyl(difluoroiodo)benzene
**7** : *N,N*-diethyl-α,α-difluoro-(*m*-methylbenzyl) amine

HF, HF/pyridine
$BF_3OEt_2$
$Bu_4NF$
$KHF_2$
AgF

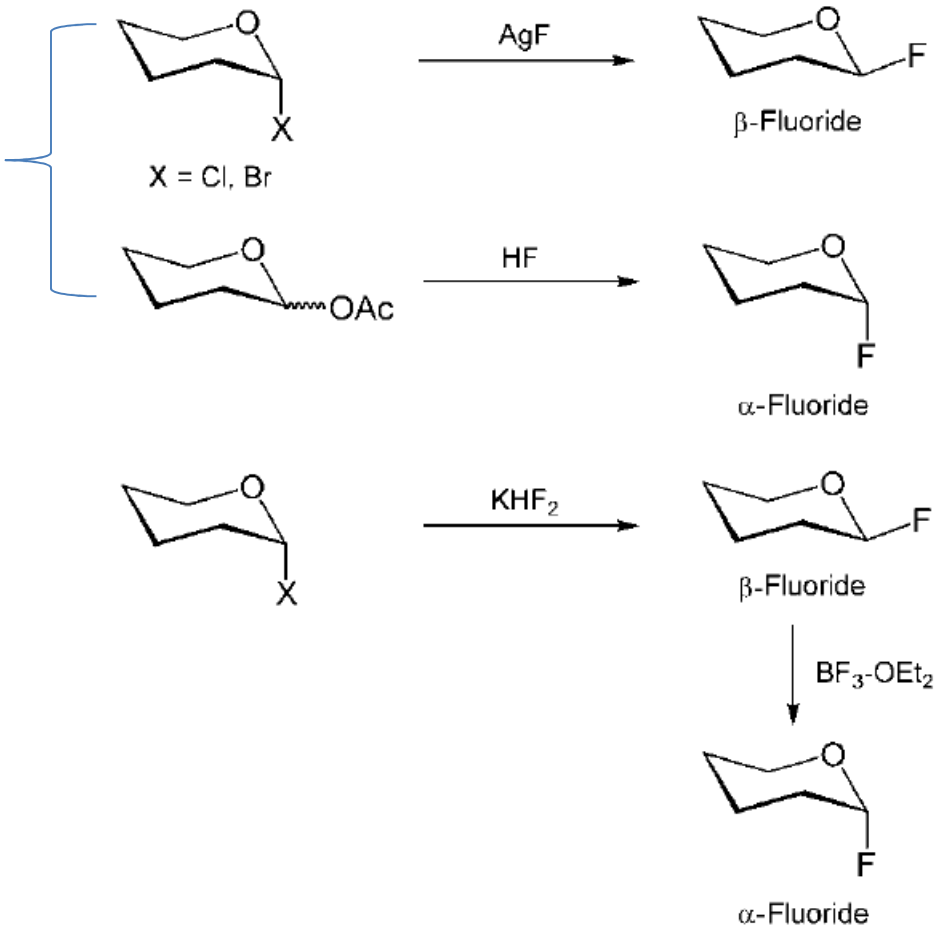


# 3. Méthodes de glycosylation chimique

## Glycosylation par SN au carbone anomérique : *glycosyl fluorides*

- Synthèse des glycosyl fluorides avec des réactifs inorganiques

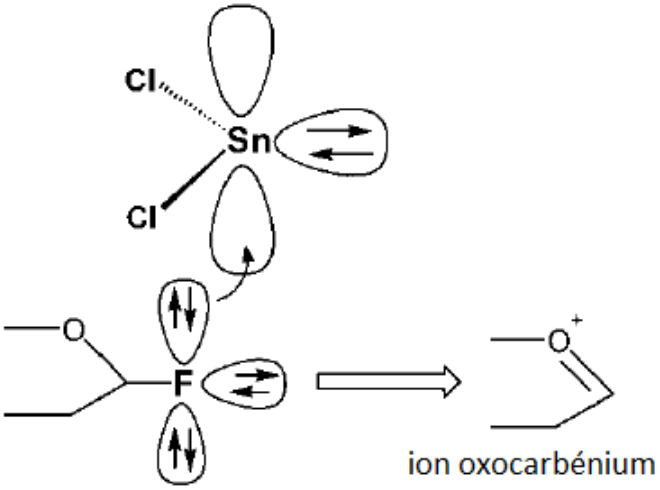
* dangerosité de AgF et HF *

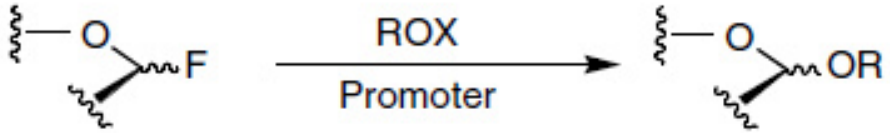


# 3. Méthodes de glycosylation chimique

## Glycosylation par SN au carbone anomérique : *glycosyl fluorides*

- Activation des glycosyl fluorides



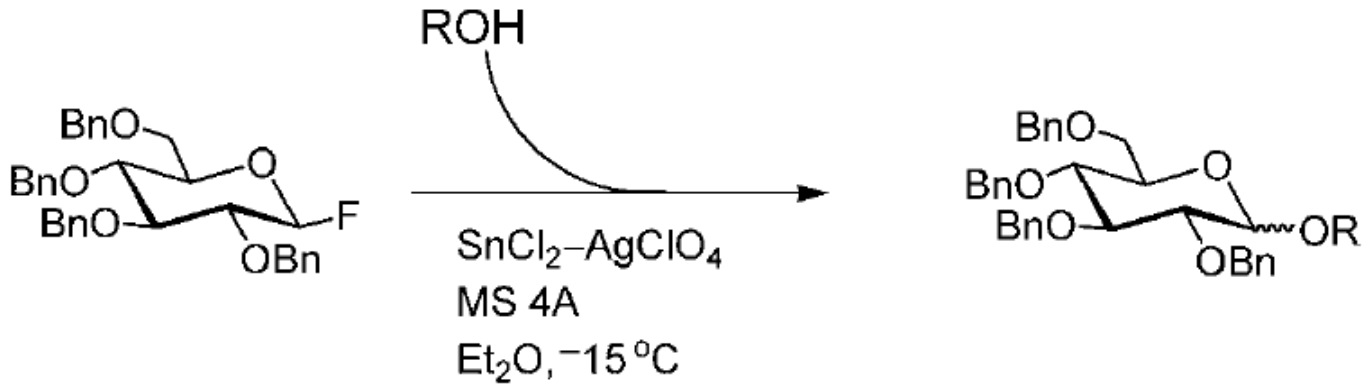



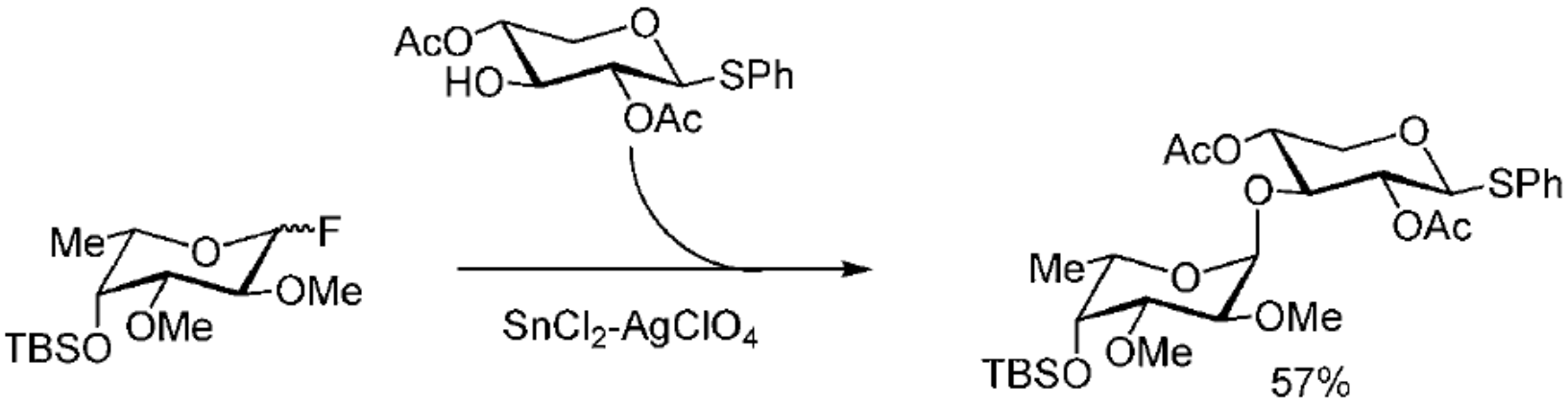

| Promoter | X |
|---|---|
| $SnCl_2$–$AgClO_4$ | H |
| $SnCl_2$–AgOTf | H |
| $SnCl_2$–$TrClO_4$ | H |
| $SiF_4$ | TMS |
| TMSOTf | TMS |
| $BF_3{\cdot}Et_2O$ | H, TMS |
| $TiF_4$ | H, TMS |
| $TiF_4$–$AgClO_4$ | H |
| $SnF_4$ | H, TMS |
| $Cp_2MCl_2$–$AgClO_4$, $AgBF_4$, AgOTf | H |
| $Me_2GaCl$, $Me_2GaOTf$ | H |
| $Bu_2SnCl_2$–$AgClO_4$ | H |
| $Bu_3SnOTf$ | H |

# 3. Méthodes de glycosylation chimique

**Glycosylation par SN au carbone anomérique : *glycosyl fluorides***

- Exemples types de glycosylation sans groupements participants

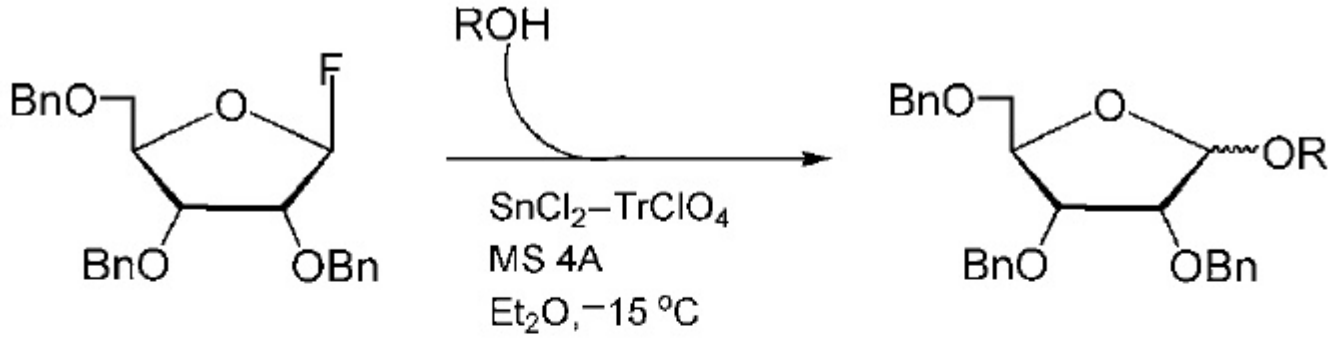


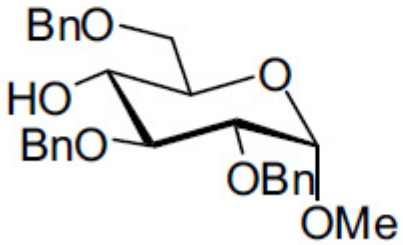



# 3. Méthodes de glycosylation chimique

## Glycosylation par SN au carbone anomérique : *glycosyl fluorides*

- Exemples types de glycosylation sans groupements participants

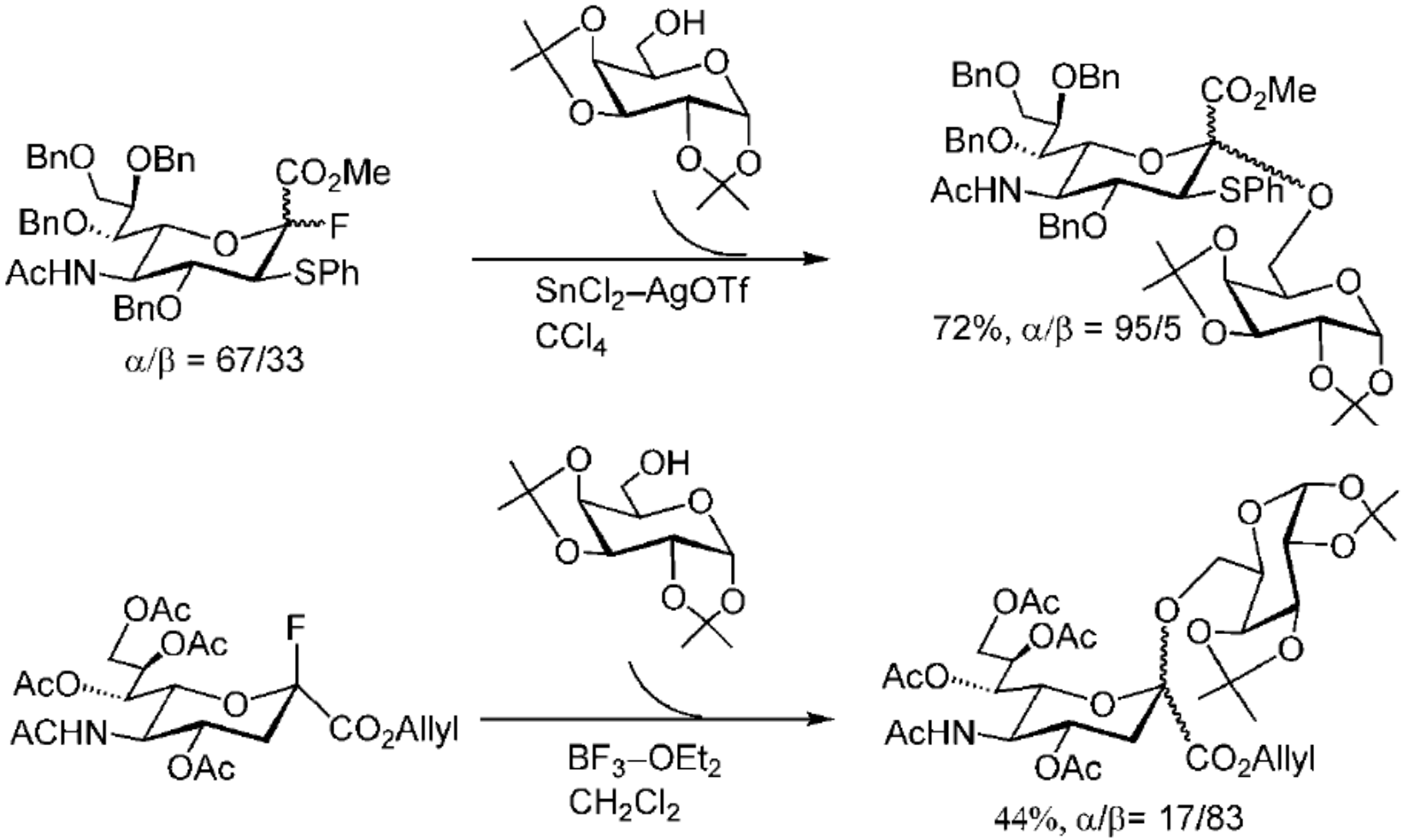



| R–OH | Yield (%) | α/β |
|---|---|---|
| 3β-Cholestanol | 88 | 81/19 |
|  | 96 | 85/15 |
| *t*-BuOH | 90 | 85/15 |

# 3. Méthodes de glycosylation chimique

**Glycosylation par SN au carbone anomérique : *glycosyl fluorides***

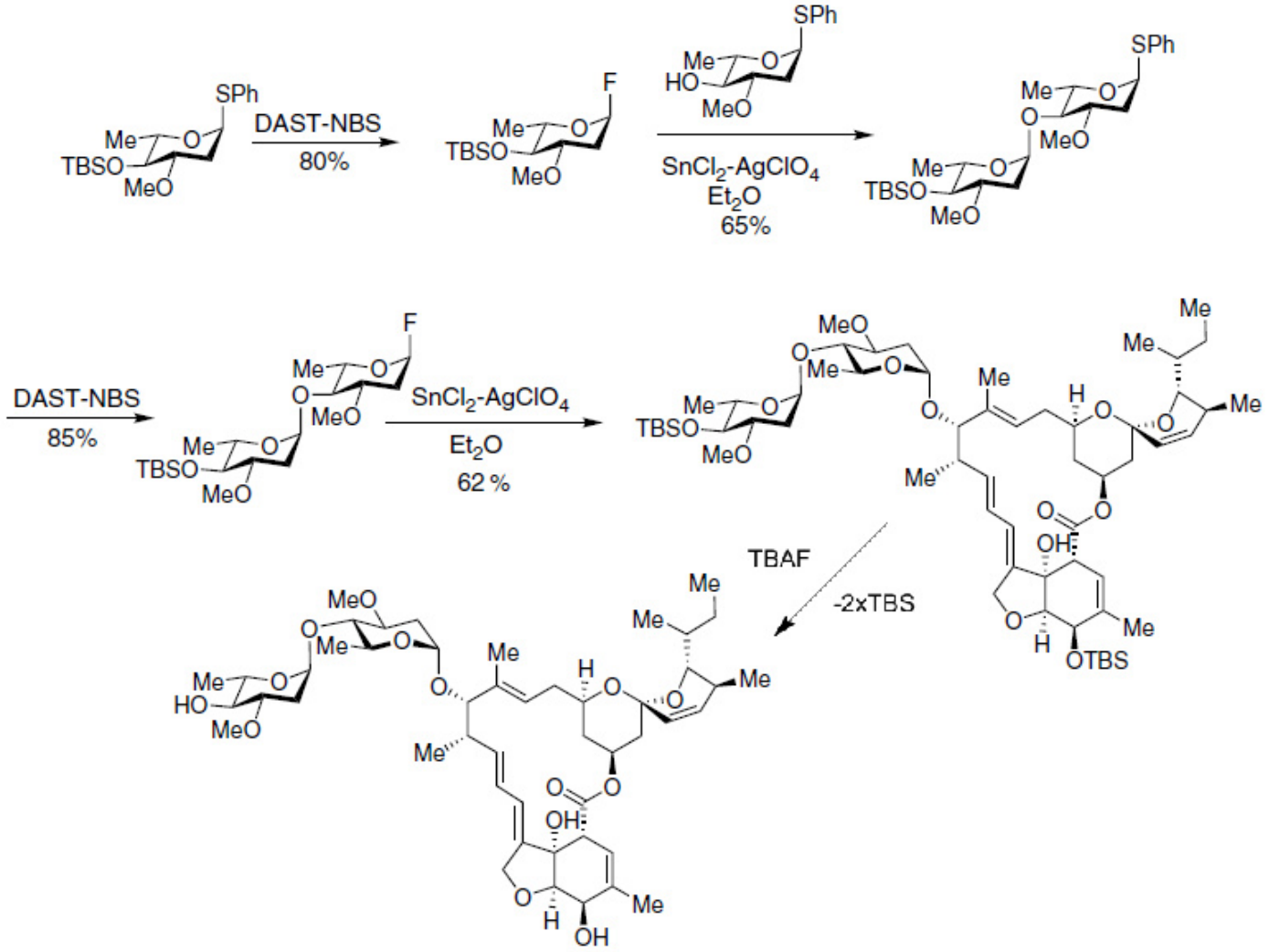
- Exemples types de sialylations régiosélectives

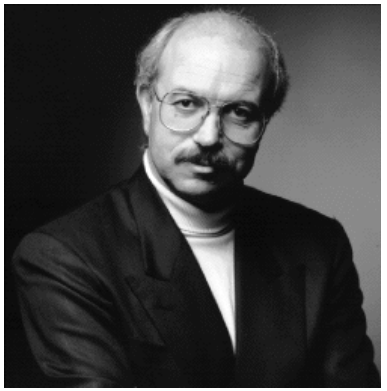


# 3. Méthodes de glycosylation chimique

## Glycosylation par SN au carbone anomérique : *glycosyl fluorides*

- Application à la synthèse de produits naturels : avermectin $B_{1a}$ (*Nicolaou et al.*)

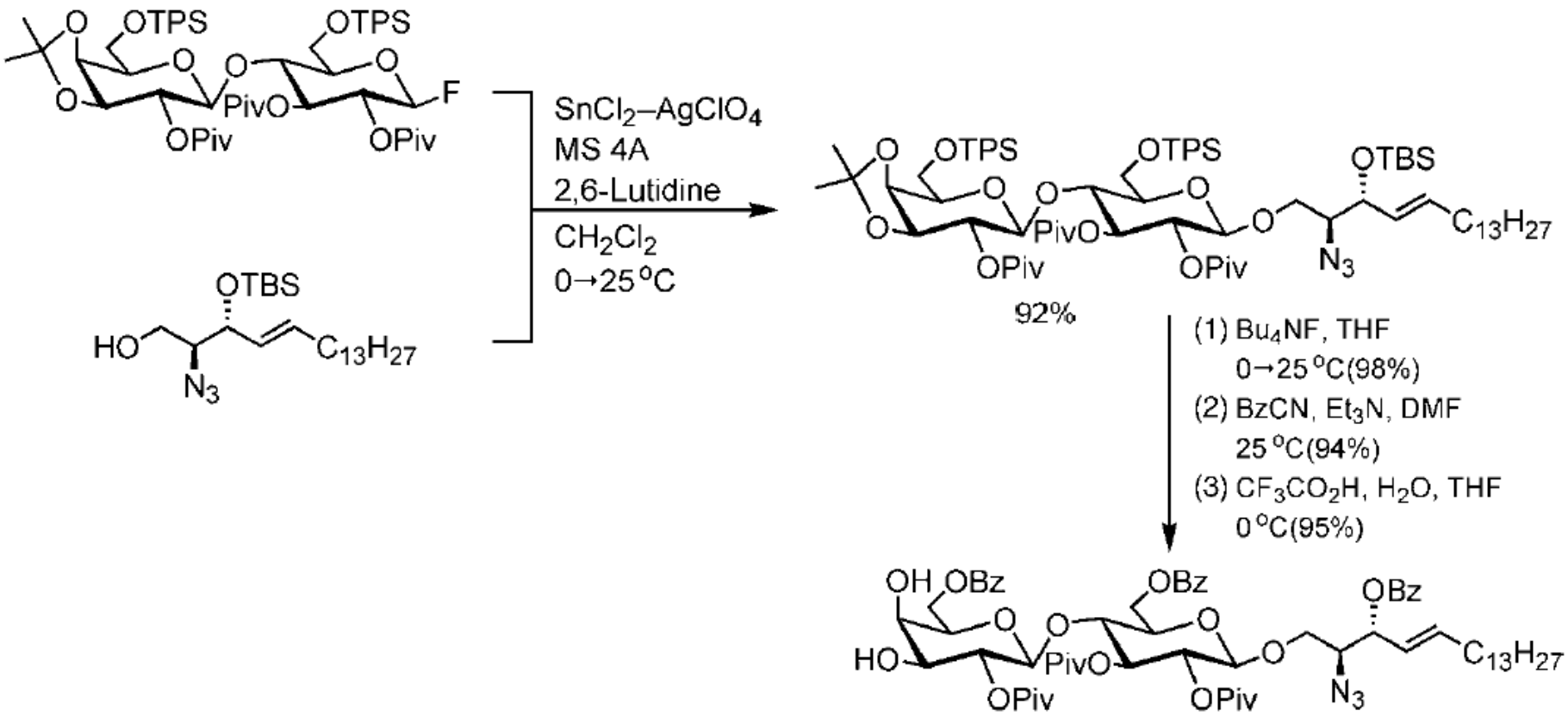


K. C. Nicolaou
Scripps Research Institute

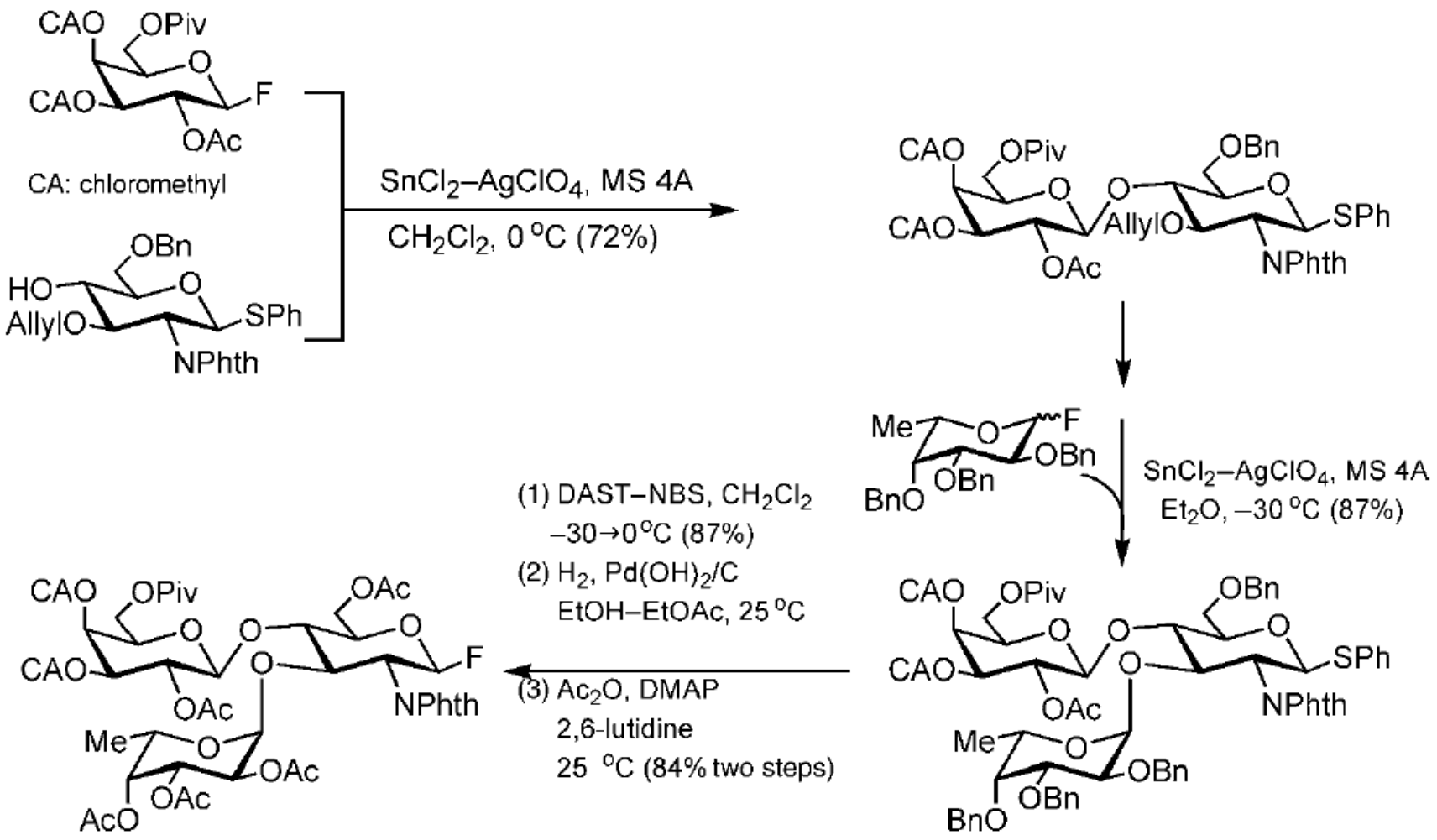
# 3. Méthodes de glycosylation chimique

**Synthèse du Lewis-X trimérique :** ***préparation du lactose sphingoside***



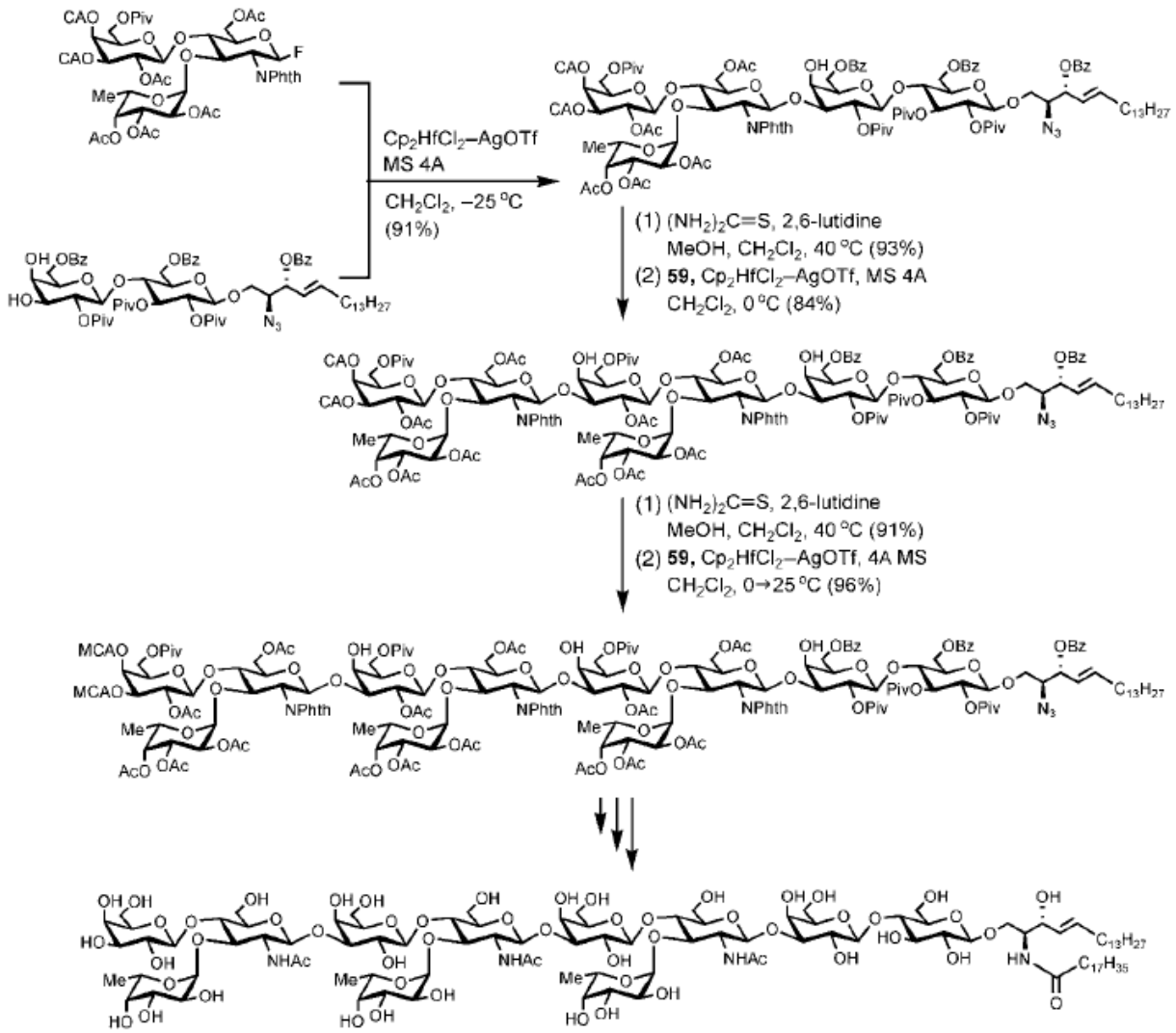
# 3. Méthodes de glycosylation chimique

**Synthèse du Lewis-X trimérique : *orthogonalité des fluorides et thioglycosides***



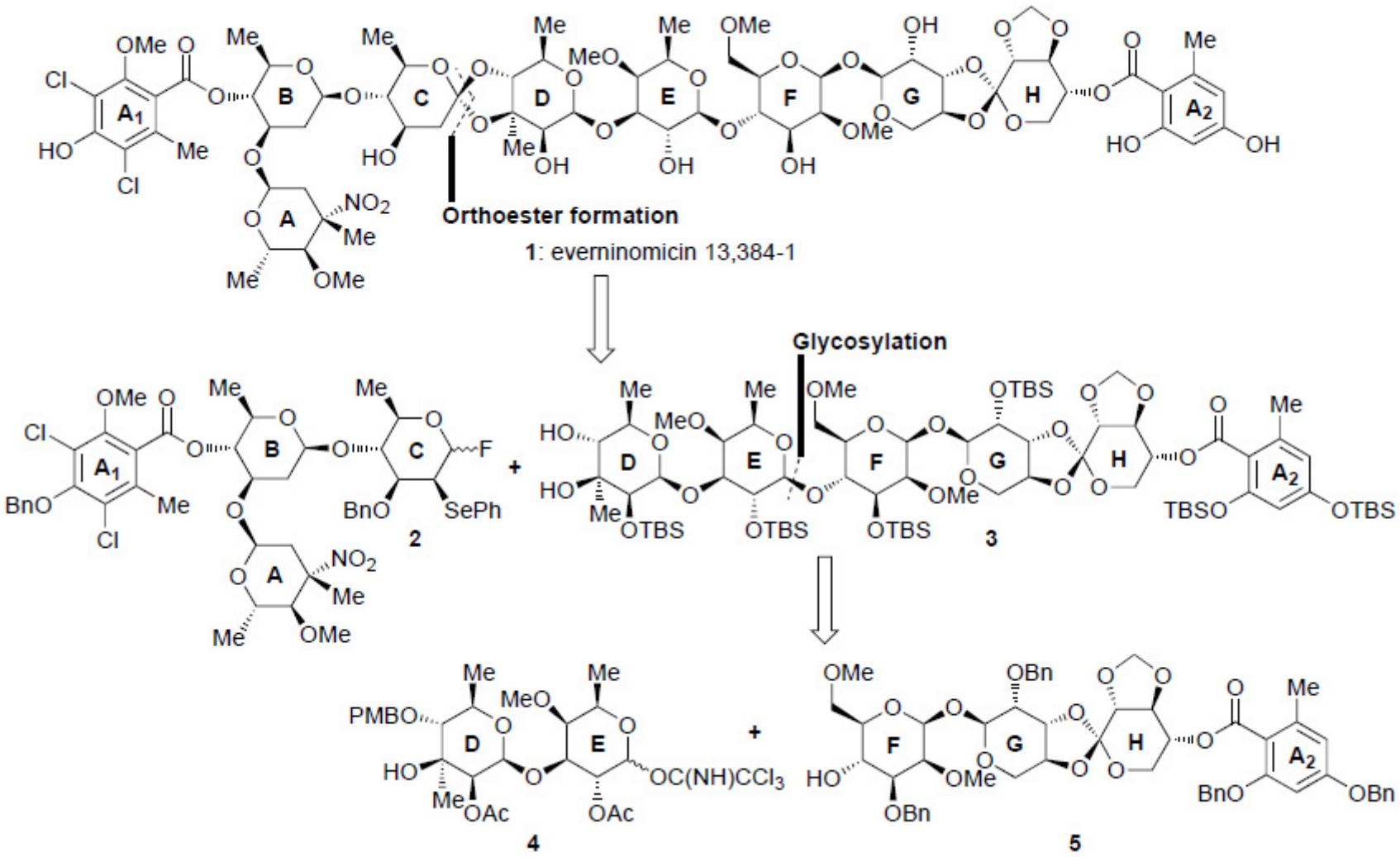
# 3. Méthodes de glycosylation chimique

**Synthèse du Lewis-X trimérique : *trimérisation d'un donneur fluoride***



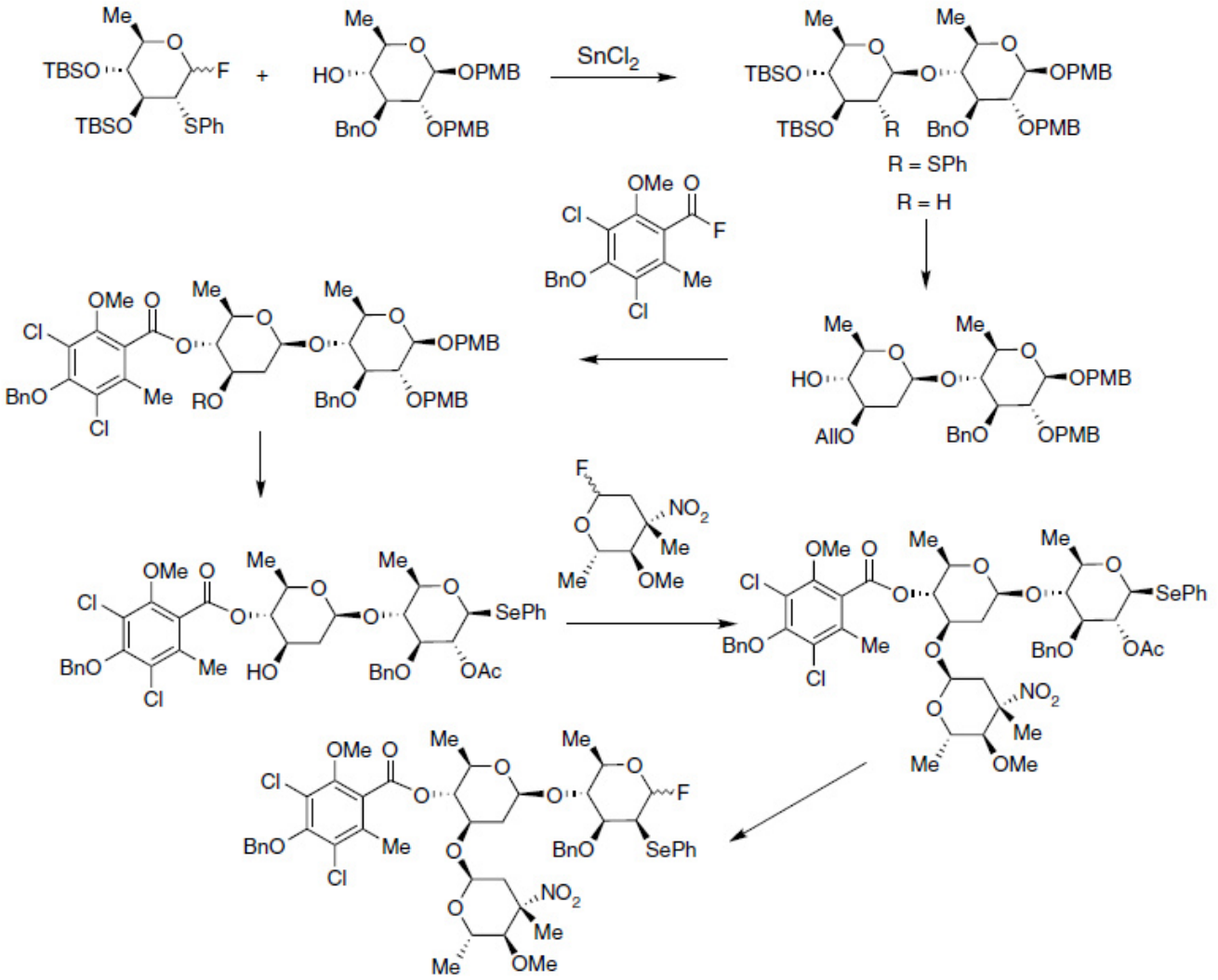
# 3. Méthodes de glycosylation chimique

**Synthèse de l'everninomicin 13,384-1 : *approche rétrosynthétique* (Nicolaou *et al.*)**



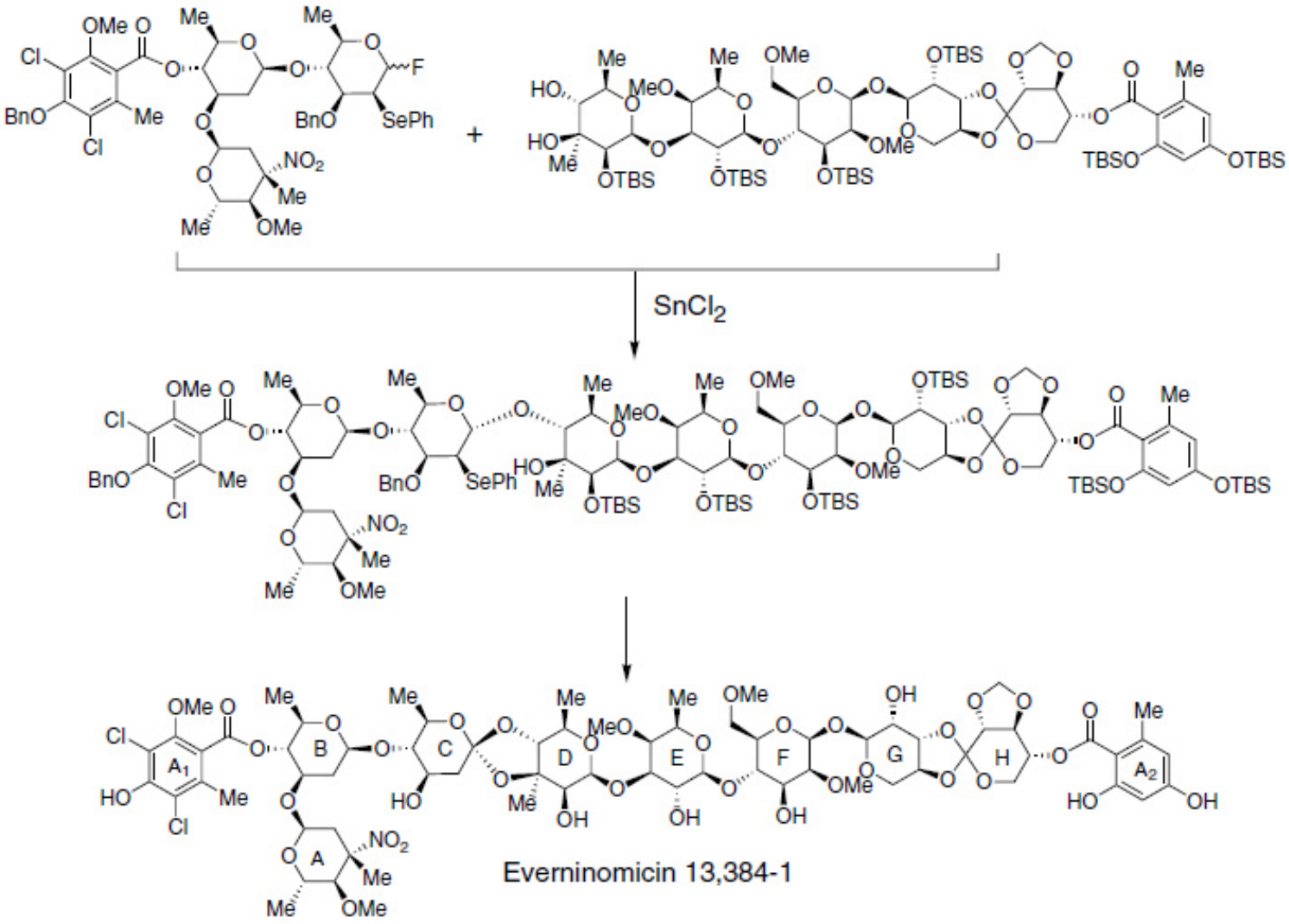
# 3. Méthodes de glycosylation chimique

**Synthèse de l'everninomicin 13,384-1 : *préparation du fragment $A_1B(A)C$***



# 3. Méthodes de glycosylation chimique

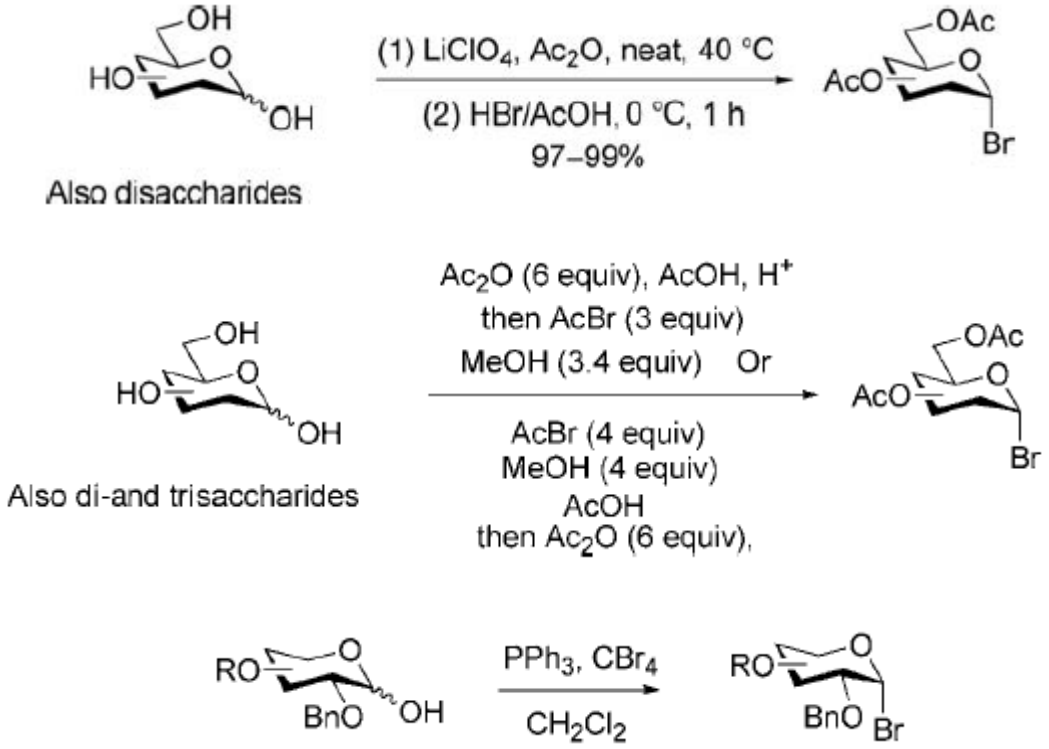
**Synthèse de l'everninomicin 13,384-1 : *couplage final et déprotection***



# 3. Méthodes de glycosylation chimique

**Glycosylation par SN au carbone anomérique : *glycosyls bromides***

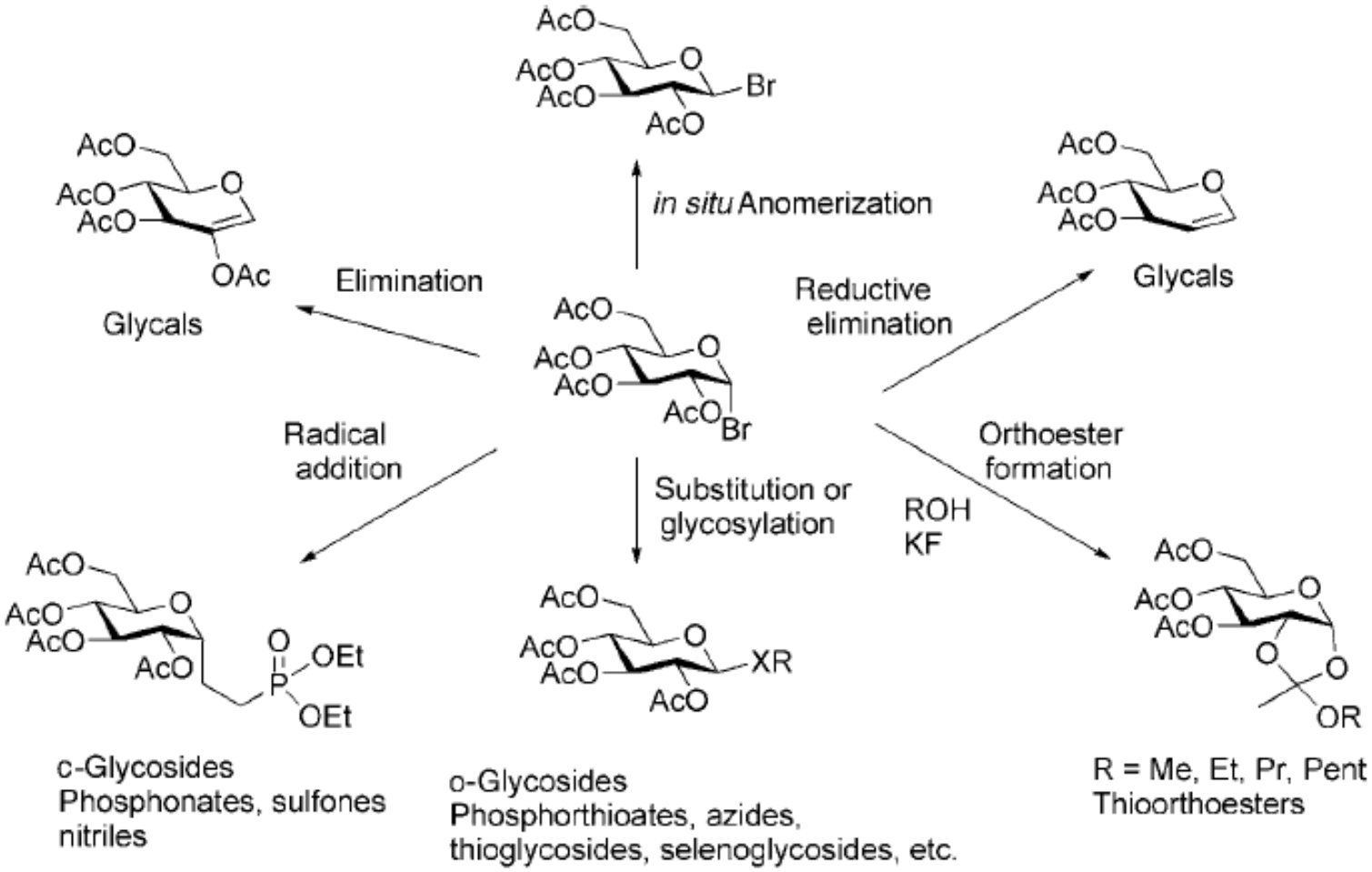
- Plus réactif que les R-F  et R-Cl, plus stable que les R-I
- Sucres activés très populaires : *glycosylation de Koenigs-Knorr, par transfert de phase, etc.*
- Méthodes courantes de préparation :



# 3. Méthodes de glycosylation chimique

**Glycosylation par SN au carbone anomérique : *glycosyls bromides***

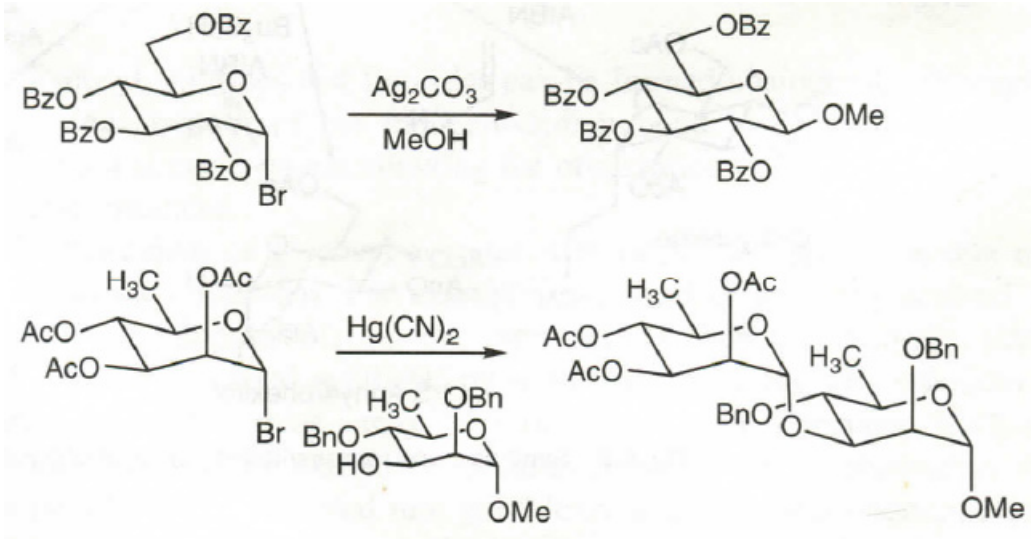
- Représentation de la réactivité des glycosyls bromides

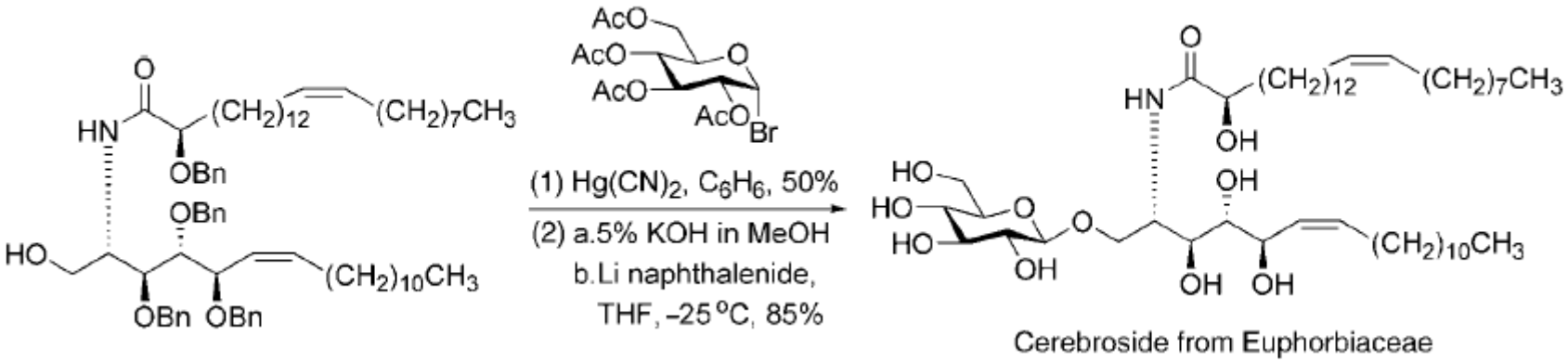


# 3. Méthodes de glycosylation chimique

## Glycosylation par SN au carbone anomérique : *glycosyls bromides*

- Glycosylation de Koenigs-Knorr (1901) : Activation aux sels de Ag ou Hg



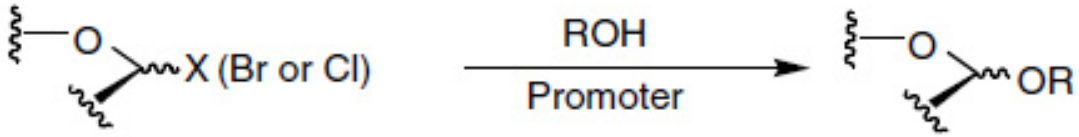




Cerebroside from Euphorbiaceae

# 3. Méthodes de glycosylation chimique

## Glycosylation par SN au carbone anomérique : *glycosyls bromides*

- Activation des glycosyls bromides

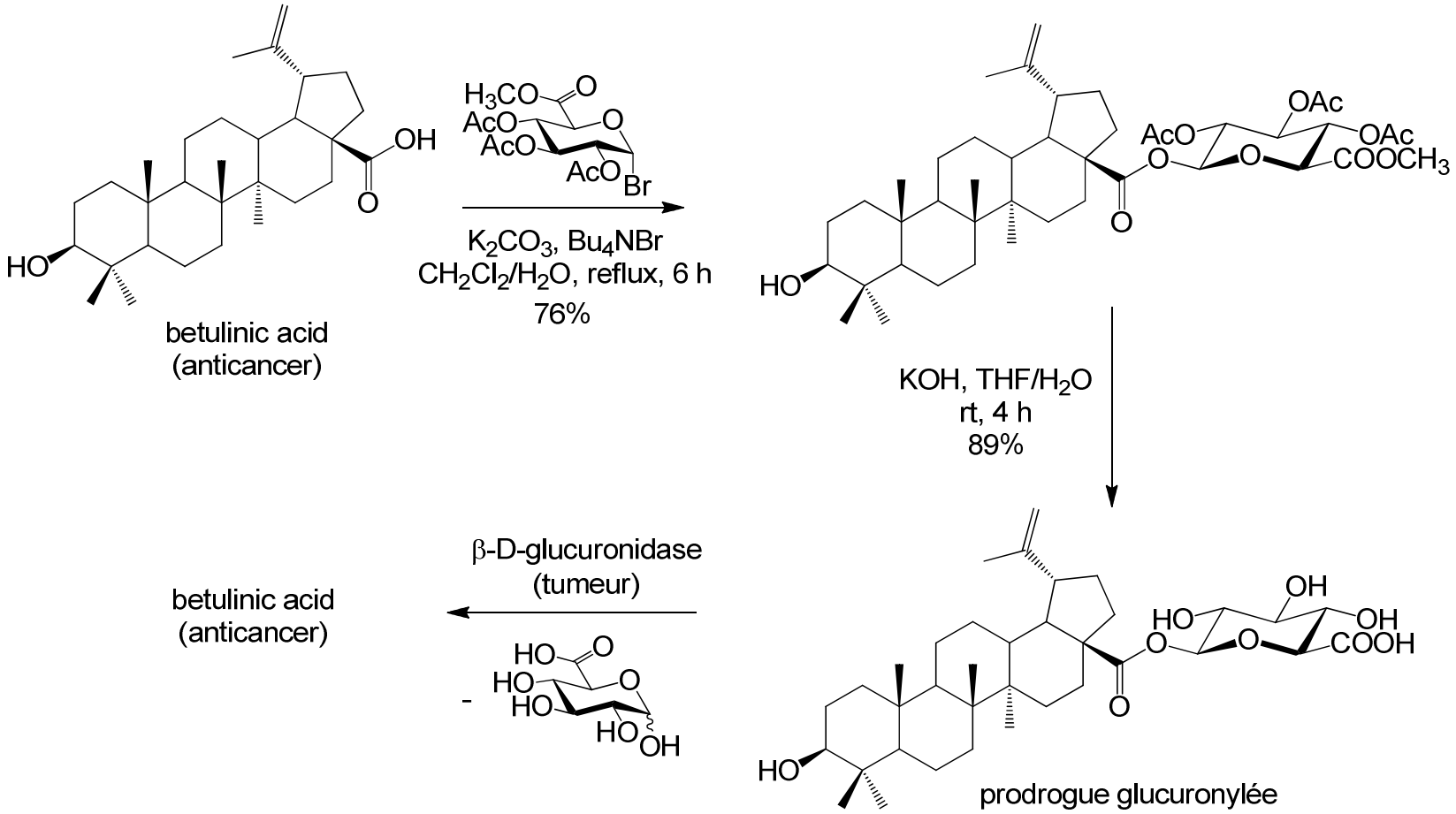



| | |
|---|---|
| $Ag_2O$, $Ag_2CO_3$ | $ZnCl_2$ |
| Ag salicylate | $ZnCl_2$–Ag imidazolate |
| Ag imidazolate | $ZnCl_2$–TrCl |
| $AgClO_4$ | $Sn(OTf)_2$ |
| AgOTf | $Cu(OTf)_2$ |
| $Hg(CN)_2$, $HgBr_2$ | $InCl_3$ |
| HgO, $HgBr_2$ | $Tf_2O$ |
| $HgI_2$ | TfOH |
| $CdCO_3$ | $I_2$–DDQ |
| Ag silicate | IBr |
| Ag zeolite | $Et_4NBr$, $Bu_4NBr$ |
| Ag silica alumina | $R_4NX$, aq. base |
| $SnCl_4$ | $-e$ |
| $BF_3{\cdot}OEt_2$ | $\Delta$ |

# 3. Méthodes de glycosylation chimique

## Glycosylation par SN au carbone anomérique : *glycosyls bromides*

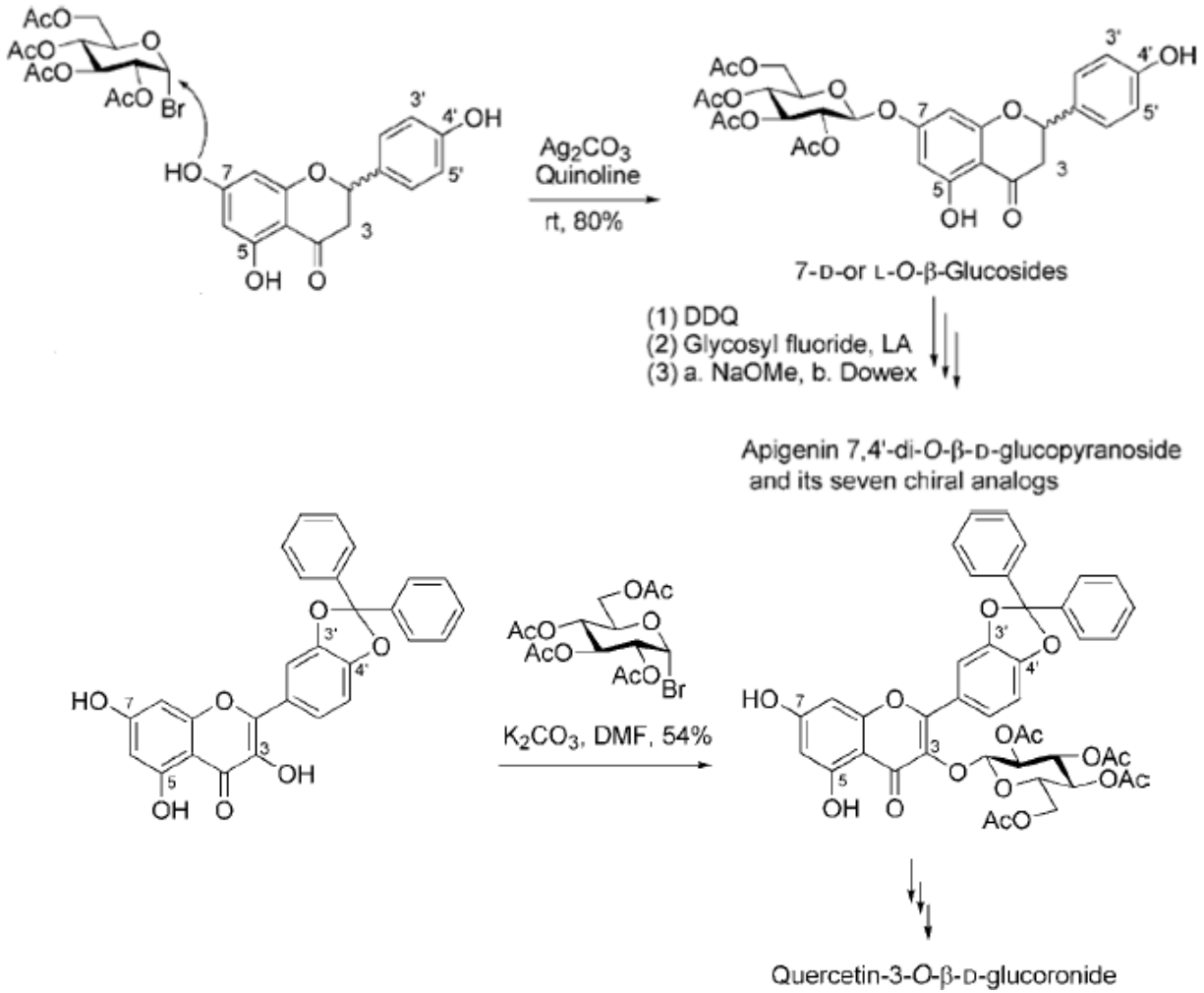
- Activation catalysée par transfert de phase



# 3. Méthodes de glycosylation chimique

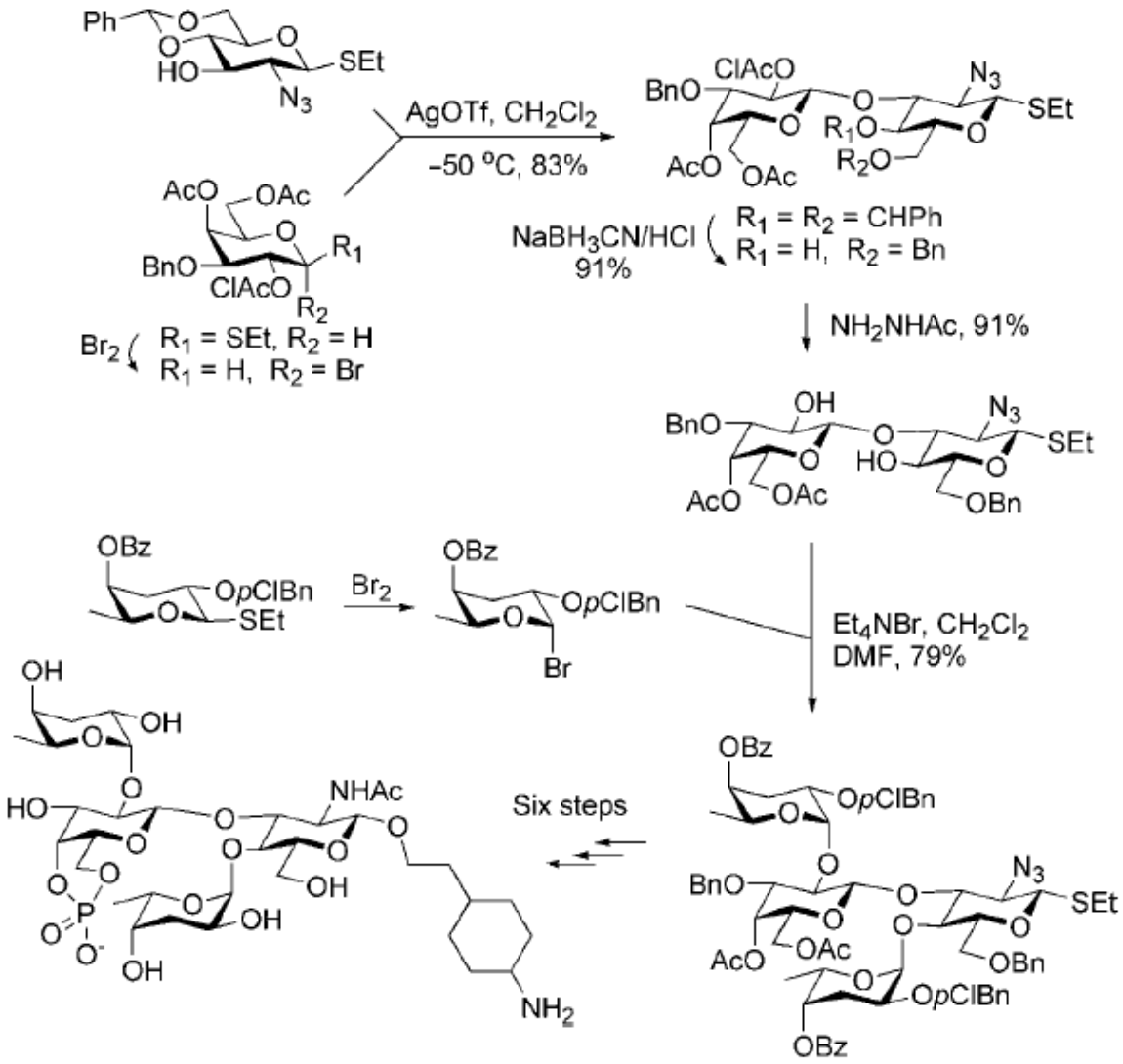
## Glycosylation par SN au carbone anomérique : *glycosyls bromides*

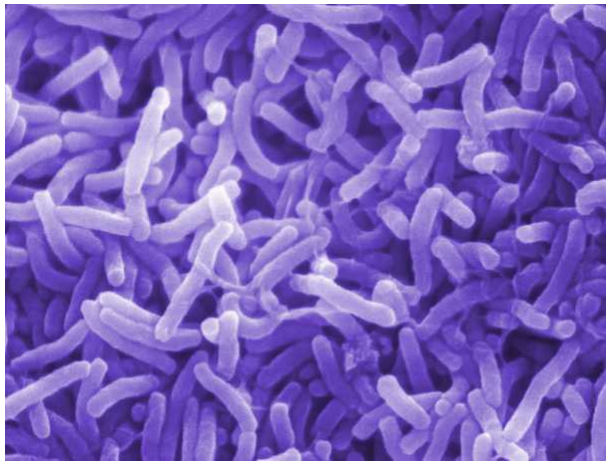
- Application pour la synthèse de flavonoïdes



# 3. Méthodes de glycosylation chimique

**Synthèse de mimes d'un polysaccharide de *Vibrio cholera* : *utilisation des bromides***



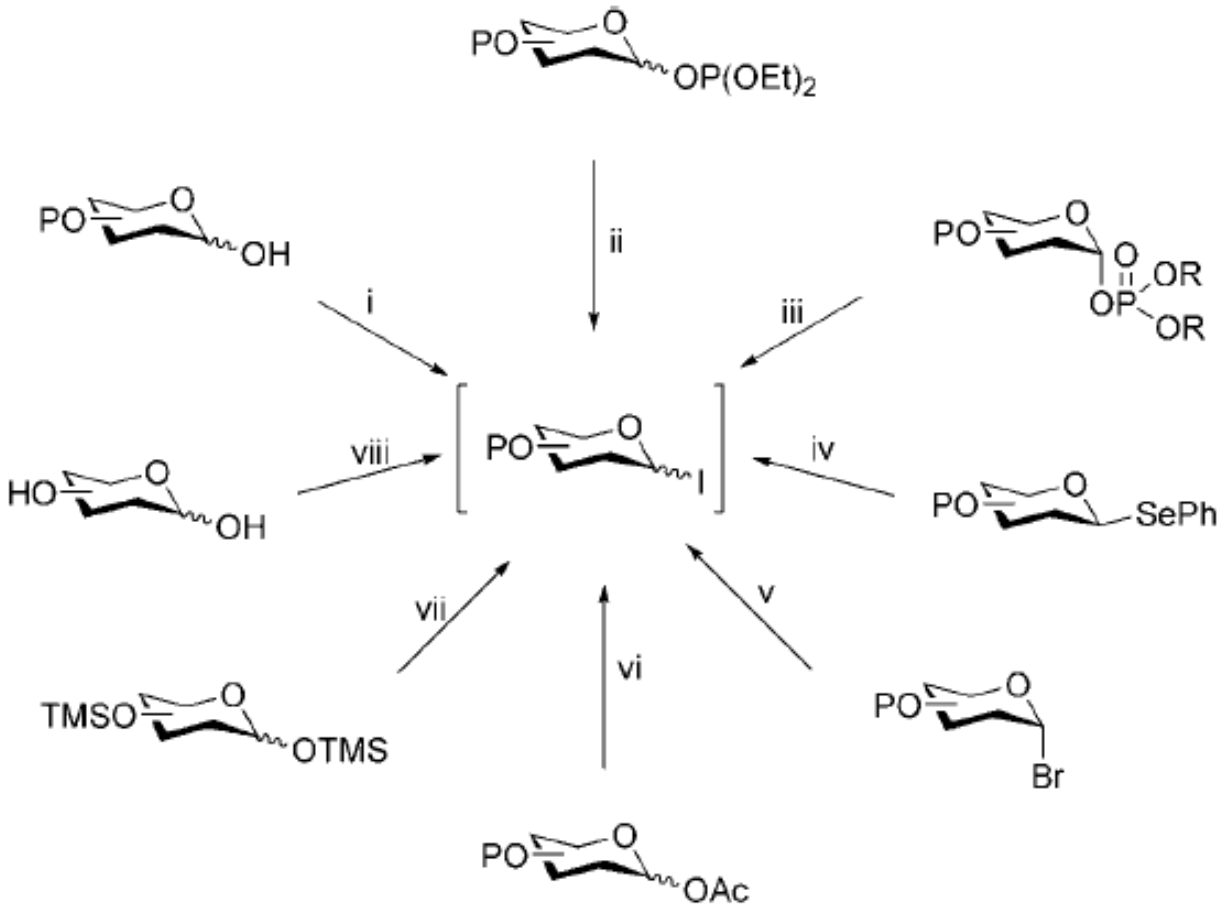



# 3. Méthodes de glycosylation chimique

## Glycosylation par SN au carbone anomérique : *glycosyls iodides*

- Habituellement préparés *in situ* car instables

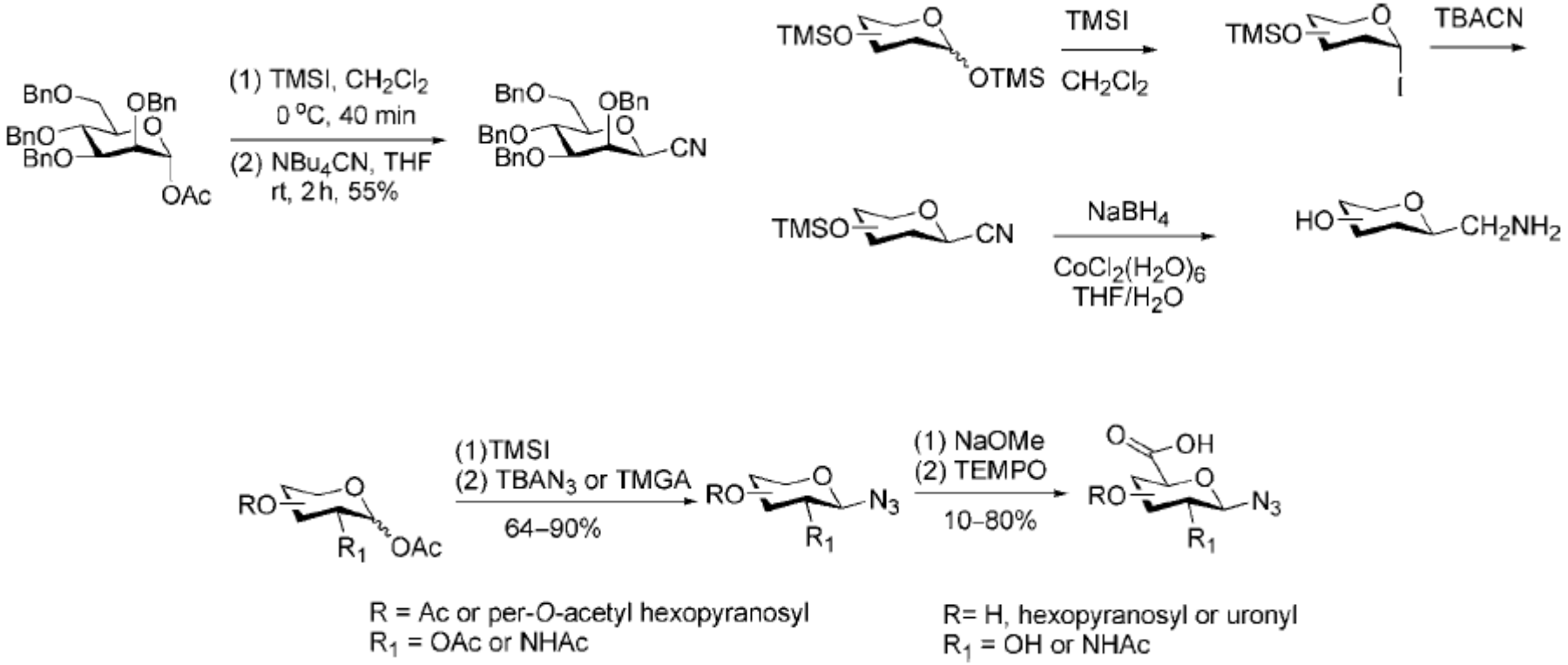
(i) -$C_6H_4$-$PPh_2$-$I_2$, ImH or $PPh_3$-$I_2$, ImH
(ii) DTBPI, 4 Å MS, $CH_2Cl_2$
(iii) 1M $LiClO_4$, Li(Na)I, 4 A MS, $CH_2Cl_2$
(iv) $I_2$, $CDCl_3$
(v) $I_2$ or IBr or ICl or NIS
(vi) TMSI or $I_2$/$Et_3SiH$ or HI ($I_2$ + RSH)
(vii) TMSI, $CH_2Cl_2$
(viii) a. $Ac_2O$, cat. $I_2$; b. $I_2$, HMDS (TMSI)



# 3. Méthodes de glycosylation chimique

## Glycosylation par SN au carbone anomérique : *glycosyls iodides*

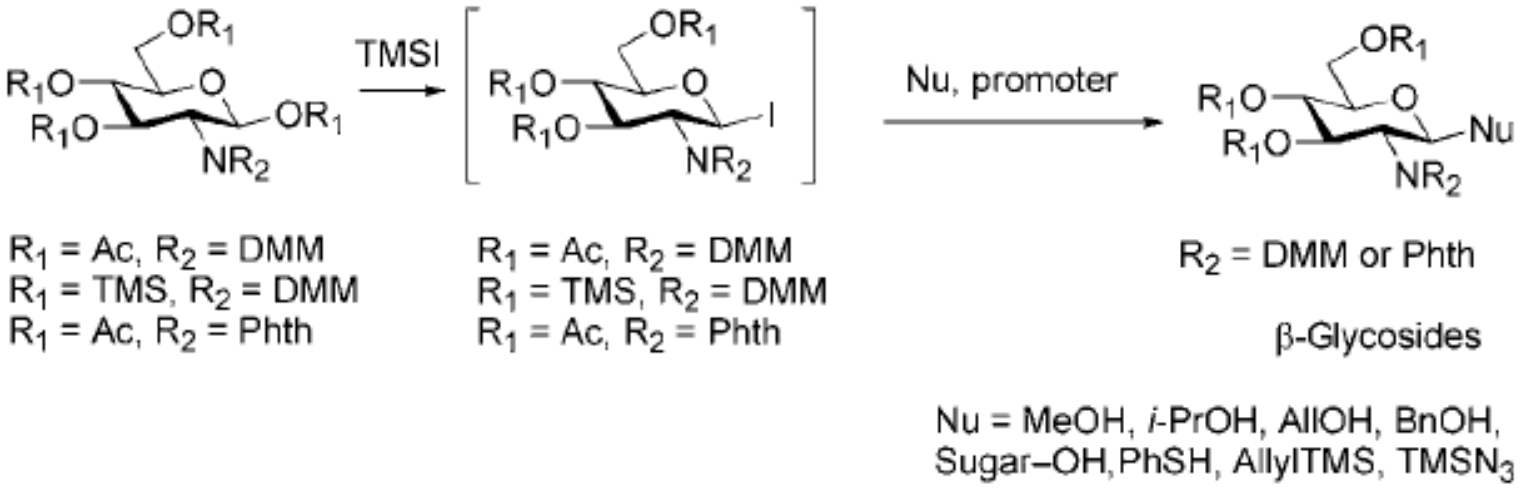
- Synthèse $\beta$-stéréosélective de *N*- et *C*-glycosides



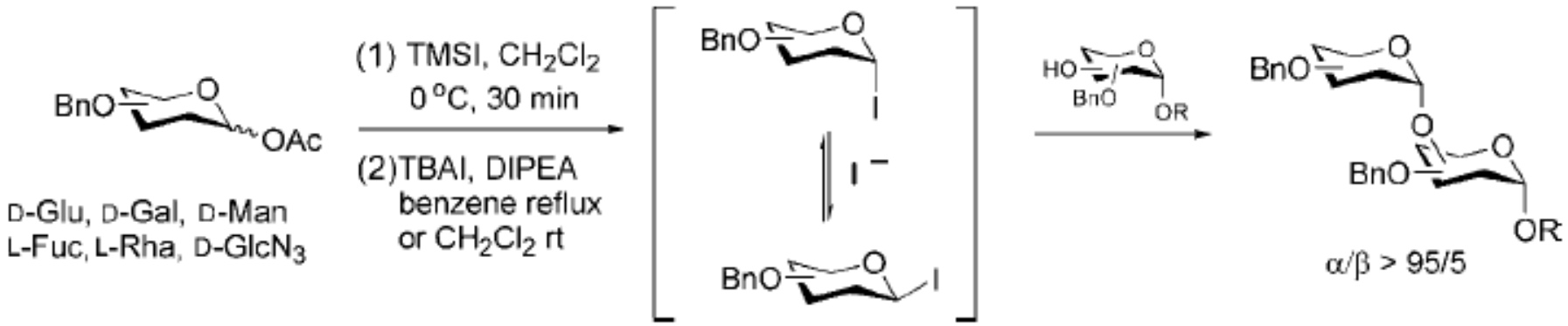
# 3. Méthodes de glycosylation chimique

## Glycosylation par SN au carbone anomérique : *glycosyls iodides*

- Synthèse $\beta$-stéréosélective de *O*-glycosides



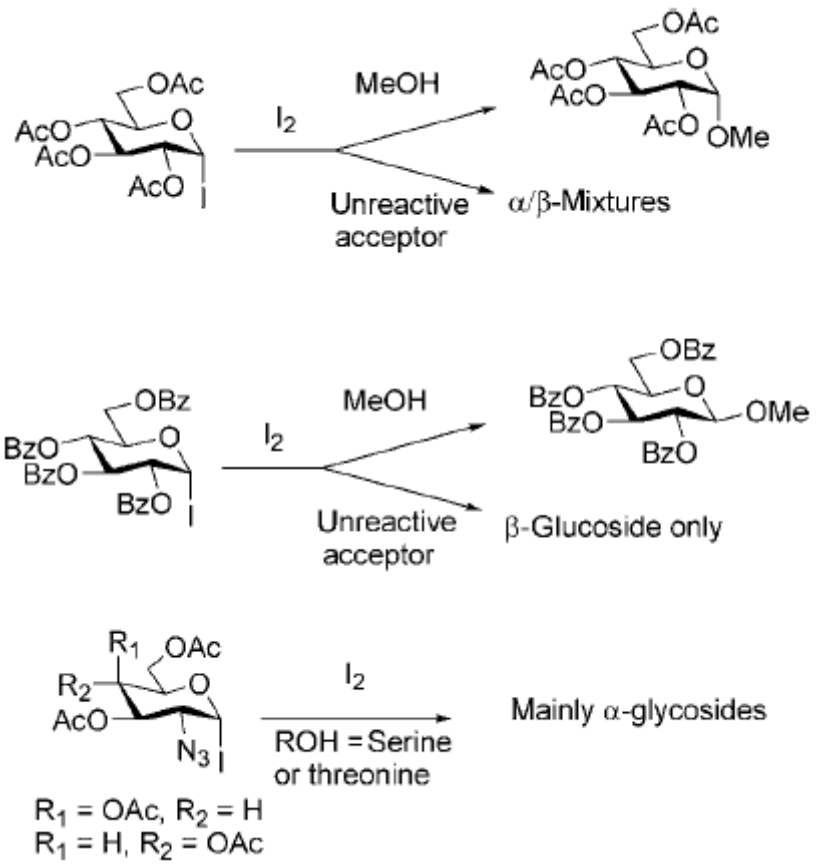

- Synthèse $\alpha$-stéréosélective de *O*-glycosides

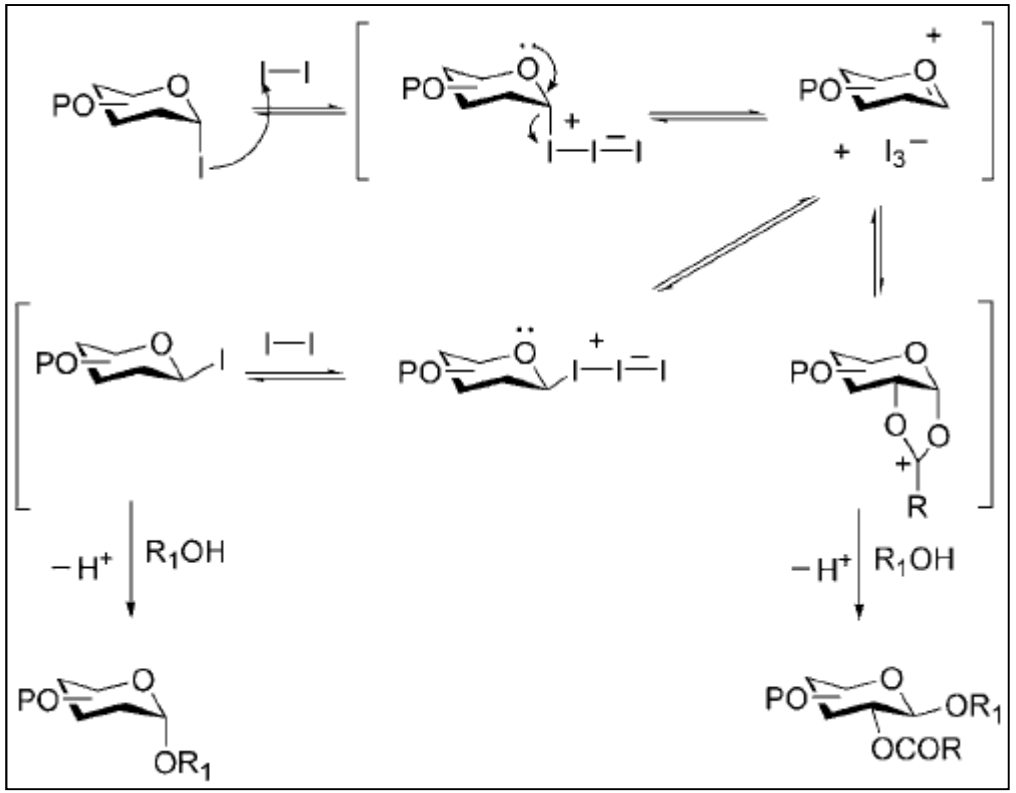


# 3. Méthodes de glycosylation chimique

## Glycosylation par SN au carbone anomérique : *glycosyls iodides*

- Activation en présence de $I_2$ : stéréochimie liée à la nature du groupement protecteur en C-2 et à la réactivité de l'accepteur



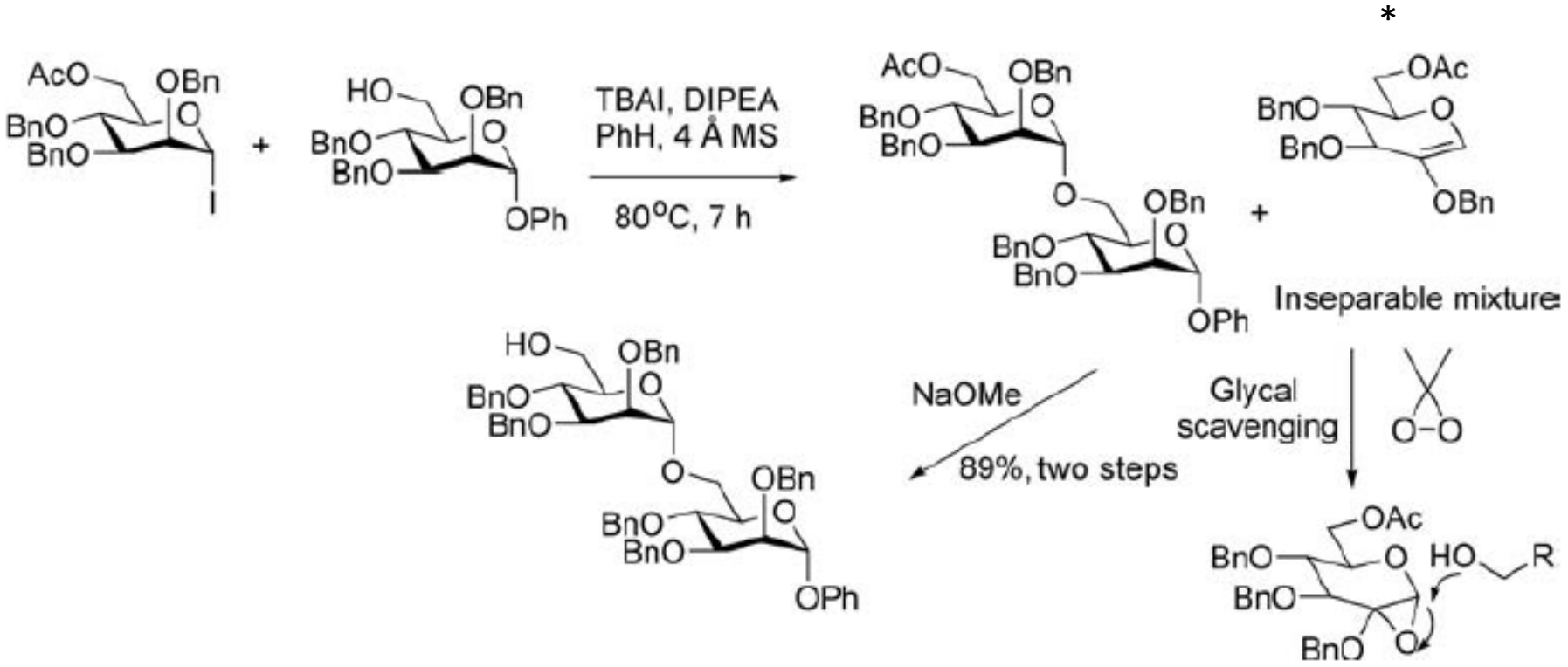




Ac : participant faible; Bz : participant fort; $N_3$ : non-participant

# 3. Méthodes de glycosylation chimique

## Glycosylation par SN au carbone anomérique : *glycosyls iodides*

- Exemples de synthèses α-stéréosélectives – disaccharide Man*p*α(1-6)Man*p*

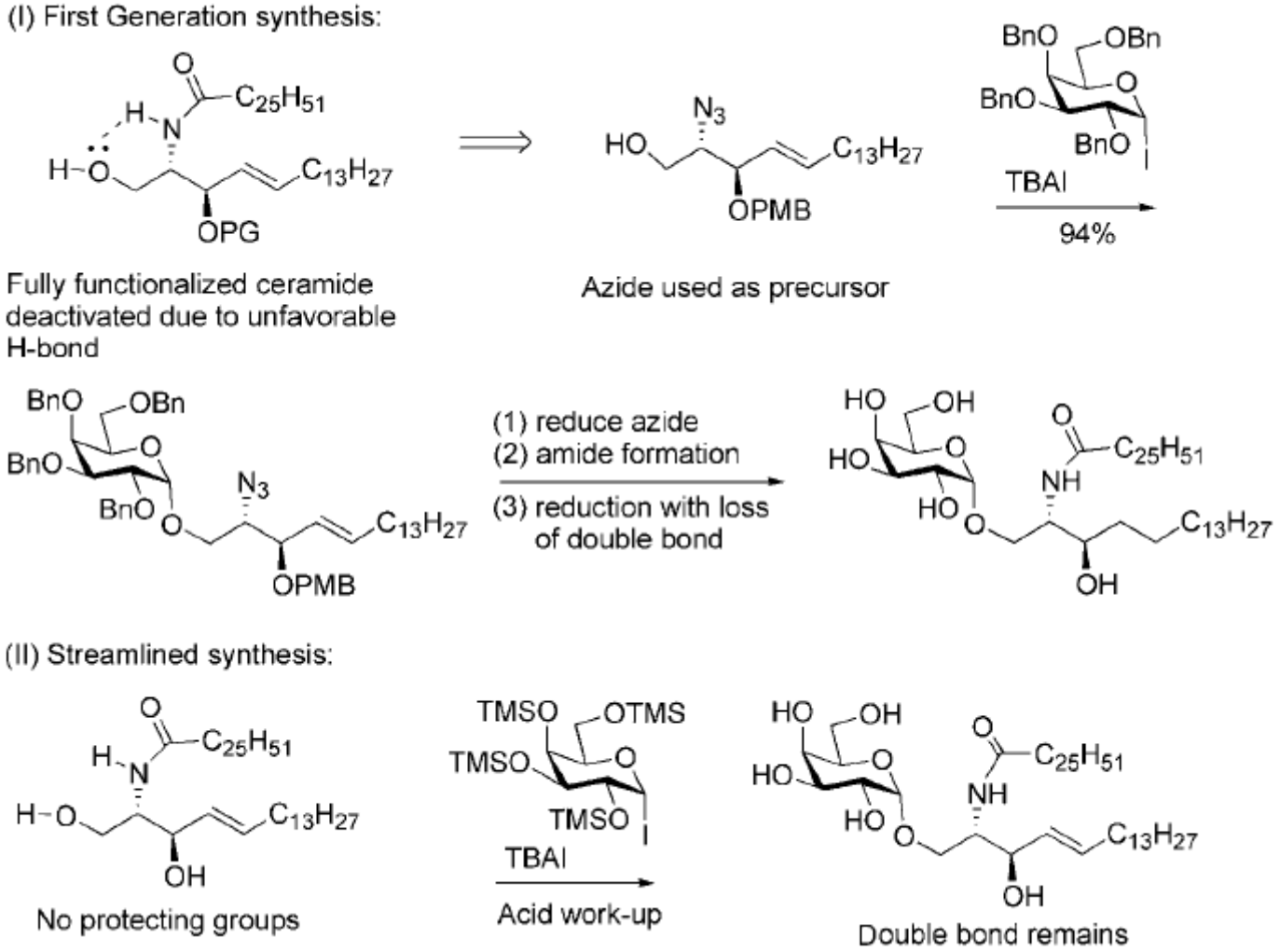



* Formation d'un glycal indésirable

# 3. Méthodes de glycosylation chimique

## Glycosylation par SN au carbone anomérique : *glycosyls iodides*

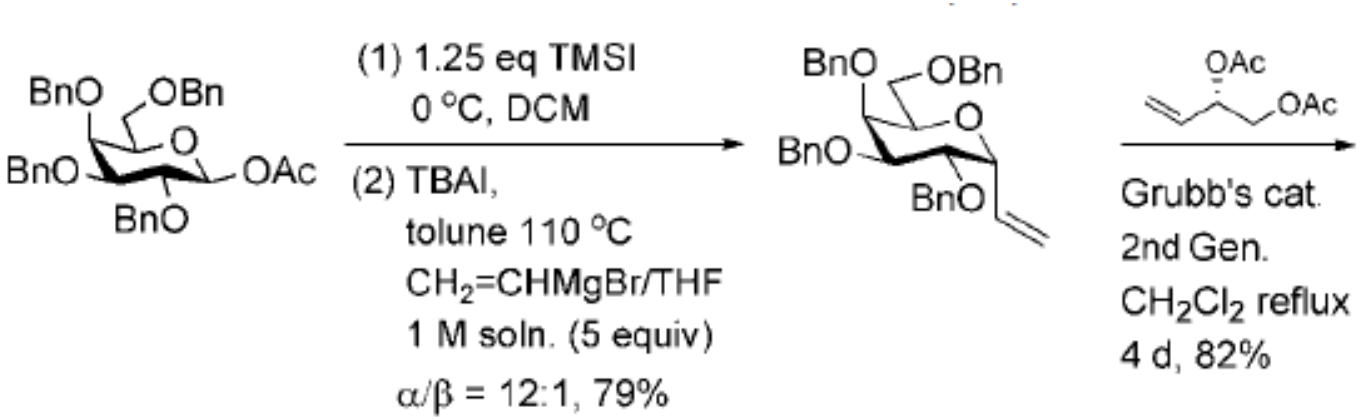
- Exemples de synthèses α-stéréosélectives – glycolipide KRN7000, un immunostimulant

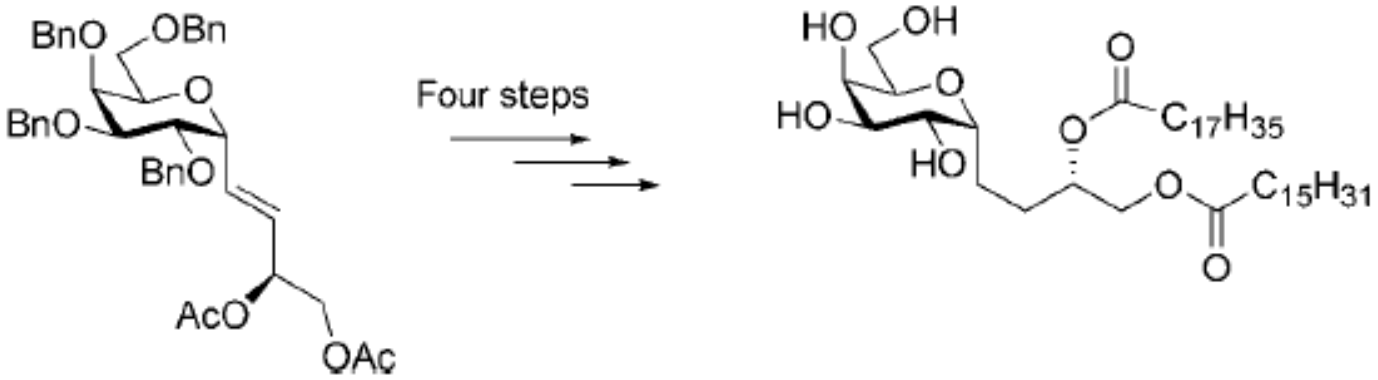


# 3. Méthodes de glycosylation chimique

## Glycosylation par SN au carbone anomérique : *glycosyls iodides*

- Exemples de synthèses α-stéréosélectives – mimes carbonés du glycolipide KRN7000

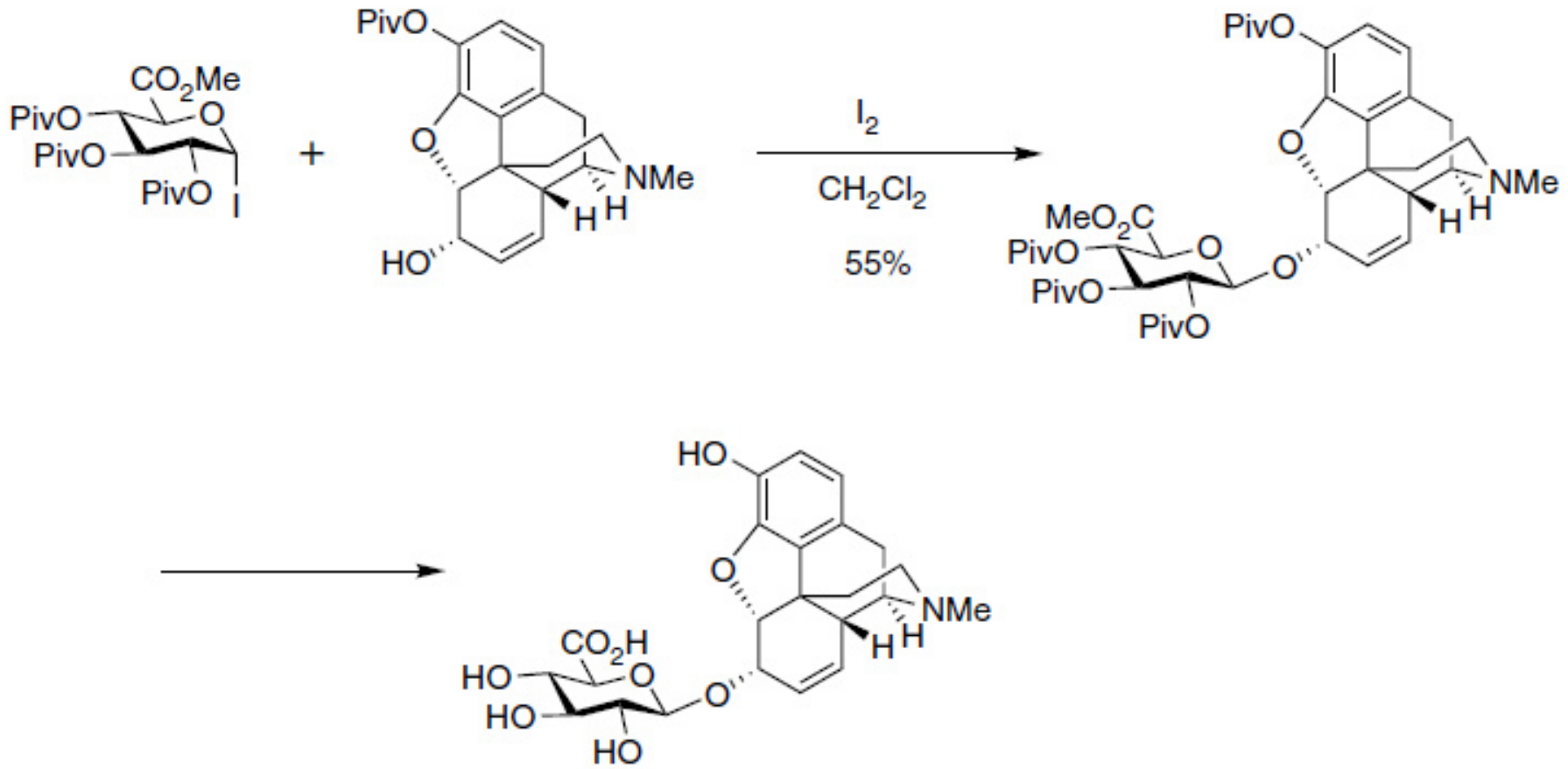


# 3. Méthodes de glycosylation chimique

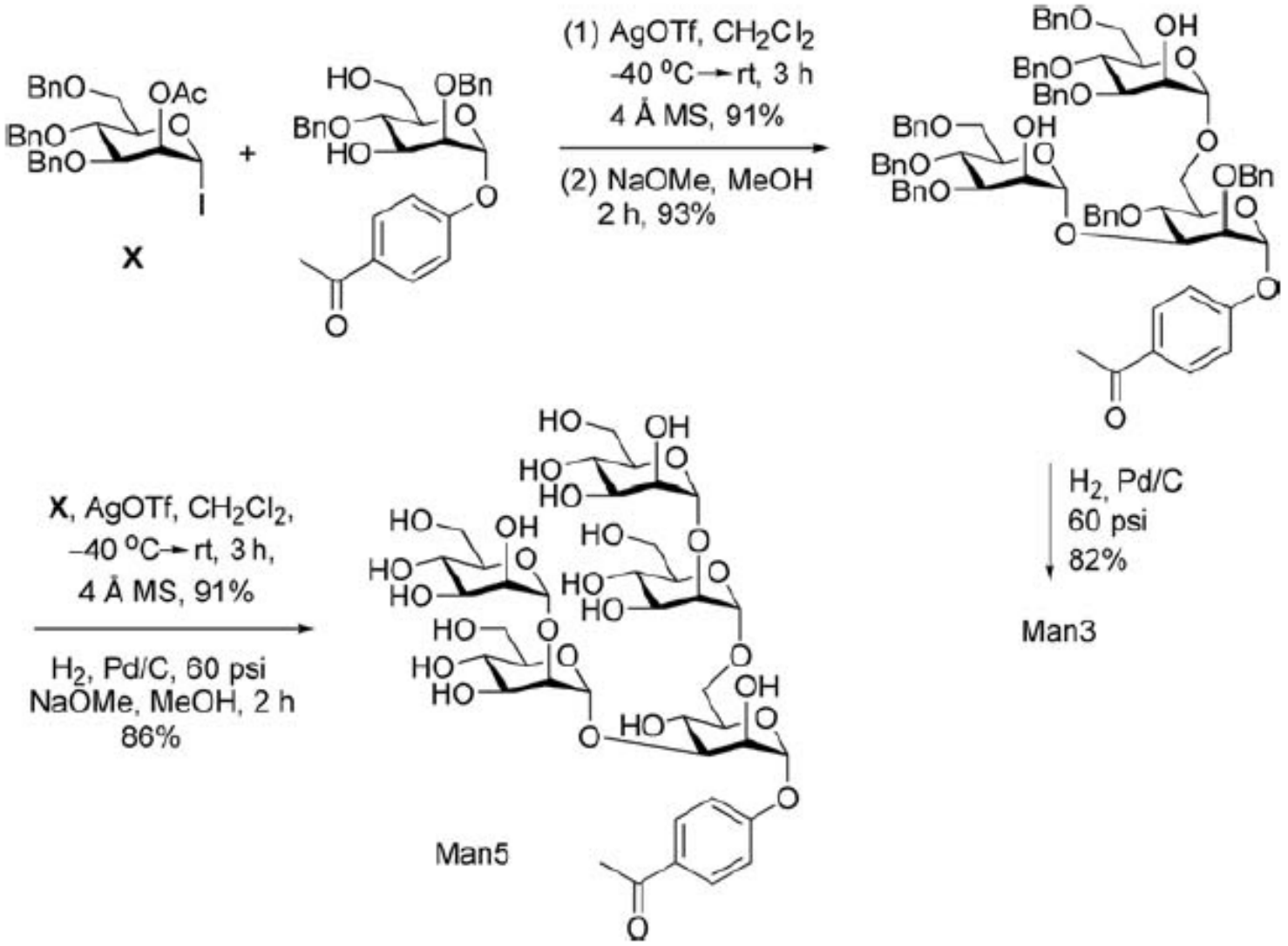
## Glycosylation par SN au carbone anomérique : *glycosyls iodides*

