

NOUVELLE MÉTHODE DE SYNTHÈSE STÉRÉOSÉLECTIVE DE GLYCOSIDES. SYNTHÈSE DES α,α -TRÉHALOSE, ANALOGUES *galacto*, *manno* ET AUTRES α -D-GLYCOSIDES*

ANDRÉ A. PAVIA†, JEAN-MICHEL ROCHEVILLE ET SAK N. UNG

Laboratoire de Chimie Bioorganique, Faculté des Sciences, 33, rue Louis Pasteur, 84000 Avignon (France)

(Reçu le 6 décembre 1978; accepté après modification le 20 avril 1979)

ABSTRACT

In the presence of trifluoromethanesulfonic (triflic) anhydride as catalyst and dichloromethane as solvent, in the cold, 2,3,4,6-tetra-*O*-benzyl-D-glucopyranose, 2,3,4,6-tetra-*O*-benzyl-D-galactopyranose, and 2,3,4,6-tetra-*O*-benzyl-D-mannopyranose were converted in almost quantitative yield to a 2:1 mixture of the corresponding α,α -(1→1) and α,β -(1→1) disaccharides. Hence, pure 2,3,4,6,2',3',4',6'-octa-*O*-benzyl derivatives of α,α -trehalose, and the D-*galacto* and D-*manno* analogues were obtained, after column chromatography, in 55-65% yield. Hydrogenolysis gave the corresponding free sugars. The pure anomers were obtained in 10-34% yield. The potentiality of the method was demonstrated by the synthesis of 2,3,4,6-tetra-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl 2,3:4,5-di-*O*-isopropylidene- β -D-fructopyranoside in 50% yield, and of *N*-(benzyloxycarbonyl)-3-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-L-threonine methyl ester in 65% yield.

SOMMAIRE

La réaction à froid d'un dérivé benzylé d'un monosaccharide avec l'anhydride trifluorométhanesulfonique (anhydride triflique) dans le dichlorométhane donne le (1→1)-disaccharide avec un rendement presque quantitatif (>95%). Ainsi les 2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl-D-glucopyranose, 2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl-D-galactopyranose et 2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl-D-mannopyranose ont été transformés en un mélange d' α,α - et d' α,β -(1→1)-disaccharides dans le rapport 2:1. Après chromatographie sur colonne de gel de silice les anomères α,α du tréhalose et les analogues *galacto* et *manno* ont été obtenus purs avec des rendements respectifs de 54, 53 et 65% et les disaccharides α,β correspondants avec des rendements de 10 à 34%. Les mêmes conditions expéri-

*Communication présentée au cours des "VIIIème Journées sur la Chimie et la Biochimie des Glucides", Chamerolles, Orléans, 18-20 décembre 1978, résumé de la communication no. 47. Résultats obtenus dans le cadre de la R.C.P. 529 "Glucides et Glycoconjugués" du C.N.R.S.

†À qui toute correspondance doit être adressée. Appartient à l'équipe de recherche associée au C.N.R.S. no. 195 de l'E.N.S.C. de Montpellier.

mentales ont pu être appliquées avec succès à la synthèse du 2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl-2,3:4,5-di-*O*-isopropylidène- β -D-fructopyranoside (rdt. 50%) et de l'ester méthylique de la *N*-(benzyloxycarbonyl)-3-*O*-(2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-L-thréorine (rdt. 65%).

INTRODUCTION

L' α,α -tréhalose (α -D-glucopyranosyl- α -D-glucopyranoside) est un disaccharide largement répandu dans la nature où on le trouve chez les insectes, les bactéries, les champignons et autres microorganismes¹. Le métabolisme des glucides chez les organismes ci-dessus est lié à la présence de glucosylhydrolases: les tréhalases. L'étude de la spécificité et du mécanisme d'action de ces tréhalases a stimulé la synthèse de (1 $\rightarrow$ 1)-disaccharides symétriques²⁻⁸ (analogues du tréhalose) ou disymétriques⁹⁻¹¹ (type tréhalosamine) dans le but de trouver des inhibiteurs spécifiques de ces enzymes, ces inhibiteurs pouvant être considérés parallèlement comme des pesticides, bactéricides ou fongicides potentiels. Par ailleurs, la découverte chez certaines levures de l'espèce streptomyces de (1 $\rightarrow$ 1)-disaccharides disymétriques, 2-amino-2-désoxy- α,α -tréhalose¹², 4-amino-4-désoxy- α,α -tréhalose¹³ et 2-amino-2-désoxy- α -D-glucopyranosyl- α -D-mannopyranoside¹², ayant une activité antibiotique ainsi que la recherche de nouveaux substrats pouvant servir de modèles d'étude de la théorie du goût¹⁴ renforce l'intérêt de développer des méthodes de synthèse améliorées de ce type de disaccharides.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

L' α,α -tréhalose a été synthétisé à partir de dérivés simples du D-glucose selon différentes méthodes de glycosylation: condensation¹⁵⁻¹⁷ selon Fischer, condensation¹⁸ entre l'anhydride de Brigl et le 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-D-glucopyranose, condensation^{6,19} selon Koenigs-Knorr entre le 2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl-D-glucopyranose ou le triméthylsilyl- α -D-glucoside correspondant et le chlorure ou le bromure de glucosyle. A l'exception du travail de Klemer *et al.*⁶ et Koto *et al.*¹⁷, les rendements en anomères α,α sont faibles, entre 1% et 18%. Koto *et al.*¹⁷ mettent à profit la propriété qu'a le dichlorodiphénylsilane de se polymériser en présence d'eau. En utilisant ce réactif, les auteurs obtiennent des mélanges d' α,α - et d' α,β -tréhalose dans le rapport $\sim 1:2$. Les rendements en anomères α,α varient entre 7 et 38% selon la nature des sels d'argent utilisés.

