

## STÉRÉOSPECIFICITÉ DES RÉACTIONS DE GLYCOSYLATION; SYNTHÈSE DE L'ISOMALTOSE\*

GÉRARD EXCOFFIER, DIDIER Y. GAGNAIRE ET MICHEL R. VIGNON

*Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales, CNRS, B.P. 53, 38041 Grenoble (France)*

(Reçu le 16 mai 1975; accepté sous forme modifiée le 10 octobre 1975)

### ABSTRACT

Condensation of 1,2,3,4-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranose with 2-*O*-benzyl-3,4,6-tri-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl bromide (**6**) gave 1,2,3,4-tetra-*O*-acetyl-6-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-*O*-benzyl- $\alpha$ - (**11**) and  $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranose (**16**). In the presence of molecular sieves and tetraethylammonium bromide, the ratio (1:24) of **11** to **16** is independent of the solvent used. In the presence of mercuric cyanide, however, **16** is preponderant (~85%) in benzene or dichloroethane, whereas 75% of **11** is obtained in acetonitrile. On a solid support, condensation of **6** with 2,3,4-tri-*O*-acetyl-1-*O*-[(4-oxo-4-polystyryl)butyryl]-D-glucopyranose (**22**) in dichloroethane yielded a ratio of the anomers  $\alpha$  to  $\beta$  identical to that obtained from the analogous reaction in a homogeneous phase.

### SOMMAIRE

La condensation du bromure de 3,4,6-tri-*O*-acétyl-2-*O*-benzyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyle (**6**) avec le 1,2,3,4-tétra-*O*-acétyl- $\beta$ -D-glucopyranose donne les 1,2,3,4-tétra-*O*-acétyl-6-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acétyl-2-*O*-benzyl- $\alpha$ - (**11**) et  $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranose (**16**). En présence de tamis moléculaire et de bromure de tétraéthylammonium le pourcentage relatif (1:24) entre les deux disaccharides **11** et **16** est indépendant du solvant. Par contre, en présence de cyanure mercurique **16** est prépondérant (~85%) dans le benzène ou le dichloroéthane, alors que dans l'acétonitrile on obtient 75% de **11**. Sur support insoluble, la condensation de **6** avec le 2,3,4-tri-*O*-acétyl-1-*O*-[(4-oxo-4-polystyryl)butyryl]-D-glucopyranose (**22**) dans le dichloroéthane conduit à un pourcentage des anomères  $\alpha$  et  $\beta$  comparable à celui obtenu au cours de la réaction analogue réalisée en milieu homogène.

### INTRODUCTION

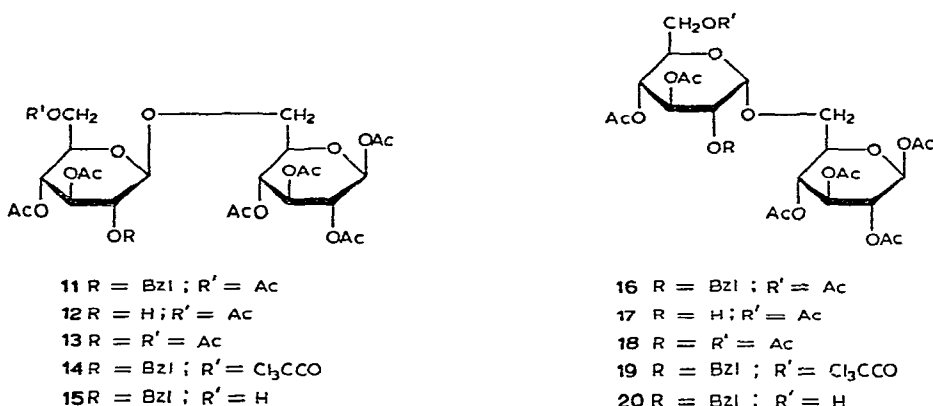
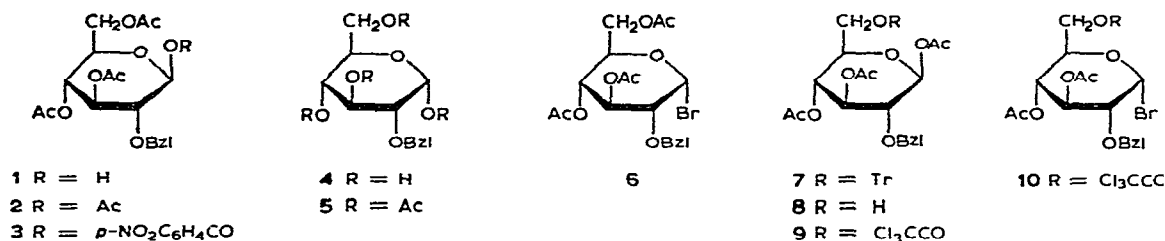
Les premières tentatives de synthèse glucidique sur polymère support insoluble réalisées dans ce laboratoire<sup>1-4</sup> concernaient la préparation de di- et oligosaccharides