- Exemples de synthèses β-stéréosélectives – synthèse de la morphine-6-glucuronide



# 3. Méthodes de glycosylation chimique

**Synthèse du pentasaccharide Man5 : *utilisation des iodides***

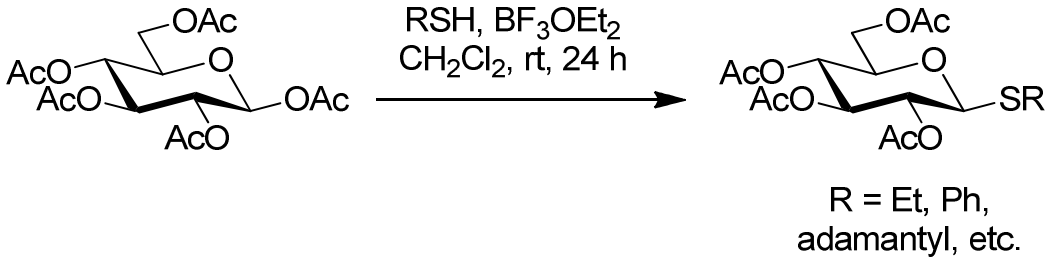


# 3. Méthodes de glycosylation chimique

## Glycosylation par SN au carbone anomérique : *thioglycosides*

- Thioglycosides à la fois groupements protecteurs et activants !
- Méthodes de préparation des thioglycosides

*méthode standard*



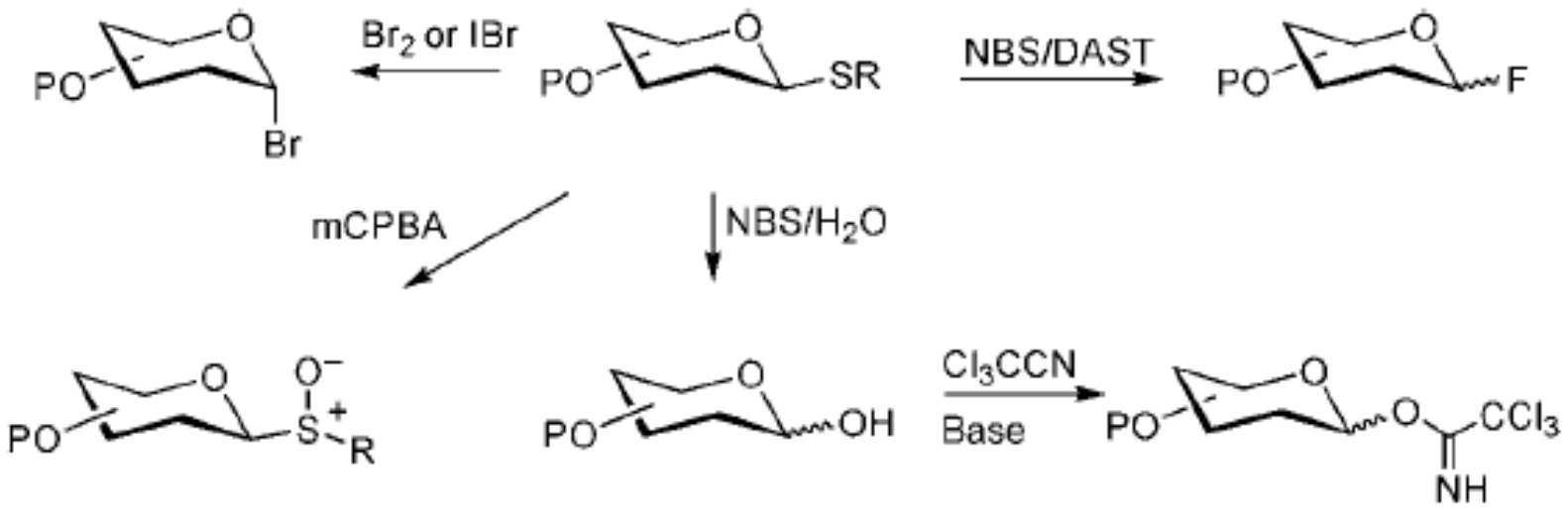

*autres méthodes*

| Starting material | Reagents |
|---|---|
| Peracetylated hexapyranoside | Thiol, (Lewis) acid |
| Acylated glycosyl halide | Thiolate anion |
| Acylated glycosyl halide | (i) (a) Thiourea (b) $H_2O$, $K_2CO_3$, (ii) alkylation |
| Acylated glycosyl halide | (i) Thioacetamide, (ii) RBr, phase transfer catalyst |
| Unprotected sugar | $Ac_2O$, acid, arene thiols |
| Dithioacetal | (i) Partial hydrolysis, (ii) alkylation |
| Acylated 1-thioaldose | Alkyl halides |
| Acylated 1-thioaldose | (i) Diazonium salt, (ii) ¦ |
| Acylated glycosyl xanthates | Sodium iodide |
| Acylated glycosyl thiocyanates | Grignard reagent |
| Acylated 1-thioaldoses | Alkene, AIBN |
| 1-*O*-Alkyl glycosides | $PhSSiMe_3$, $ZnI_2$, $Bu_4NI$ |

# 3. Méthodes de glycosylation chimique

**Glycosylation par SN au carbone anomérique : *thioglycosides***

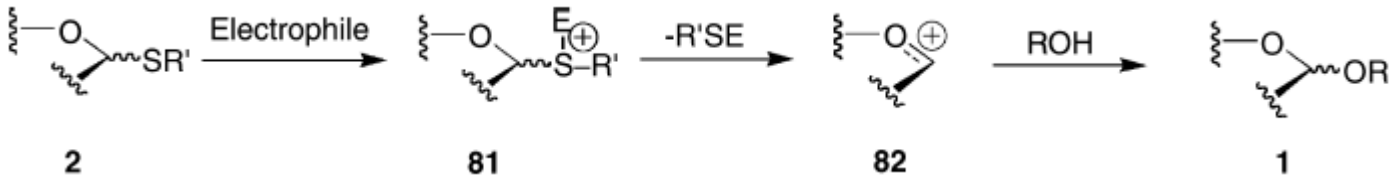
- Interconversion des thioglycosides en glycosyls donneurs



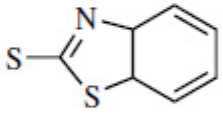
# 3. Méthodes de glycosylation chimique

## Glycosylation par SN au carbone anomérique : *thioglycosides*

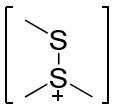
- Activation des thioglycosides




**2** **81** **82** **1**

| Activator | SR |
|---|---|
| $HgSO_4$ | SPh |
| $HgCl_2$ | SEt, SPh |
| PdHgOTf | SPh |
| $Hg(OBz)_2$ | SPh |
| $Hg(NO_3)_2$ | SPh |
| $Cu(OTf)_2$ |  |
| $Pd(ClO_4)_2$ | SPy |
| $CuBr_2/Bu_4NBr/AgOTf$ | SMe, SEt |
| PhSeOTf | SMe |
| *N*-(Phenylseleno) phthalimide/TMSOTf | SMe, SPh |

| Activator | SR |
|---|---|
| $AgOTf/Br_2$ | SEt |
| NBS | SPh |
| NIS/TfOH | SMe, SEt, SPh |
| IDCP | SEt |
| IDCT | SEt |
| $I_2$ | SMe |
| $PhIO/Tf_2O$ | SMe |
| NOBF4 | SMe |
| MeI | SPy |
| MeOTf | SEt |
| PhSOTf | SMe, SEt, SPh |
| DMTST | SMe, SEt, SPh |

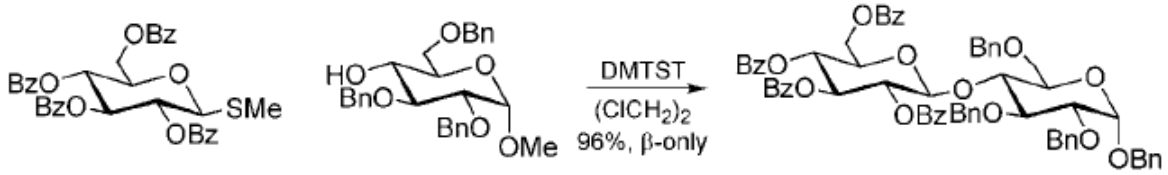
DMTST =  $^-OTf$

# 3. Méthodes de glycosylation chimique

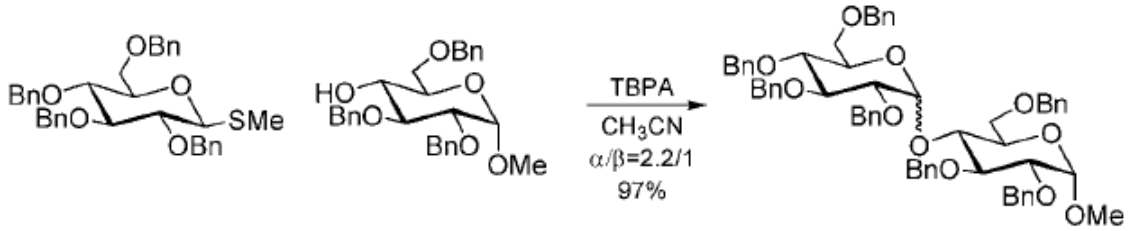
## Glycosylation par SN au carbone anomérique : *thioglycosides*

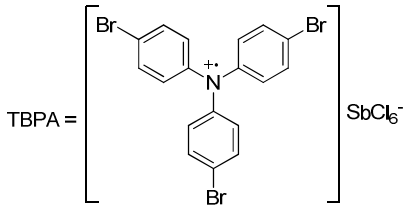
- Régiosélectivité des glycosylation avec thioglycosides

**participation**

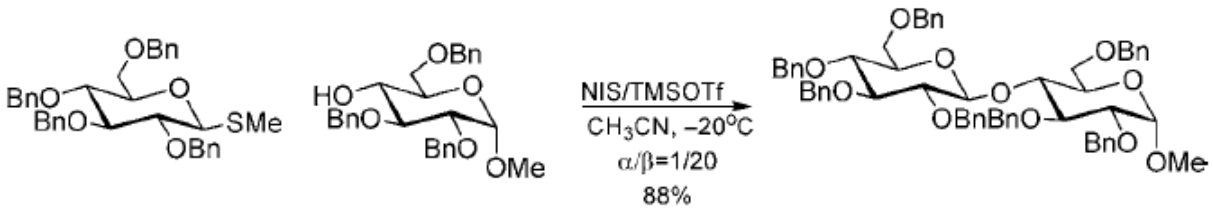



**effet anomérique**

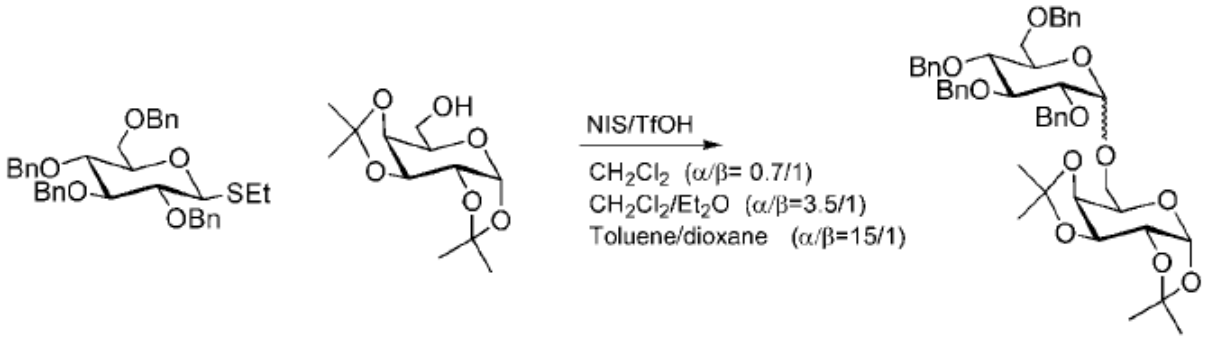



**effet solvant**



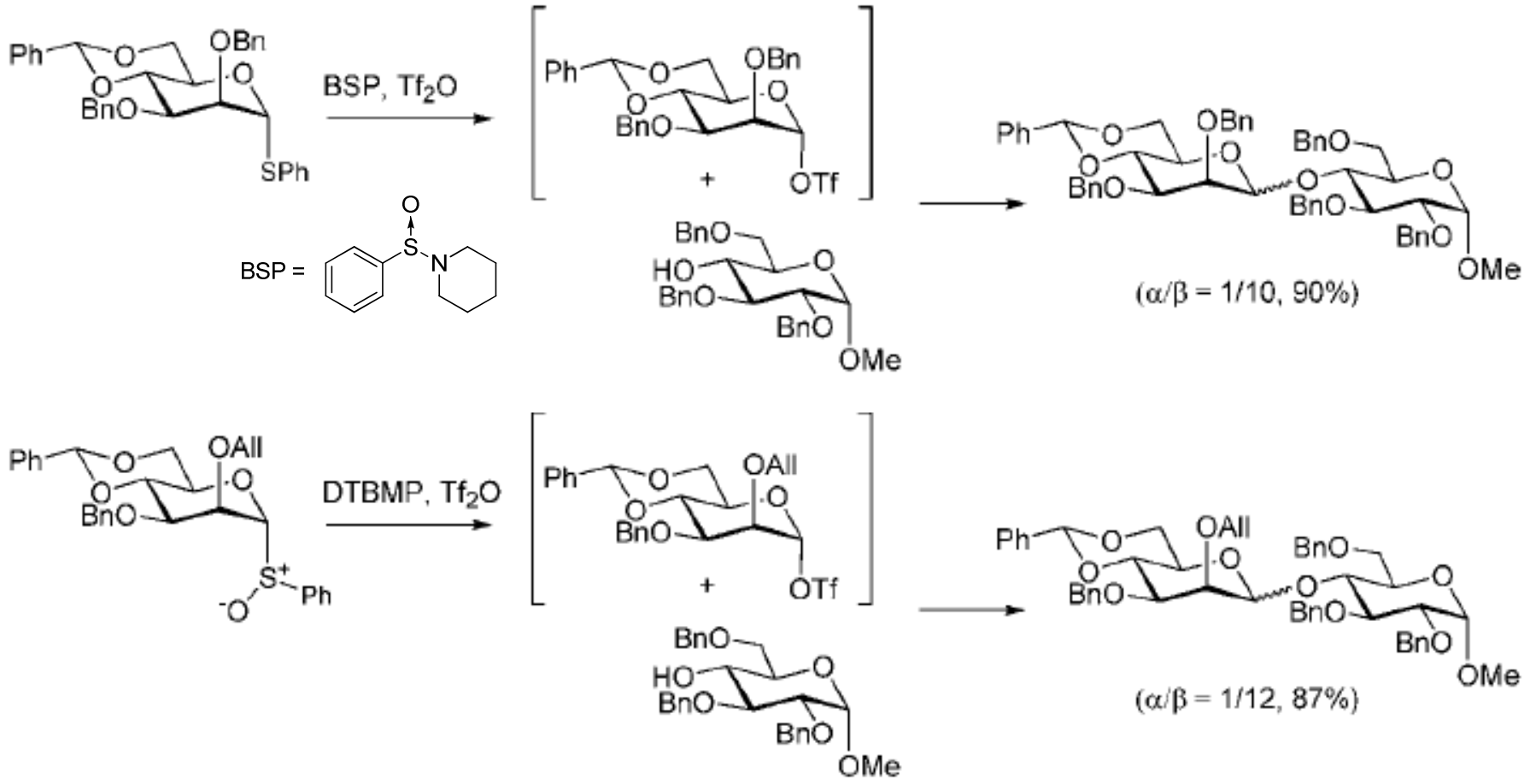

**effet solvant**



# 3. Méthodes de glycosylation chimique

## Glycosylation par SN au carbone anomérique : *thioglycosides*

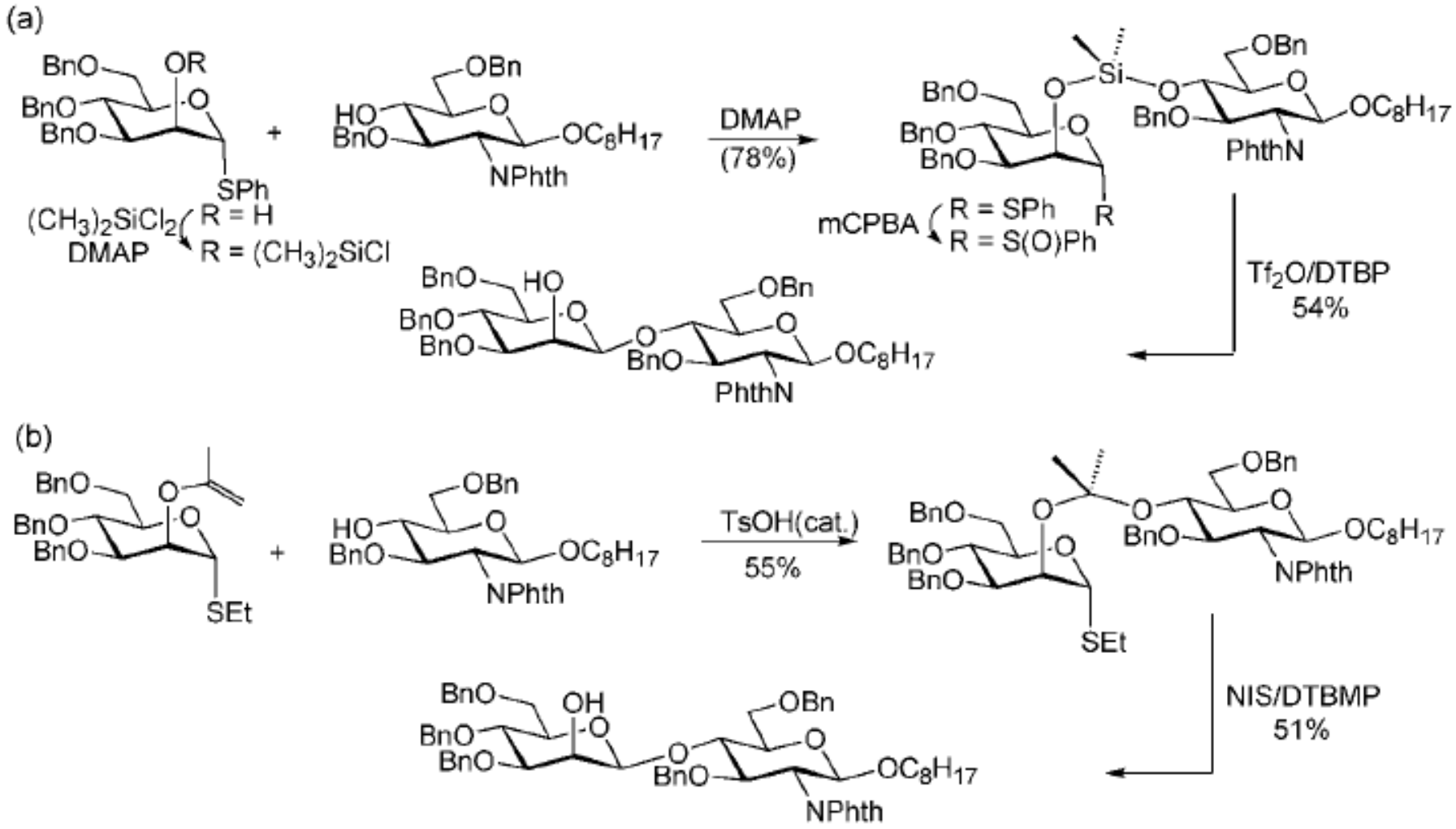
- Synthèse régiosélective de β-D-mannosides à partir des intermédiaires triflates



# 3. Méthodes de glycosylation chimique

## Glycosylation par SN au carbone anomérique : *thioglycosides*

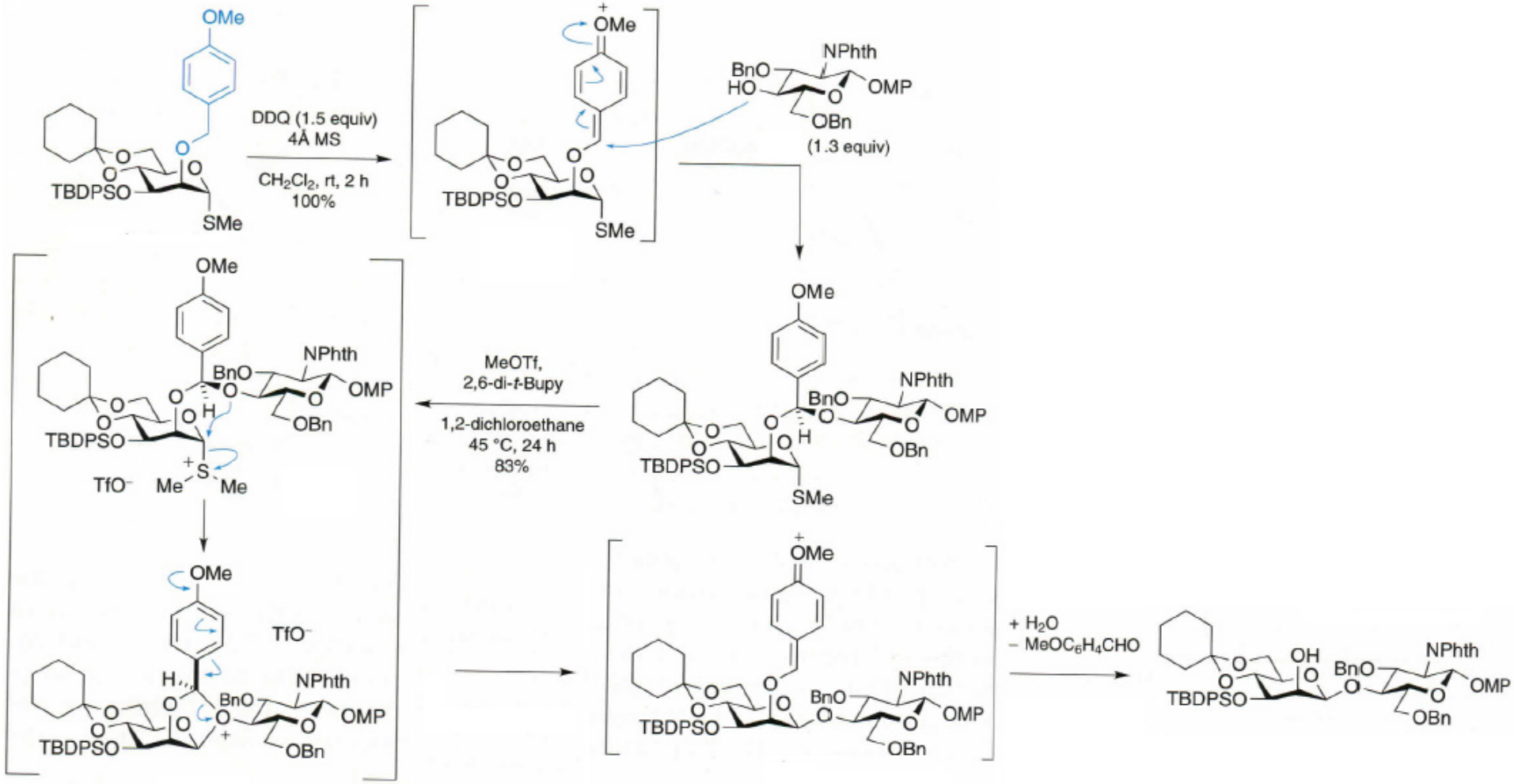
- Glycosylation intramoléculaire des thioglycosides pour la synthèse de β-D-mannosides



# 3. Méthodes de glycosylation chimique

## Glycosylation par SN au carbone anomérique : *thioglycosides*

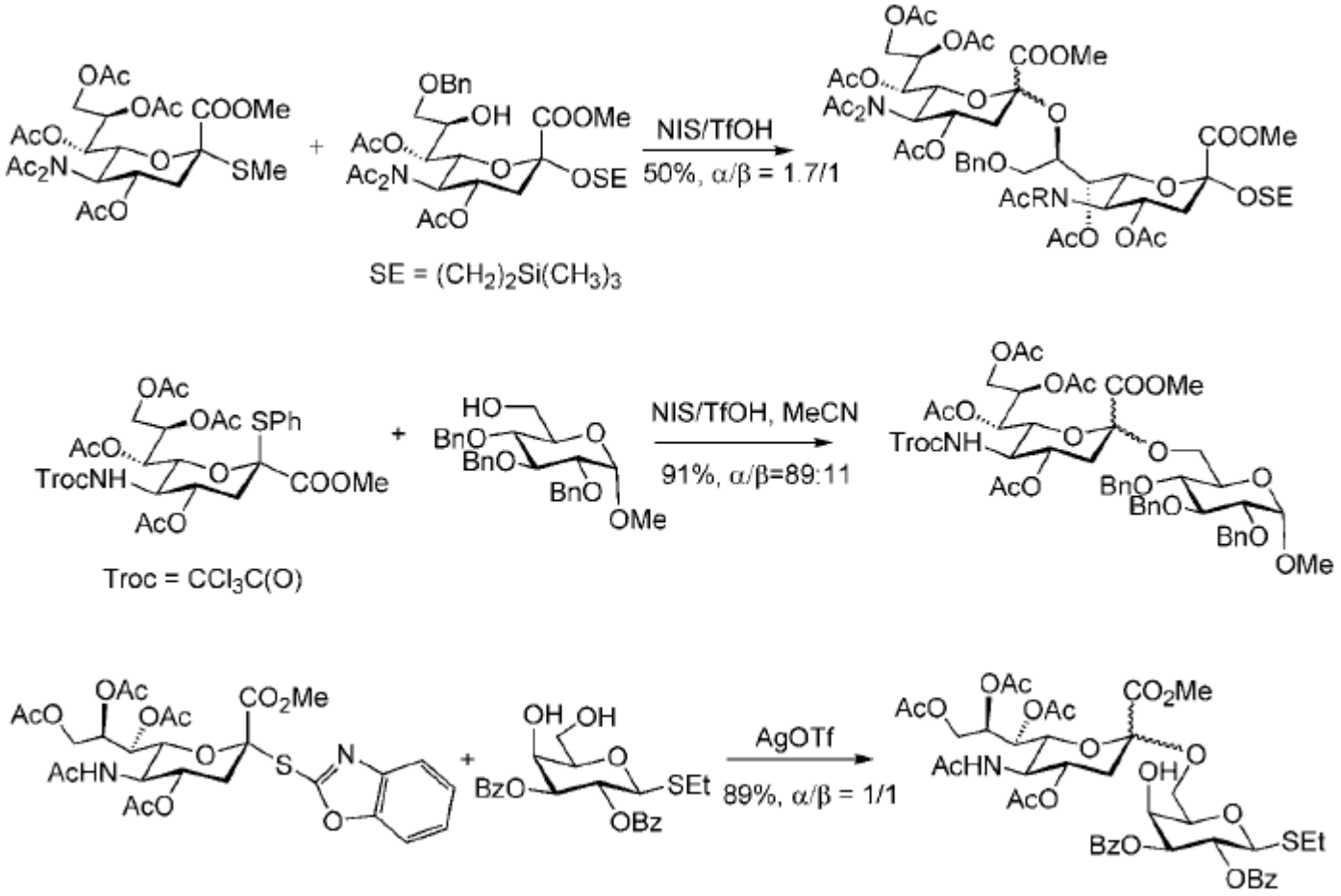
- Glycosylation intramoléculaire des thioglycosides pour la synthèse de β-D-mannosides



# 3. Méthodes de glycosylation chimique

## Glycosylation par SN au carbone anomérique : *thioglycosides*

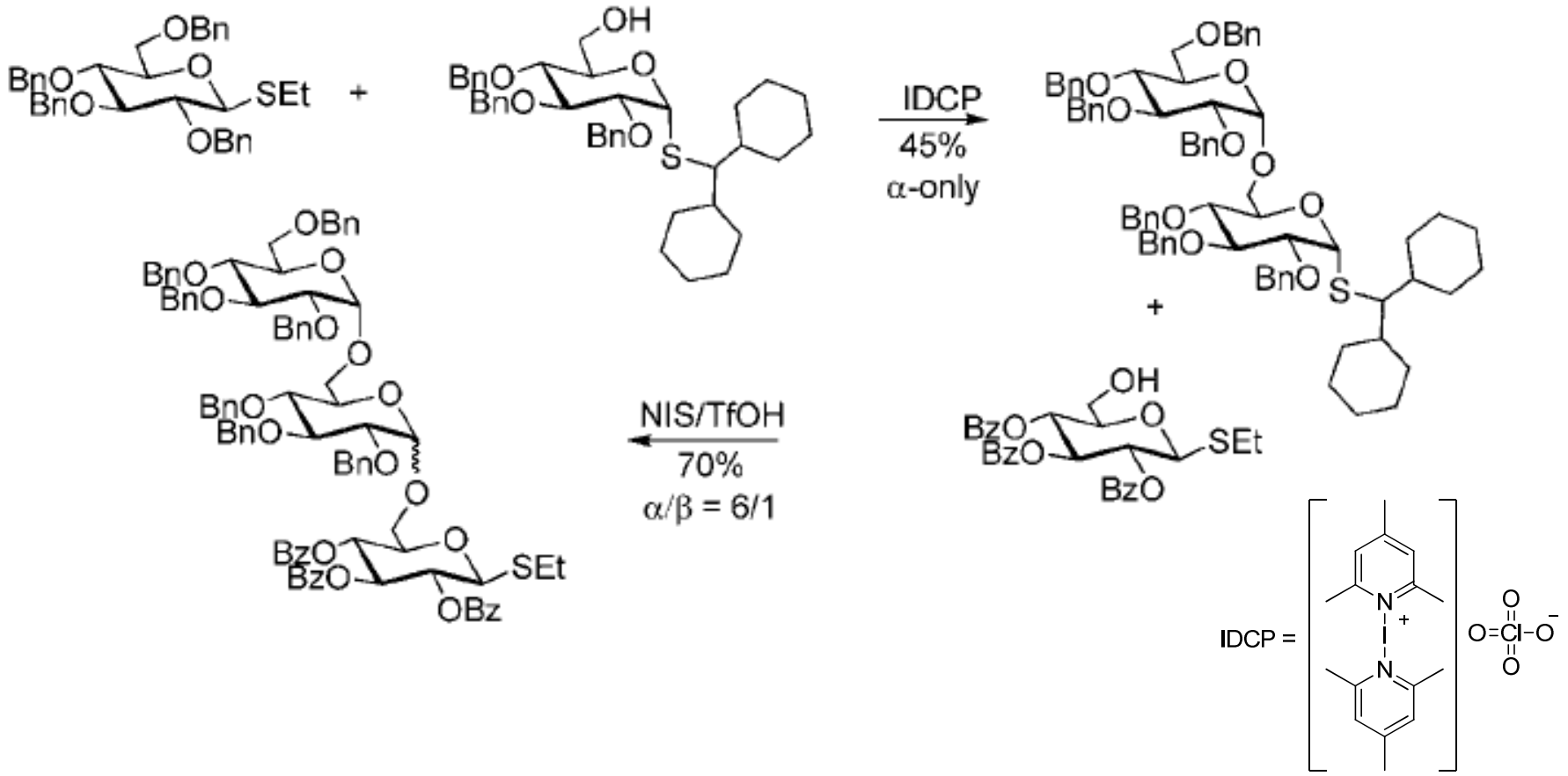
- Thioglycosides pour la synthèse de sialosides (Neu5Ac)



# 3. Méthodes de glycosylation chimique

**Glycosylation par SN au carbone anomérique : *thioglycosides***

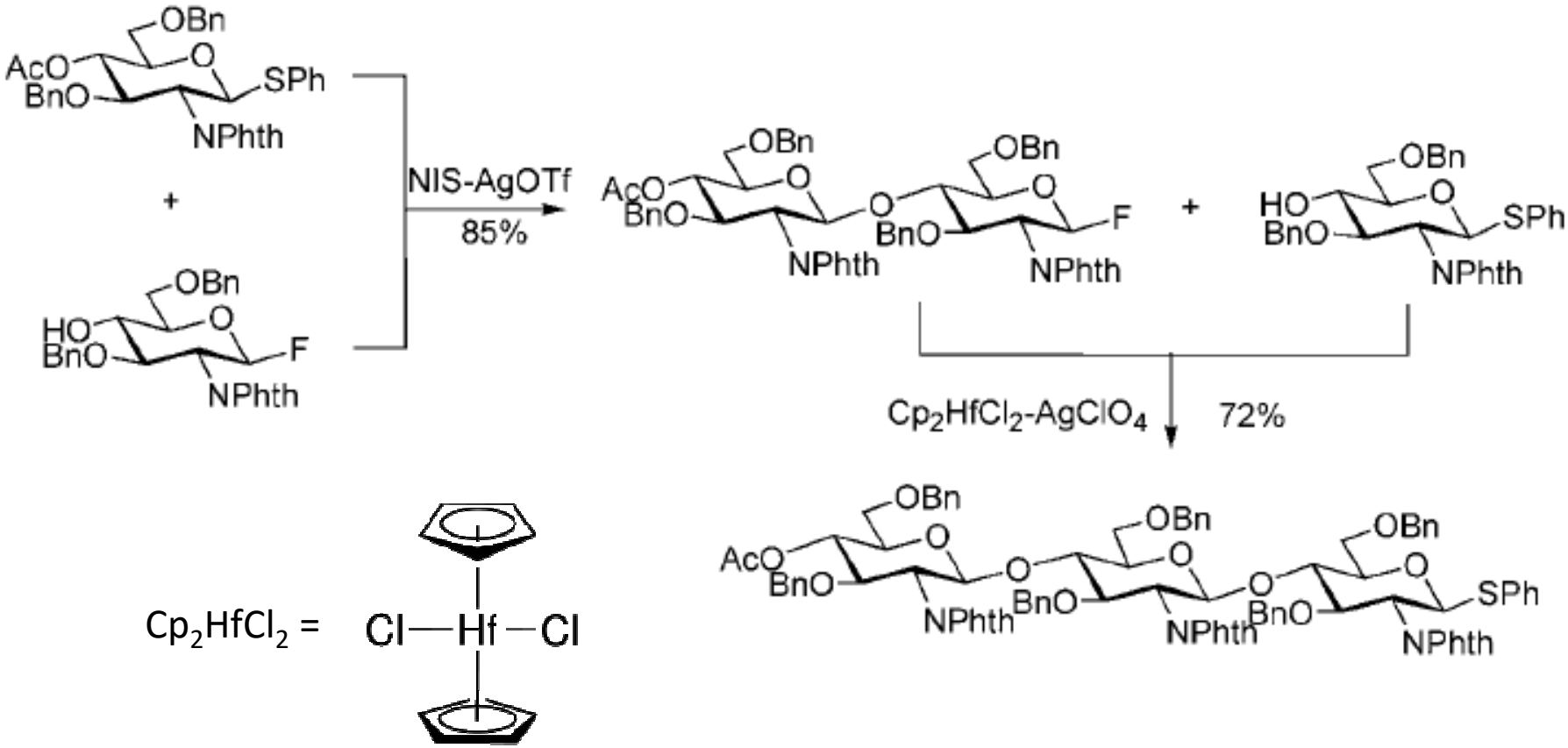
- Thioglycosides stériquement désactivés
- IDCP promoteur plus doux que NIS/TfOH



# 3. Méthodes de glycosylation chimique

## Glycosylation par SN au carbone anomérique : *thioglycosides*

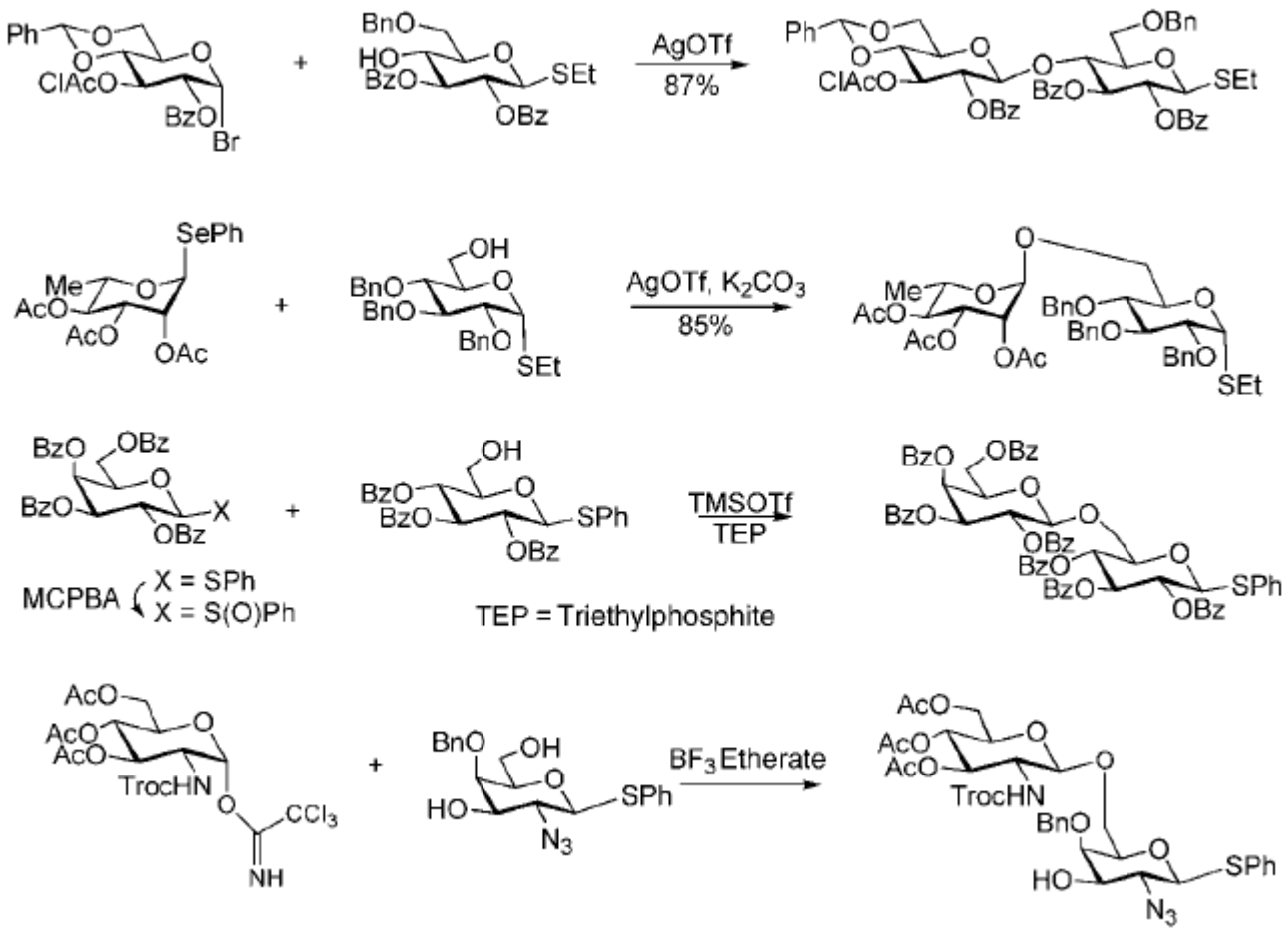
- Activation orthogonale des thioglycosides en présence de fluorides



# 3. Méthodes de glycosylation chimique

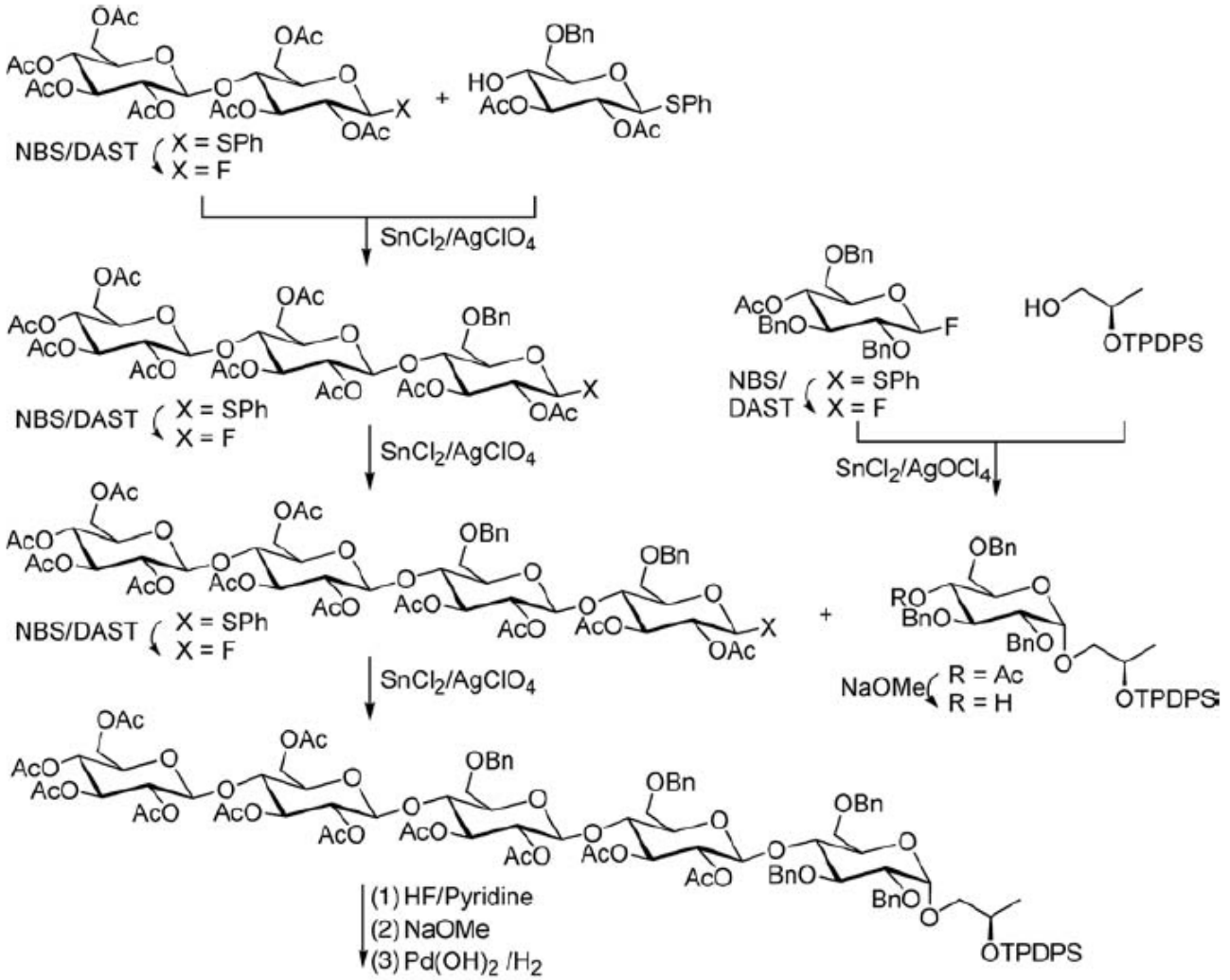
## Glycosylation par SN au carbone anomérique : *thioglycosides*

- Stabilité des thioglycosides en conditions de glycosylation



# 3. Méthodes de glycosylation chimique

**Synthèse d'un pentasaccharide de Glc*pβ*(1→4) : *activation des thioglycosides en fluorides***

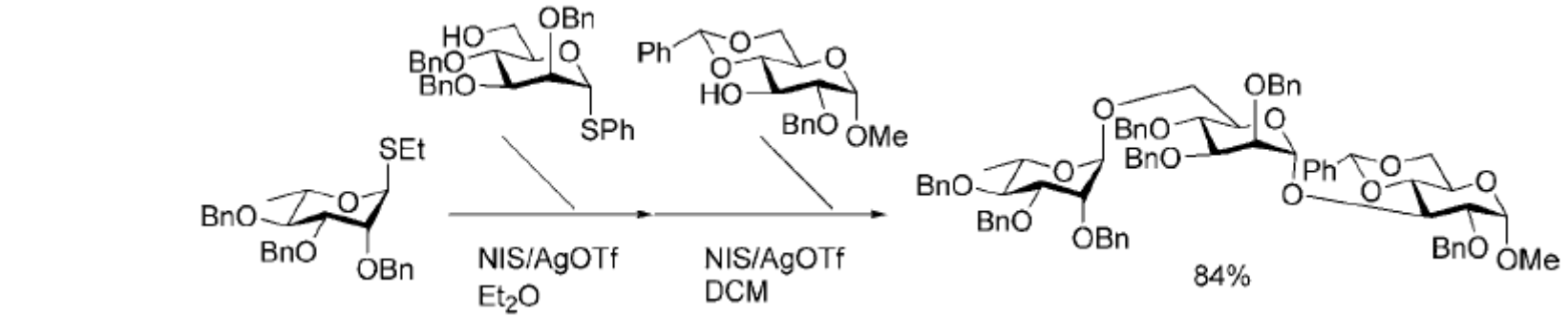


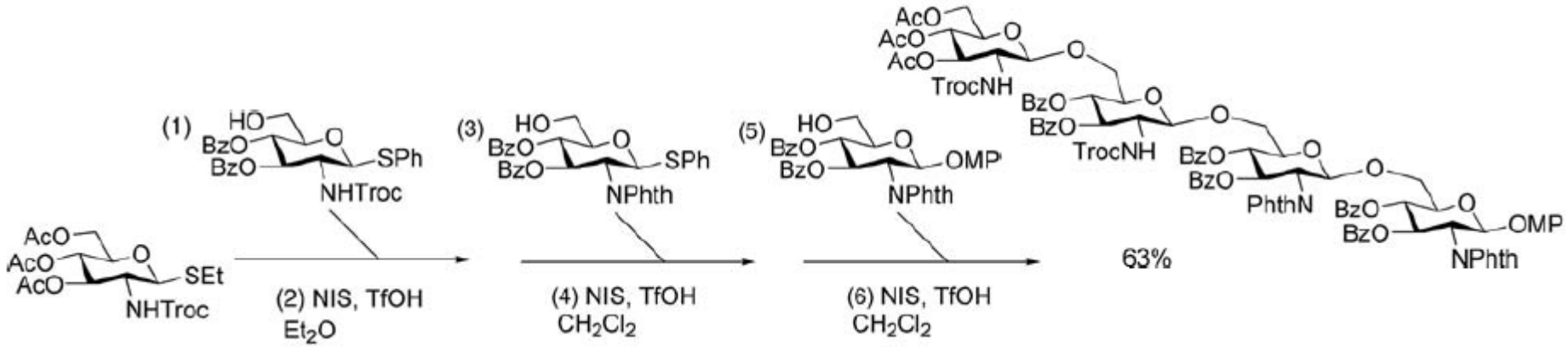

β-D-Glcp-(1-4)-β-D-Glcp-(1-4)-β-D-Glcp-(1-4)-β-D-Glcp-(1-4)-α-D-Glcp-(1-1)-1,2-propane diol

# 3. Méthodes de glycosylation chimique

## Glycosylation par SN au carbone anomérique : *thioglycosides*

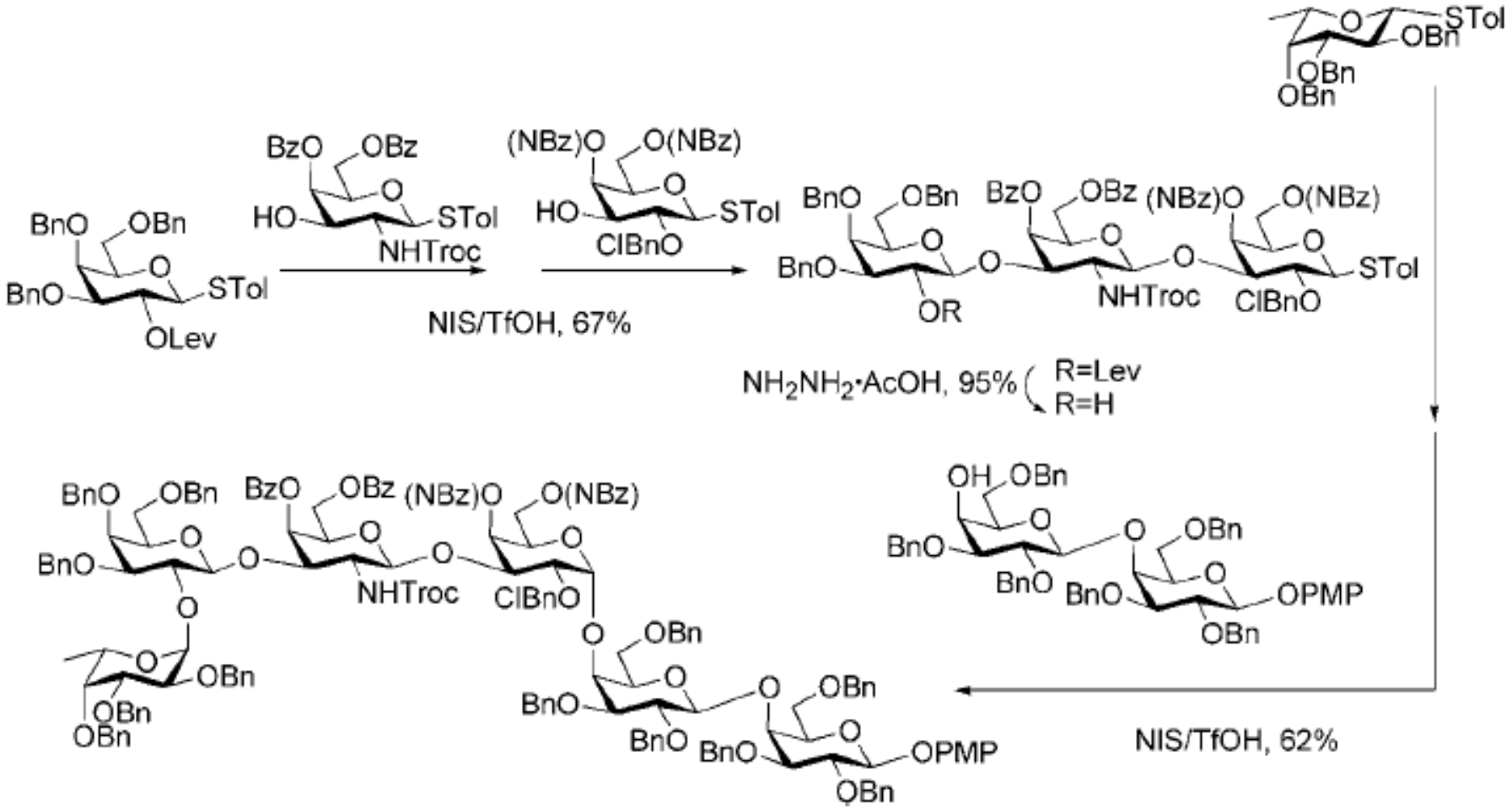
- Synthèse d'oligosaccharides en un seul pot – *effet de réactivité du solvant*



# 3. Méthodes de glycosylation chimique

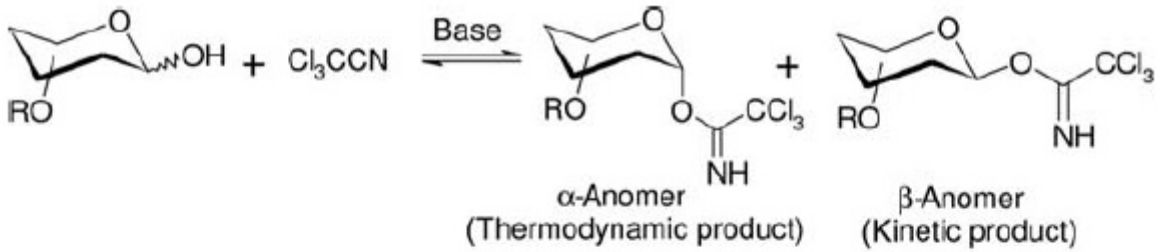
**Synthèse du Globo-H hexasaccharide en un seul pot : *utilisation des thioglycosides STol***

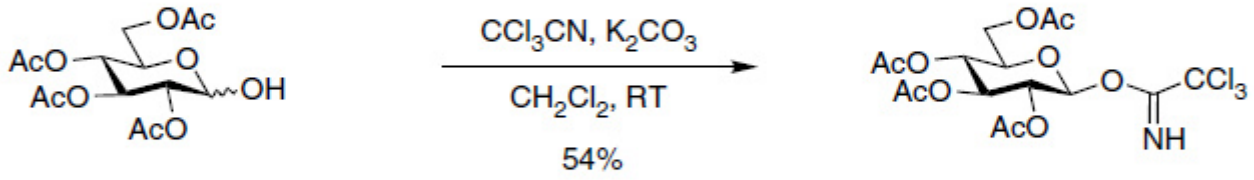


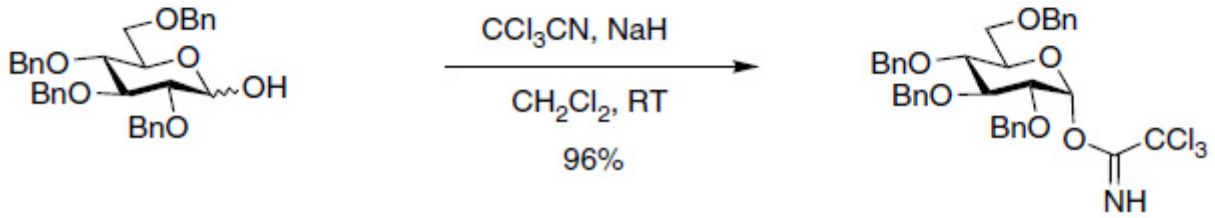
# 3. Méthodes de glycosylation chimique

## Glycosylation par SN au carbone anomérique : *trichloroacétimidates*

- Préparation des trichloroacétimidates (TCA)



# 3. Méthodes de glycosylation chimique

## Glycosylation par SN au carbone anomérique : *trichloroacétimidates*

- Activation des TCA

**Promoter**

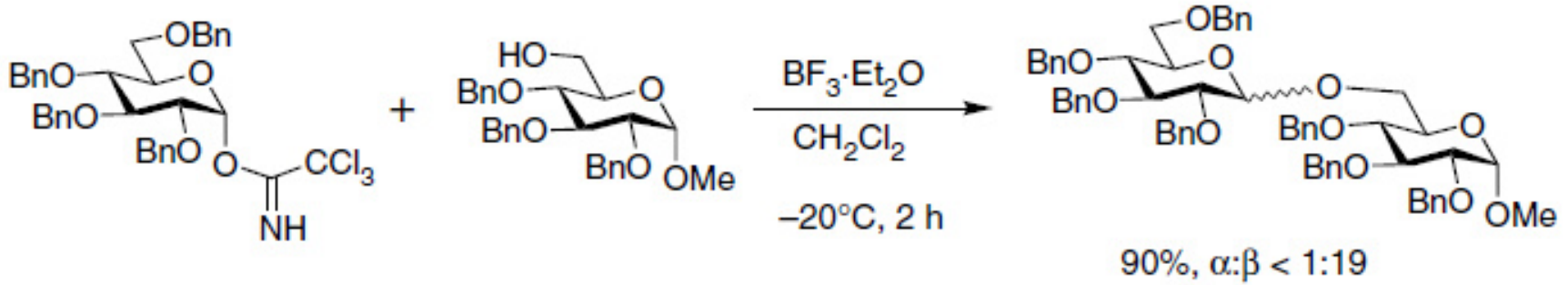
| | |
|---|---|
| *p*TsOH | $Sn(OTf)_2$ |
| $BF_3{\cdot}Et_2O$ | $Sm(OTf)_3$ |
| TMSOTf | $Yb(OTf)_3$ |
| TfOH | $Cu(OTf)_2$ |
| PPTS | $HClO_4$ |
| $ZnBr_2$ | $HB(C_6F_5)_4$ |
| $CCl_3CHO$ | $I_2$–$Et_3SiH$ |
| $LiClO_4$ | $I_2$ |
| AgOTf | MS AW 300 |
| | Acylsulfonamides |

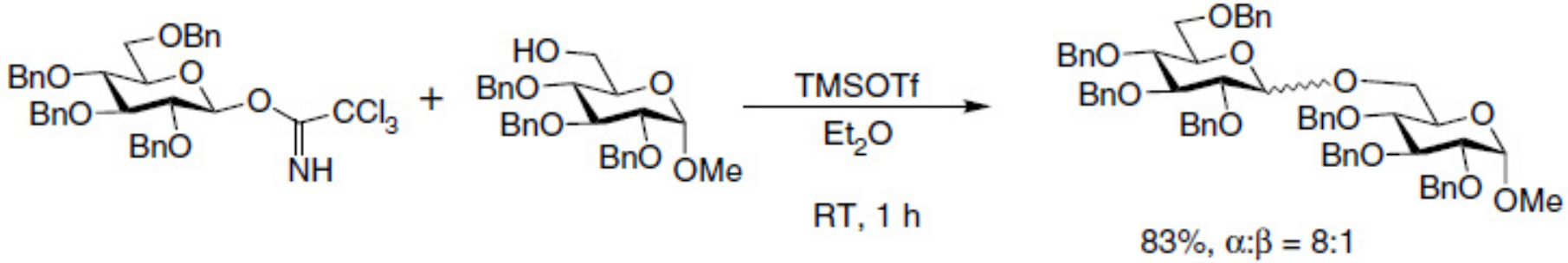
**acides de Lewis ou de Brönsted**

# 3. Méthodes de glycosylation chimique

**Glycosylation par SN au carbone anomérique : *trichloroacétimidates***

- Glycosylation stéréosélective des TCA – *effet du solvant*

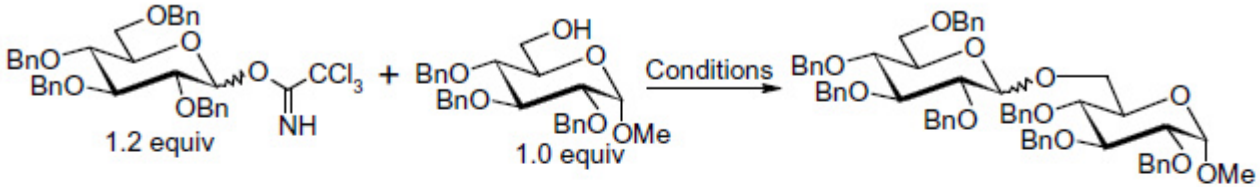


# 3. Méthodes de glycosylation chimique

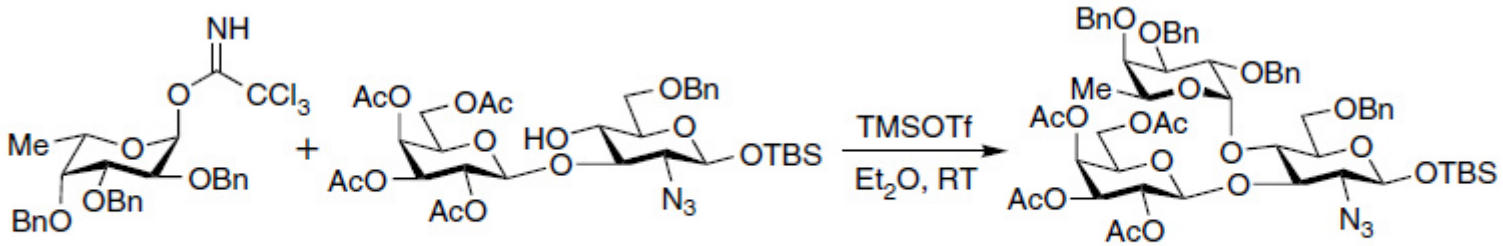
## Glycosylation par SN au carbone anomérique : *trichloroacétimidates*

- Glycosylation stéréosélective des TCA – *effet du promoteur*




| Entry | Conditions | Yield (%) | α/β Ratio |
|---|---|---|---|
| 1 | $HClO_4$, $Et_2O$ | 99 | 91:9 |
| 2 | $HB(C_6F_5)_4$, $Et_2O$ | 97 | 43:57 |
| 3 | $HClO_4$, BTF–$^t$BuCN | 95 | 54:46 |
| 4 | $HB(C_6F_5)_4$, BTF–$^t$BuCN | 97 | 10:90 |

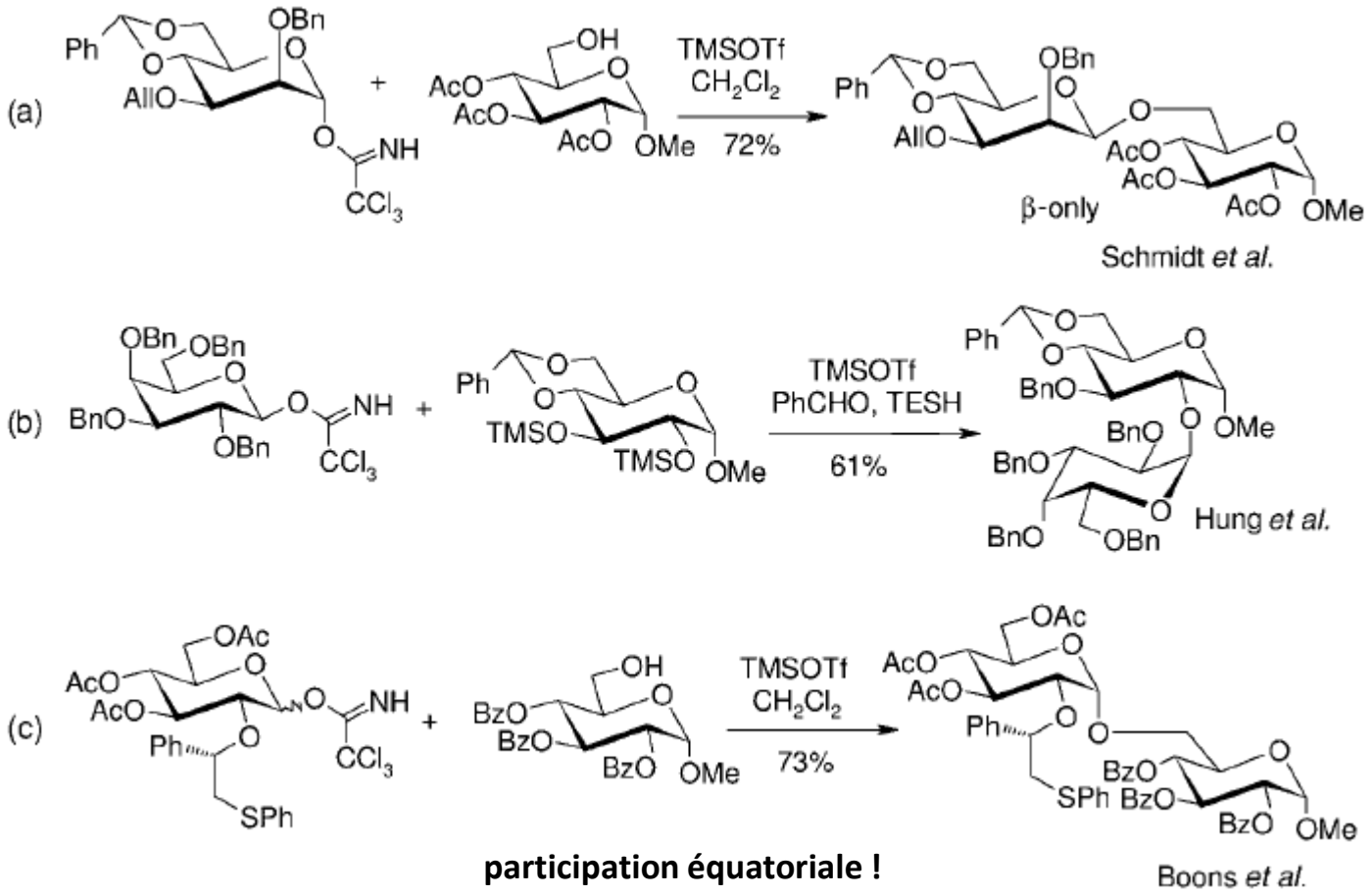
- Glycosylation stéréosélective des TCA – *procédure inverse*



# 3. Méthodes de glycosylation chimique

## Glycosylation par SN au carbone anomérique : *trichloroacétimidates*

- Synthèse de 1,2-*cis*-glycosides



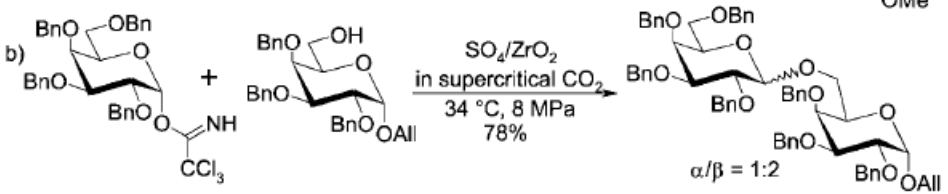
# 3. Méthodes de glycosylation chimique

## Glycosylation par SN au carbone anomérique : *trichloroacétimidates*

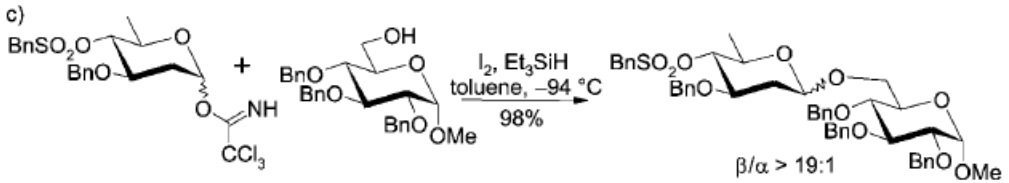
- Nouveaux promoteurs pour les TCA (*green glycosylations*)

**acide supporté sur silice**

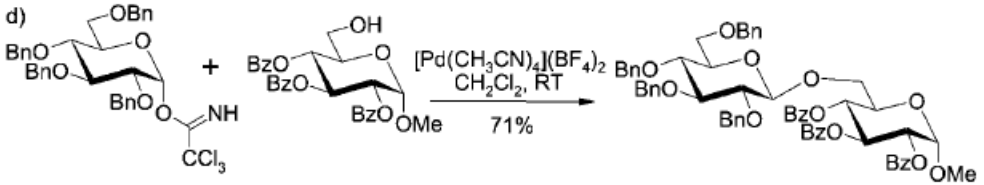
**solide réutilisable dans le $CO_2$ supercritique**



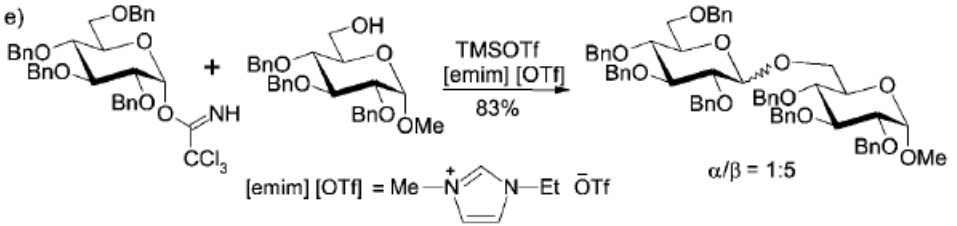

**HI généré *in situ* pour la synthèse de β-2-déoxyglycosides**




**acide de Lewis stable à l'air et à l'humidité**



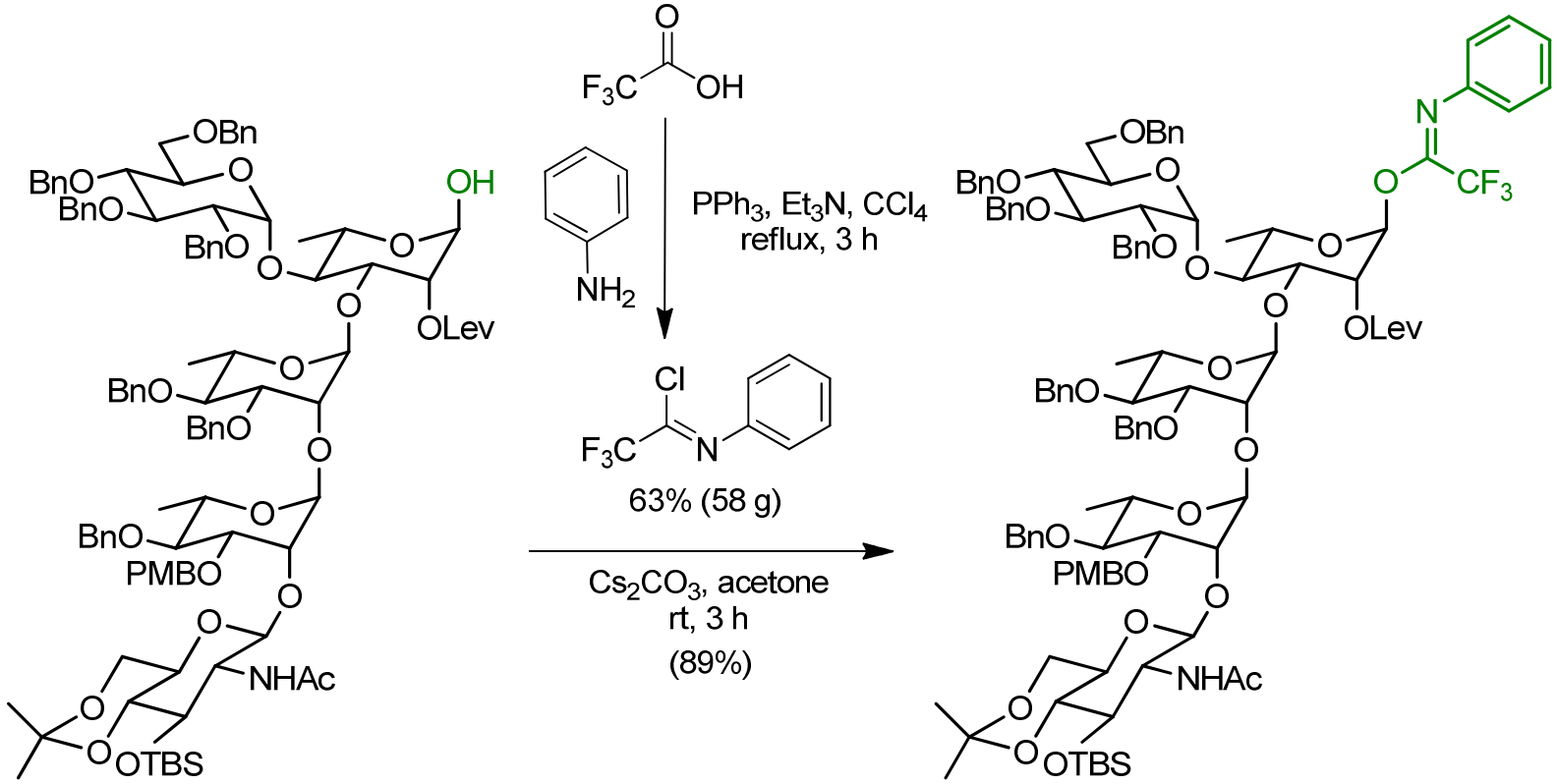

**liquide ionique**



# 3. Méthodes de glycosylation chimique

**Glycosylation par SN au carbone anomérique : *trifluorophénylacétimidates***

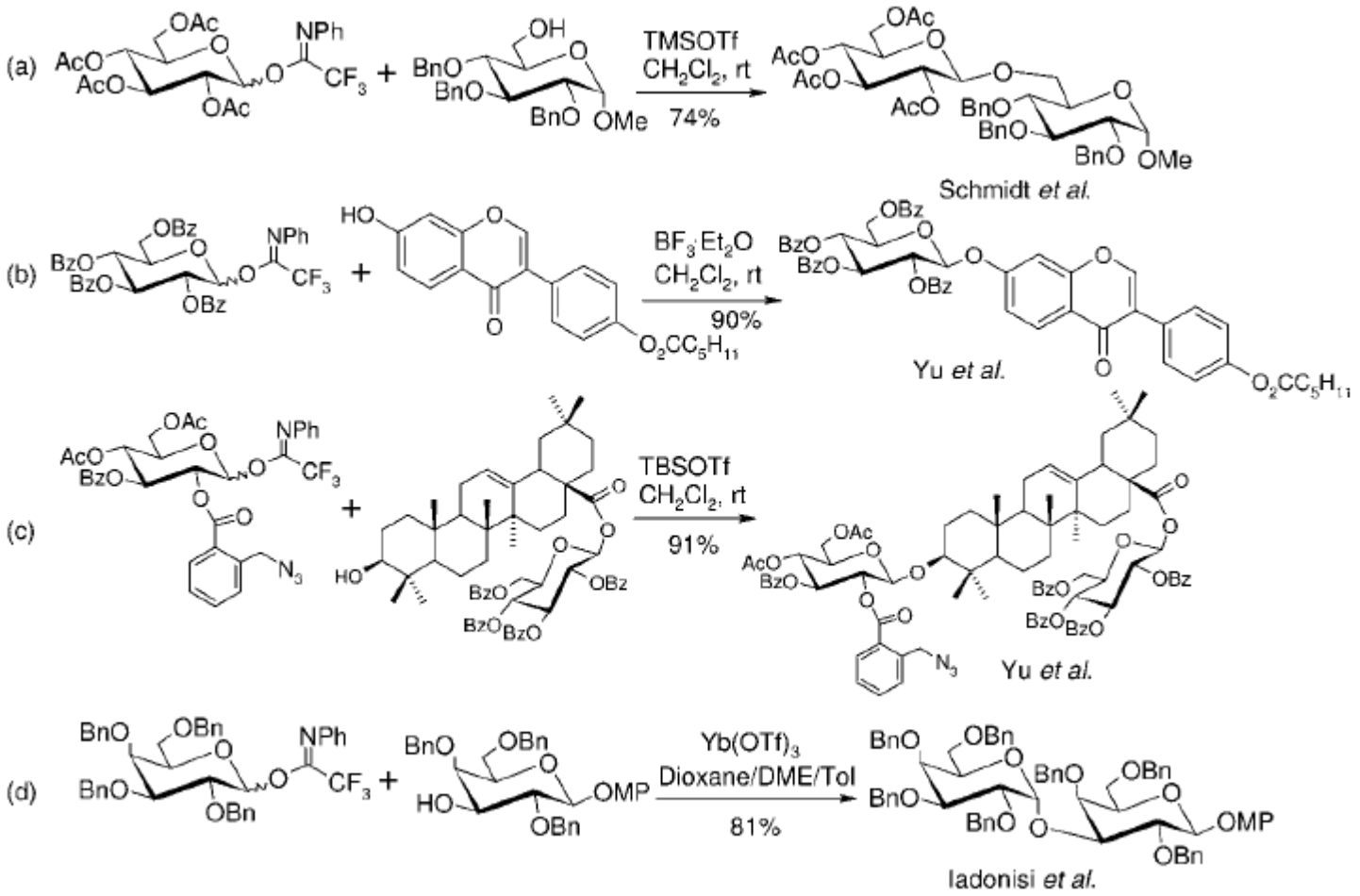
- Préparation des trifluorophénylacétimidates (PTFA)
- Plus stables que les TCA, ne donnent *jamais* le produit de réarrangement
- Activation ? acides plus forts que TCA



# 3. Méthodes de glycosylation chimique

## Glycosylation par SN au carbone anomérique : *trifluorophénylacétimidates*

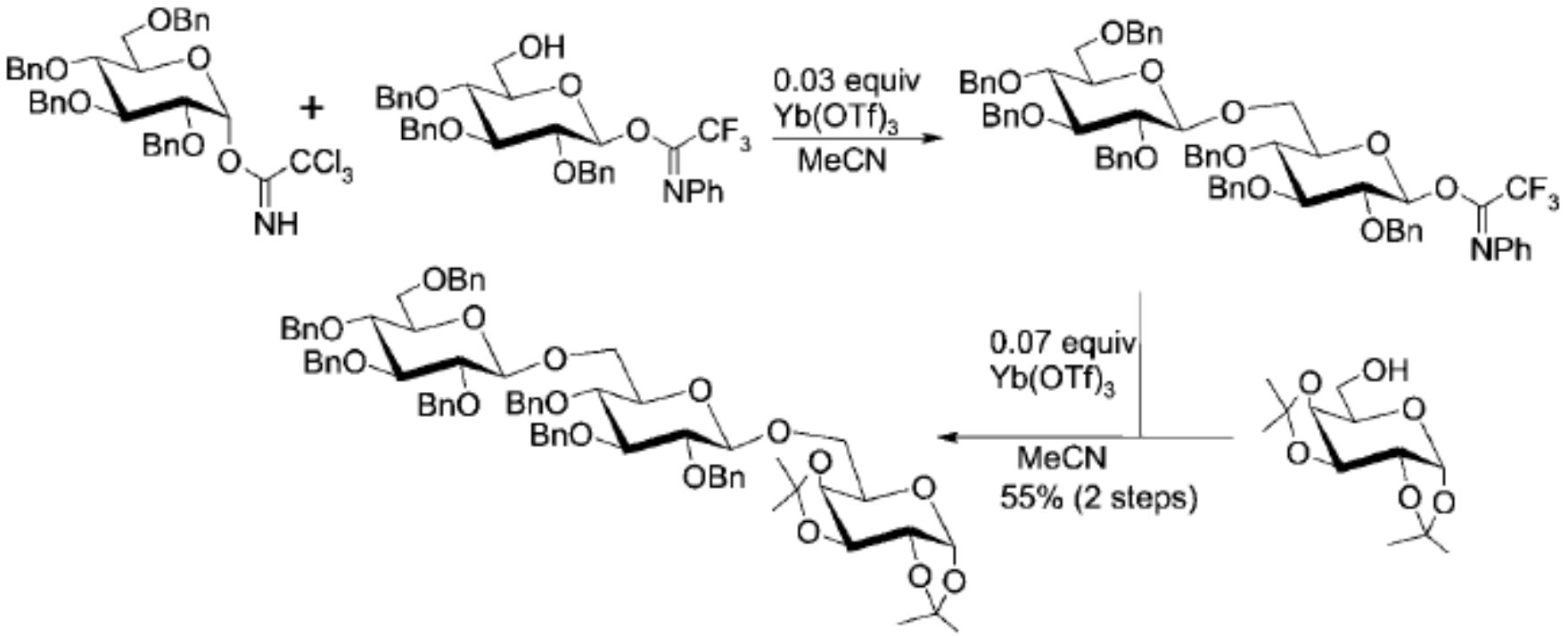
- Exemples d'activation des PTFA



# 3. Méthodes de glycosylation chimique

## Glycosylation par SN au carbone anomérique : *TCA et PTFA*

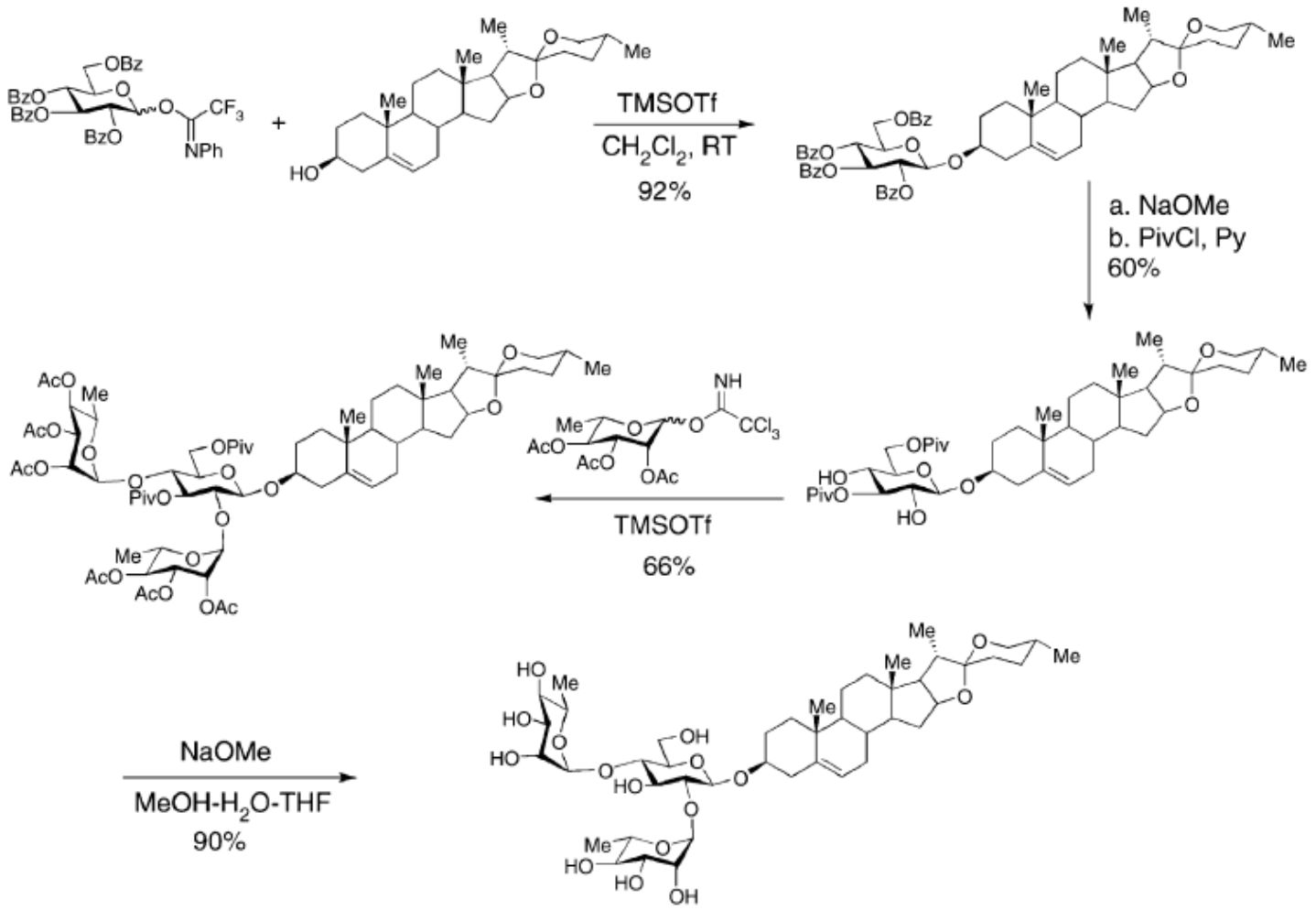
- Activation sélective de TCA en présence de PTFA



# 3. Méthodes de glycosylation chimique

## Glycosylation par SN au carbone anomérique : *TCA et PTFA*

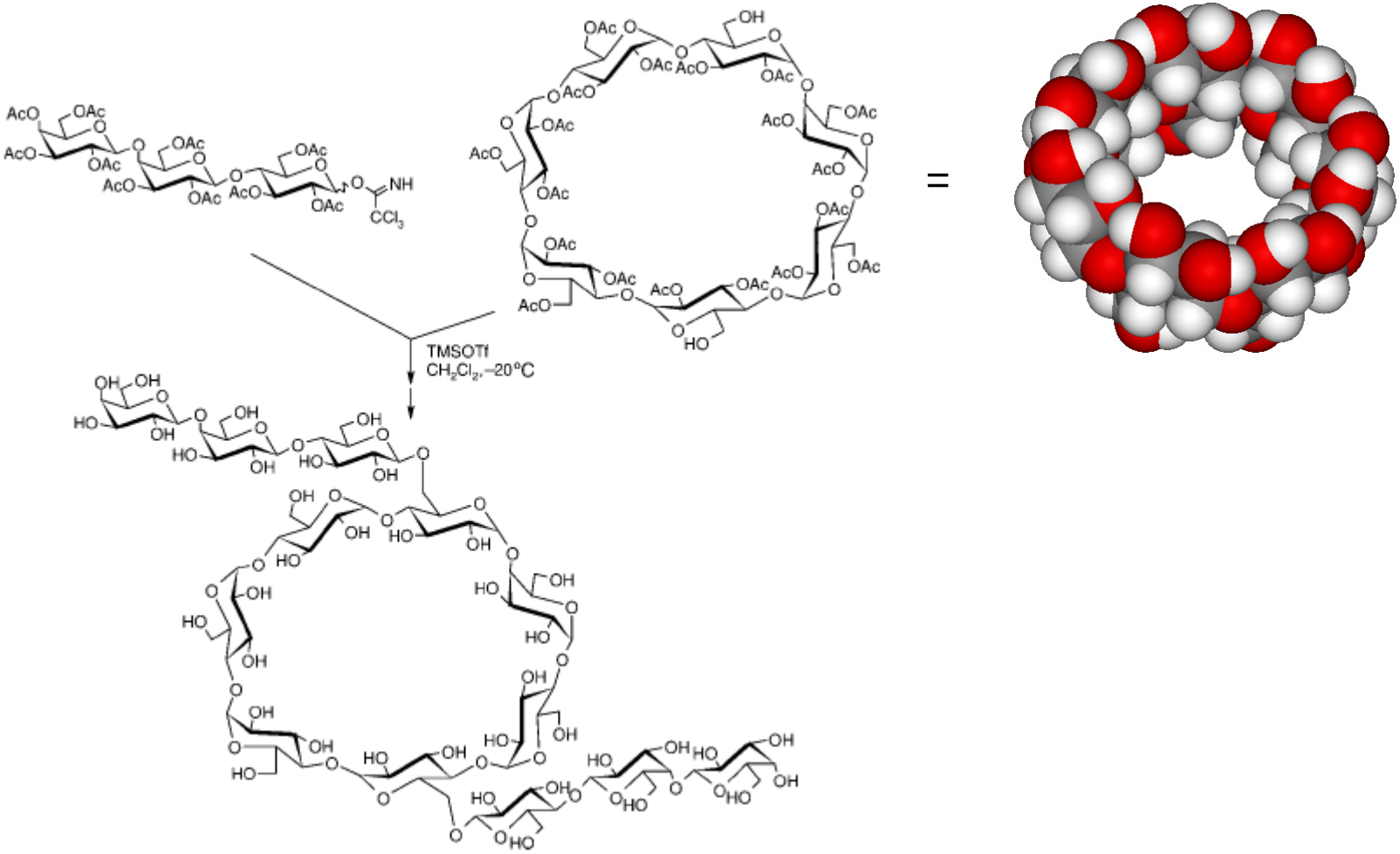
- Application des imidates pour la synthèse d'une saponine triterpénique



# 3. Méthodes de glycosylation chimique

## Glycosylation par SN au carbone anomérique : *TCA et PTFA*

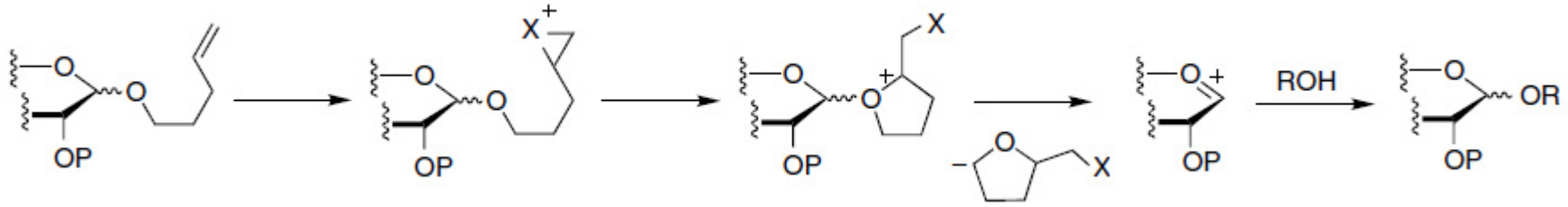
- Application des TCA pour la synthèse d'une $\beta$-cyclodextrine ramifiée



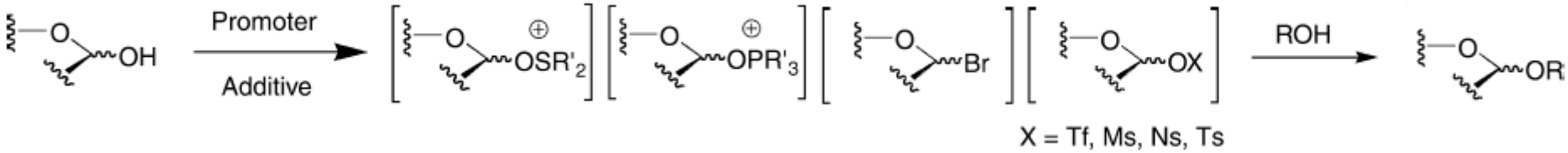
# 3. Méthodes de glycosylation chimique

**Glycosylation par SN au carbone anomérique : *survol des autres glycosyl donors***

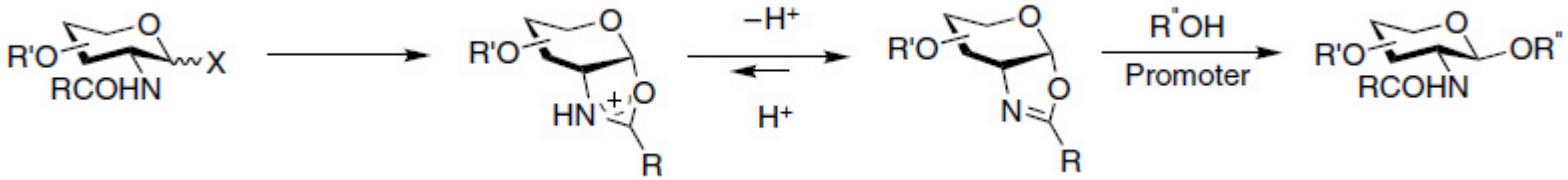
- *n*-Pentenyl glycosides



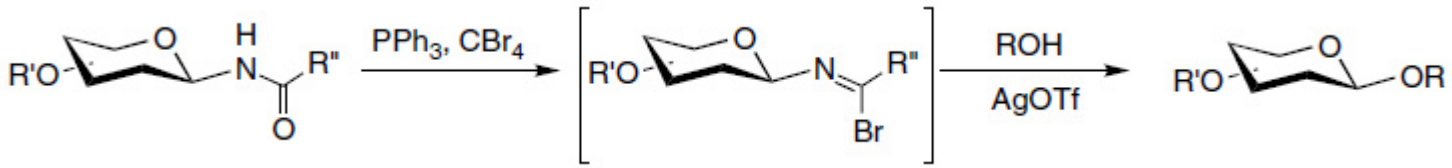

- Hémiacétals




- Oxazolines




- *N*-Glycosyl amides



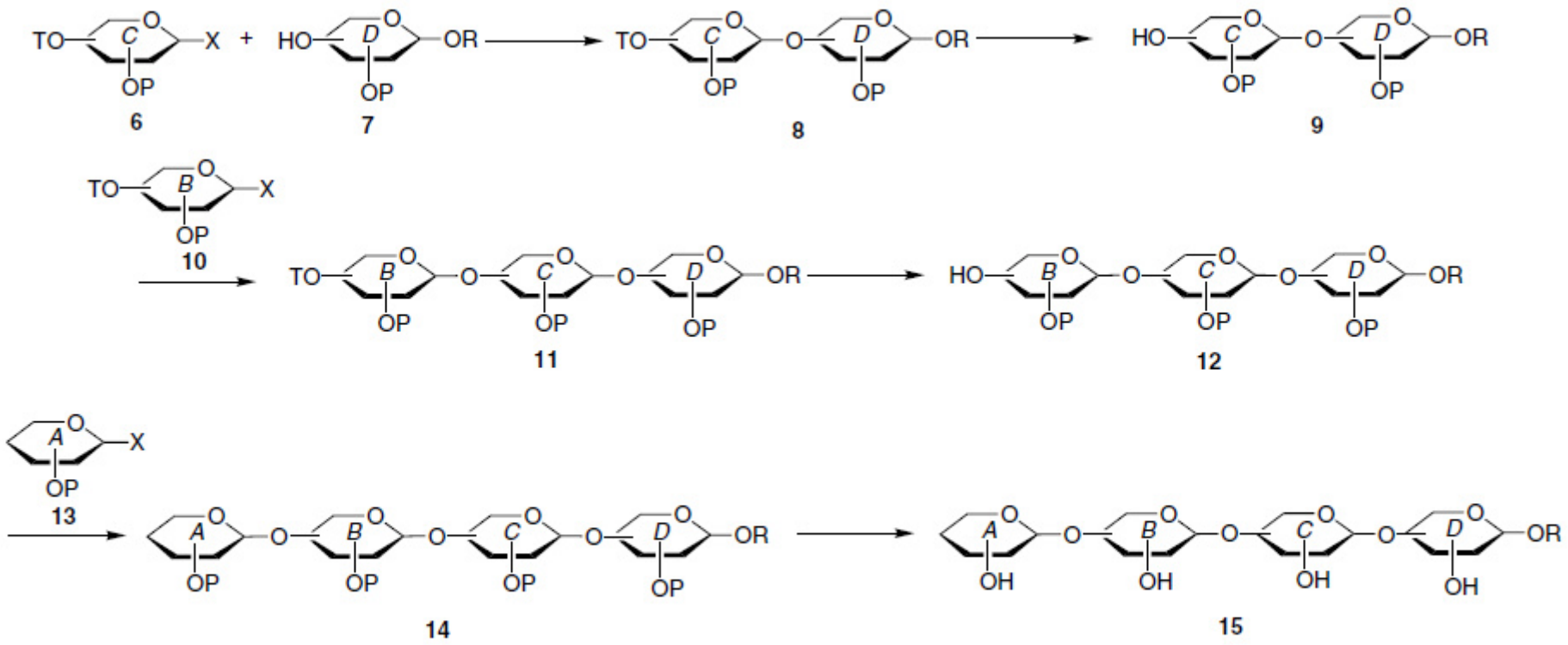
# 4. Synthèse d'oligosaccharides

## Sommaire de la 4e partie

- Synthèse en phase liquide
- Synthèse en phase solide
- Synthèse linéaire d'oligosaccharides
- Stratégies pour la synthèse convergente d'oligosaccharides
- Glycosylation intramoléculaire
- *One-pot* glycosylation/protection
- Synthèse programmable d'oligosaccharides
- Synthèse automatisée d'oligosaccharides

# 4. Synthèse d'oligosaccharides

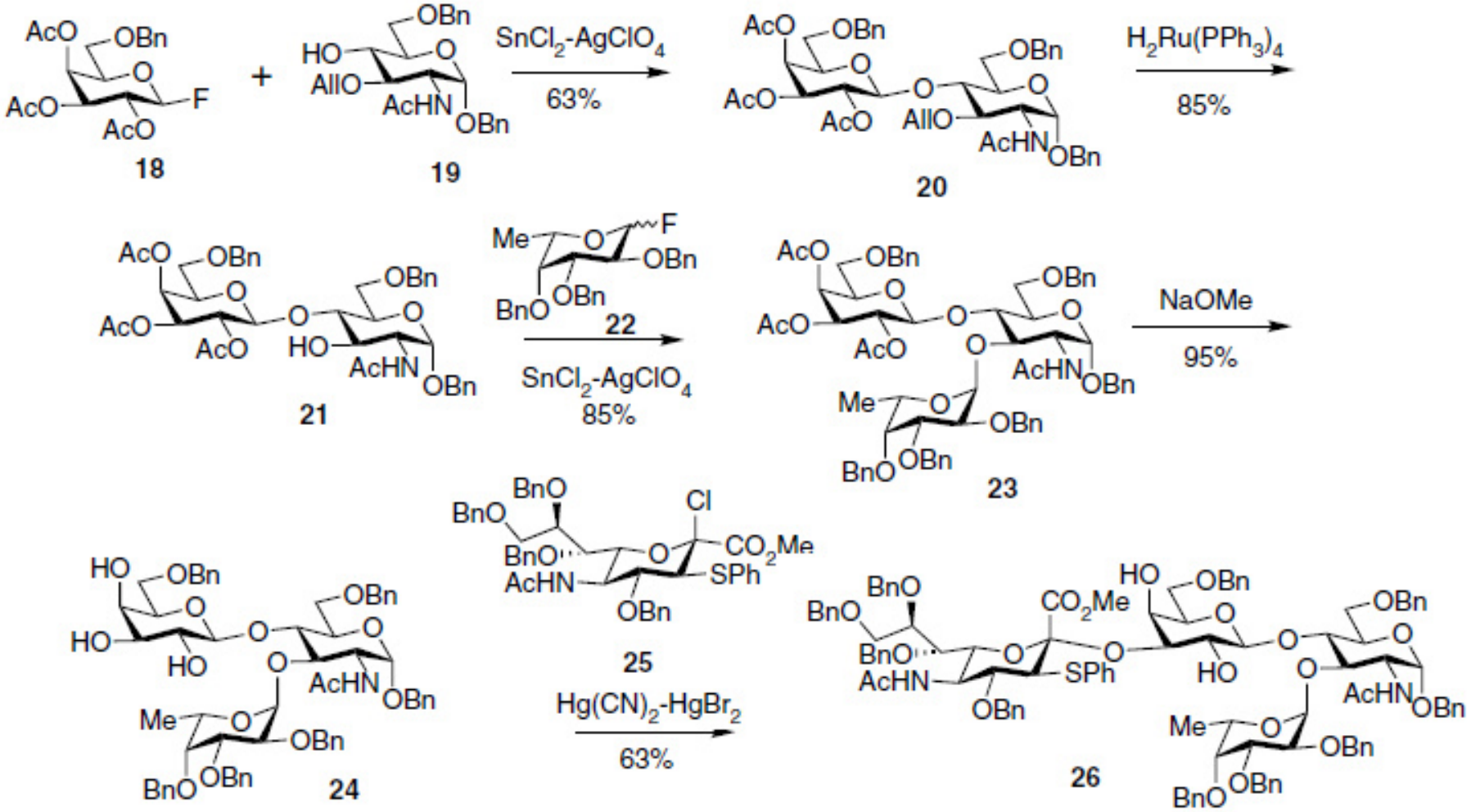
**Approches en phase liquide :** ***Synthèse linéaire d'oligosaccharides (stepwise)***



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide :** ***Synthèse linéaire d'oligosaccharides (stepwise)***

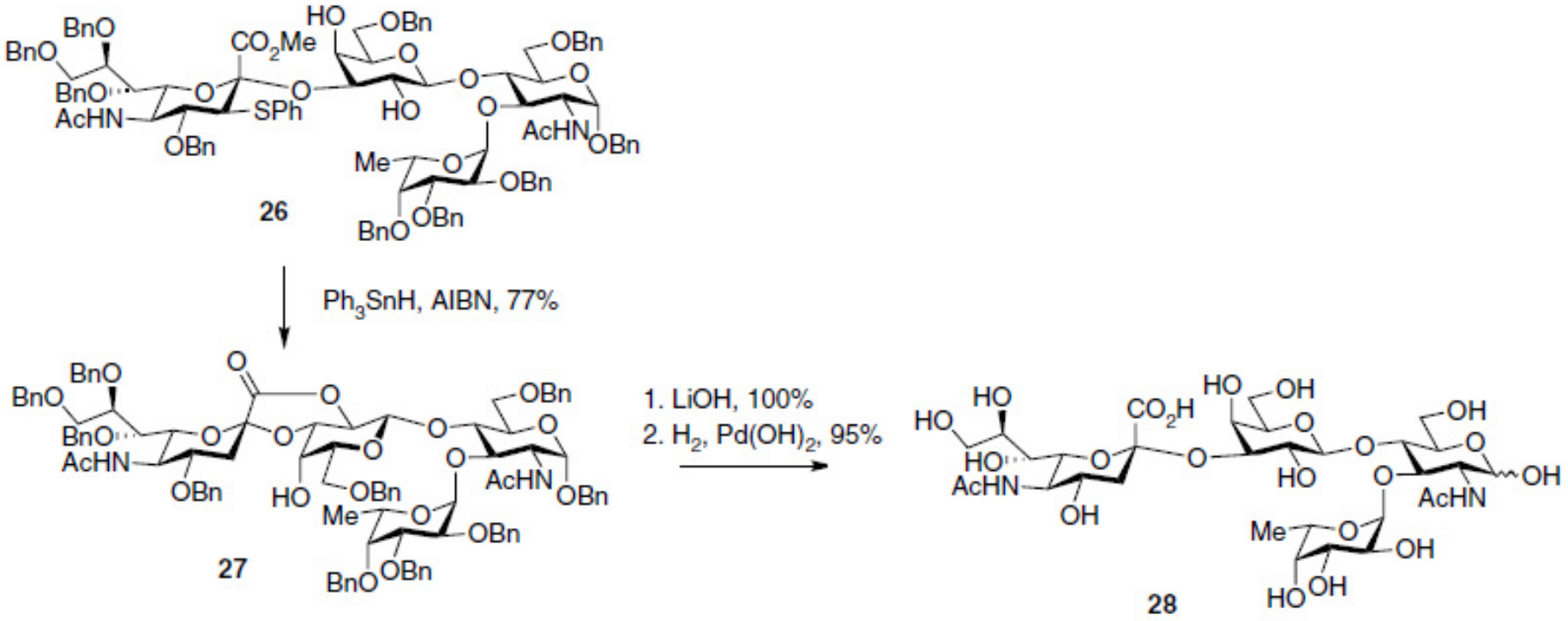
- Exemple : Synthèse du sialyl-Lewis$^X$