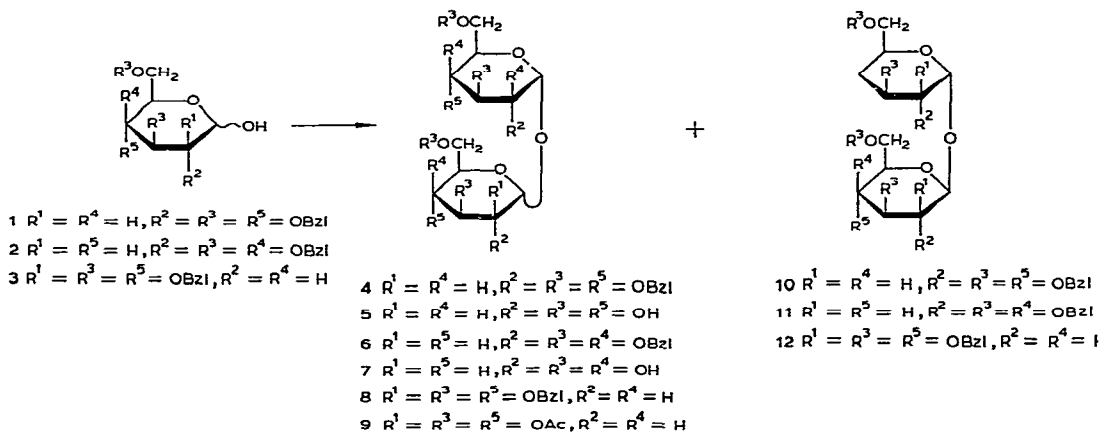
Leroux et Perlin^{20,21} ont montré récemment qu'il était possible de synthétiser des α -D-glycosides à partir de monosaccharides possédant le groupe hydroxyle anomère libre, par addition d'un alcool à un mélange de monosaccharide, de bromure de tétrabutylammonium, de 2,4,6-triméthylpyridine et d'anhydride trifluorométhanesulfonique (anhydride triflique) dans le dichlorométhane. Ces auteurs proposaient le mécanisme suivant: formation intermédiaire du 1-trifluorométhanesulfonate (triflate) qui conduit, en présence d'un excès d'ion bromure au bromure de β -D-glycosyle correspondant, puis déplacement de l'halogénure de glycosyle par l'alcool. Les essais

que nous avons effectués selon ce protocole dans le but de synthétiser des *O*-glycosyl-aminoacides²² ont montré, pour ce type de substrat tout au moins, une absence de reproductibilité et nous ont amené à utiliser l'anhydride triflique dans un autre but que celui de promouvoir la formation des 1-triflates intermédiaires, comme c'est le cas dans le travail de Leroux et Perlin^{20,21}.

Dans le présent travail nous rapportons une synthèse générale d' α,α -(1 $\rightarrow$ 1)-disaccharides symétriques, bien plus simple, plus directe et de rendement supérieur à celles décrites jusqu'à ce jour dans la littérature. La réaction est conduite dans le dichlorométhane à froid en présence d'anhydride triflique (1 à 1,5 équiv. par mole de sucre) et dure en moyenne 30 min. Dans ces conditions le 2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl-D-glucopyranose (**1**) est transformé presque quantitativement (rdt. 97%) en un mélange de 2,3,4,6,2',3',4',6'-octa-*O*-benzyl α,α - (**4**) et de α,β -tréhalose (**10**) dans le rapport 2 : 1. Les composés **4** et **10** sont obtenus à l'état pur avec des rendements respectifs de 54 et 25% après chromatographie du produit brut de la réaction sur une colonne de gel de silice. Les composés **4**, **5**, et **10** ont été identifiés par leur spectre de r.m.n.-¹H et ¹³C ainsi que par comparaison avec des échantillons authentiques.

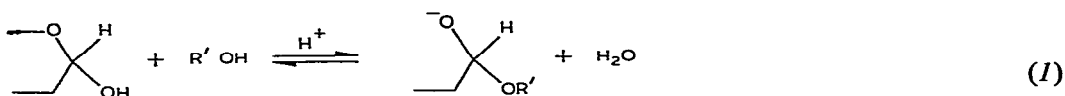
À partir du 2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl-D-galactopyranose (**2**) les anomères α,α (**6**) et α,β (**11**) du *galacto*-tréhalose [(2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl-D-galactopyranosyl)-2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl-D-galactopyranoside] ont été obtenus après chromatographie sur gel de silice avec des rendements respectifs de 53 et 32%. L'hydrogénolyse de **6** dans le méthanol en présence de palladium sur charbon conduit quantitativement au disaccharide libre **7**, analogue au composé obtenu précédemment³ à partir de l' α,α -tréhalose. De la même façon, le 2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl-D-mannopyranose (**3**) conduit avec un rendement de 95% au mélange de (2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- α -D-mannopyranosyl)-2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- α - (**8**) et β -D-mannopyranoside (**12**) qui ont été séparés par chromatographie sur colonne.