\*Synthèse d'Oligosaccharides sur Polymère Support. VII. Pour la partie VI, voir Réf. 1.

à jonction glycosidique 1,2-*trans*. La méthode de préparation la plus générale de glycosides 1,2-*cis* nécessite en O-2 de l'halogénure de glycosyle un substituant non participant, par exemple le groupe benzyle<sup>5</sup>. La formation stéréospécifique de glycosides 1,2-*cis* résulte alors d'une alcoolyse, avec inversion, des halogénures de glycosyle 1,2-*trans*; dans le cas des halogénures de D-glucopyranosyle, l'anomère  $\beta$  est thermodynamiquement moins stable que la forme  $\alpha$ , mais réagit beaucoup plus rapidement. Il est donc souhaitable, pour favoriser la formation de  $\alpha$ -D-glucopyranosides, d'assurer un équilibre rapide des anomères<sup>6</sup>: ceci peut être réalisé par neutralisation de l'acide résultant de la glycosylation avec une base organique encombrée; cependant, ces conditions peuvent provoquer des migrations de groupes esters<sup>7</sup>. Pour remédier à cet inconvénient, Lemieux et Driguez<sup>7</sup> ont très récemment proposé l'emploi de tamis moléculaire comme accepteur d'acide, l'équilibre des anomères étant réalisé par addition d'un halogénure de tétraalkylammonium<sup>8</sup>. Nous avons comparé cette méthode qui, pour la préparation de l'isomaltose, apparaît presque idéale du point de vue stéréospécificité, avec la glycosylation en présence de sels mercuriques, utilisée jusqu'ici dans la synthèse sur support insoluble. Cette dernière technique implique en effet la mise en œuvre de catalyseurs et d'accepteurs d'acide solubles, tant pour des raisons d'efficacité de catalyse et de neutralisation que pour la purification du support à la fin de l'étape de glycosylation. Bien que les facteurs gouvernant cette réaction en présence de sels mercuriques soient mal connus, il était d'autre part intéressant de comparer son orientation en phase homogène et sur polymère support.