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

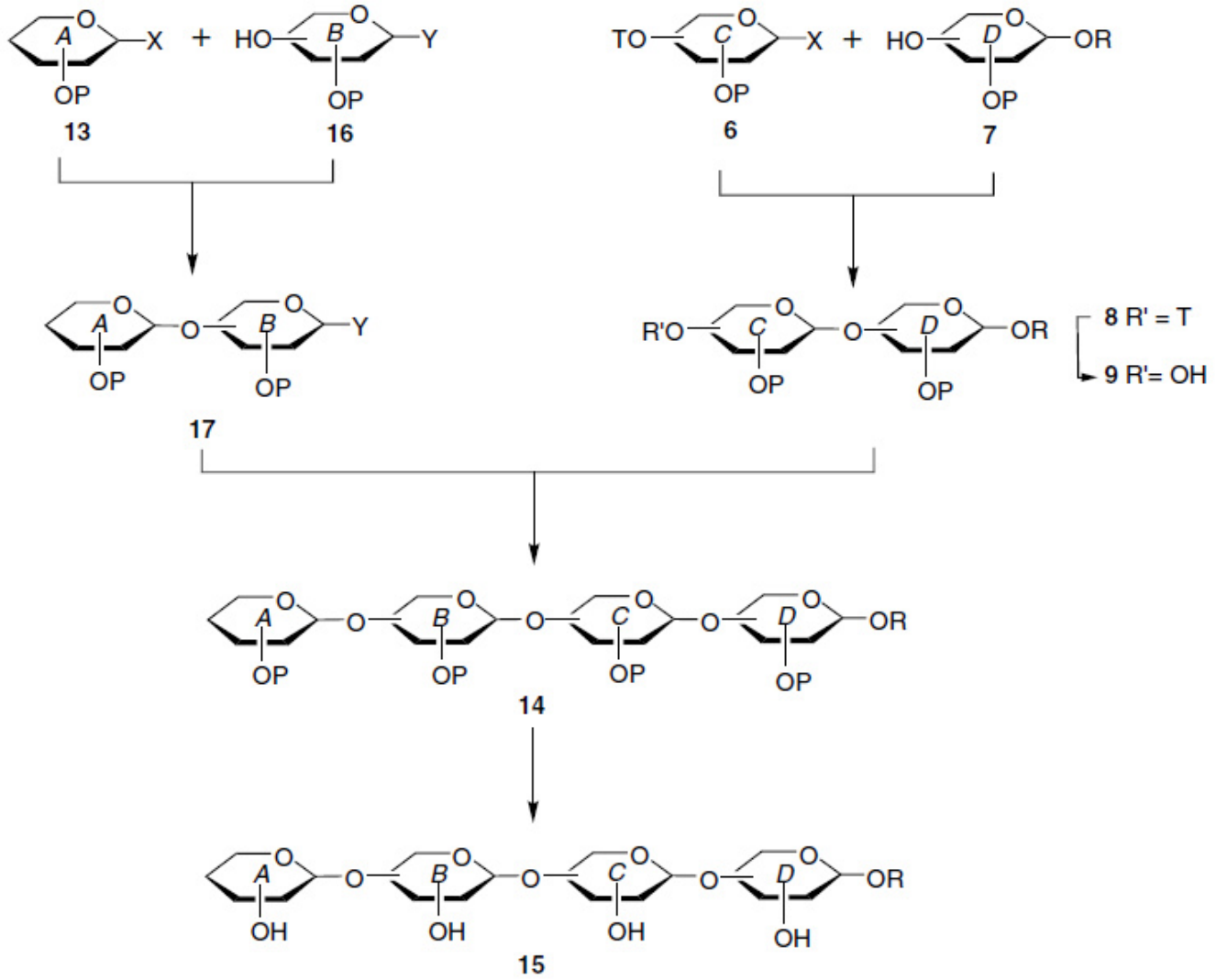
**Approches en phase liquide : *Synthèse linéaire d'oligosaccharides (stepwise)***

- Exemple : Synthèse du sialyl-Lewis$^X$



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

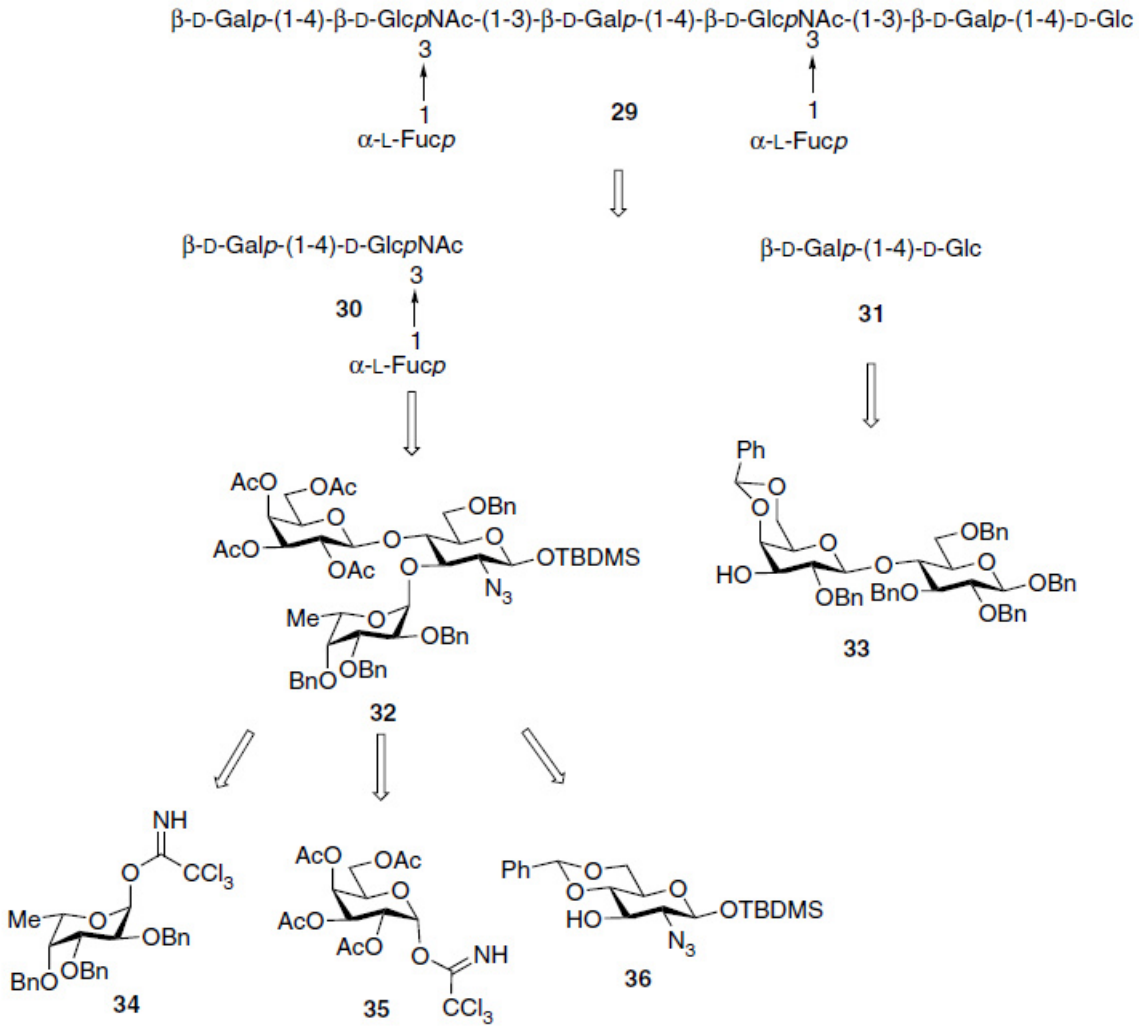
**Approches en phase liquide :** ***Synthèse convergente d'oligosaccharides (blockwise)***



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide : *Synthèse convergente d'oligosaccharides (blockwise)***

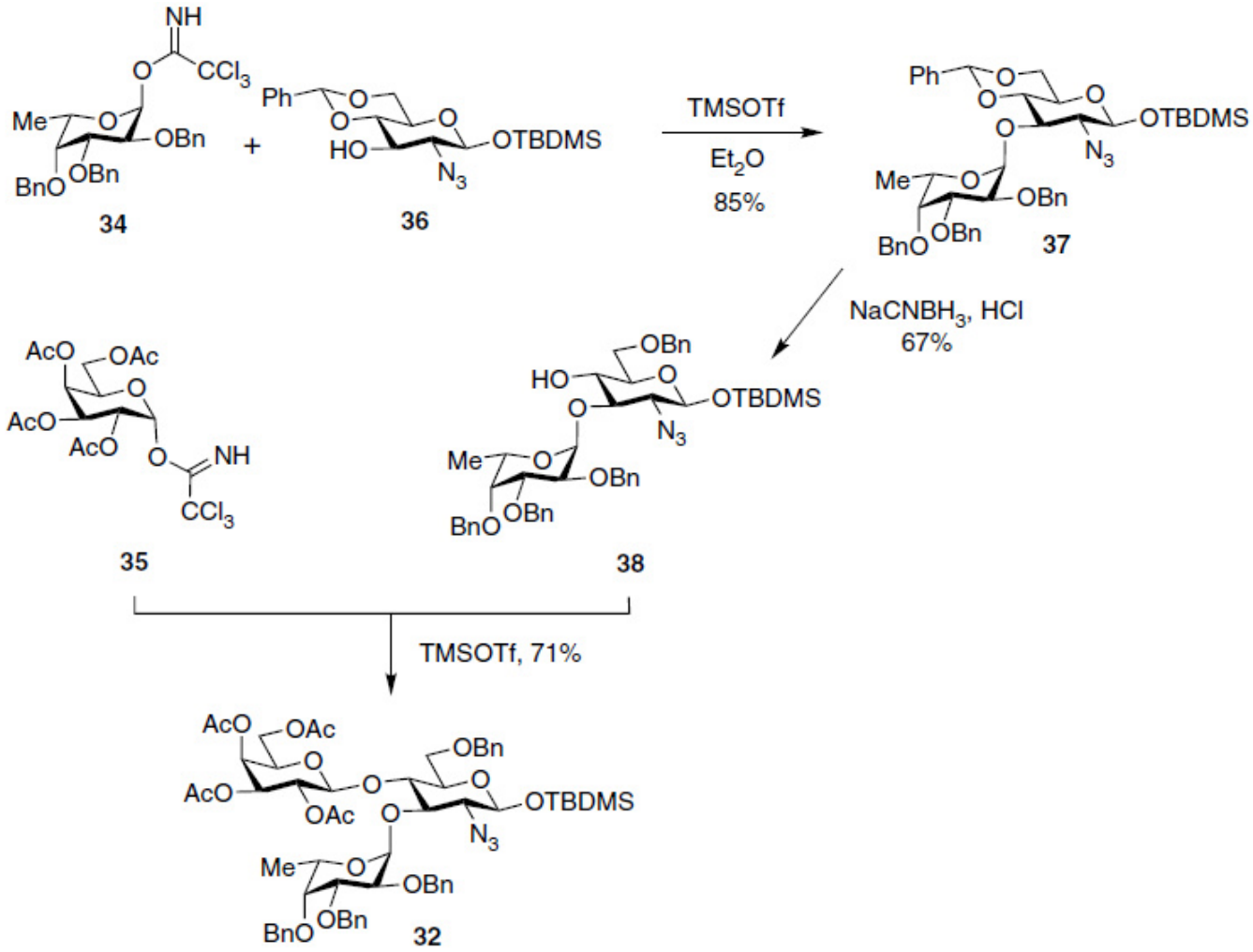
- Synthèse du Lewis$^X$ dimérique (rétrosynthèse)



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide :** ***Synthèse convergente d'oligosaccharides (blockwise)***

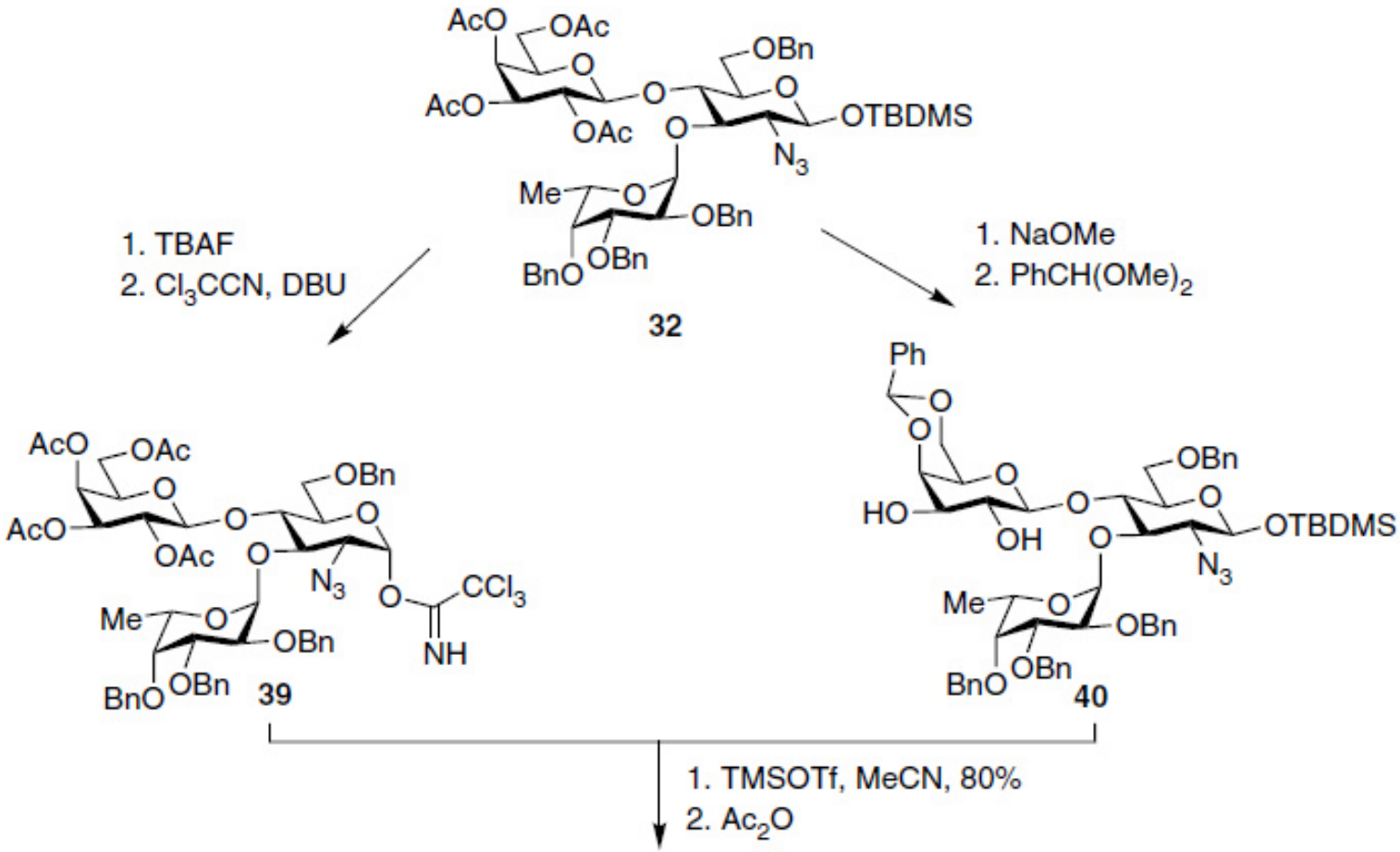
- Synthèse du Lewis$^X$ dimérique (1$^{ère}$ partie)



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide :** ***Synthèse convergente d'oligosaccharides (blockwise)***

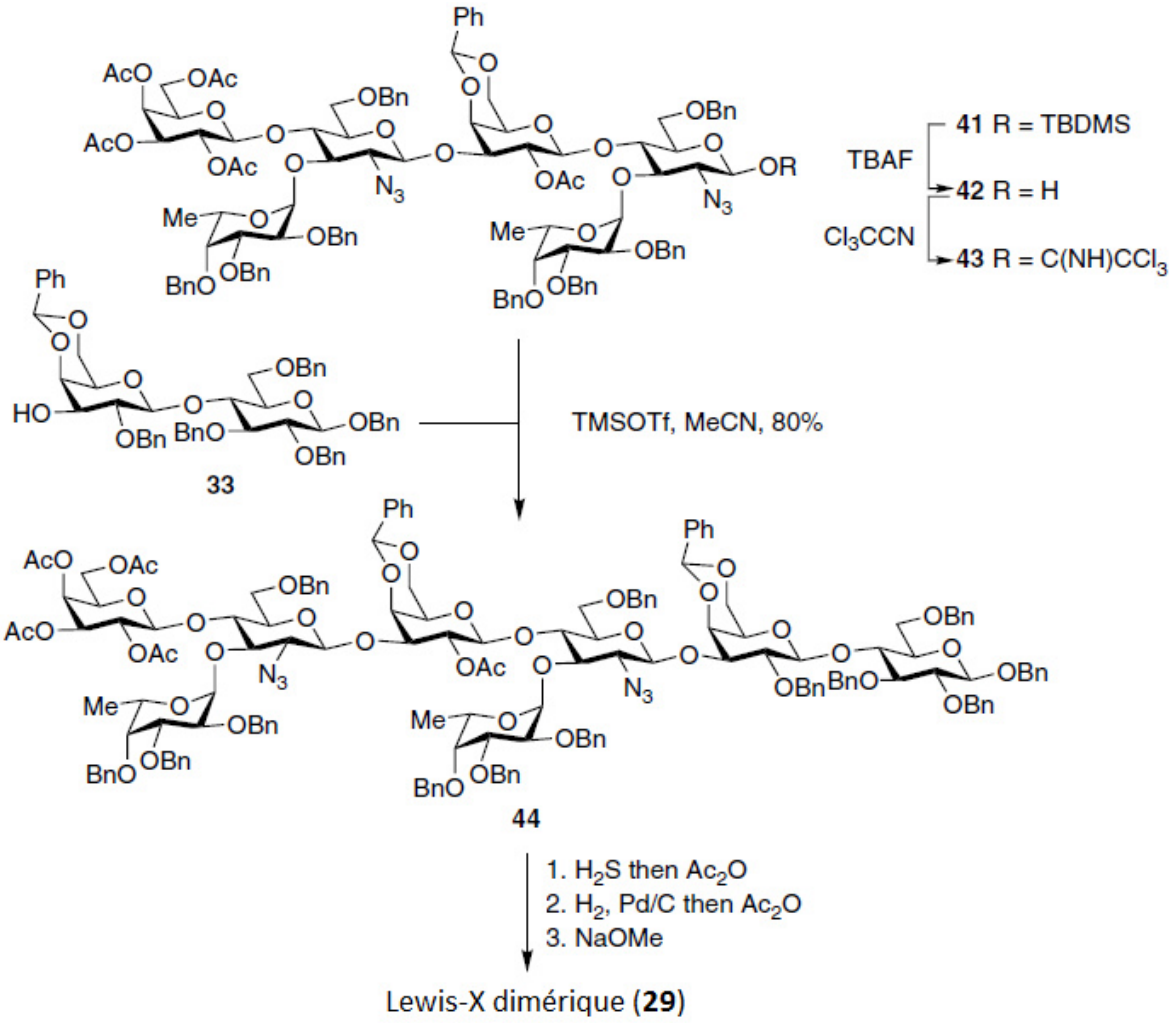
- Synthèse du Lewis$^X$ dimérique (2$^e$ partie)



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide :** ***Synthèse convergente d'oligosaccharides (blockwise)***

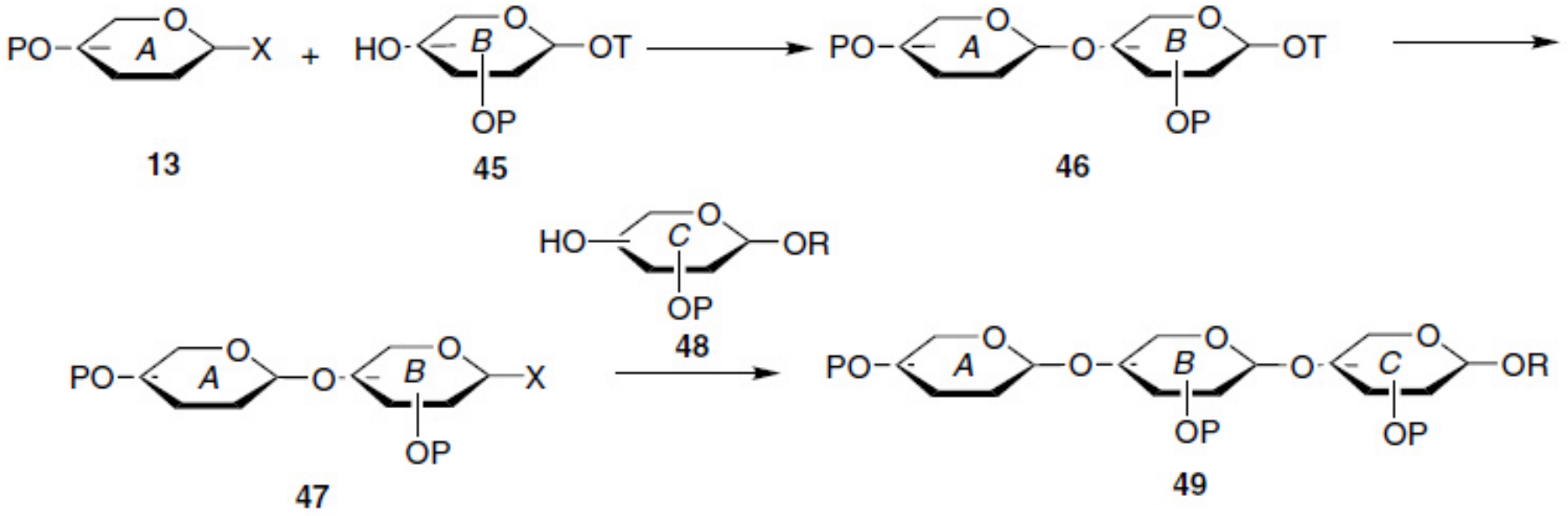
- Synthèse du Lewis$^X$ dimérique (3$^e$ partie)



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide :** ***Synthèse convergente d'oligosaccharides (blockwise)***

- Synthèse du Lewis$^X$ dimérique (concept par réactivation de la position anomérique)

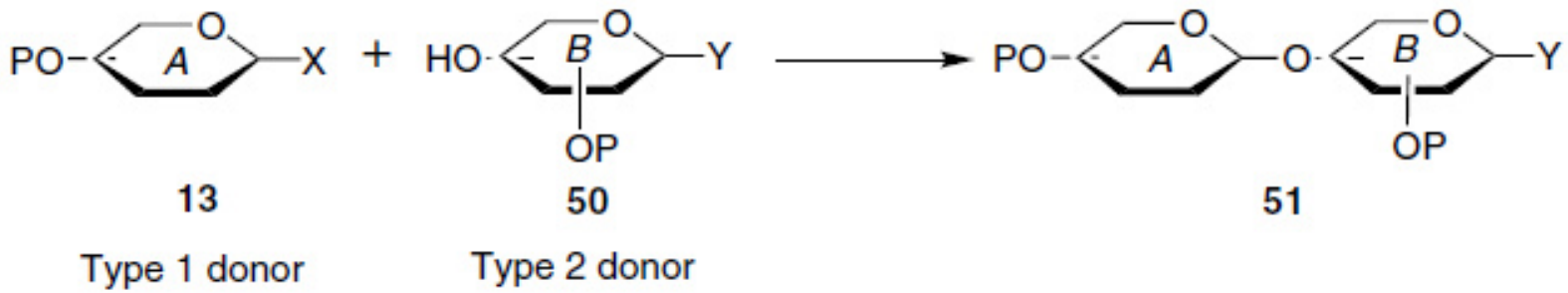


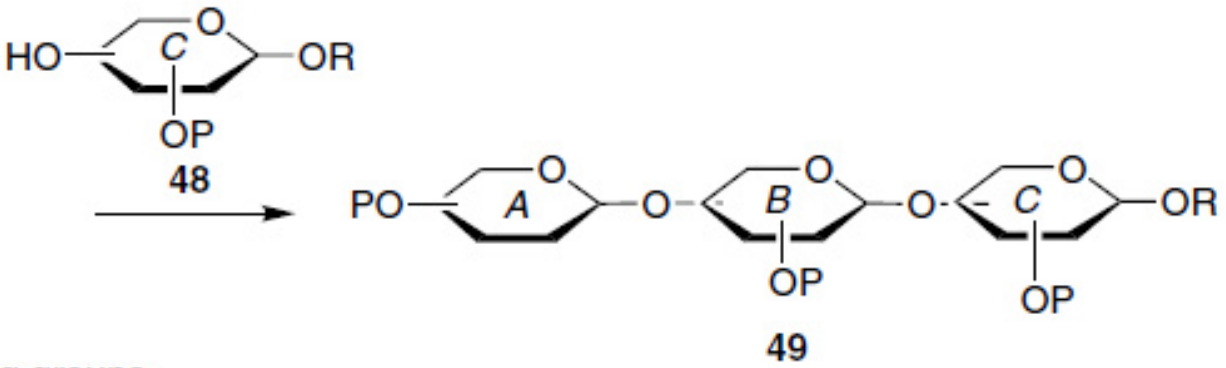

- Inconvénients ?
  - Conversion nécessite plusieurs étapes
  - Difficilement faisable avec de larges fragments

# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide :** ***Synthèse convergente d'oligosaccharides (blockwise)***

- Concept par glycosylation séquentielle avec différents glycosyls donneurs
- Fonction de la réactivité différentielle des groupements activants



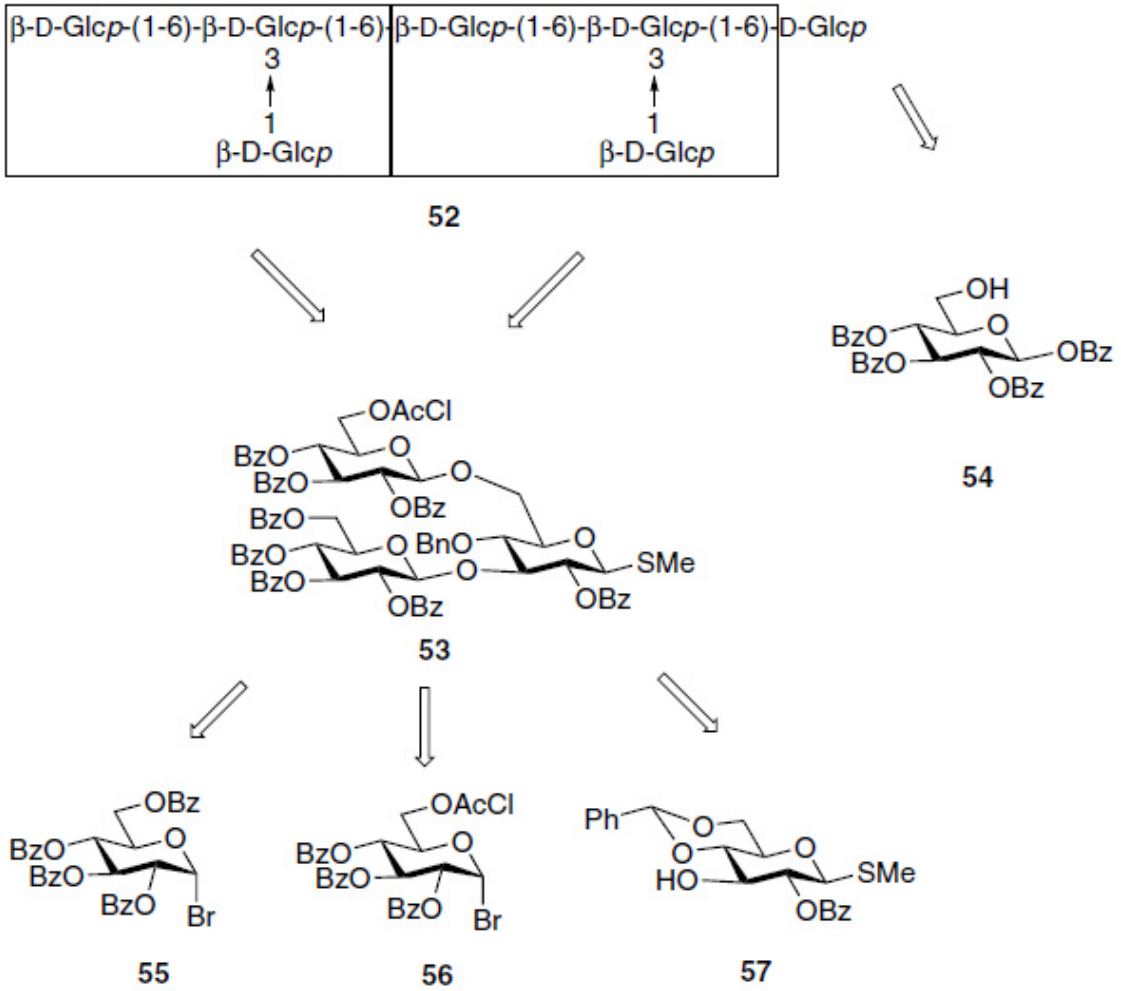




X,Y = leaving groups

# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide : *Synthèse convergente d'oligosaccharides (blockwise)***

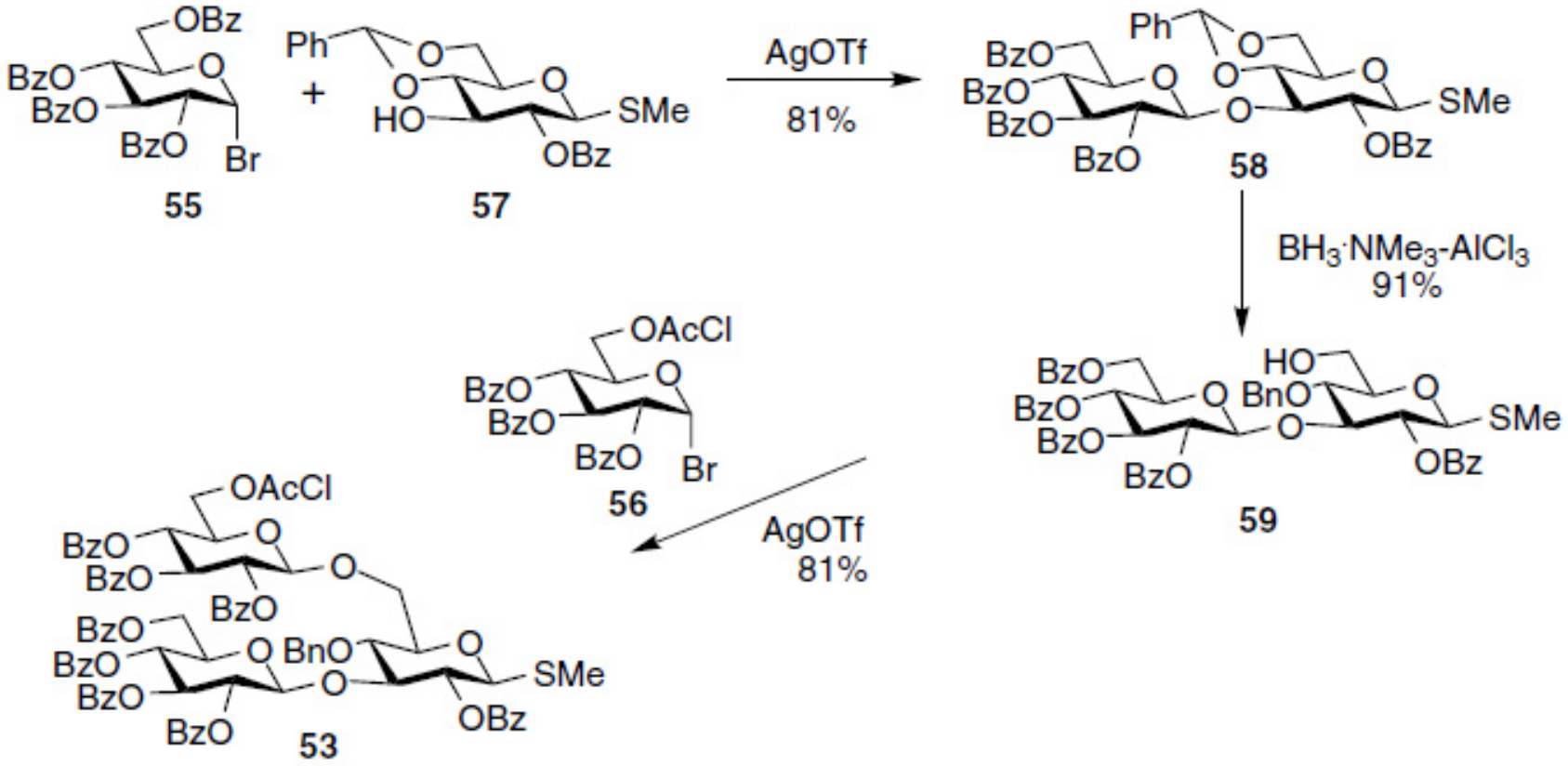
- Exemple : Synthèse d'un heptasaccharide phytoactivant (rétrosynthèse)



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide :** ***Synthèse convergente d'oligosaccharides (blockwise)***

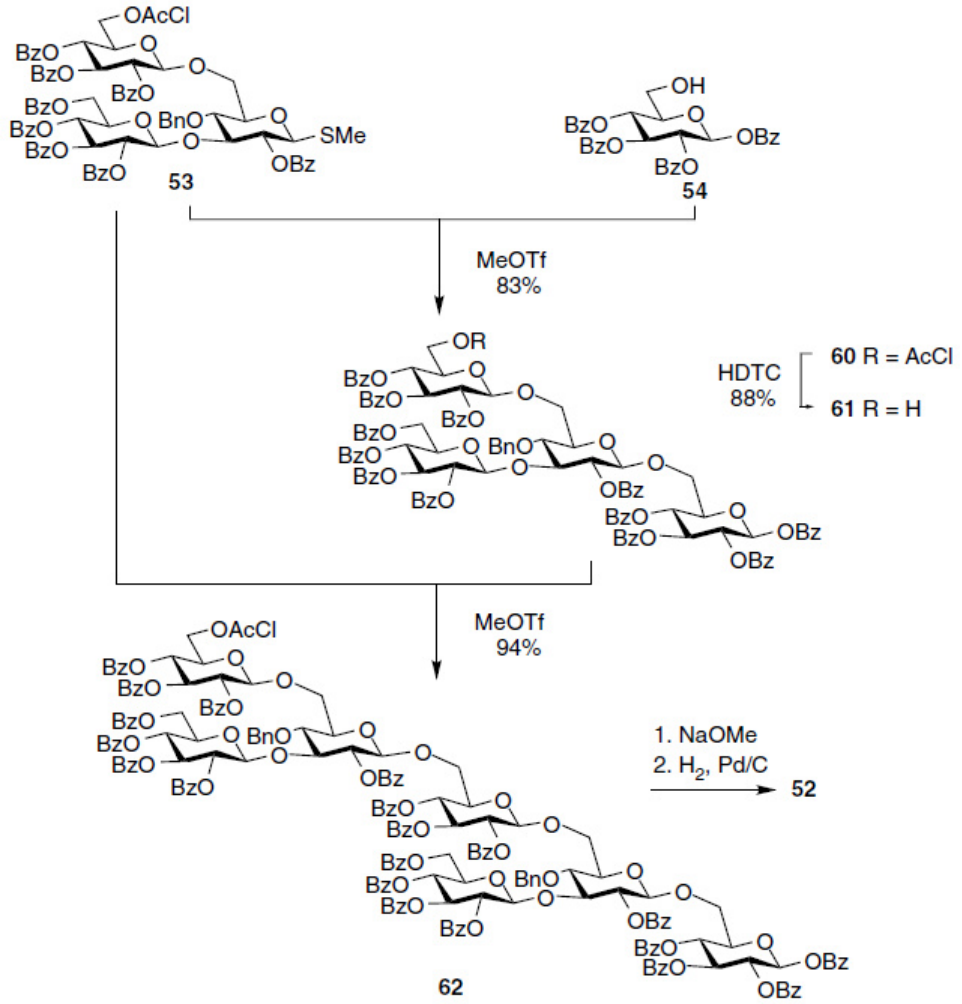
- Exemple : Synthèse d'un heptasaccharide phytoactivant (1ère partie)



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide : *Synthèse convergente d'oligosaccharides (blockwise)***

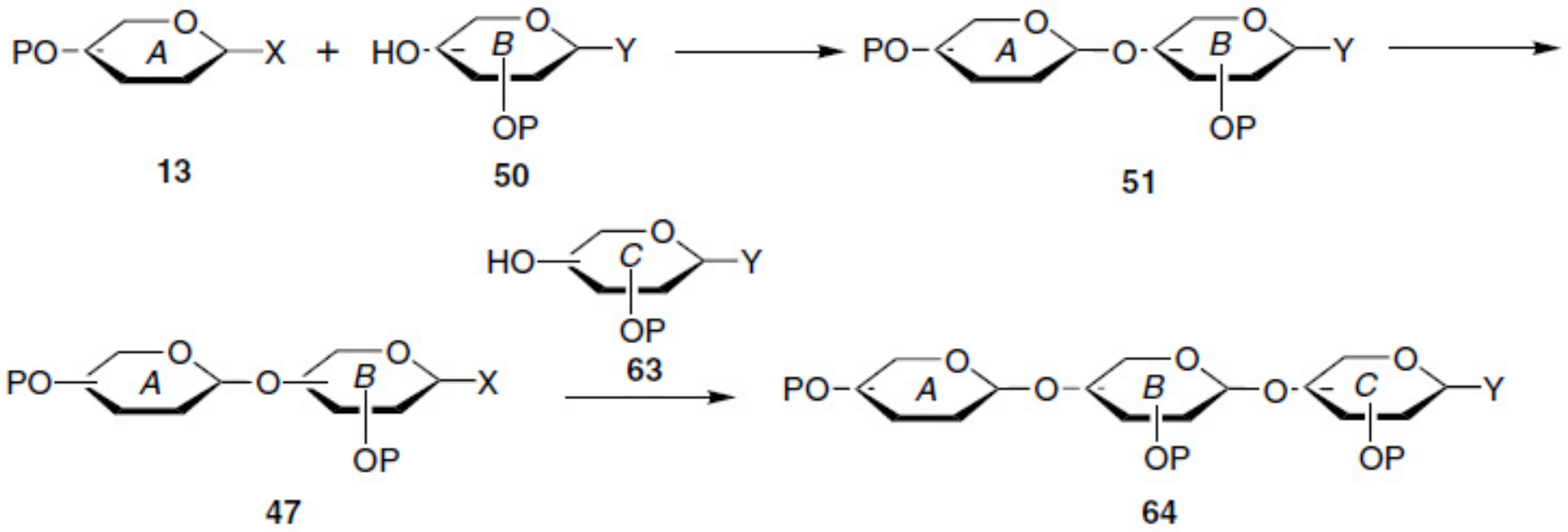
- Exemple : Synthèse d'un heptasaccharide phytoactivant (2e partie)



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide :** ***Synthèse convergente d'oligosaccharides (blockwise)***

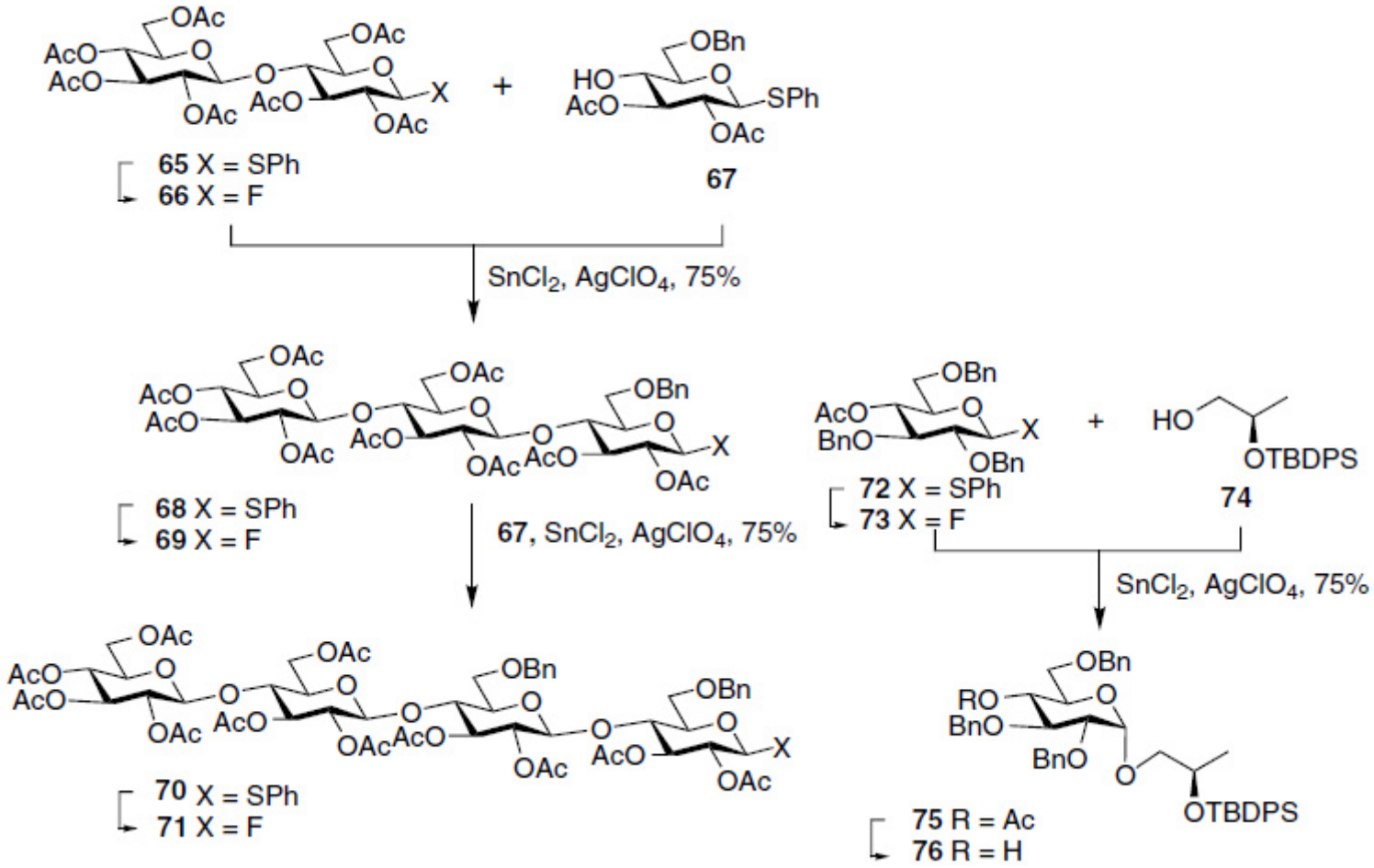
- Concept d'activation en deux étapes
- Conversion de Y en X après glycosylation



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide :** ***Synthèse convergente d'oligosaccharides (blockwise)***

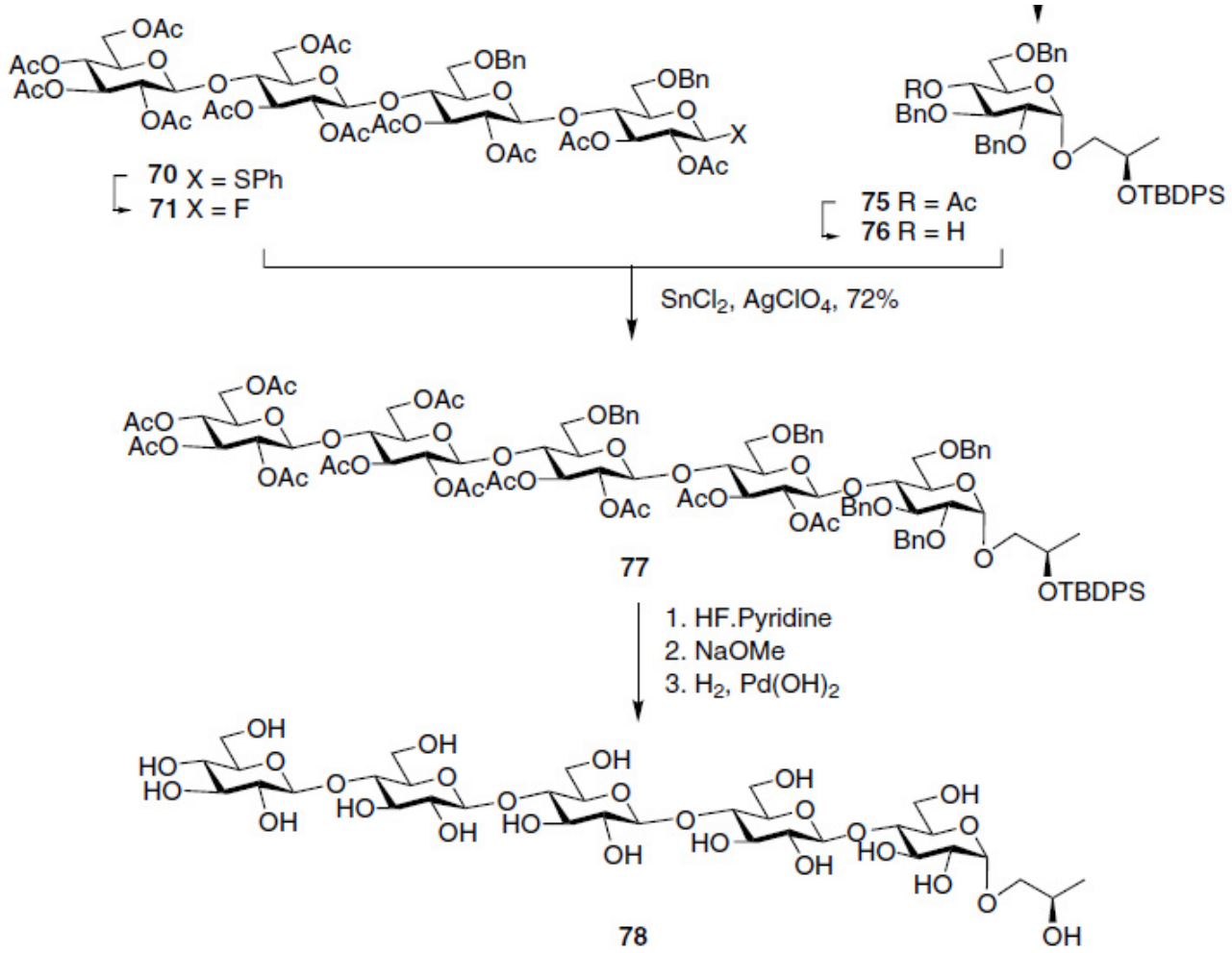
- Exemple : synthèse d'un pentasaccharide phytotoxique (1ère partie)
- Conversion SPh en F ? NBS, DAST



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide : *Synthèse convergente d'oligosaccharides (blockwise)***

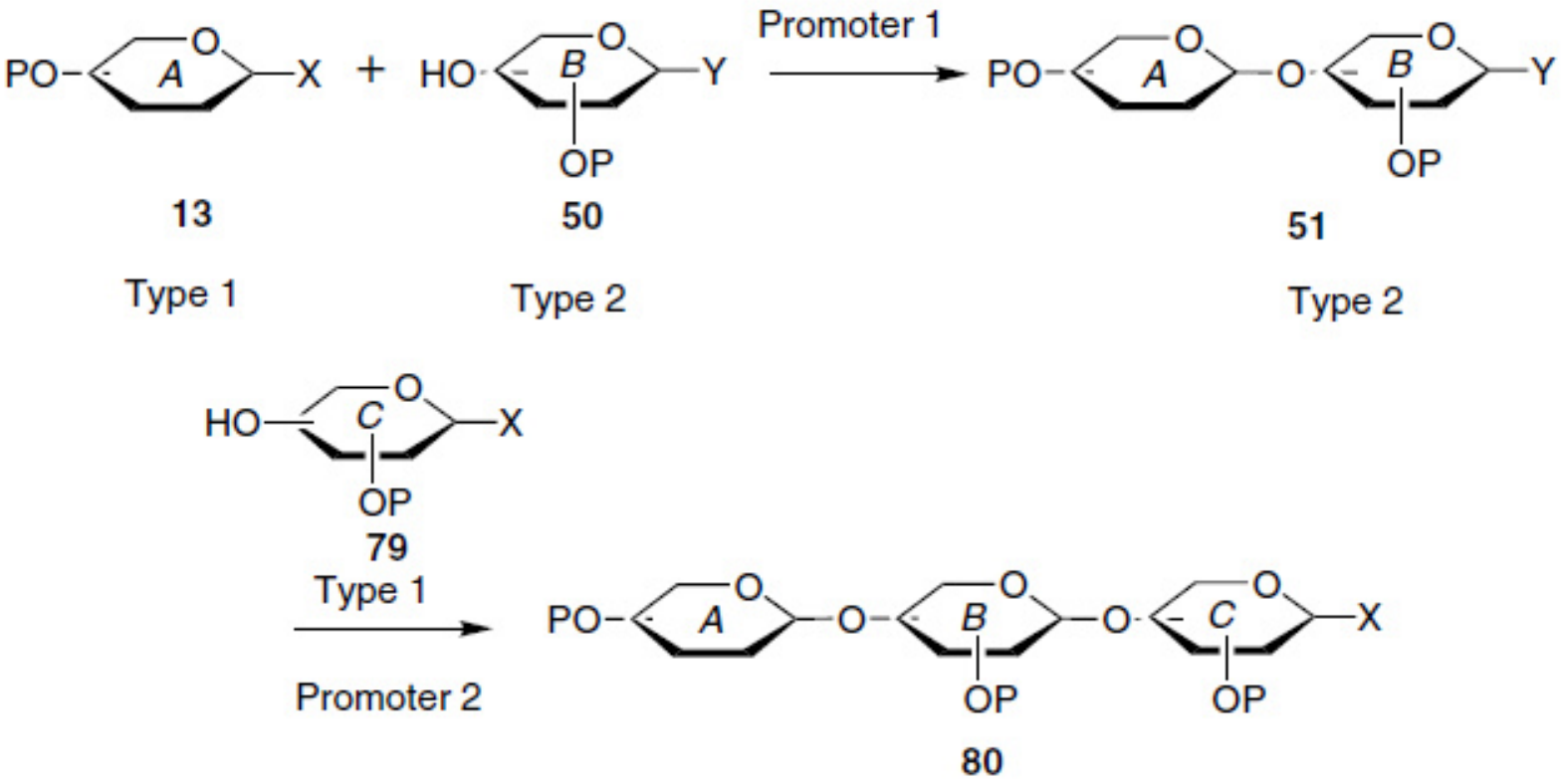
- Exemple : synthèse d'un pentasaccharide phytotoxique (2e partie)



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide :** ***Synthèse convergente d'oligosaccharides (blockwise)***

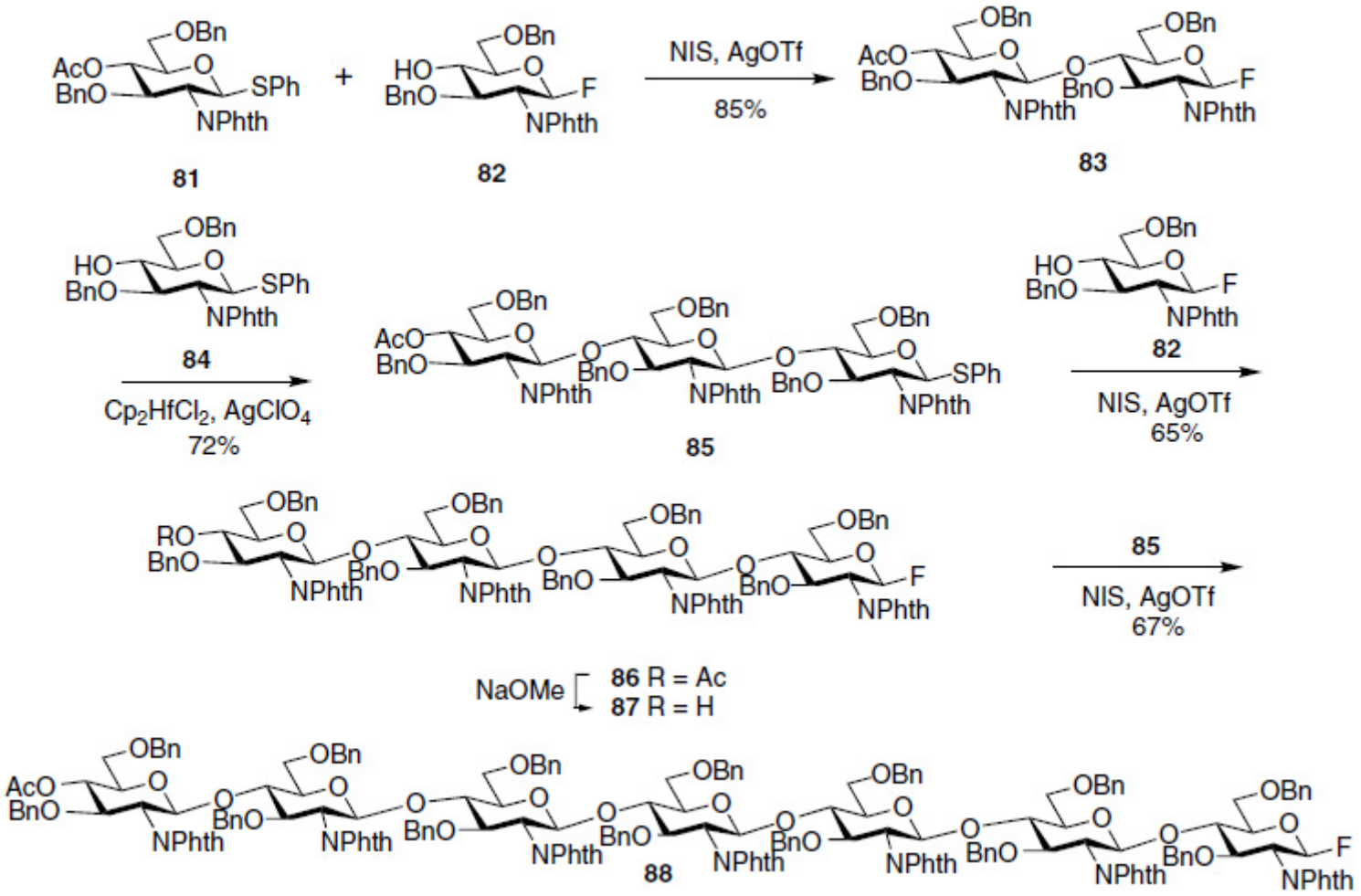
- Concept de glycosylation orthogonale
- 2 types de composés (type 1 et 2) et 2 conditions de glycosylation (promoteur 1 et 2)
- F peuvent être glycosylés en présence de SPh et *vice versa*



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide :** ***Synthèse convergente d'oligosaccharides (blockwise)***

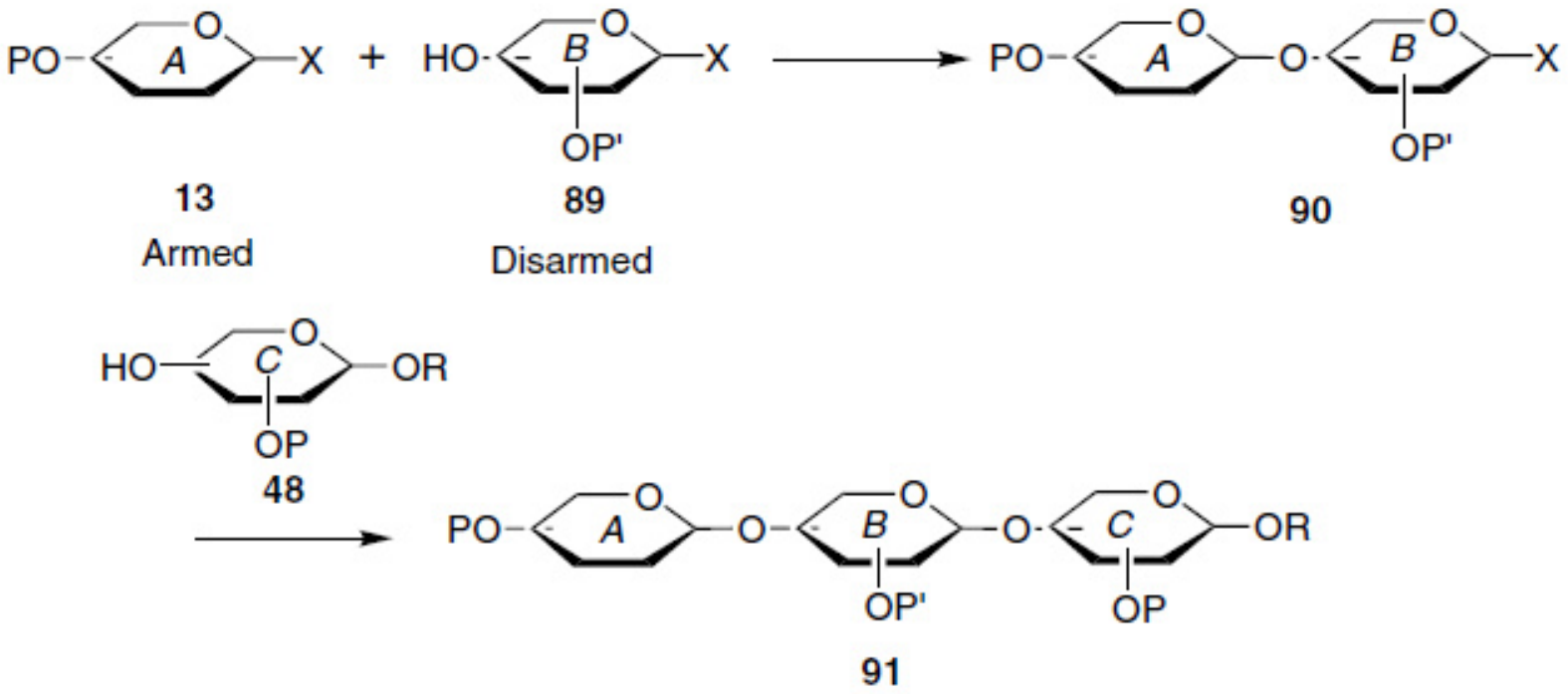
- Exemple : Synthèse d'un oligomère de GlcNAc



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide : *Synthèse convergente d'oligosaccharides (blockwise)***

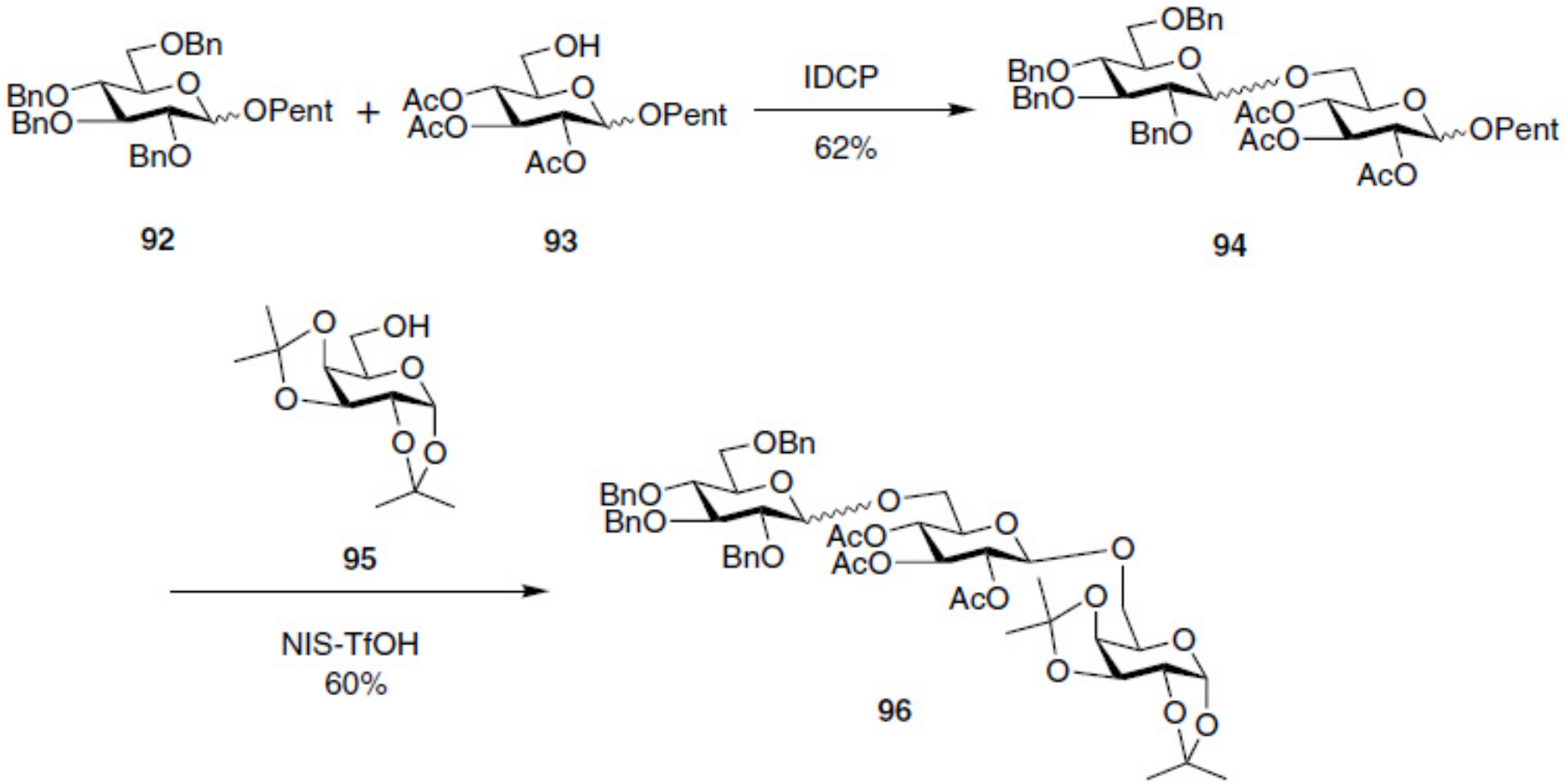
- Concept de glycosylation armée et désarmée (*armed-disarmed glycosylation*)
- Substituents, en particulier en C-2, influencent la réactivité des glycosylations
- Groupements électroattracteurs sont désactivants (*disarmed*) = Ac, Bz, Lev, etc. (acyls)
- Groupements électrodonneurs sont activants (*armed*) = Bn, PMB, Me, etc. (éthers)



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide : *Synthèse convergente d'oligosaccharides (blockwise)***

- Exemple : Glycosylation *armed-disarmed* basée sur les propriétés électroniques des substituants

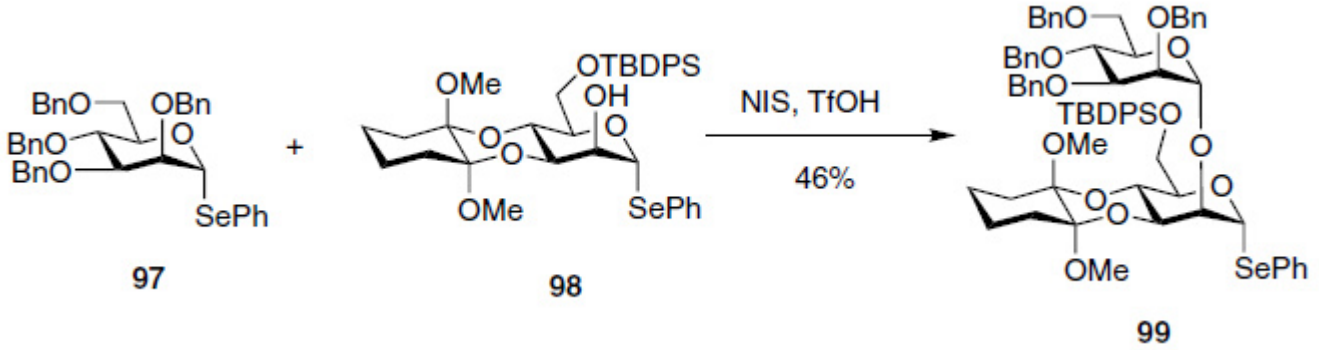


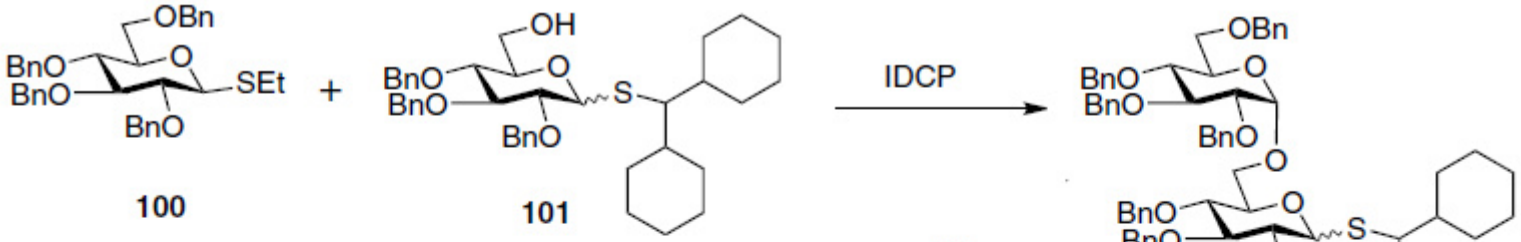
# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide : *Synthèse convergente d'oligosaccharides (blockwise)***

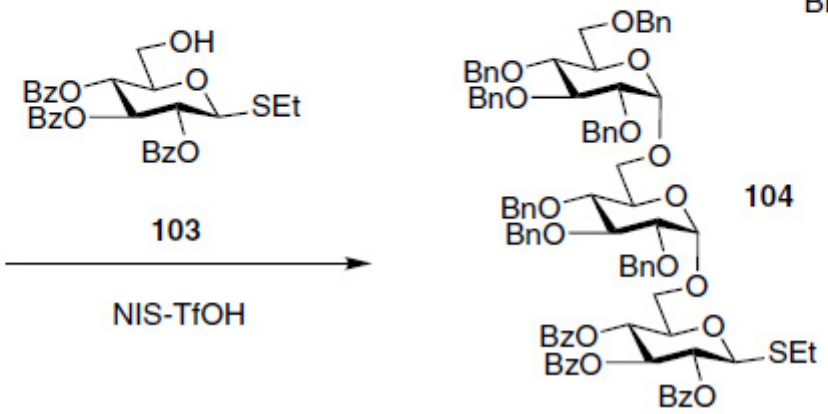
- Exemple : Glycosylation *armed-disarmed* basée sur les effets stériques désactivants

a)



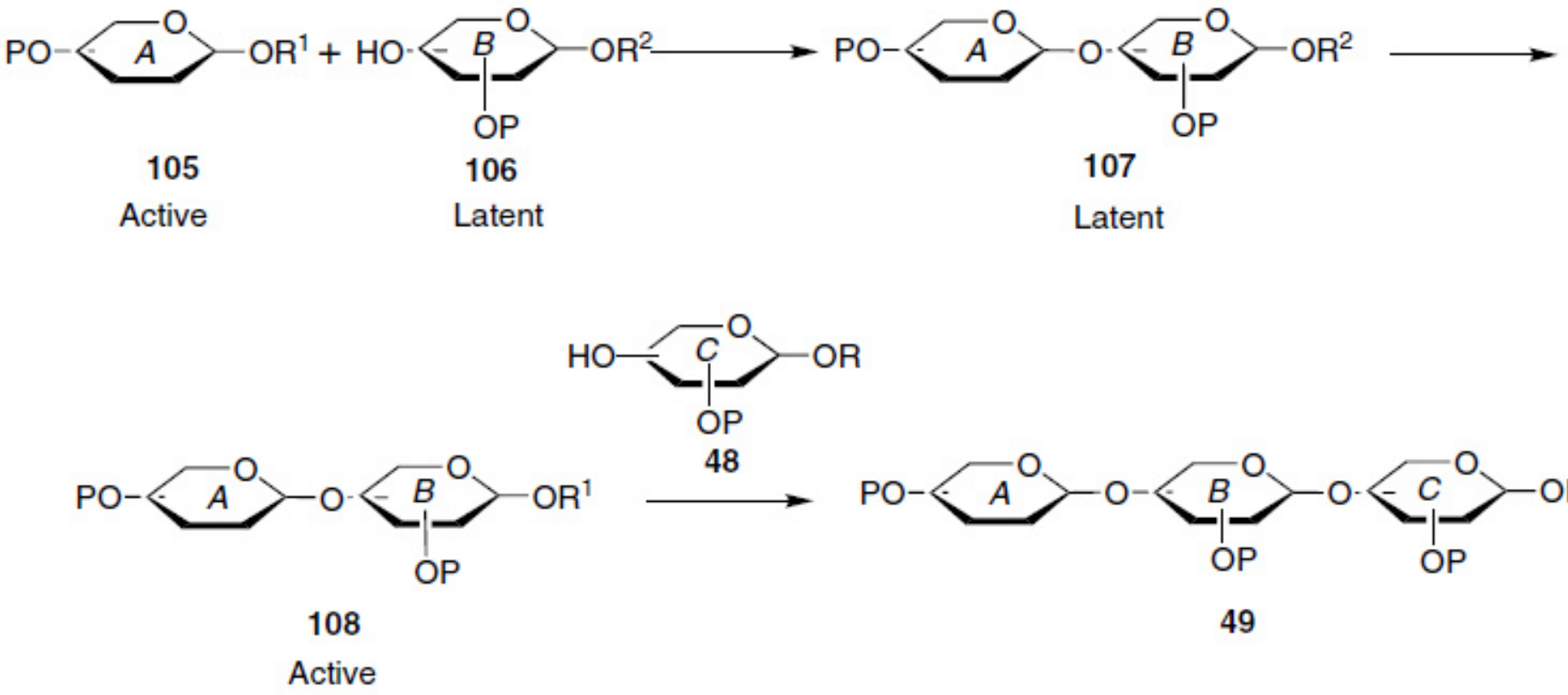

b)



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide : *Synthèse convergente d'oligosaccharides (blockwise)***

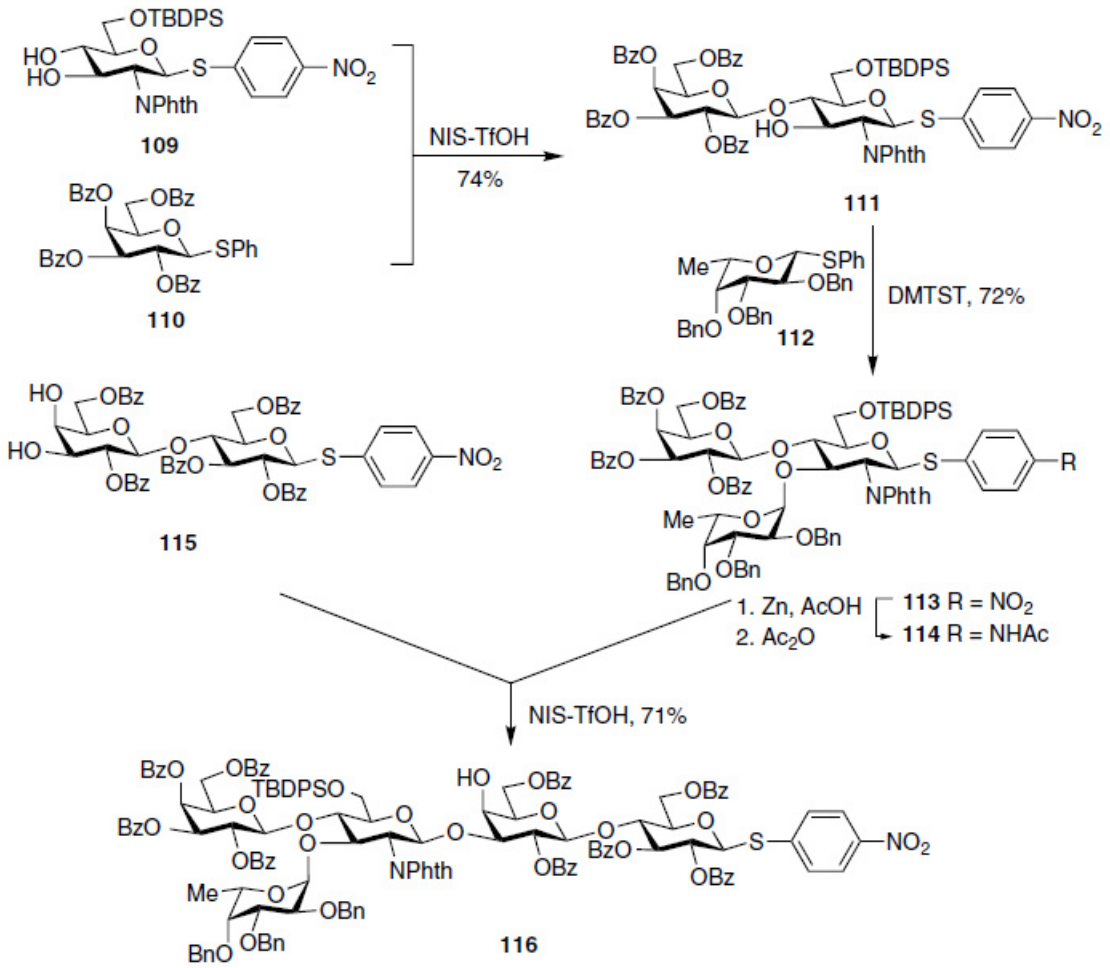
- Concept de glycosylations active et latente (*active-latent glycosylation*)
- Transformation ($R^2$ en $R^1$) d'un accepteur (**106**, *latent*) en donneur (**108**, *active*)



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide : *Synthèse convergente d'oligosaccharides (blockwise)***

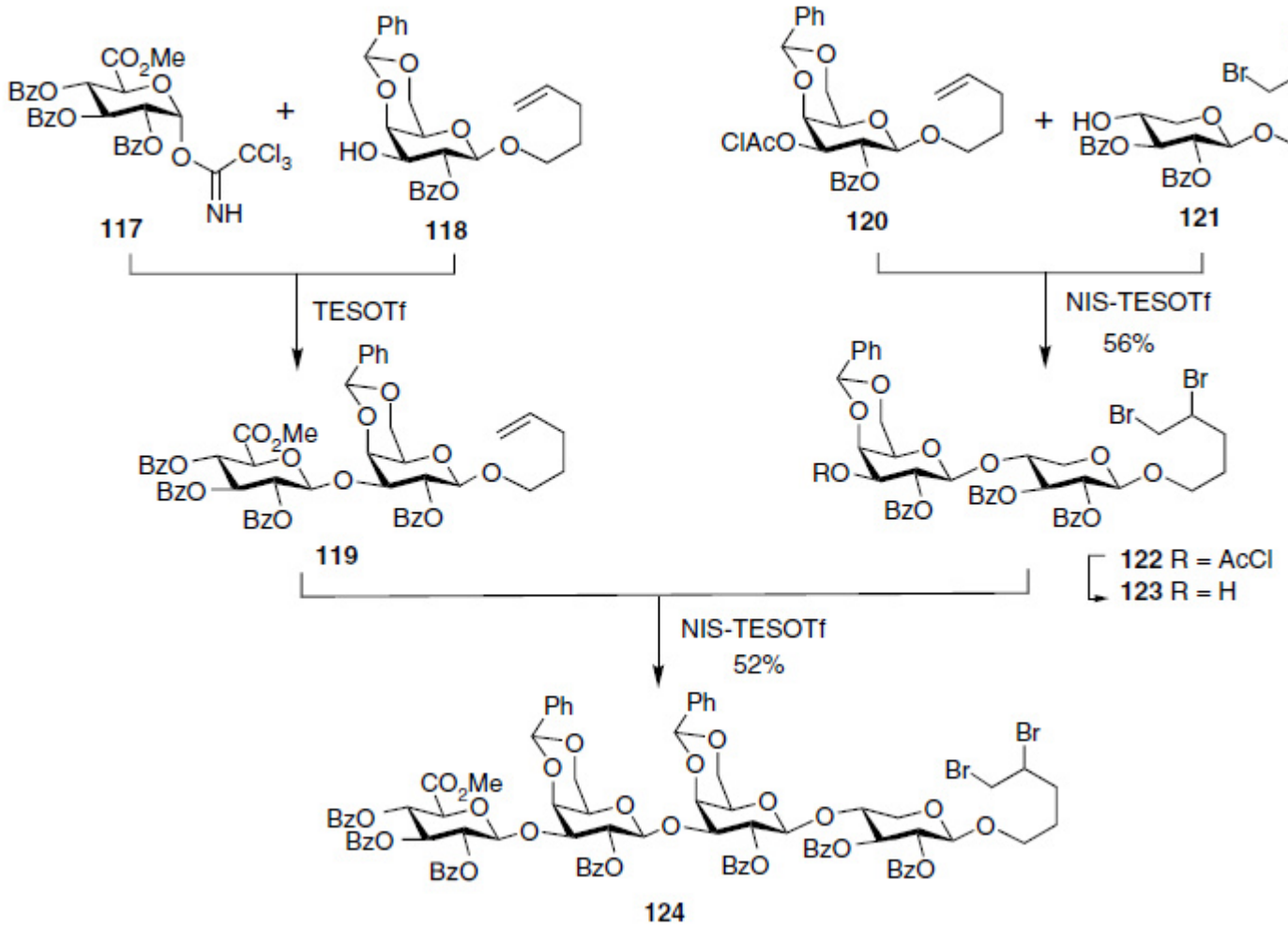
- Exemple : Synthèse d'un pentasaccharide Lewis$^X$ ($NO_2$ *latent* en NHAc *active*)



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide : *Synthèse convergente d'oligosaccharides (blockwise)***

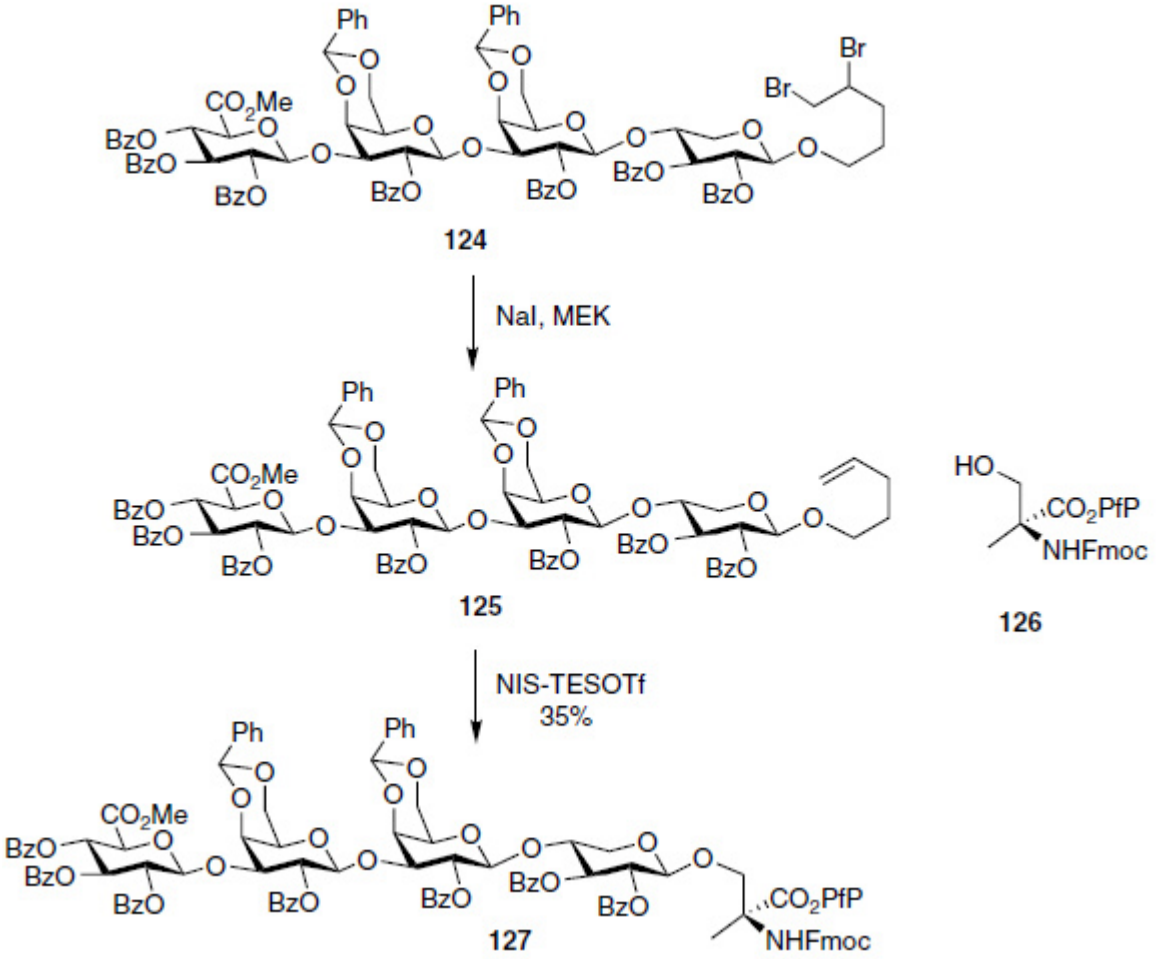
- Exemple : Synthèse d'un tétrasaccharide cœur des glycosaminoglycans (1ère partie)



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide : *Synthèse convergente d'oligosaccharides (blockwise)***

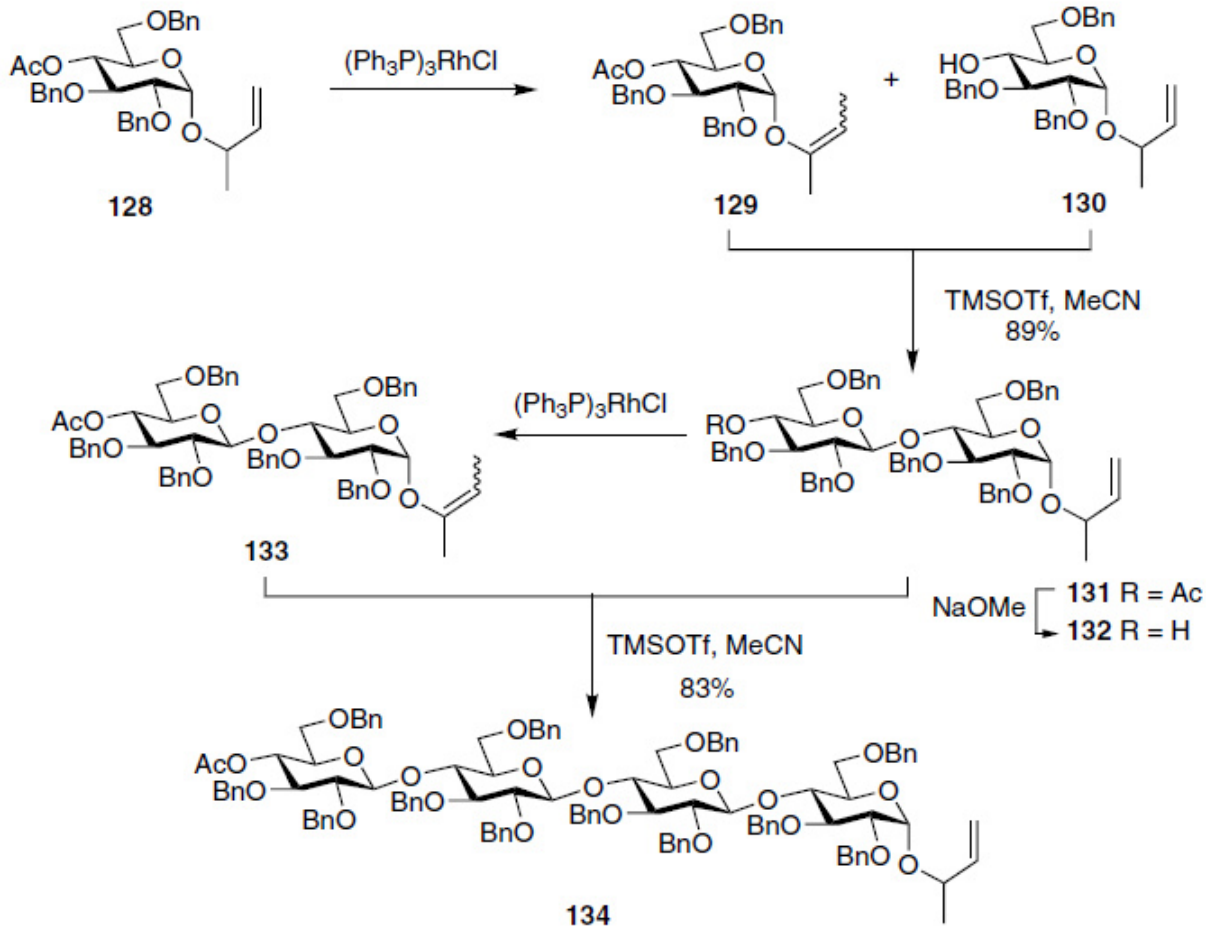
- Exemple : Synthèse d'un tétrasaccharide cœur des glycosaminoglycans (2e partie)
- 1,2-dibromopentane (*latent*), *n*-penténYl (*active*)



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide : *Synthèse convergente d'oligosaccharides (blockwise)***

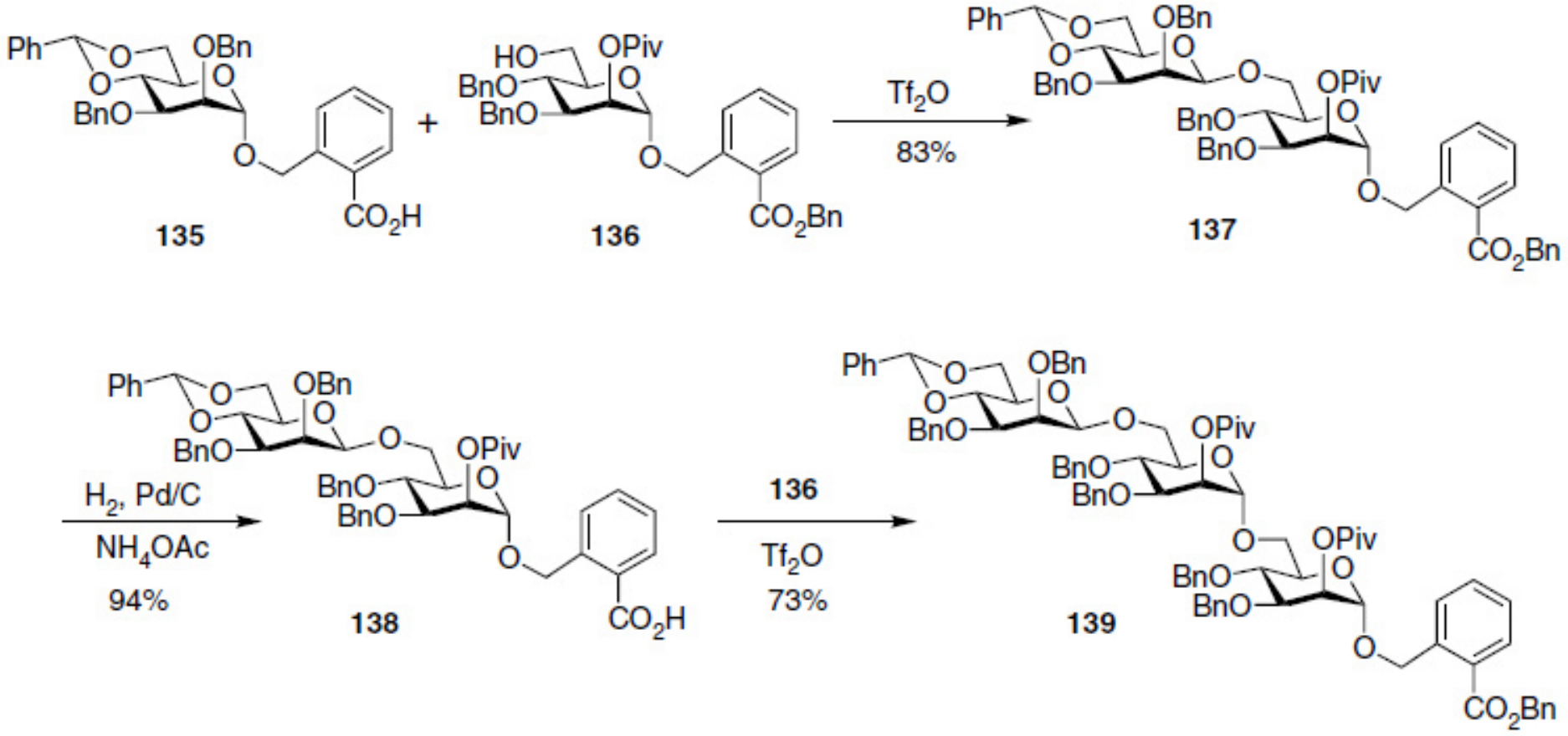
- Exemple : Synthèse de tétrasaccharide par utilisation des glycosides d'alkényl
- 3-buten-2-yl (**128**, *latent*), 2-buten-2-yl (**129**, *active*)



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide :** ***Synthèse convergente d'oligosaccharides (blockwise)***

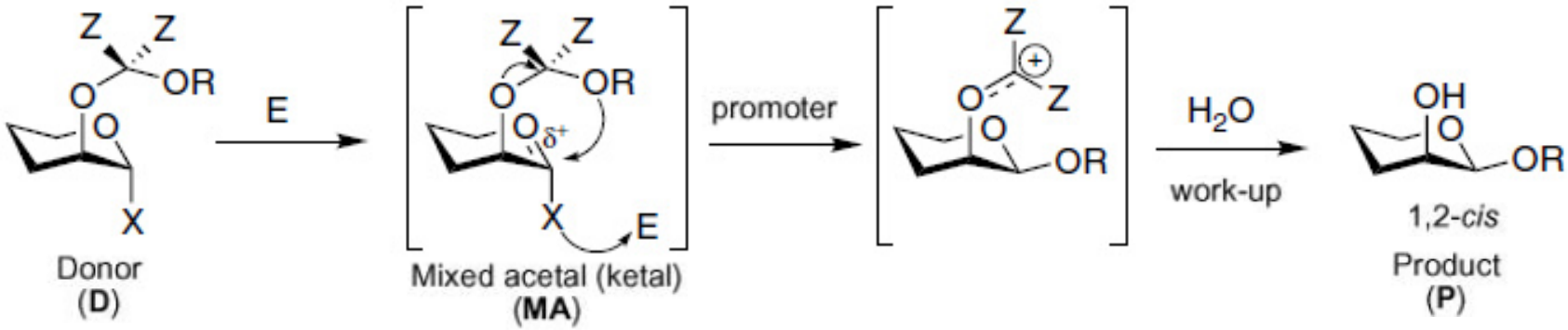
- Exemple : Synthèse d'un trisaccharide par utilisation des glycosides de 2'-carboxybenzyl
- benzyl ester (**136**, *latent*), carboxylic acid (**135**, *active*)

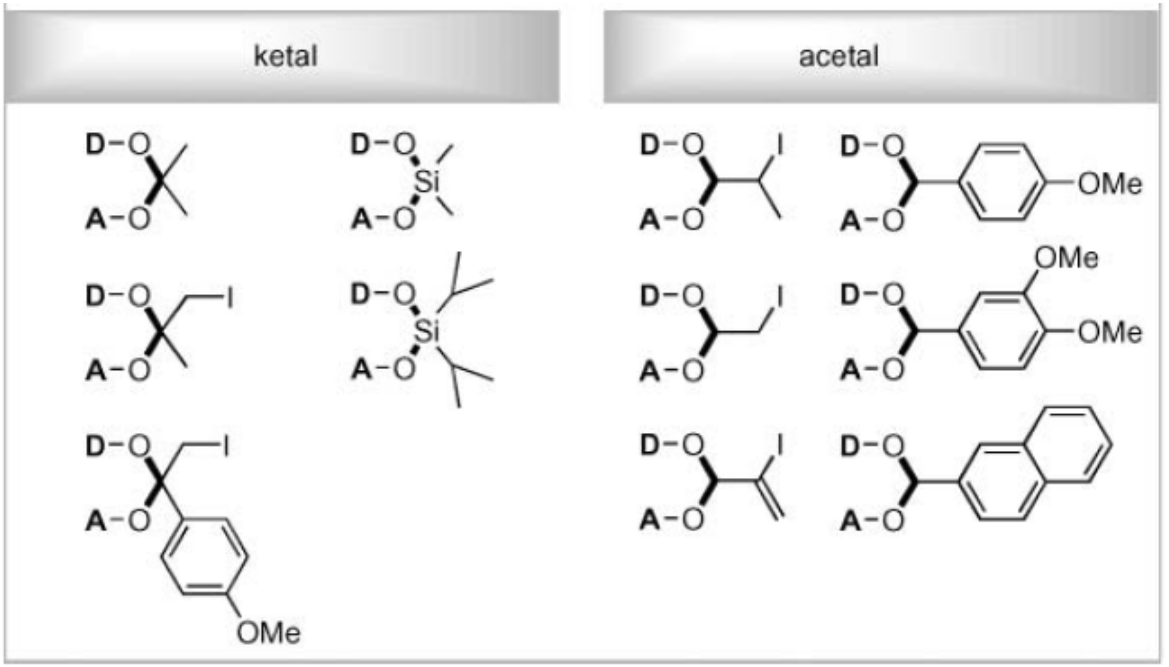


# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide :** ***Retour sur la glycosylation intramoléculaire***

- Méthode utile pour la synthèse de 1,2-*cis*-glycosides

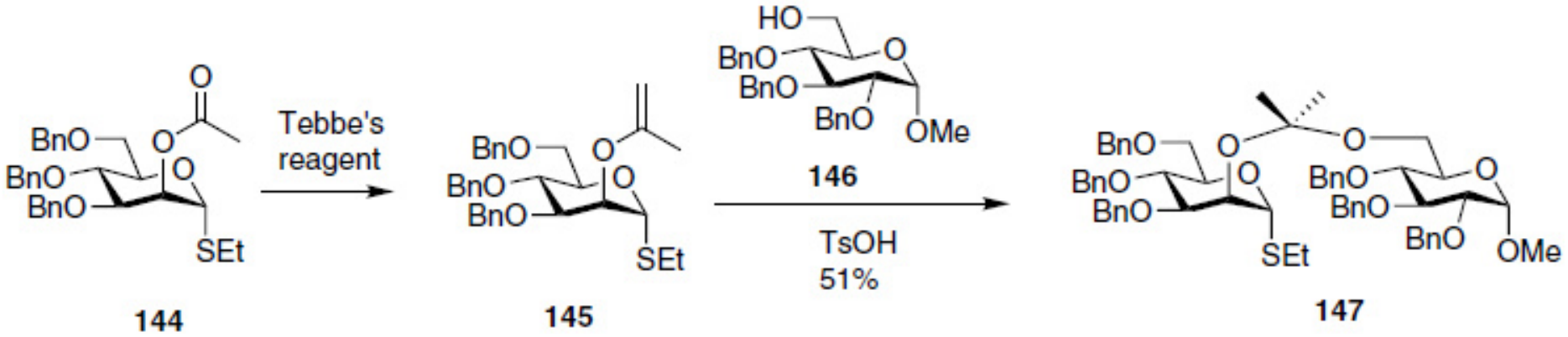


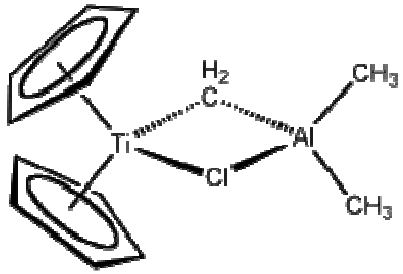
# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide :** ***Retour sur la glycosylation intramoléculaire***

- Utilisation d'un isopropylidène acétal



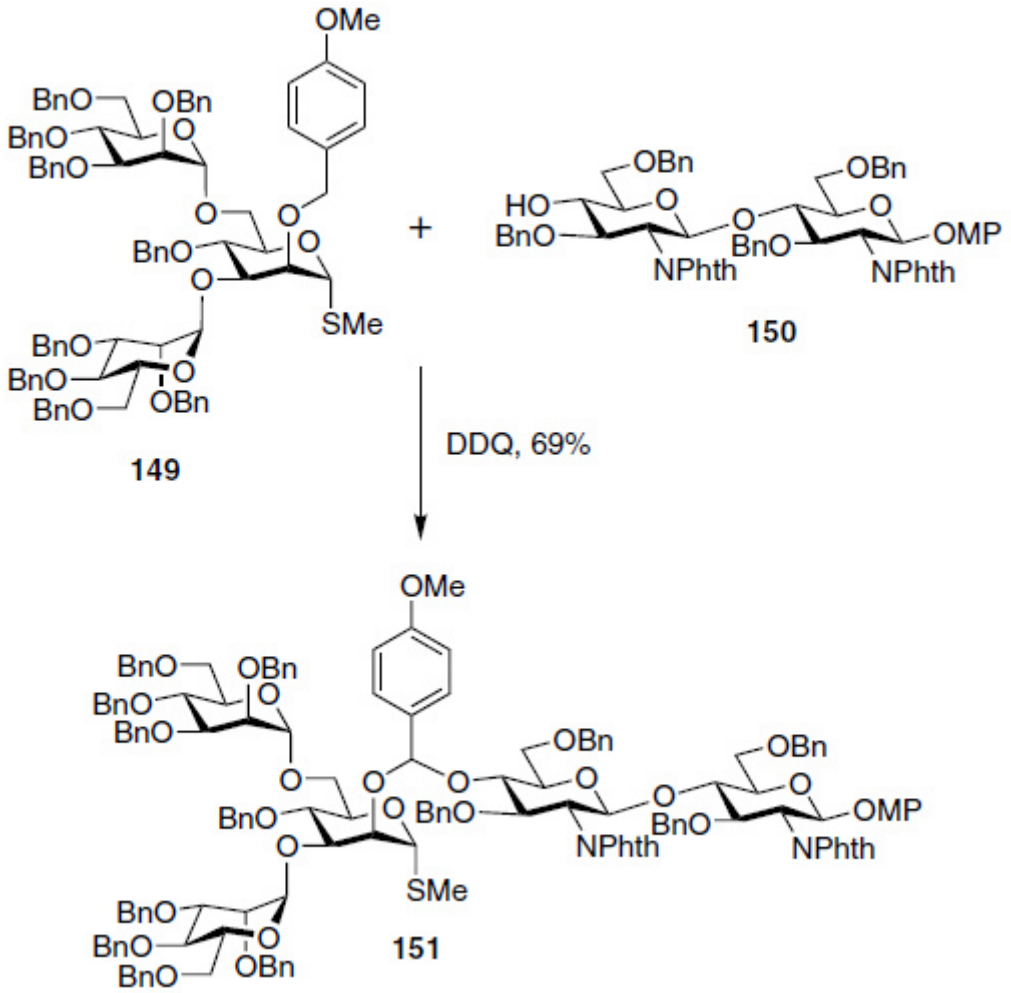

**Tebbe's reagent =**



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide : *Retour sur la glycosylation intramoléculaire***

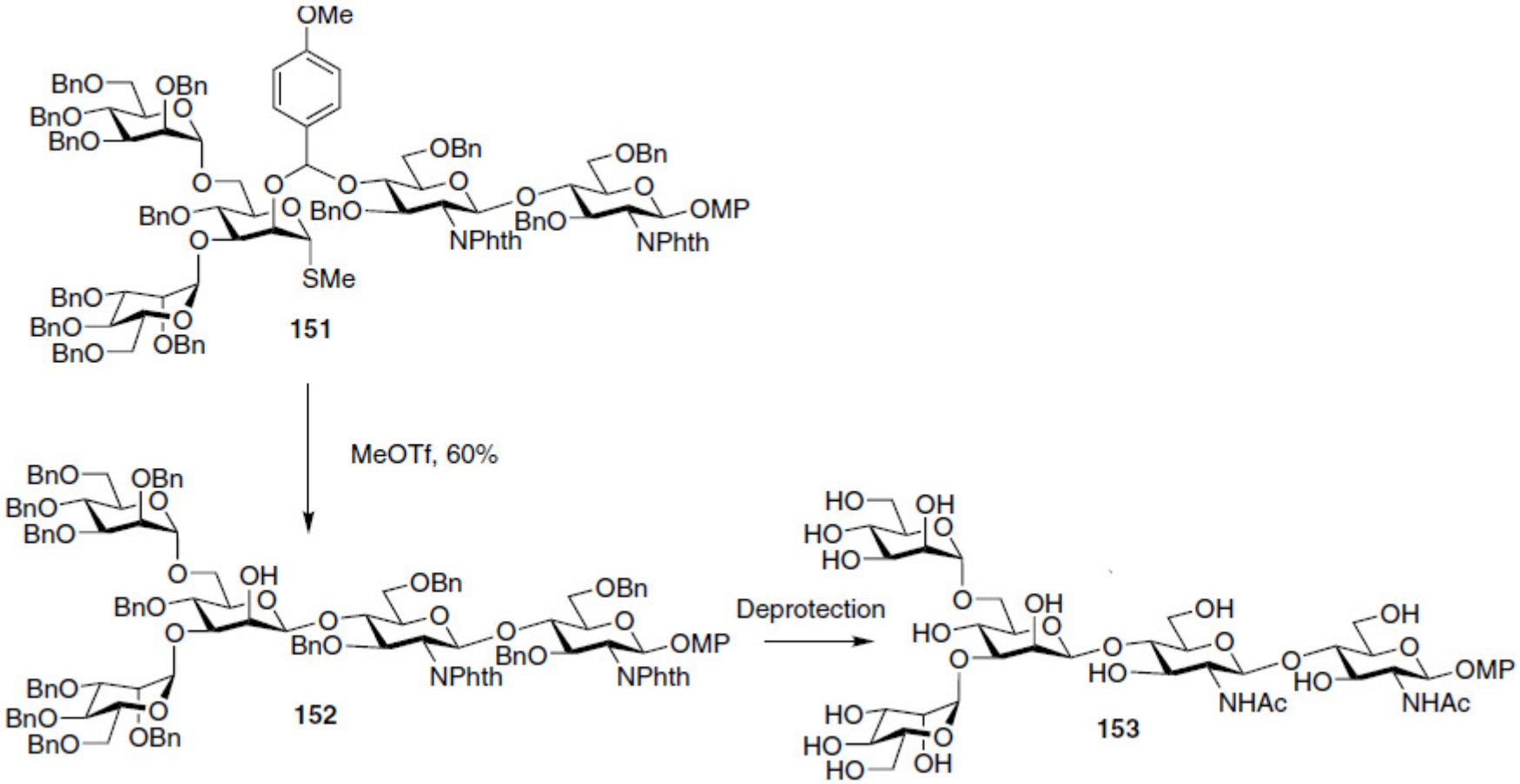
- Utilisation d'un *para*-méthoxybenzylidène acétal (1ère partie)