Comme celle du tréhalose, les molécules de l' α,α -D-*galacto* et α,α -D-*manno*-analogues possèdent un axe de symétrie d'ordre 2 passant par l'atome d'oxygène de la liaison glycosidique. Les deux résidus de D-galactose et de D-mannose sont par

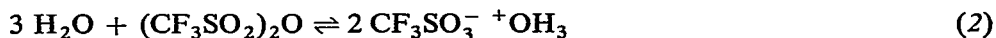


conséquent chimiquement et physiquement indifférenciables, comme on peut le voir sur les spectres de r.m.n.- ^1H et ^{13}C . En r.m.n.- ^{13}C , les spectres de 6 et 7 présentent les signaux relatifs à un seul résidu de D-galactose: dix pics situés entre 93,54 (C-1) et 68,91 p.p.m. (C-6) pour 6 et six pics entre 94,32 (C-1) et 62,02 (C-6) pour le disaccharide non substitué 7. En r.m.n.- ^1H , 7 est caractérisé par le doublet (J 3,8 Hz) à champ faible (δ 4,79) pour H-1 et le quadruplet (J 3,8 Hz et J 11 Hz) pour le proton H-2 situé à δ 3,46. Par ailleurs, les protons H-5 (triplet $J = J' = 6,0$ Hz) et H-6 et H-6' (doublet, $J = 6,0$ Hz) sont présents respectivement à δ 3,63 et 3,30. Il en est de même pour la molécule du dérivé *manno* dont le spectre de r.m.n.- ^{13}C est caractérisé par dix signaux entre 93,25 (C-1) et 69,01 p.p.m. (C-6) pour 8 et cinq signaux dont celui de C-1 à 96,77 p.p.m. pour 9. La configuration α -D de 8 est confirmée sans ambiguïté par la valeur de la constante de couplage $J_{\text{C-1,H-1}}$ 170,75 Hz.

Les résultats rapportés dans ce travail semblent s'inscrire dans le cadre de la formation acido-catalysée de glycosides* (méthode de Fischer) selon l'équation (1).



Dans la préparation des alkyl-glycosides simples, l'alcool $\text{R}'\text{OH}$ est utilisé en très grand excès par rapport au sucre et l'équilibre (1) est ainsi déplacé vers la droite. Dans les autres cas où les réactifs sont en quantités voisines de la stoechiométrie, l'efficacité de la méthode dépend strictement de celle avec laquelle l'eau formée au cours de la condensation est éliminée du milieu réactionnel. Dans le système que nous utilisons, cette fonction essentielle pourrait être remplie par l'anhydride triflique selon l'équation (2). L'acide triflique est capable de former un monohydrate $(\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H} \cdot$

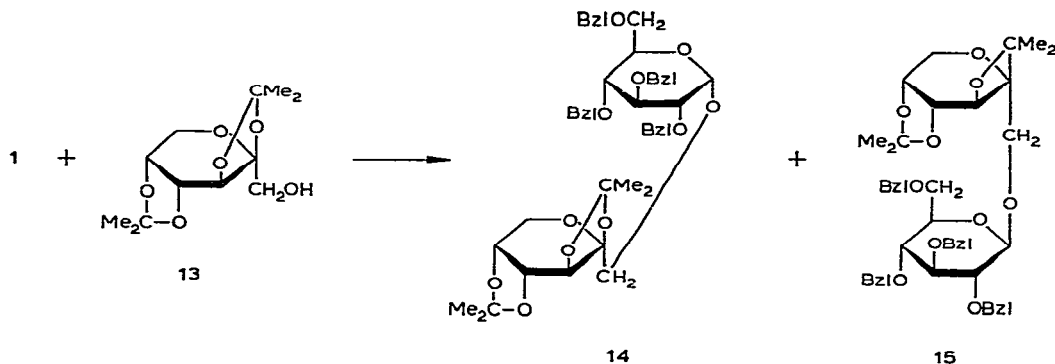


H_2O ou $\text{CF}_3\text{SO}_3^- \cdot \text{H}_3\text{O}^+$) stable (p.f. 34°) et isolable²⁵. Si un tel composé se forme dans le milieu, le "nucléophile" H_2O ainsi "piégé" n'est plus en compétition avec OH-1 du monosaccharide d'où l'obtention quasi-quantitative de glycoside. L'acide triflique qui catalyse la réaction peut être contenu dans l'anhydride lui-même (cf. méthode de préparation)²⁵, soit être créé probablement à l'état de traces lors de la

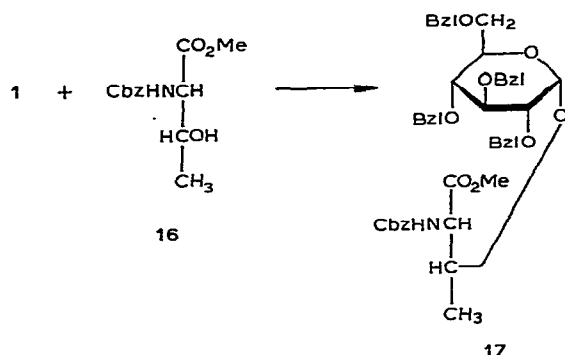
*En l'absence d'une base, la formation d'un dérivé 1-trifluorométhanesulfonate^{23,24} qui réagirait immédiatement avec l'alcool pour conduire au glycoside correspondant est peu vraisemblable. Par ailleurs nous avons pu montrer à ce jour que des résultats similaires pouvaient être obtenus en remplaçant l'anhydride triflique par l'acide lui-même. Dans ce cas, le contrôle en c.c.m. montre la disparition du produit de départ et la formation concomitante des disaccharides plus rapide que dans le cas de l'anhydride. Par contre leur isolement s'est avéré plus difficile, les produits étant rapidement dégradés. Néanmoins, moyennant un contrôle strict de la température et du temps de réaction, nous avons pu de cette façon synthétiser les 2,3,4,6,2',3',4',6'-octa-O-benzyl- α - et α,β -D-galacto-tréhalose (cf. partie expérimentale). Cette observation renforce l'hypothèse d'une condensation par réversion acide.

formation éventuelle de triflate. Dans cette réaction de condensation, le monosaccharide tétrabenzylé joue à la fois le rôle de "substrat" et de "réactif".