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide : *Retour sur la glycosylation intramoléculaire***

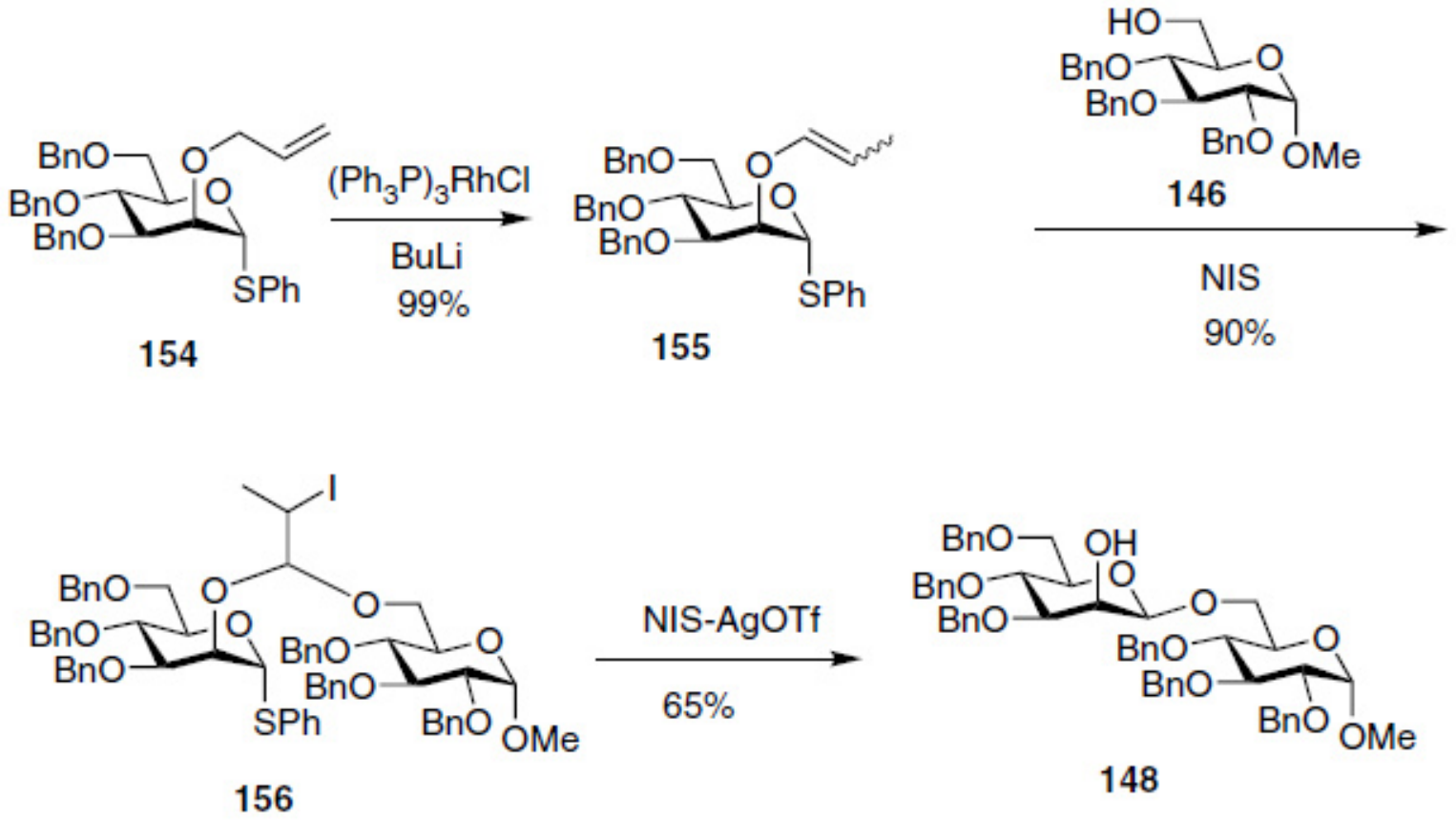
- Utilisation d'un *para*-méthoxybenzylidène acétal (2e partie)



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide :** ***Retour sur la glycosylation intramoléculaire***

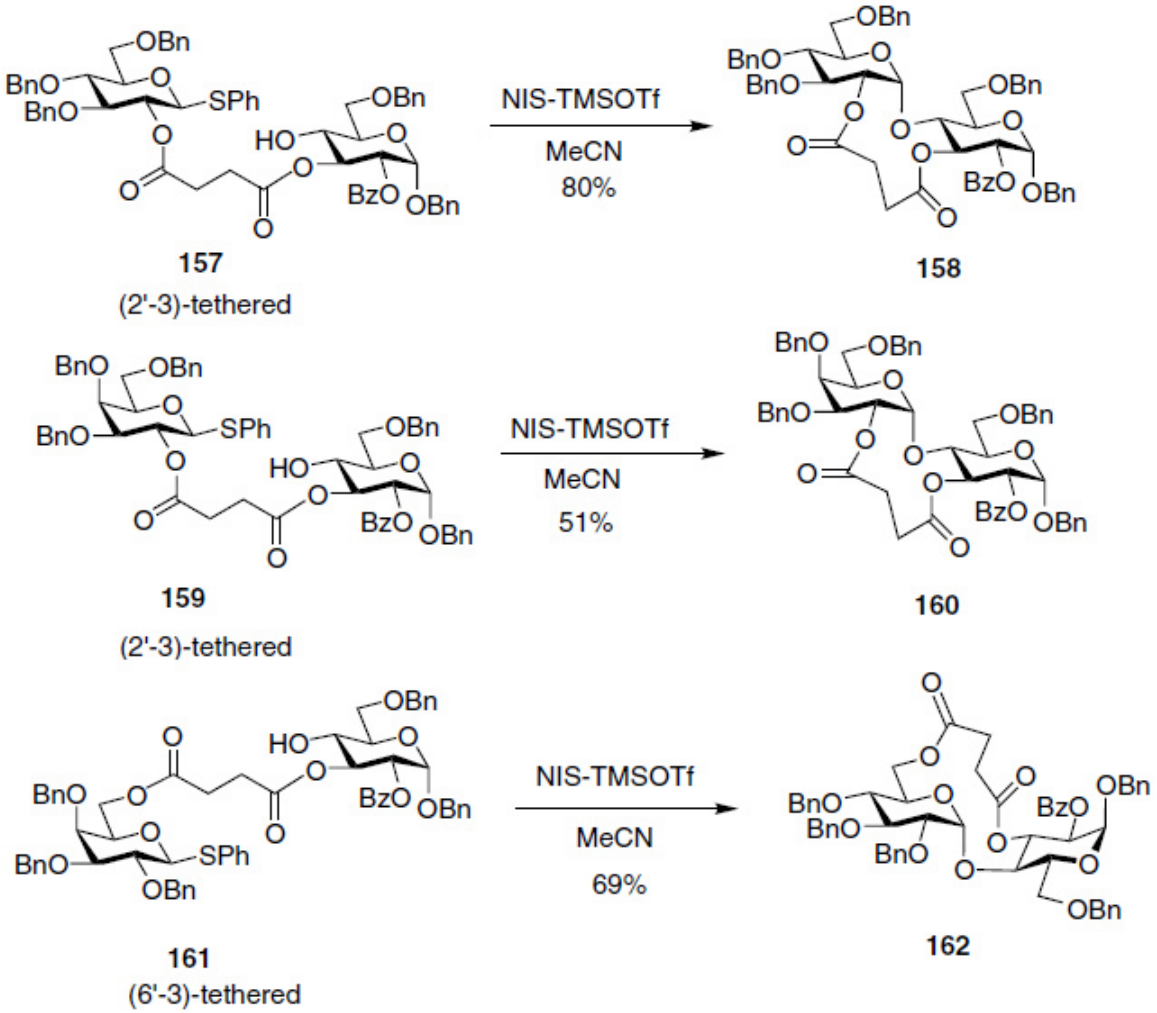
- Utilisation d'éthers 2-*O*-allylés comme fonction d'ancrage



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide : *Retour sur la glycosylation intramoléculaire***

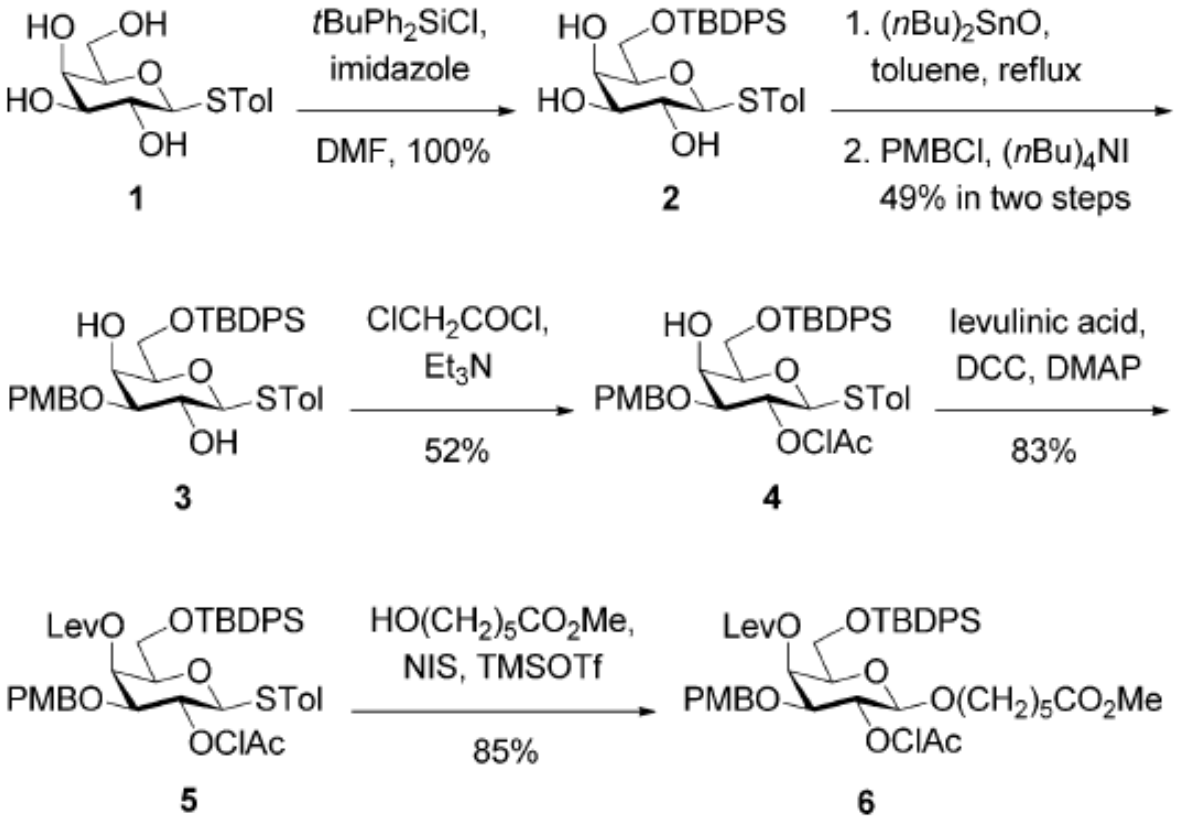
- Cyclo-glycosylation intramoléculaire : utilisation de fonction d'ancrage succinoyl



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide : *Synthons orthogonaux***

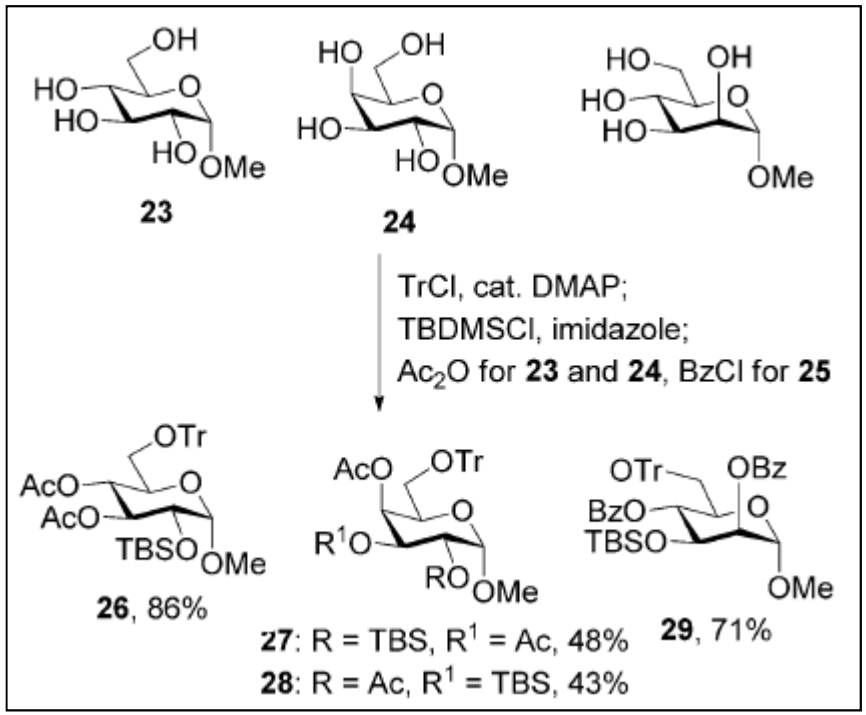
- Synthèse de sucres protégés avec groupements protecteurs orthogonaux
- Régénération sélective des OH-2, OH-3, OH-4 et OH-6 du D-galactose

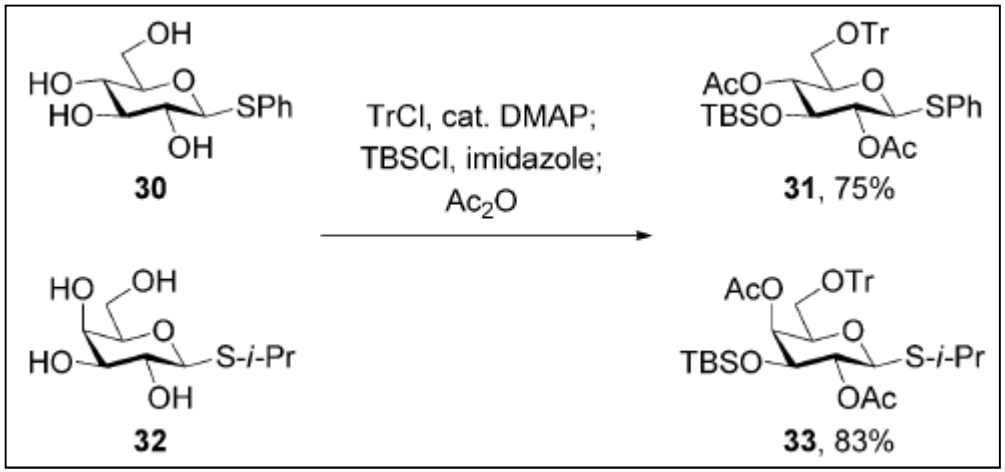


# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide : *Protection en un seul pot (one-pot)***

- One-pot tritylation/silylation/acylation

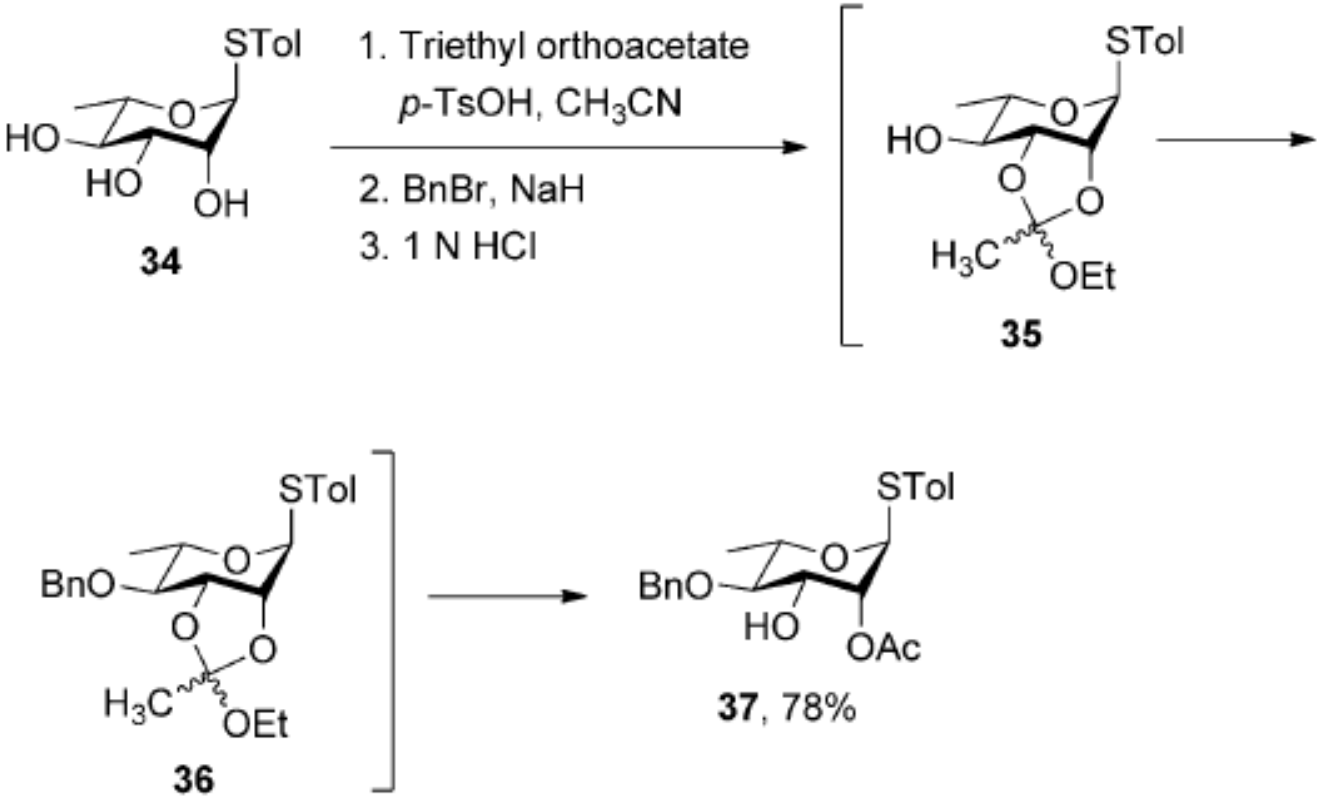


# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide :** ***Protection en un seul pot (one-pot)***

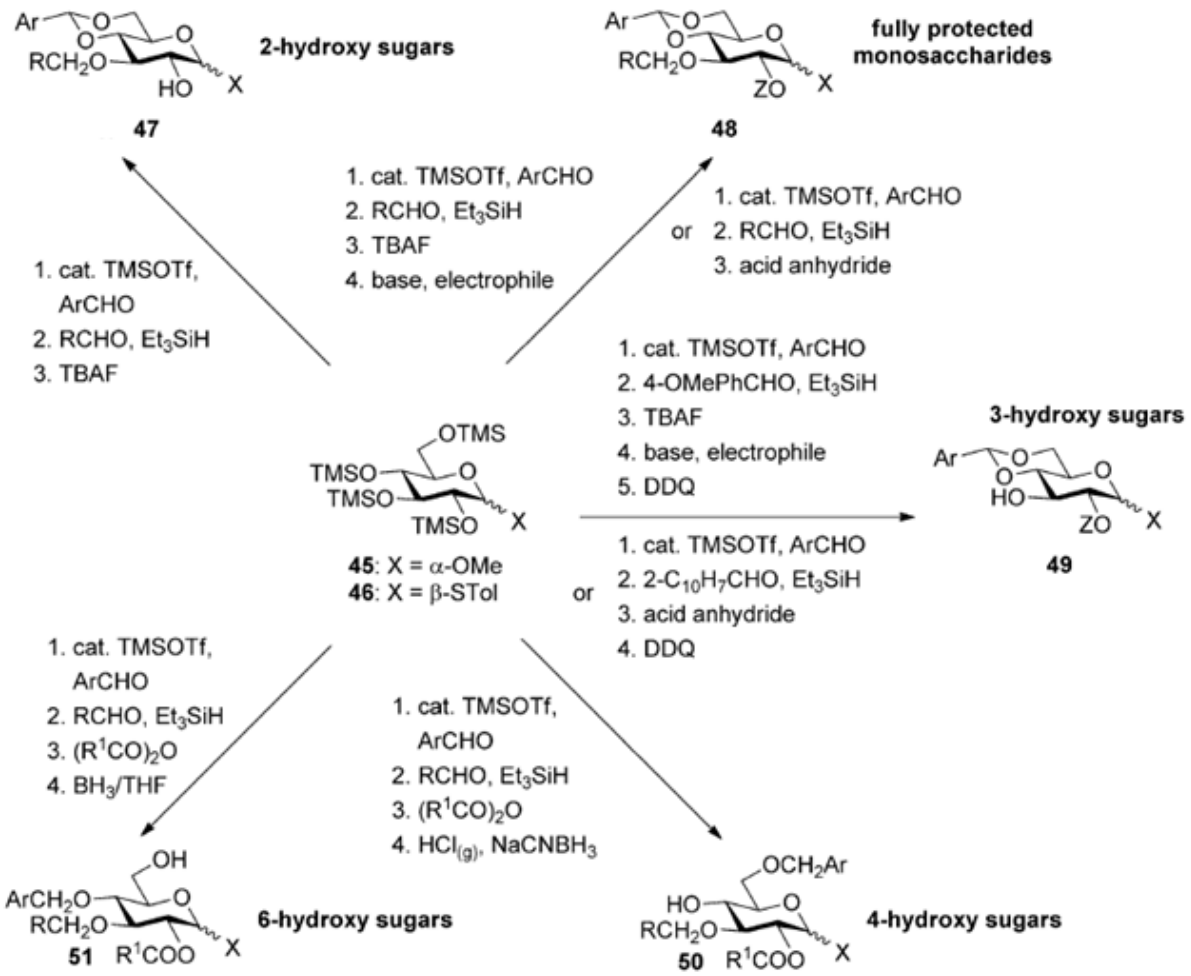
- One-pot orthoesterification/benzylation/réarrangement d'orthoester



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide : *Protection en un seul pot (one-pot)***

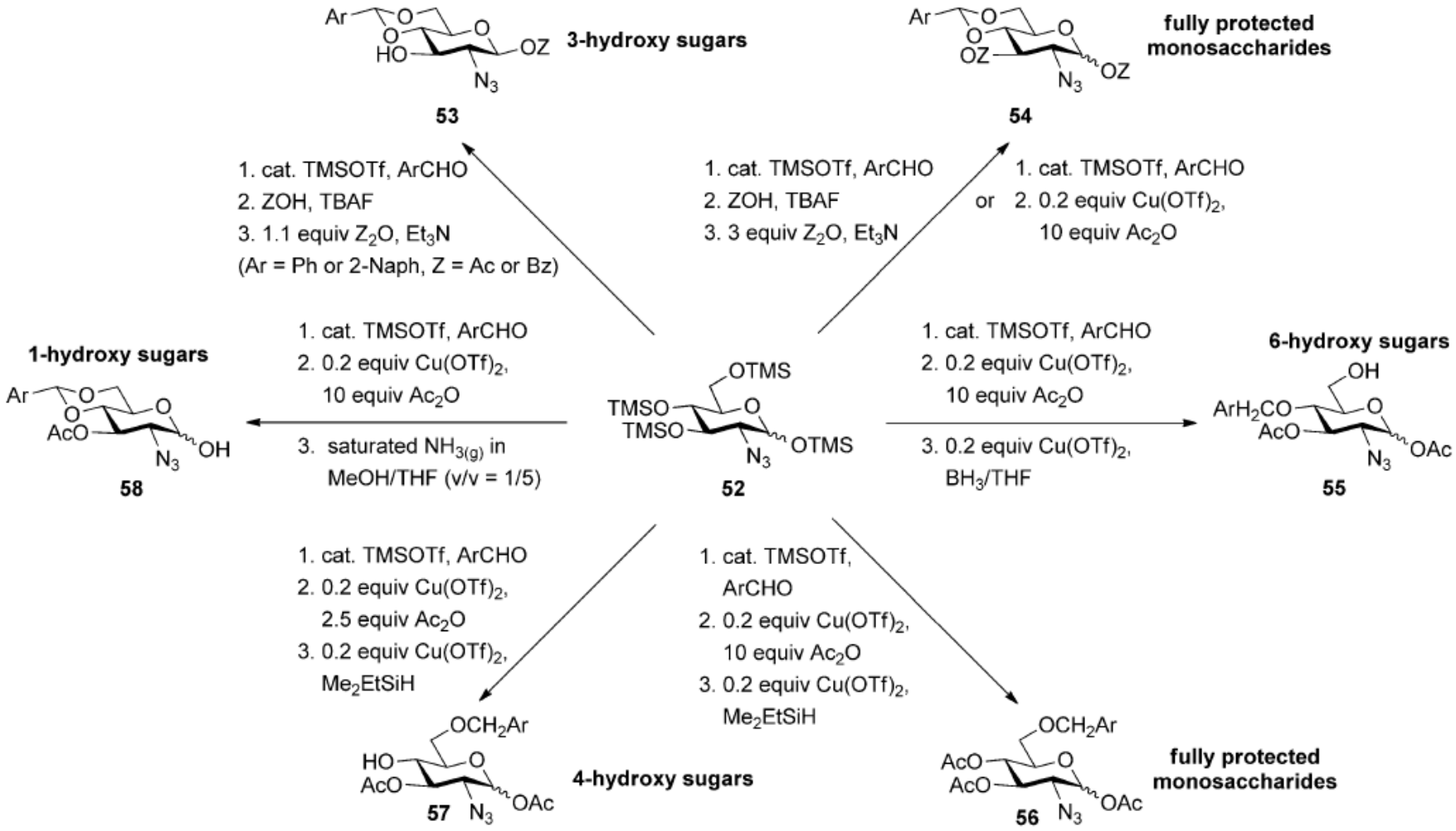
- Synthèse one-pot de dérivés mono-OH à partir de 2,3,4,6-tétra-TMS-D-glucosides



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide : *Protection en un seul pot (one-pot)***

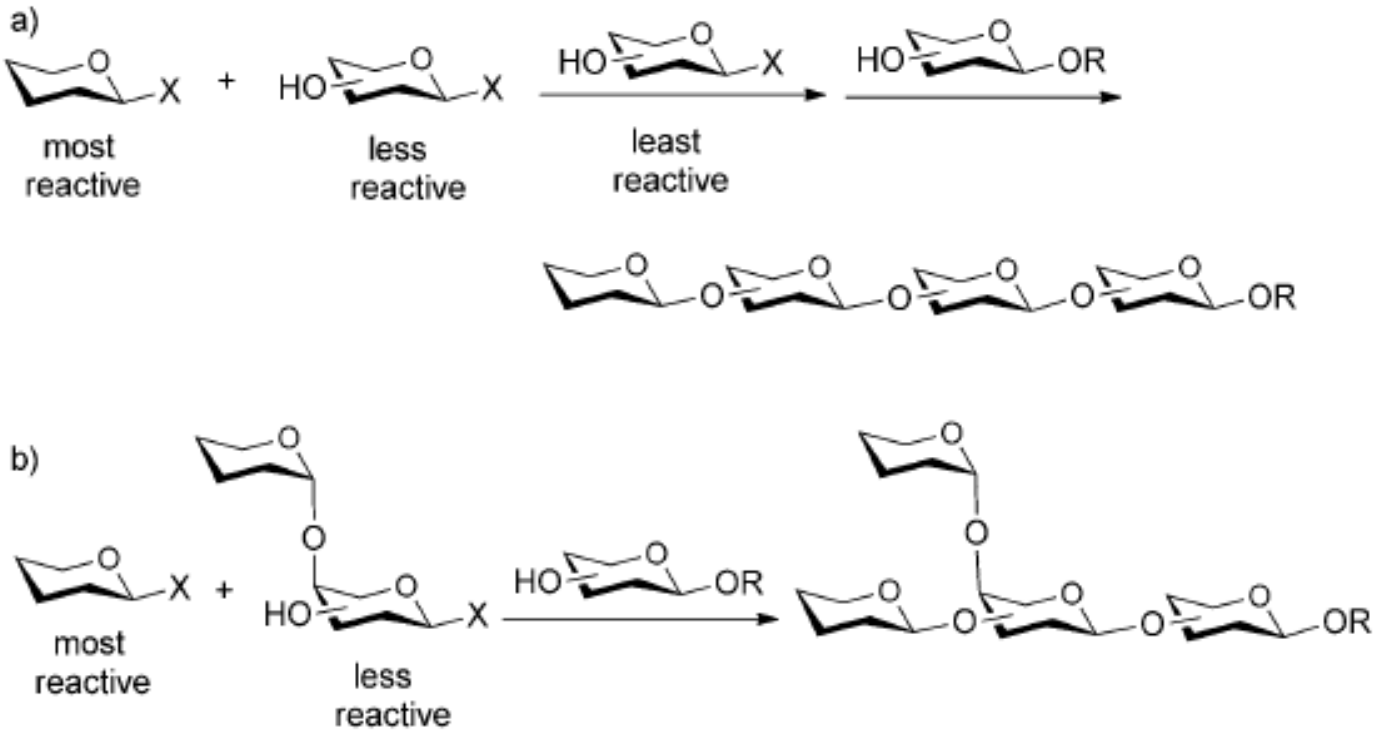
- Synthèse one-pot de dérivés mono-OH à partir du 2-$N_3$-1,3,4,6-tétra-TMS-D-glucosamines



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide : *Glycosylation en un seul pot (one-pot)***

- Synthèse programmable one-pot d'oligosaccharides (a = linéaires, b = ramifiés)

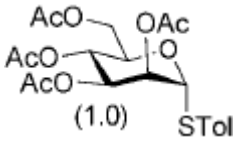


**Chi-Huey Wong**

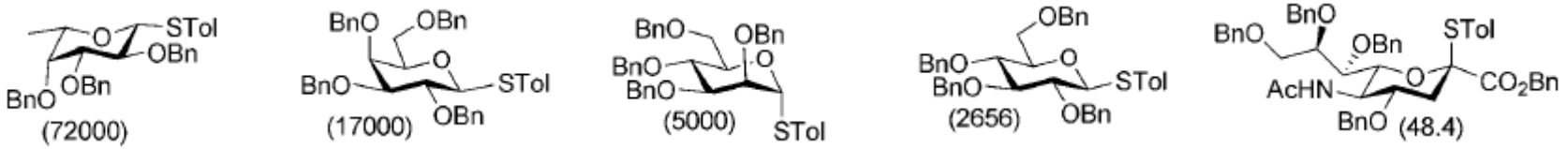
# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide : *Glycosylation en un seul pot (one-pot)***

- Valeurs de réactivité relative (RRV) des différents sucres donneurs comparées à

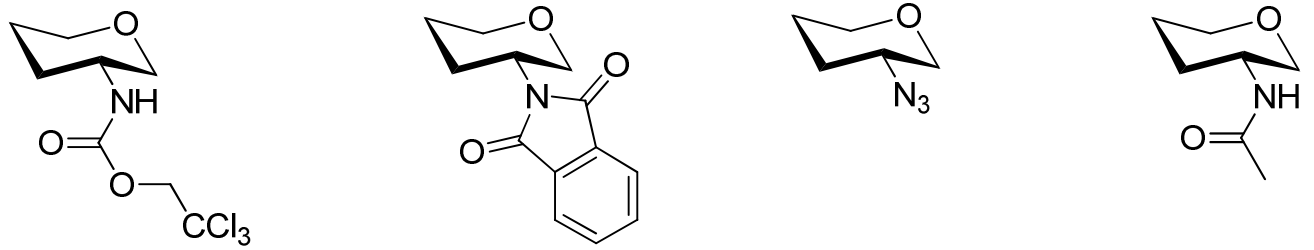



*1) RRVs des pyranosides sont fonction de la nature du sucre*




reactivity increase

*2) RRVs des aminosucres peuvent être modulées par les groupements protecteurs sur l'azote*



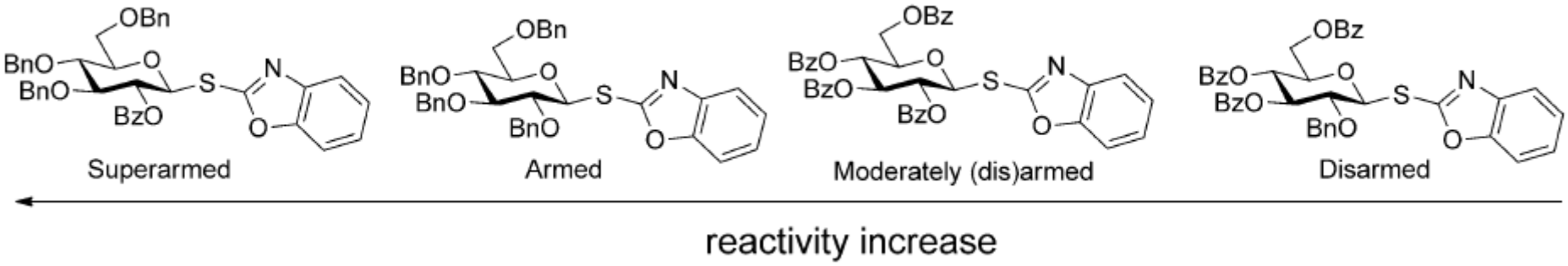

reactivity increase

# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide : *Glycosylation en un seul pot (one-pot)***

*3) RRVs sont influencés par la nature des groupements protecteurs*

- En général : H > OSilyl > OH > OBn > OAc > OBz > OClAc




*4) La position qui affecte les RRVs des pyranosides n'est pas toujours la même selon le sucre*

- Pour le D-mannose : C-2 > C-6 > C-4 > C-3
- Pour le D-galactose : C-4 > C-3 > C-2 > C-6

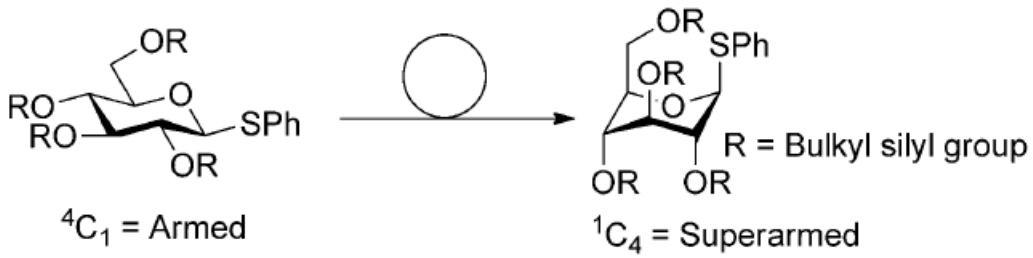
*5) Pour les groupements protecteurs, l'effet sur les RRVs dépend de leur position.*

# 4. Synthèse d'oligosaccharides

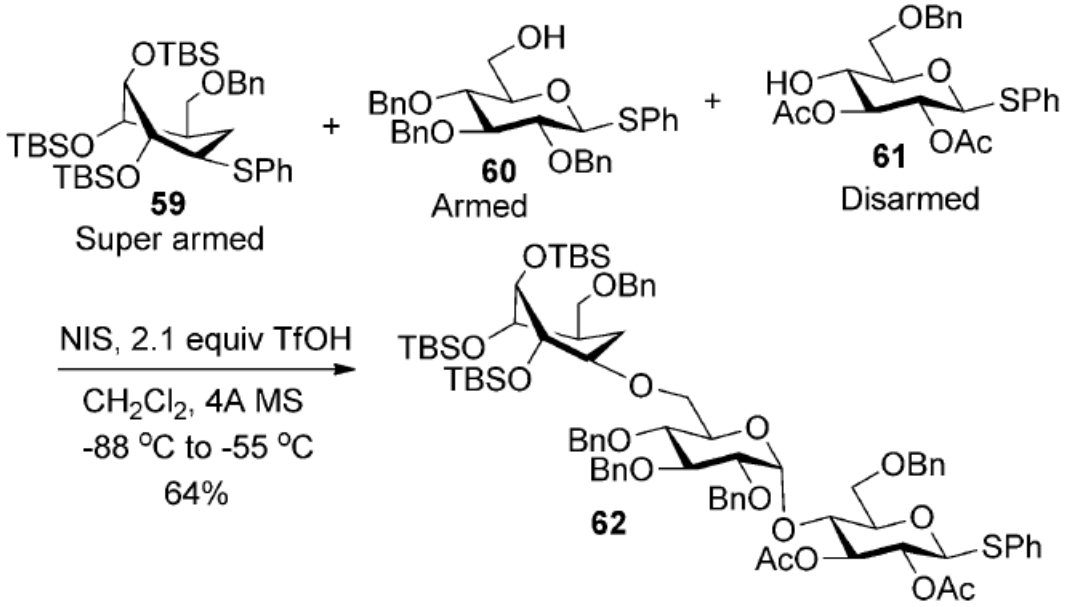
**Approches en phase liquide : *Glycosylation en un seul pot (one-pot)***

*6) RRVs sont influencés par les effets de conformation*

- La présence de substituants en position axiale accroît les RRVs des thioglycosides




- Exemple : Sucre en conformation bateau-croisé plus réactif



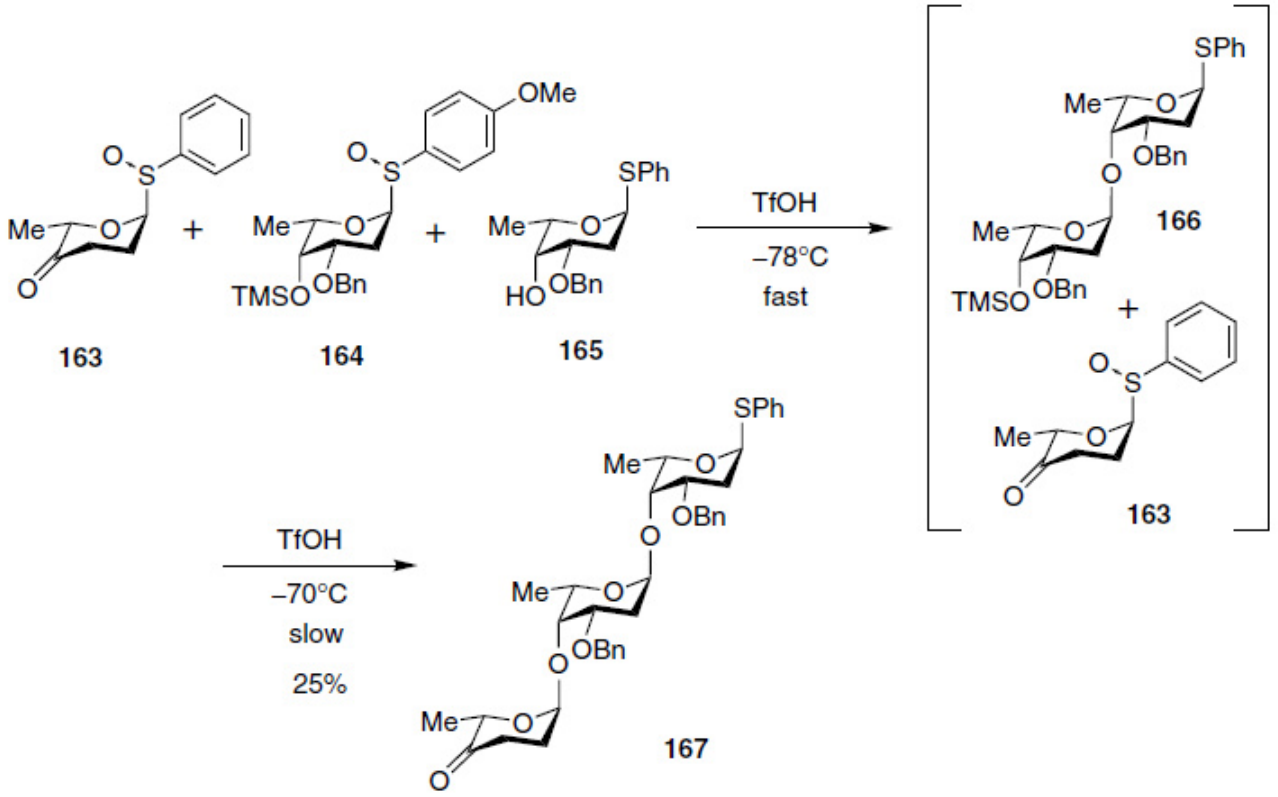
# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide : *Glycosylation en un seul pot (one-pot)***

*7) Influence du groupe partant sur les RRVs*

a) Effets stériques : Plus un groupe partant est volumineux, moins il est réactif

b) Effets électroniques : Réactivité des thiophénylglycosides est influencée par la présence de groupements en *para* sur le noyau aromatique

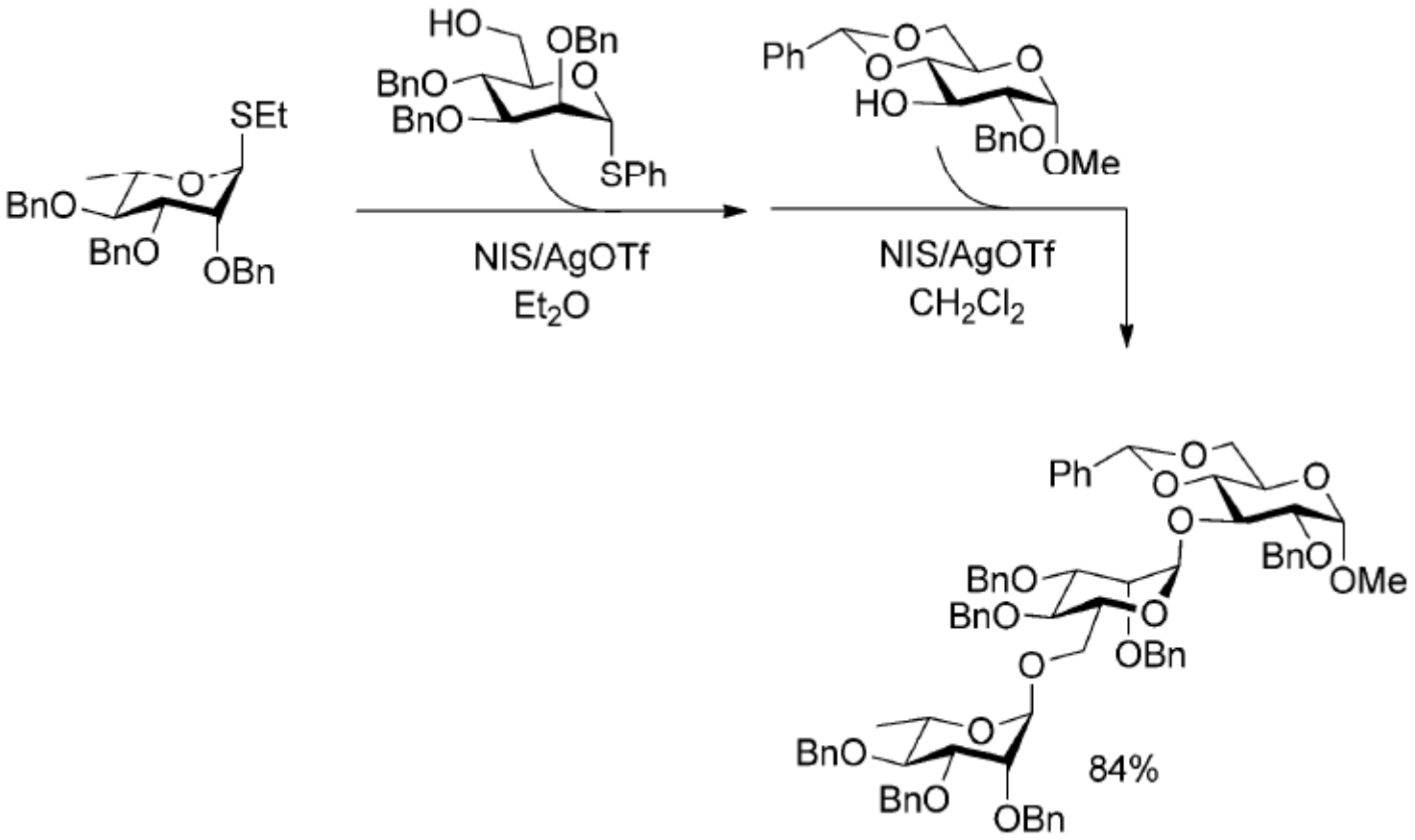


# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide : *Glycosylation en un seul pot (one-pot)***

*7) Influence du solvant*

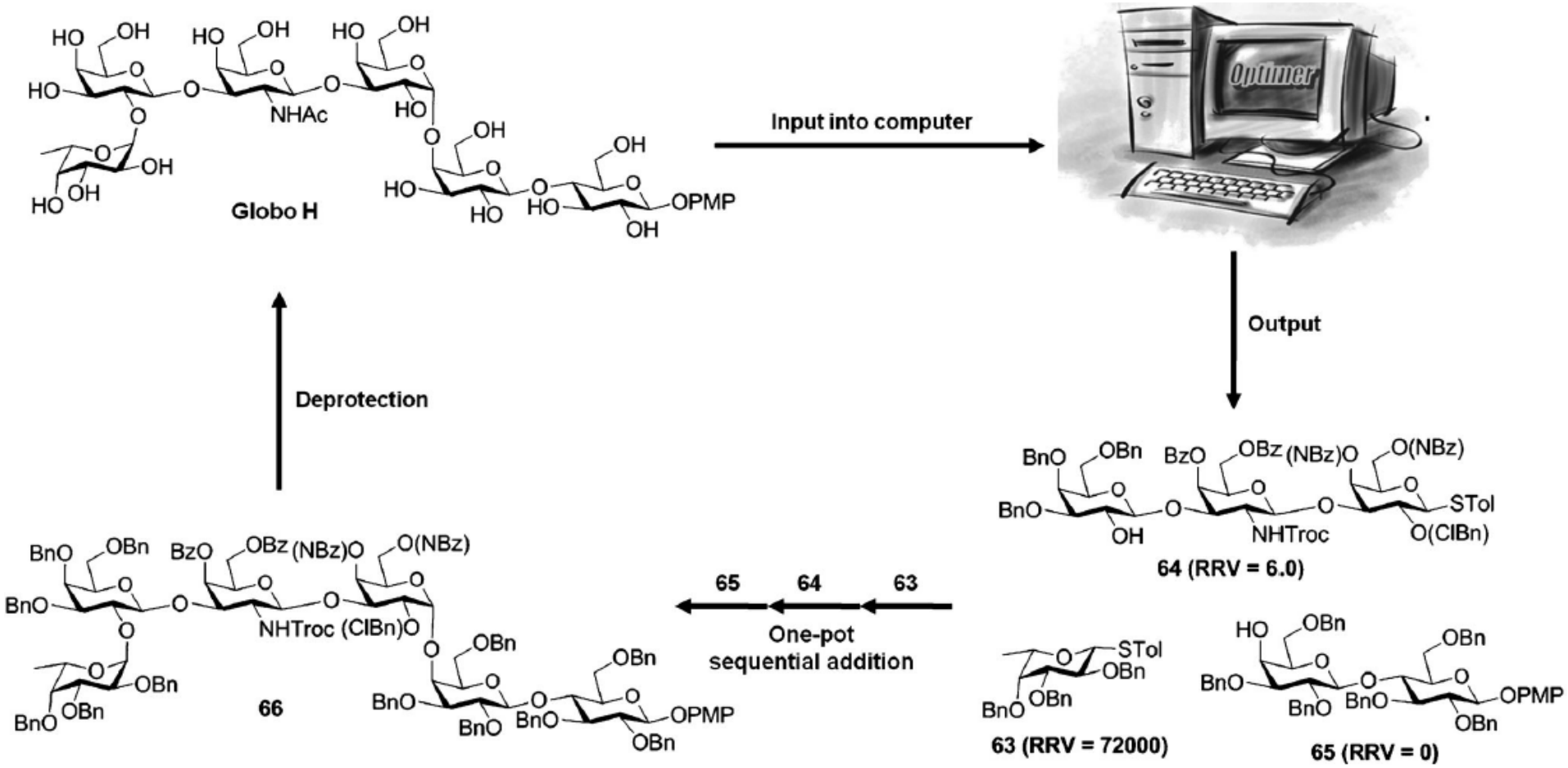
- Vitesses de glycosylation sont modulées par la nature du solvant ($CH_2Cl_2$ > $Et_2O$)



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide : *Glycosylation en un seul pot (one-pot)***

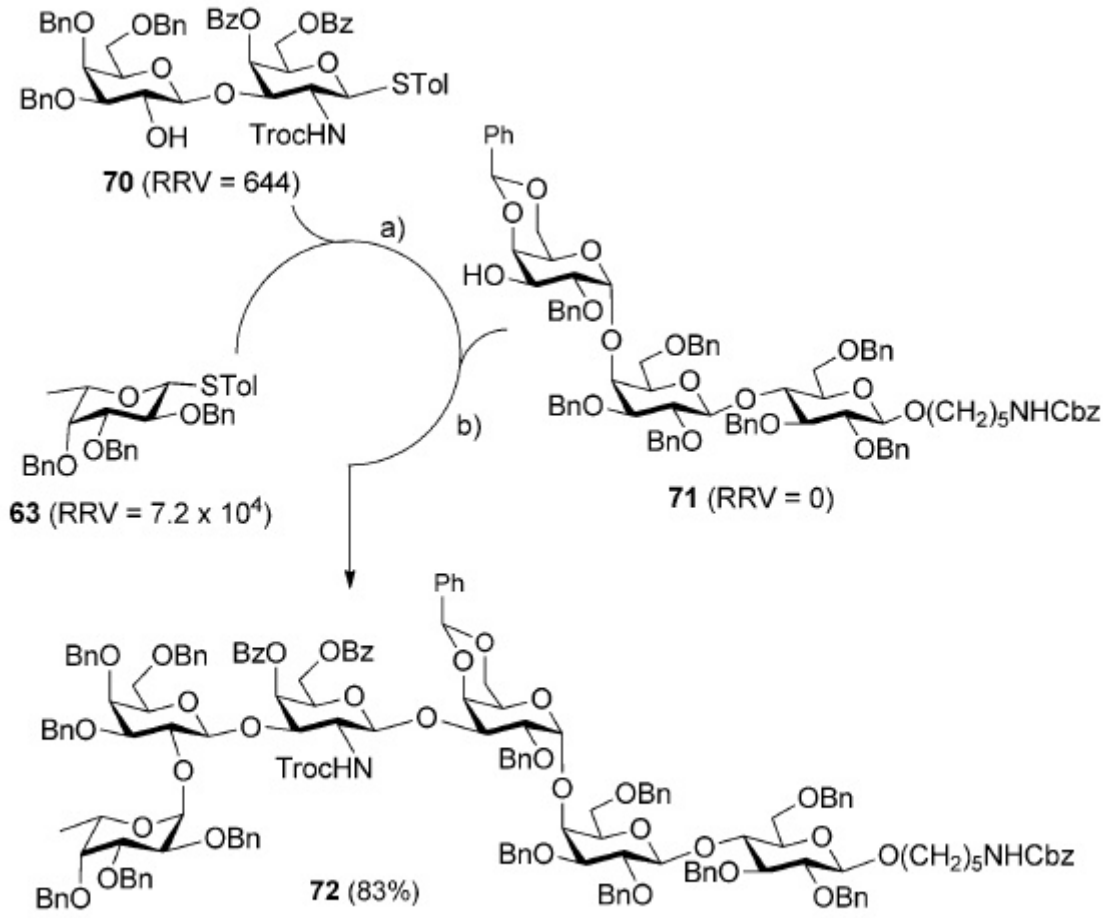
- Exemple : Synthèse programmable de l'hexasaccharide Globo-H (stratégie [1 + 3 + 2])



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide : *Glycosylation en un seul pot (one-pot)***

- Exemple : Synthèse programmable de l'hexasaccharide Globo-H (stratégie [1 + 2 + 3])

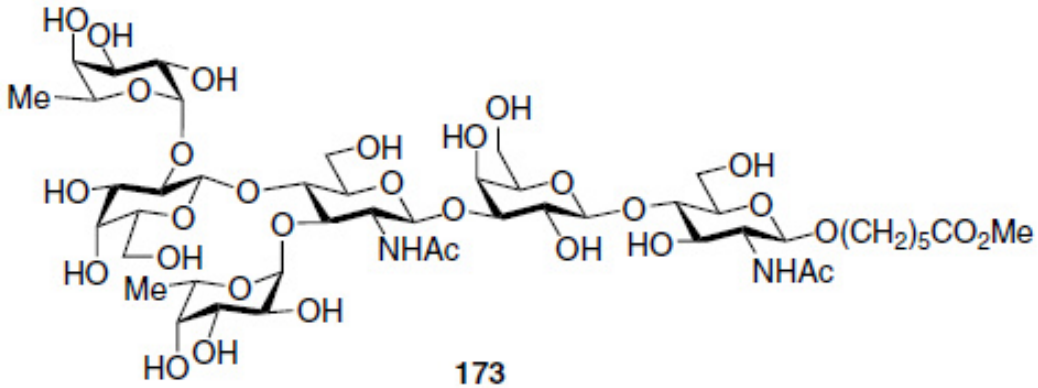



Conditions: a) NIS, TfOH, −40 °C; b) NIS, TfOH, −30 °C, 83 % overall yield.

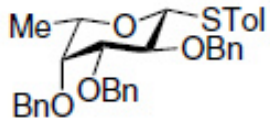
# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide : *Glycosylation en un seul pot (one-pot)***

- Exemple : Synthèse programmable du Lewis-Y (building blocks et RRVs)

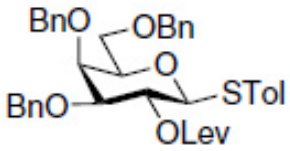



**173**



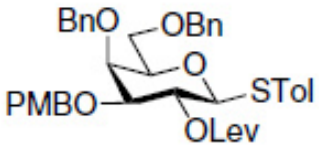

**174**

RRV = $7.2 \times 10^4$



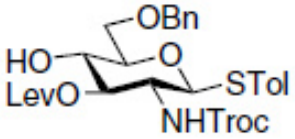

**175**

RRV = 4000



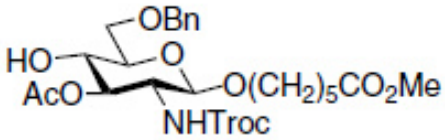

**176**

RRV = 4150




**177**

RRV = 282



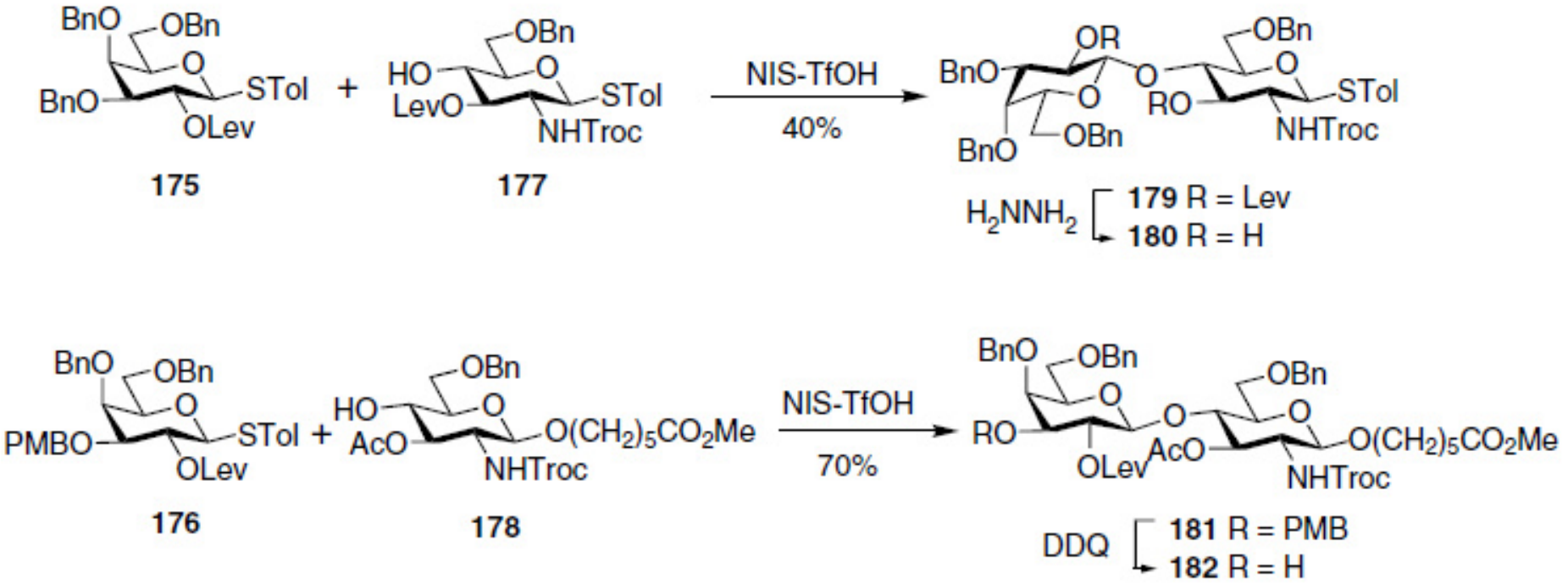

**178**

RRV = 0

# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide :** ***Glycosylation en un seul pot (one-pot)***

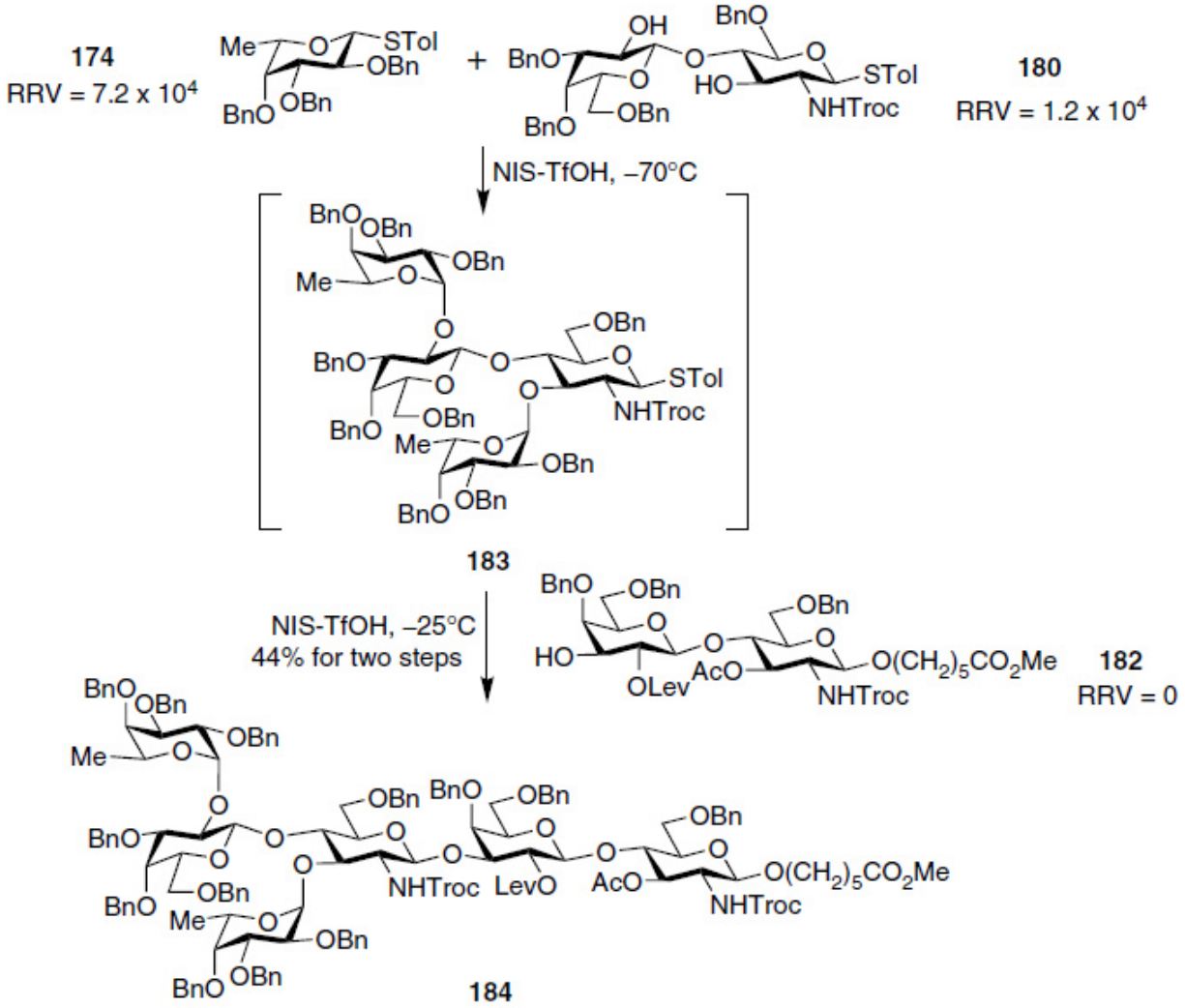
- Exemple : Synthèse programmable du Lewis-Y (1ère partie)



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide : *Glycosylation en un seul pot (one-pot)***

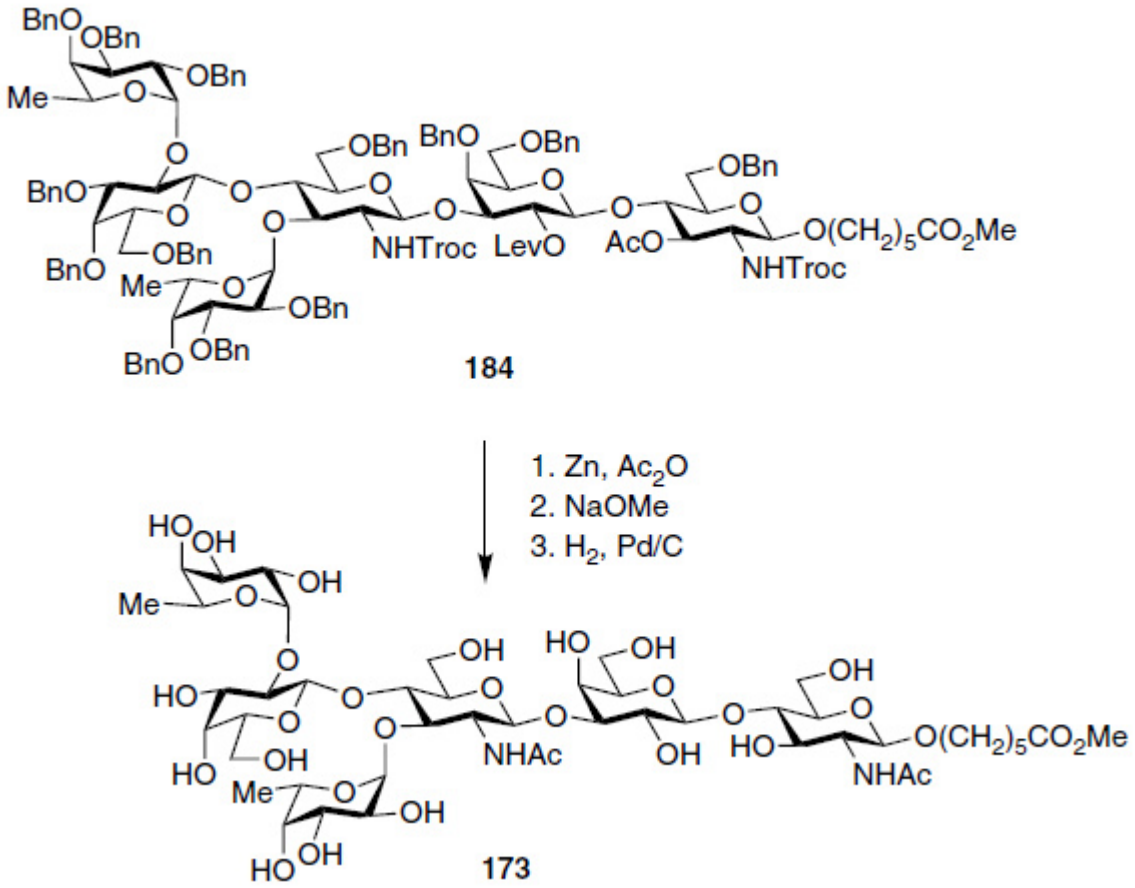
- Exemple : Synthèse programmable du Lewis-Y (2e partie)



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide : *Glycosylation en un seul pot (one-pot)***

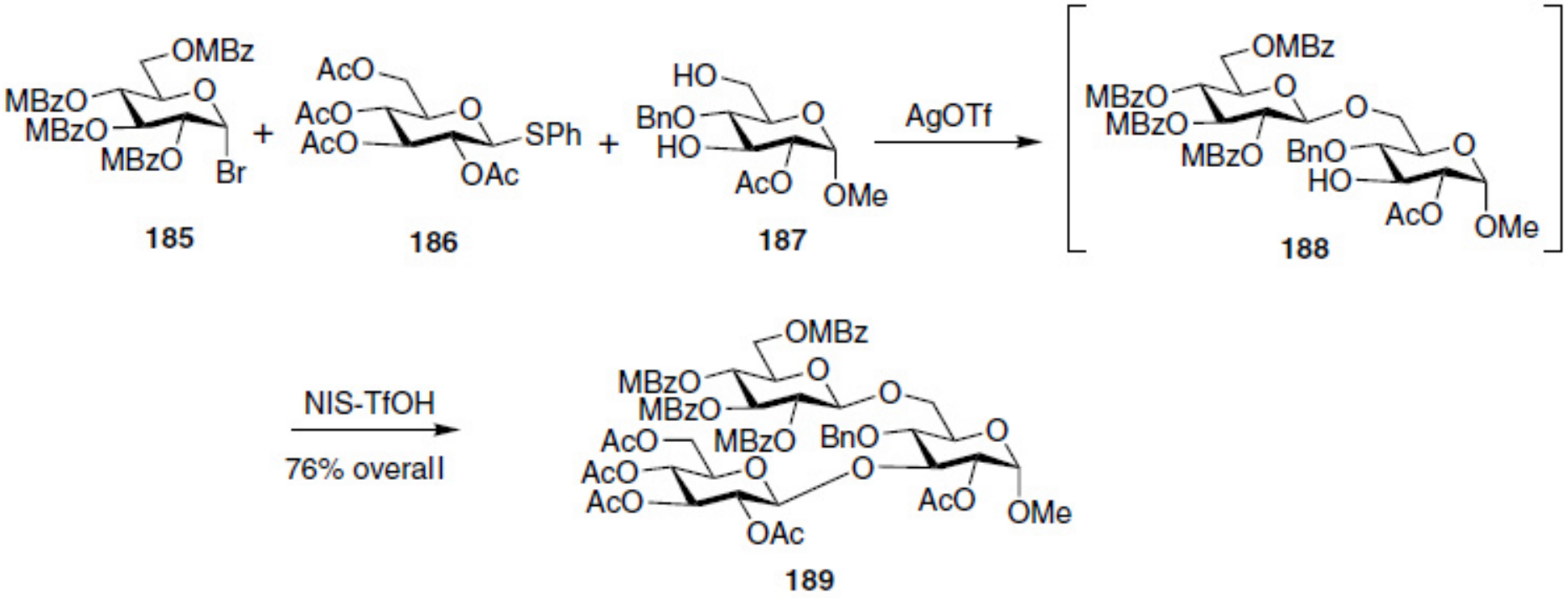
- Exemple : Synthèse programmable du Lewis-Y (3$^{e}$ partie)



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide : *Glycosylation en un seul pot (one-pot)***

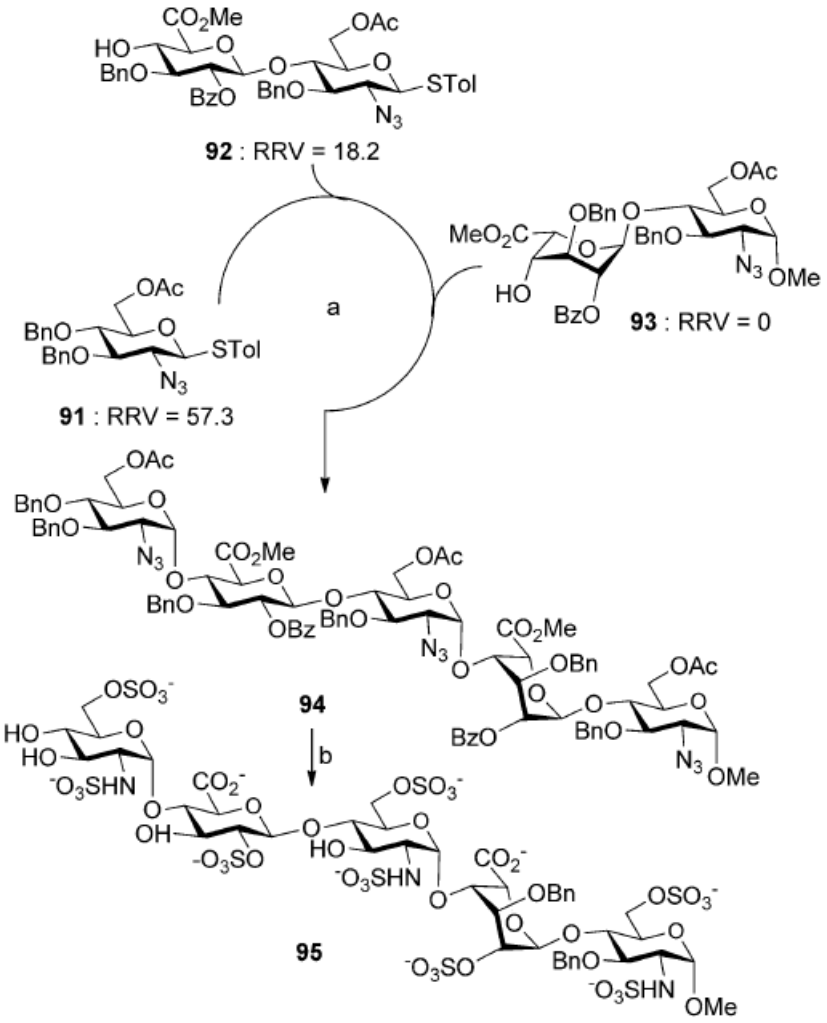
- Exemple : Synthèse one-pot d'un trisaccharide branché (différence de réactivité Br vs SPh)



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

## Approches en phase liquide : *Glycosylation en un seul pot (one-pot)*

- Exemple : Synthèse one-pot d'un pentasaccharide d'héparine anti-thrombotique




Conditions

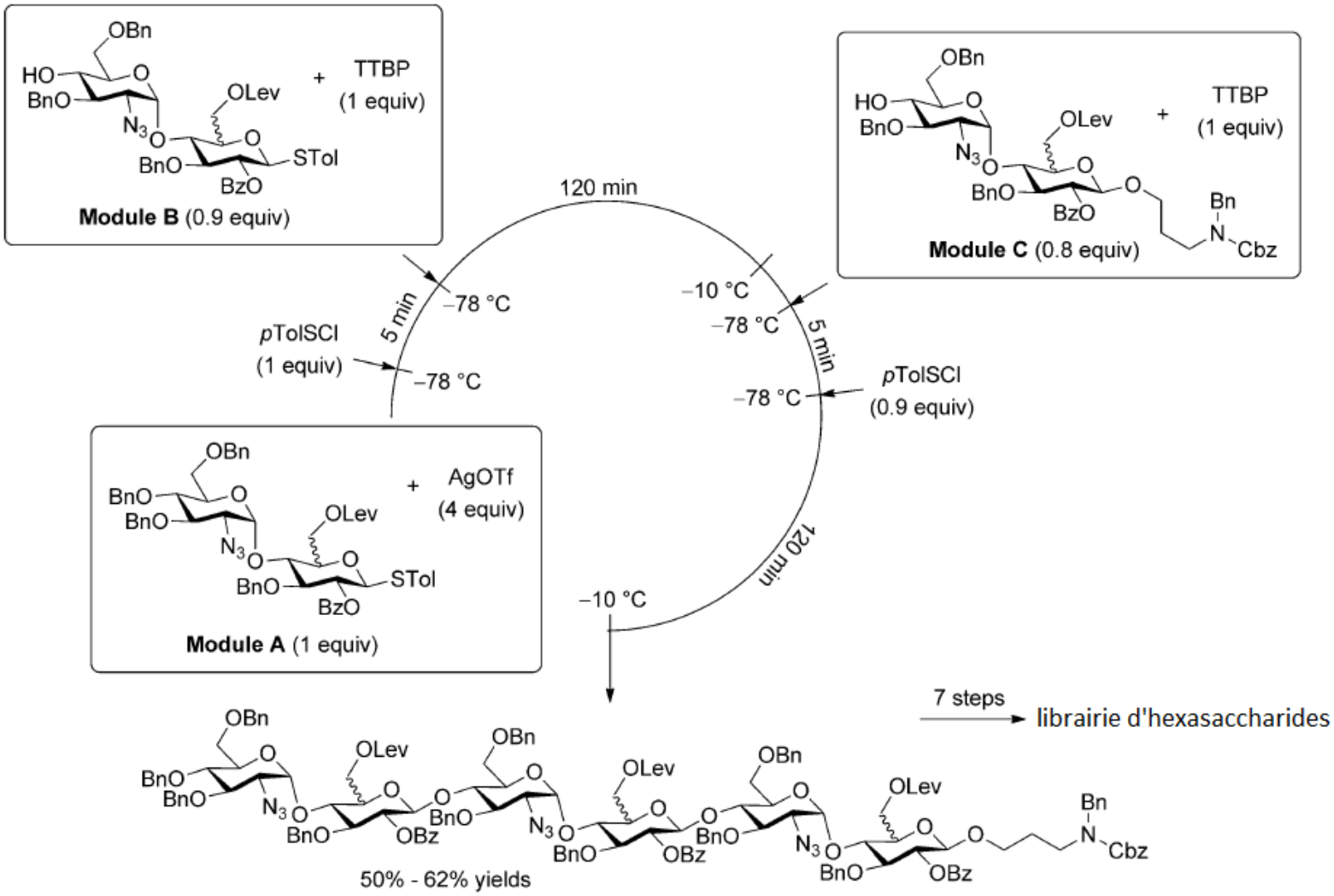
a) 1. NIS, TfOH, $CH_2Cl_2$, −45 °C to RT; 2. NIS, TfOH, $CH_2Cl_2$, −45 °C to RT, 20%;

b) 1. LiOH, THF; 2. $SO_3 \cdot Et_3N$, DMF; 3. $H_2$, Pd/C; 4. $SO_3 \cdot Pyr$, $H_2O$, 33 %.

# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase liquide : *Glycosylation en un seul pot (one-pot)***

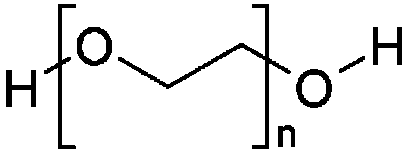
- Exemple : Synthèse one-pot modulable d'hexasaccharides d'héparine



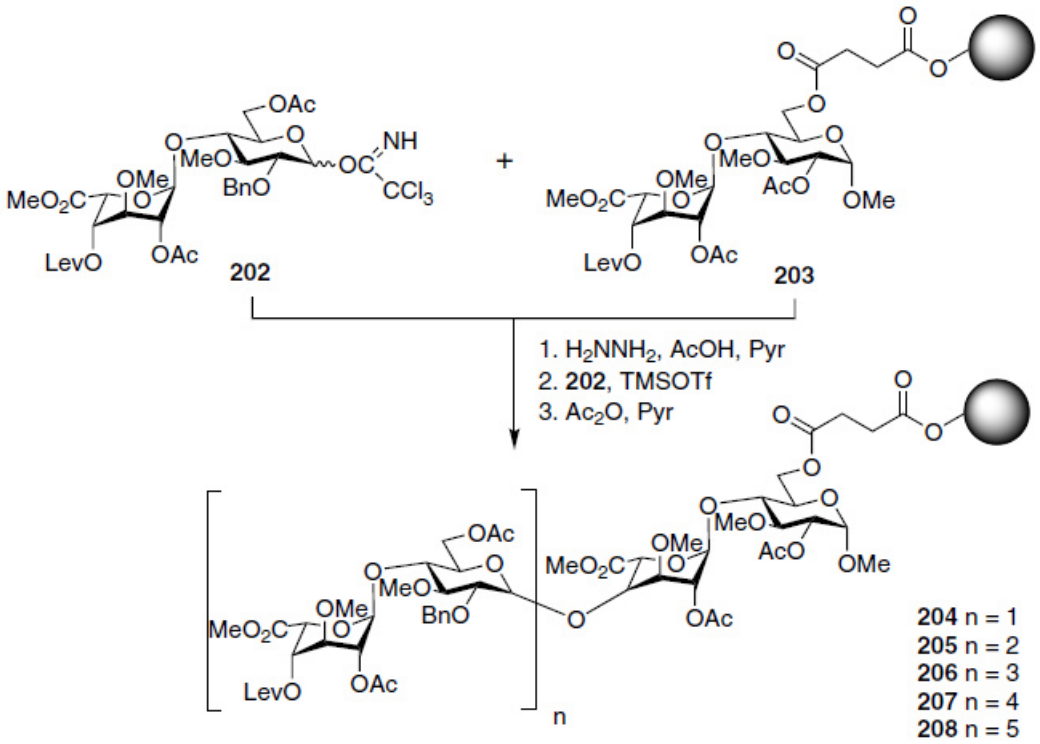
# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase solide : *Synthèse supportée par des polymères solubles***

- Utilisation de polymères solubles de type PEG



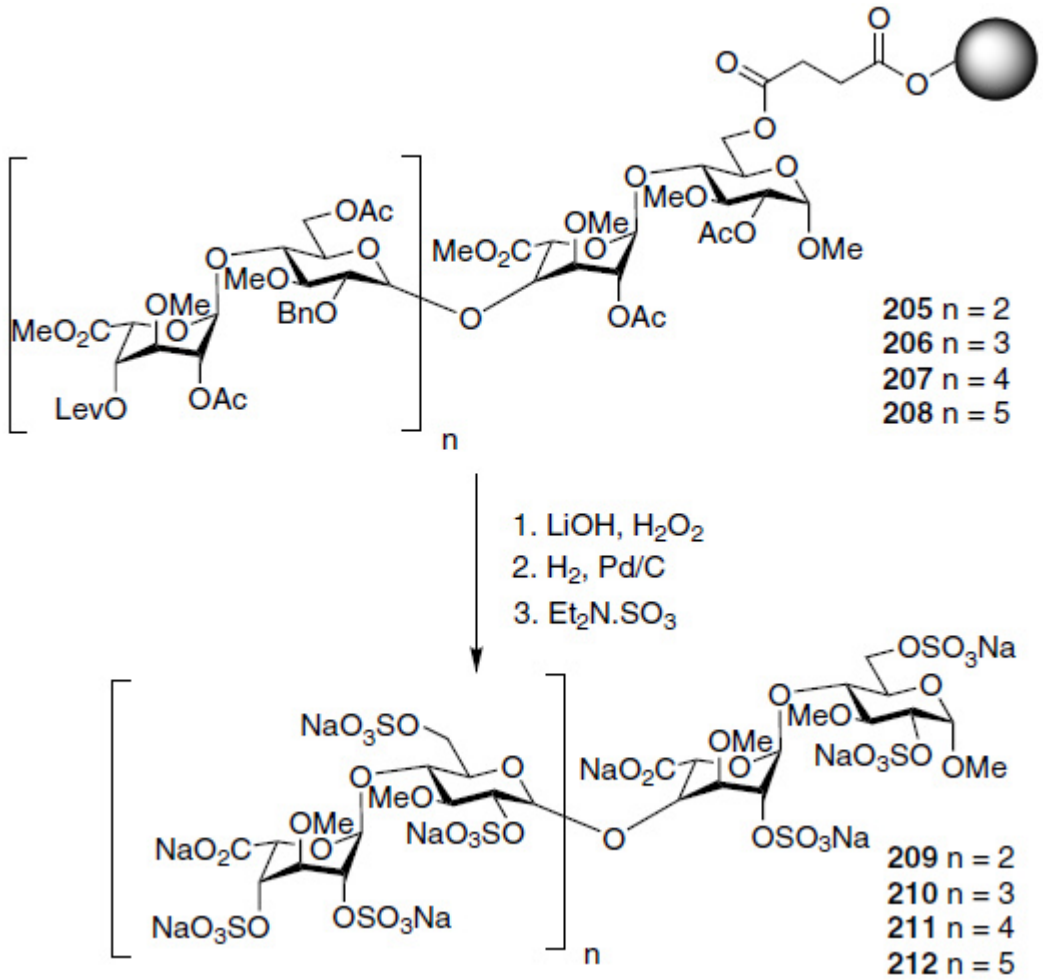
- Avantages ?
  - Précipitation du polymère par ajout d'$Et_2O$ après chaque étape, filtration et lavage
  - Suivi des réactions par RMN (contrairement aux polymères insolubles)
- Exemple : Synthèse d'oligosaccharides mimes d'héparines (1ère étape)



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase solide :** ***Synthèse supportée par des polymères solubles***

- Exemple : Synthèse d'oligosaccharides mimes d'héparines (2e étape)



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase solide :** ***Synthèse supportée par des polymères insolubles***

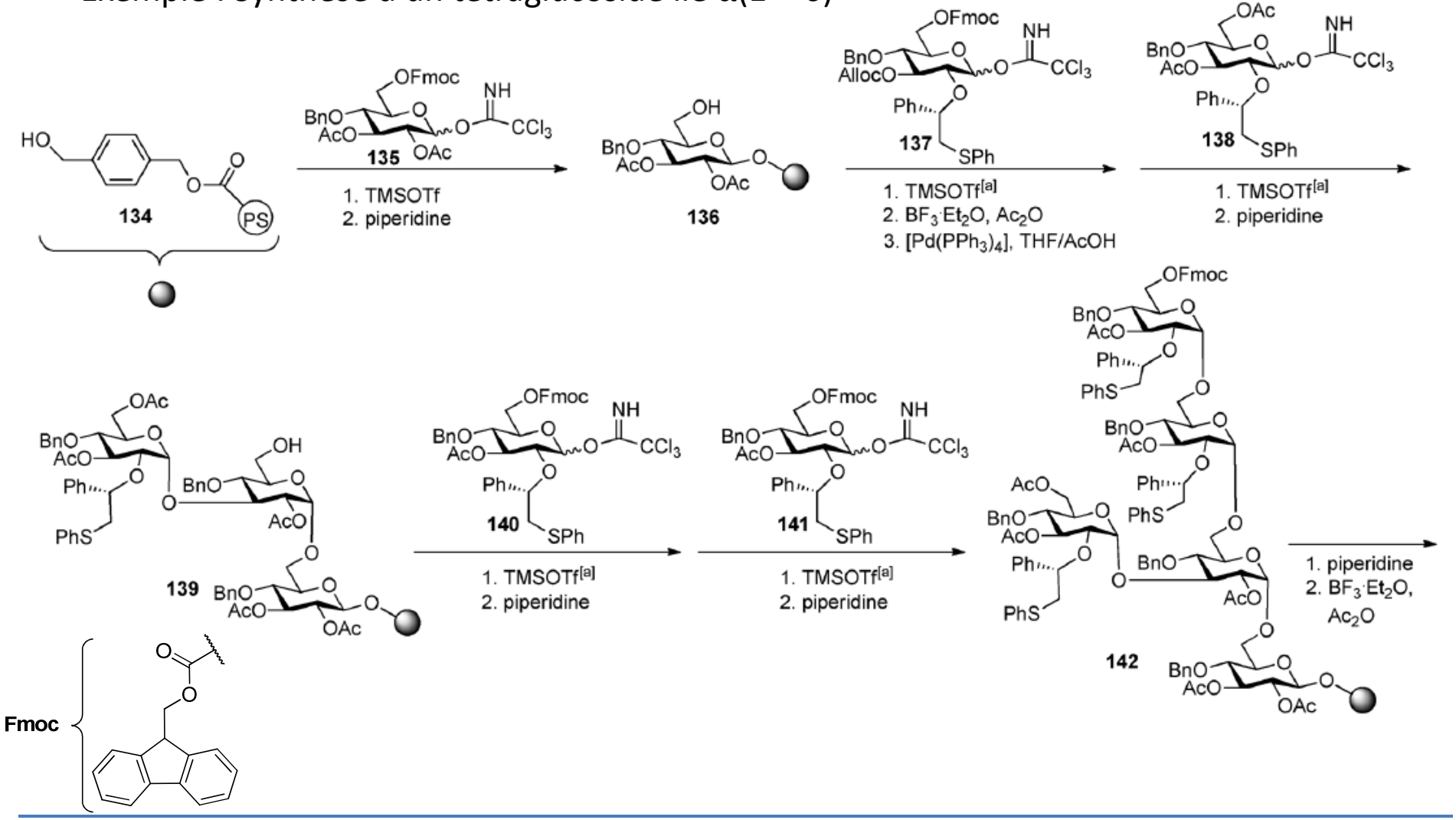
- Exemples de polymère insoluble : résine de Merrifield (polystyrène + 1% divinylbenzène)
  TentaGel ou ArgoGel (PEG lié au polystyrène)
- Différents espaceurs (*linkers*) : silyl éthers, succinoyl, benzyl éther, octènediol, etc.
- Possibilité de faire de la **synthèse automatisée** !

Peter H. Seeberger

# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase solide :** ***Synthèse supportée par des polymères insolubles***

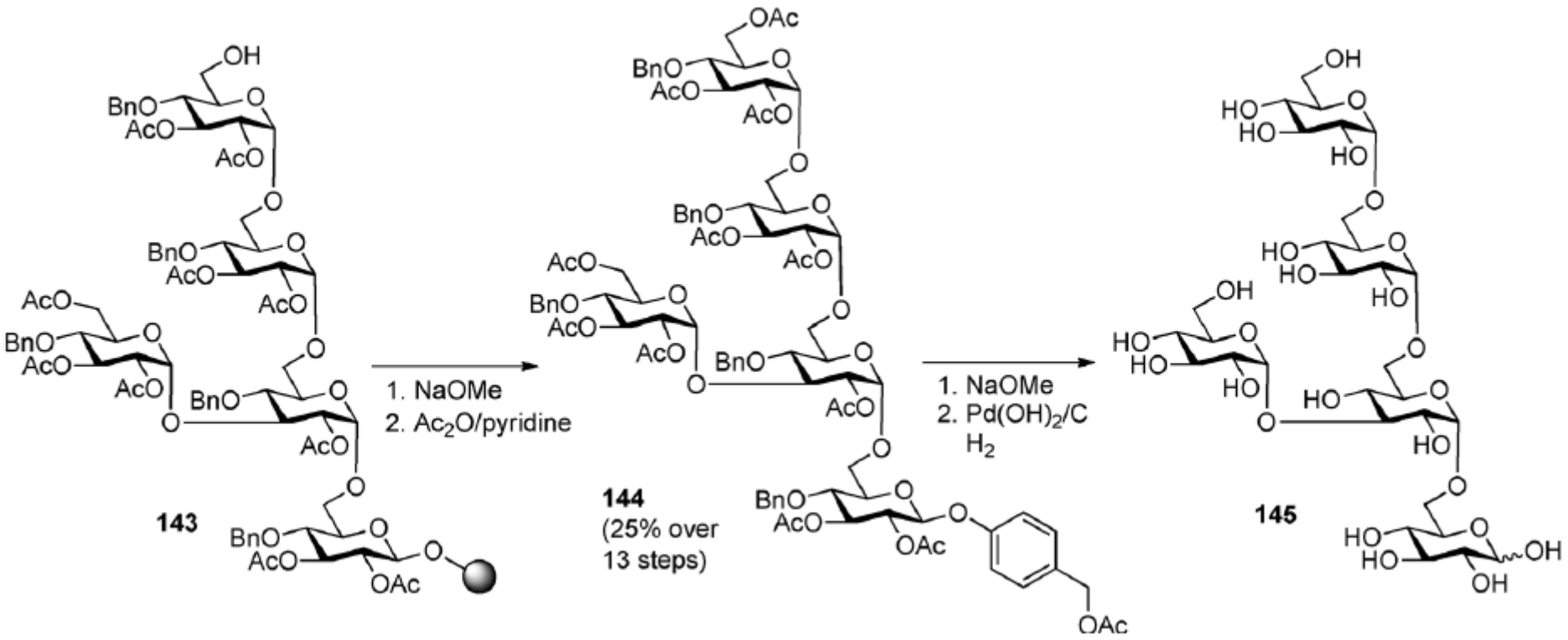
- Exemple : Synthèse d'un tétraglucoside lié α(1→6)



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase solide :** ***Synthèse supportée par des polymères insolubles***

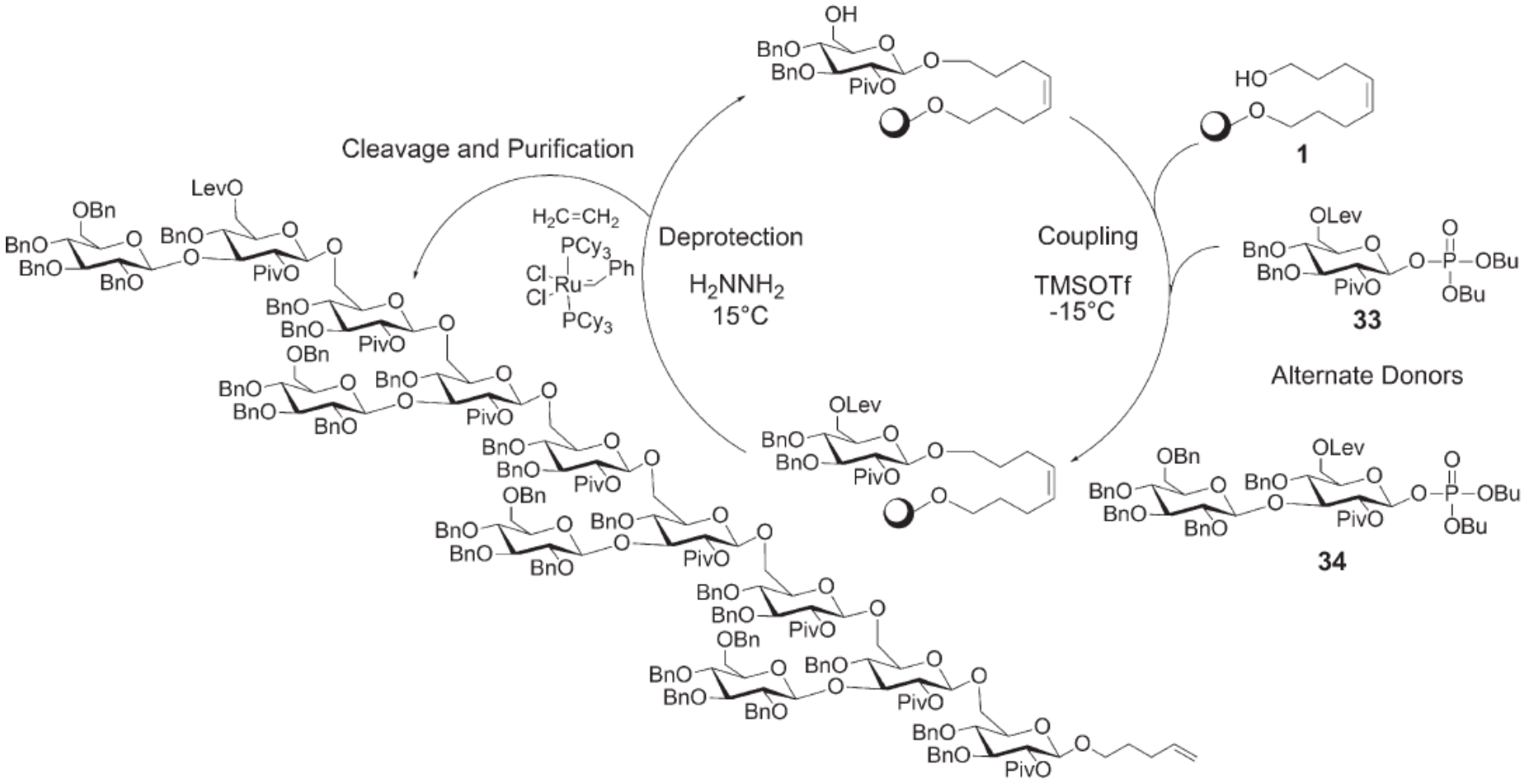
- Exemple : Synthèse d'un tétraglucoside lié α(1→6)



# 4. Synthèse d'oligosaccharides

**Approches en phase solide :** ***Synthèse automatisée sur support solide***

- Exemple : Synthèse d'un dodécamère de β-D-glucose



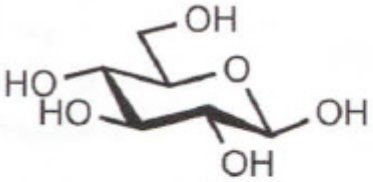
# 5. Glycobiologie et glycomédecine

## Sommaire de la 5e partie

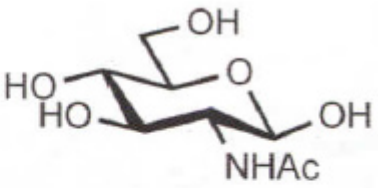
- Biosynthèse des glycans
- Glycobiologie humaine
- Membrane des bactéries
- Méthode de conjugaison
- Vaccins glycoconjugués antibactériens
- Exemple du vaccin contre la shigellose
- Vaccins glycoconjugués anticancers
- Vaccins glycoconjugués anti-VIH

# 5. Glycobiologie et glycomédecine

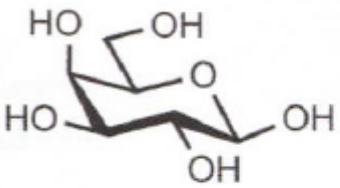
**Glycobiologie humaine :** ***Sucres mammaliens***



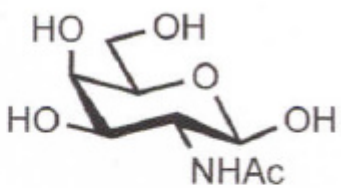

D-Glucose
(Glc)



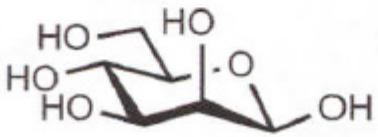

*N*-Acetyl-D-glucosamine
(GlcNAc)



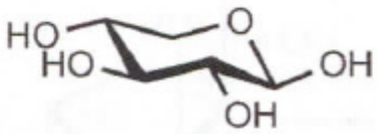

D-Galactose
(Gal)



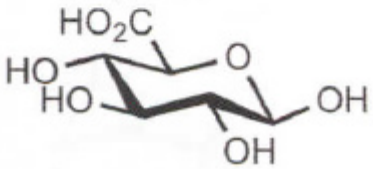

*N*-Acetyl-D-galactosamine
(GalNAc)



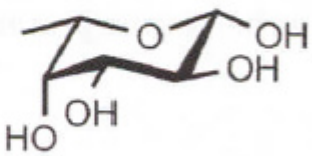

D-Mannose
(Man)



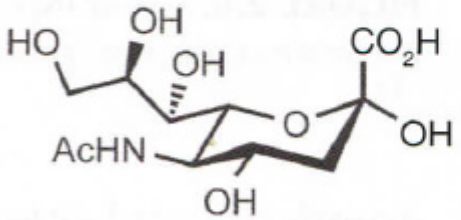

D-Xylose
(Xyl)




D-Glucuronic acid
(GlcA)



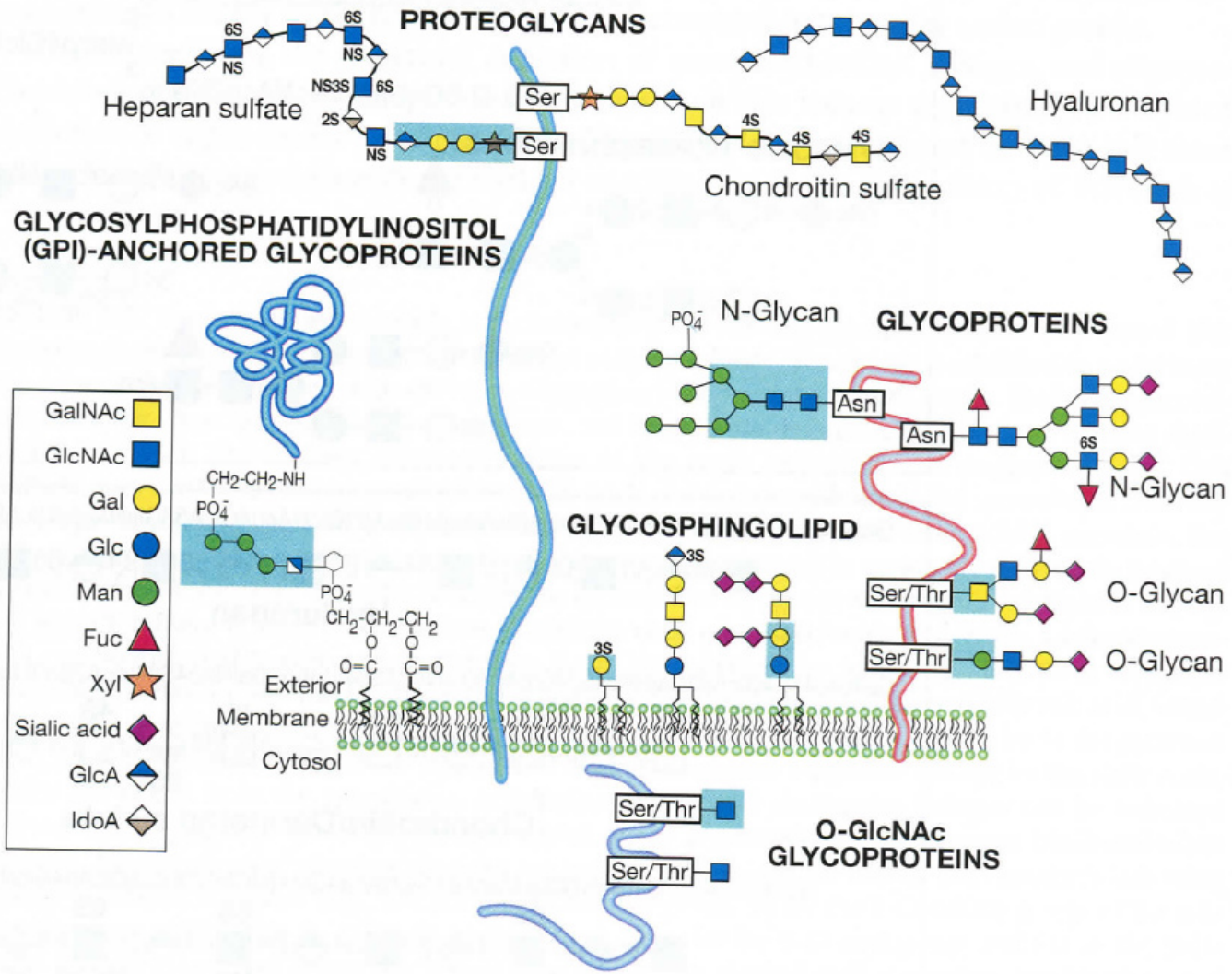

L-Fucose
(Fuc)




*N*-Acetylneuraminic acid
(NeuAc)

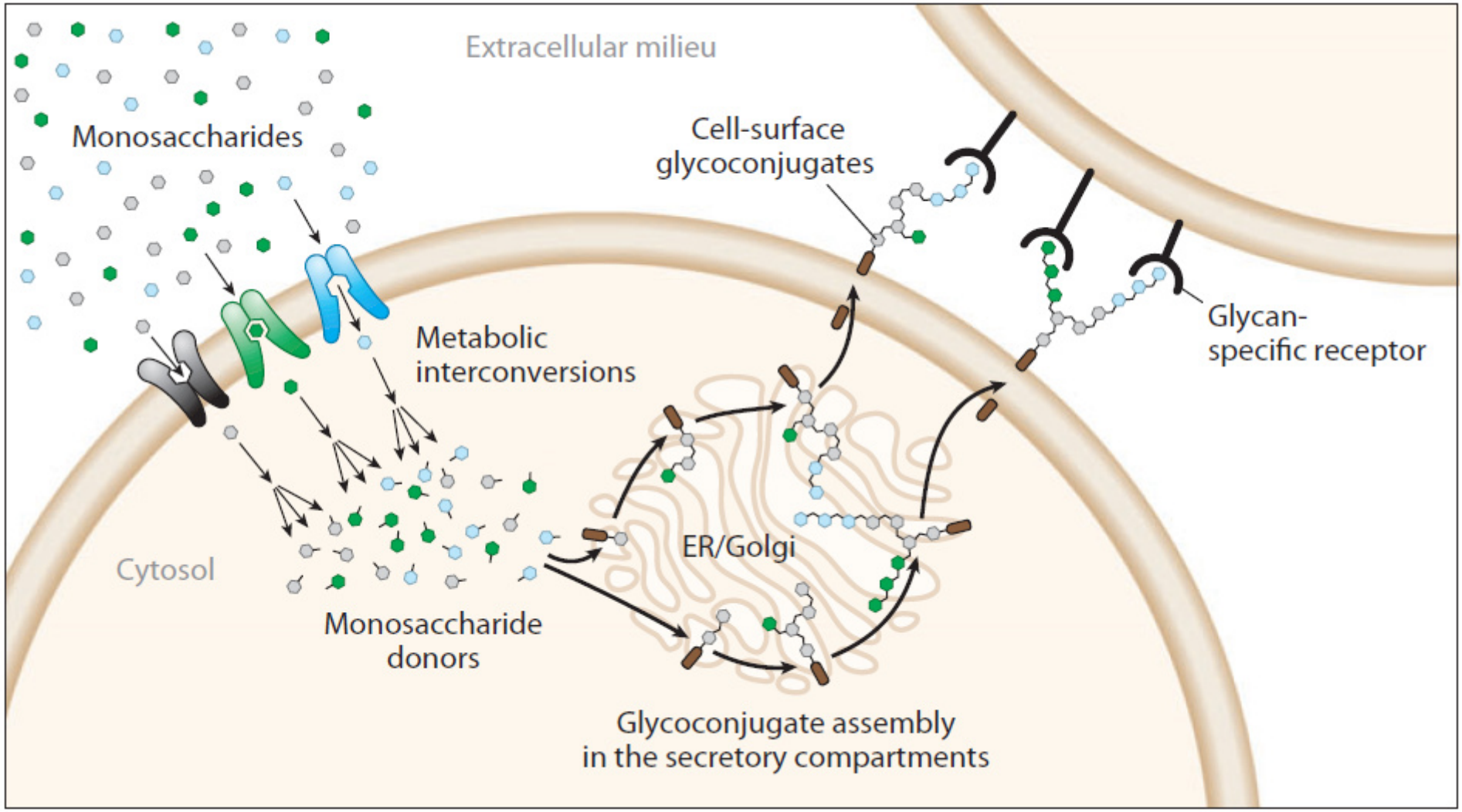
# 5. Glycobiologie et glycomédecine

**Glycobiologie humaine :** ***Classes courantes de glycans chez les animaux***



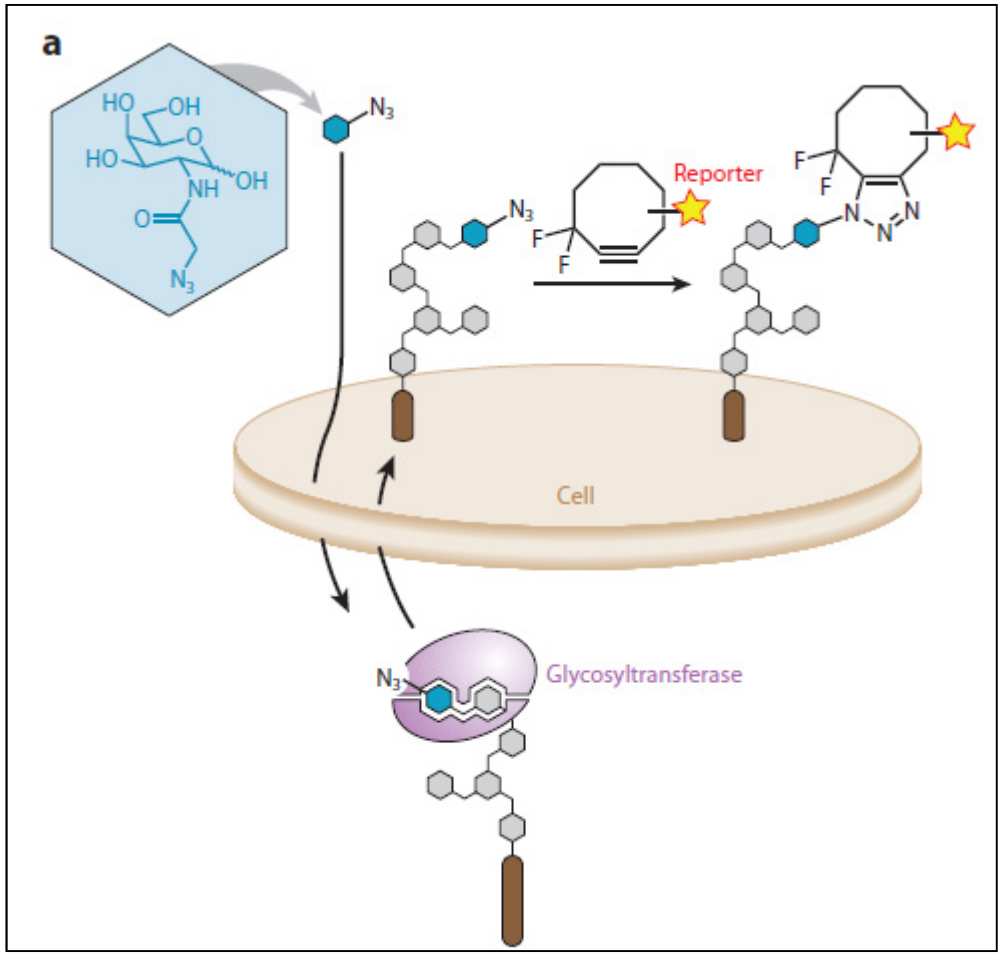
# 5. Glycobiologie et glycomédecine

**Glycobiologie humaine :** ***Biosynthèse des glycoconjugués***

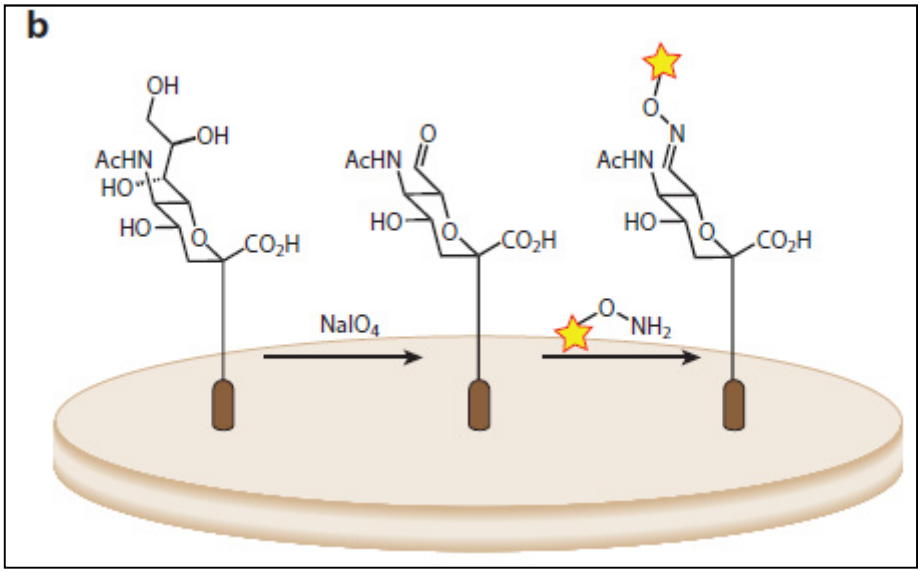


# 5. Glycobiologie et glycomédecine

**Glycobiologie humaine :** ***Stratégies pour la visualisation des glycans dans l'organisme***



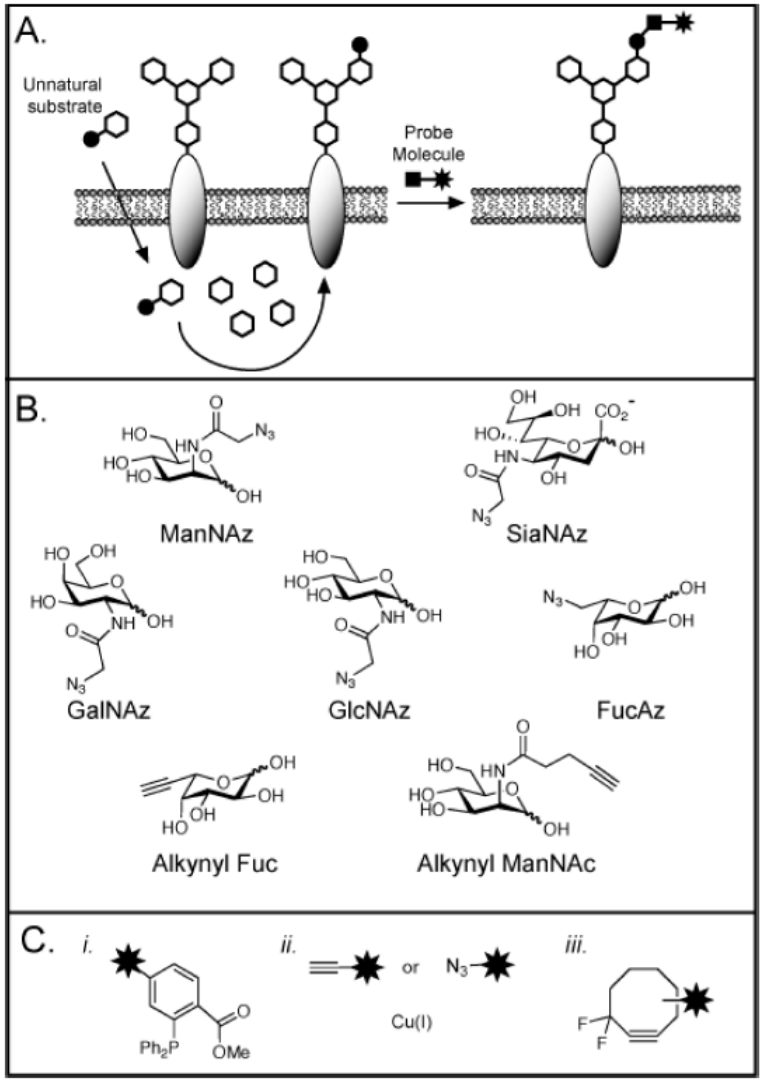
**Carolin Bertozzi**

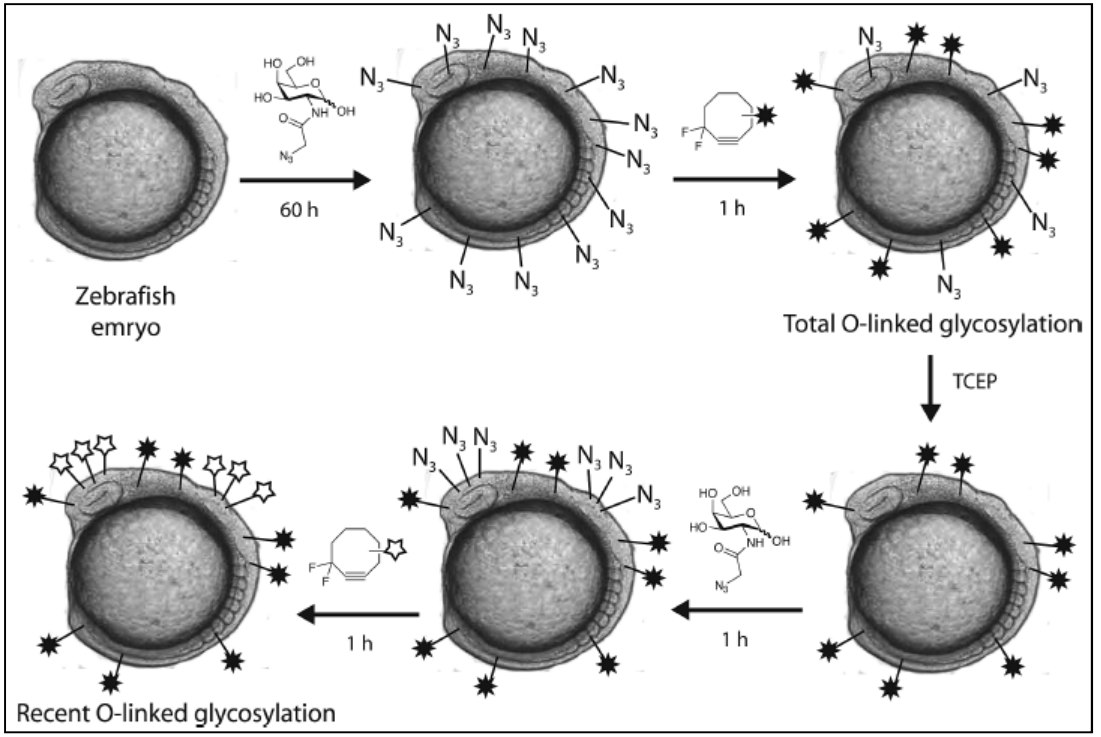



a) Incorporation métabolique de sucres azidés
b) Modification chimique de glycans endogènes

# 5. Glycobiologie et glycomédecine

**Glycobiologie humaine :** ***Stratégies pour la visualisation des glycans dans l'organisme***

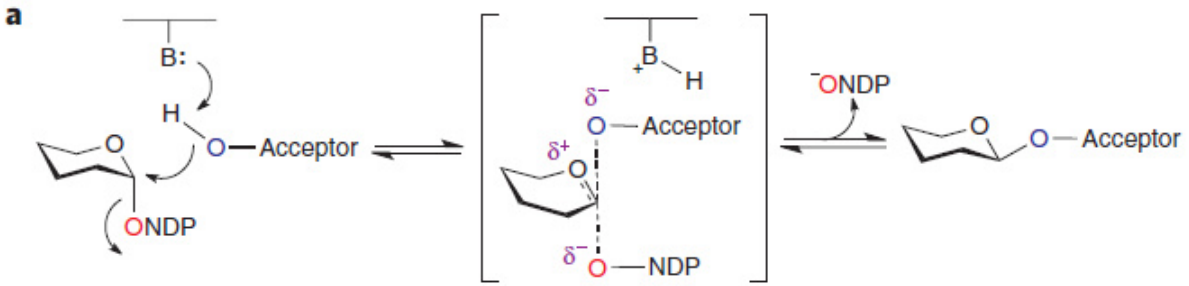


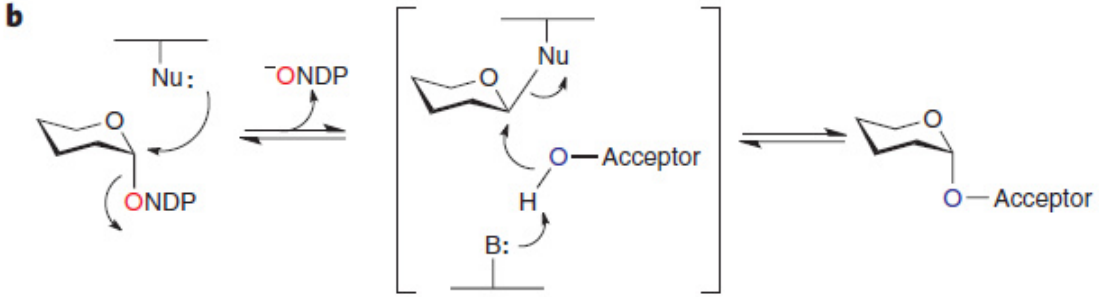

A = Concept « d'étiquetage » métabolique
B = Dérivés azidosucres et alkynylsucres
C = Réactifs de couplage
(i) : azides par Staudinger
(ii) : alkynes par Cu
(iii) : azides sans Cu

# 5. Glycobiologie et glycomédecine

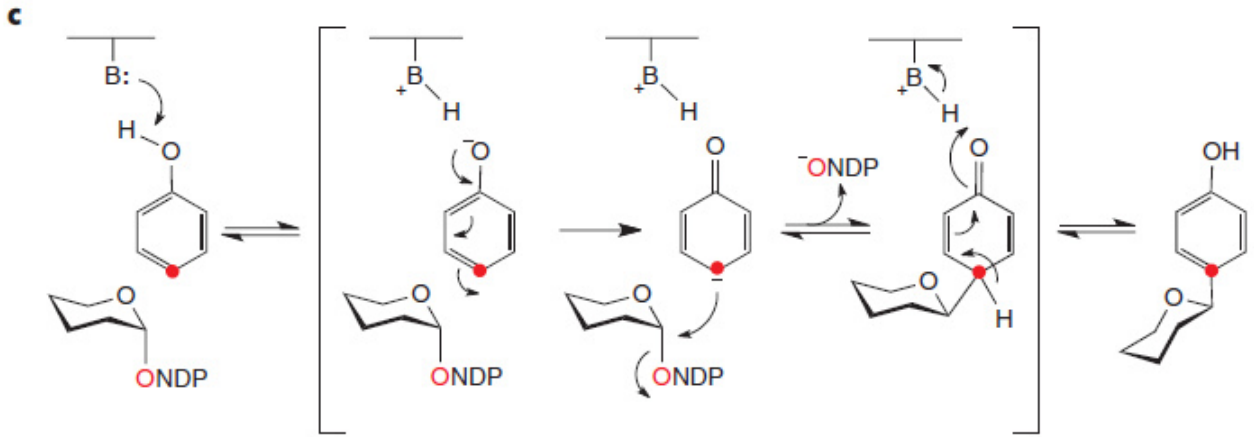
## Glycobiologie humaine : *Mécanismes des glycosyltransférases*




$S_N2$ catalysé par bas




$S_N2$ par double déplacement

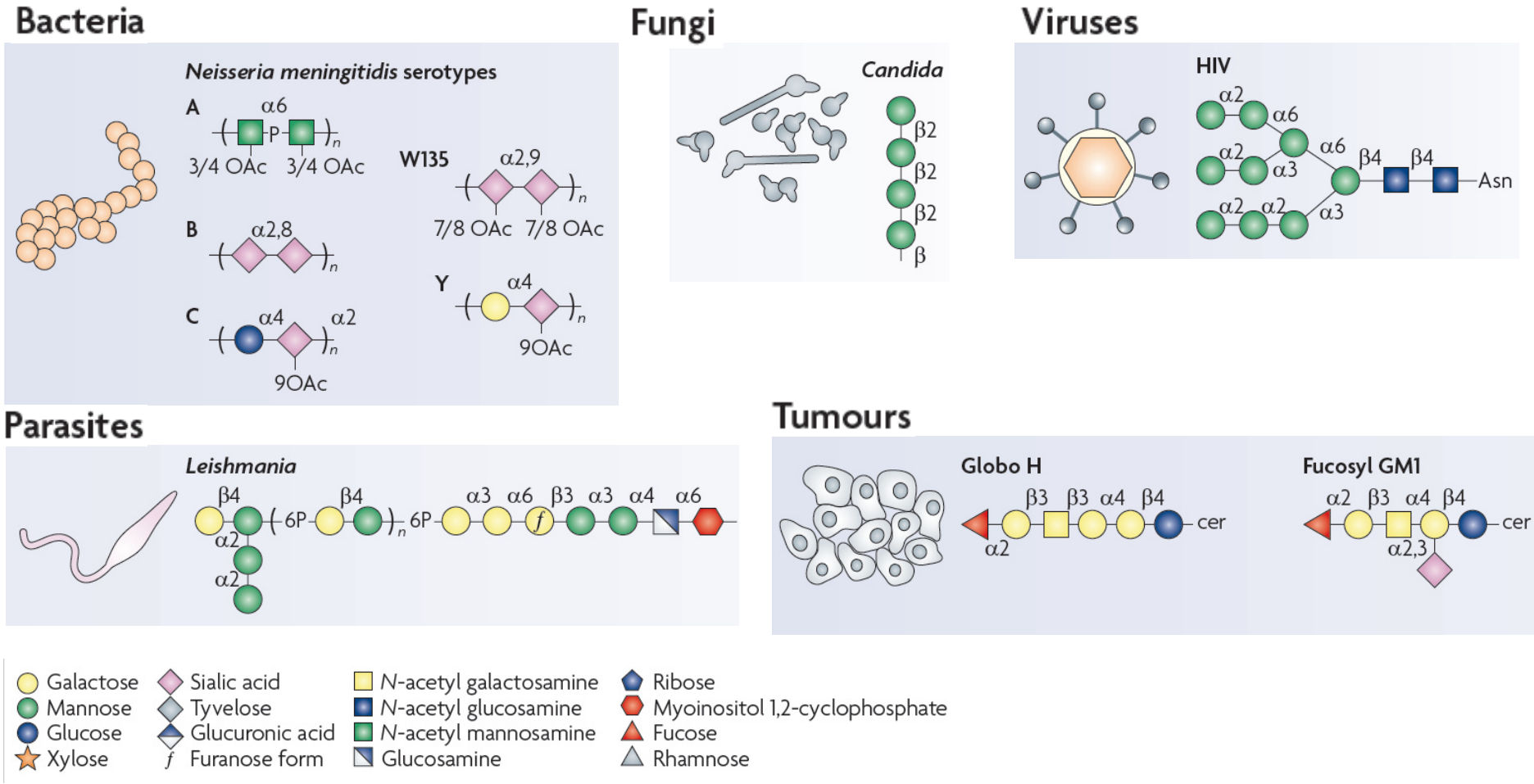



**Mécanisme supposé de la *C*-glycosylation**

# 5. Glycobiologie et glycomédecine

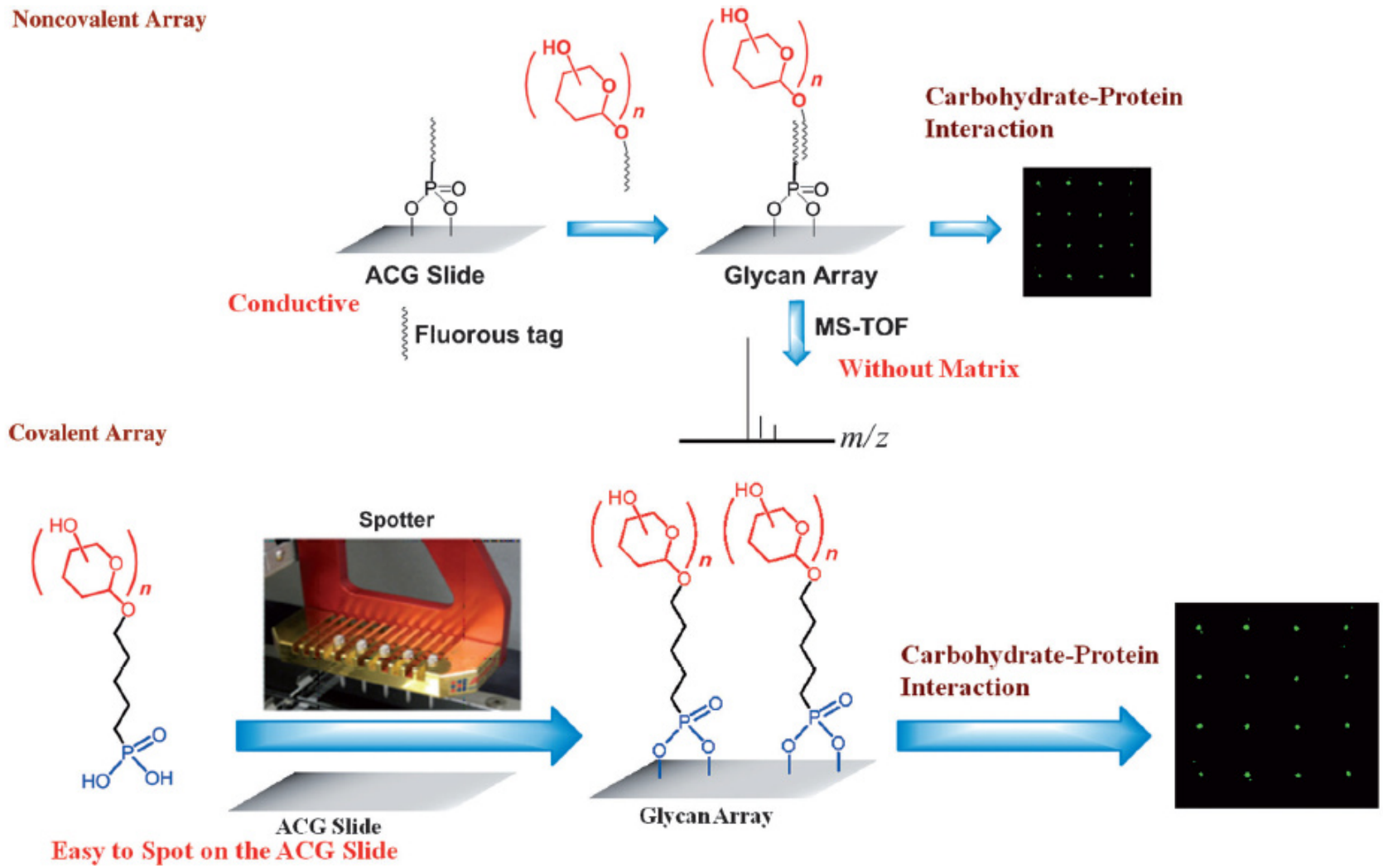
## Glycobiologie humaine : *Antigènes oligosaccharidiques*

- Sucres sont des antigènes de surface **immunogènes** (virus, bactéries, champignons, parasites, tumeurs)



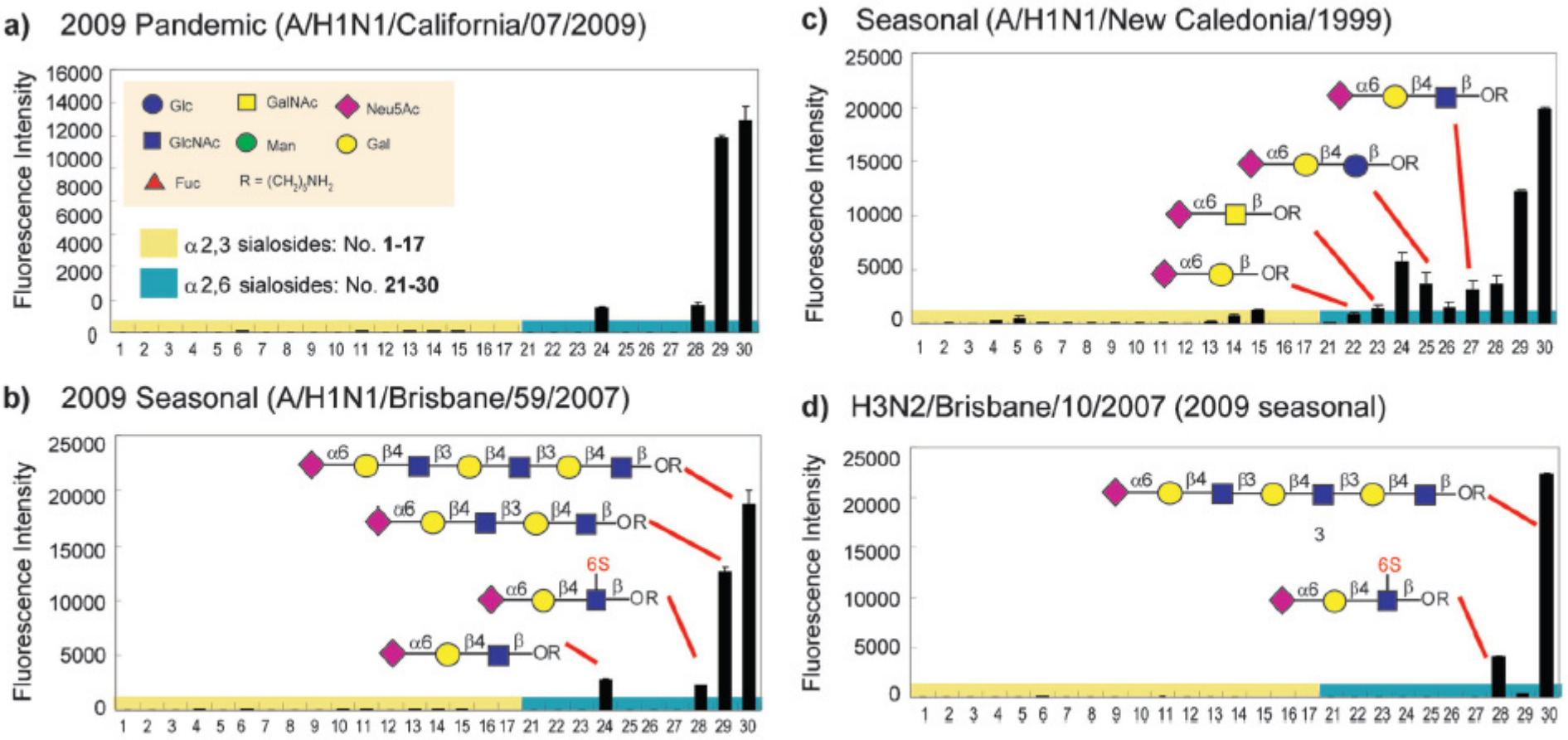
# 5. Glycobiologie et glycomédecine

**Glycobiologie humaine :** ***« Glycan arrays » sur aluminium pour interactions sucre/protéine***



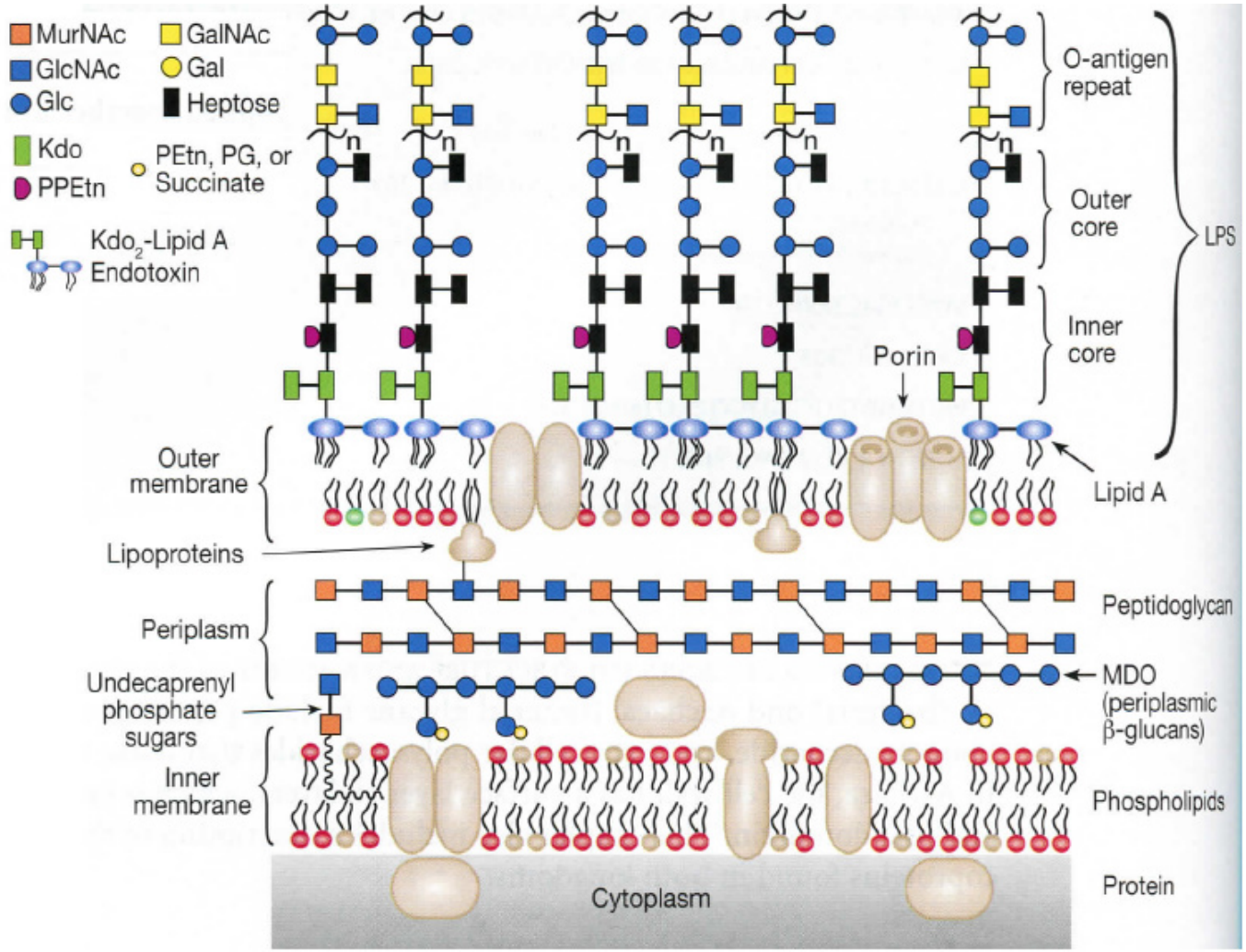
# 5. Glycobiologie et glycomédecine

**Glycobiologie humaine :** ***« Glycan arrays » pour identifier sous-types influenza***



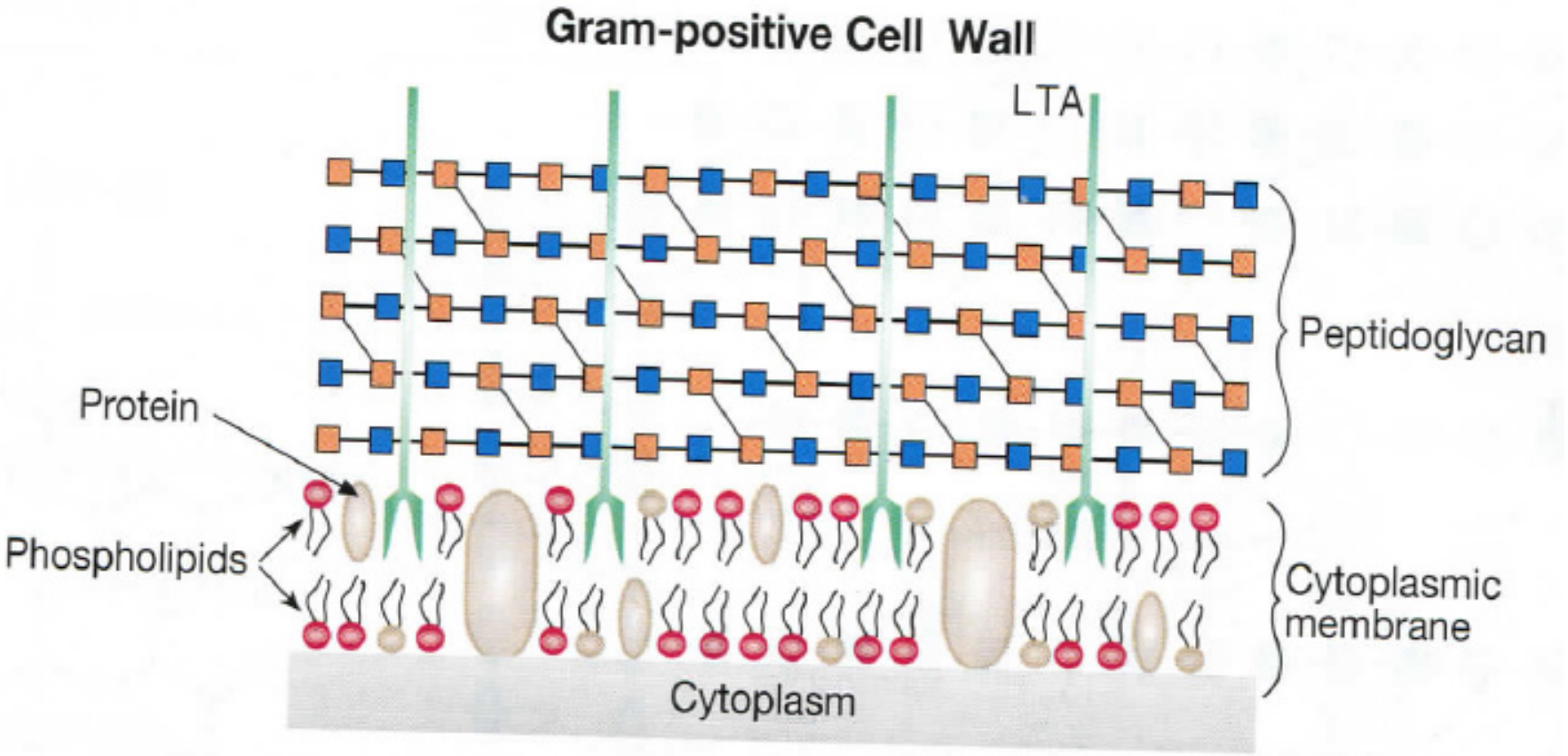
# 5. Glycobiologie et glycomédecine

**Vaccins glycoconjugués :** ***Membrane cellulaire d'une bactérie Gram-négatif***



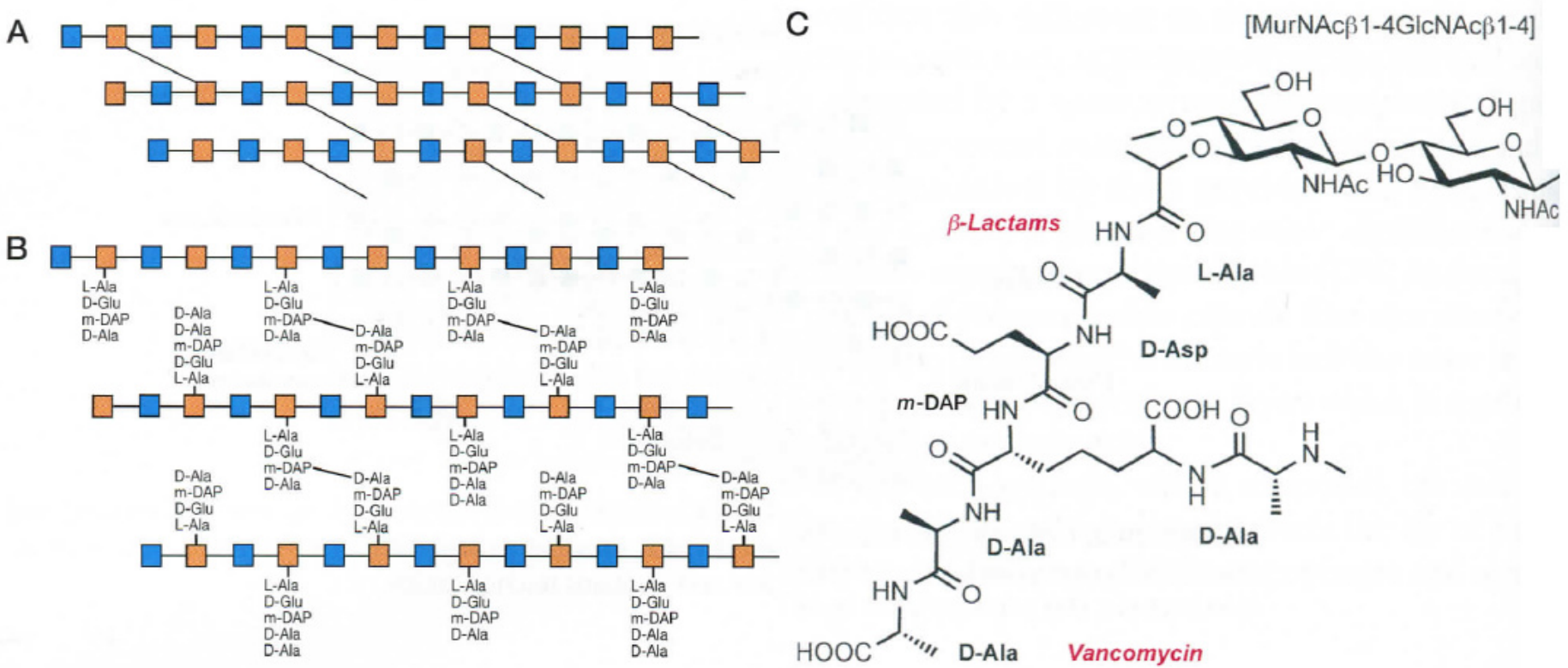
# 5. Glycobiologie et glycomédecine

**Vaccins glycoconjugués :** ***Membrane cellulaire d'une bactérie positif***



# 5. Glycobiologie et glycomédecine

**Vaccins glycoconjugués :** ***Structure moléculaire d'un peptidoglycan***




Peptidoglycan. (*A*) Schematic representation of peptidoglycan strands composed of alternating residues of *N*-acetylmuramic acid (MurNAc; *orange*) and *N*-acetylglucosamine (GlcNAc; *blue*) showing periodic cross-links. (*B*) Pentapeptides consisting of L-Ala, D-Glu, *meso*-diaminopimelic acid (*m*-DAP), and D-Ala form cross-links between the peptidoglycan strands. (*C*) Structure of the muropeptide subunit showing a cross-link. β-Lactam antibiotics block the assembly of the pentapeptide. Vancomycin blocks the cross-linking reaction, which requires removal of the terminal D-Ala residue.

# 5. Glycobiologie et glycomédecine

**Vaccins glycoconjugués : *Vaccins antibactériens***

- Infections bactériennes : cause majeure de décès
- Vaccins non-disponibles pour de nombreuses bactéries
- Surface des bactéries contient des polysaccharides (espèces et sérotypes)
- Lipopolysaccharide (**LPS**), polysaccharide capsulaire (**CPS**) et exopolysaccharide (**EPS**) sont des facteurs de virulence antigéniques

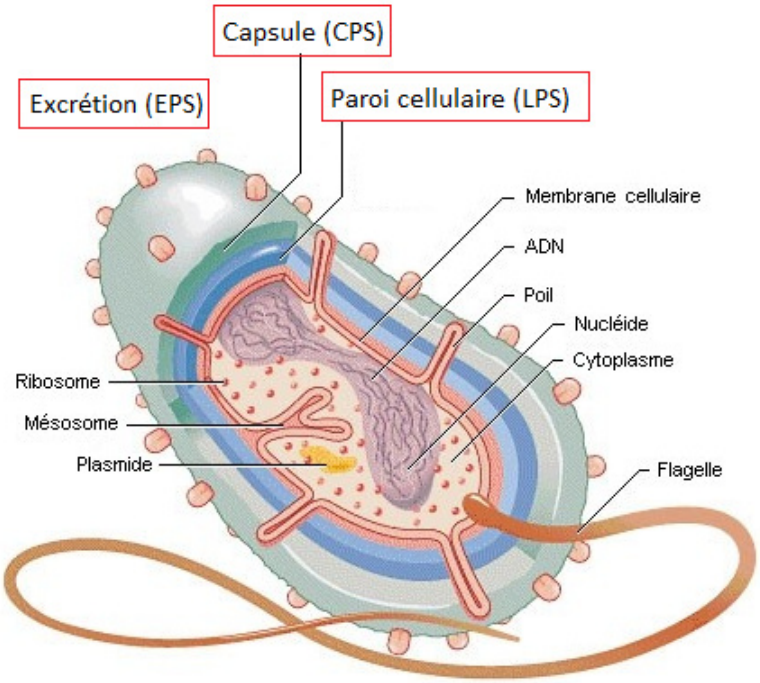
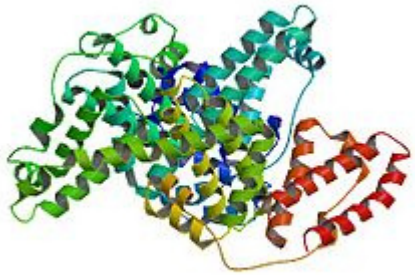



**Schéma bactérie gram-négatif**

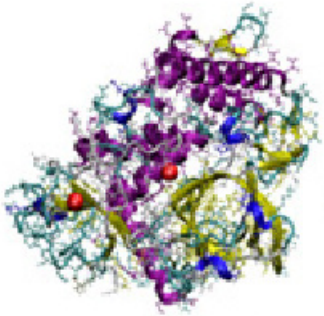
- 1er vaccin polysaccharidique en 1983 PneumoVax (Merck and Co.) : CPS non-conjugés isolés de 14 sérotypes (aujourd'hui 23 sur 90)
- 90% protection chez les adultes
- **Problèmes ? Non-immunogéniques chez jeunes enfants et personnes immunodéprimées**

# 5. Glycobiologie et glycomédecine

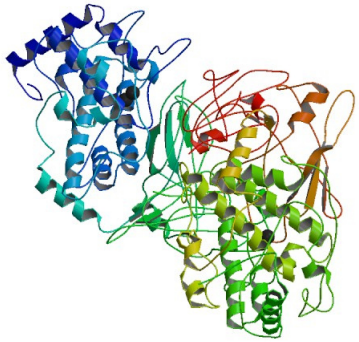
**Vaccins glycoconjugués :** ***Couplage avec une protéine immunogénique***



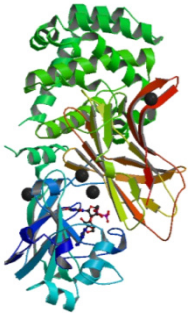
**Bovine Serum Albumin (BSA)**



**Tetanus Toxoid (TT)**

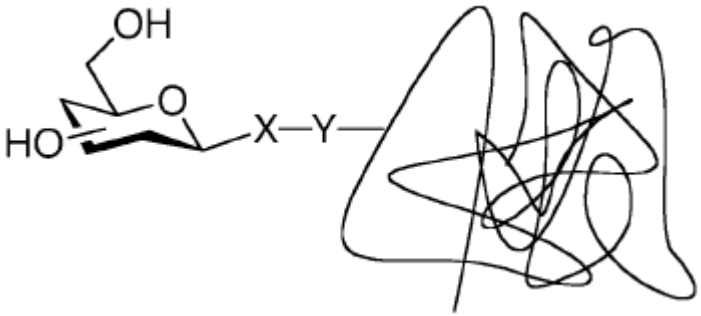


**Keyhole Limpet Hemocyanin (KLH)**



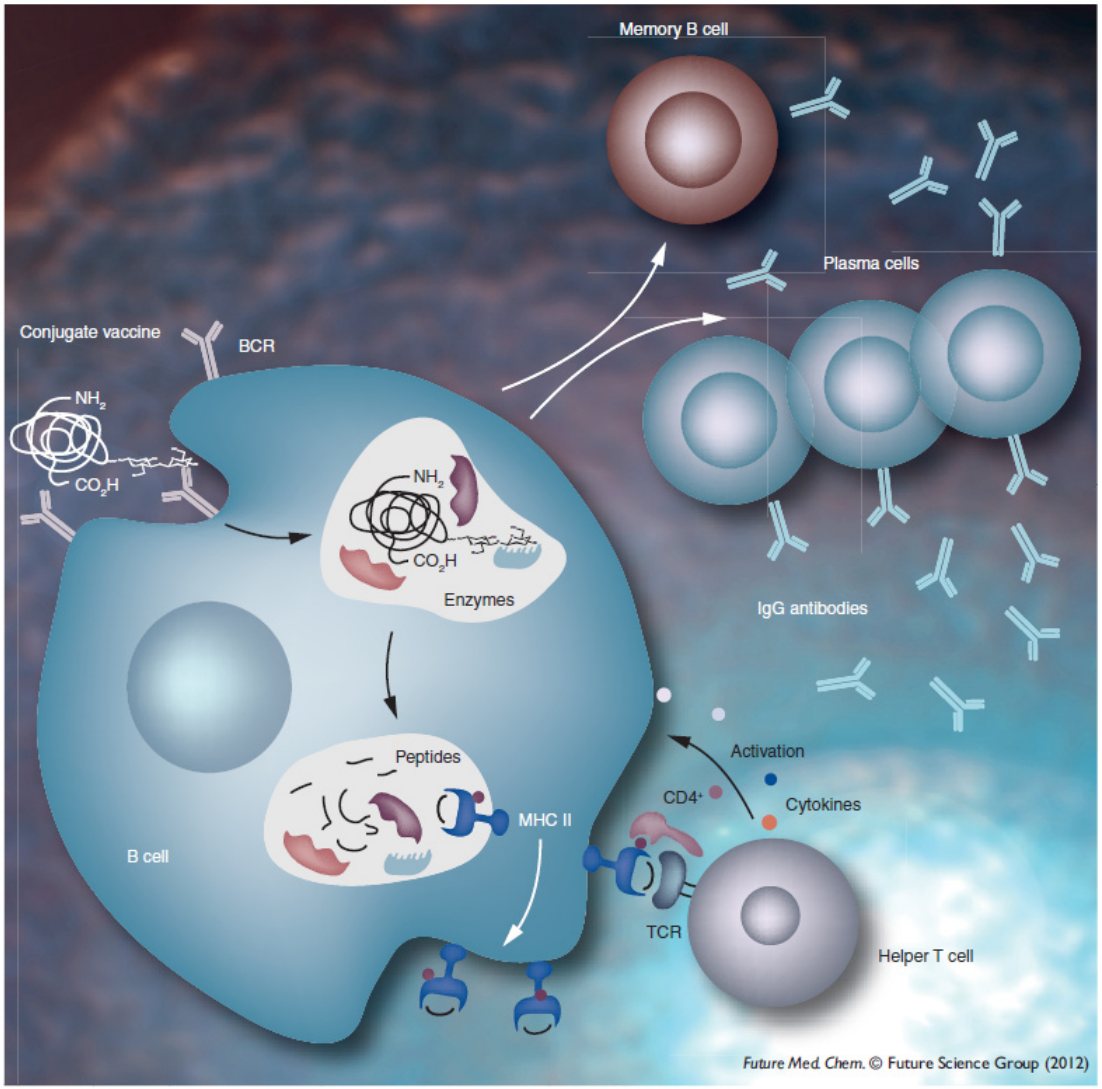
**Diphtheria toxin mutant (CRM-197)**

- Converti le sucre en antigène T-dépendant
- Meilleure coopération entre lymphocytes T et B
- Réponse mémoire immunitaire accrue (IgGs)
- Excellents immunogènes chez jeunes enfants
- Plusieurs vaccins glycoconjugués commerciaux (pneumonie, méningite, salmonelle)



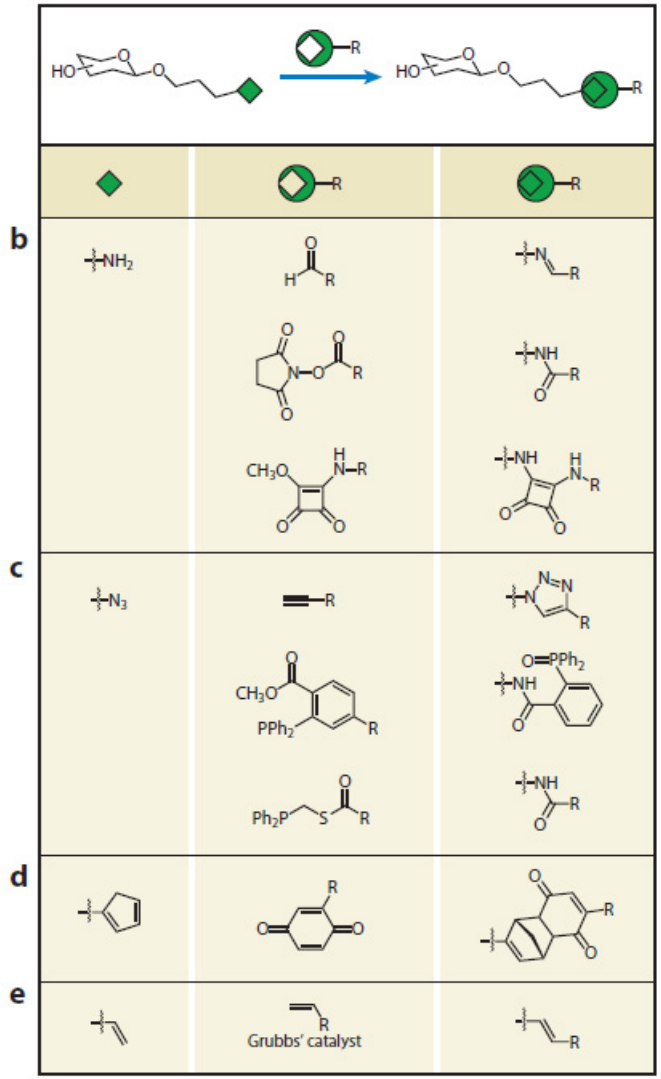
# 5. Glycobiologie et glycomédecine

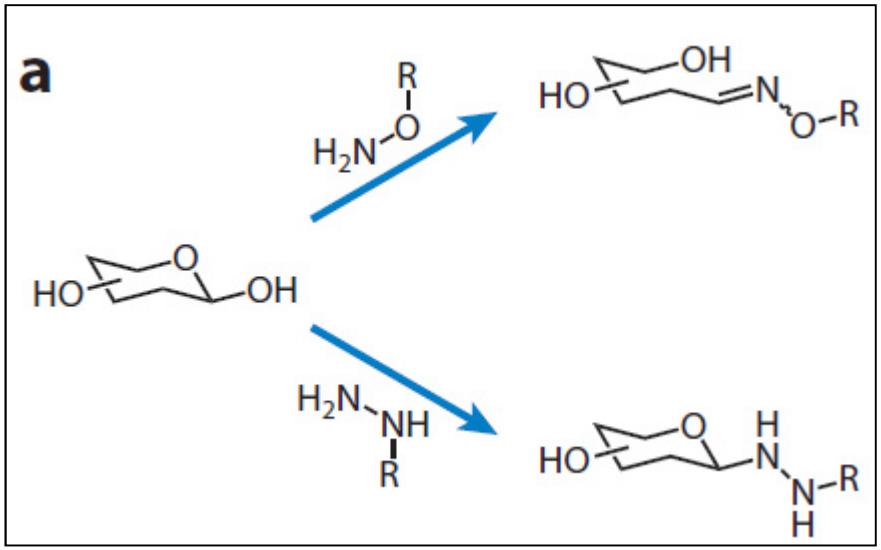
**Vaccins glycoconjugués :** ***Induction d'une mémoire immunitaire protectrice***



# 5. Glycobiologie et glycomédecine

## Vaccins glycoconjugués : *Réactions pour la synthèse de glycoconjugués*




**Sucres réducteurs**

a) Formation d'oximes ou d'hydrazones

**Sucres fonctionalisés à l'extrémité réductrice**

b) NHS esters, aldéhydes ou diméthyl squarates

c) Azide-alkyne cycloaddition, Staudinger ligation

d) Diels-Alder cycloaddition

e) Olefin metathesis

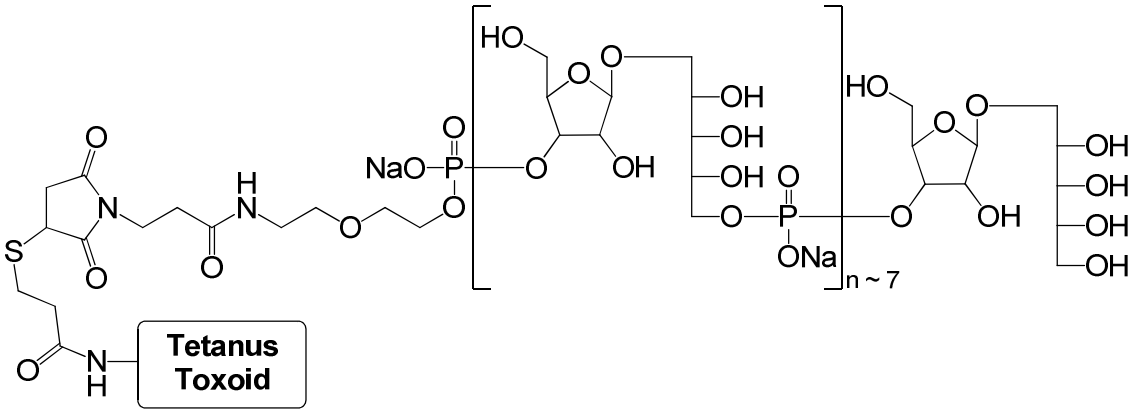
# 5. Glycobiologie et glycomédecine

**Vaccins glycoconjugués : *Avantages de la synthèse organique***

- **Accès aux antigènes osidiques est problématique :**
  - ✓ *Sources naturelles limitées par micro-organismes cultivables*
  - ✓ *Isolement et purification des CPS et LPS sont complexes*
  - ✓ *Hétérogénéité des polysaccharides isolés*
  - ✓ *Contamination biologique*

- **Synthèse organique** représente une approche intéressante
  - ✓ *Reproductible*
  - ✓ *Substances pures, non-contaminées*
  - ✓ *Economique (pas dans tous les cas…)*

- Vaccin contre *Haemophilus influenza Type b*, Quimi-Hib (Heber Biotech)
  - ✓ 1er vaccin semi-synthétique (2004, Cuba)

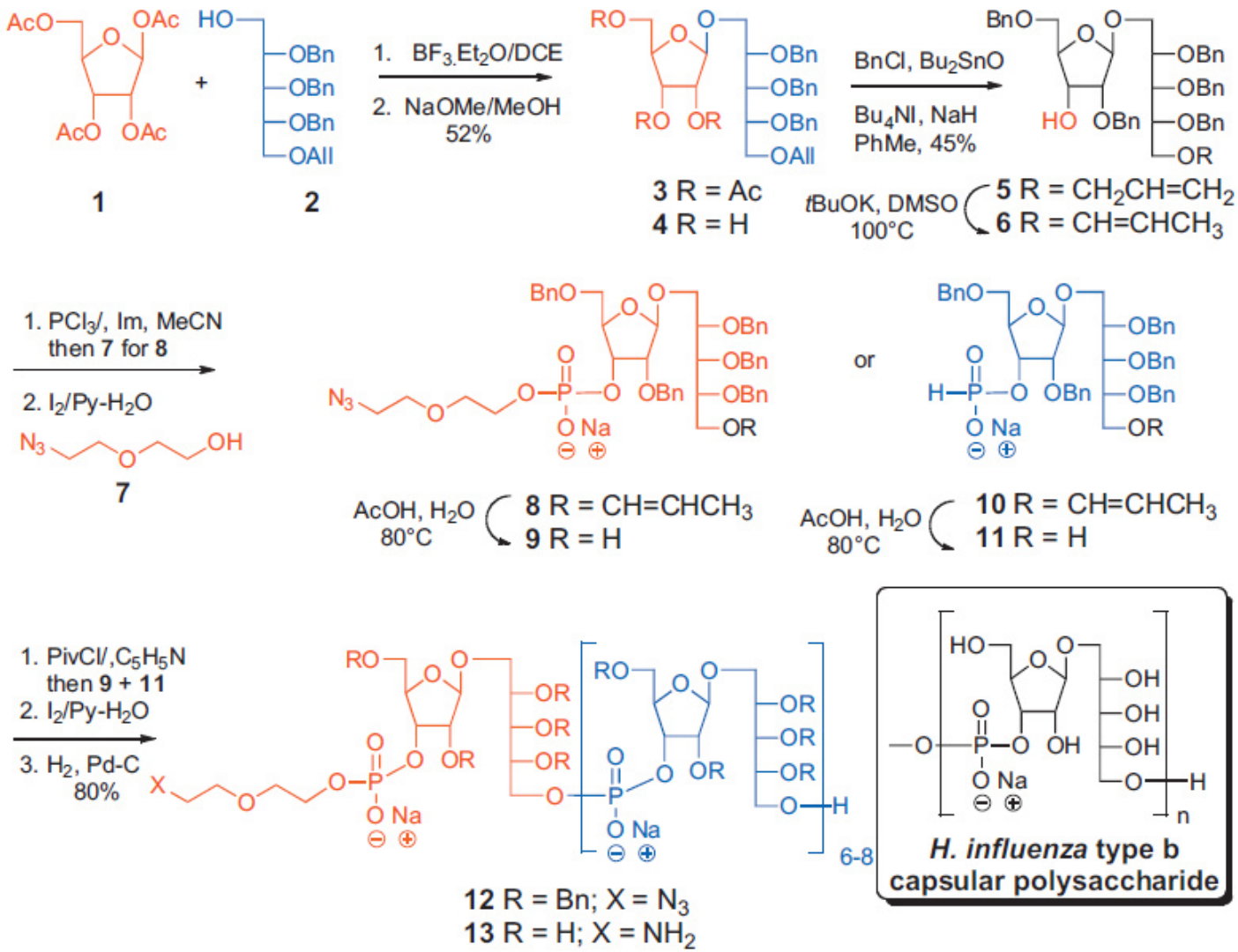



**Avantages?**

1) Coûts de production <
2) Produit homogène
3) Faible variabilité des lots
4) Contrôle-qualité élevé

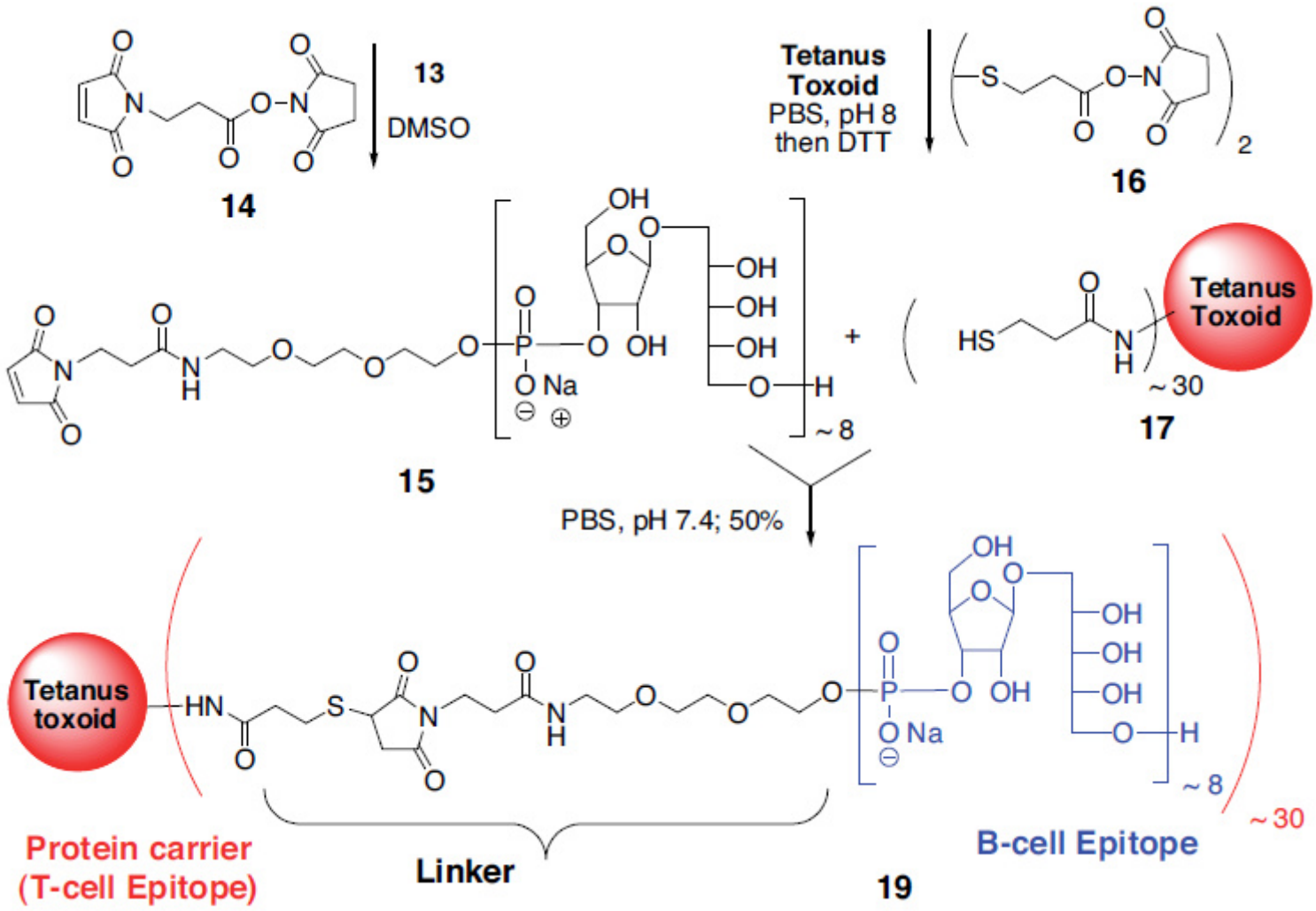
# 5. Glycobiologie et glycomédecine

**Vaccins glycoconjugués :** ***Exemple du vaccin cubain contre la méningite***



# 5. Glycobiologie et glycomédecine

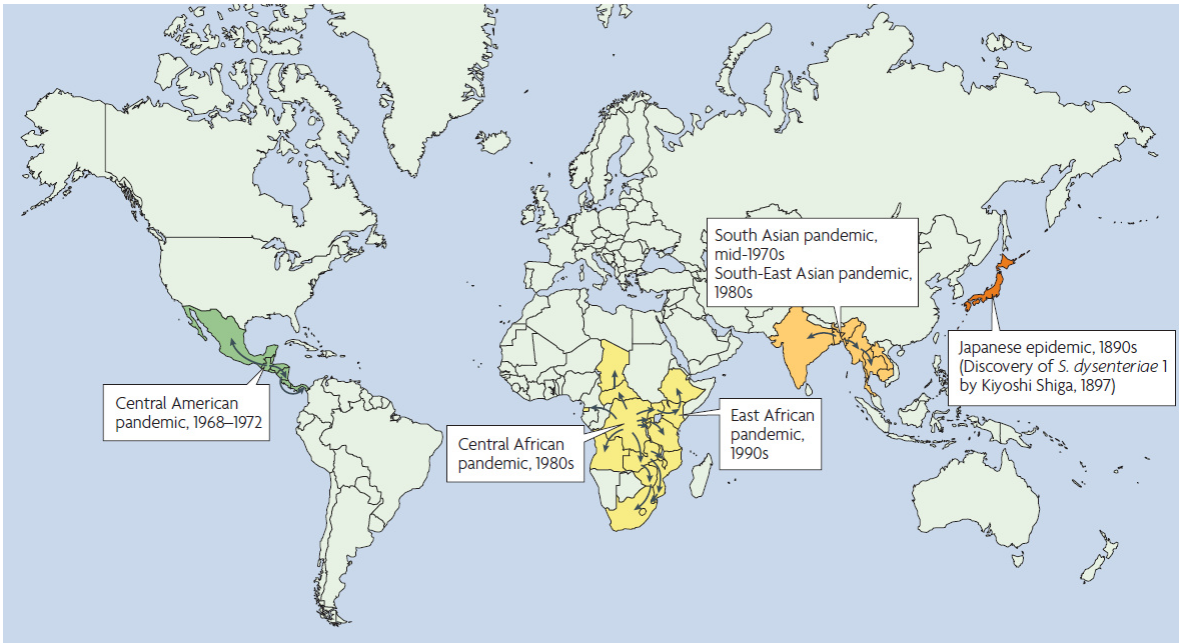
**Vaccins glycoconjugués :** ***Exemple du vaccin cubain contre la méningite***



# 5. Glycobiologie et glycomédecine

**Vaccins glycoconjugués : *Vaccin contre la shigellose***

- *Shigella*, bactérie gram-négatif, agent pathogène
- Diarrhées, crampes intestinales, selles sanglantes, etc.
- 169 millions personnes affectées, 1 million/an (décès)
- Enfants <5 ans, pays en voie de développement
- *S. flexneri* responsable de la forme endémique



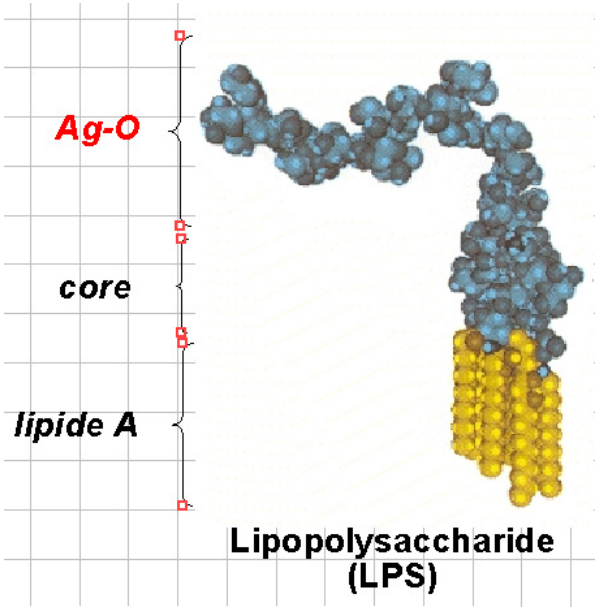

**Pandémies de shigellose**

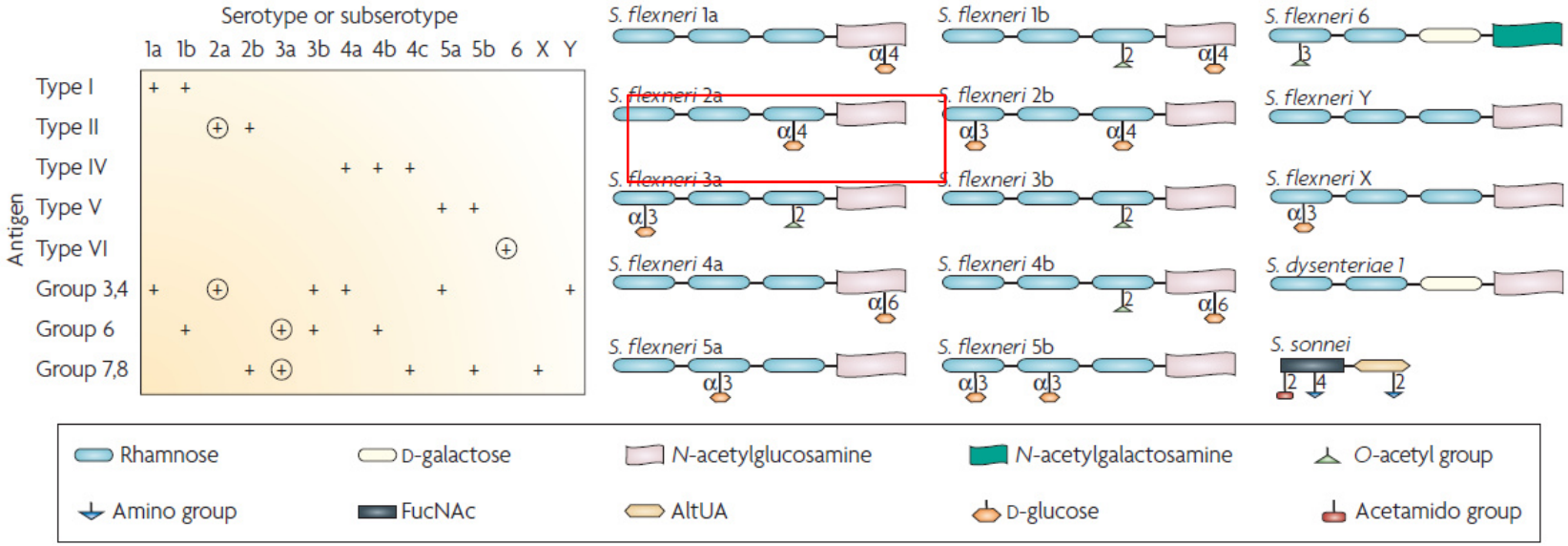
# 5. Glycobiologie et glycomédecine

## Vaccins glycoconjugués : *Vaccin contre la shigellose*

- **Aucun vaccin disponible** (priorité de l'OMS)
- Stratégies efficaces lors d'études cliniques
  - 1) Souches de virulence atténuées
  - **2) LPS lié à une protéine porteuse**

- LPS: antigène de surface, facteur de virulence
  - Cible de la réponse immunitaire adaptative
  - Protection anticorps sérotype-spécifique
  - **Antigène-O (Ag-O) défini le sérotype**



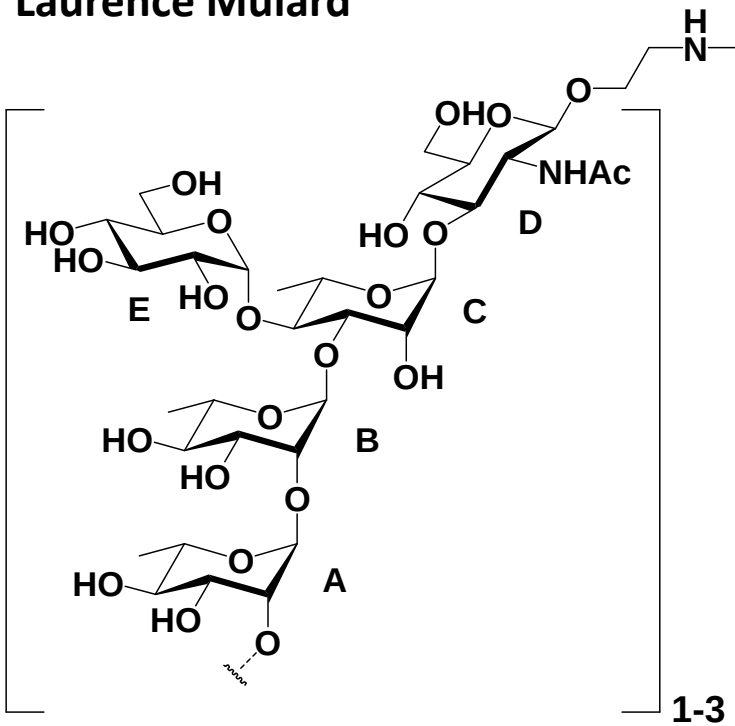



# 5. Glycobiologie et glycomédecine

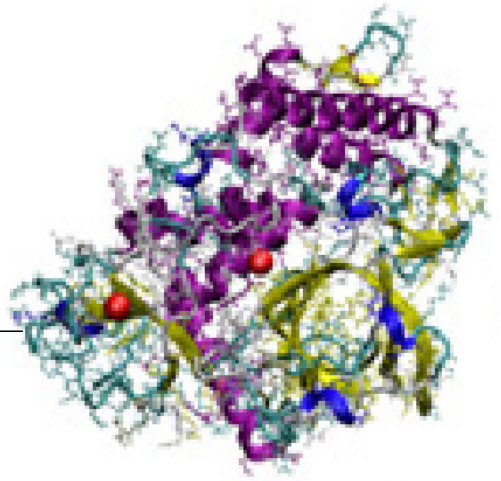
**Vaccins glycoconjugués :** ***Vaccin contre la shigellose***

**Dr Laurence Mulard**

Institut Pasteur




**REPEATING UNITS**



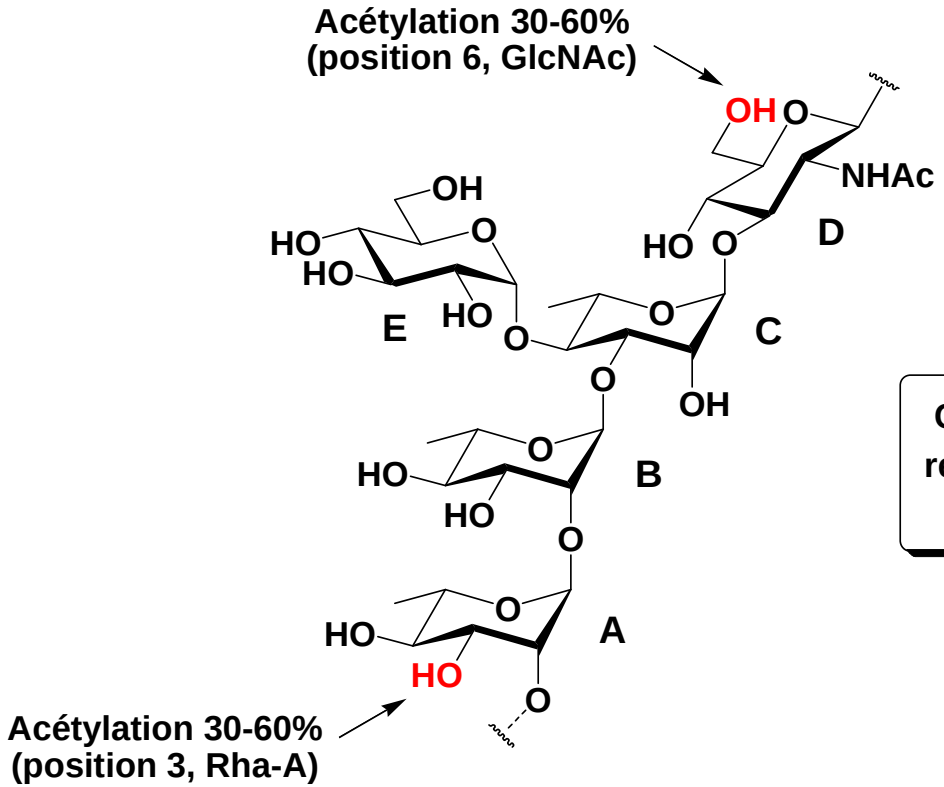
**CARRIER PROTEIN**
**(anatoxine tétanique)**

**$[AB(E)CD]_3$-TT meilleure séquence pour l'induction d'IgGs anti-LPS spécifique à SF2a**

# 5. Glycobiologie et glycomédecine

**Vaccins glycoconjugués : *Acétylation de l'Ag-O du LPS de Shigella flexneri 2a***

- Mise en évidence de **l'acétylation de l'Ag-O de SF2a**
- Position des groupements acétyles par analyses RMN 2D



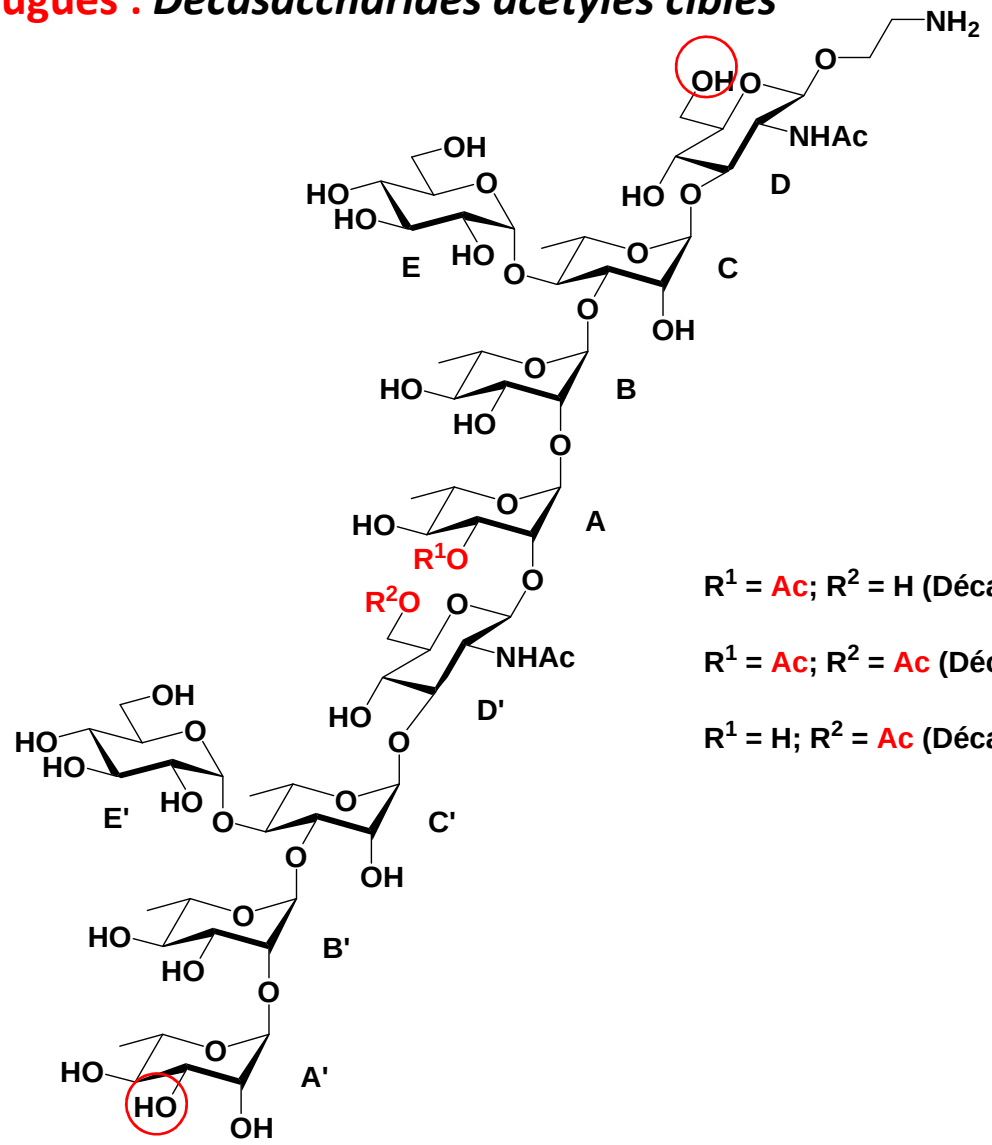

**Clivage des Ac avec $NH_4OH$ résulte dans la perte partielle d'antigénicité de l'Ag-O**

- O-Acétylation des polysaccharides bactériens **influence réponse immunitaire**

(*Neisseria meningitidis*, *Staphylococcus aureus, Salmonella typhi, etc.*)

# 5. Glycobiologie et glycomédecine

**Vaccins glycoconjugués : *Décasaccharides acétylés cibles***



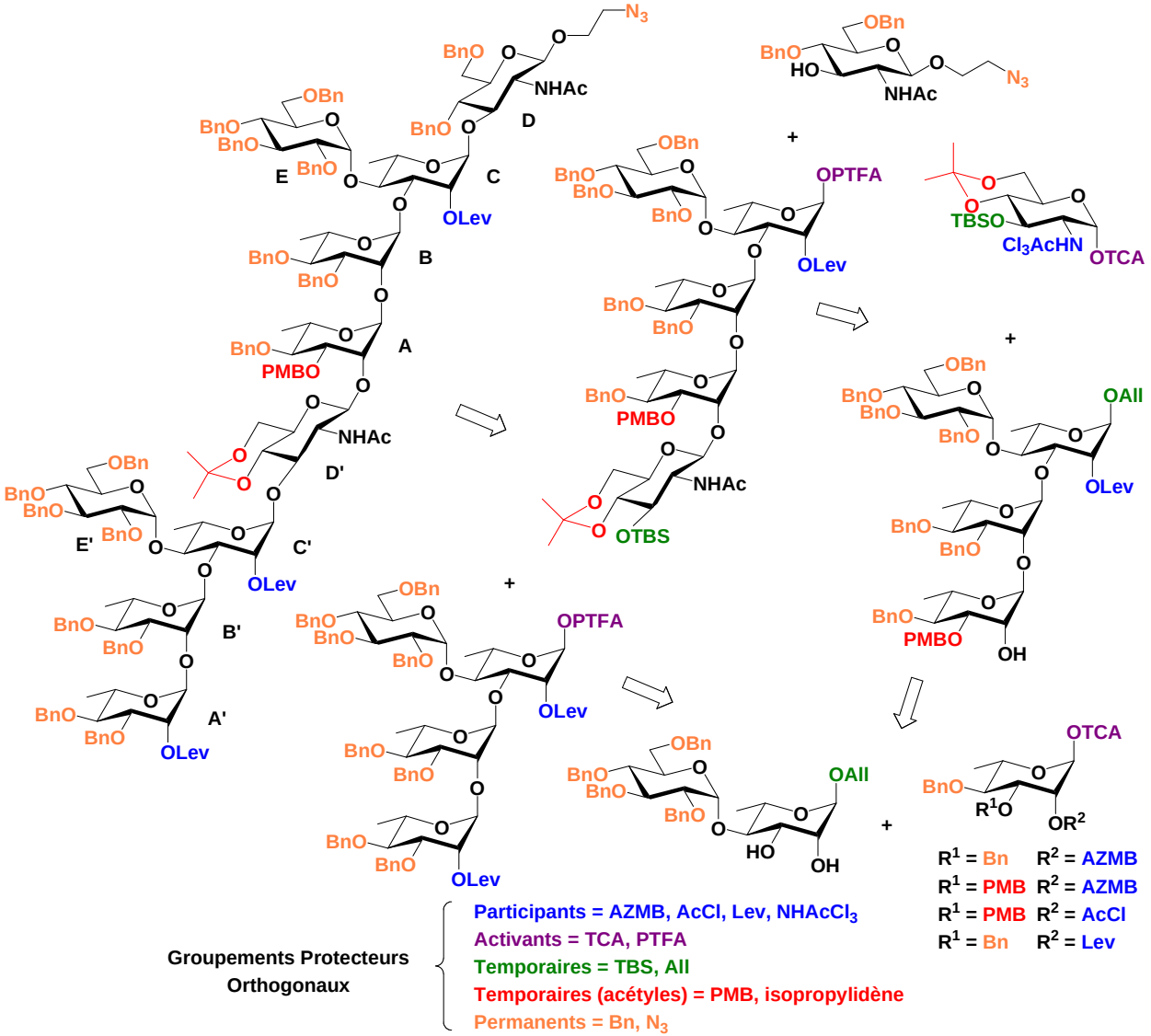

$R^1$ = Ac; $R^2$ = H (Déca monoAc $3_A$)

$R^1$ = Ac; $R^2$ = Ac (Déca diAc $3_A$ et $6_{D'}$)

$R^1$ = H; $R^2$ = Ac (Déca monoAc $6_{D'}$)

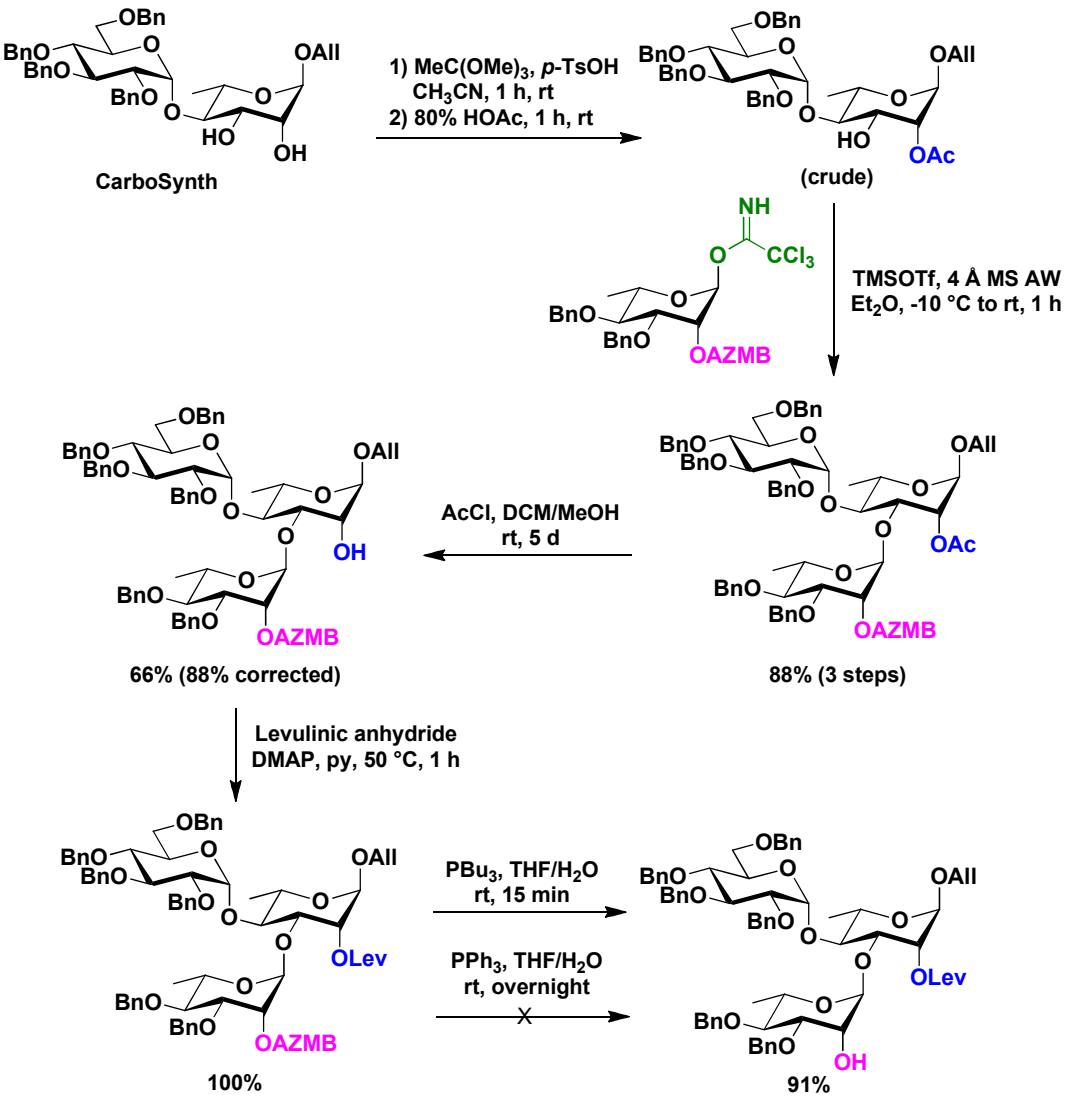
# 5. Glycobiologie et glycomédecine

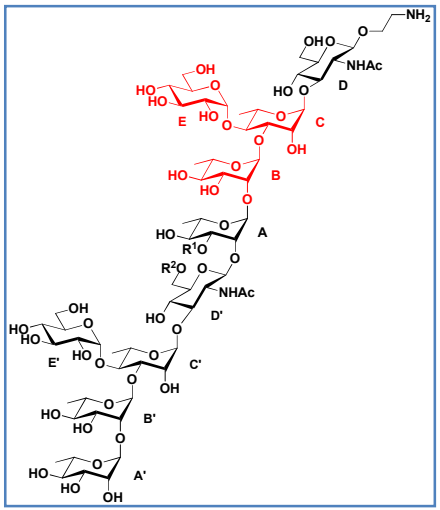
## Vaccins glycoconjugués : *Analyse rétrosynthétique*



# 5. Glycobiologie et glycomédecine

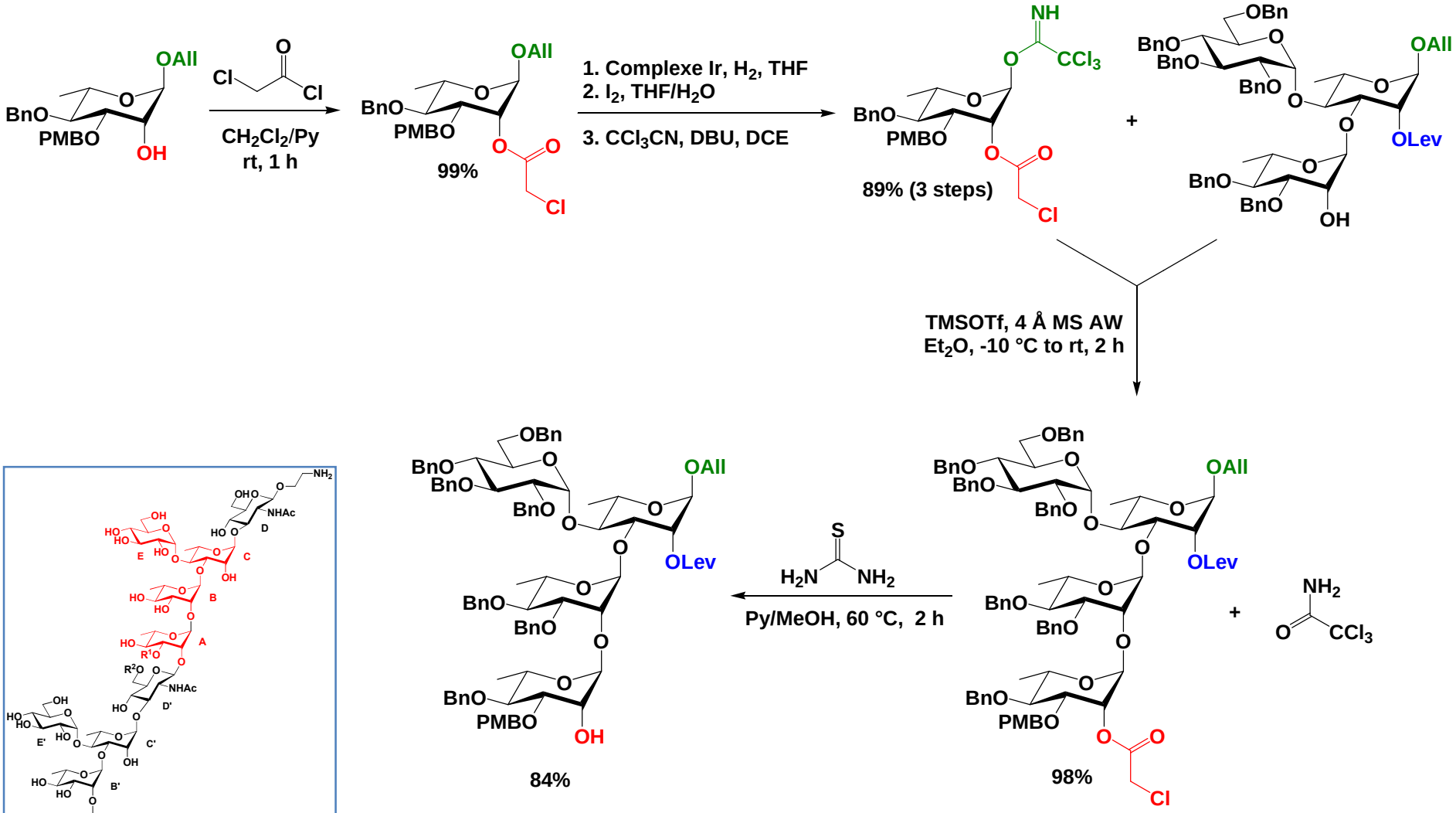
## Vaccins glycoconjugués : *Synthèse du trisaccharide B(E)C*



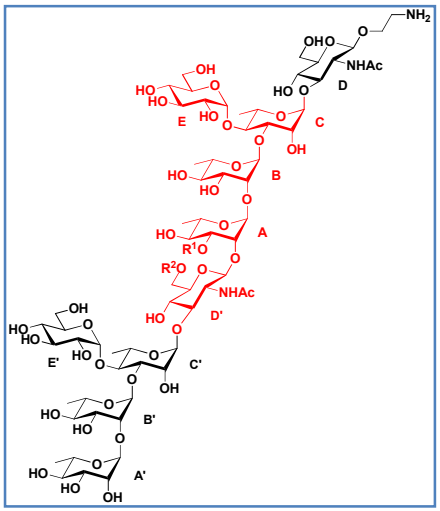
# 5. Glycobiologie et glycomédecine

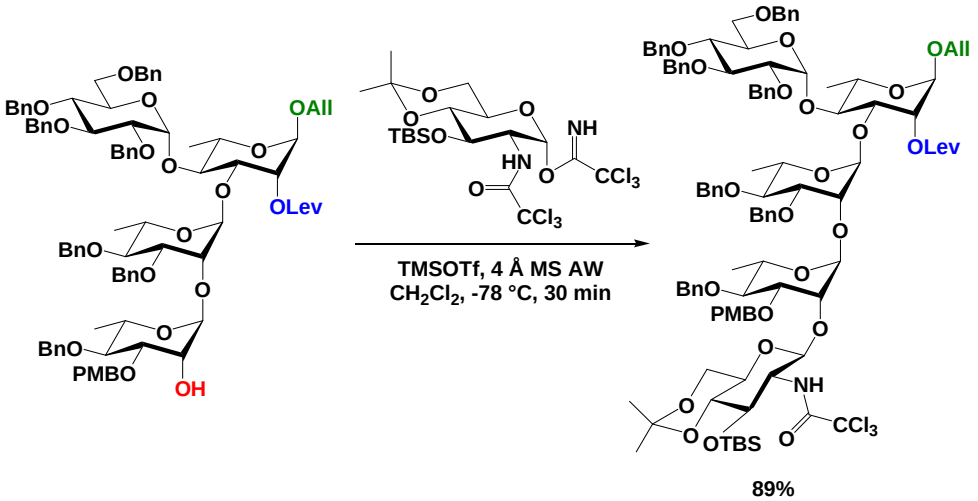
## Vaccins glycoconjugués : *Synthèse du tétrasaccharide AB(E)C*

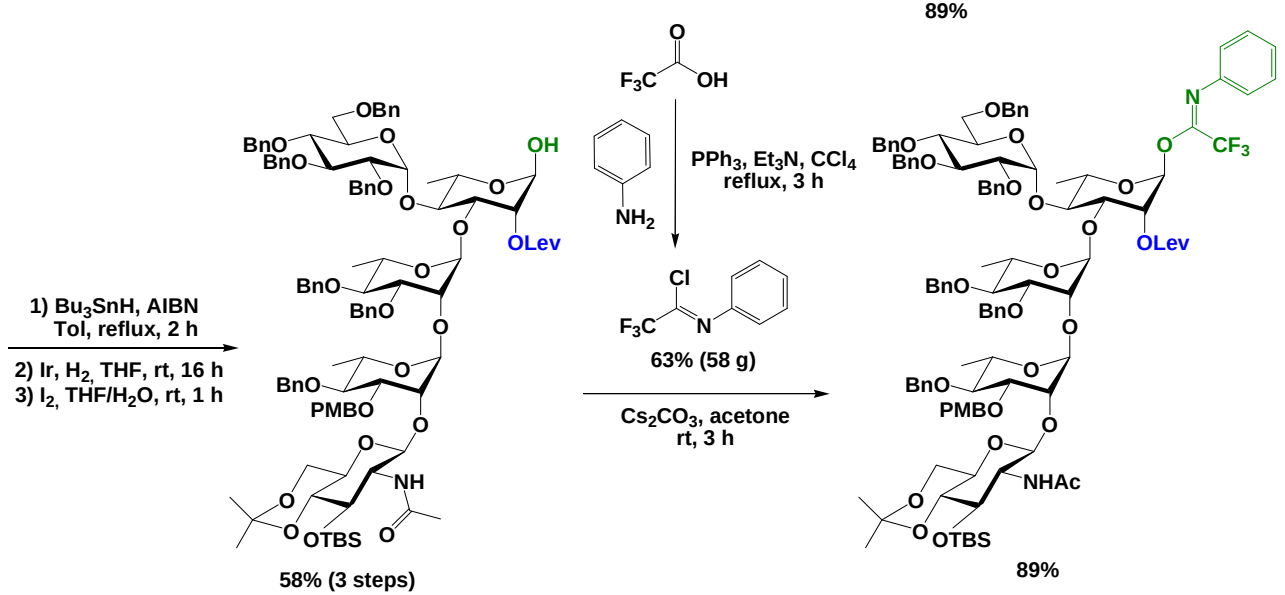


# 5. Glycobiologie et glycomédecine

## Vaccins glycoconjugués : *Synthèse du pentasaccharide D'AB(E)C*

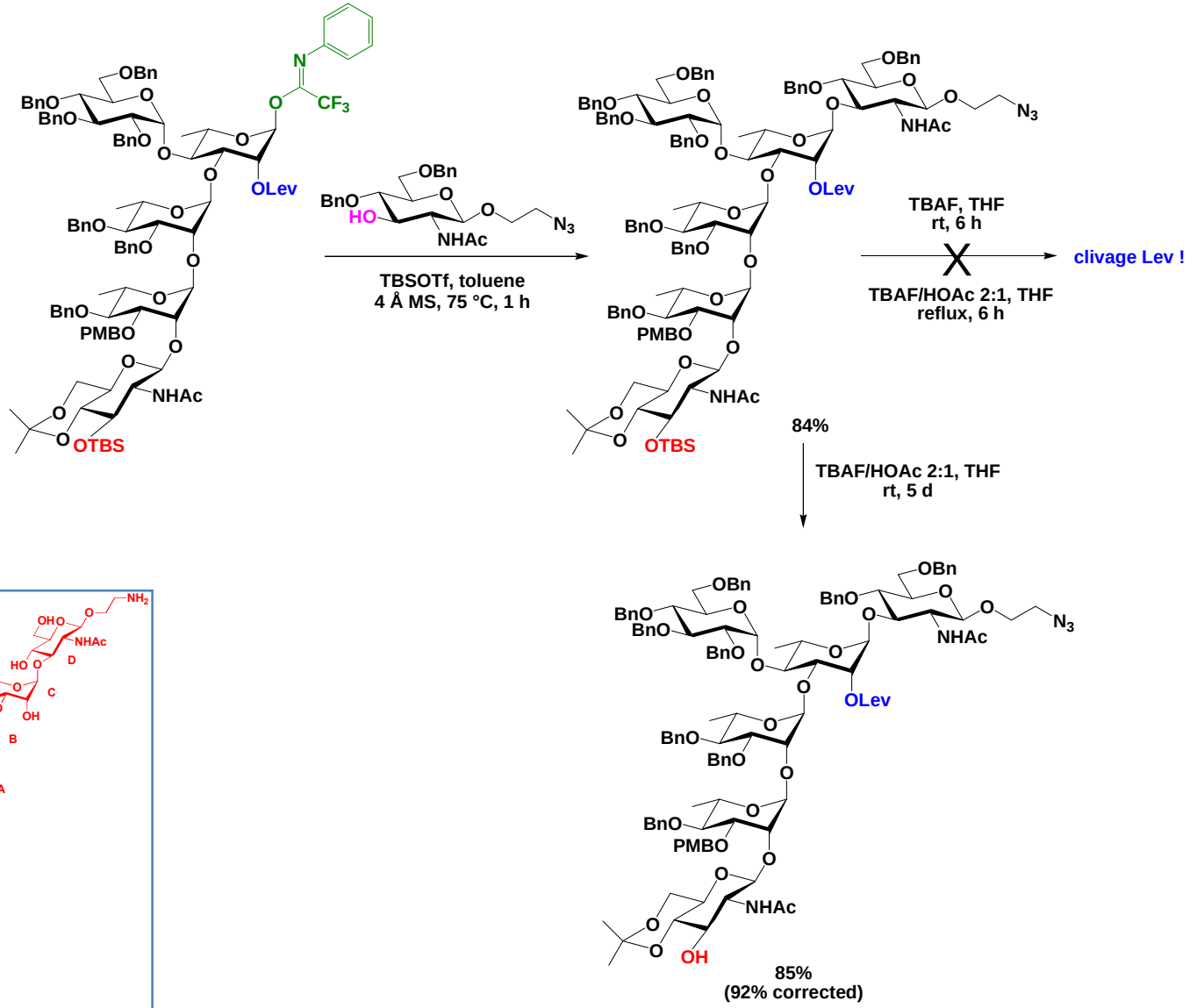




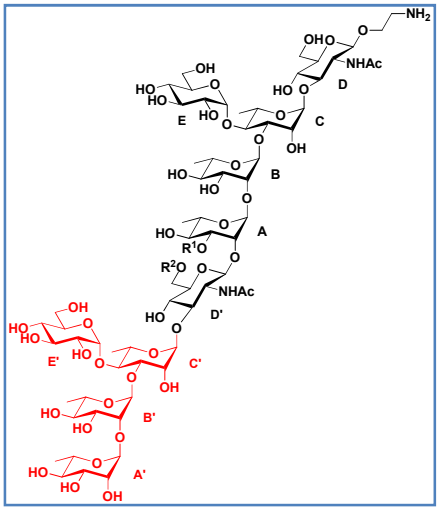
# 5. Glycobiologie et glycomédecine

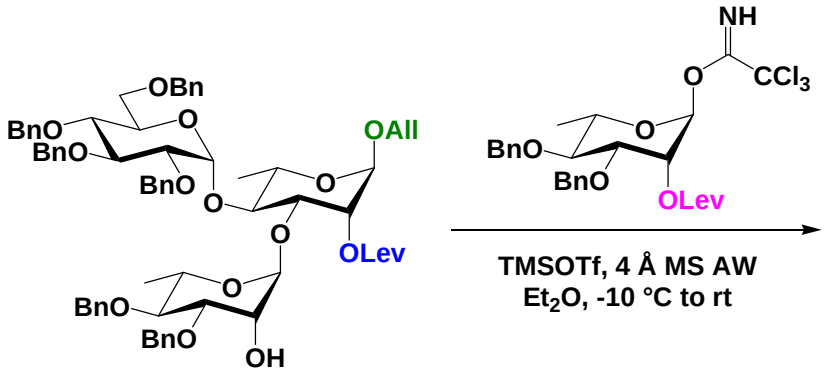
## Vaccins glycoconjugués : *Synthèse de l'hexasaccharide D'AB(E)CD*