Nous avons essayé d'étendre la méthode à la synthèse d'autres glycosides. Pour ce faire, il est nécessaire de minimiser la réaction d'autocondensation. Cette condition se trouve réalisée par l'augmentation de la concentration du "réactif" par rapport à celle du "substrat". Si l'on introduit dans le milieu réactionnel un second "réactif" tel qu'un hydroxyaminoacide ou un monosaccharide possédant une fonction hydroxyle libre en position autre qu'en C-1, il y a compétition entre les deux nucléophiles. Les résultats que nous rapportons ci-après montrent que cette compétition est en faveur de la formation du *O*-glycosylaminoacide ou du disaccharide mixte lorsqu'on utilise 3 à 4 équiv. de "réactif" pour 1 équiv. de "substrat". C'est ainsi par exemple que le 2,3:4,5-di-*O*-isopropylidène-1-*O*-(2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl-*D*-glucopyranosyl)- β -*D*-fructopyranose a pu être obtenu (rdt. global 79%), par réaction du 2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl-*D*-glucose (**1**) avec le 2,3:4,5-di-*O*-isopropylidène- β -*D*-fructopyranose (**13**), sous forme d'un mélange d'anomères α (**14**) et β (**15**). Ces derniers ont été séparés avec des rendements respectifs de 50% et 10% par chromatographie sur colonne de gel de silice. De la même manière, l'ester méthylique de la *N*-(benzyloxycarbonyl)-*L*-thréonine (**16**) a pu être condensé avec **1** pour conduire



au *O*-glycosylaminoacide correspondant, l'ester méthylique de la *N*-(benzyloxycarbonyl)-3-*O*-(2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- α -*D*-glucopyranosyl)-*L*-thréonine (**17**), obtenu pur cristallisé (rdt. 65%). Les spectres de r.m.n.- ^1H et ^{13}C sont en accord avec les structures ci-dessus. En particulier, la configuration anomérique α de **14** est confirmée par le déplacement chimique de C-1 du résidu de *D*-glucose: 98,22 contre 103,36 p.p.m. pour l'anomère β (**15**). Le signal de C-1 du résidu de *D*-fructose est remarquablement stable: 102,36 dans **14** et 102,32 p.p.m. dans **15**. La stéréochimie de **17** est caractérisée par la position des signaux du C-1 (98,04 p.p.m.) et de H-1 (4,85 p.p.m., d, $J_{1,2}$ 3,6 Hz). Bien entendu, dans chacun des deux exemples cités ci-dessus, le mélange réactionnel contient des quantités variables, mais toujours faibles de **4** et **10**. Néanmoins, la mobilité chromatographique de ces derniers étant très différente de celle des composés de condensation, leur séparation ne pose aucun problème. Au contraire, sur le plan pratique la formation des dérivés de l' α , α - et α , β -tréhalose



permet d'éliminer du milieu réactionnel **1** qui n'aurait pas réagi. En effet, le R_f de ce dernier est très voisin de celui des produits de condensation et sa présence rendrait difficile leur purification.

En conclusion, nous pensons que par la simplicité de sa mise en oeuvre et du protocole expérimental, par sa rapidité (une seule étape, quelques minutes), par l'absence de précautions particulières concernant l'anhydricité des solvants et des réactifs, par la bonne stéréospécificité de la condensation ainsi que par l'importance des rendements, cette réaction représente une méthode de choix pour la synthèse des α,α -(1 $\rightarrow$ 1)-glycosyl-glycosides symétriques. Par ailleurs, nous avons pu également montrer que cette méthode ne se limitait pas à la synthèse de ce seul type de substrat et qu'elle pouvait être appliquée avec succès à celle d'autres α -D-glycosides (α - et β -D-galactopyranosyl, et α - et β -D-glucopyranosyl-thréonine et -sérine, de même que α - et β -D-galactopyranosyl- et α - et β -D-xylopyranosylhydroxyproline²²).

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Méthodes générales. — Le déroulement des réactions ainsi que l'homogénéité des composés décrits ont été contrôlés par chromatographie sur couche mince (c.c.m.) de gel de silice (Merck F 254, Merck, Darmstadt, Allemagne), la révélation des plaques étant assurée par vaporisation d'une solution 10% d'acide sulfurique suivi du chauffage à 100°. Les purifications ont été réalisées par chromatographie sur colonne de gel de silice (Merck 60). Les points de fusion ont été mesurés sur l'appareil Tottoli et sont rapportés non corrigés. Les pouvoirs rotatoires ont été mesurés sur un polarimètre Perkin-Elmer type 241 MC. Les microanalyses élémentaires ont été effectuées par le Service Central de Microanalyse du C.N.R.S., division de Montpellier. Les spectres de r.m.n.-¹H ont été enregistrés à 100 MHz sur un appareil Varian type HA 100 et à 250 MHz sur un appareil Cameca (Thomson C.S.F.); les déplacements chimiques sont donnés en δ par rapport au tétraméthylsilane pris comme référence interne dans tous les cas où le solvant est organique, et par rapport au tétraméthylsilane en référence externe pour les solutions aqueuses. Les spectres du r.m.n.-¹³C ont été enregistrés sur appareil Brüker WP 80 DS à 20,115 MHz et sur

un appareil Cameca pour ceux effectués à la fréquence de 62,86 MHz; les déplacements chimiques sont exprimés en δ par rapport au signal du tétraméthylsilane pris en référence interne ou externe selon le cas.