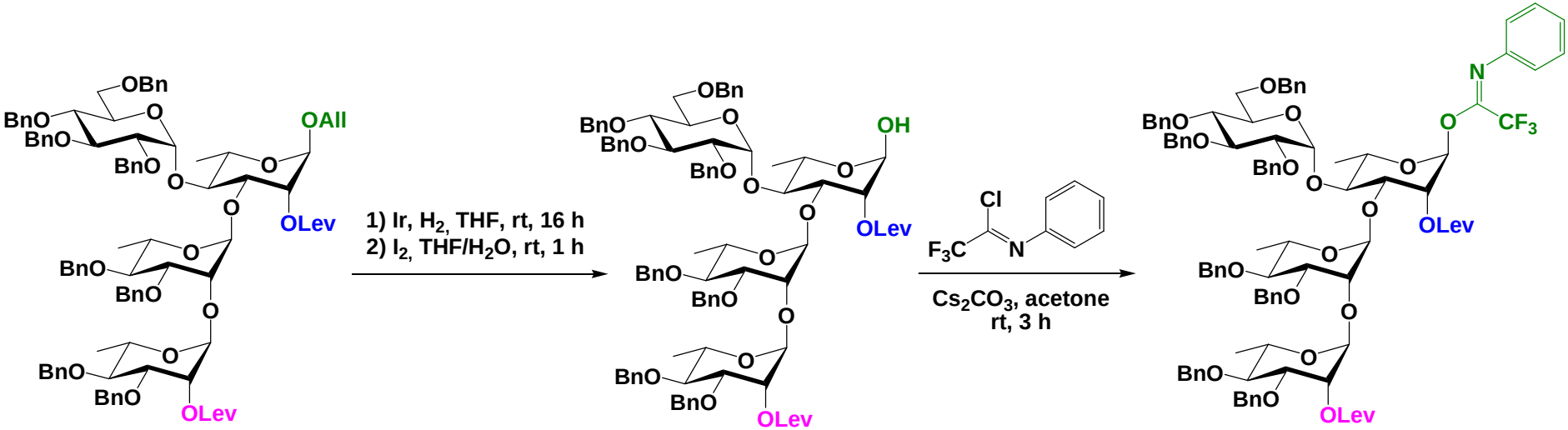


# 5. Glycobiologie et glycomédecine

## Vaccins glycoconjugués : *Synthèse du tétrasaccharide A'B'(E')C'*

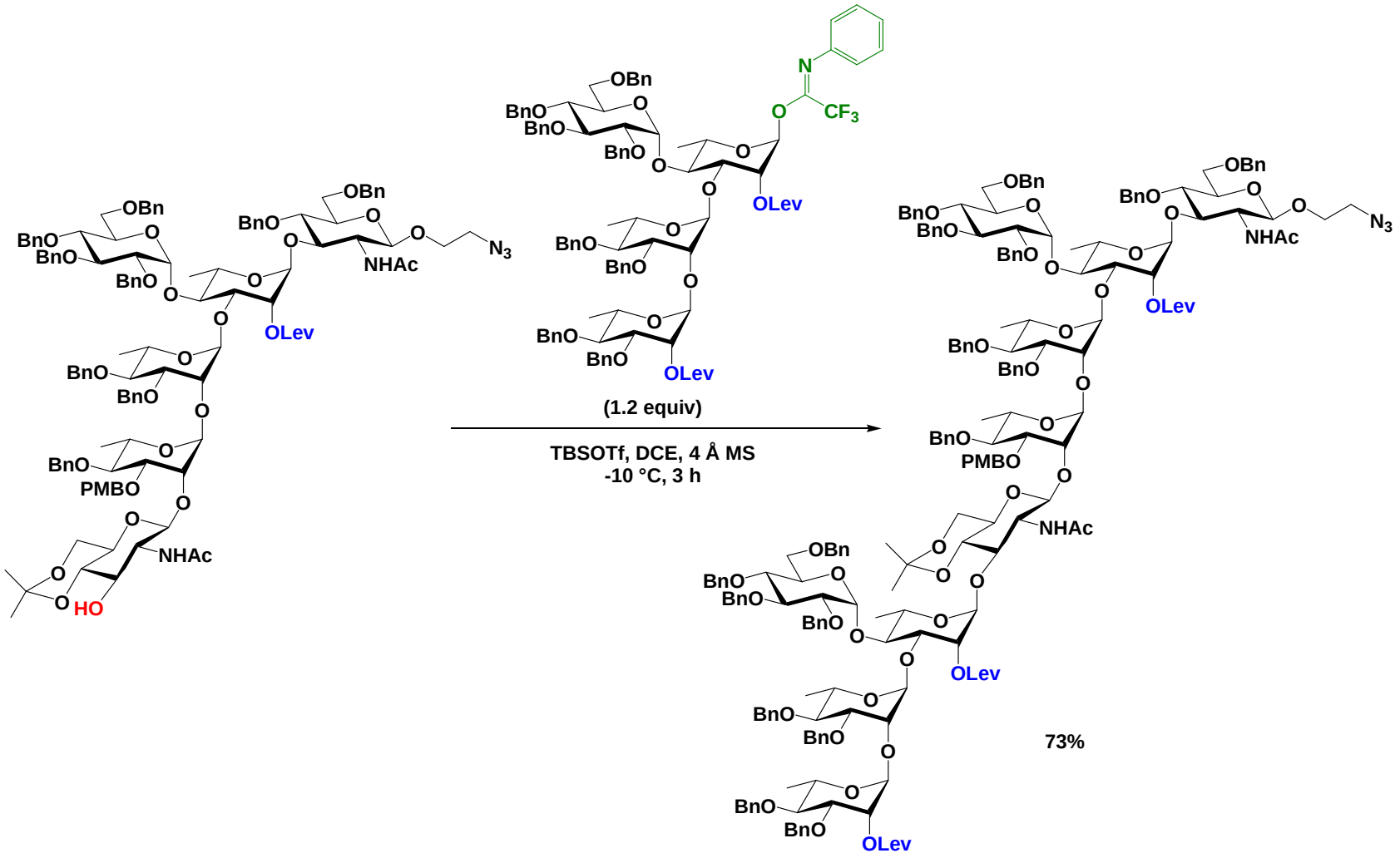




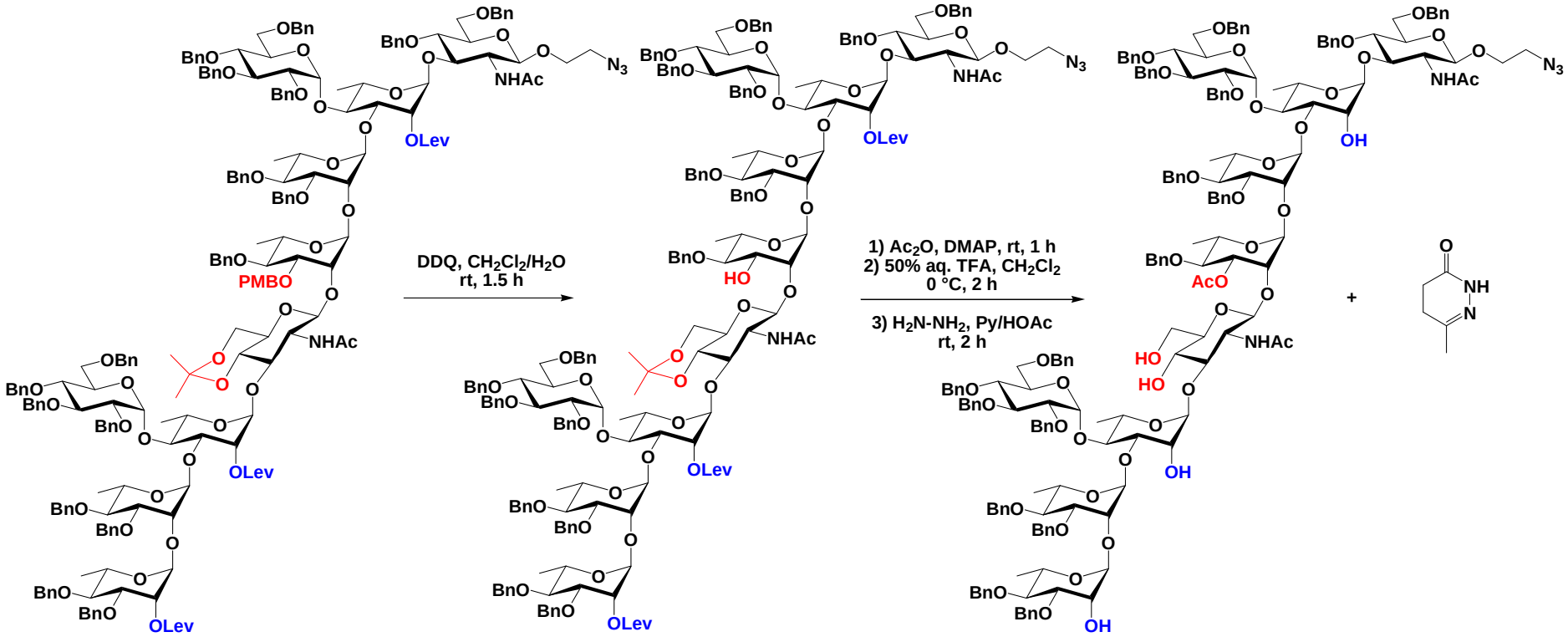
# 5. Glycobiologie et glycomédecine

**Vaccins glycoconjugués :** ***Synthèse du décasaccharide protégé A'B'(E')C'D'AB(E)CD***



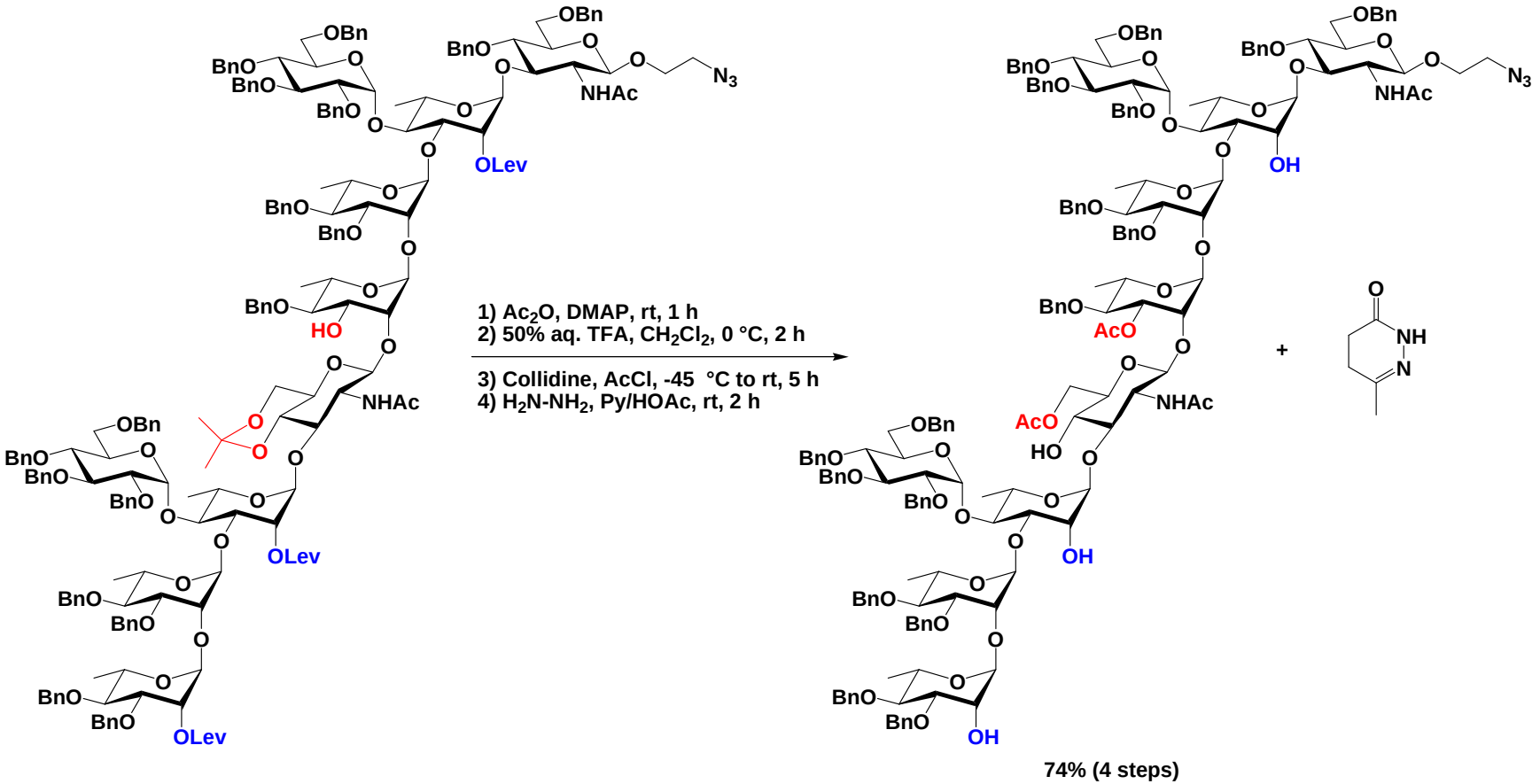
# 5. Glycobiologie et glycomédecine

## Vaccins glycoconjugués : *Synthèse du décasaccharide acétylé ($3_A$) avant hydrogénation*



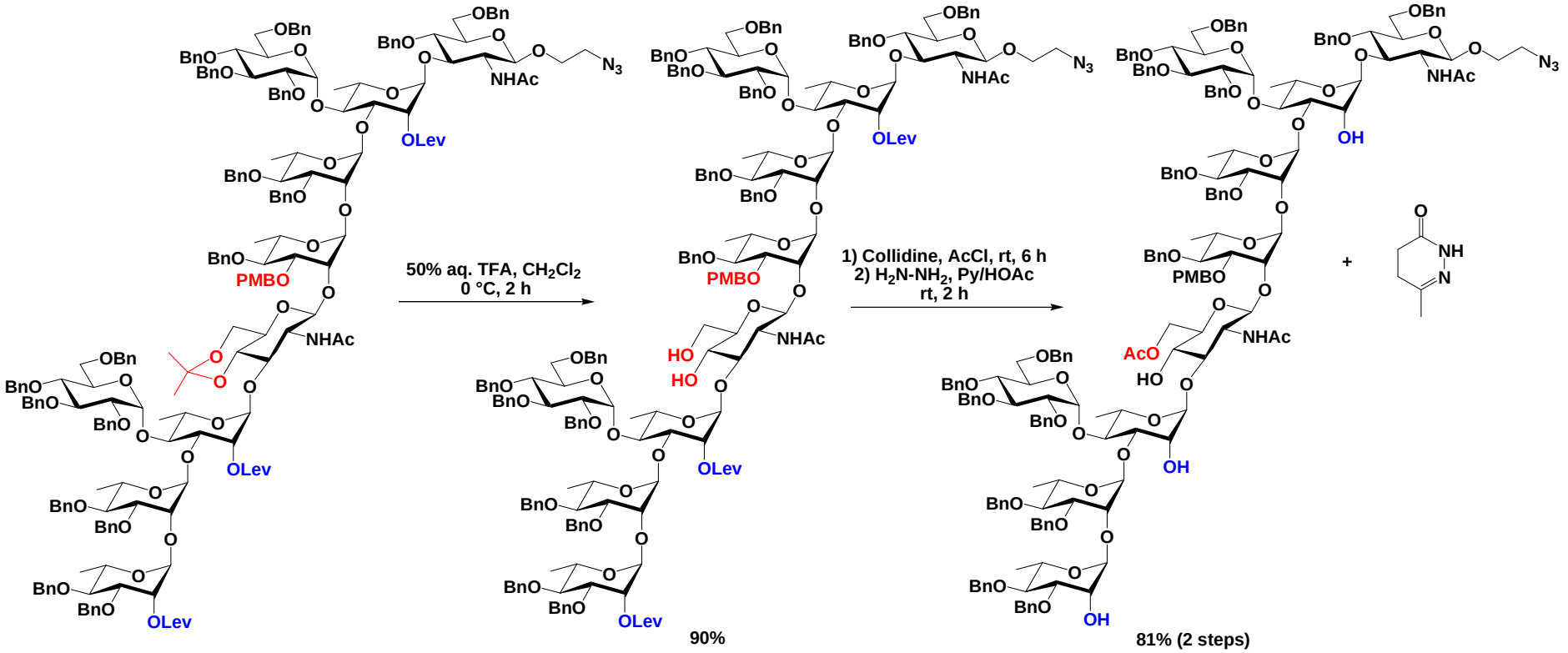
# 5. Glycobiologie et glycomédecine

**Vaccins glycoconjugués :** ***Synthèse du décasaccharide acétylé ($3_A$, $6_{D'}$) avant hydrogénation***



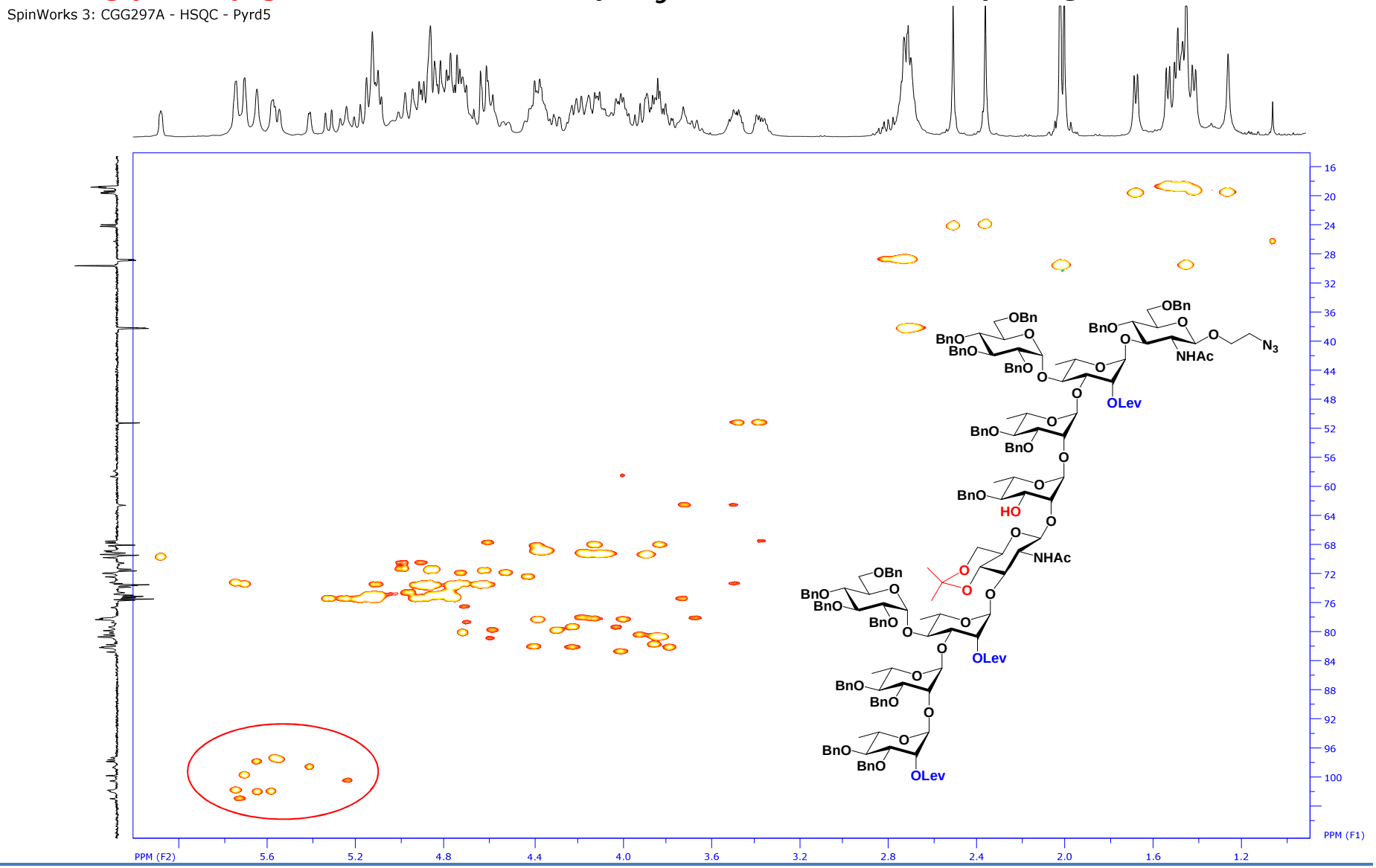
# 5. Glycobiologie et glycomédecine

**Vaccins glycoconjugués :** ***Synthèse du décasaccharide acétylé ($6_{D'}$) avant hydrogénation***



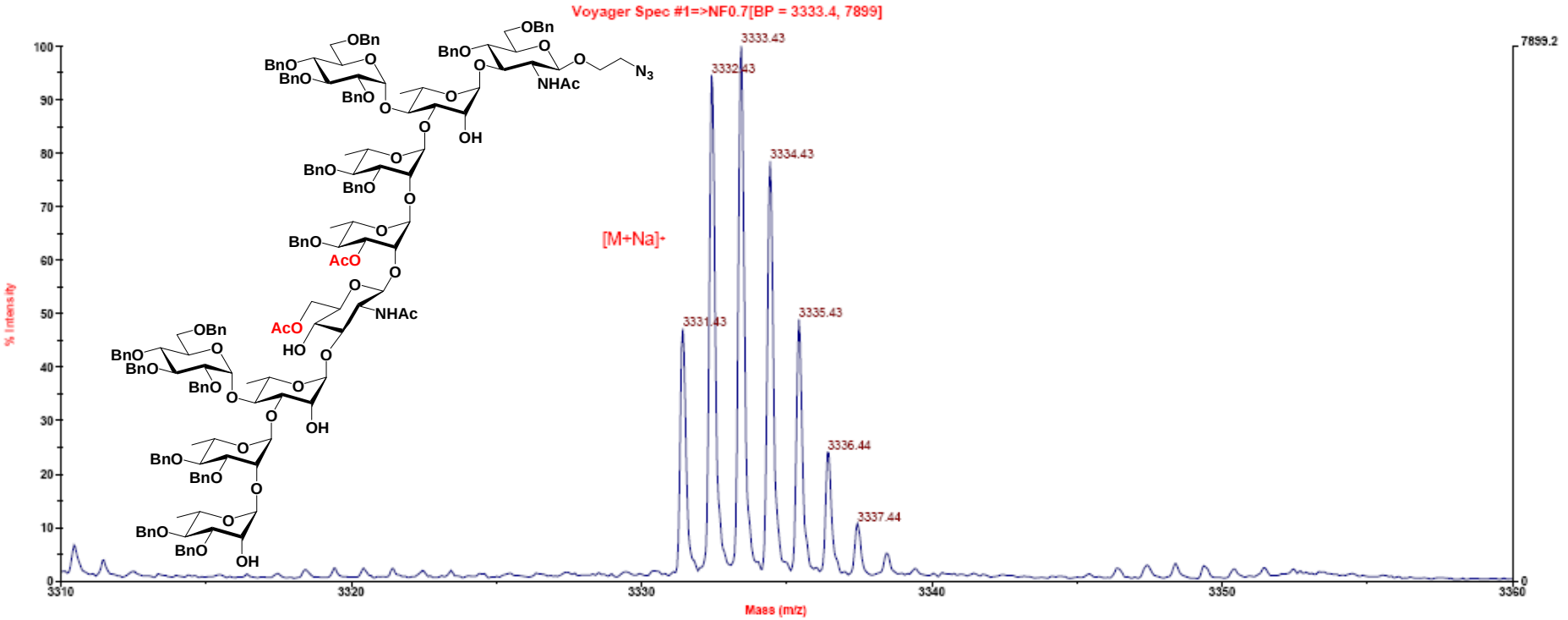
# 5. Glycobiologie et glycomédecine

## Vaccins glycoconjugués : *RMN 2D HSQC Pyr-$d_5$ d'un décasaccharide protégé*



# 5. Glycobiologie et glycomédecine

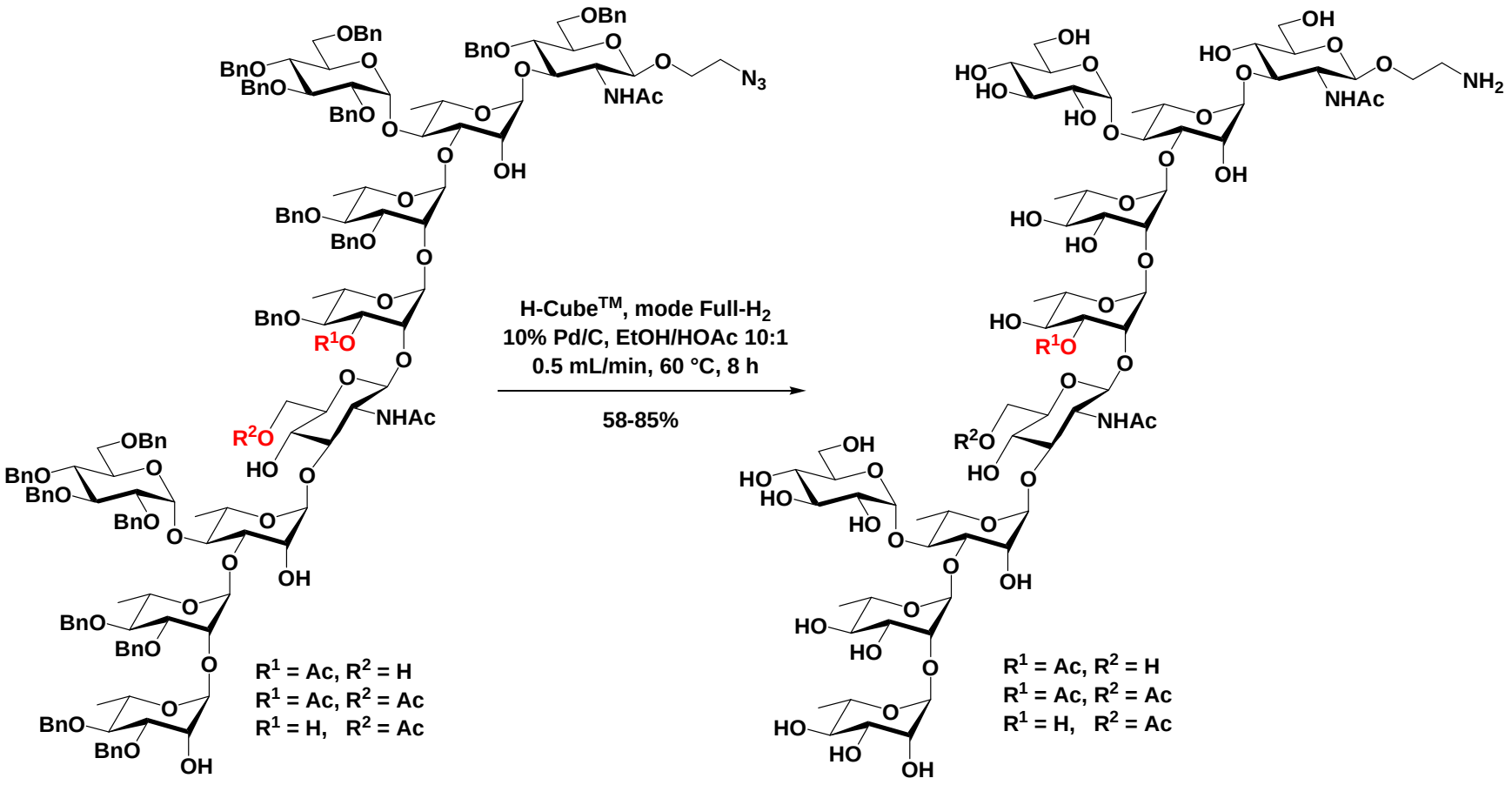
**Vaccins glycoconjugués :** ***Spectre HR-MALDI-TOF-MS d'un décasaccharide protégé***




3331.43 $[M + Na]^+$ (calcd for $C_{189}H_{217}N_5O_{47}Na$, 3331.46)

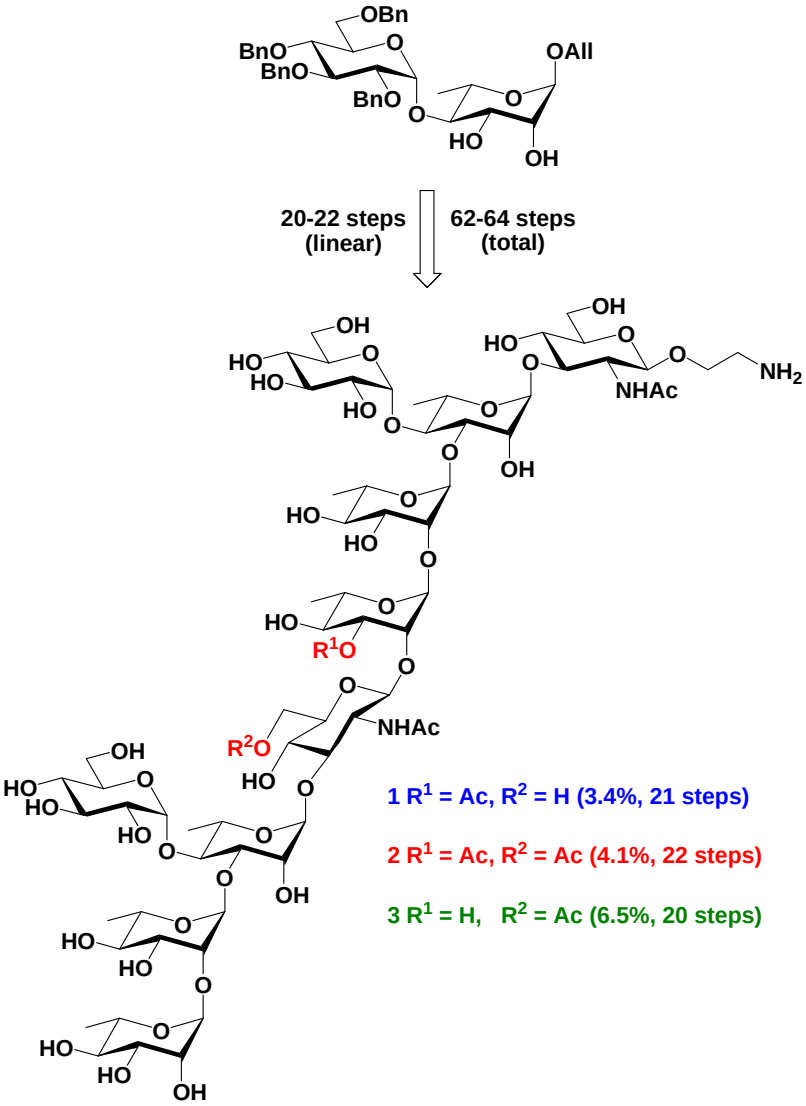
# 5. Glycobiologie et glycomédecine

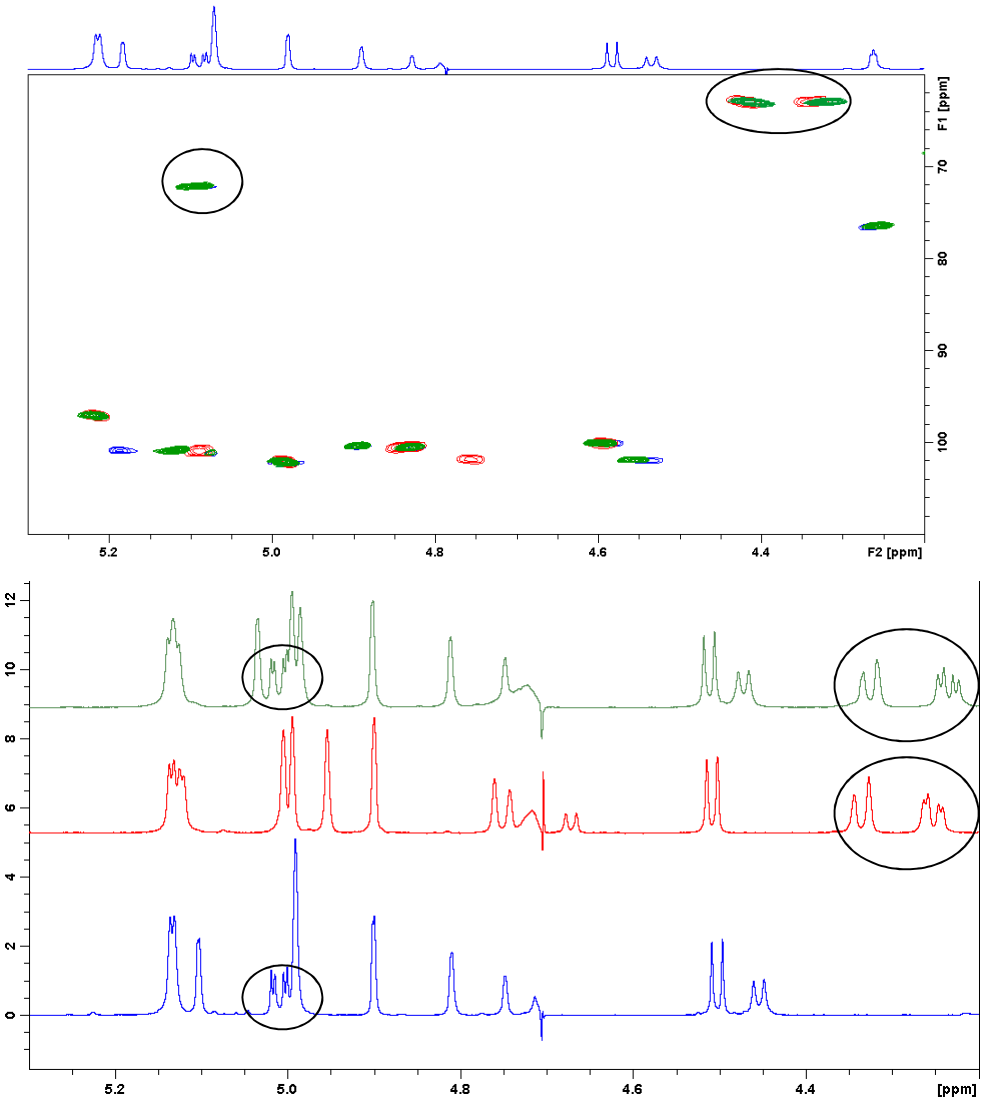
**Vaccins glycoconjugués :** ***Hydrogénation en présence de Pd/C – utilisation du H-Cube™***



# 5. Glycobiologie et glycomédecine

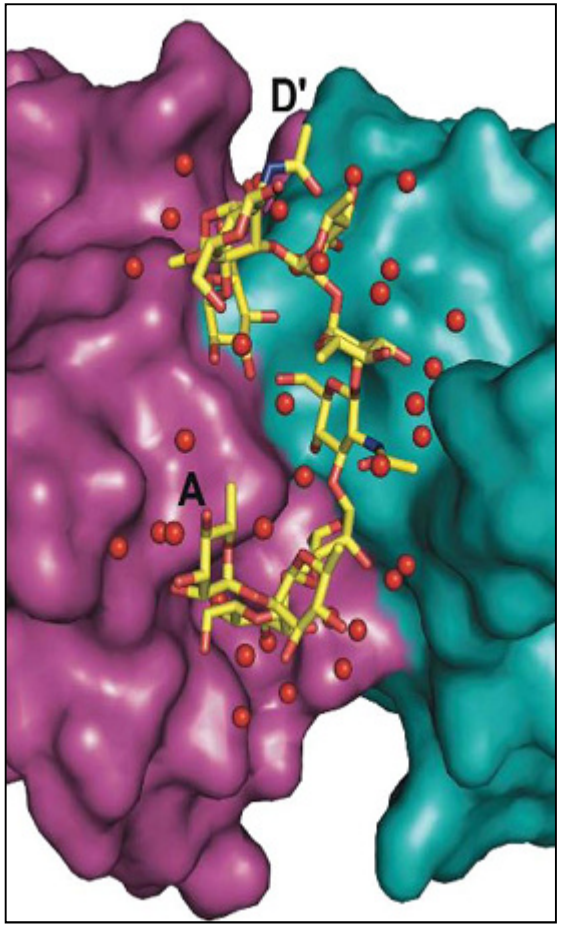
## Vaccins glycoconjugués : *Rendement global de la voie de synthèse et RMN $^1$H 700 MHz*



# 5. Glycobiologie et glycomédecine

**Vaccins glycoconjugués :** ***Evaluation de l'antigénicité des décasaccharides acétylés***




Interaction entre
F22-4 IgG Ab et $[AB(E)CD]_2$
(Vulliez-Le Normand *et al. PNAS* **2008**)

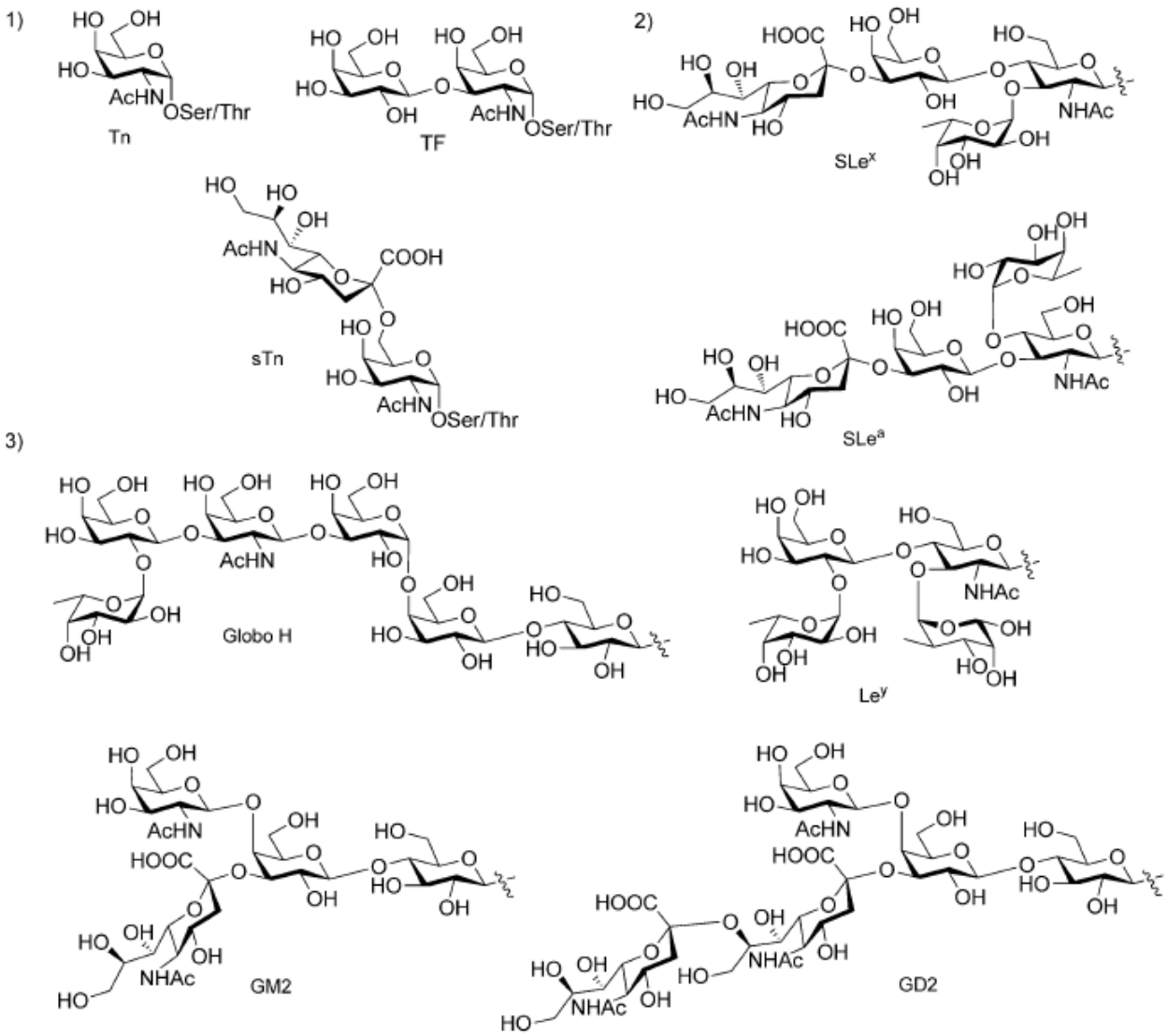
| Oligosaccharide | F22-4 IgG $IC_{50}$ (nM)[a] |
|---|---|
| AB(E)CD | 21 000 ± 9000[b] |
| A'B'(E')C'D'AB(E)CD | 1 100 ± 500[b] |
| A'B'(E')C'D'$A_{Ac}$B(E)CD (**1**) | **50 ± 10** |
| A'B'(E')C'$D'_{Ac}A_{Ac}$B(E)CD (**2**) | 400 ± 100 |
| A'B'(E')C'$D'_{Ac}$AB(E)CD (**3**) | 4000 + 1000 |

[a] Inhibition test ELISA.
[b] Phalipon *et al. J. Immunol.* **2006**

Gauthier *et al.* (soumis)
Mulard and Gauthier, European Patent Application, EP-10290254.1.

# 5. Glycobiologie et glycomédecine

**Vaccins glycoconjugués :** ***Antigènes sucres surexprimés dans certaines tumeurs***

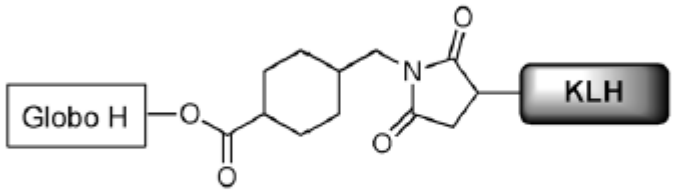


# 5. Glycobiologie et glycomédecine

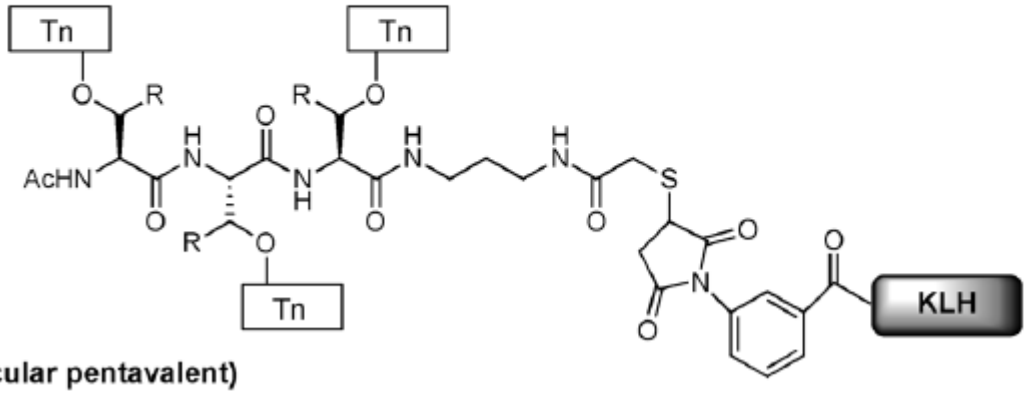
**Vaccins glycoconjugués :** ***Vaccins anticancers semi-synthétiques***

**a) Semisynthetic vaccines**

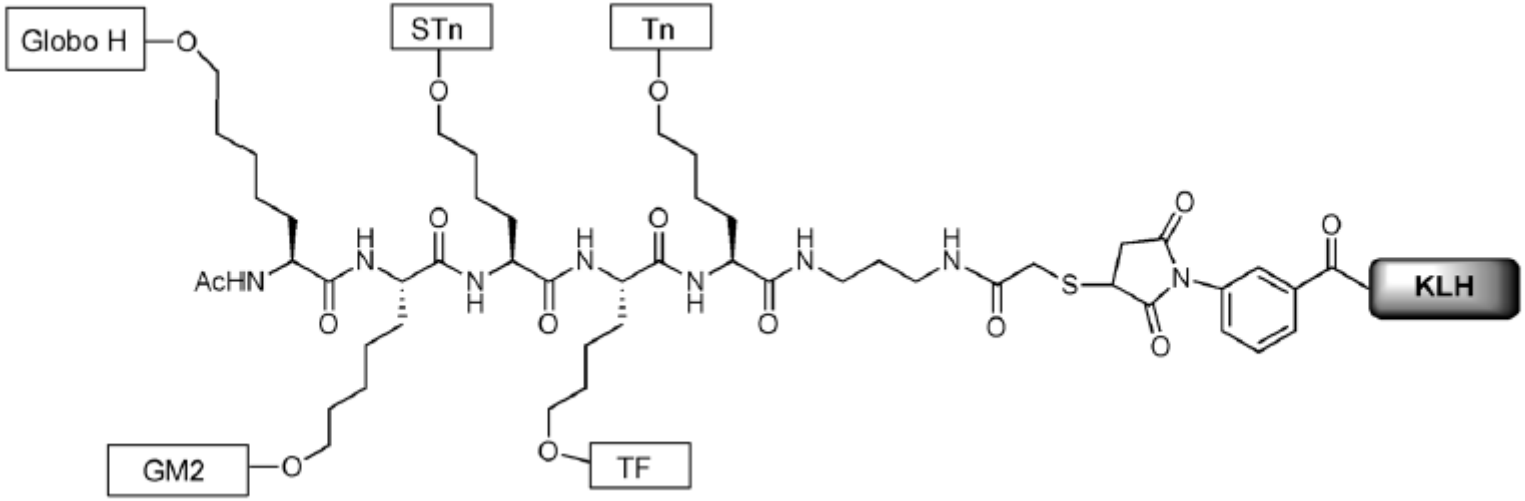
**1) monovalent with single type TACA**




**2) monovalent cluster with single type TACA**

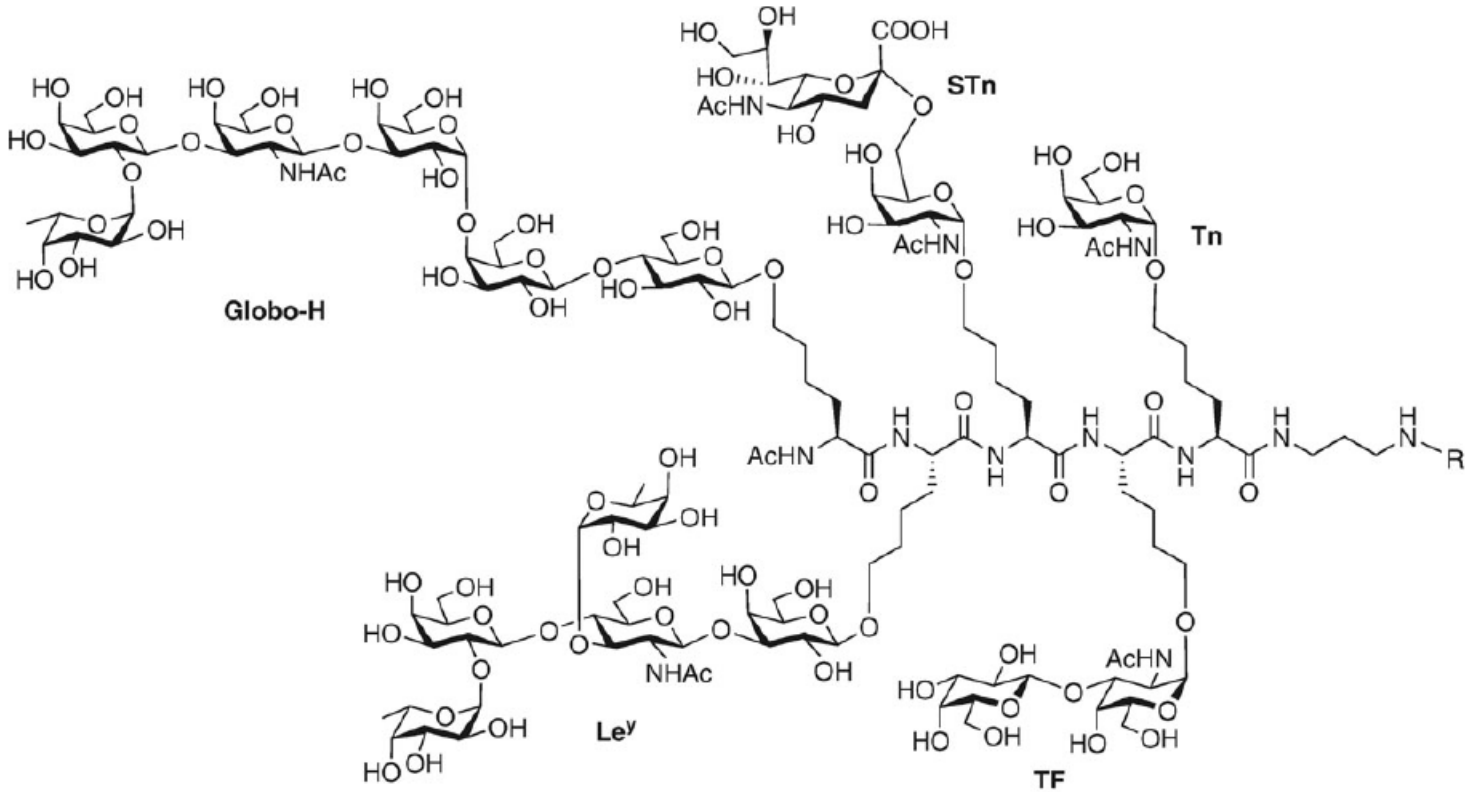



**3) multivalent with several types of TACA (unimolecular pentavalent)**



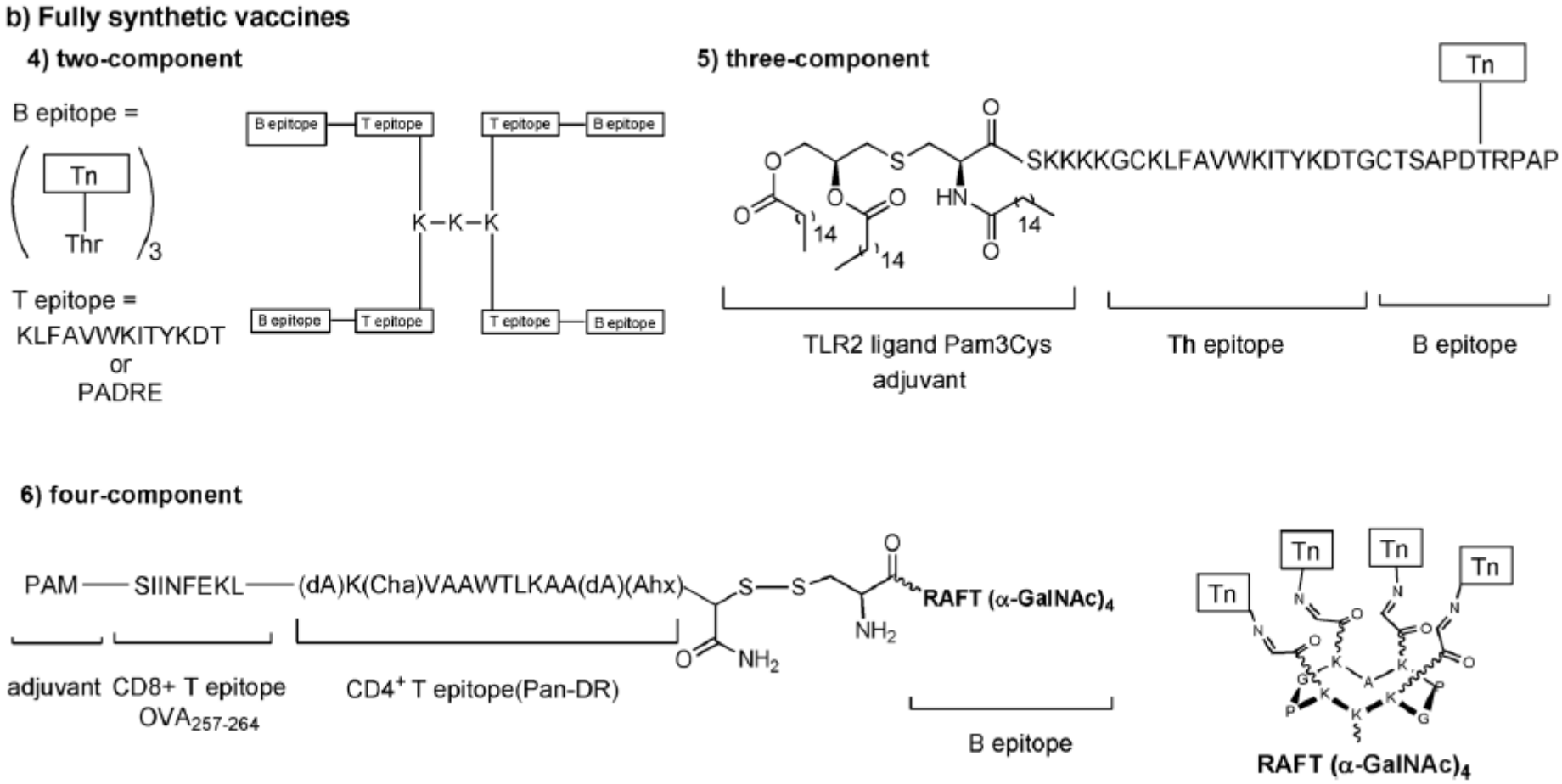
# 5. Glycobiologie et glycomédecine

**Vaccins glycoconjugués :** ***Vaccins anticancers semi-synthétiques polyantigéniques***



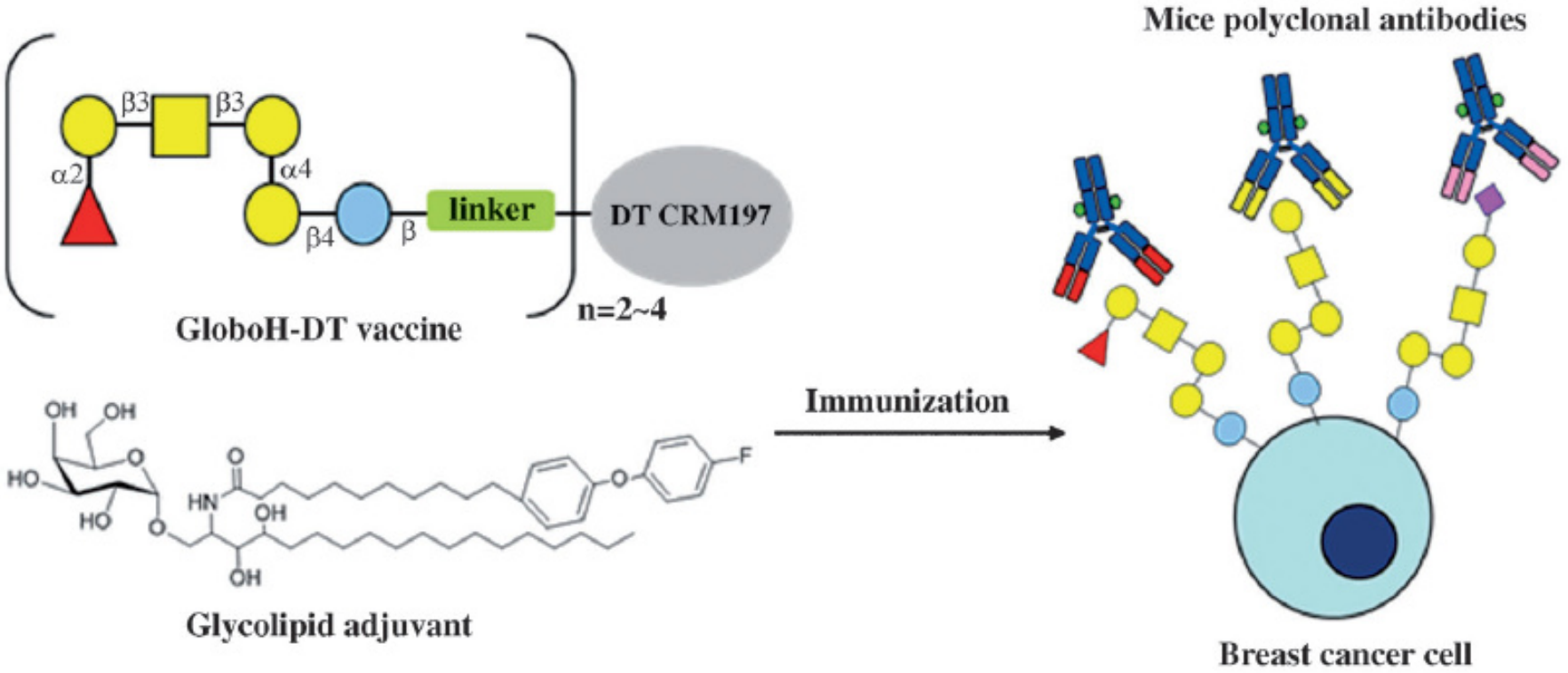
# 5. Glycobiologie et glycomédecine

**Vaccins glycoconjugués :** ***Vaccins anticancers « fully » synthétiques***



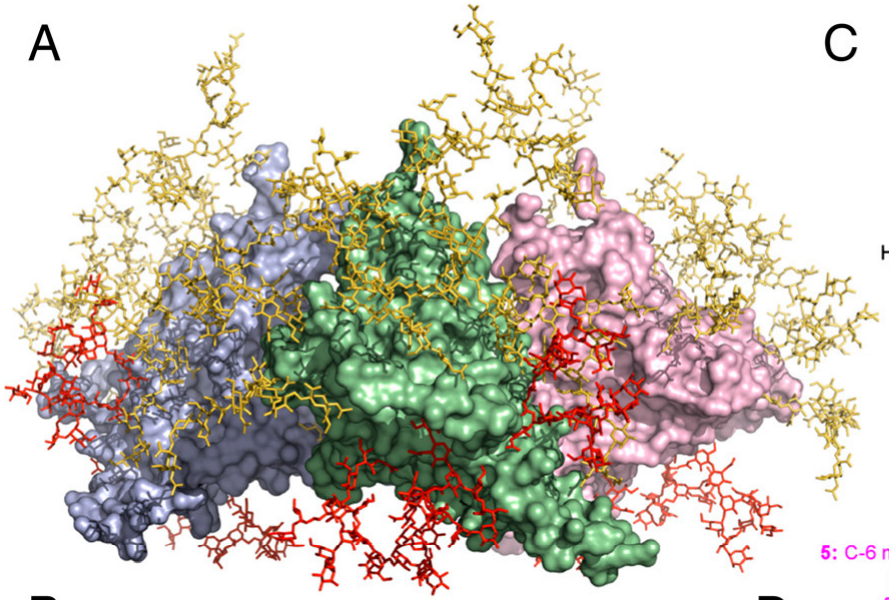
# 5. Glycobiologie et glycomédecine

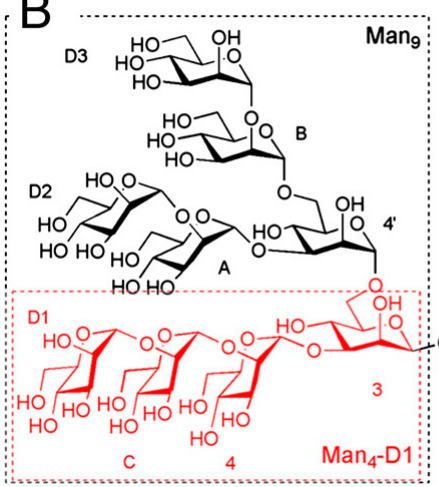
**Vaccins glycoconjugués :** ***Vaccin anticancer « tricomponents » Globo-H, CRM-197 + glycolipid***

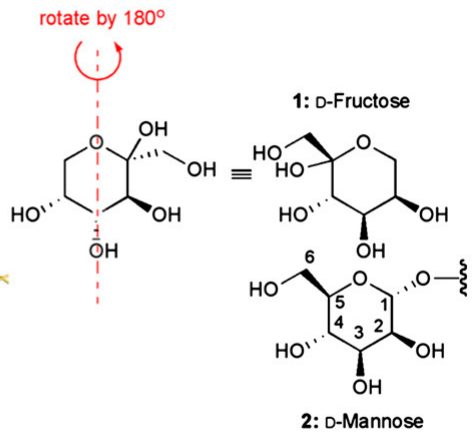


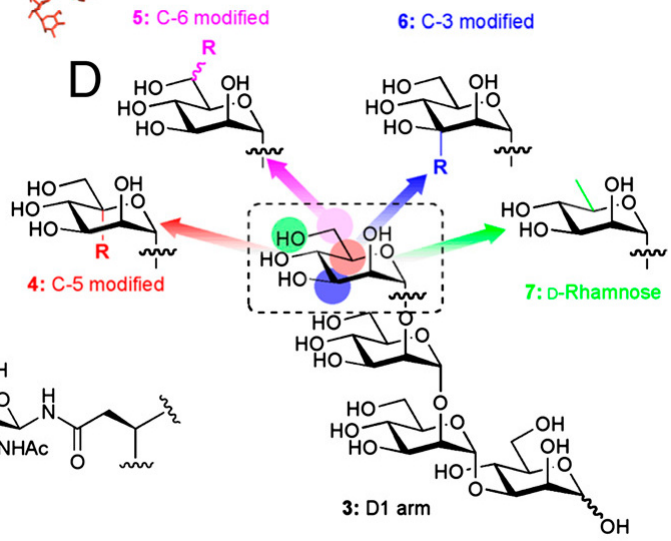
# 5. Glycobiologie et glycomédecine

**Vaccins glycoconjugués :** ***Vaccin anti-HIV basé sur des mimes du $Man_4$-D1 arm***




A) Protéine gp120

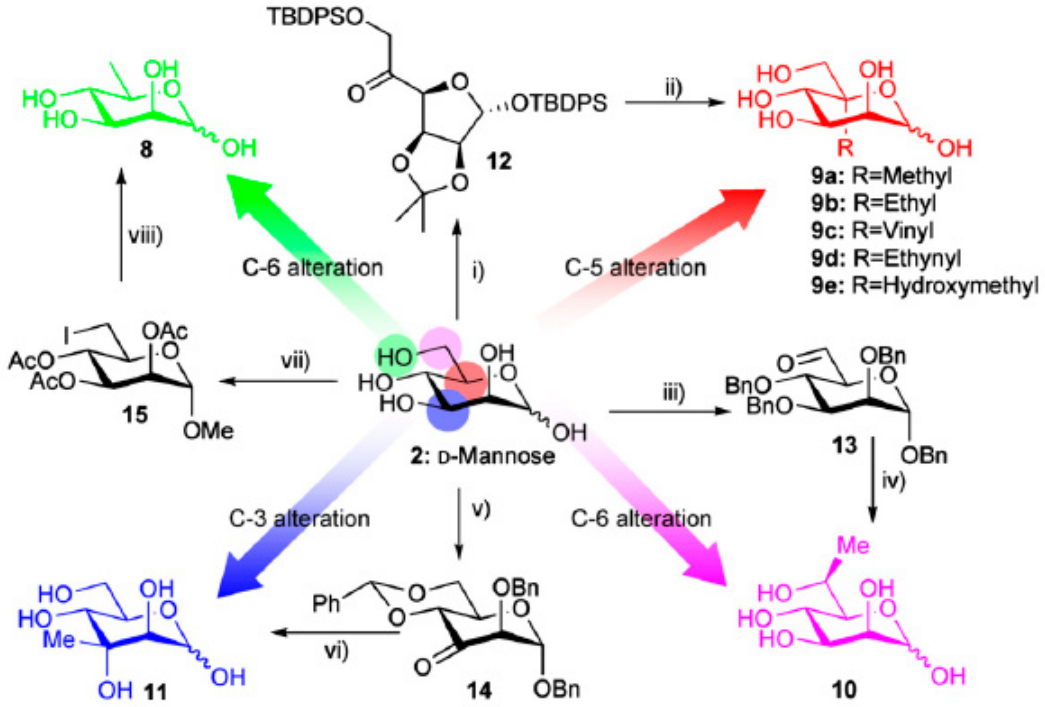
B) High mannan

C) Analogie fructose-mannose

D) Mimes $Man_4$-D1 arm

# 5. Glycobiologie et glycomédecine

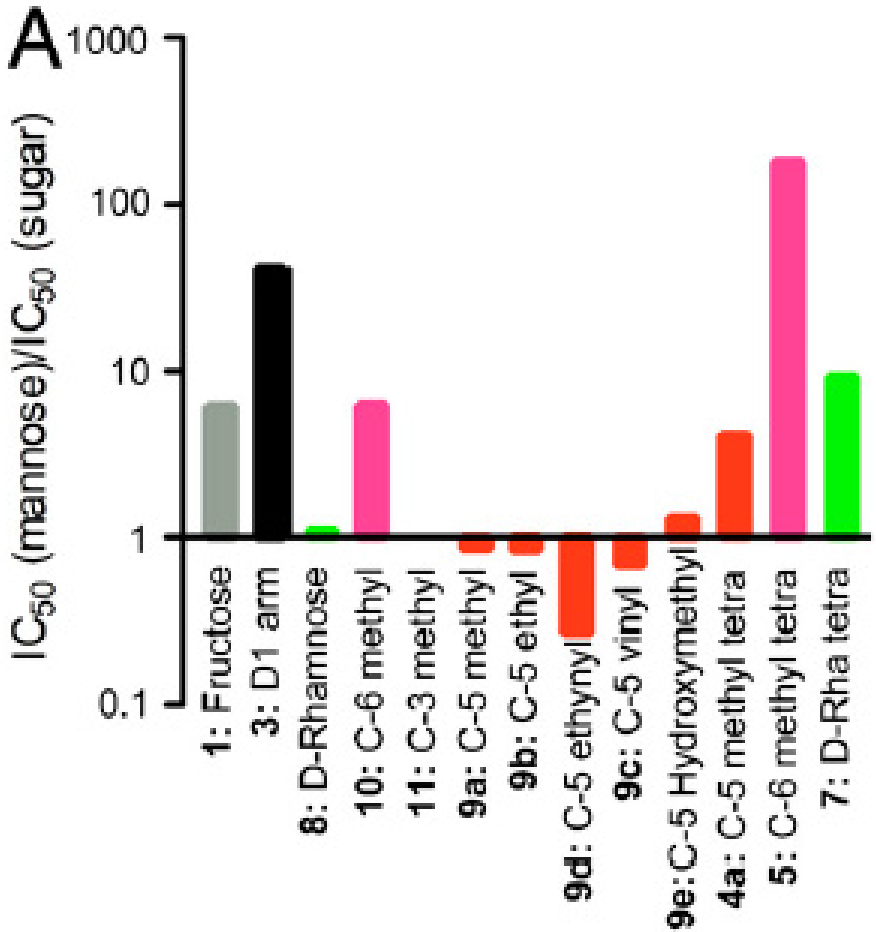
**Vaccins glycoconjugués :** ***Synthèse des mimes du Man$_4$-D1 arm de la gp120 du VIH***




(*i*) 2,2-dimethoxypropane, *p*TsOH, DMF, 73%, then TBDPSCl, imidazole, DCM, 95%, then c.HCl, MeOH, 82%, then TBDPSCl, imidazole, DMF, 79%, then DMSO, $C_2O_2Cl_2$, DCM, −78 °C → RT, 97%; (*ii*) RMgBr, THF or $Bu_3SnCH_2OPMB$, BuLi, THF, 76%, then TBAF, THF, then TFA, $H_2O$; (*iii*) BnOH, AcOH, 60%, then TrtCl, DMAP, Pyr, 80 °C, 77%, then BnBr, NaH, DMF, 99%, then AcOH, ethanol, 80 °C, 90%, then DMSO, $C_2O_2Cl_2$, DCM, −78 °C → RT, 97%; (*iv*) MeMgBr, THF, then $H_2$, Pd/C, MeOH, 95%; (*v*) BnOH, AcOH, 60%, then dimethoxybenzaldehyde, *p*TsOH, DMF, 75 °C, 61%, then DIBAL-H, toluene, −40 °C, 76%, DMSO, $Ac_2O$; (*vi*) MeMgBr, THF, then $H_2$, Pd/C, MeOH; (*vii*) MeOH, AcCl, then $I_2$, $PPh_3$, imidazole, THF 65 °C, then $Ac_2O$, Pyr; (*viii*) $H_2$, Pd/C, $NEt_3$, MeOH, then AcOH, $H_2SO_4$, then NaOMe, MeOH.

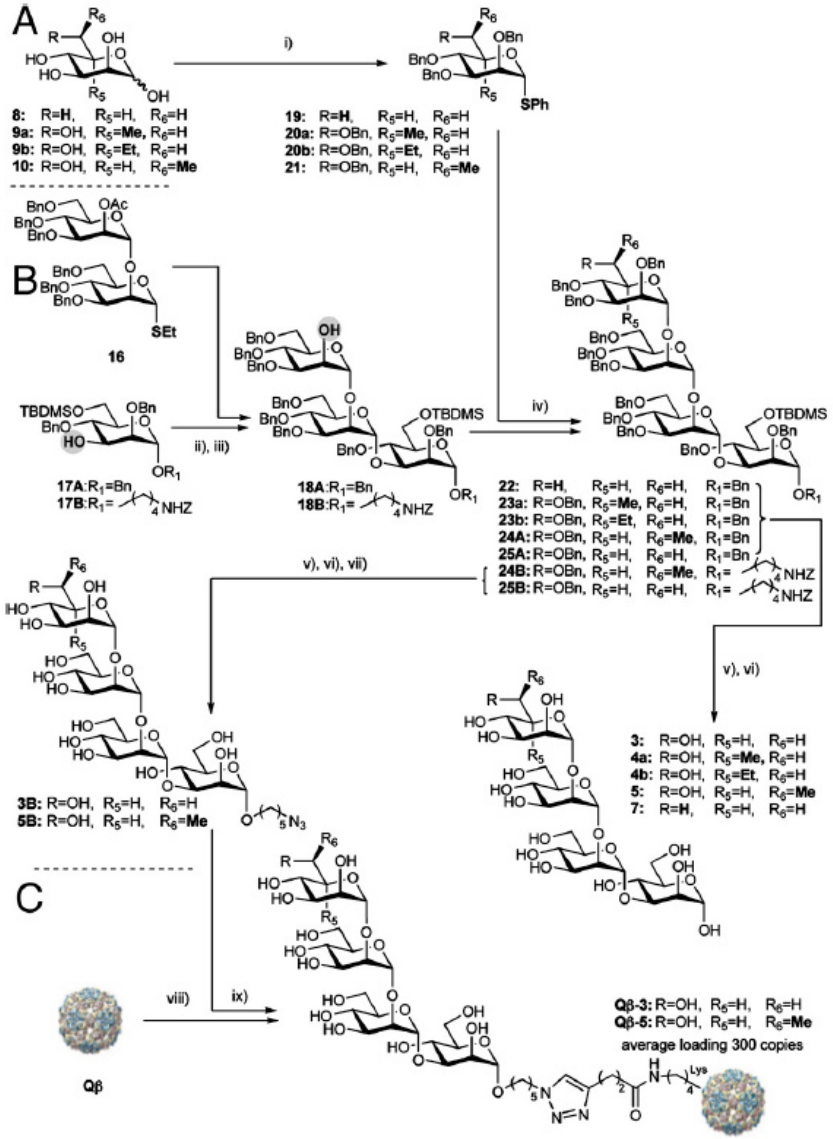
# 5. Glycobiologie et glycomédecine

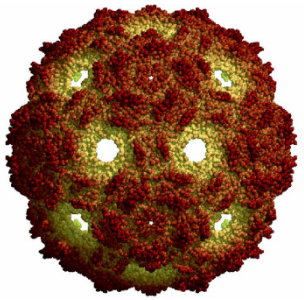
**Vaccins glycoconjugués :** ***Reconnaissance des sucres mimes avec le gp120 (test ELISA)***



# 5. Glycobiologie et glycomédecine

## Vaccins glycoconjugués : *Synthèse des tétrasaccharides conjugués à la Qβ*



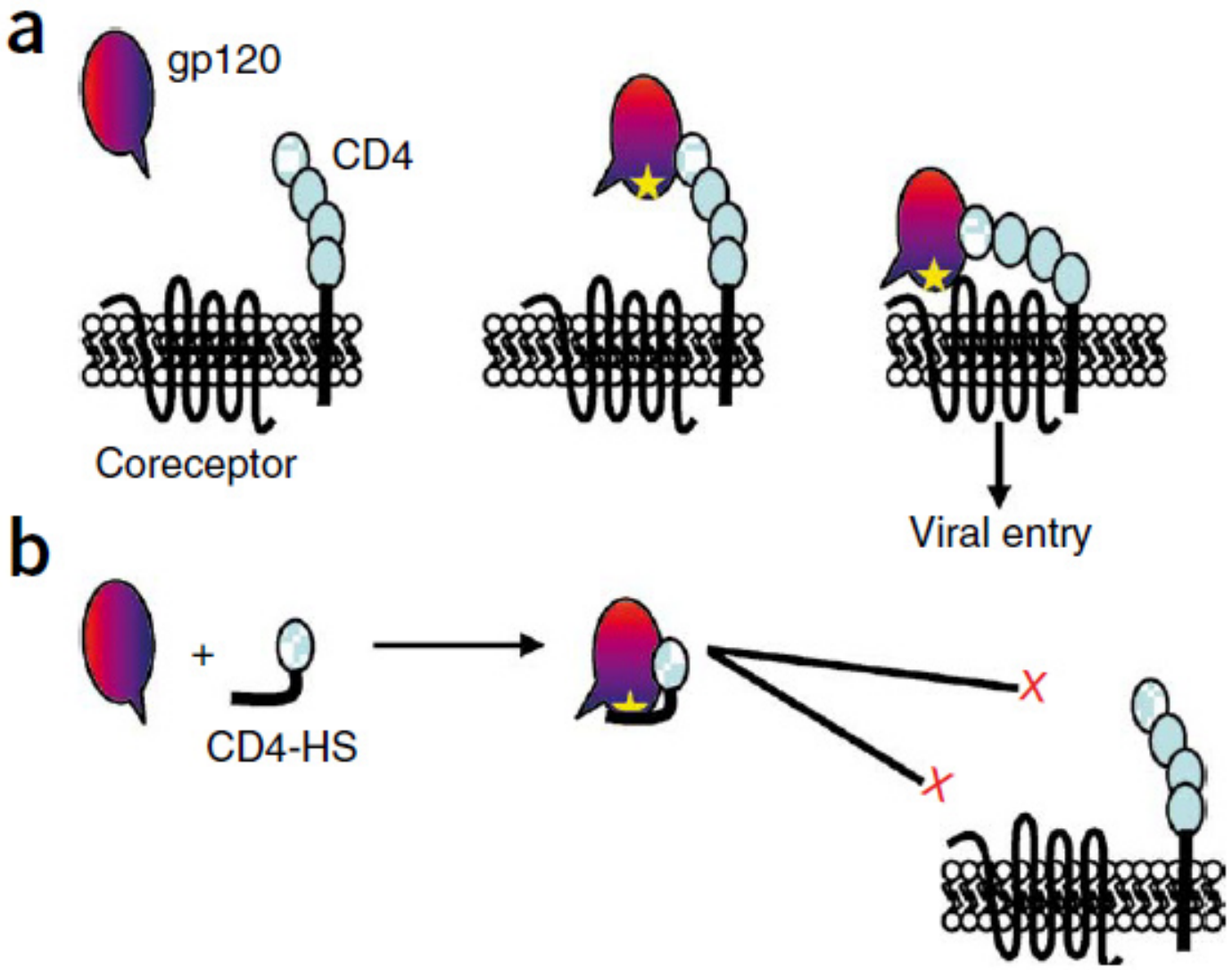



**Qβ virus-like particle**

(*i*) $Ac_2O$, Pyr then PhSH, $BF_3 \bullet OEt_2$, DCM then NaOMe, MeOH then NaH, BnBr, DMF. (*B*) Synthesis of nonself tetrasaccharides with (*B*) and without (*A*) linker group glycoconjugate synthesis. Reagents and conditions: (*ii*) DMTST, TTBP, DCM, 4 Å mol sieves, −78 °C → RT; (*iii*) NaOMe, MeOH: (*iv*) DMTST, TTBP, DCM, 4 Å mol sieves, −78 °C → RT; (*v*) AcOH, $H_2O$, 50 °C; (*vi*) Pd/C, $H_2$, MeOH,; (*vii*) $TfN_3$, $NH_4HCO_3$, $CuCl_2$, DCM, $H_2O$. (*C*) Glycoconjugate synthesis. Reagents and conditions: (*viii*) alkynyl *N*-hydroxysuccinimide ester ($HCC(CH_2)_2CO_2$-NHS), 15% DMSO, TRIS buffer pH 7.0; (*ix*) aminoguanidine, $CuSO_4$, tris(3-hydroxypropyltrazolylmethyl)amine, sodium ascorbate, PBS (0.1 M, pH 7.0).

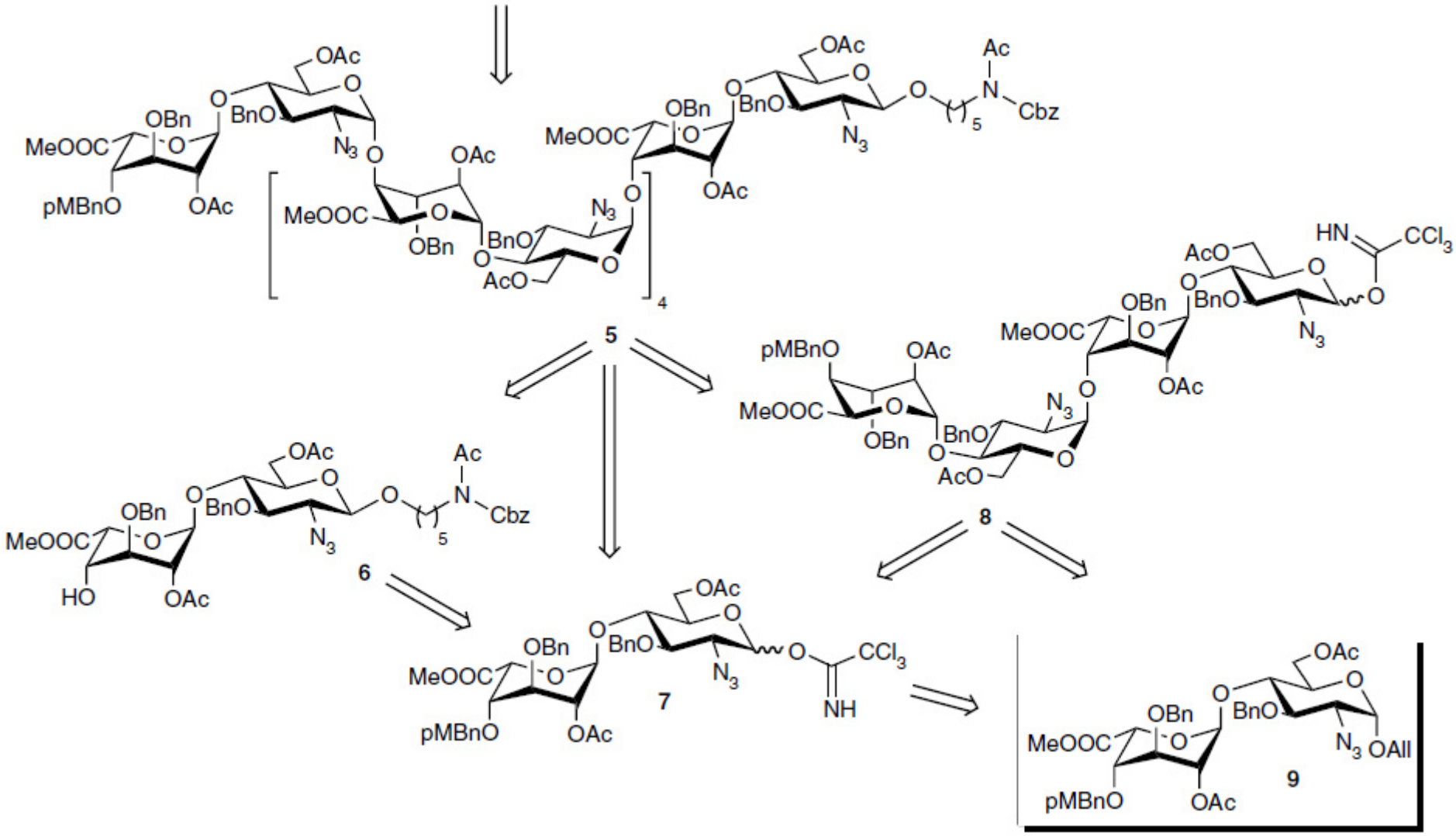
# 5. Glycobiologie et glycomédecine

**Vaccins glycoconjugués :** ***Approche pour l'inhibition de l'entrée du VIH – chimère CD4-HS***



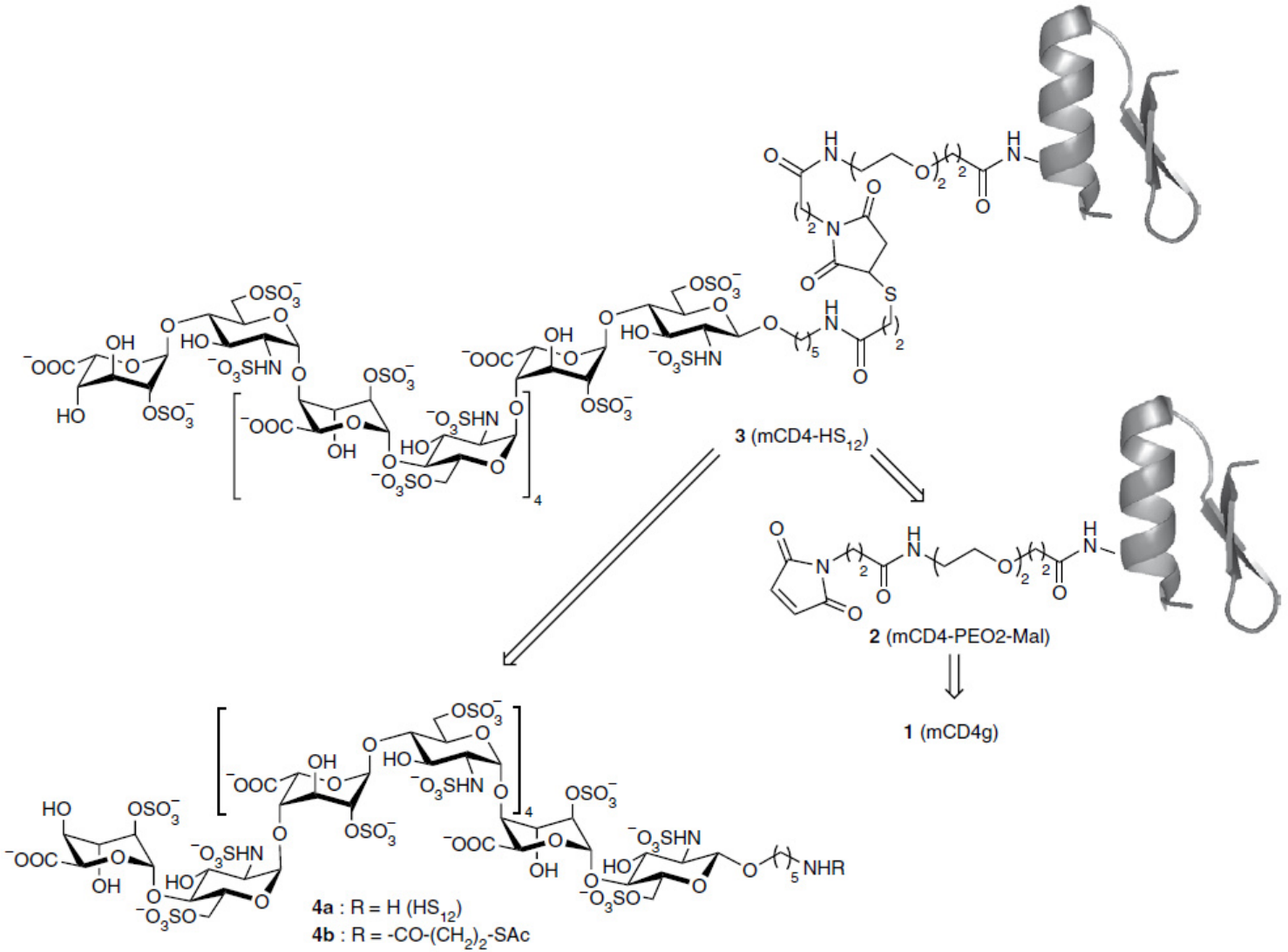
# 5. Glycobiologie et glycomédecine

**Vaccins glycoconjugués :** ***Synthèse des mimes d'héparane sulfate (HS)***



# 5. Glycobiologie et glycomédecine

**Vaccins glycoconjugués :** ***Synthèse des mimes d'héparane sulfate (HS)***



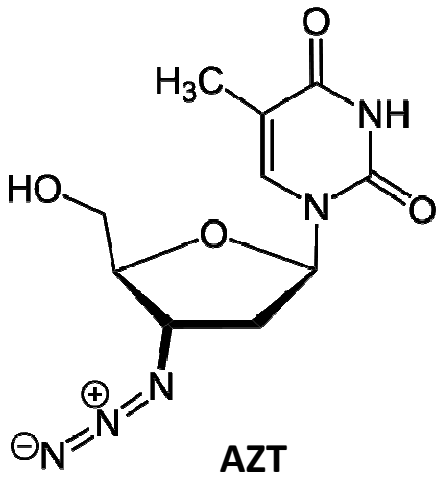
# 5. Glycobiologie et glycomédecine

**Vaccins glycoconjugués :** ***Activité anti-VIH de la chimère comparée aux constituants et à l'AZT (résultats en nM)***

| | /Ba-L (R5) | | |
|---|---|---|---|
| | $ED_{50}$ | $ED_{70}$ | $ED_{90}$ |
| mCD4g | >500 | >500 | >500 |
| $HS_{12}$ | >500 | >500 | >500 |
| mCD4-$HS_{12}$ | 2.4 ± 1.9 | 4.9 ± 0.3 | 11.1 ± 7.6 |
| AZT | 6.6 ± 0.8 | 14 ± 8.1 | 45 ± 44 |

| | 89.6 (R5/X4) | | |
|---|---|---|---|
| | $ED_{50}$ | $ED_{70}$ | $ED_{90}$ |
| mCD4g | nd | nd | nd |
| $HS_{12}$ | nd | nd | nd |
| mCD4-$HS_{12}$ | 4.5 ± 0.7 | 5.2 ± 0.6 | 6.5 ± 0.8 |
| AZT | 2.1 ± 0.15 | 4.0 ± 1.0 | 12.3 ± 8.2 |

| | LAI (X4) | | |
|---|---|---|---|
| | $ED_{50}$ | $ED_{70}$ | $ED_{90}$ |
| mCD4g | 244 ± 18 | 377 ± 169 | 560 ± 222 |
| $HS_{12}$ | >500 | >500 | >500 |
| mCD4-$HS_{12}$ | 1.4 ± 0.9 | 2.05 ± 0.55 | 3.0 ± 0.65 |
| AZT | 1.8 ± 0.85 | 2.75 ± 1.3 | 5.6 ± 2.5 |



**AZT**

# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

## Sommaire de la 6e partie

- Molécules glycosylées naturelles
- Synthèse totale d'antibiotiques
- Synthèse totale de gallotannin
- Synthèse totales de saponines
  - Saponines de type lupane
  - Saponine cyclique Lobatoside E
  - Saponines adjuvantes QS-21

# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

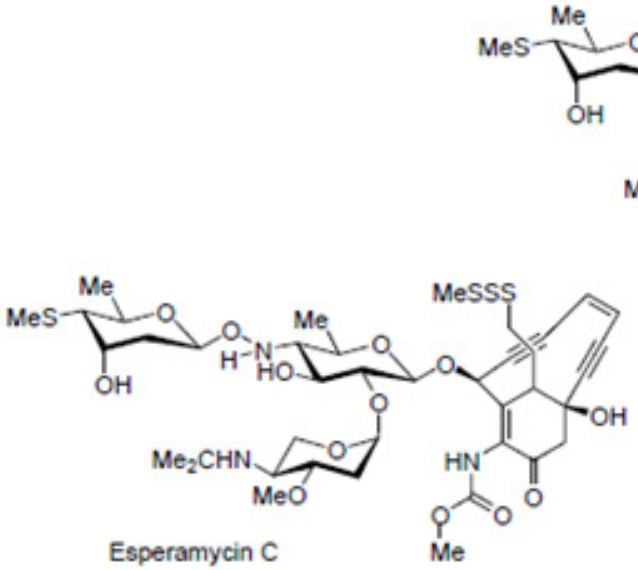
**Molécules glycosylées naturelles :** ***différentes sous-classes de métabolites***

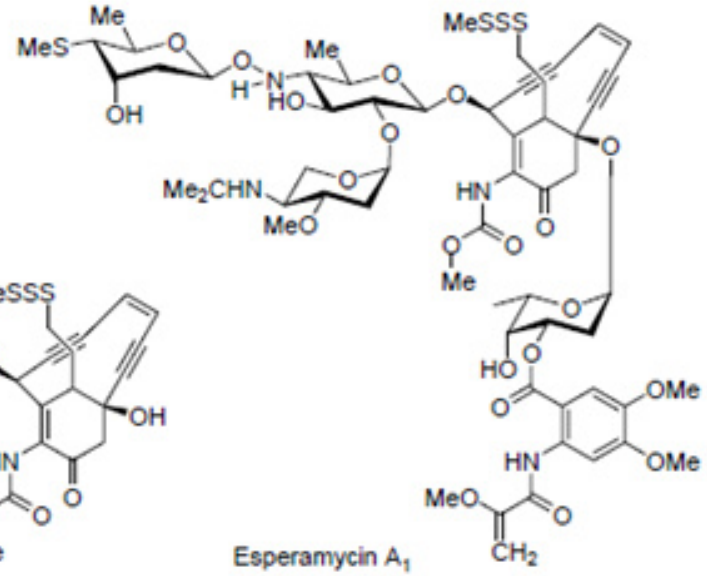
| Classes | Sous-Classes | Exemples de Glycosides |
|---|---|---|
| **antibiotiques** | aminoglycosides | streptomycine |
| | glycopeptides | vancomycine |
| | ènediyne | esperamycine C |
| | anthracyclines | daunomycine |
| | polyènes | amphotericine B |
| | macrolides | érythromycine A |
| **vitamines** | hydrosolubles | riboflavine-5'-α-D-glucoside, rutine, 2-*O*-α-glucopyranosyl-L-acide ascorbique |
| | liposolubles | rétinoyl β-glucuronide |
| **alcaloïdes** | glycosides de l'ergot | élymoclavine |
| | glucuronide de morphine | morphine 6-α-D-glucuronide |
| **terpènes et stéroïdes** | hétérosides cardiotoniques | digitoxine |
| | saponosides | α-tomatine |
| **polyphénoliques et tannins** | anthocyanosides | péonidine acyl-glycoside |
| | hétérosides flavonoïdiques | gentiodelphine |
| | gallotanins | davidiin |

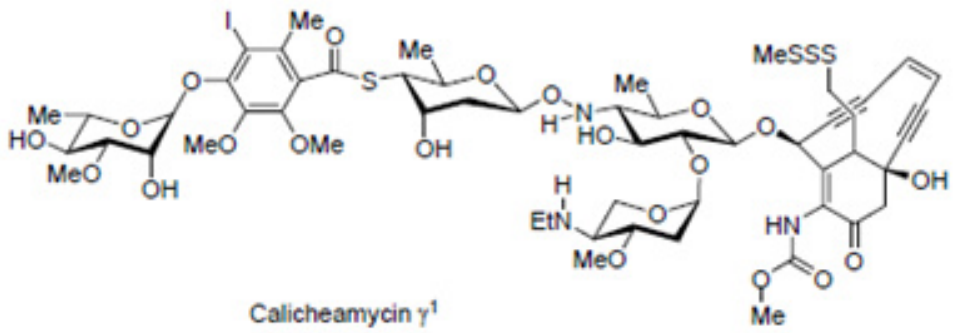
# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

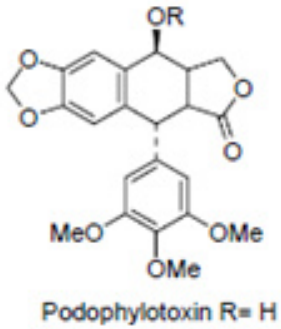
**Molécules glycosylées naturelles :** ***antibiotiques de la classe des ènediynes***

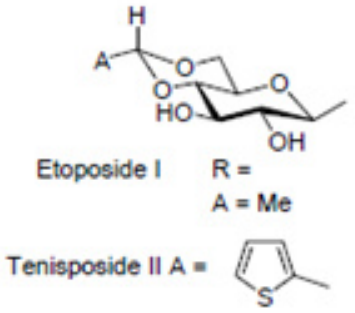
- Agents anticancéreux extrêmement puissants



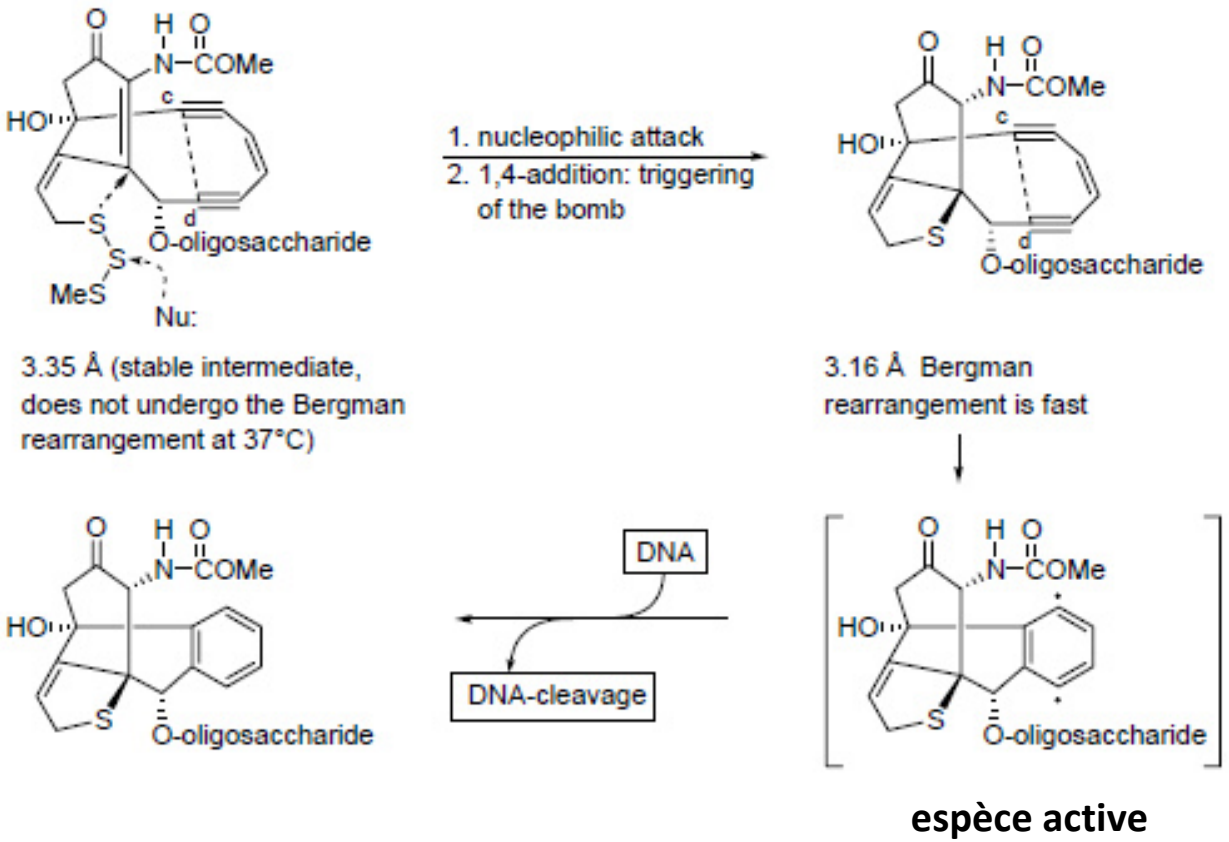



# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

**Molécules glycosylées naturelles : *antibiotiques de la classe des ènediynes***

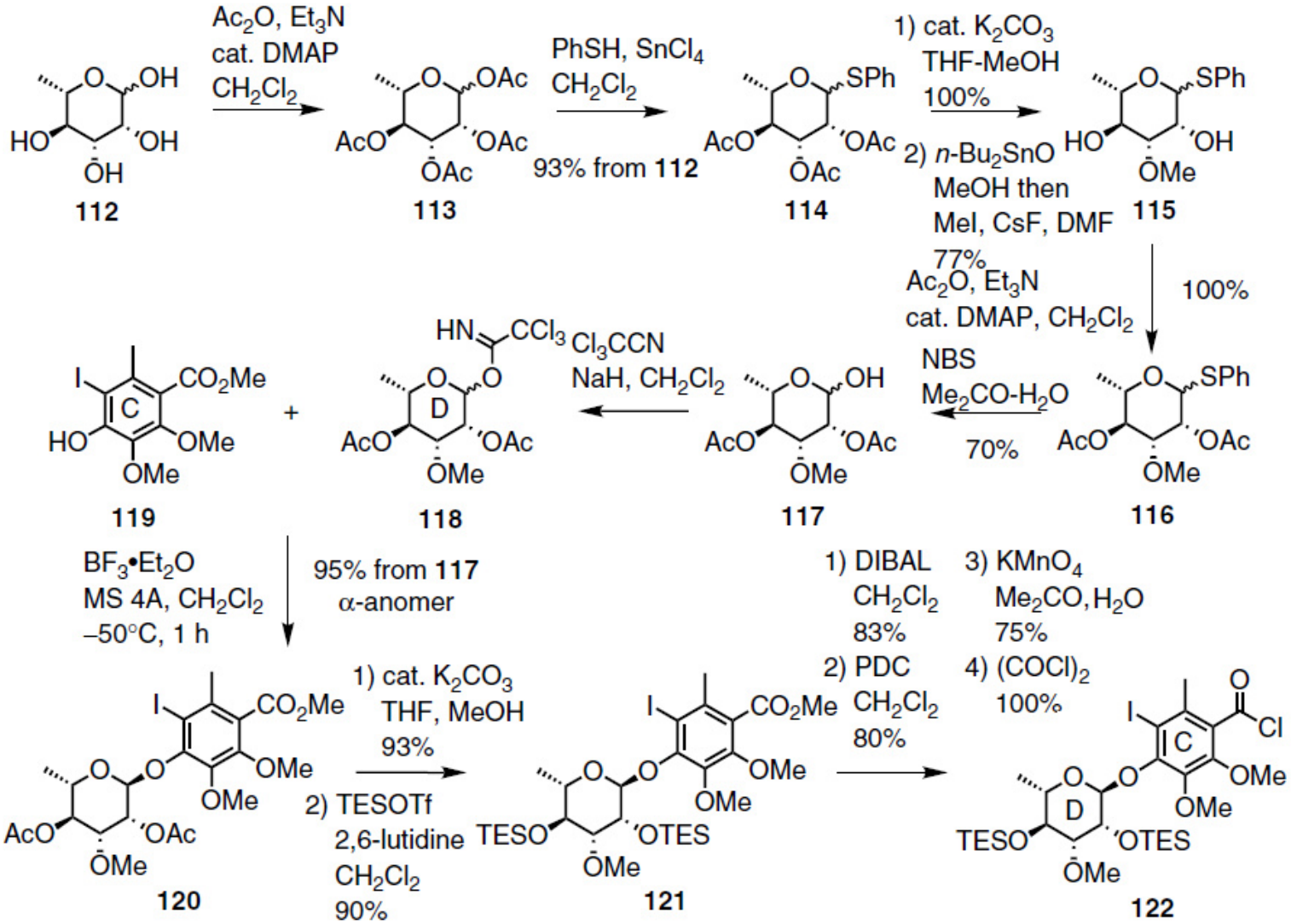
- Mécanisme de clivage de l'ADN bactérien de la calicheamycin $\gamma^1$




- Isolées d'une culture de *Micromonospora echinospora* enrichie en iode
- Sucres sont lipophiliques : meilleure interaction avec l'ADN

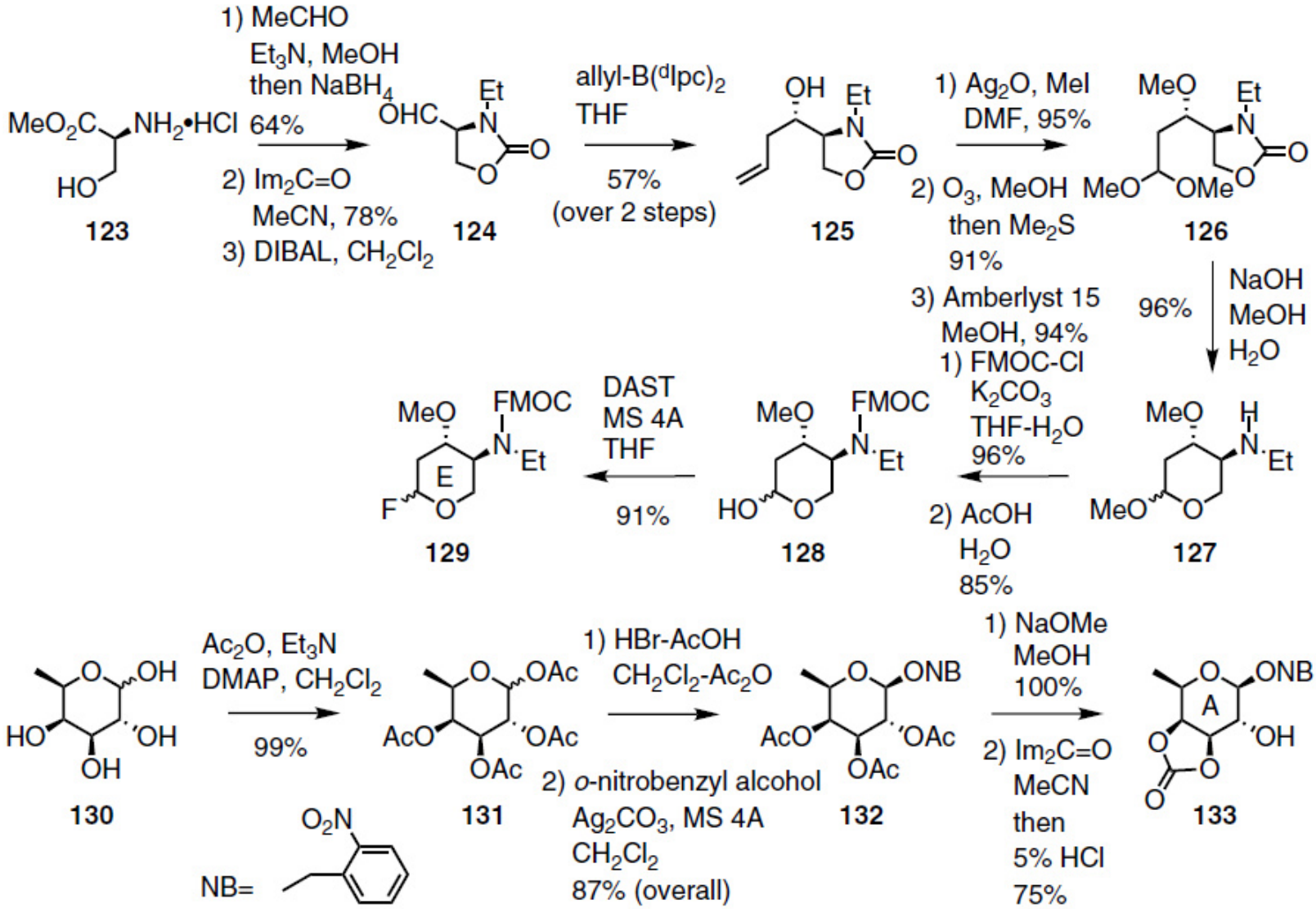
# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