Les 2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl-D-glucopyranose (1), 2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl-D-galactopyranose (2) et 2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl-D-mannopyranose (3) ont été préparés selon la technique décrite par Koto *et al.*²⁶. Les produits ont été purifiés par recristallisation ou chromatographie sur colonne de gel de silice et leurs caractéristiques physiques sont conformes à celles rapportées par ces auteurs.

Conditions générales de glycosylation. — Le monosaccharide benzylé (4 g) est dissous dans le dichlorométhane anhydre (20 mL) et la solution est refroidie dans un bain d'alcool à -70° ou dans un mélange carboglace-acétone. A cette solution refroidie est ajoutée une solution également refroidie d'anhydride triflique (3 g) dans le dichlorométhane anhydre (10 mL) (cette condition s'est avérée ne pas être nécessaire), de sorte que la proportion des réactifs dans le milieu réactionnel soit $\sim 1,5$ équiv. d'anhydride triflique par mol de sucre. Le mélange ci-dessus est agité pendant quelques minutes à la température de -70° , puis le vase réactionnel est sorti du bain. On laisse la température revenir à la température ambiante en maintenant l'agitation et en suivant la disparition du produit de départ en c.c.m. Lorsque la réaction est terminée (généralement 20–40 min), le vase réactionnel est plongé dans le bain à -70° et le mélange repris par l'eau, puis extrait par du dichlorométhane ou du chloroforme. La phase organique est lavée par une solution d'hydrogénocarbonate de sodium, de l'eau (jusqu'à neutralité), séchée (sulfate de sodium) et le solvant évaporé sous vide. Le produit brut est obtenu sous forme d'un liquide très visqueux semi-cristallin que l'on purifie par chromatographie sur colonne de gel de silice.

2,3,4,6,2',3',4',6'-Octa-*O*-benzyl- α,α - (4) et - α,β -tréhalose (10). — Le composé 1 (2,1 g) est mis en réaction avec l'anhydride triflique (1,5 g) comme décrit ci-dessus. Après traitement, le produit brut (2,0 g, 97%) très visqueux légèrement coloré en jaune est chromatographié sur une colonne de gel de silice (150 g) et élué avec un mélange chloroforme-éther 24:1 (v/v) donnant 4 (1,15 g, rdt. 54%) et 10 (0,54 g, 25%) à l'état pur sous forme d'une huile incolore très visqueuse, le reste étant constitué de fractions en mélange.

Composé 4: $[\alpha]_D^{20} + 83^\circ$ (*c* 1,60, chloroforme); r.m.n.- ^{13}C (chloroforme-*d*): δ 94,26 (C-1), 81,83, 79,56, 77,87, 75,55, 75,01, 73,55, 72,82, 70,77, 68,41, superposable au spectre du produit obtenu par action du bromure de benzyle sur l' α,α -tréhalose.

Anal. Calc. pour $\text{C}_{68}\text{H}_{70}\text{O}_{11}$: C, 76,83; H, 6,59. Trouvé: C, 76,20; H, 6,51.

L'hydrogénolyse de 4 en présence de palladium sur charbon donne l' α,α -tréhalose identique à un échantillon authentique.

Composé 10: $[\alpha]_D^{20} + 43^\circ$ (*c* 1,35, chloroforme); r.m.n.- ^{13}C : δ 104,27 (C-1, anomère β), 99,54 (C-1, anomère α), 84,84, 82,29, 82,11, 81,88, 79,88, 78,15, 77,87, 76,19, 75,60, 75,14, 75,01, 74,55, 73,46, 73,28, 71,37, 69,136, 68,27.

(2,3,4,6-Tétra-*O*-benzyl- α -D-galactopyranosyl)-2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- α - (6) et - β -D-galactopyranoside (11). — (a) Le composé 2 (3,3 g) est traité comme précé-

demment pour conduire à un produit brut (3,20 g, rdt. 98 %) qui, chromatographié sur gel de silice et élué avec acétate d'éthyle-benzène 1:9 (v/v), donne **6** (1,63 g, rdt. 53 %) et **11** (1,02 g, rdt. 32 %), obtenus sous forme d'huile incolore très visqueuse dont les caractéristiques sont les suivantes:

Composé 6: $[\alpha]_D^{20} + 147,7^\circ$ (c 0,65, chloroforme); r.m.n.- ^{13}C (chloroforme-*d*): δ 93,54 (C-1), 78,66, 75,98, 75,00, 74,76, 73,39, 72,71 (2), 69,64, 68,91.

Anal. Calc. pour $\text{C}_{68}\text{H}_{70}\text{O}_{11}$: C, 76,83; H, 6,59. Trouvé: C, 76,29; H, 6,59.

Composé 11: $[\alpha]_D^{20} + 37,3^\circ$ (c 1,1, chloroforme); r.m.n.- ^{13}C (chloroforme-*d*): 103,82 (C-1, anomère β), 99,86 (C-1, anomère α), 82,47, 79,06, 76,19, 75,28, 74,87, 74,73, 73,69, 73,37, 73,10, 72,78, 69,91, 68,73, 68,41.

Anal. Calc. pour $\text{C}_{68}\text{H}_{70}\text{O}_{11}$: C, 76,83; H, 6,59. Trouvé: C, 76,82; H, 6,52.

(b) Les solutions de **2** (1 g) dans le dichlorométhane (20 mL) (solution I) et d'acide trifluorométhanesulfonique (0,3 g) dans le même solvant (5 mL) (solution II) sont refroidies à -60° . La solution II refroidie est ajoutée en 5 fractions également espacées dans le temps à la solution I maintenue à -60° et le contrôle réalisé par c.c.m. Au bout de 40 min le produit de départ a disparu, le mélange réactionnel traité comme précédemment pour conduire à 980 mg d'un mélange qui a été purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice. Les composés **6** (377 mg) et **11** (202 mg) ont été obtenus purs à côté d'un composé fluorescent très peu polaire, non identifié (120 mg) et de fractions en mélange.

α -D-Galactopyranosyl- α -D-galactopyranoside (7). — Une solution de **6** (155 mg) dans l'éthanol (30 mL) contenant 150 mg de palladium sur charbon 10 % est agitée pendant 24 h sous atmosphère d'hydrogène (10 bars). Le mélange réactionnel est ensuite filtré sur Célite, rincé et le filtrat évaporé pour conduire quantitativement à **7**, homogène en c.c.m. sur gel de silice (propanol-éthanol-acétate d'éthyle-acide acétique-pyridine-eau 7:3:3:2:2:3, v/v), p.f. (éthanol) $264-267^\circ$, $[\alpha]_D^{20} + 235^\circ$ (c 0,35, eau); r.m.n.- ^{13}C (62,86 MHz, oxyde de deutérium, Me_4Si réf. ext.): δ 94,32 (C-1), 72,12 (C-5), 70,20, 69,98, 68,97 (C-2, -3, -4), 62,02 (C-6); r.m.n.- ^1H (250 MHz, oxyde de deutérium, Me_4Si réf. ext.): δ 4,79 (d, $J_{1,2}$ 3,8 Hz, H-1), 3,63 (t, $J_{5,6}$ 6,0 Hz, H-5), 3,56 (m, H-3, H-4), 3,46 (q, $J_{2,3}$ 11 Hz, H-2), 3,3 (d, 2 H, $J_{5,6}$ 6,0 Hz, H-6); lit.³ p.f. $267-272^\circ$, $[\alpha]_D + 244^\circ$ (c 0,3, eau).

(2,3,4,6-Tétra-O-benzyl- α -D-mannopyranosyl)-2,3,4,6-tétra-O-benzyl- α -D-mannopyranoside (8). — Le composé **3** (1,90 g, 3,52 mmol) est mis en réaction comme indiqué précédemment. La réaction est complète au bout de 20 min. Après traitement du mélange réactionnel et évaporation du chloroforme d'extraction, le produit brut (1,80 g, rdt. 96 %) visqueux, légèrement coloré, présentant deux spots en c.c.m. (benzène-éther 19:1, v/v) est obtenu. Le mélange est purifié par chromatographie sur une colonne de gel de silice (120 g). L'élution avec éther-benzène 1:19 (v/v) permet d'obtenir 1,2 g (rdt. 65 %) de **8** pur, ainsi que 0,272 g (rdt. 14 %) d'un mélange de **8** et de son anomère α,β qui n'a pu être obtenu à l'état pur (il se décompose partiellement sur la colonne); $[\alpha]_D^{20} + 40^\circ$ (c 0,85, chloroforme); r.m.n.- ^{13}C (chloroforme): δ 93,25 (C-1), 79,44, 75,25, 74,25, 74,62, 73,93, 73,45, 72,61, 72,32, 72,03, 69,00 (C-6).

Anal. Calc. pour $C_{68}H_{70}O_{11}$: C, 76,83; H, 6,59. Trouvé: C, 76,73; H, 6,60.

(2,3,4,6-Tétra-O-acétyl- α -D-mannopyranosyl)-2,3,4,6-tétra-O-acétyl- α -D-mannopyranoside (9). — Le composé 8 (250 mg, 0,23 mmol) en solution dans l'éthanol (10 mL) a été hydrogéné (1 atm.) en présence de palladium sur charbon 10 % (200 mg). Après 24 h, le catalyseur est essoré sur Célite et lavé abondamment avec de l'eau chaude (5×10 mL). La solution aqueuse a été lyophilisée et le résidu solide (50 mg), séché (P_2O_5), puis directement traité par anhydride acétique-pyridine à température ambiante pendant 24 h. Le mélange réactionnel traité selon la méthode habituelle conduit à un produit solide (100 mg) qui, après filtration sur une colonne de gel de silice, a été recristallisé dans éther-éther de pétrole, p.f. $70-75^\circ$, $[\alpha]_D^{20} +66,5^\circ$ (c 0,85, chloroforme); r.m.n.- ^{13}C (chloroforme- d): δ 93,58 (C-1), 69,91, 69,36, 68,82, 65,81, 62,26, 20,80, 20,62; lit.⁷ $[\alpha]_D +65^\circ$ (c 1,0, chloroforme).