**Molécules glycosylées naturelles :** ***Synthèse de la calicheamycin γ[1] par Nicolaou (1ère partie)***



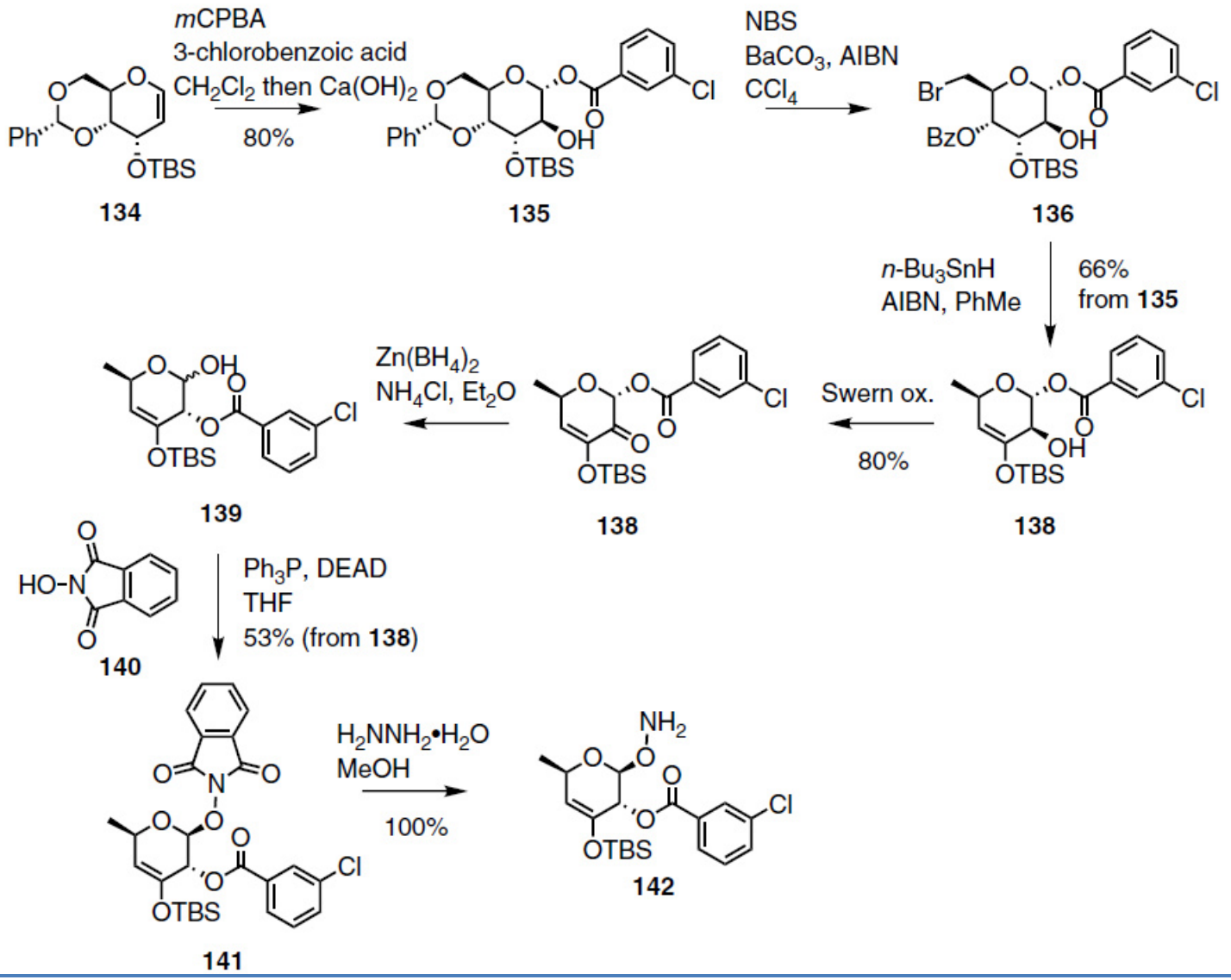
# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

**Molécules glycosylées naturelles :** ***Synthèse de la calicheamycin γ[1] par Nicolaou (2e partie)***



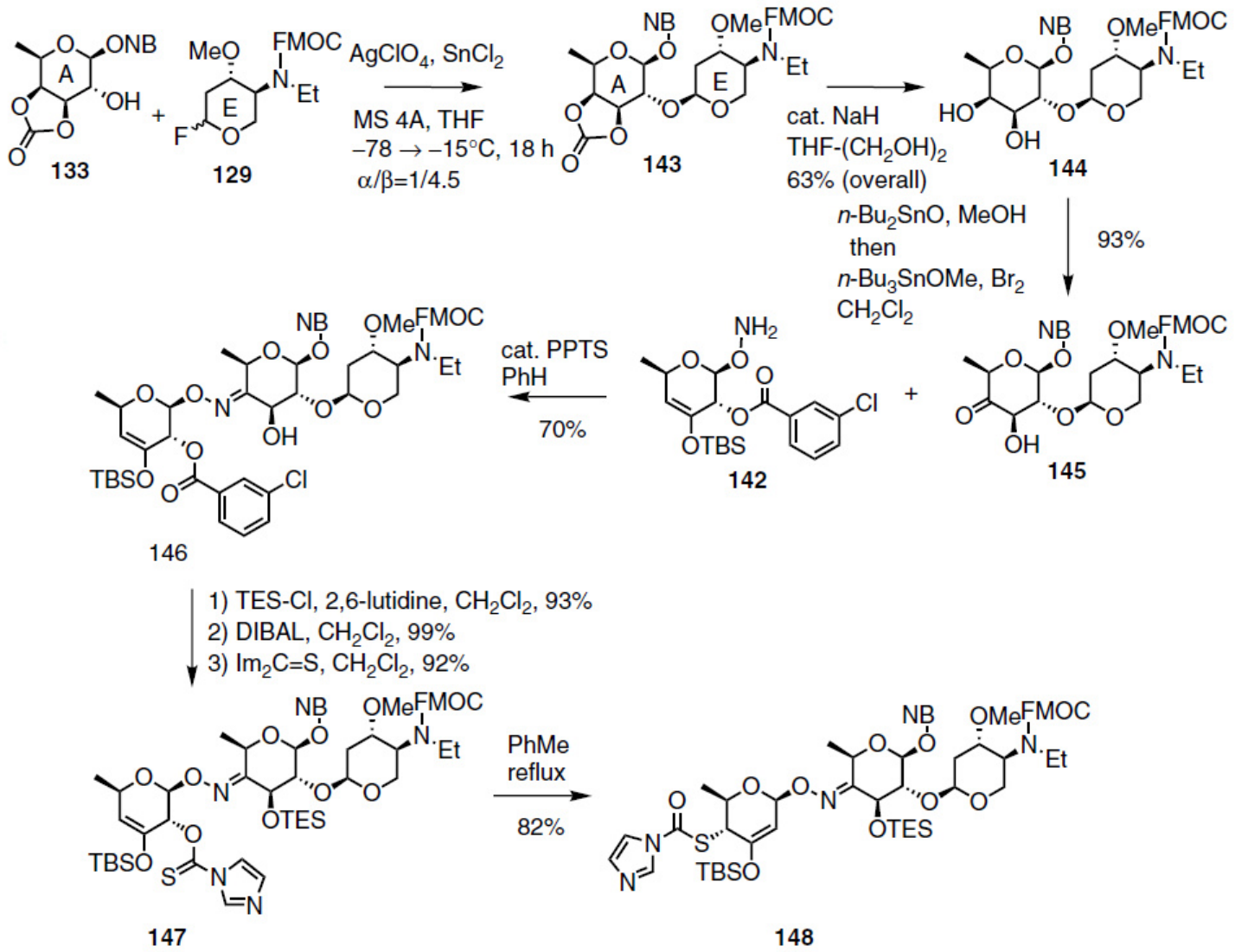
# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

**Molécules glycosylées naturelles :** ***Synthèse de la calicheamycin γ[1] par Nicolaou (3e partie)***



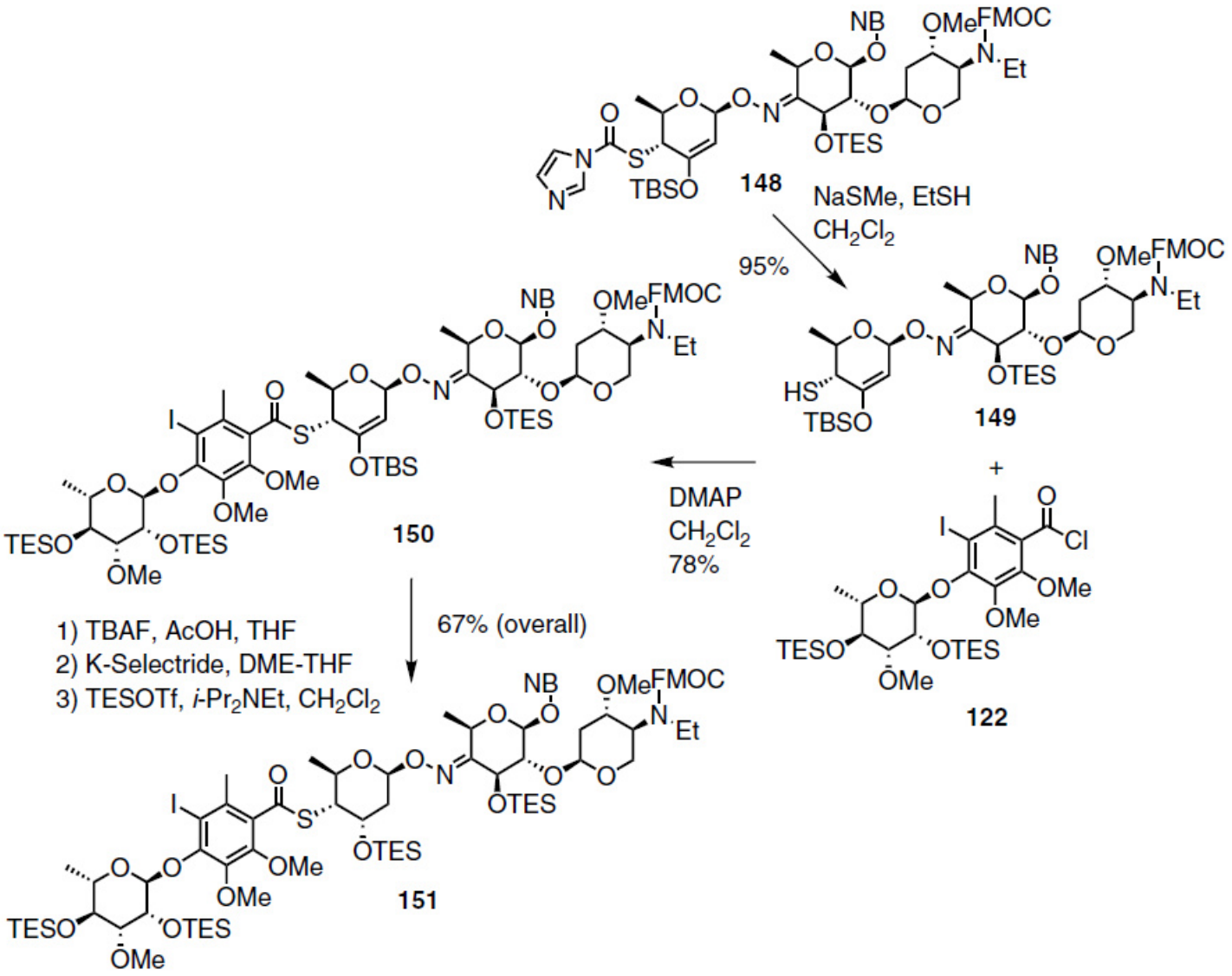
# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

**Molécules glycosylées naturelles :** ***Synthèse de la calicheamycin γ[1] par Nicolaou (4e partie)***



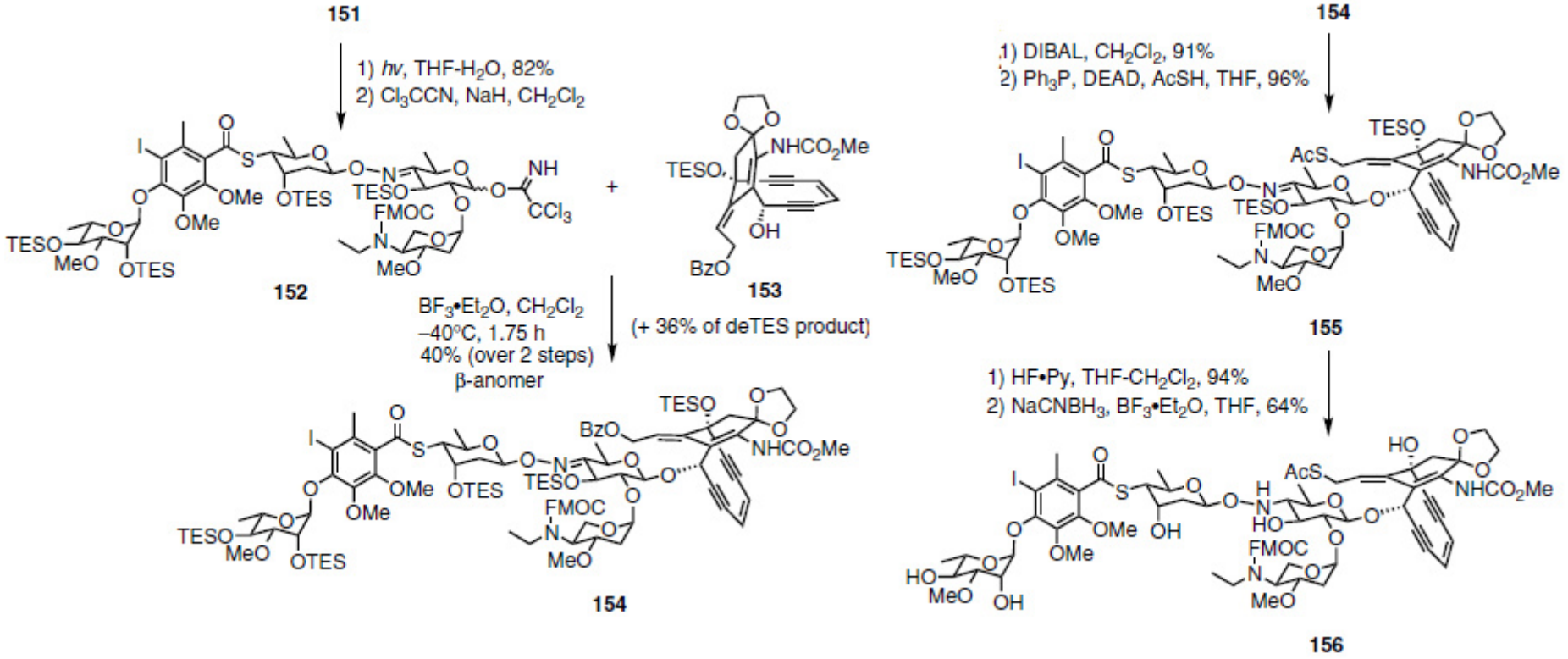
# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

**Molécules glycosylées naturelles :** ***Synthèse de la calicheamycin γ[1] par Nicolaou (5[e] partie)***



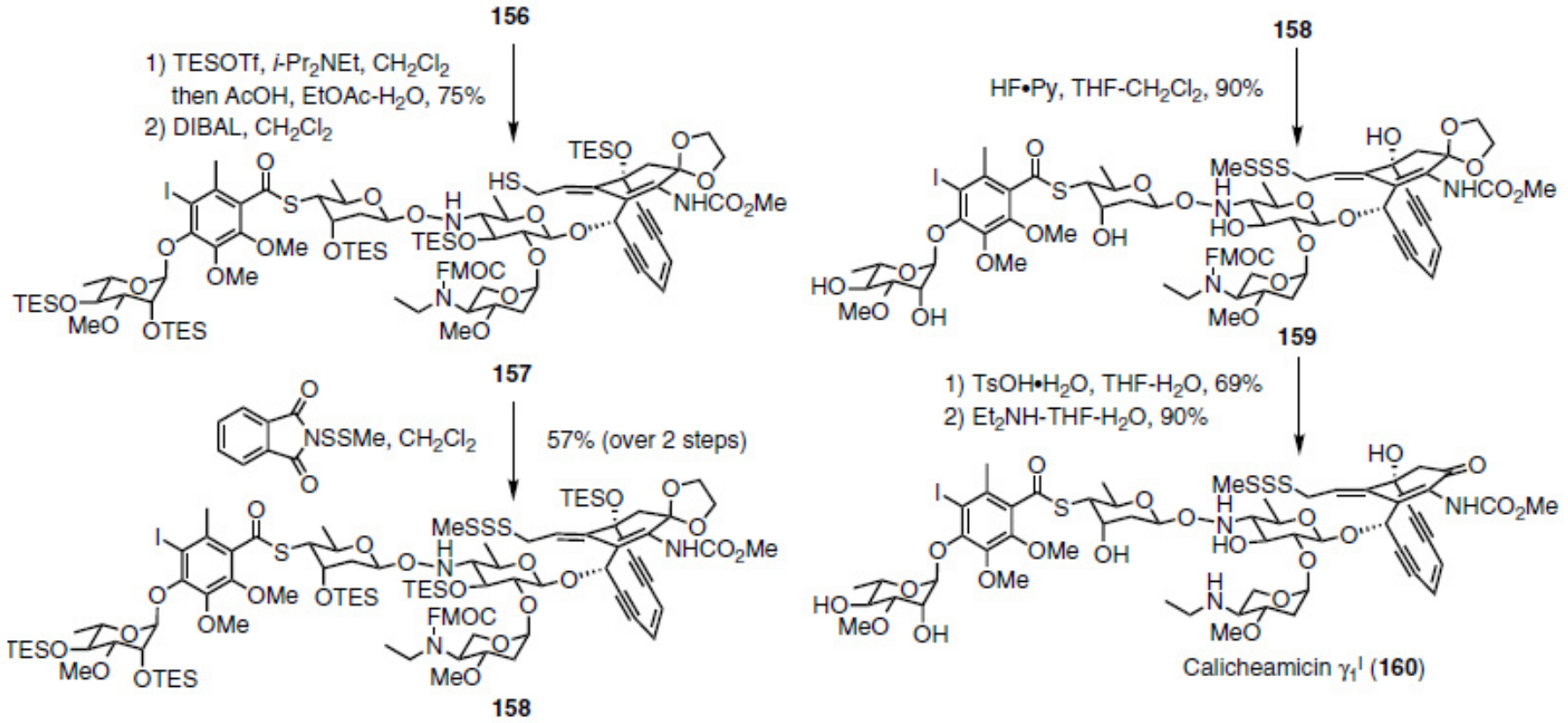
# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

**Molécules glycosylées naturelles :** ***Synthèse de la calicheamycin γ[1] par Nicolaou (6[e] partie)***



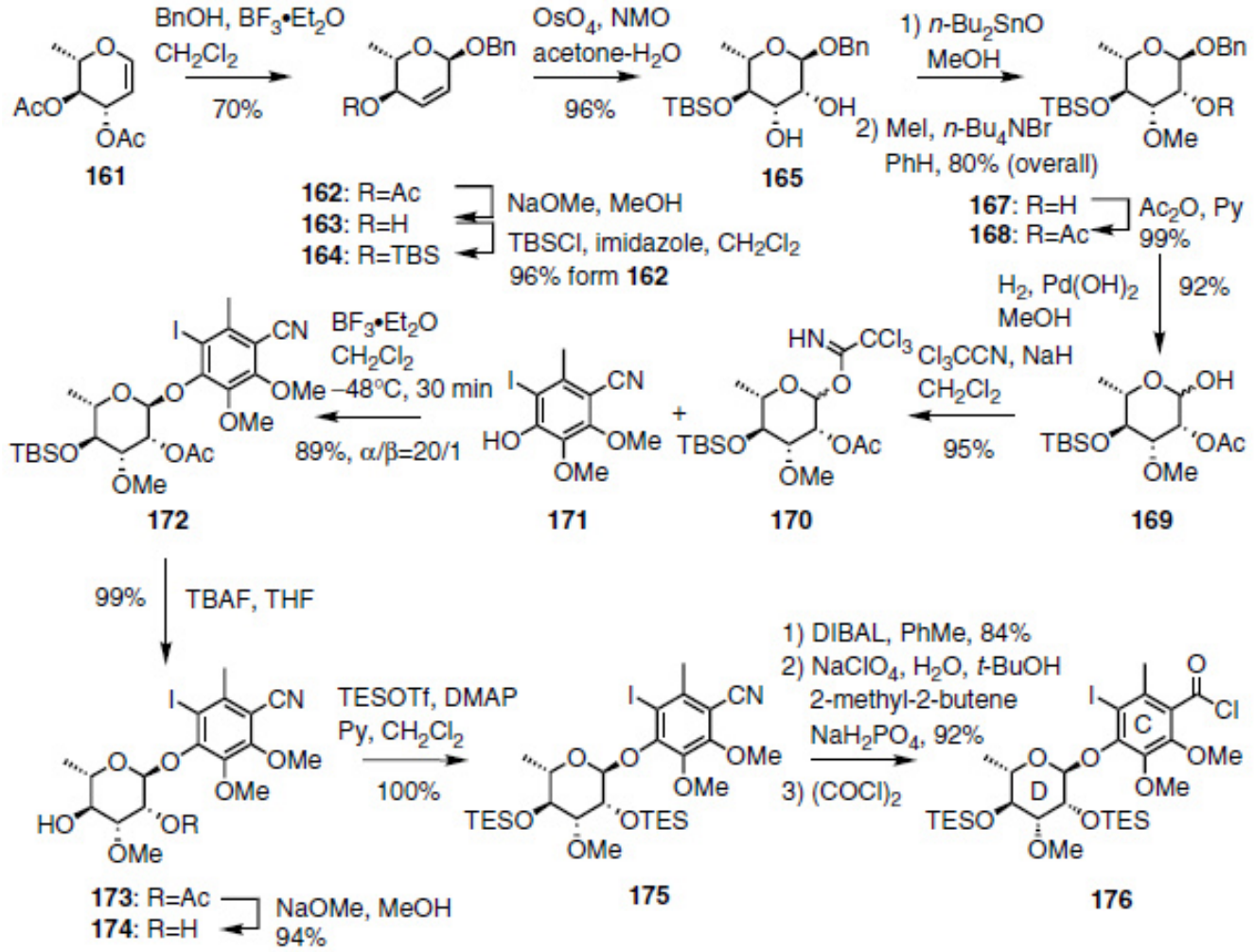
# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

**Molécules glycosylées naturelles :** ***Synthèse de la calicheamycin γ[1] par Nicolaou (finale)***



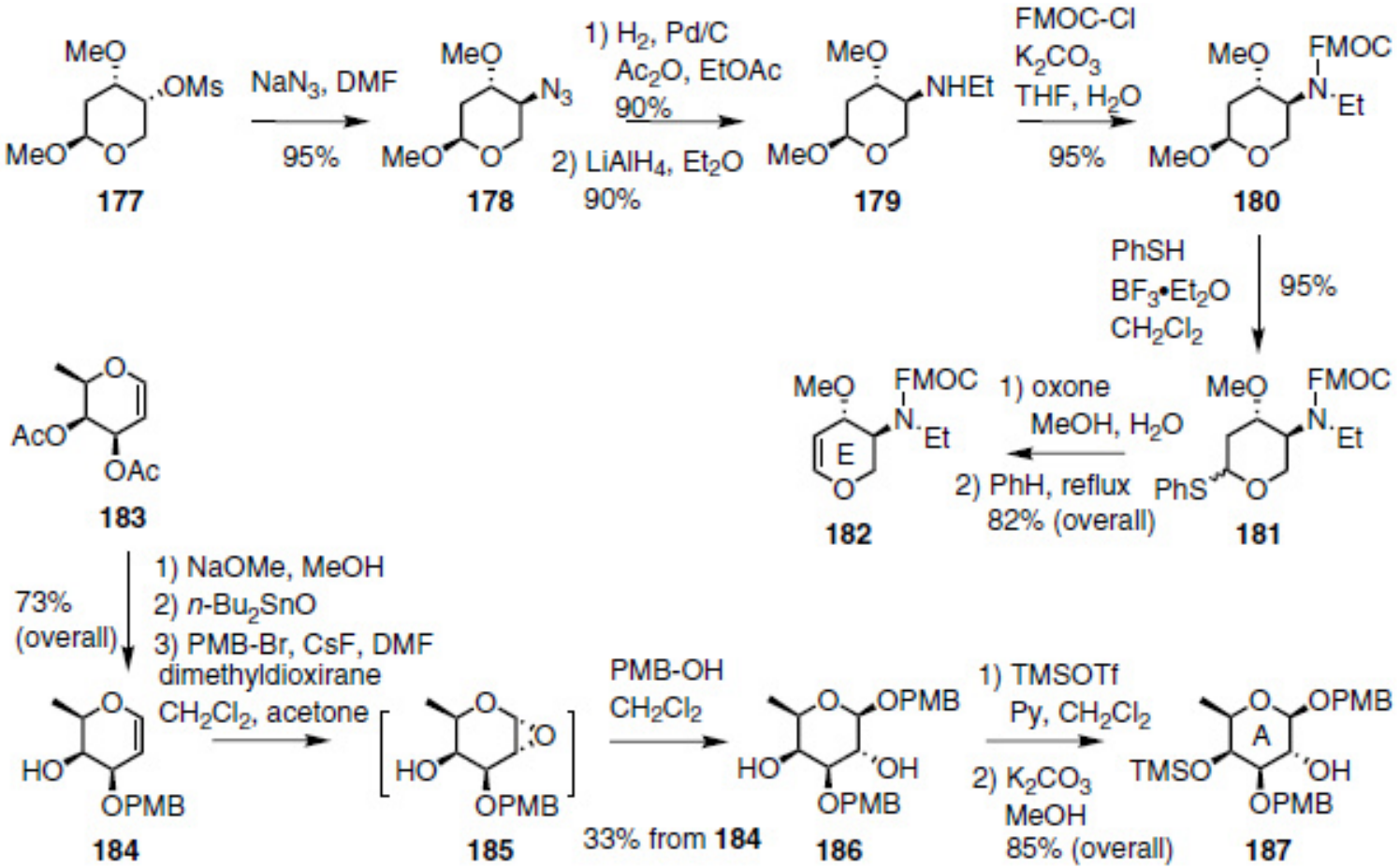
# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

**Molécules glycosylées naturelles :** ***Synthèse de la calicheamycin γ[1] par Danishefsky (1[e] étape)***



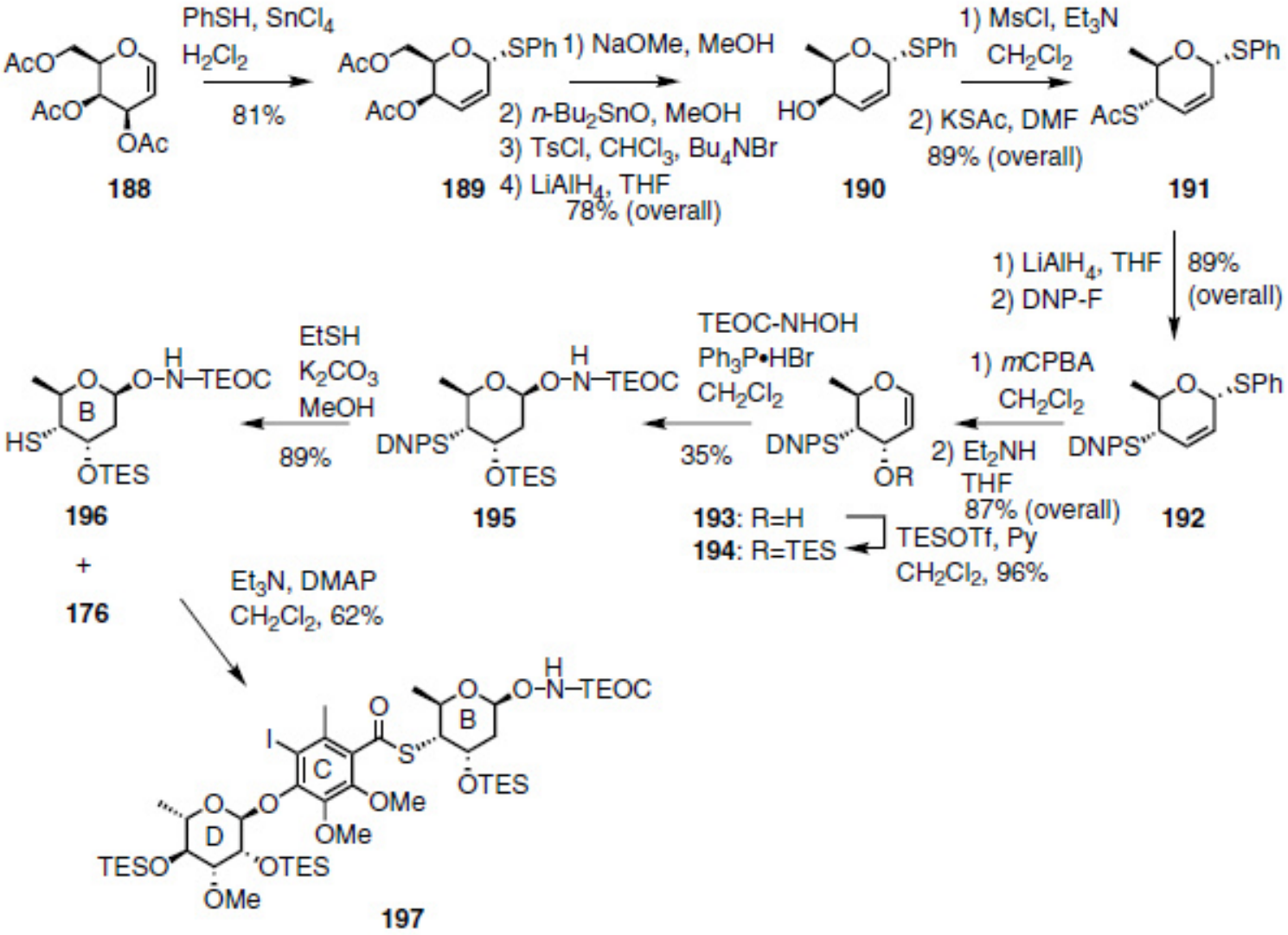
# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

**Molécules glycosylées naturelles :** ***Synthèse de la calicheamycin γ[1] par Danishefsky (2e étape)***



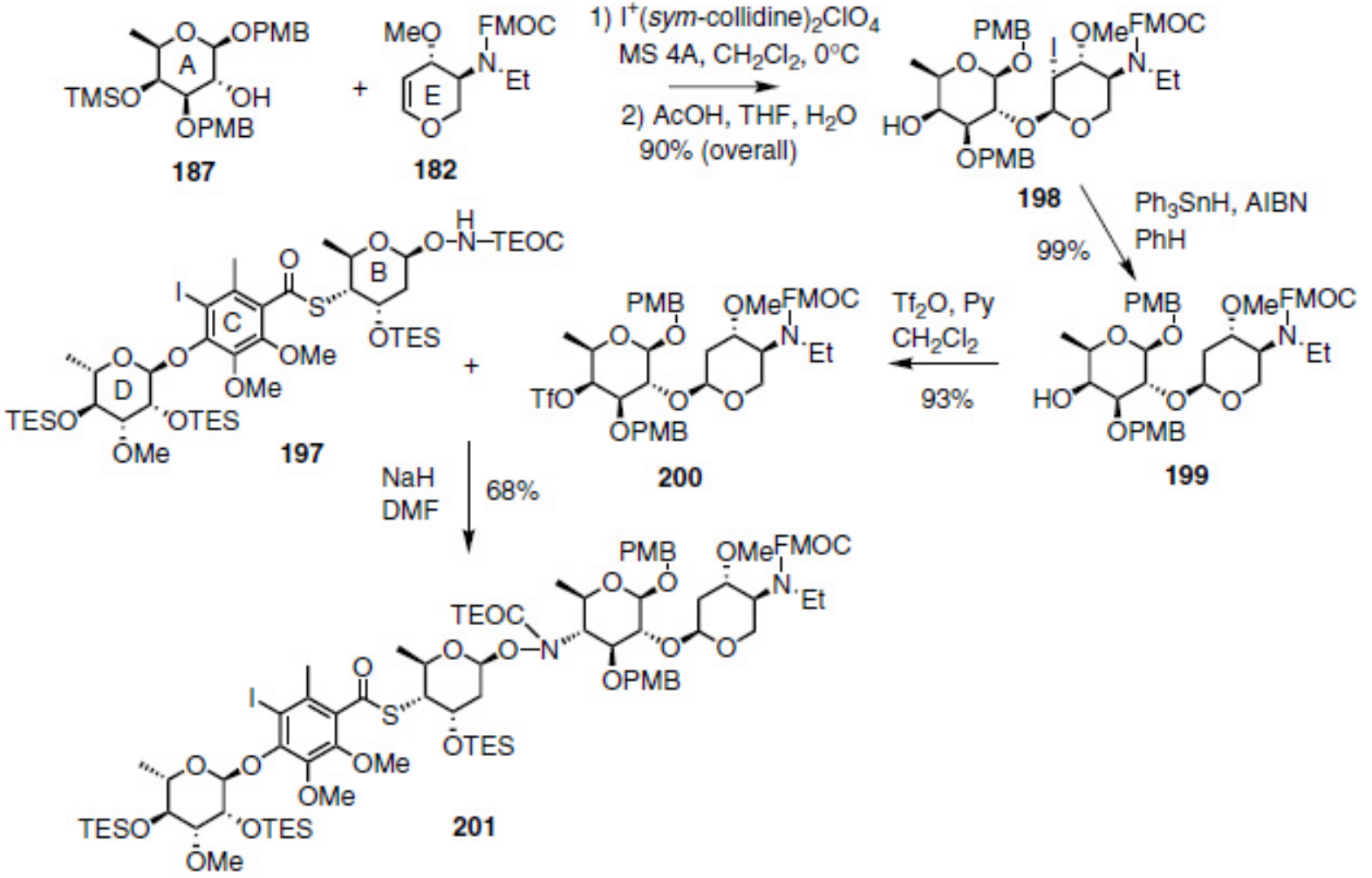
# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

**Molécules glycosylées naturelles :** ***Synthèse de la calicheamycin γ[1] par Danishefsky (3[e] étape)***



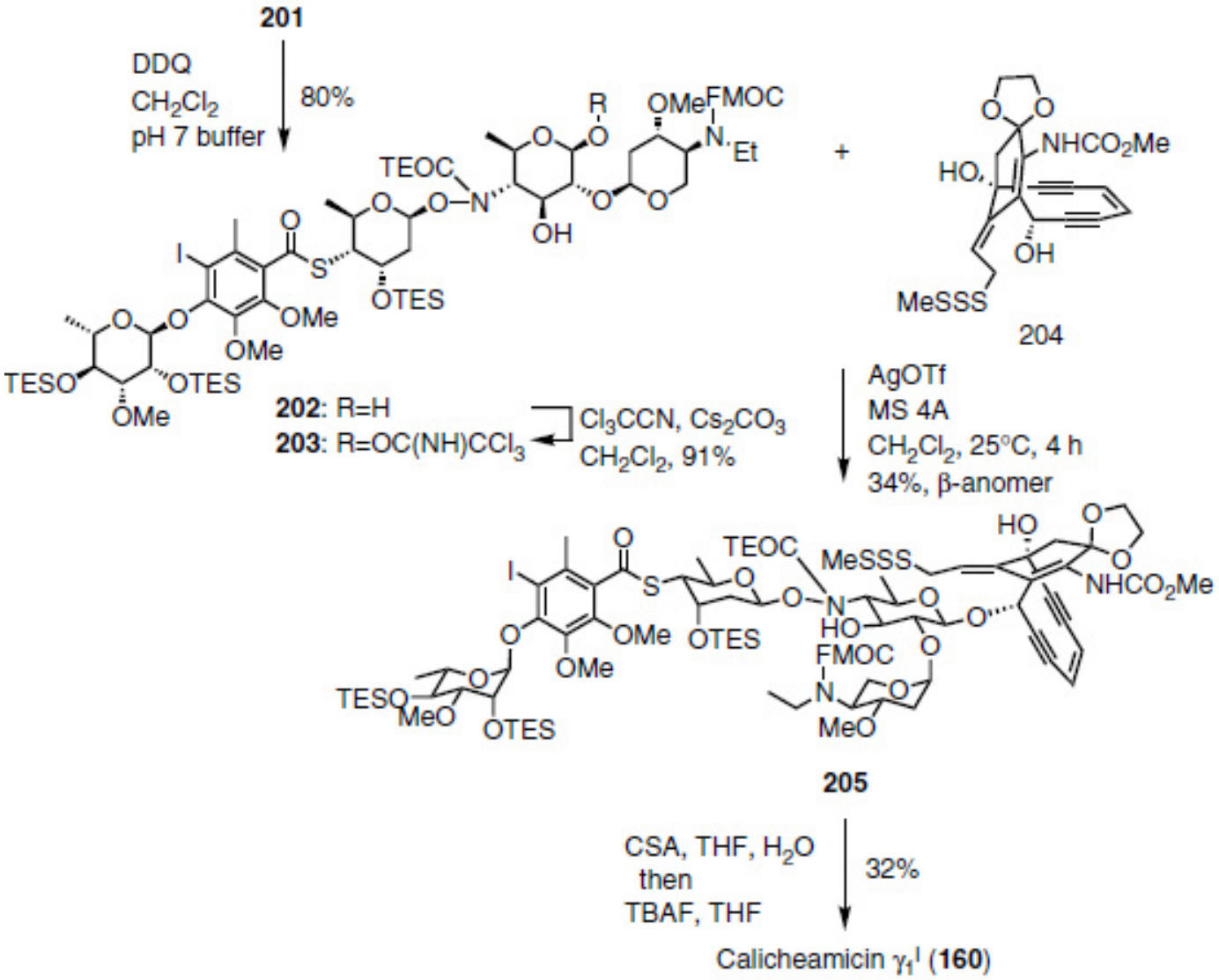
# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

**Molécules glycosylées naturelles :** ***Synthèse de la calicheamycin γ[1] par Danishefsky (4[e] étape)***



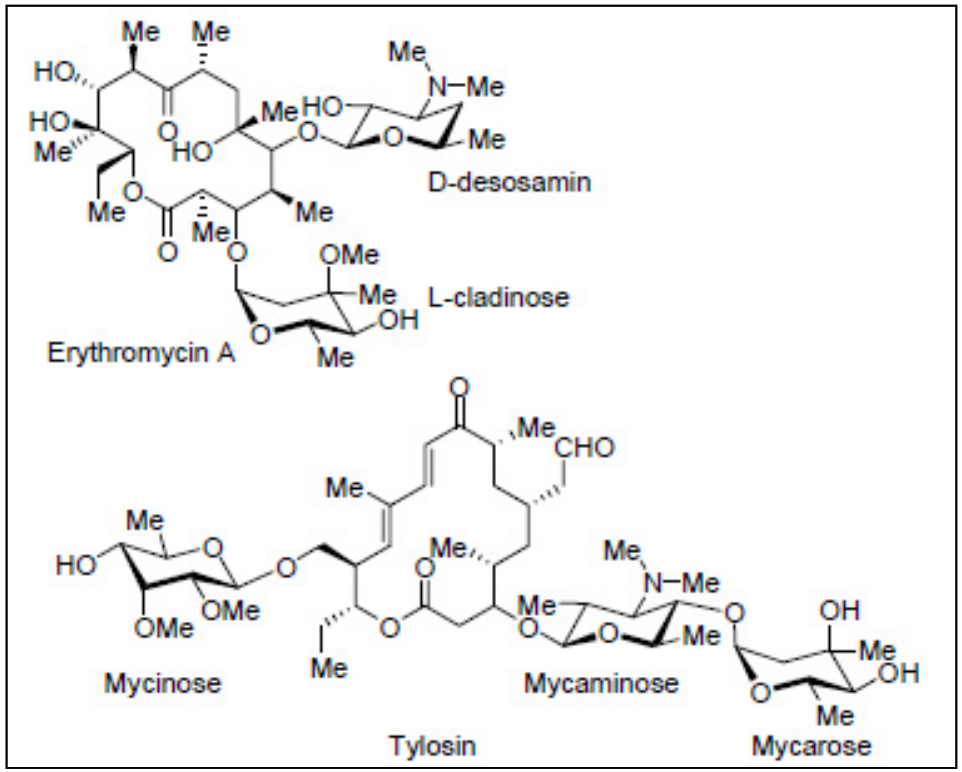
# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

**Molécules glycosylées naturelles :** ***Synthèse de la calicheamycin γ[1] par Danishefsky (finale)***

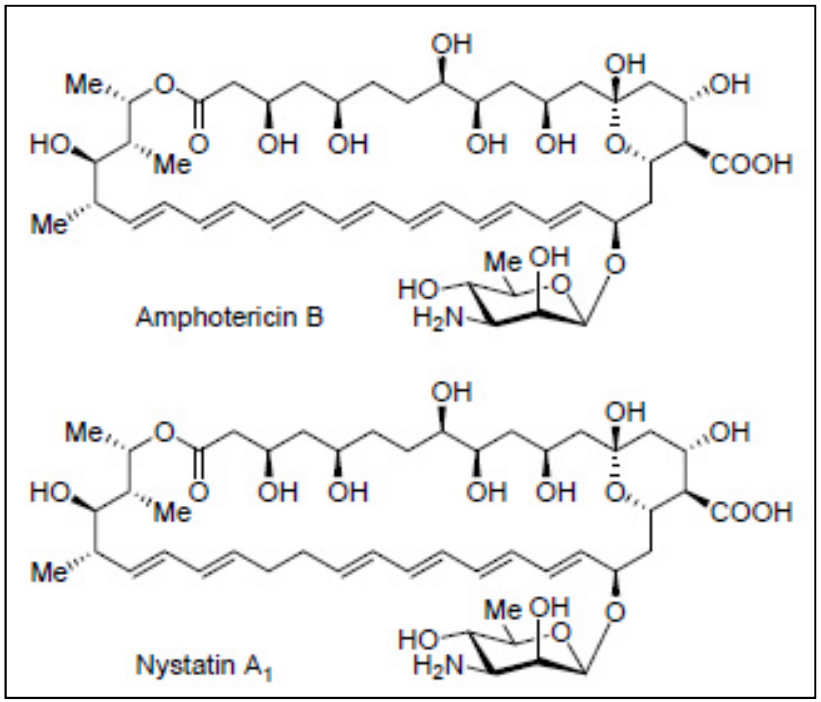


# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

**Molécules glycosylées naturelles :** ***Autres exemples d'antibiotiques***



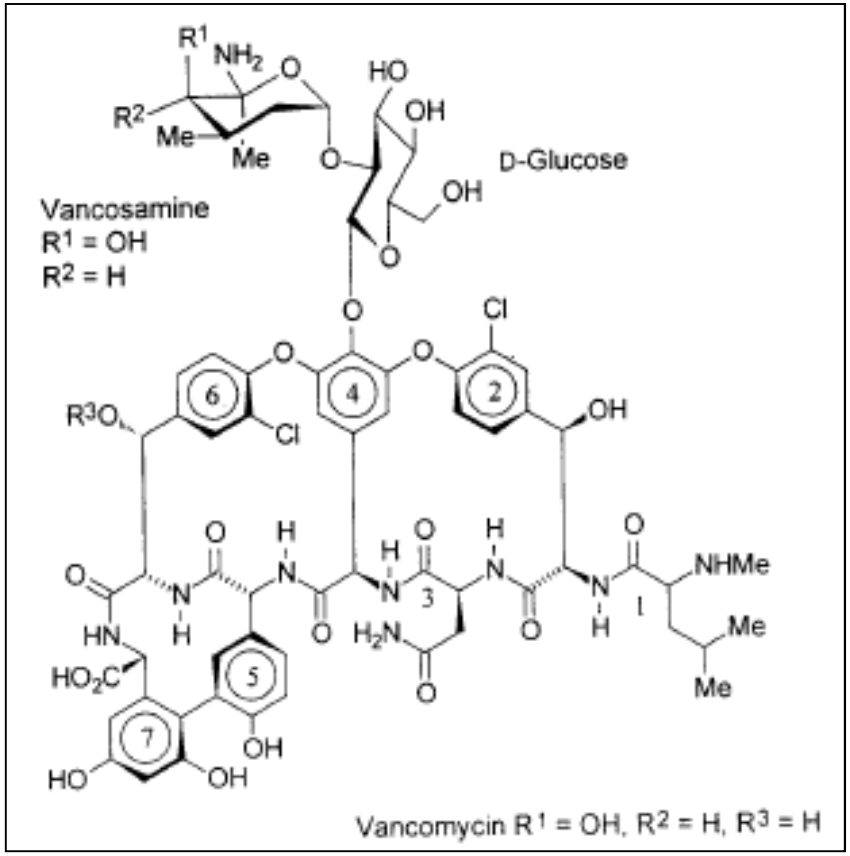

**macrolides**



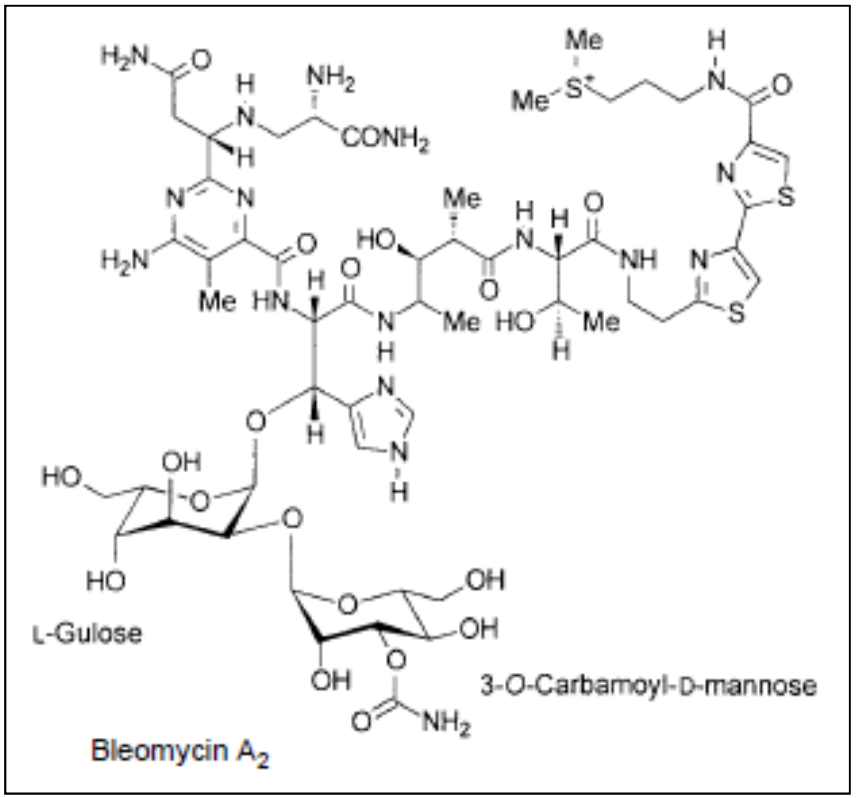

**polyènes**

# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

**Molécules glycosylées naturelles :** ***Autres exemples d'antibiotiques***



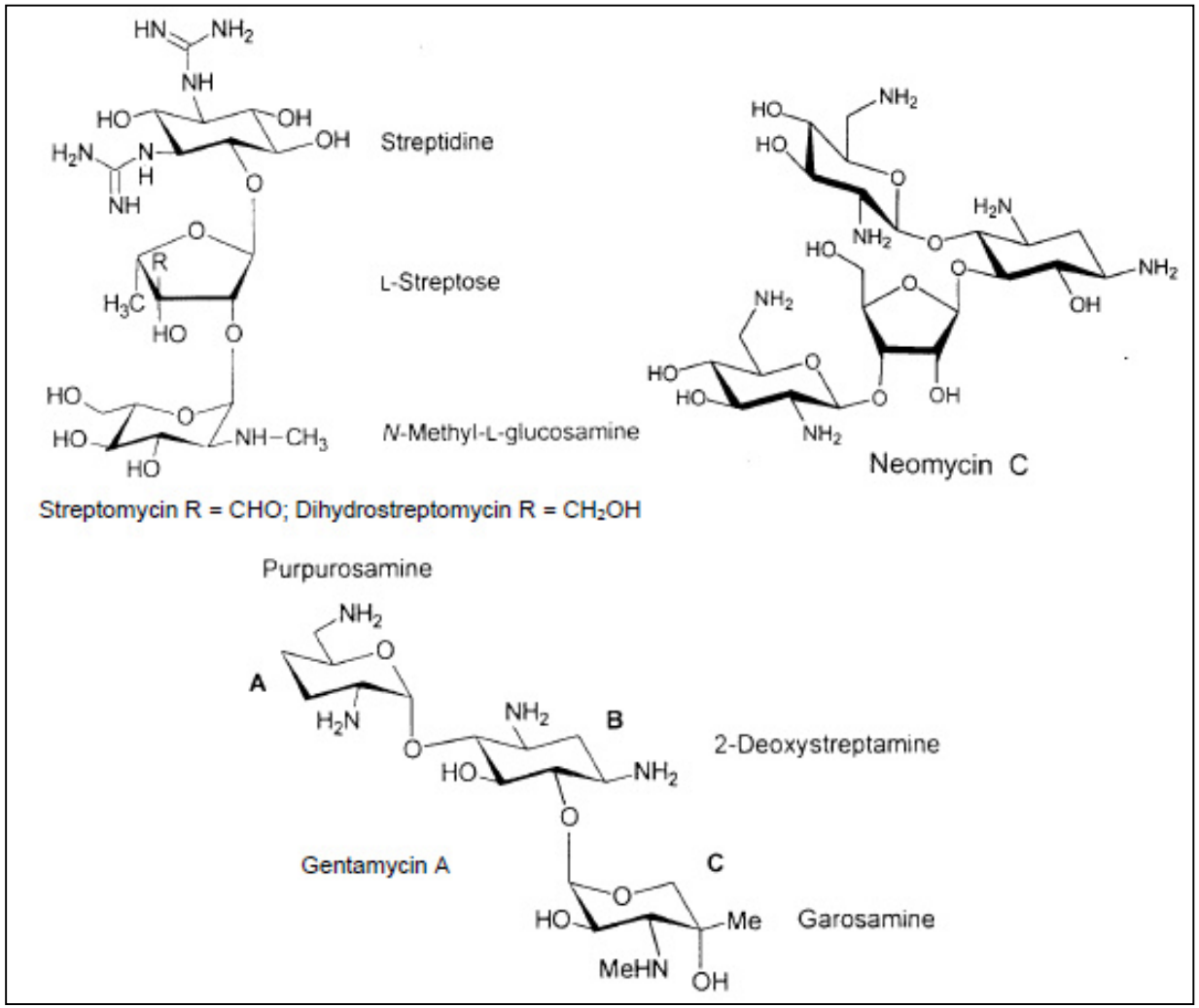

**glycopeptides**




**glycopeptides**

# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

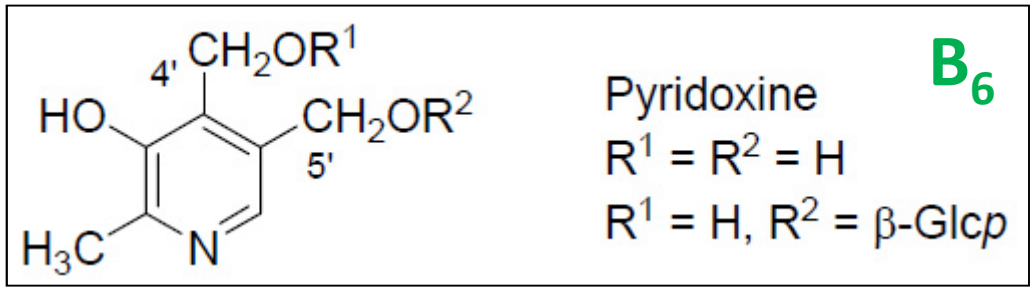
**Molécules glycosylées naturelles :** ***Autres exemples d'antibiotiques***




**aminoglycosides**

# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

**Molécules glycosylées naturelles : *Vitamines hydrosolubles***

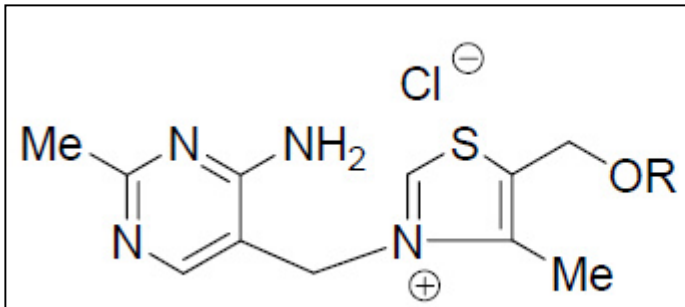



**$B_6$**

Pyridoxine

$R^1 = R^2 = H$

$R^1 = H$, $R^2 = \beta$-Glc*p*




**$B_1$**

Thiamin

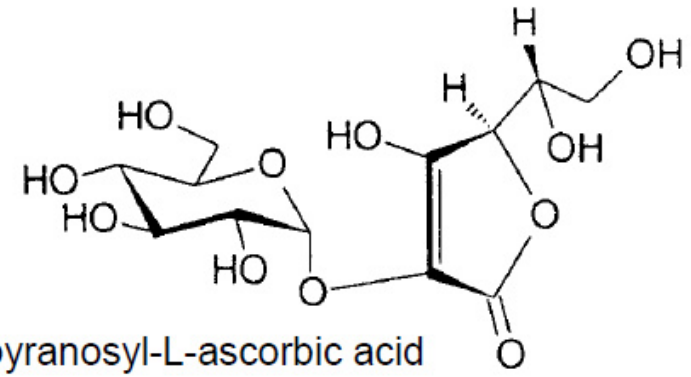
R = H

R = β-Galc*p*

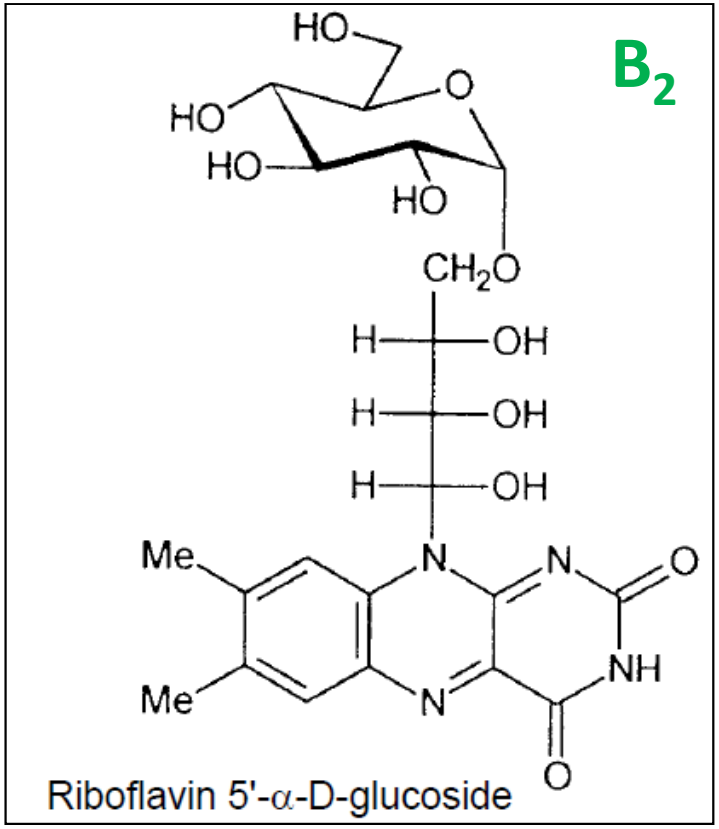
R = α-Glc*p*

$R^1$ = β-Glc*p*NAc

**C**




2-O-α-*gluco*-pyranosyl-L-ascorbic acid



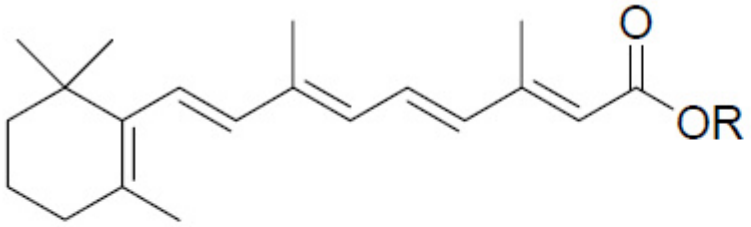

**$B_2$**

Riboflavin 5'-α-D-glucoside

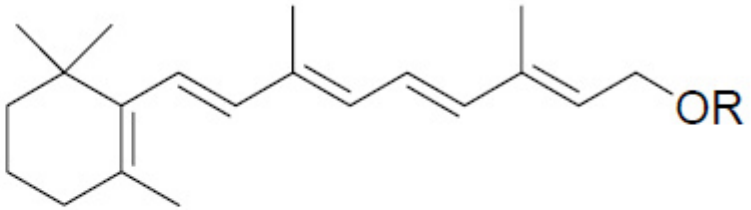
# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

**Molécules glycosylées naturelles : *Vitamines hydrosolubles***

**A**

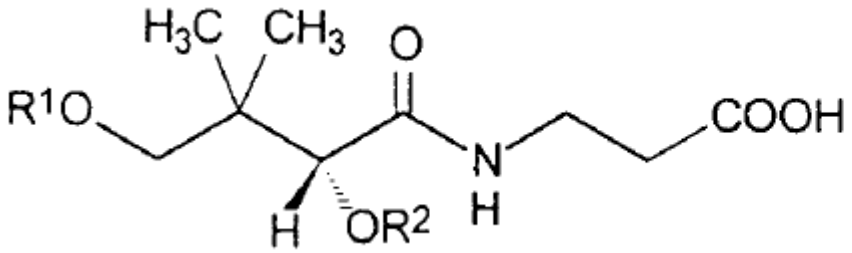



(All-*trans*-retinoic acid) R = H
(Retinoyl β-glucuronide) R = β-Glucuronyl



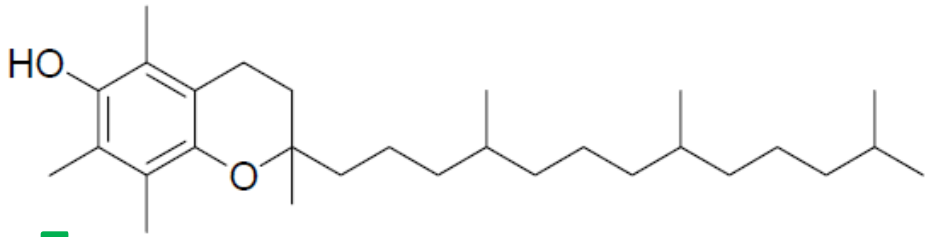

(All-*trans*-retinol) R = H
(Retinol β-glucuronide) R = β-Glucuronyl

**$B_{3,5}$**




D-Pantothenic acid $R^1$ = H, $R^2$ = H
$R^1$ = β-Glc*p*, $R^2$ = H
$R^1$ = H, $R^2$ = β-Glcp

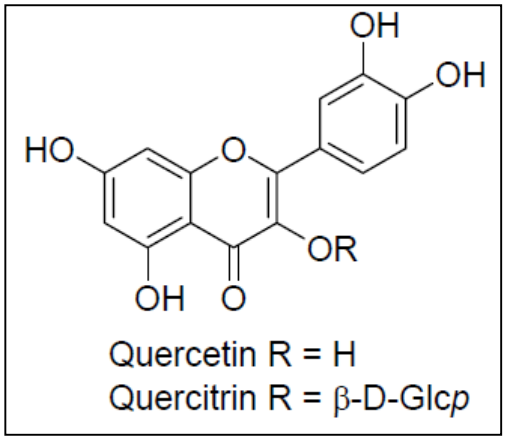
**E**

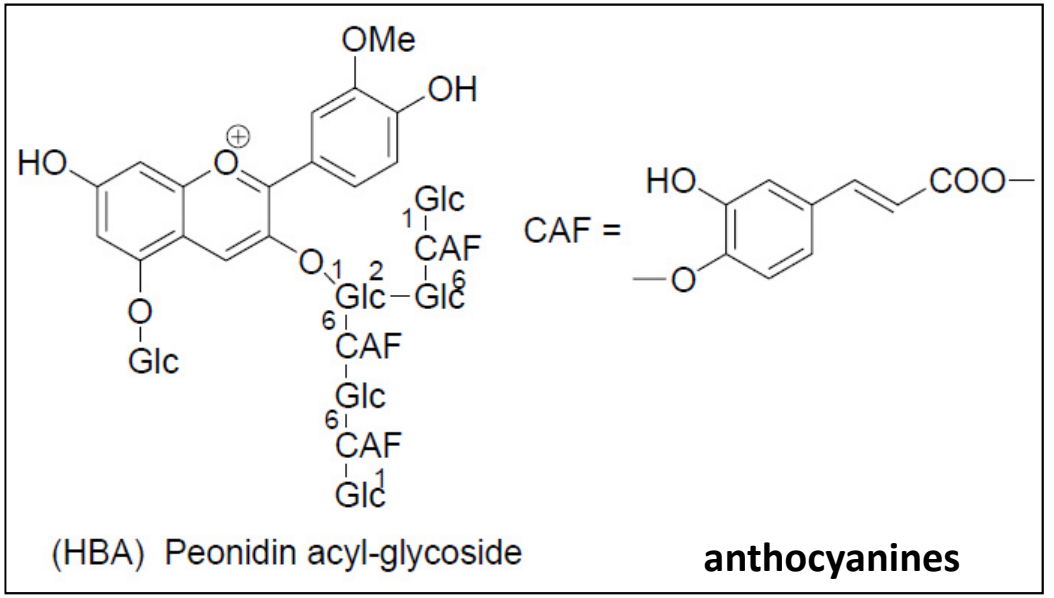


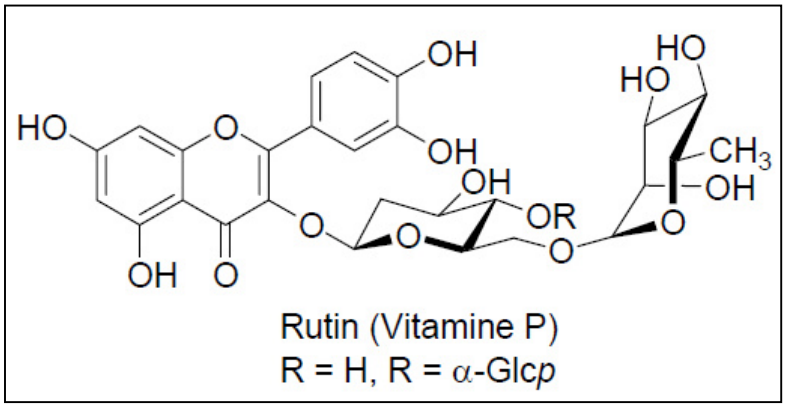

α-Tocopherol

# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

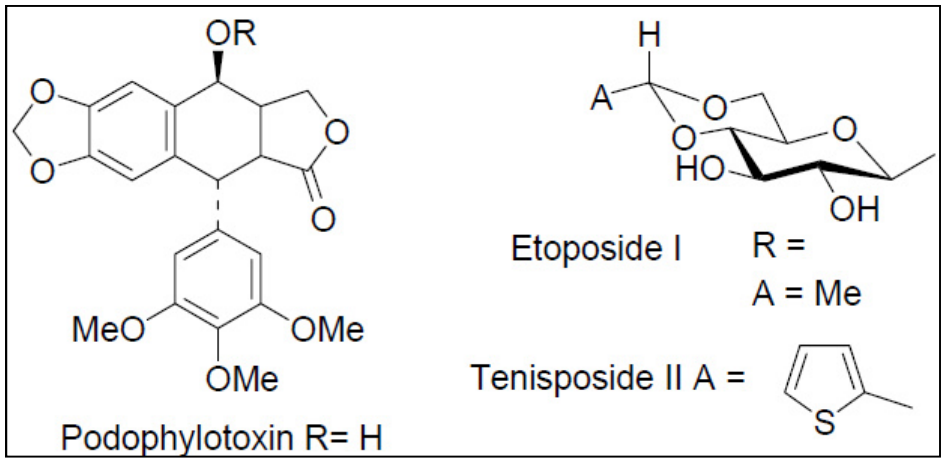
**Molécules glycosylées naturelles : *Polyphénoliques***



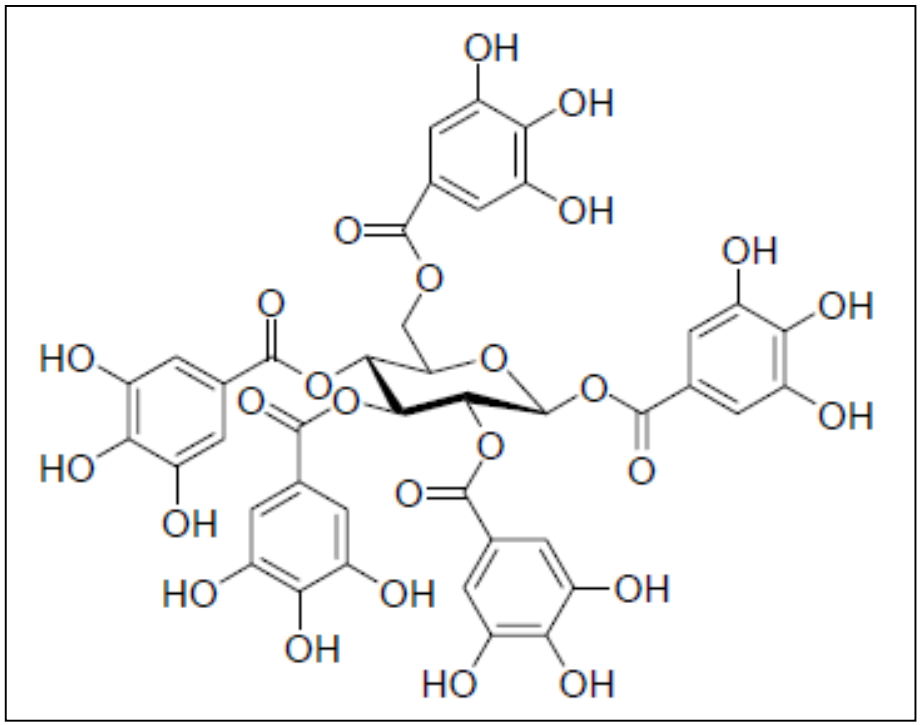

**flavonoïdes**



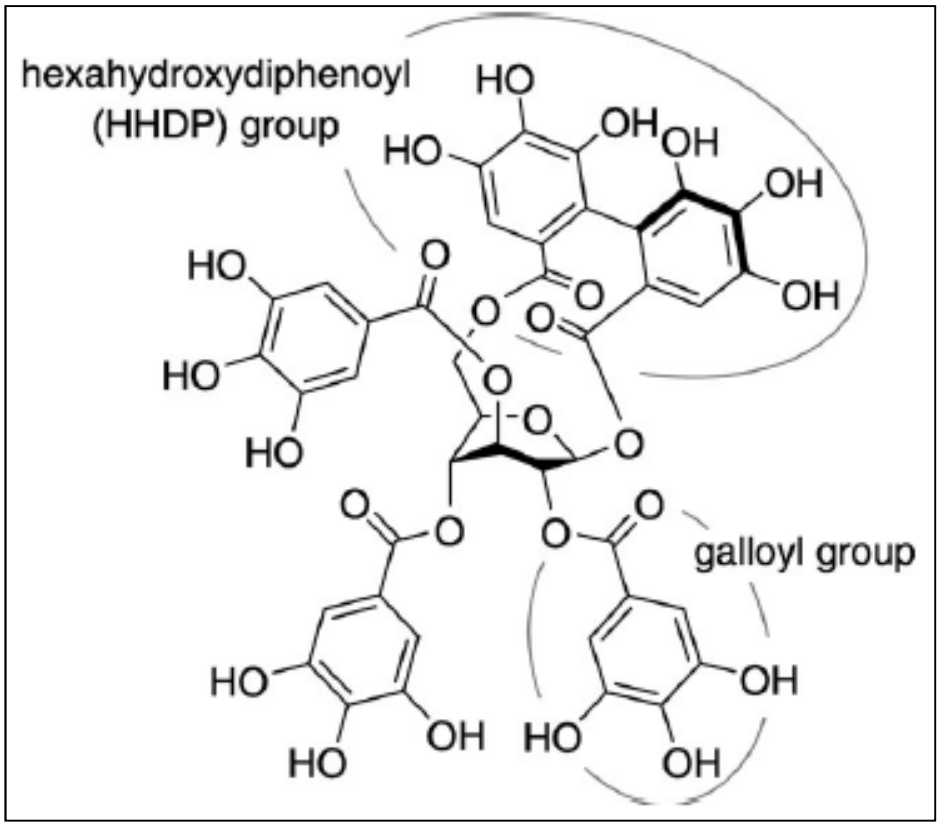

**lignanes**

# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

**Molécules glycosylées naturelles : *Tannins***



**Gallotanin**
**(chaise $^4C_1$)**

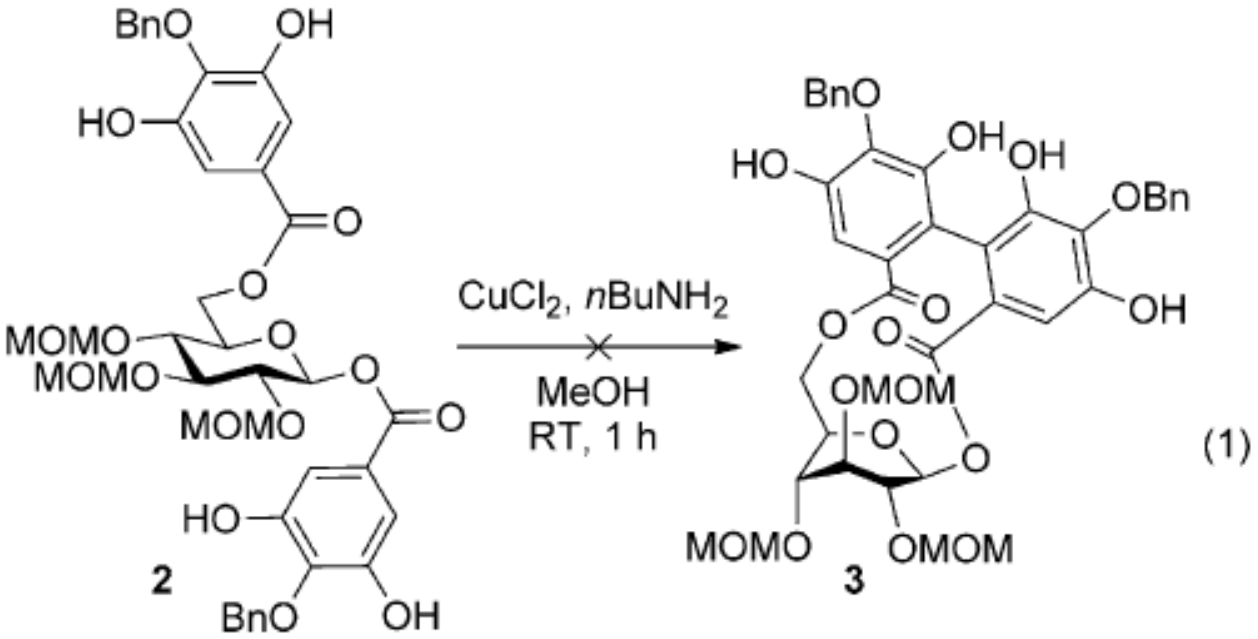


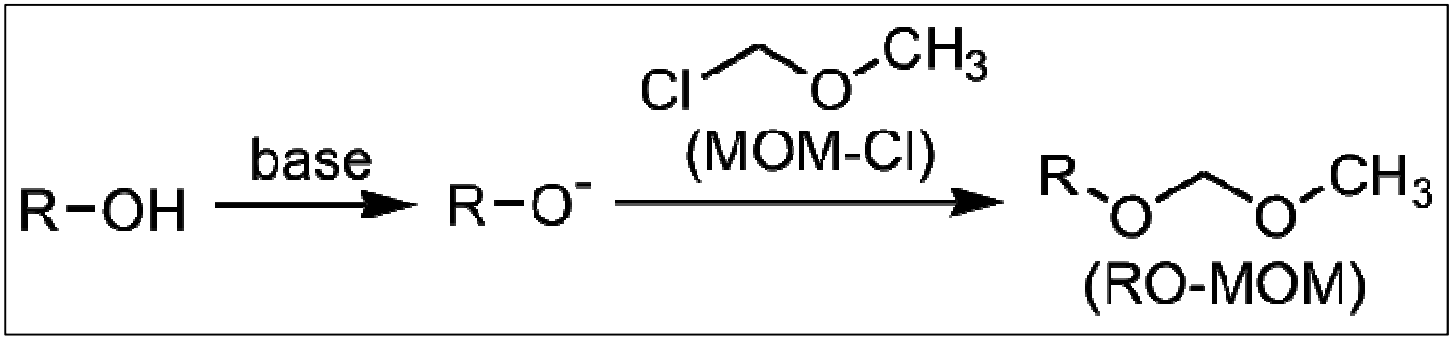

**(+)-Davidiin**
**(bateau-croisé $^3S_1$)**

# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

**Molécules glycosylées naturelles : *Synthèse totale de la (+)-davidiin***

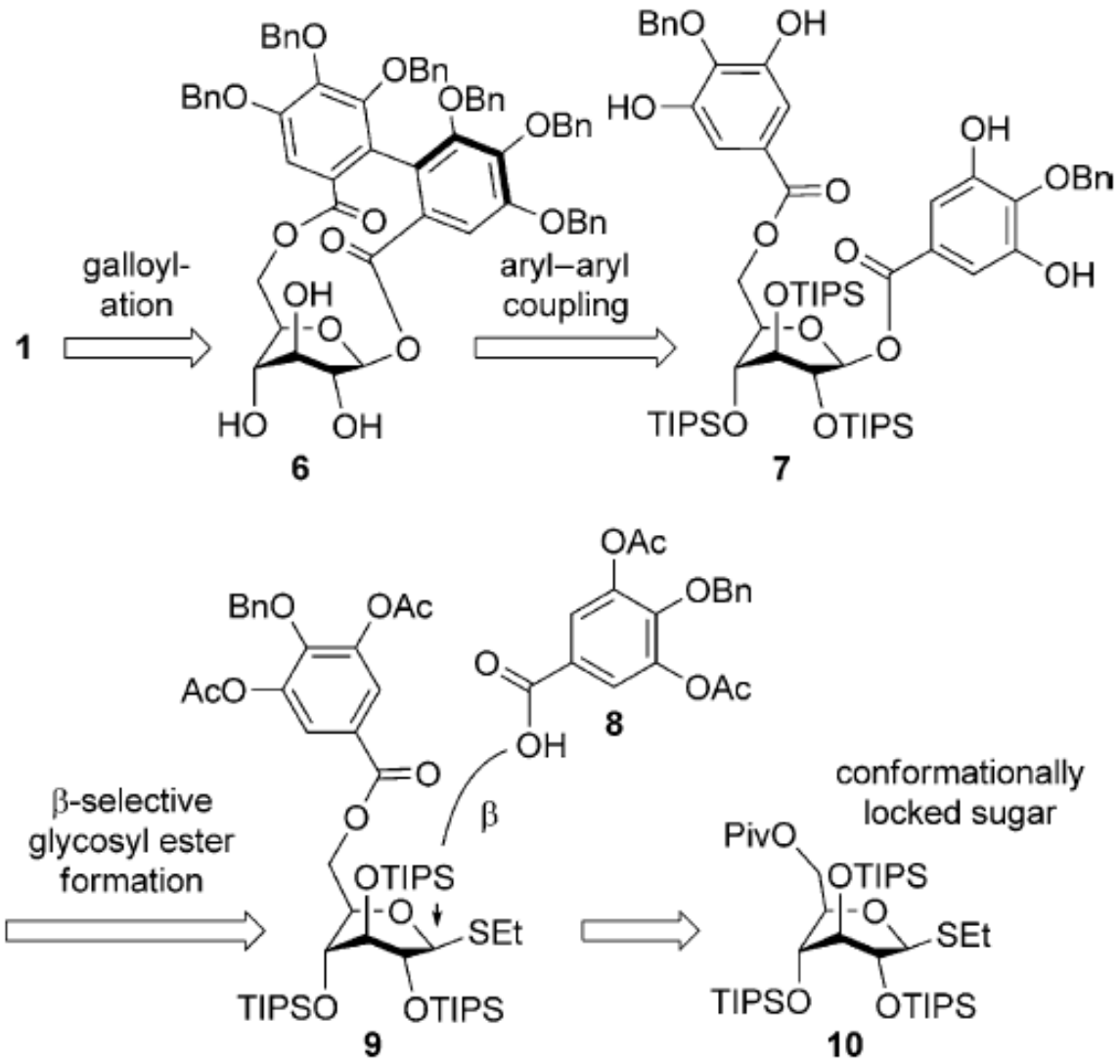
- Couplage aryl-aryl impossible (non-favorisé thermodynamiquement)



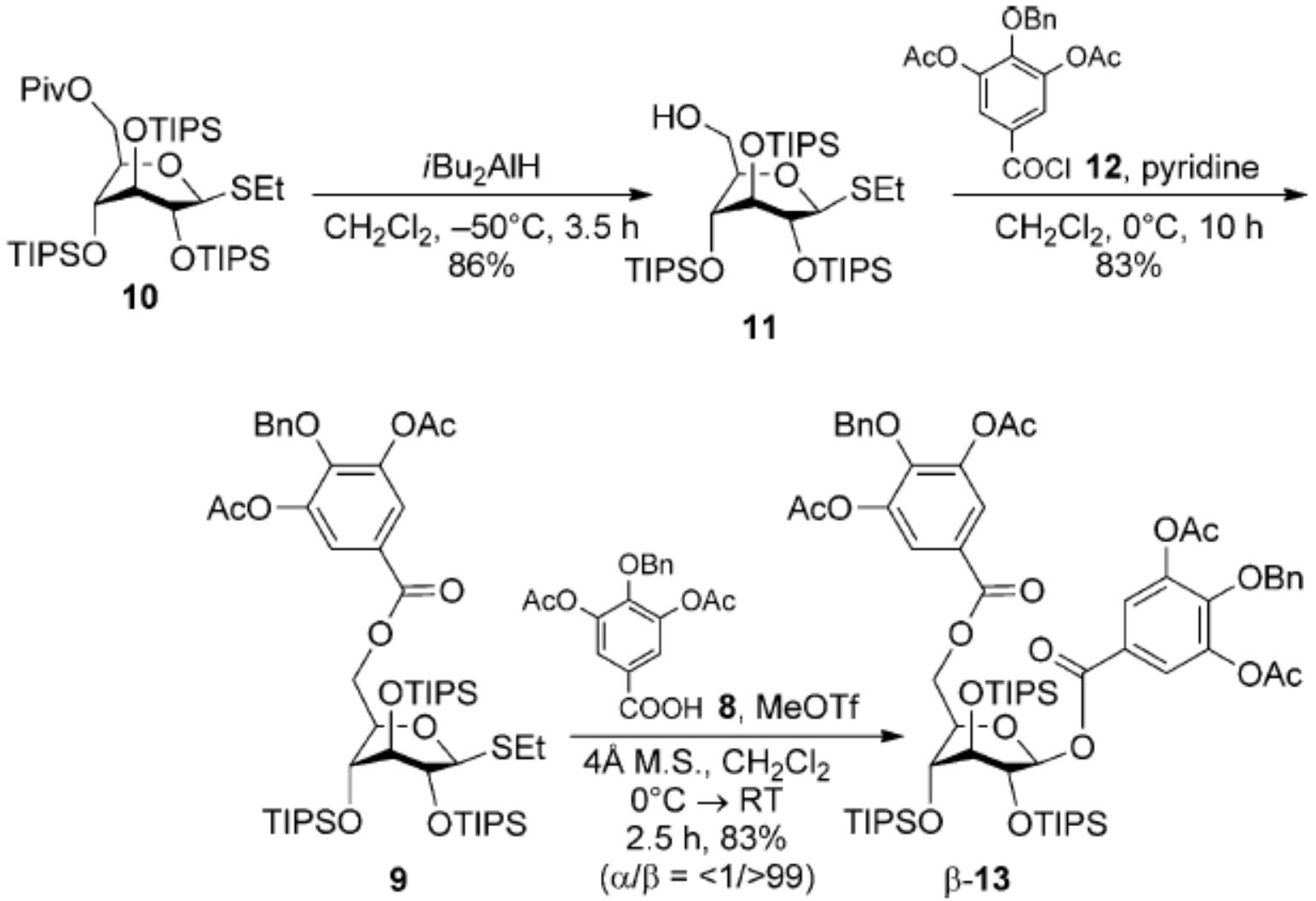
# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

**Molécules glycosylées naturelles :** ***Synthèse totale de la (+)-davidiin (rétrosynthèse)***



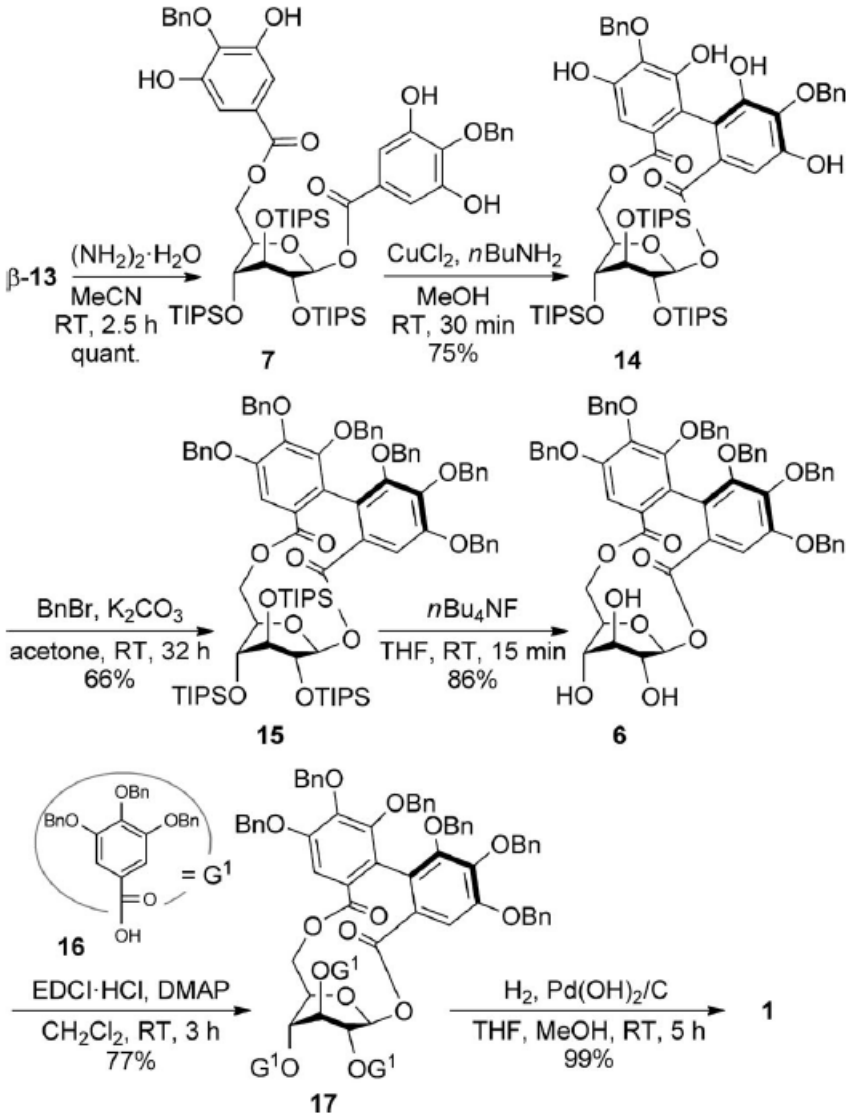
# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

**Molécules glycosylées naturelles :** ***Synthèse totale de la (+)-davidiin (1ère partie)***



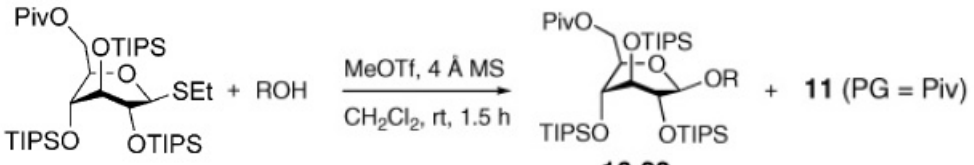
# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

**Molécules glycosylées naturelles :** ***Synthèse totale de la (+)-davidiin (2e partie)***

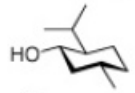
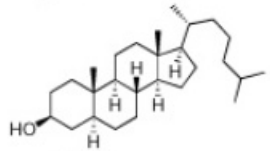
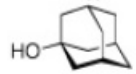
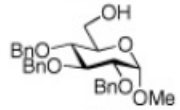
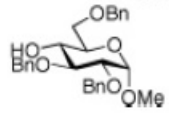


# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

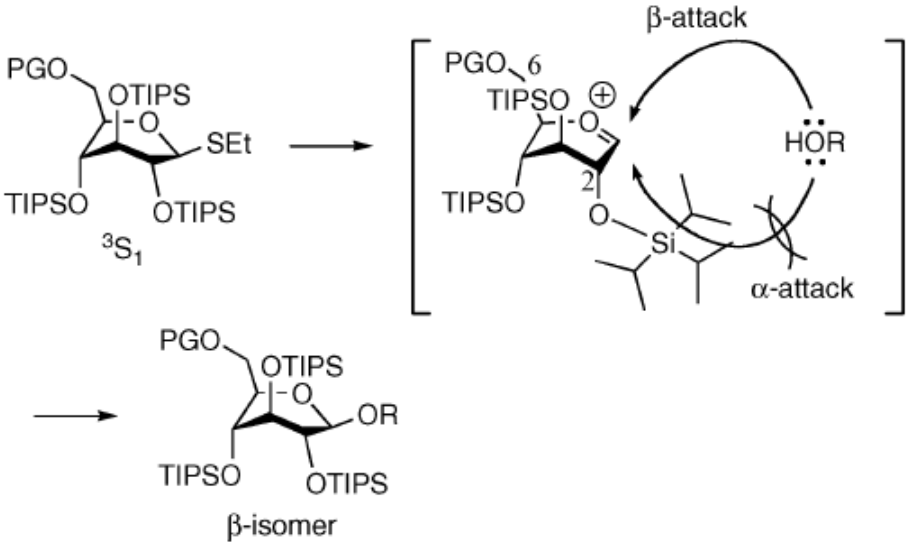
**Molécules glycosylées naturelles : *β-Glucosylation avec un donneur en conformation $^3S_1$***




**16-22**

| entry | ROH | prod. | yield of glucoside (%) | α/β ratio | yield of **11** (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | | **16** | 72 | 5/95[a] | 6 |
| 2 |  | **17** | 62 | 2/98[a] | 12 |
| 3 | | **18** | 58 | 2/98[a] | 29 |
| 4 |  | **19** | 82 | 4/96[a] | 14 |
| 5 |  | **20** | 65 | 5/95[a] | 7 |
| 6 |  | **21** | 69 | 5/95[b] | 17 |
| 7 |  | **22** | trace | -- | 49 |

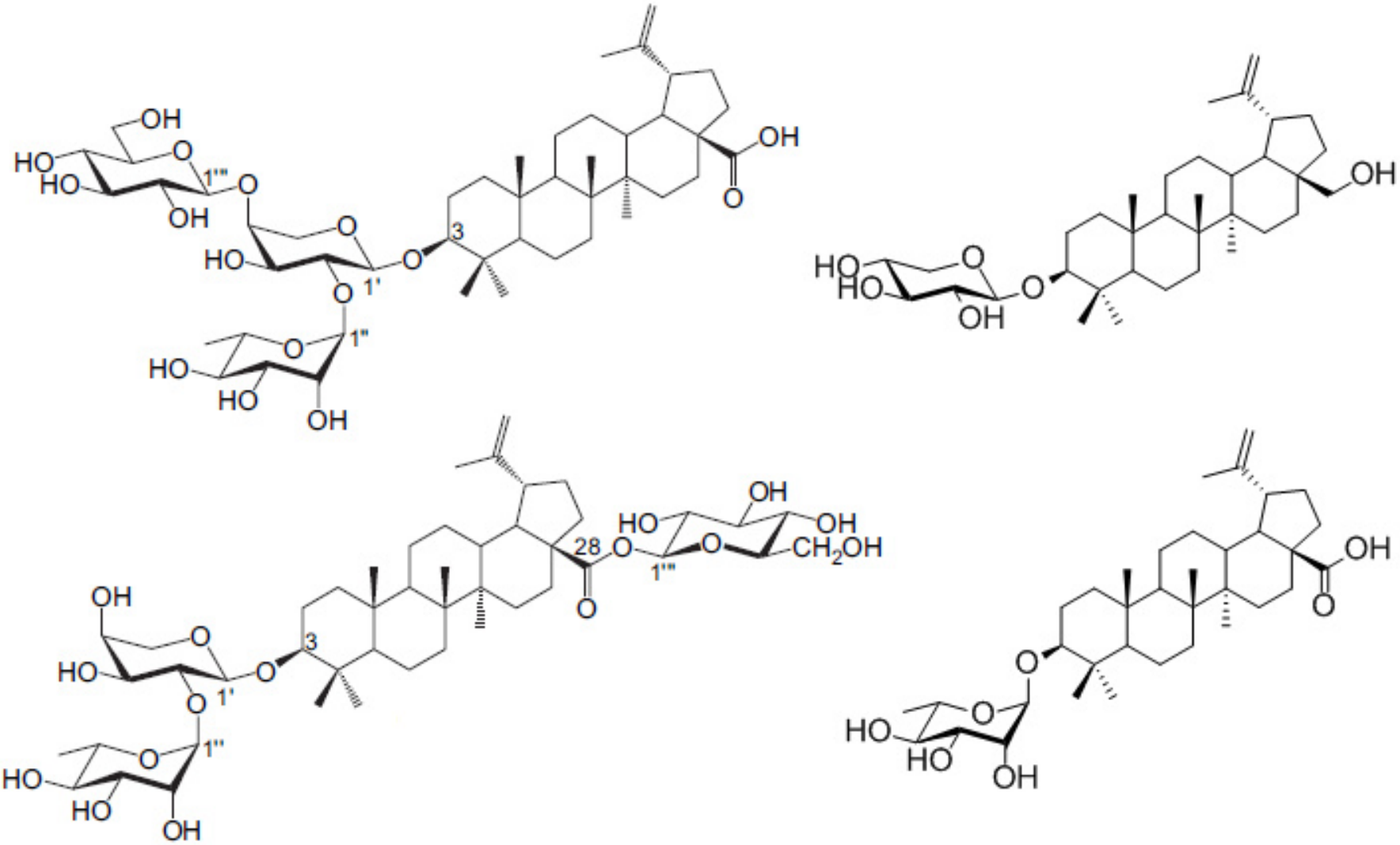
[a] Determined on the basis of the $^1$H NMR. [b] Determined by HPLC.