2,3:4,5-Di-O-isopropylidène- β -D-fructopyranose (13). — Un mélange de D-fructose (50 g), d'acétone anhydre (500 mL), d'acide sulfurique pur (0,75 mL) est agité jusqu'à dissolution complète du D-fructose (24 h) et l'agitation continuée pendant 24 h supplémentaires. Le mélange réactionnel est neutralisé par addition de carbonate de calcium anhydre (3 g) et l'agitation maintenue pendant 5 h. La solution est ensuite évaporée à sec sous vide et le résidu dissous dans l'eau. Le pH est ajusté à 8-9 par addition d'une solution d'hydroxyde de sodium 20%. Après élimination de l'oxyde de mésityle par distillation sous vide (0,1 mm Hg, 45°), le produit est repris par l'éthanol (200 mL) et agité en présence de charbon pendant une nuit. La solution est évaporée, reprise à l'eau et extraite au chloroforme (3×100 mL). La phase organique est séchée (sulfate de sodium anhydre), filtrée et évaporée à sec sous vide. Le résidu est repris par l'éther de pétrole pour donner 13 sous forme de cristaux blancs (25 g), recristallisés dans éther-éther de pétrole, p.f. $92-93^\circ$; r.m.n.- 1H (80 MHz, chloroforme- d): δ 4,52 (q, J 2,5 Hz, J 7,5 Hz, H-4), 4,38 (d, $J_{3,4}$ 2,5 Hz, H-3), 4,25 (d élargi, $J_{4,5}$ 7,5 Hz, H-5), 3,71 (s, 2 H, H-1), 1,57 (s, 12 H, CH_3 -isopropylidène), 1,50 1,42, 1,32; lit.²⁷ p.f. $95-96^\circ$.

2,3:4,5-Di-O-isopropylidène-1-O-[2,3,4,6-tétra-O-benzyl- α - (14) et β -D-glucopyranosyl]- β -D-fructopyranose (15). — À une solution de 13 (1,0 g, 4 mmol) et de 1 (0,54 g, 1 mmol) dans le dichlorométhane (2 mL) refroidie à -70° est ajouté l'anhydride triflique (0,25 mL, 1,5 mmol) et la réaction suivie en c.c.m. sur gel de silice. Après 8 min à température ambiante, 1 a disparu et le mélange réactionnel est traité comme précédemment et chromatographie sur colonne de gel de silice (200 g). L'élution par benzène-acétate d'éthyle 19:1 (v/v) permet de séparer trois fractions différentes en c.c.m. (benzène-acétate d'éthyle 9:1, v/v). Les composés 14 (0,394 g, rdt. 50%) et 15 (0,15 g, rdt. 19%) ont pu être obtenus purs sous forme d'huile à côté de fractions constituées d'un mélange de 14 et de 15 ($\sim 10\%$).

Composé 14: $[\alpha]_D^{22} +22,5^\circ$ (c 1,3 chloroforme); r.m.n.- ^{13}C (chloroforme- d , données partielles): δ 109,01 et 108,82 (C quaternaires isopropylidène), 102,36 (C-1, fructose), 98,22 (C-1, glucose), 26,67 (4 CH_3 isopropylidène), 26,08, 25,62, 24,21.

Anal. Calc. pour $C_{46}O_{11}H_{54}$: C, 70,58; H, 6,90; O, 22,50. Trouvé: C, 70,20; H, 6,87; O, 22,62.

Composé 15: $[\alpha]_D^{22} -6,25^\circ$ (c 1,35, chloroforme); r.m.n.- ^{13}C (chloroforme-*d*, données partielles): δ 109,01 et 108,69 (C quaternaires isopropylidène), 103,26 (C-1, glucose), 102,32 (C-1, fructose), 26,67 (4 CH_3 isopropylidène), 26,03, 25,76, 24,17.

Ester méthylique de la N-(benzyloxycarbonyl)-3-O-(2,3,4,6-tétra-O-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-L-thréonine (17). — À une solution de N-(benzyloxycarbonyl)-L-thréoninate de méthyle²⁸ (16), (1,07 g, 4 mmol) et de 1 (1,08 g, 2 mmol) dans le dichlorométhane, refroidie à -70° , est ajouté l'anhydride triflique (0,5 mL, 3 mmol). Après 20 min à température ambiante, le mélange réactionnel est traité, puis chromatographié sur une colonne de gel de silice (200 g) et élué par benzène-acétate d'éthyle 9:1 (v/v); 17 est obtenu pur sous forme d'un solide blanc, qui a été recristallisé dans éther-éther de pétrole (1,02 g, rdt. 65%), p.f. $86-88^\circ$, $[\alpha]_D^{20} +25,3^\circ$ (c 1,3, chloroforme); r.m.n.- ^{13}C (chloroforme-*d*, données partielles): δ 171,23 (CO ester), 156,84 (CO uréthane), 98,04 (C-1), 75,19 (C- α , thréonine), 71,14 (C-5, glucose), 68,54 (C-3, glucose), 67,13 (CH_2 benzyloxycarbonyl), 59,08 (C- β , thréonine), 52,39 (CH_3 ester), 19,07 (CH_3 thréonine); r.m.n.- ^1H (chloroforme-*d*, données partielles): δ 4,85 (d, $J_{1,2}$ 3,6 Hz, H-1), 4,36 (m, $J_{\alpha,\beta}$ 7,2 Hz, H- β thréonine), 4,32 (q, $J_{\text{H,NH}}$ 8,7 Hz, H- α thréonine), 3,43 (q, $J_{1,2}$ 3,6 Hz, $J_{2,3}$ 9 Hz, H-2).