**Mécanisme proposé**

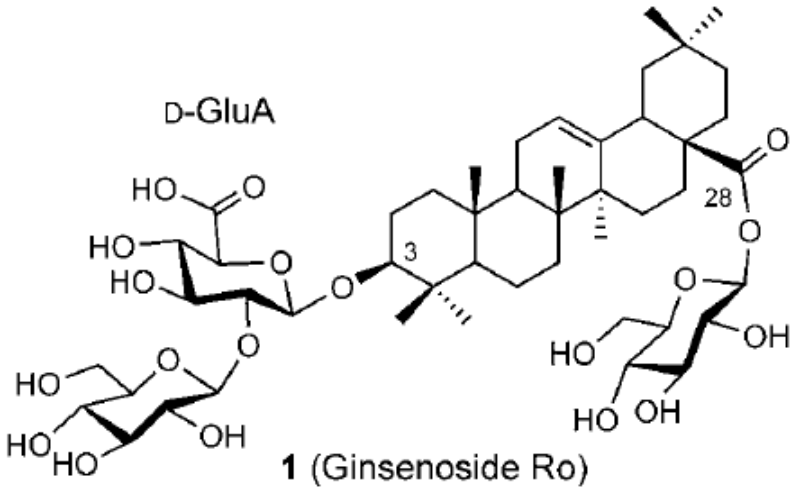
# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

**Molécules glycosylées naturelles :** ***Saponines triterpéniques de type lupane***

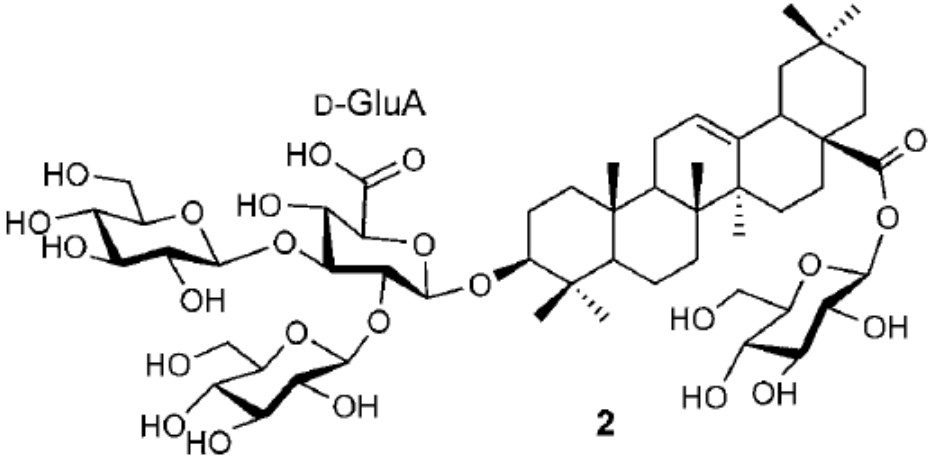


# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

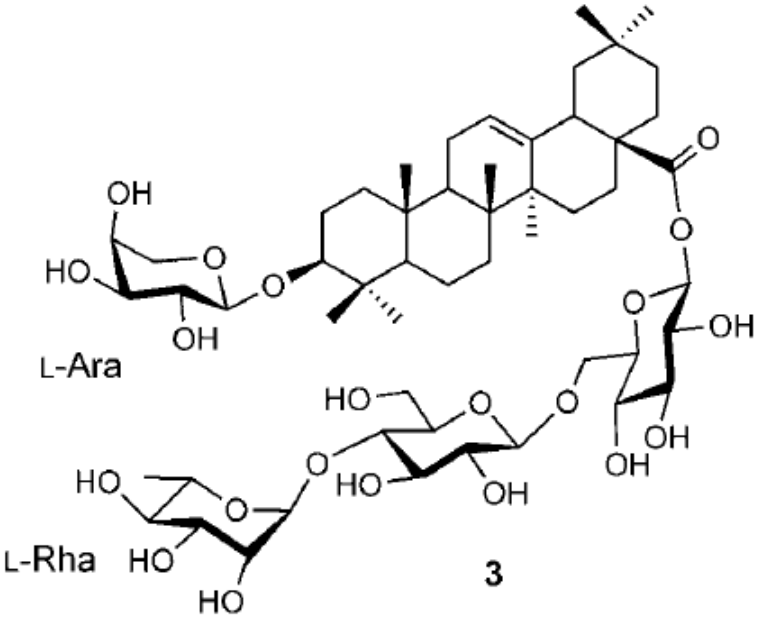
**Molécules glycosylées naturelles :** ***Saponines triterpéniques de type oléanane***



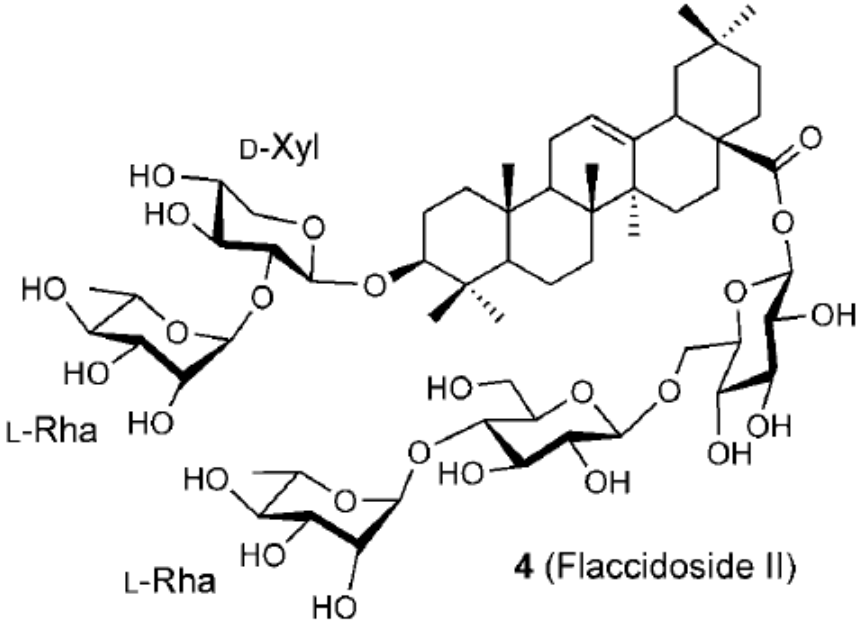

**1** (Ginsenoside Ro)




**2**



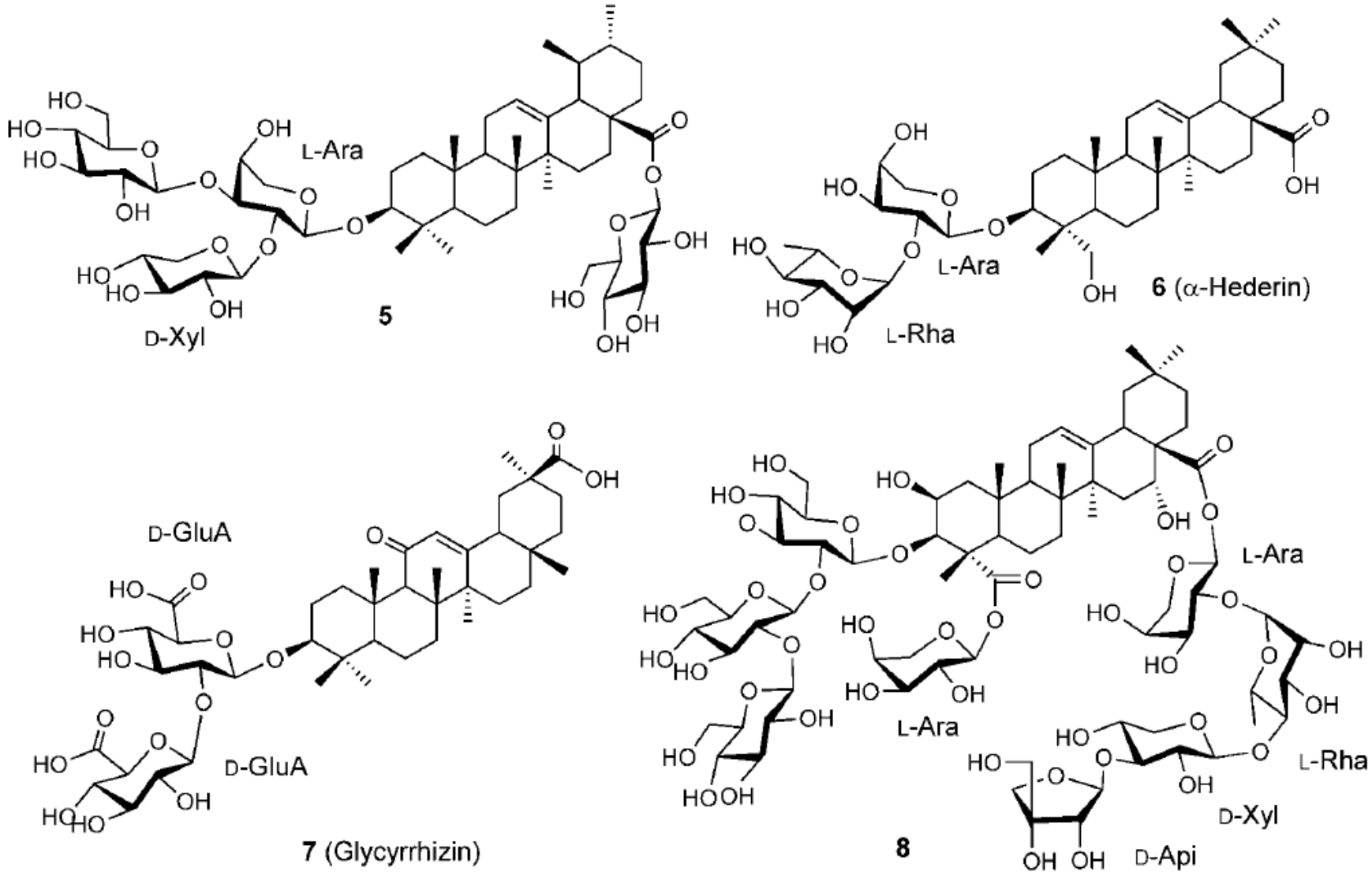

**3**




**4** (Flaccidoside II)

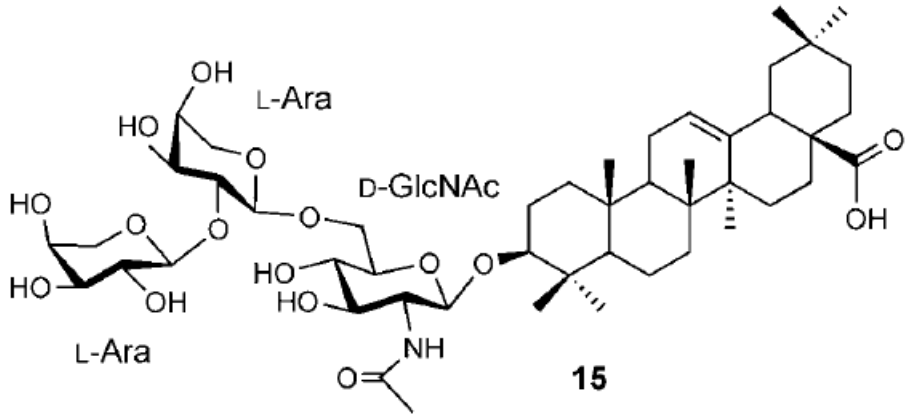
# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

**Molécules glycosylées naturelles :** ***Saponines triterpéniques de type oléanane (suite)***

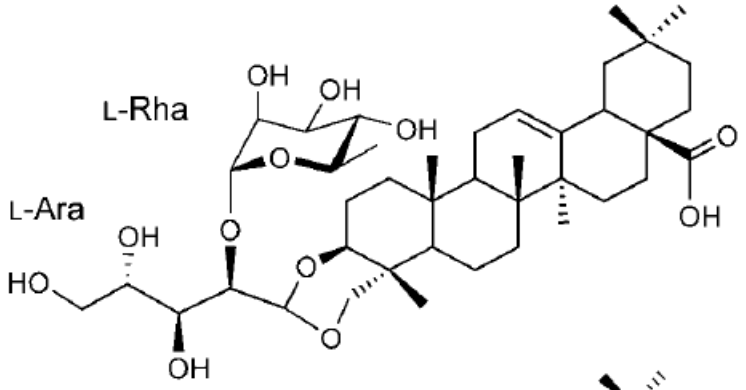


# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

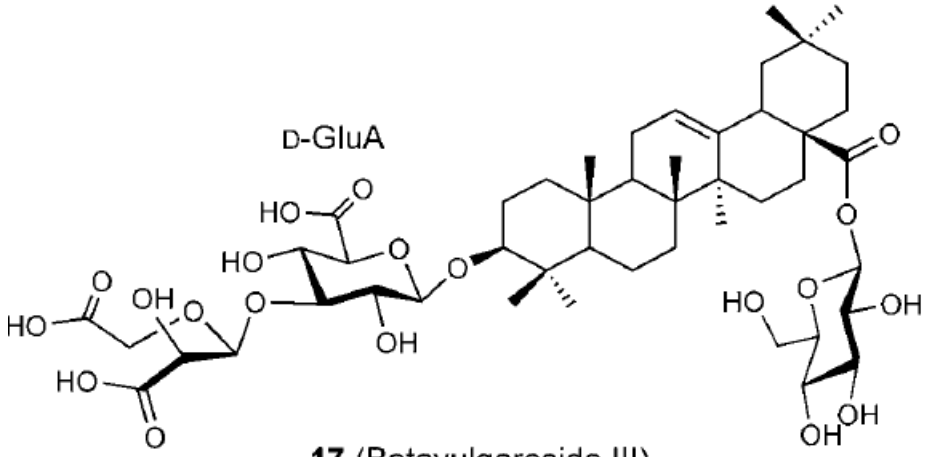
**Molécules glycosylées naturelles :** ***Saponines triterpéniques avec structures particulières***



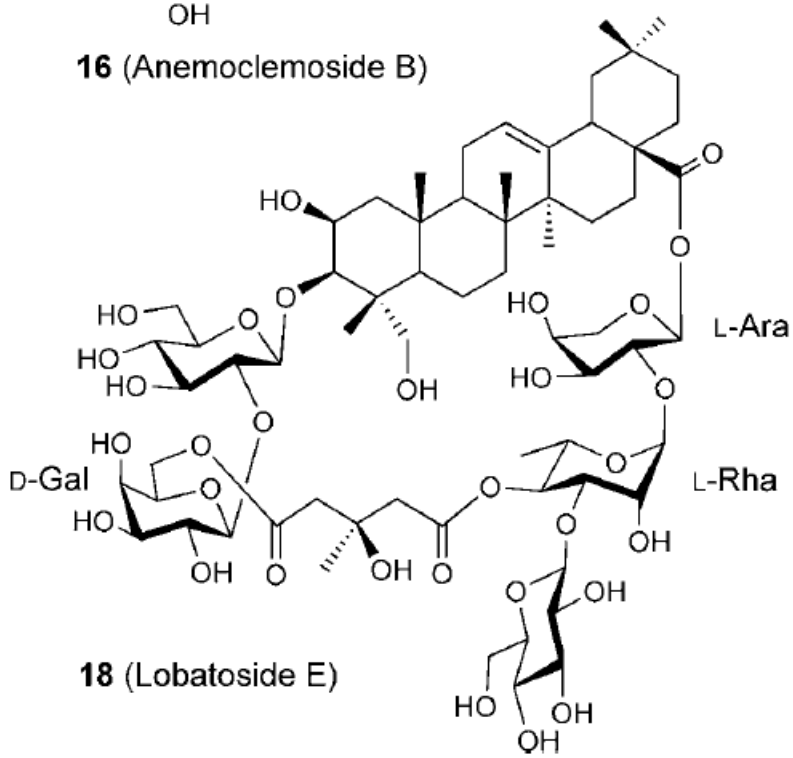

**15**




**16** (Anemoclemoside B)



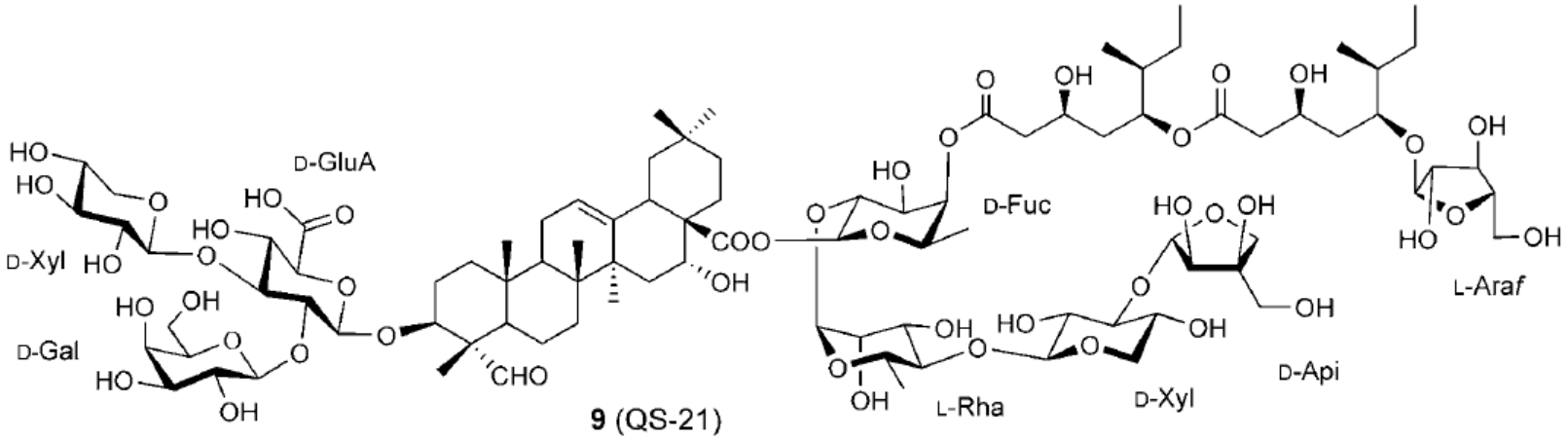

**17** (Betavulgaroside III)



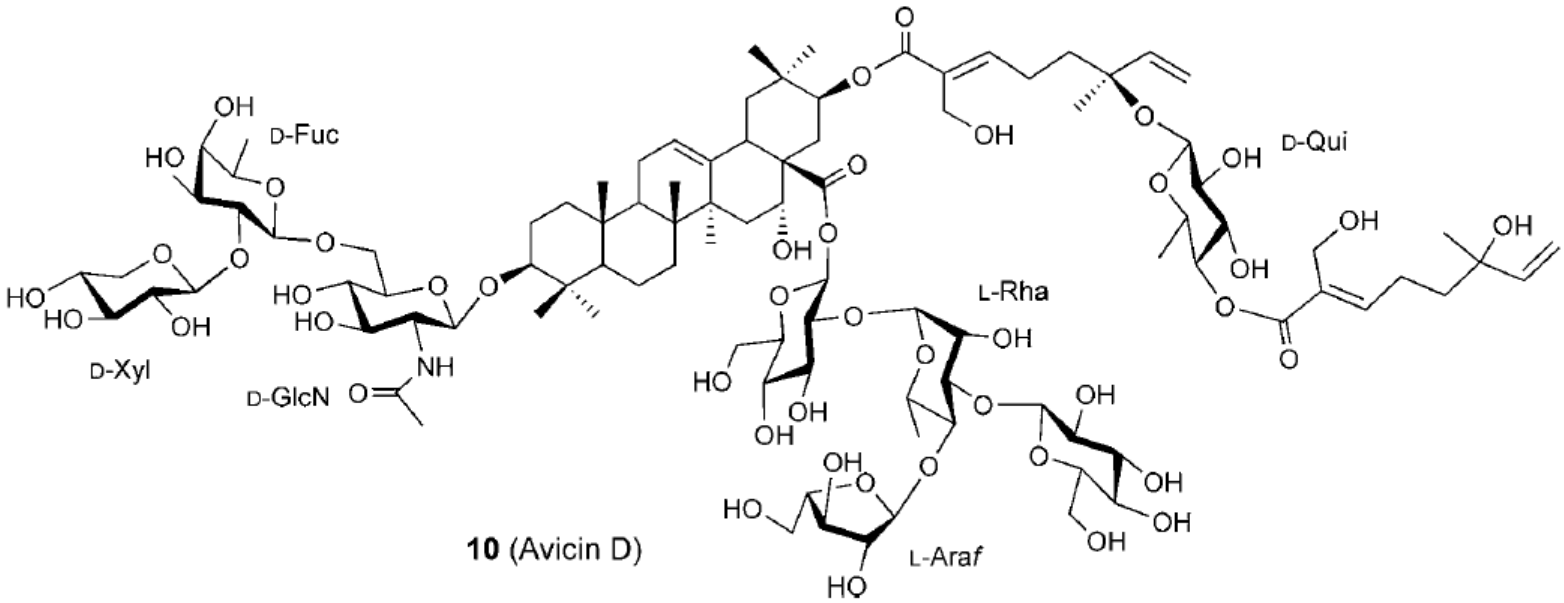

**18** (Lobatoside E)

# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

**Molécules glycosylées naturelles :** ***Saponines triterpéniques bidesmosidiaues complexes***



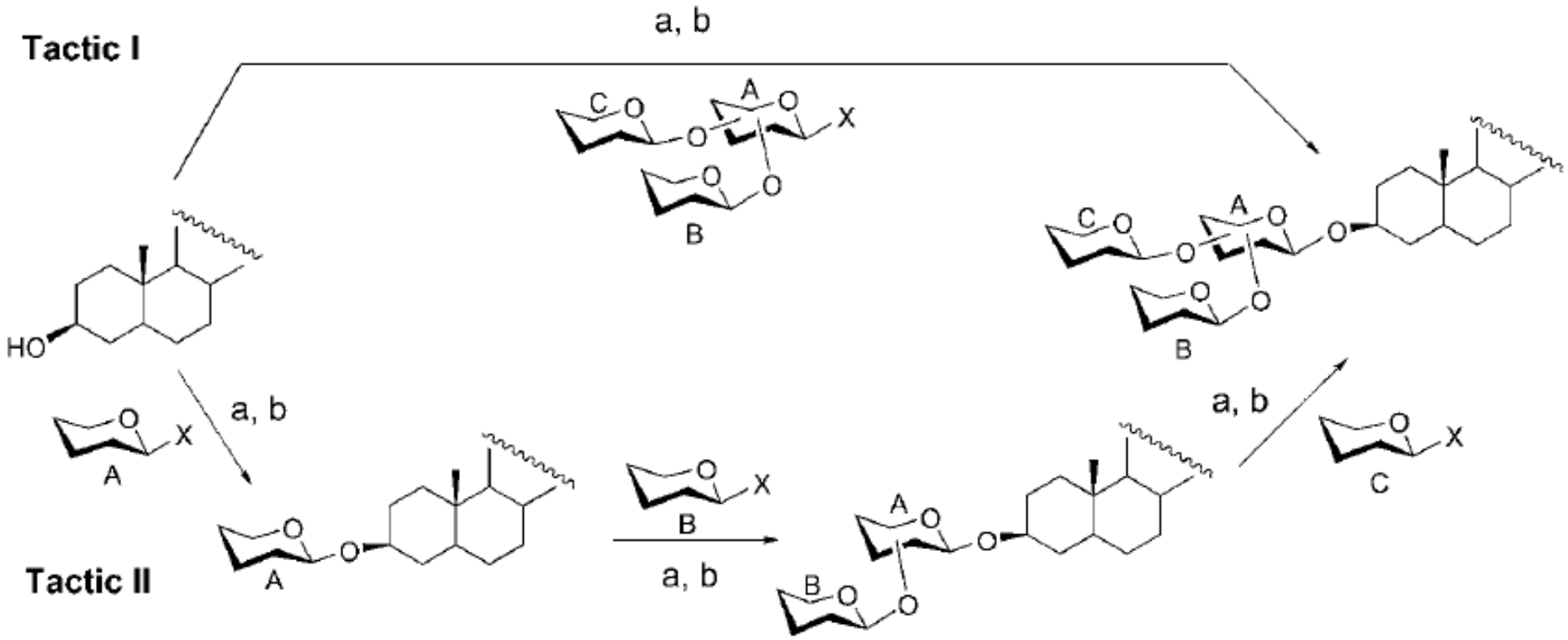

**9** (QS-21)




**10** (Avicin D)

# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

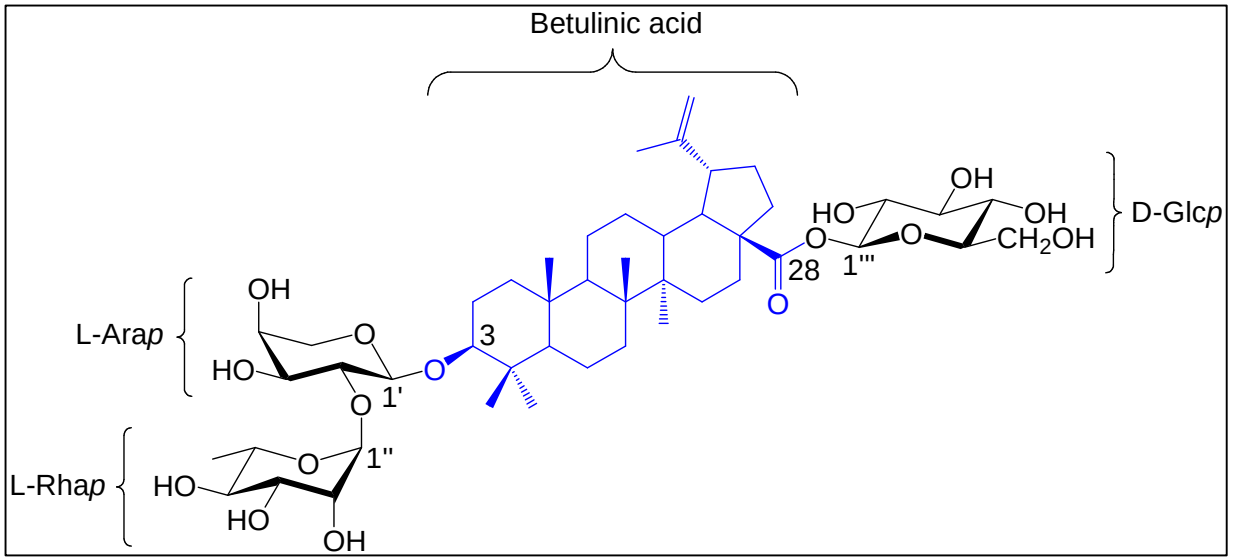
**Molécules glycosylées naturelles :** ***Tactiques pour la synthèse de saponines***



# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

**Molécules glycosylées naturelles :** ***Synthèse d'une saponine d'acide bétulinique***

***Schefflera rotundifolia***
**(plante asiatique)**




Isolée des feuilles de *S. rotundifolia*
(2.7 mg, yield of 0.0011%)

**Plante utilisée en médecine traditionnelle chinoise**

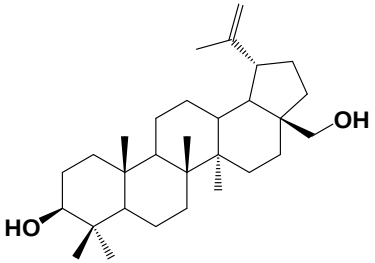
**(analgésique et anti-inflammatoire)**

# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

## Molécules glycosylées naturelles : *Synthèse d'une saponine d'acide bétulinique (1ère partie)*

écorce externe

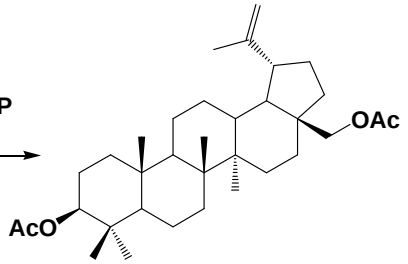
Soxhlet ($CHCl_3$)
recristallisation



17% (pureté >95% GC-MS)
échelle de 100 g

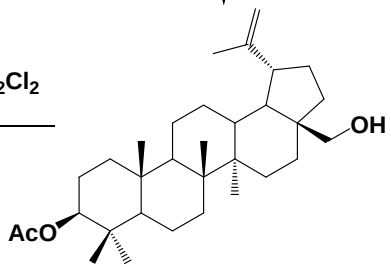
$Ac_2O$, DMAP
py, rt, 1 h

100%



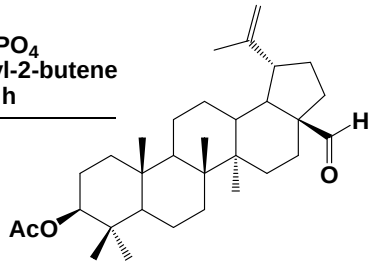
$Al(i\text{-}OPr_3)$, *i*-PrOH
reflux, 2 h

86%



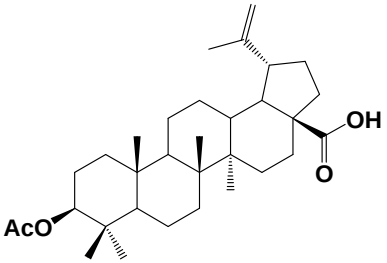
PCC, $CH_2Cl_2$
rt, 2 h

96%

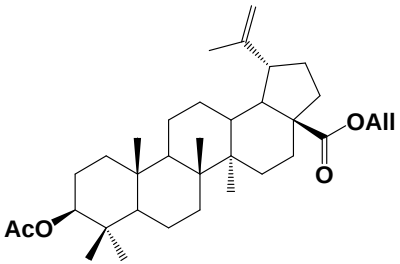


$NaClO_2/NaH_2PO_4$
*t*-BuOH/THF/2-methyl-2-butene
0 °C to rt, 1 h

81%

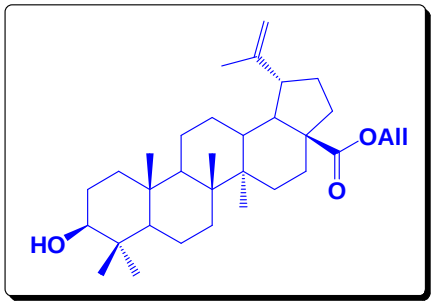


$AllBr$, $K_2CO_3$, DMF
55 °C, 7 h



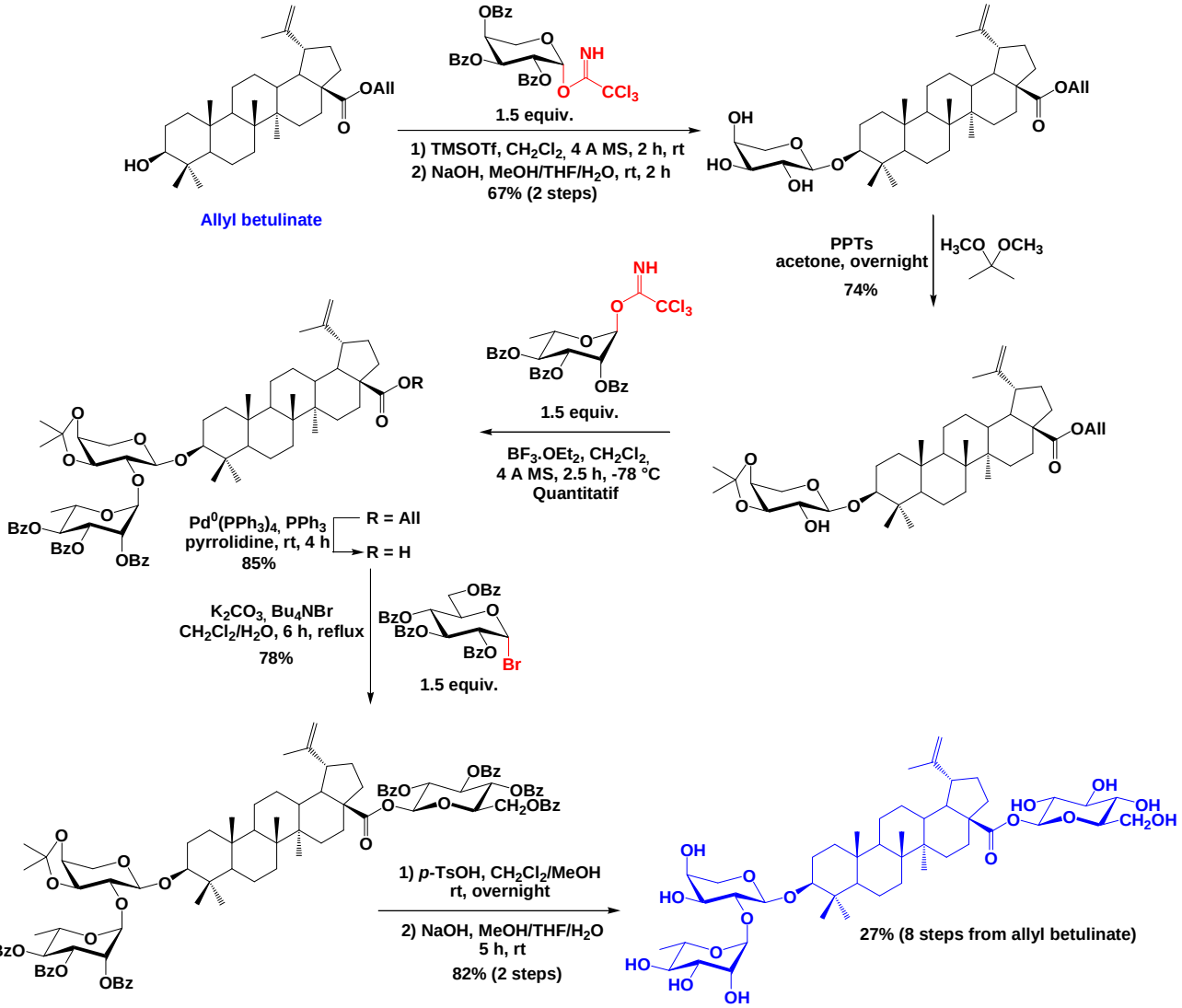
NaOH
$MeOH/THF/H_2O$

93% (2 steps)



# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

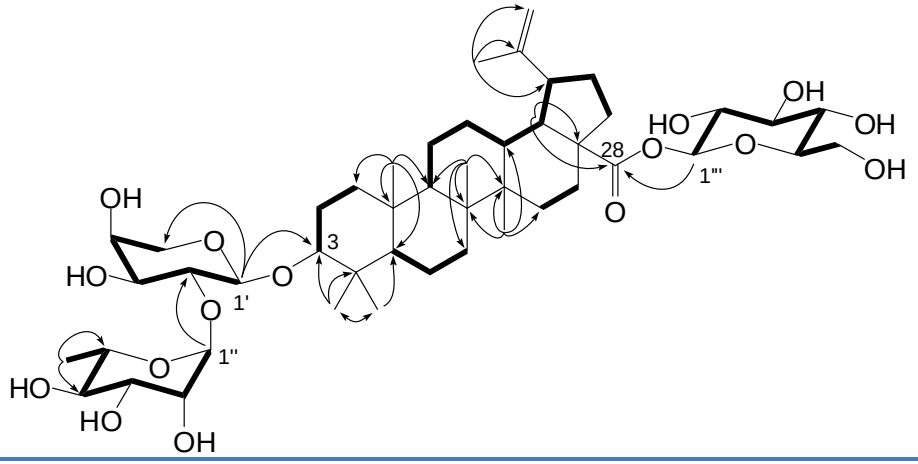
## Molécules glycosylées naturelles : *Synthèse d'une saponine d'acide bétulinique (2e partie)*



# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

**Molécules glycosylées naturelles :** ***Synthèse d'une saponine d'acide bétulinique (RMN)***

| Sucres | RMN 600 MHz (MeOD) Saponine **isolée** Braca *et al. Planta Med.* **2004** | | | RMN 400 MHz (MeOD) Saponine **synthétisée** Gauthier *et al. Tetrahedron* **2008** | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | $\delta_H$ | $J_{1,2}$ | $\delta_C$ | $\delta_H$ | $J_{1,2}$ | $\delta_C$ |
| Ara C-1 | 4,38 | 6,8 (d) | 107,7 | 4,53 | 4,6 (d) | 104,8 |
| Rha C-1 | 4,90 | 1,5 (d) | 103,0 | 5,10 | 1,4 (d) | 102,1 |
| Glc C-1 | 5,40 | 7,5 (d) | 95,6 | 5,49 | 8,2 (d) | 95,2 |
| $[\alpha]_D$ | +71° (*c* 0,1, MeOH) | | | -36° (*c* 0,1, MeOH) | | |

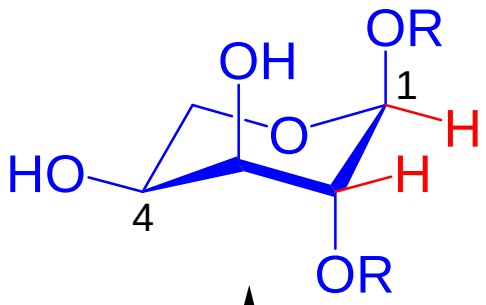



Corrélations sélectionnées

COSY (▬) et HMBC ($^1H \rightarrow {}^{13}C$)

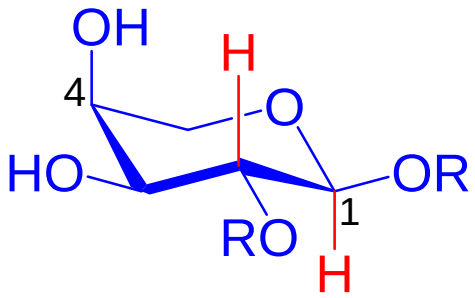
# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

**Molécules glycosylées naturelles :** ***Synthèse d'une saponine d'acide bétulinique (RMN)***

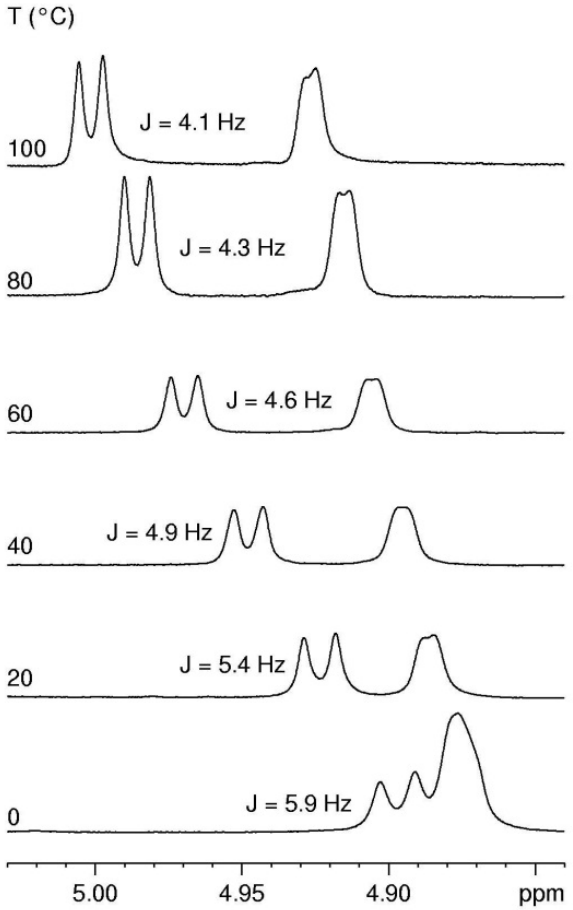



chaise $^{1}C_{4}$

Interconversion
chaise-chaise

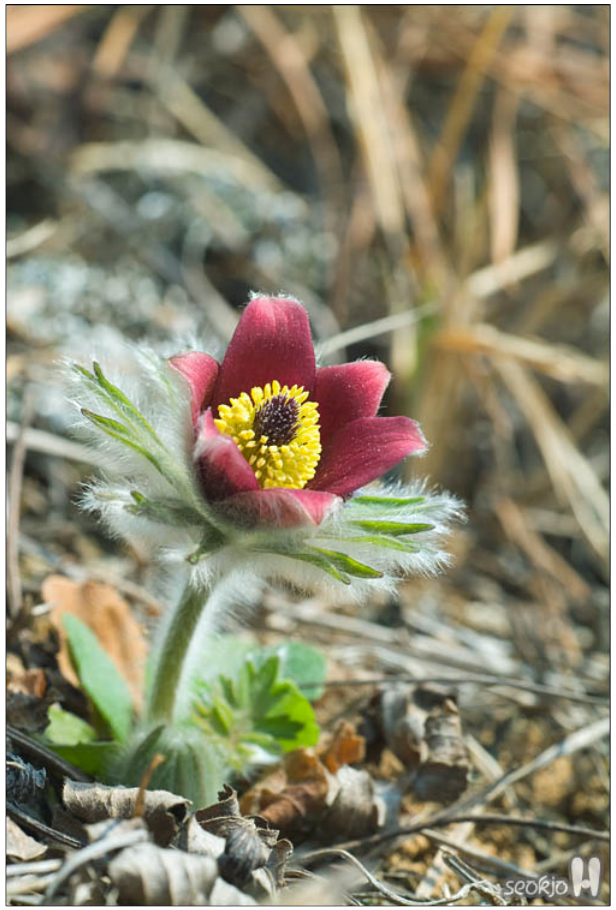



chaise $^{4}C_{1}$

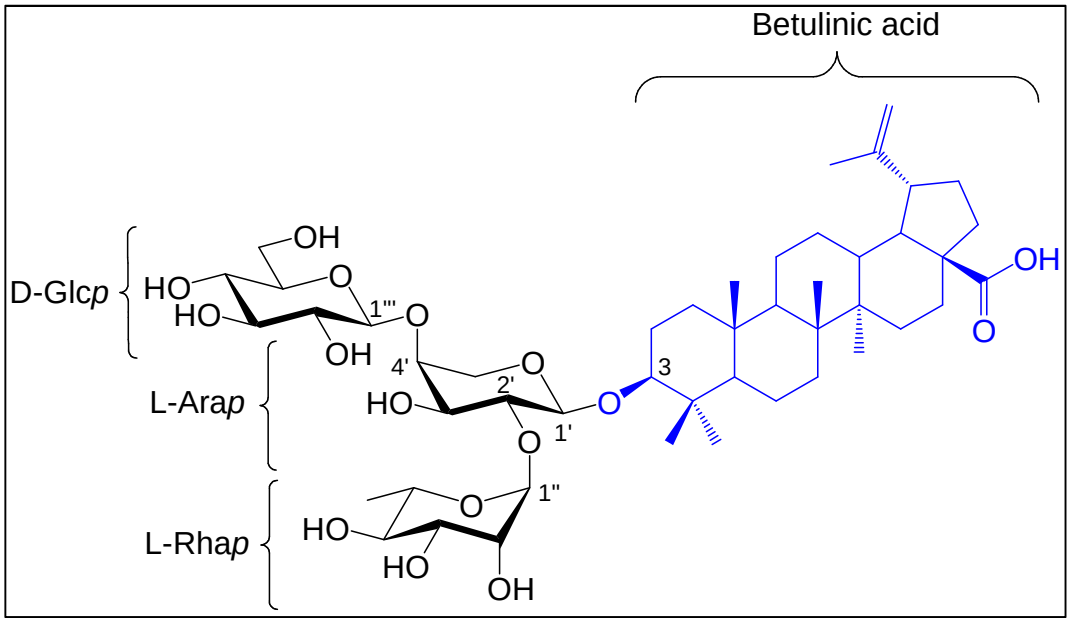


# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

**Molécules glycosylées naturelles :** ***Synthèse d'une saponine d'acide bétulinique***



***Pulsatilla koreana***
**(plante endémique de Corée)**



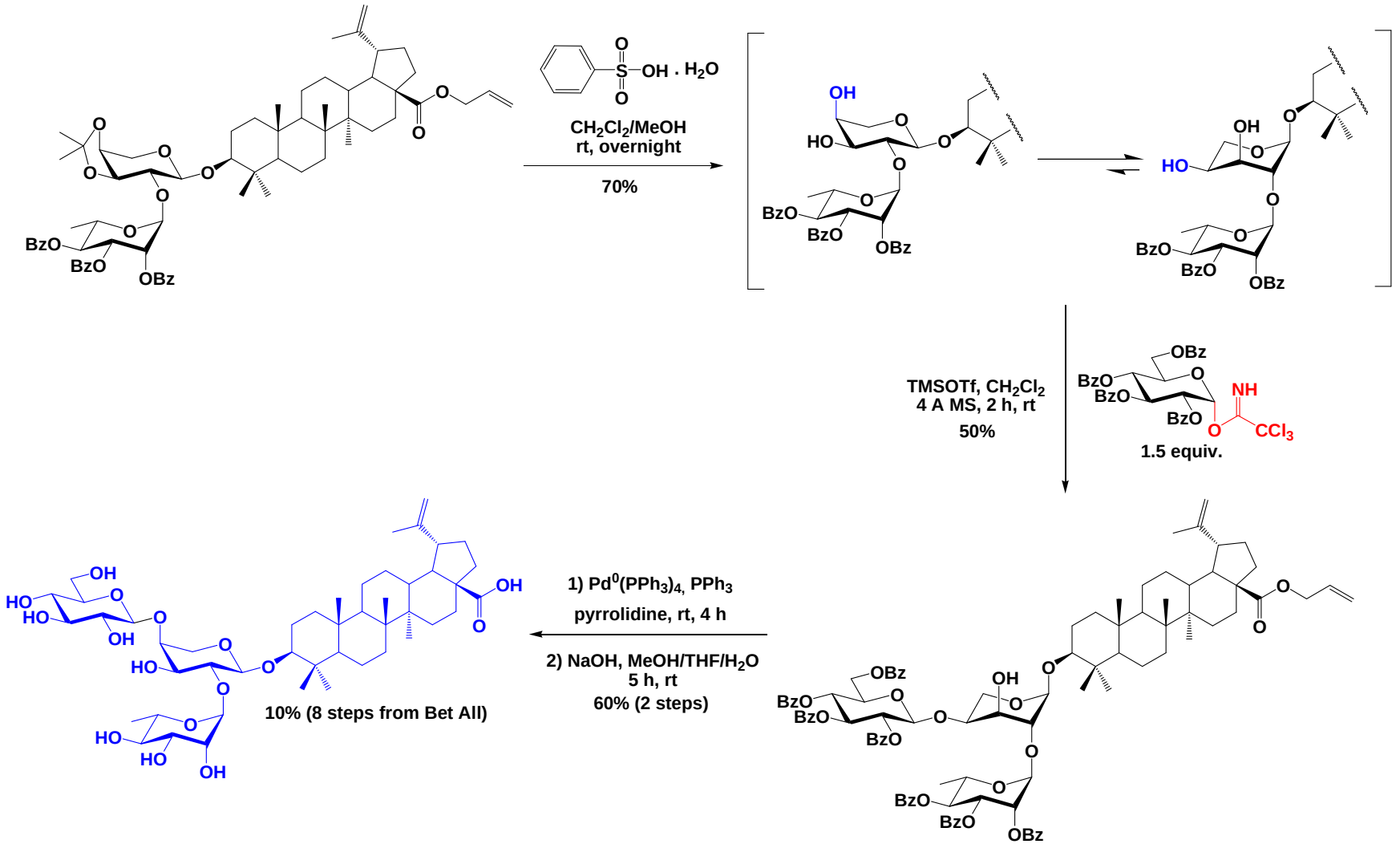

Isolée des racines de *P. koreana*
(31 mg, yield <0.01%)

**Plante utilisée en médecine traditionnelle chinoise**

**(malaria, cancer et dysenterie)**

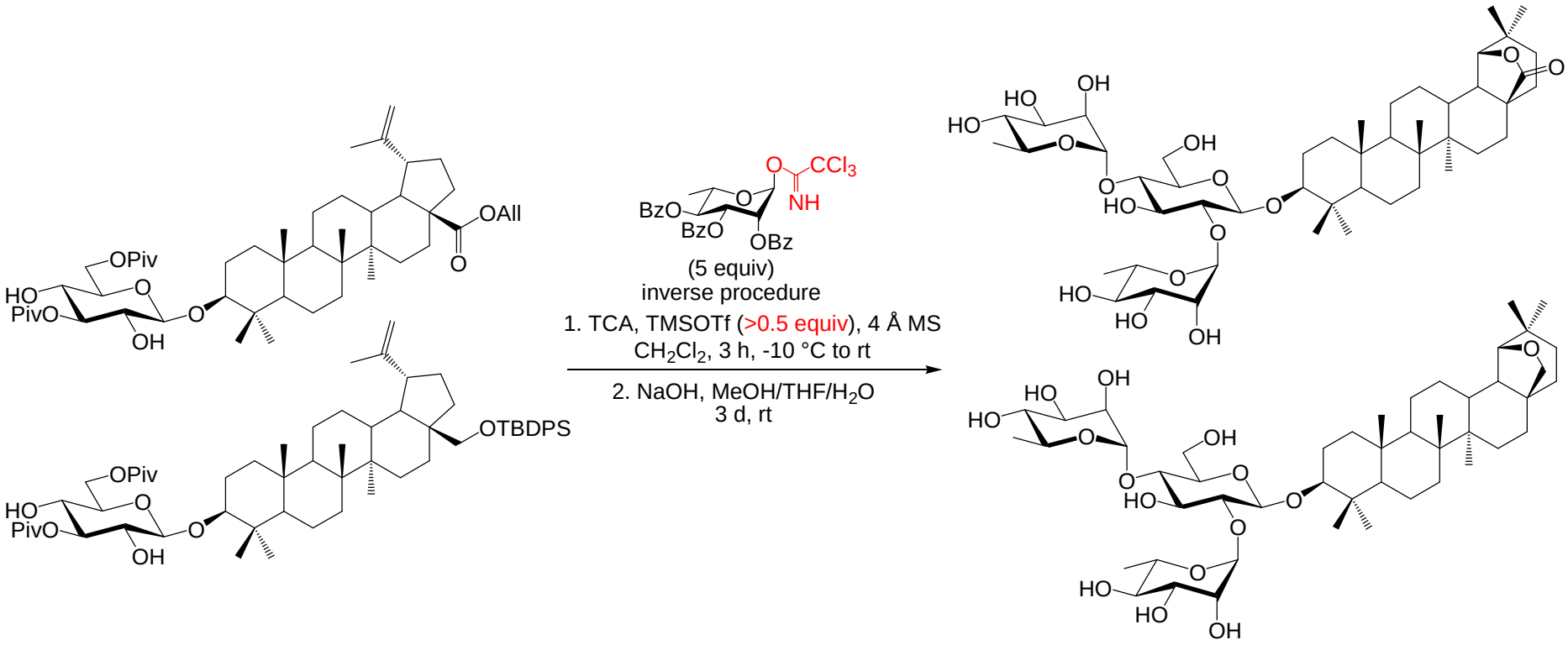
# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

## Molécules glycosylées naturelles : *Synthèse d'une saponine d'acide bétulinique*



# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

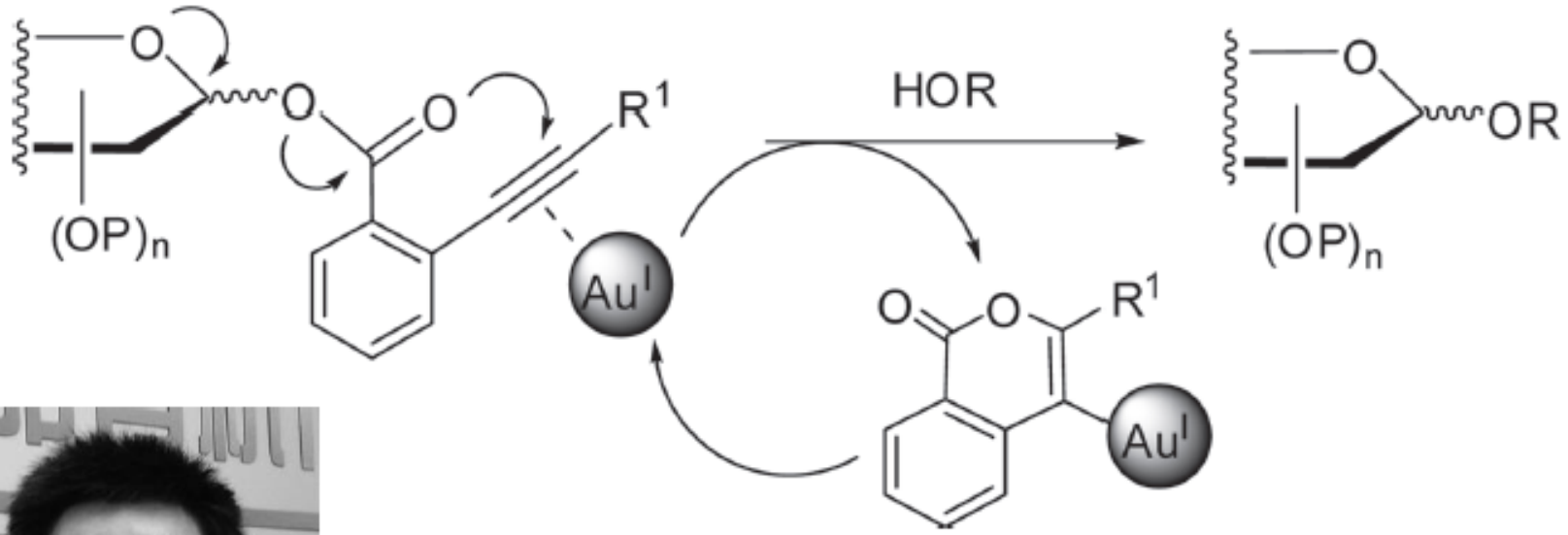
**Molécules glycosylées naturelles :** ***Réarrangement de Wagner-Merweein (cycle E)***

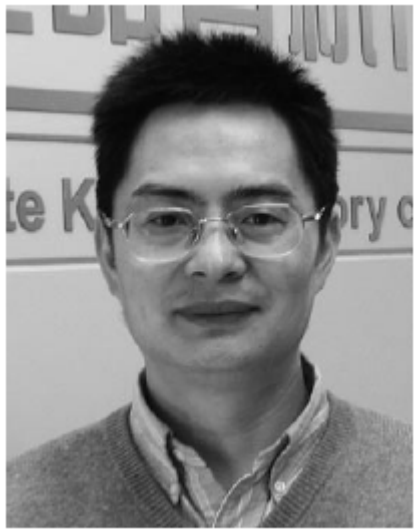


# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

**Molécules glycosylées naturelles : *Méthodes de glycosylation sous conditions neutres***

- Donneurs de glycosyls *ortho*-alkynylbenzoates catalysés par complexe d'or(I)



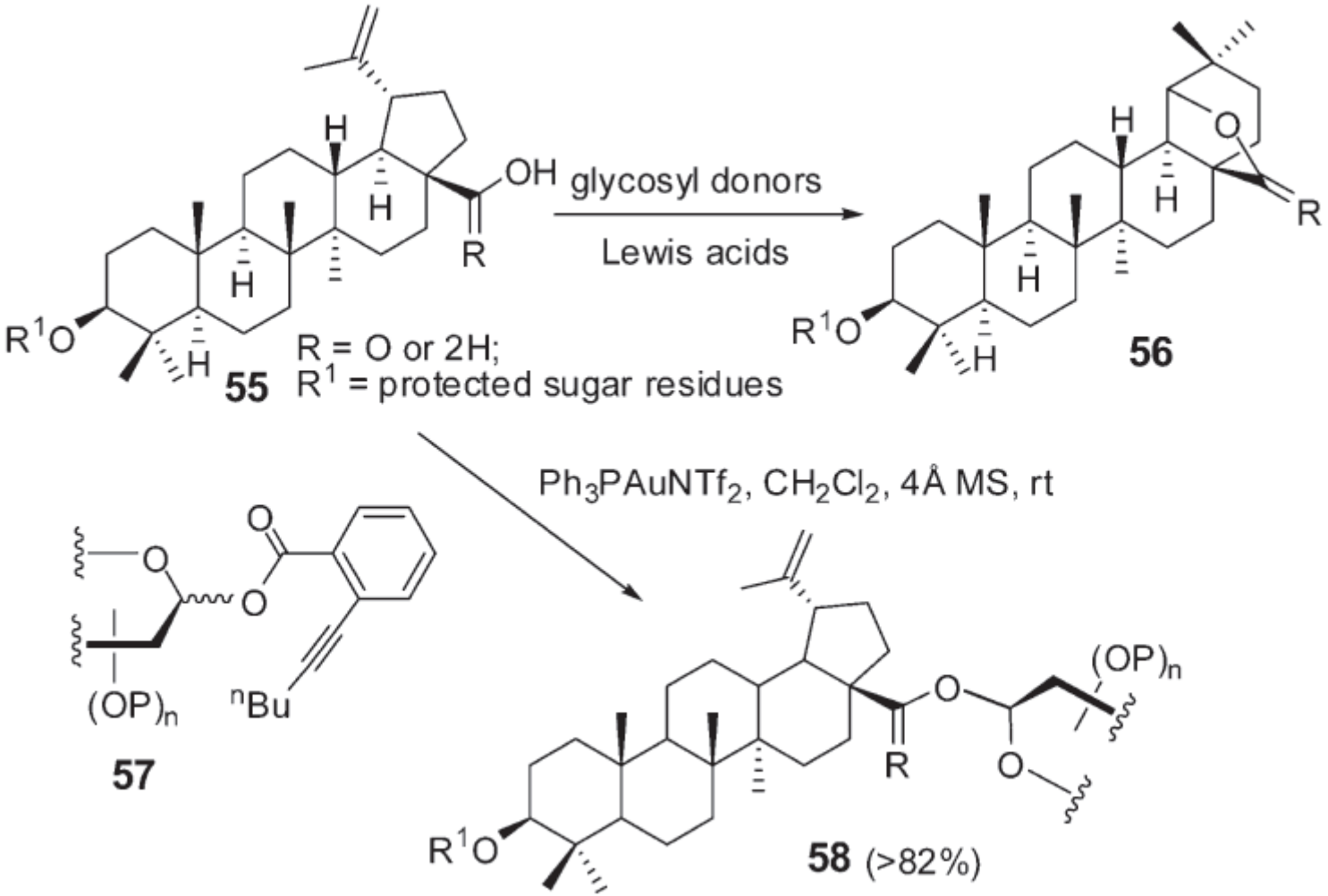
**Biao Yu**

Shanghai Institute of Organic Chemistry
Chinese Academy of Sciences

# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

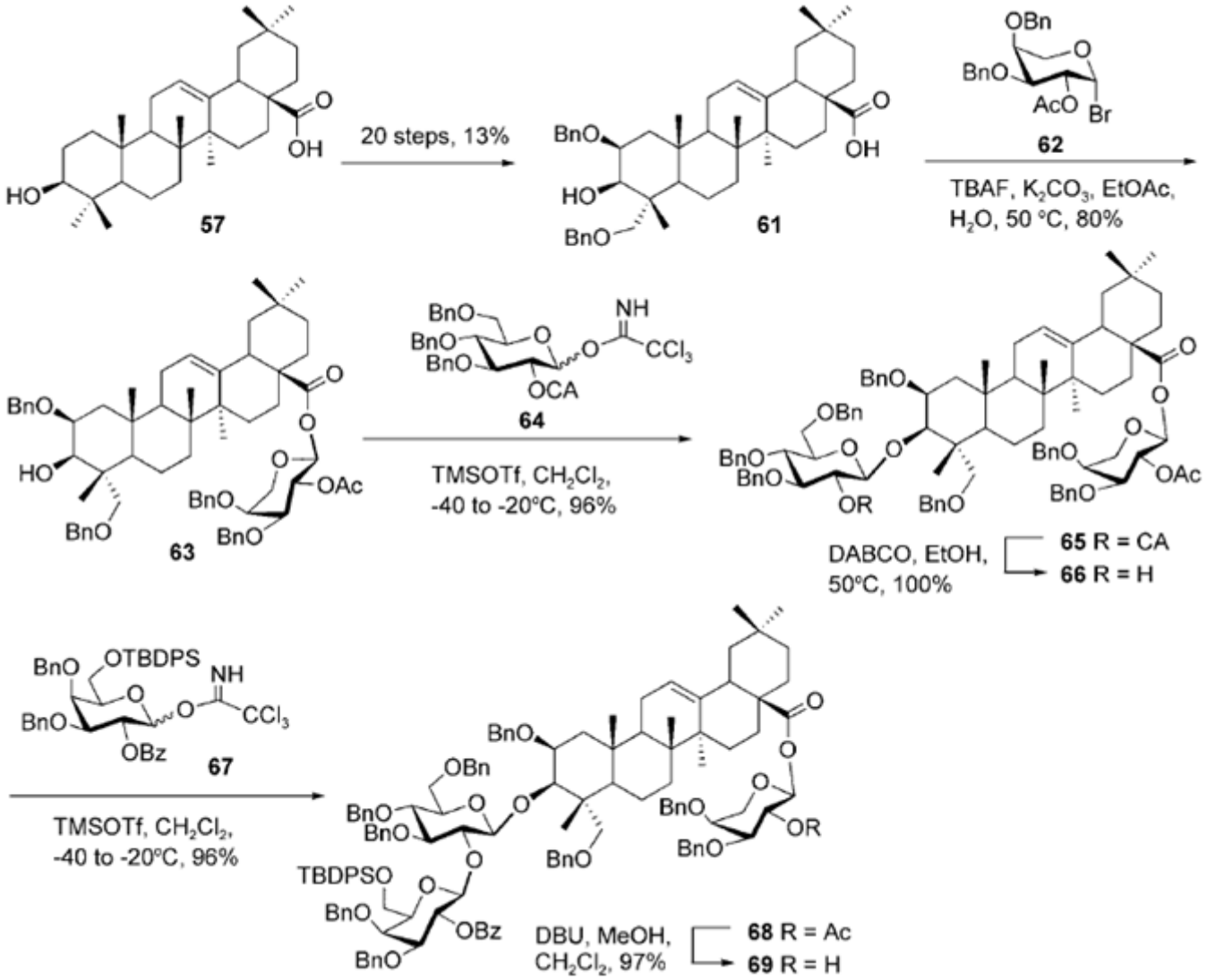
**Molécules glycosylées naturelles :** ***Méthodes de glycosylation sous conditions neutres***

- Donneurs de glycosyls *ortho*-alkynylbenzoates catalysés par complexe d'or(I)



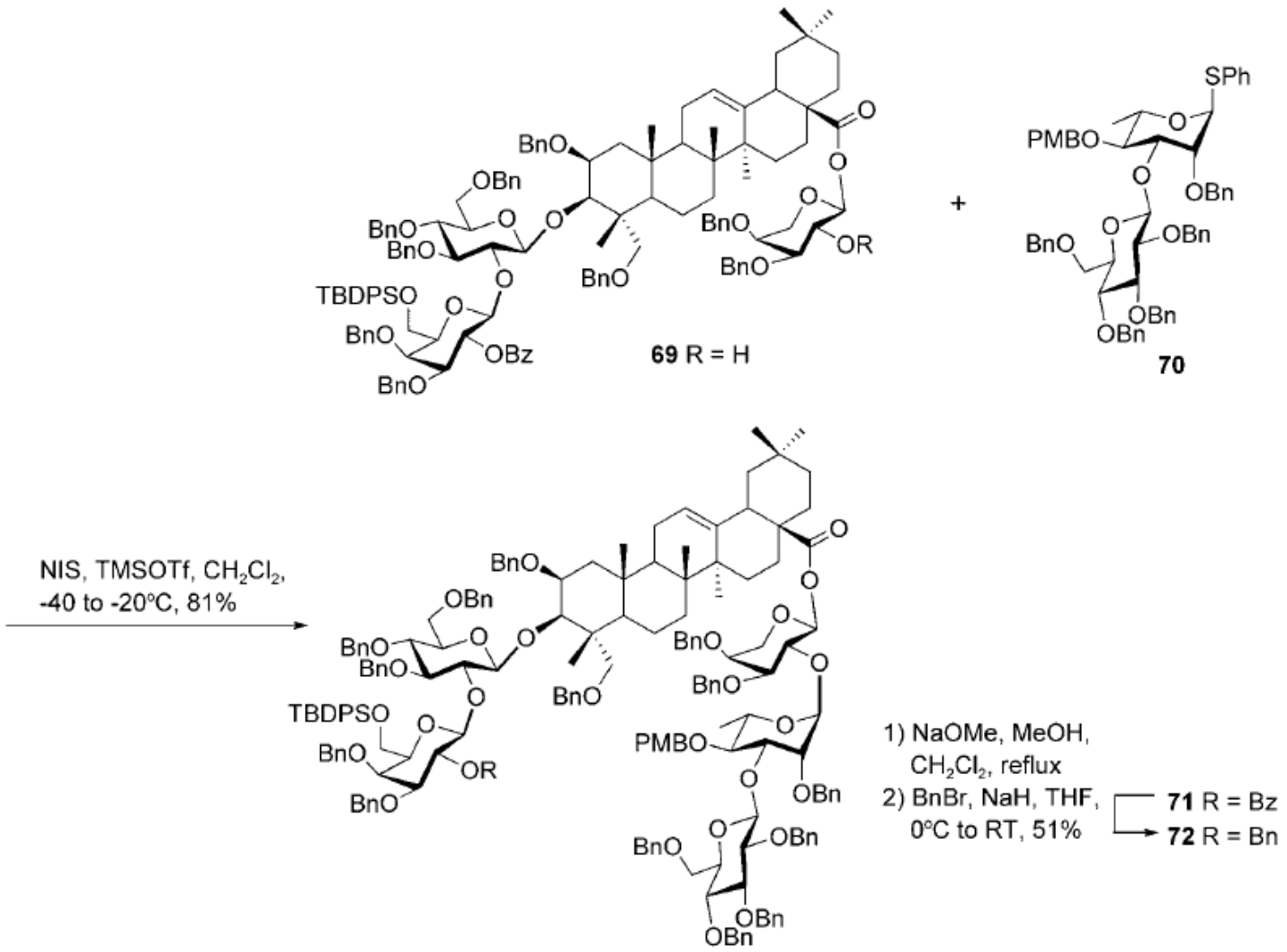
# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

**Molécules glycosylées naturelles :** ***Synthèse d'une saponine cyclique Lobatoside E (1ère partie)***



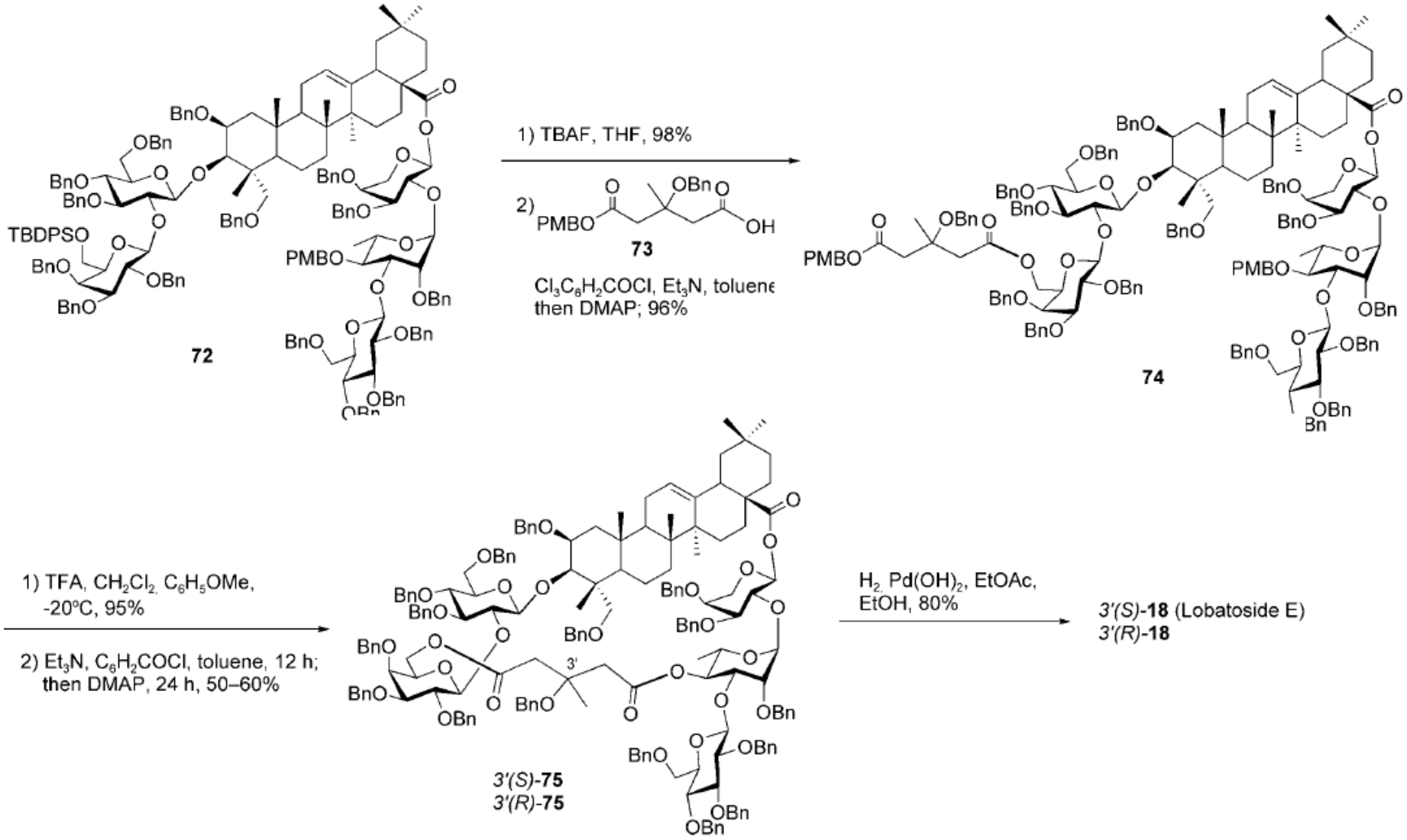
# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

**Molécules glycosylées naturelles :** ***Synthèse d'une saponine cyclique Lobatoside E (2e partie)***



# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

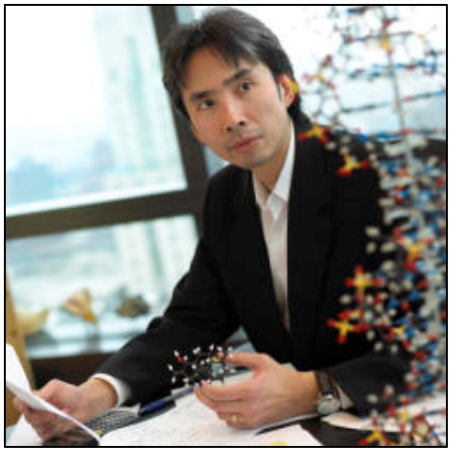
**Molécules glycosylées naturelles :** ***Synthèse d'une saponine cyclique Lobatoside E (finale)***



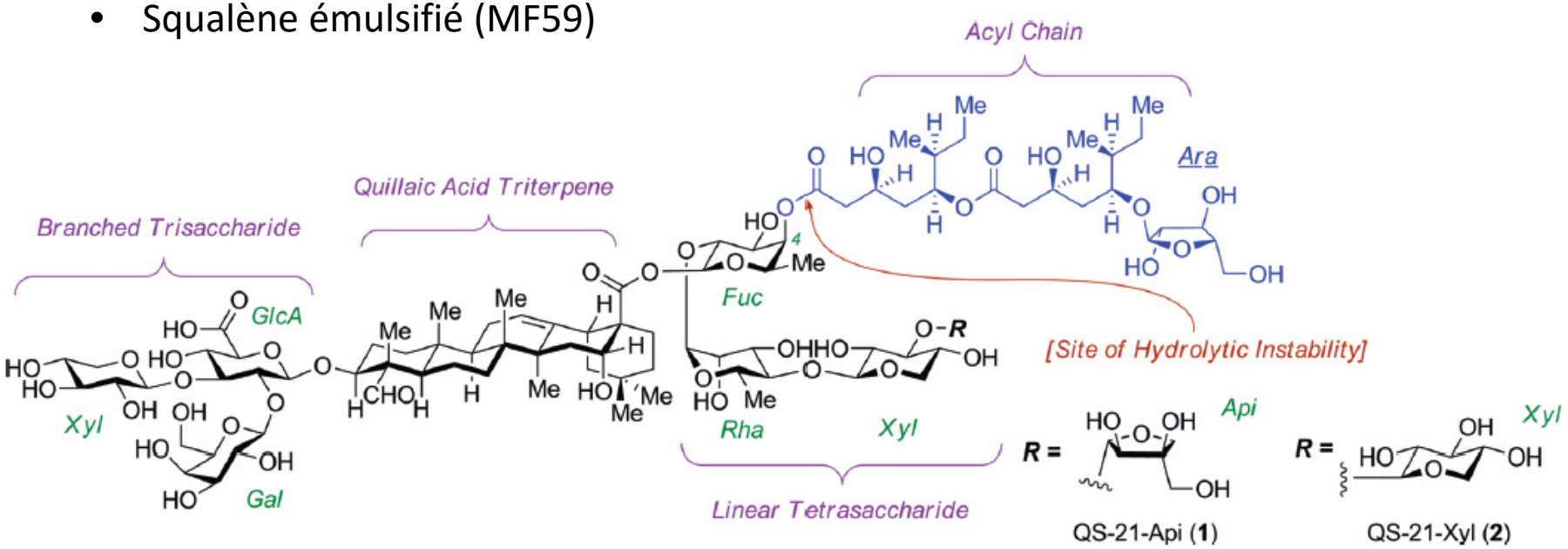
# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

**Molécules glycosylées naturelles :** ***Synthèse de saponines adjuvantes (QS-21)***

- Activer le système immunitaire
- Permettre l'utilisation antigènes inactifs
- Immuniser personnes système affaiblie
- Seulement **deux** adjuvants approuvés :
  - Sels d'aluminium (Alum)
  - Squalène émulsifié (MF59)

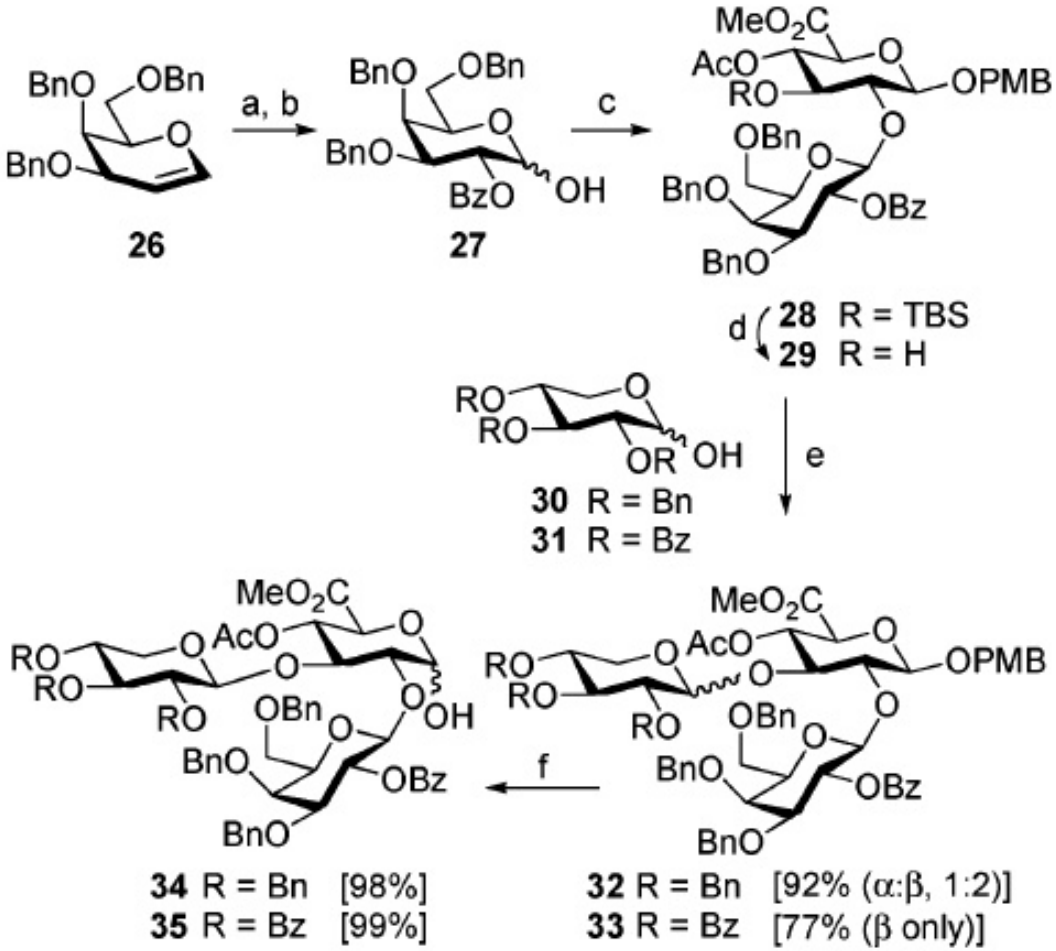


**David Y. Gin (1967-2011)**



# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

**Molécules glycosylées naturelles :** ***Synthèse de saponines adjuvantes QS-21-Api (1ère étape)***

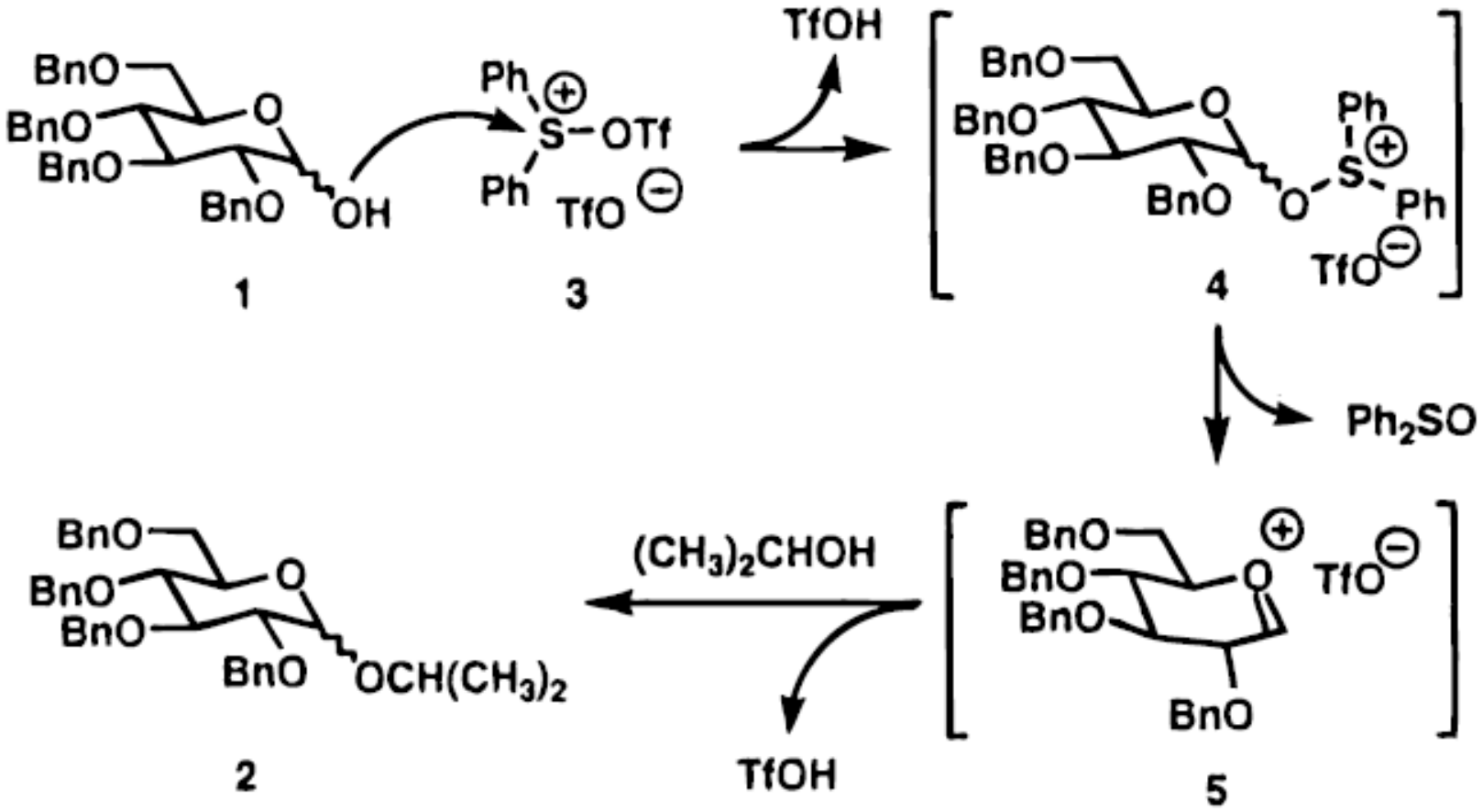



[a] Reagents and conditions: (a) $PhI(OBz)_2$, $BF_3 \cdot OEt_2$, $CH_2Cl_2$ (83%); (b) $NH_3$, MeOH, THF (72%); (c) $Ph_2SO$, $Tf_2O$, TBP; add **20** (80%); (d) HF·pyr, THF (99%); (e) **31** or **32**, $Ph_2SO$, $Tf_2O$, TBP; then **29**; (f) TFA, $H_2O$, $CHCl_3$.

# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

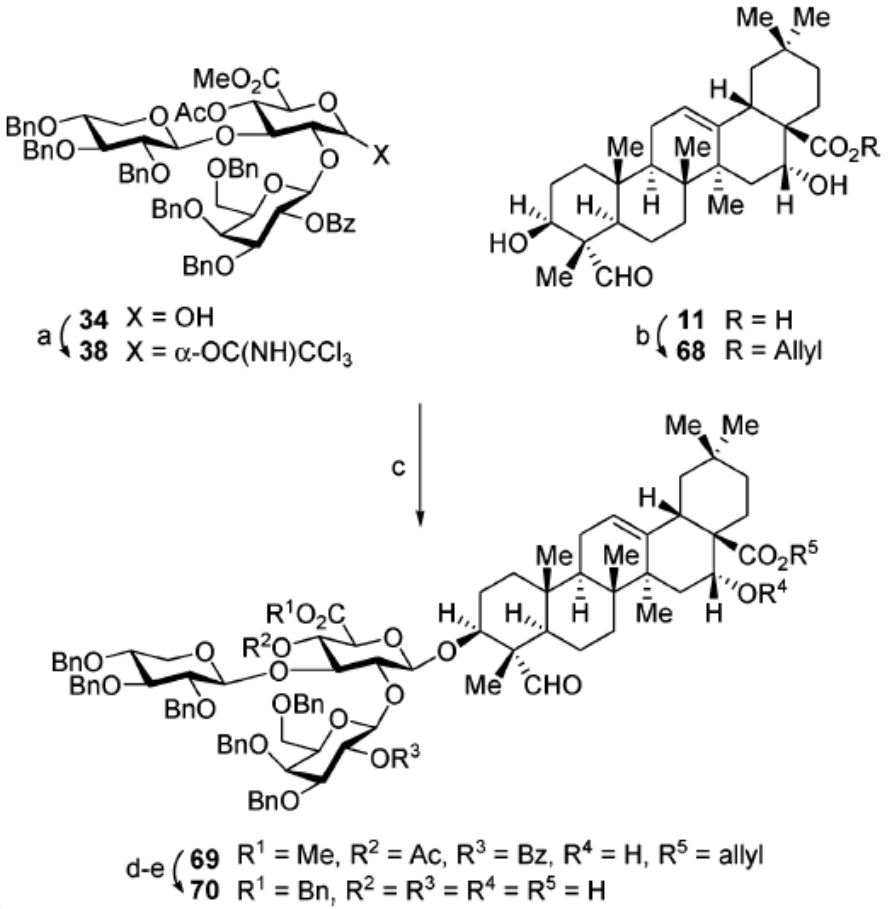
**Molécules glycosylées naturelles :** ***Synthèse de saponines adjuvantes QS-21-Api (1ère étape)***

- Mécanisme proposé pour la glycosylation par déshydratation



# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

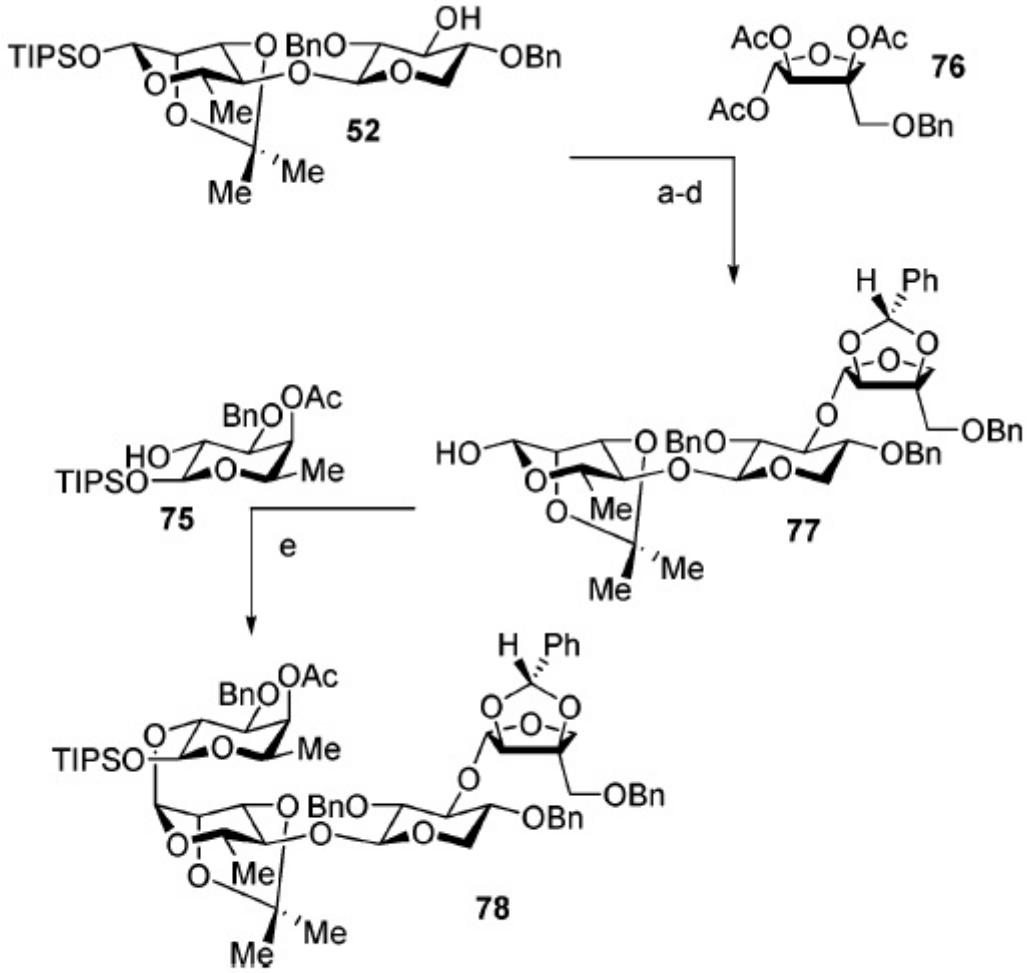
**Molécules glycosylées naturelles :** ***Synthèse de saponines adjuvantes QS-21-Api (2e étape)***




[a] Reagents and conditions: (a) $CCl_3CN$, DBU, $CH_2Cl_2$ (95%); (b) $Cs_2CO_3$, allyl-Br, DMF (70%); (c) $(B(C_6F_5)_3)$, $CH_2Cl_2$ (59%, 1:7, α: β; plus 15% **34** and 21% **68**); (d) NaOH, 1,4-dioxane; then $Cs_2CO_3$, $H_2O$, MeOH; (e) $KHCO_3$, BnBr, DMF (92%, 2 steps); (e) $HCO_2H$, $Pd(OAc)_2$), $Et_3N$, $PPh_3$, 1,4-dioxane (70%).

# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

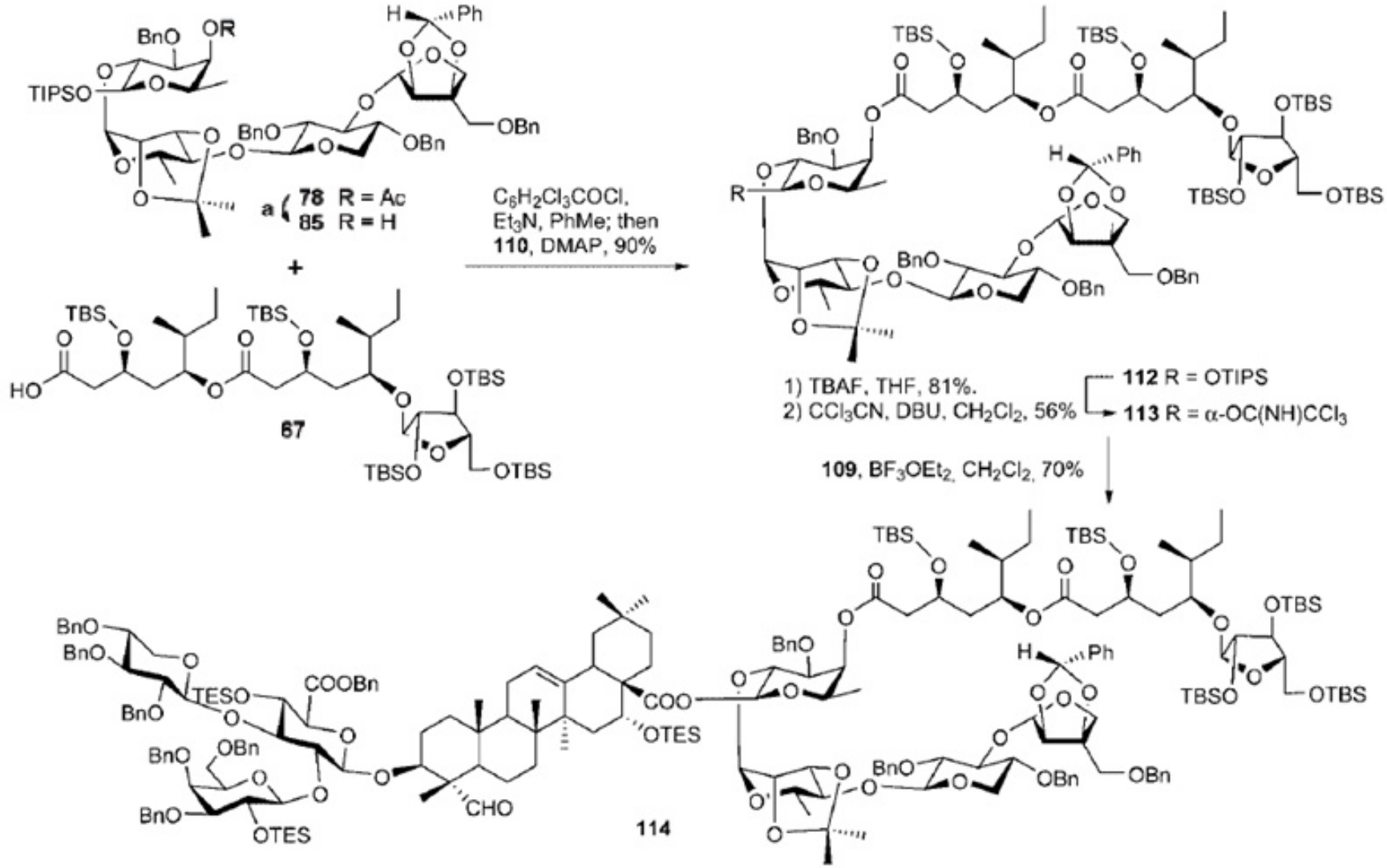
**Molécules glycosylées naturelles :** ***Synthèse de saponines adjuvantes QS-21-Api (3e étape)***




[a] Reagents and conditions: (a) **76**, TESOTf, $CH_2Cl_2$ (51%); (b) $K_2CO_3$, MeOH; (c) $C_6H_5CH(OMe)_2$, *p*-TsOH; (d) TBAF, THF (95%, 3 steps); (e) $Ph_2SO$, $Tf_2O$, TBP, $CH_2Cl_2$; then **75** (54%).

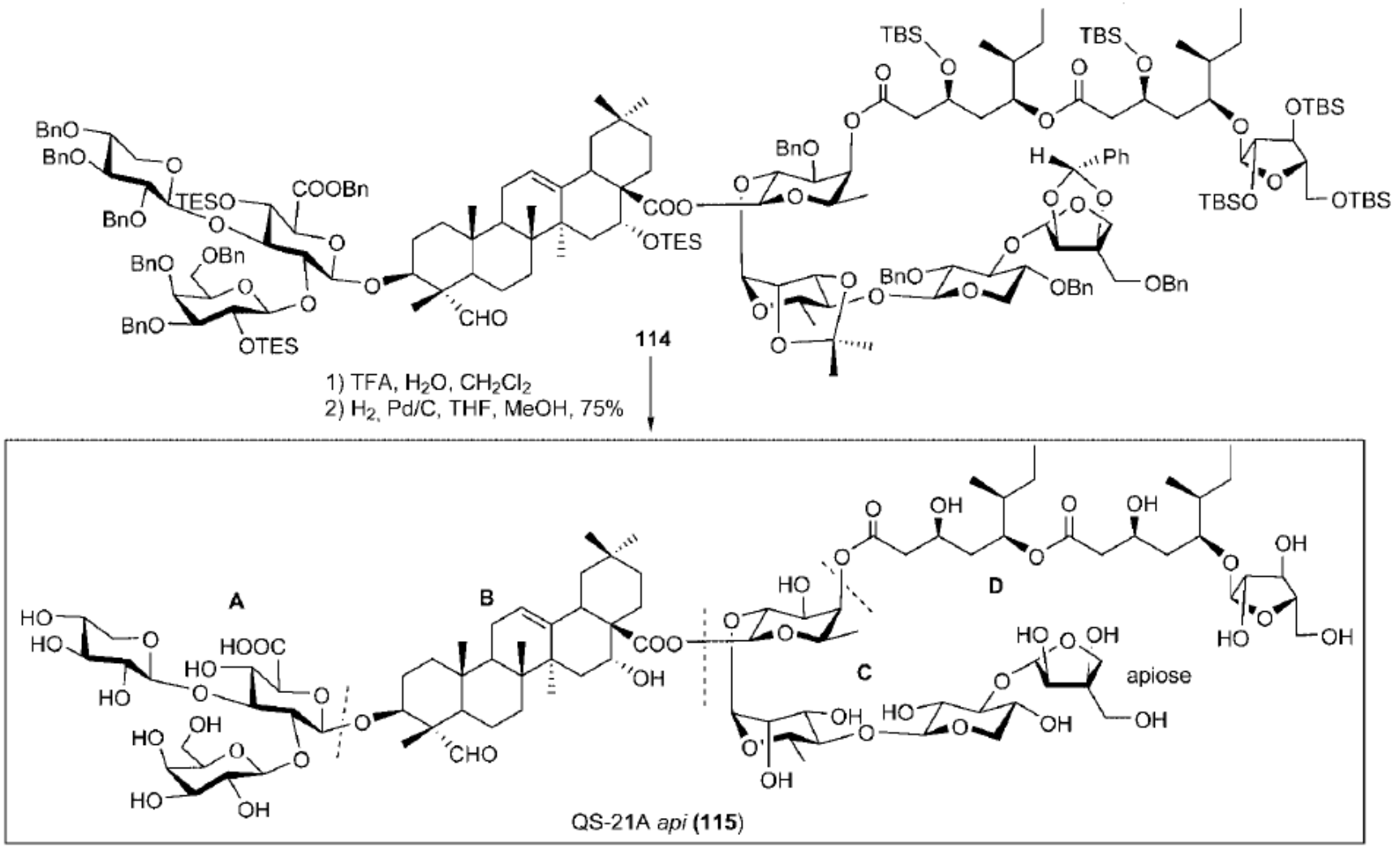
# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

**Molécules glycosylées naturelles :** ***Synthèse de saponines adjuvantes QS-21-Api (4e étape)***



# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

**Molécules glycosylées naturelles :** ***Synthèse de saponines adjuvantes QS-21-Api (finale)***



# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

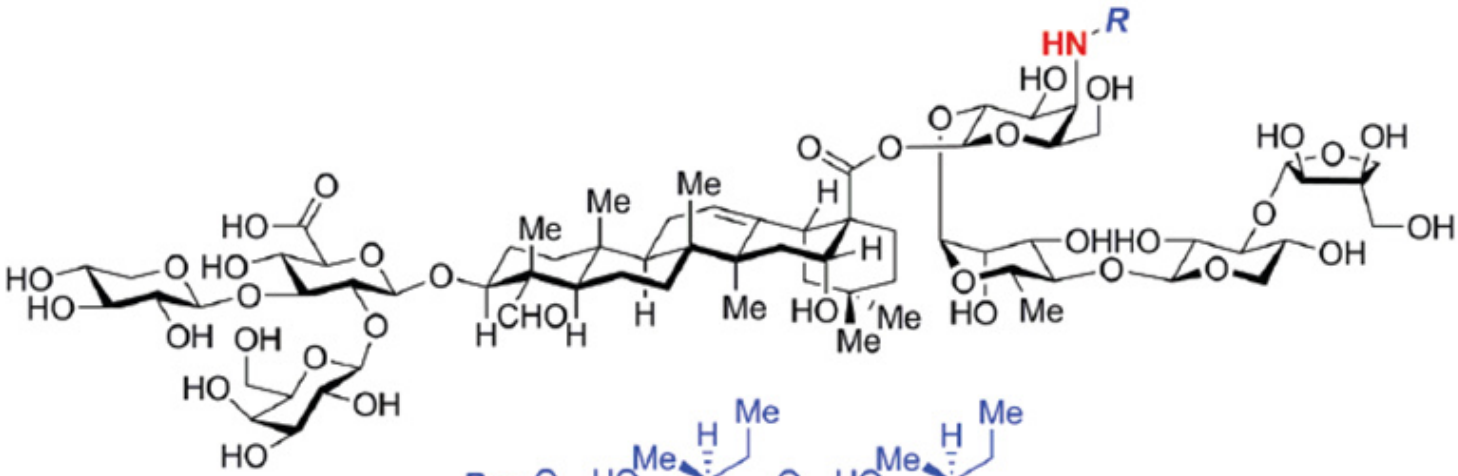
**Molécules glycosylées naturelles : *Synthèse de dérivés de QS-21-Api***

- Problèmes associés avec l'utilisation de QS-21 comme adjuvant ?
  - Haute variabilité des extraits de *Quillaja saponaria*
  - Faible rendement d'extraction
  - Difficultés dans la séparation par HPLC-préparatif
  - Pas disponible commercialement
  - Ressource plus ou moins renouvelables (arbre)
  - **Toxicité *in vivo*** (dose maximale tolérée <150 µg)
  - **Instabilité chimique** (dégradation après quelques jours dans le PBS à rt)

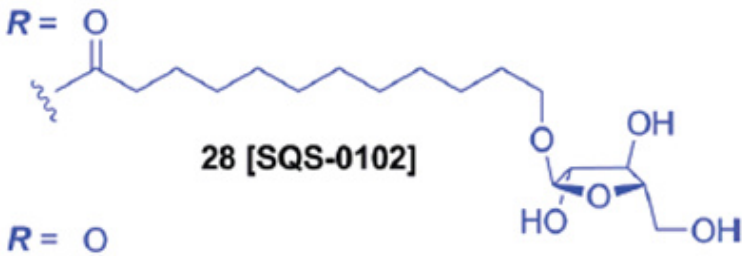
***Q. saponaria***

# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

**Molécules glycosylées naturelles :** ***Synthèse de dérivés QS-21 stables à l'hydrolyse***



**27 [SQS-0101]**

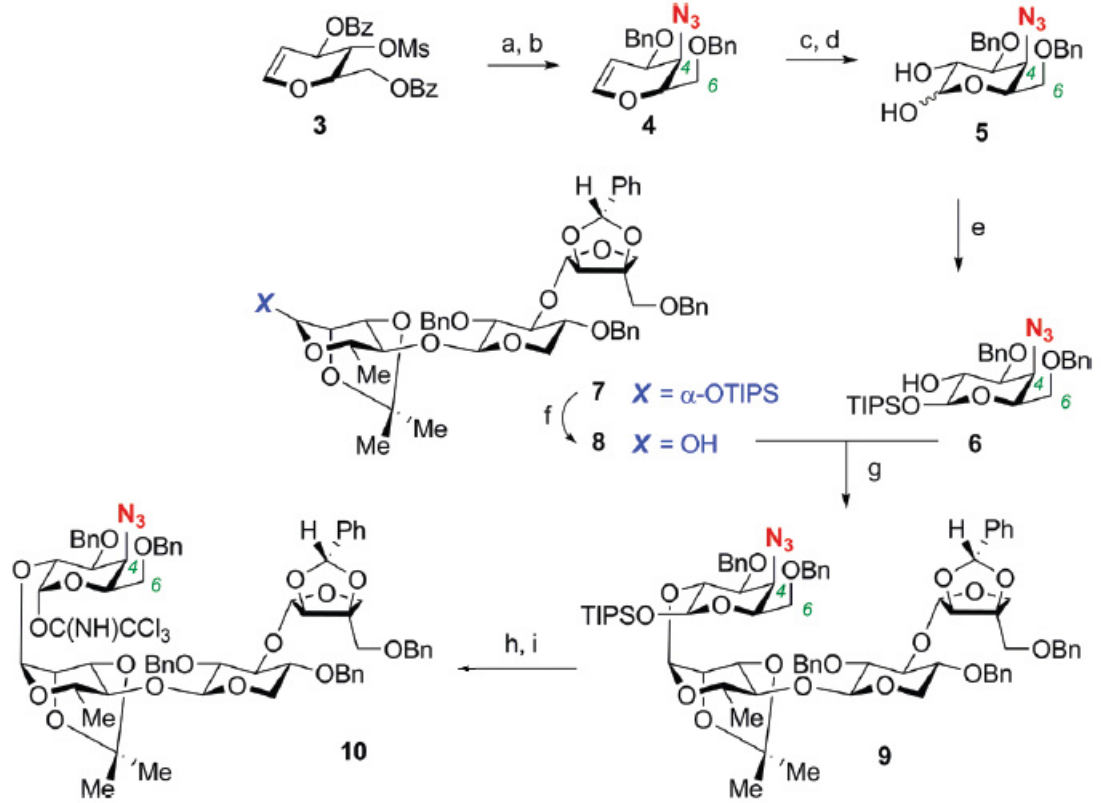


**28 [SQS-0102]**

**29 [SQS-0103]**

# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

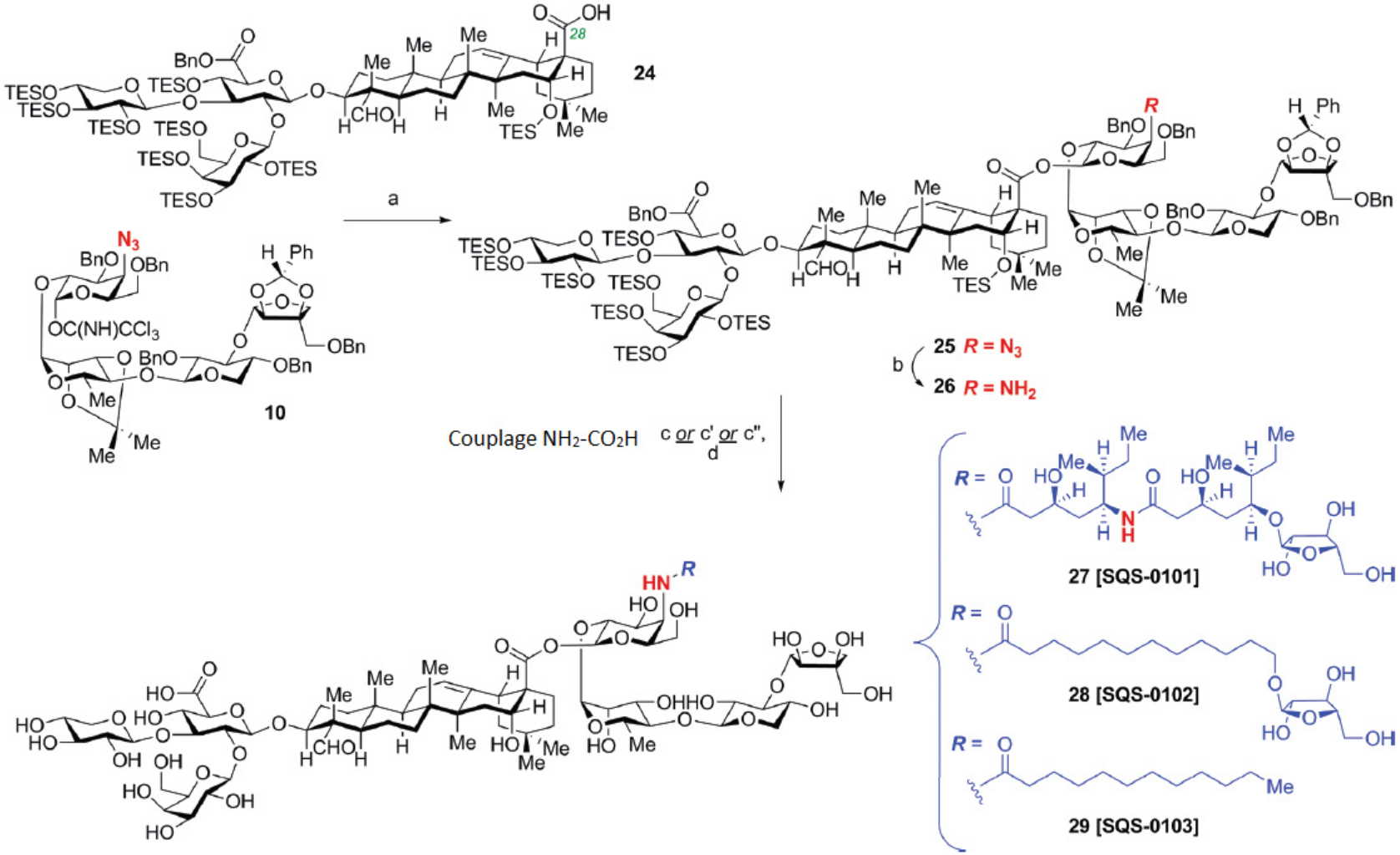
**Molécules glycosylées naturelles :** ***Synthèse de dérivés QS-21 stables à l'hydrolyse (1ère étape)***



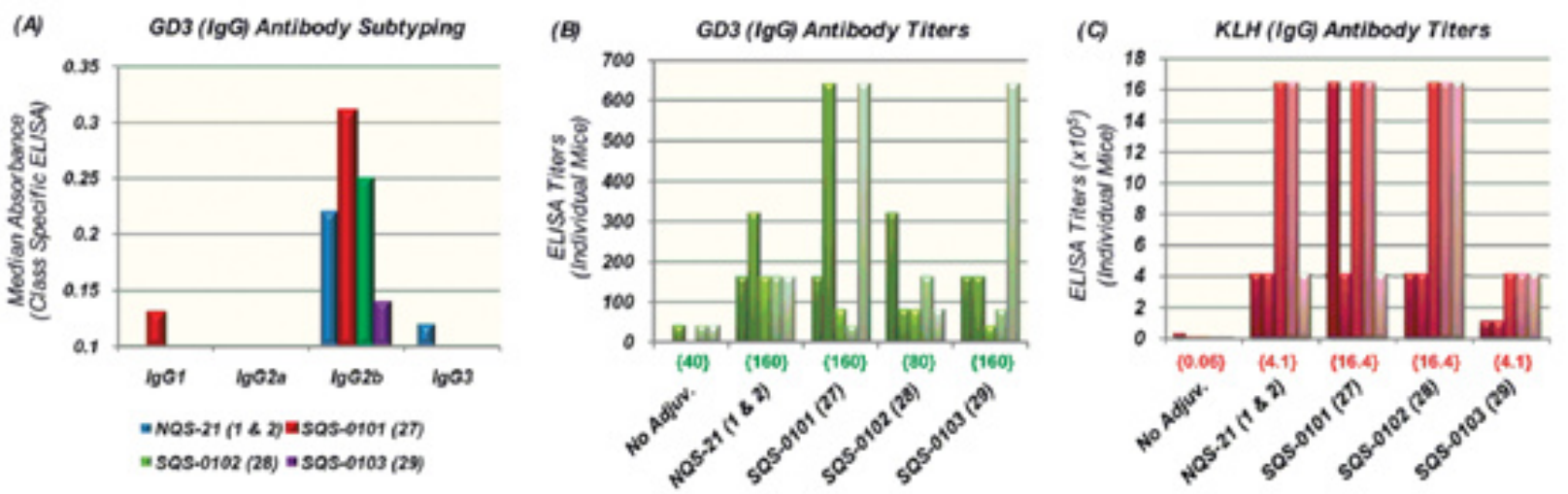
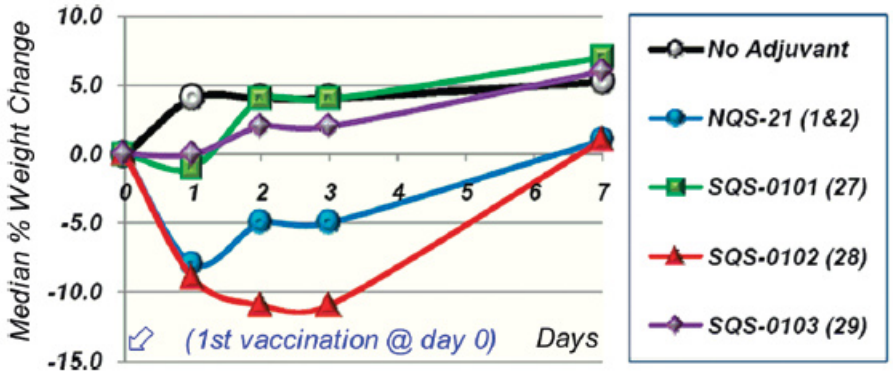
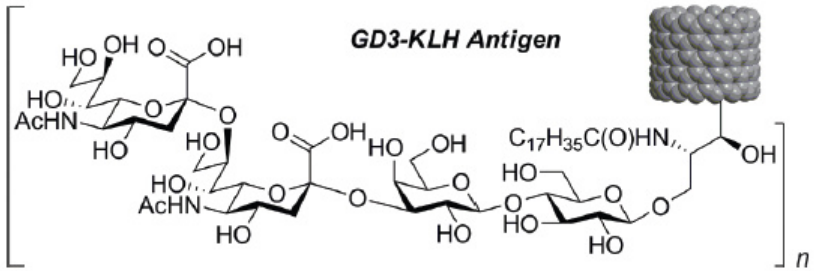

[a] Reagents and conditions: (a) $NaN_3$, $Bu_4NCl$, PhMe, 110 °C, 66%; (b) NaOH, MeOH, 23 °C; NaH, BnBr, DMF, 23 °C, 78%; (c) $PhI(OAc)_2$, $BF_3 \cdot OEt_2$, $CH_2Cl_2$, −50→−25 °C, 85%; (d) $K_2CO_3$, MeOH, $H_2O$, 23 °C, 84%; (e) TIPSCl, imidazole, DMAP, DMF, 23 °C, 59%; (f) TBAF, THF, 23 °C, 98%; (g) **8**, $Tf_2O$, $Ph_2SO$, TBP, $CH_2Cl_2$, −55 °C; add **6**, −78→23 °C, 67%; (h) TBAF, THF, 0 °C, 93%; (i) $CCl_3CN$, DBU, $CH_2Cl_2$, 0→23 °C, 95%.

# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

**Molécules glycosylées naturelles :** ***Synthèse de dérivés QS-21 stables à l'hydrolyse (2e étape)***




[a] Reagents and conditions: (a) $BF_3 \cdot OEt_2$, 4 Å ms, $CH_2Cl_2$, −78→23 °C, 82%; (b) PhSeH, $Et_3N$, 30 °C, 91%; (c) **19**, EtOCOCl, $Et_3N$, THF, 0 °C; add **2**( 10 °C, 93%; (c′) **22**, EtOCOCl, $Et_3N$, THF, 0 °C; add **26**, 12 °C, 89%; (c″) **23**, TBP, $CH_2Cl_2$, 23 °C, 98%; (d) Pd/C, $H_2$, THF, EtOH, 23 °C; TFA, $H_2$( 23 °C, RP-HPLC, 85% (for **27**), 78% (for **28**), 69% (for **29**).

# 6. Synthèse totale de glycoconjugués

**Molécules glycosylées naturelles :** ***Tests immunologiques et de toxicité in vivo avec dérivés***