Anal. Calc. pour $\text{C}_{47}\text{H}_{51}\text{NO}_{10}$: C, 71,48; H, 6,46; N, 1,77. Trouvé: C, 71,16; H, 6,47; N, 1,70.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient la Mairie d'Avignon et le Conseil Général du Vaucluse pour l'aide financière qu'ils leurs ont apportée sous la forme de deux postes d'ingénieurs de recherche (J.M.R. et S.N.U.). Les auteurs remercient également Monsieur Christian Gauffier (laboratoire de R.M.N. de l'U.S.T.L. de Montpellier) pour la réalisation des spectres du ^{13}C à 20,115 MHz ainsi que Messieurs J. Defaye et H. Driguez (C.N.R.S., Centre des Macromolécules végétales de Grenoble) pour leurs conseils et pour la réalisation des spectres de r.m.n.- ^1H et ^{13}C à hauts champs.

RÉFÉRENCES

- 1 G. BIRCH, *Adv. Carbohydr. Chem.*, 18 (1963) 201.
- 2 G. BIRCH ET A. C. RICHARDSON, *Carbohydr. Res.*, 8 (1968) 411-415.
- 3 G. BIRCH ET A. C. RICHARDSON, *J. Chem. Soc., C*, (1970) 749-752.
- 4 G. BIRCH, C. K. LEE, A. C. RICHARDSON ET Y. ALI, *Carbohydr. Res.*, 49 (1976) 153-160.
- 5 L. HOUGH, P. A. MONROE ET A. C. RICHARDSON, *J. Chem. Soc., C*, (1971) 1090-1094; L. HOUGH, A. K. PALMER ET A. C. RICHARDSON, *J. Chem. Soc., C*, (1972) 2513-2517.
- 6 A. KLEMER, E. BÜHE ET R. KUTZ, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, 739 (1970) 185-193.
- 7 F. MICHEEL ET D. BORRMANN, *Chem. Ber.*, 93 (1960) 1143-1147.
- 8 E. BAR-GUILLOUX, J. DEFAYE, H. DRIGUEZ ET D. ROBIC, *Carbohydr. Res.*, 45 (1975) 217-236.
- 9 C. K. LEE, *Carbohydr. Res.*, 50 (1976) 152-157.
- 10 J. DEFAYE, H. DRIGUEZ, B. HENRISSAT, J. GELAS ET E. BAR GUILLOUX, *Carbohydr. Res.*, 63 (1978) 41-49.
- 11 A. F. HADFIELD, L. HOUGH ET A. C. RICHARDSON, *Carbohydr. Res.*, 63 (1978) 51-60.
- 12 F. ARCAMONE ET F. BIZIOLI, *Gazz. Chim. Ital.*, 87 (1957) 896-902; S. UMEZAWA, K. TATSUTA ET R. MUTO, *J. Antibiot., Ser. A*, 20 (1967) 388-389; M. URATOMOTO, N. OTAKA ET Y. YONCHARA, *J. Antibiot., Ser. A*, 20 (1967) 236-237.

- 13 H. NAGANAWA, N. USUI, T. TAKITA, M. HAMADA, K. MAEDA, ET H. UMEZAWA, *J. Antibiot., Ser. A*, 27 (1974) 145-147.
- 14 M. G. J. BEETS, dans M. G. J. BEETS (Ed.), *Sensory Properties of Foods*, Applied Science Publishers, London, 1977, pp. 71-89; R. S. SHALLENBERGER, *ibid.*, 91-100; G. C. BIRCH, C. K. LEE ET A. RAY, *ibid.*, 101-111; C. K. LEE ET M. G. LINDLEY, *Carbohydr. Res.*, 63 (1978) 277-282.
- 15 J. C. SOWDEN ET A. SPRIGGS, *J. Am. Chem. Soc.*, 78 (1956) 2503.
- 16 E. M. MONTGOMERY ET F. B. WEACKLY, *J. Assoc. Off. Agric. Chem.*, 36 (1953) 1096.
- 17 S. KOTO, N. MORISHIMA ET S. ZEN, *Chem. Lett.*, (1976) 61-64.
- 18 R. U. LEMIEUX ET H. F. BAUER, *Can. J. Chem.*, 32 (1954) 340.
- 19 G. J. F. CHITTENDEN, *Carbohydr. Res.*, 9 (1969) 323-326.
- 20 J. LEROUX ET A. S. PERLIN, *Carbohydr. Res.*, 47 (1976) C8-C10.
- 21 J. LEROUX ET A. S. PERLIN, *Can. Inst. Chem.-Am. Chem. Soc., Joint Meet., 2nd*, (1977) Abstr. 27; *Carbohydr. Res.*, 67 (1978) 163-178.
- 22 J.-M. ROCHEVILLE, *Thèse de doctorat de spécialité*, 1979, Université de Marseille III.
- 23 F. J. KRONZER ET C. SCHUERCH, *Carbohydr. Res.*, 27 (1973) 379.
- 24 E. A. RACHAMAN, R. EBY ET C. SCHUERCH, *Carbohydr. Res.*, 67 (1978) 147-161.
- 25 T. GRAMSTAD ET R. N. HASZELDINE, *J. Chem. Soc.*, (1957) 4069-4079; T. GRAMSTAD ET R. N. HASZELDINE, *J. Chem. Soc.*, (1956) 173-180.
- 26 S. KOTO, N. MORISHIMA, Y. MIYATA ET S. ZEN, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 49 (1976) 2639-2640.
- 27 D. J. BELL, *J. Chem. Soc.*, (1947) 1461-1464.
- 28 J. K. JONES, J. P. MILLINGTON ET M. B. PERRY, *Can. J. Chem.*, 40 (1962) 2229-2233.