## RÉSULTATS ET DISCUSSION

Le bromure de 3,4,6-tri-*O*-acétyl-2-*O*-benzyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyle<sup>9</sup> (6) est obtenu à partir de l'hémiacétal 1, par l'intermédiaire des acétates 2 ou 5, ou du *p*-nitrobenzoate 3. La condensation de 6 et du 1,2,3,4-tétra-*O*-acétyl- $\beta$ -D-glucopyranose en présence de bromure de tétraéthylammonium et de tamis moléculaire 4 Å conduit, quel que soit le solvant, à un mélange des disaccharides 11 et 16 dans le rapport 1:24. Le dosage a été réalisé en r.m.n. à 250 MHz sur le mélange de disaccharides séparé du produit brut final par c.c.m. préparative (voir Partie Expérimentale). L'absence d'influence du solvant sur l'orientation de la glycosylation peut s'expliquer par une réaction SN2, sans séparation préalable en paires d'ions de type  $\alpha$ -D-glucosyle<sup>+</sup> · Br<sup>-</sup> et  $\beta$ -D-glucosyle<sup>+</sup> · Br<sup>-</sup>; toutefois, l'absence de données cinétiques précises ne permet pas une interprétation mécanistique définitive. La réaction est lente, même dans les solvants très polaires, et le rendement en disaccharides est limité par une réaction parasite importante: l'élimination d'une molécule d'acide bromhydrique du bromure 6 conduit au 3,4,6-tri-*O*-acétyl-2-*O*-benzyl-1-désoxy-D-*arabino*-hex-1-énopyranose (33), identifié par synthèse directe (voir Partie Expérimentale); un sous-produit analogue a été précédemment décrit dans le cas du chlorure de 2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyle<sup>8,10,11</sup>; les conditions expérimentales n'ont toutefois pas été optimisées pour la préparation du disaccharide.

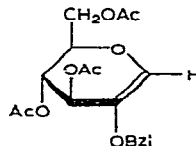
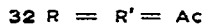
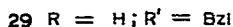
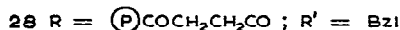
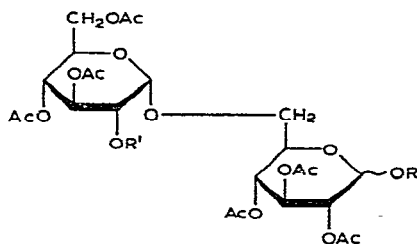
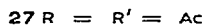
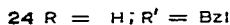
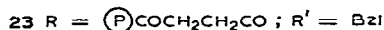
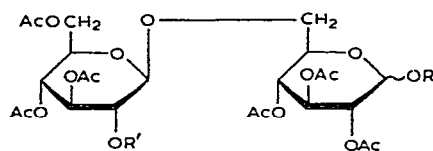
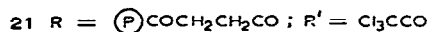
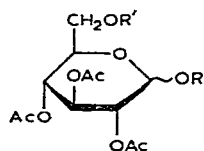


La condensation des mêmes substrats, effectuée en présence de cyanure mercurique et de bromure mercurique, conduit également à un mélange de 11 et 16, dans un rapport qui dépend fortement du solvant, comme cela a déjà été observé par Schuerch<sup>12</sup>. En milieu benzénique, le rendement global est 73 %, dont 85 % d'anomère  $\alpha$  (16) et 15 % de la forme  $\beta$  (11); le résultat est complètement différent dans l'acétonitrile, puisque le rapport  $\alpha$  à  $\beta$  est de 1:3 (rendement global 60 %). D'autres données sont rassemblées dans le Tableau I: l'anomère  $\alpha$  (16) est encore nettement prépondérant dans le 1,2-dichloroéthane ou l'éther éthylique; dans le nitrométhane, la réaction n'est plus du tout stéréospécifique. Quel que soit le solvant, la glycosylation est beaucoup plus rapide qu'en présence de tamis moléculaire; son caractère autocatalytique laisse présumer que le bromure mercurique [ou éventuellement le sel mixte  $\text{Hg}(\text{CN})\text{Br}$ ] assiste la rupture de la liaison C-Br; la dissociation de la paire d'ions  $\alpha\text{-D-glucosyle}^+ \cdot \text{HgBr}_3^-$  (ou  $\alpha\text{-D-glucosyle}^+ \cdot \text{Hg}(\text{CN})\text{Br}_2^-$ ) ainsi formée est plus ou moins favorisée par le solvant. L'ion glycosyloxonium peut être attaqué du côté  $\beta$  par une molécule d'alcool, fournissant un  $\beta\text{-D-glucoside}$ ; ce mécanisme de type «push-pull»<sup>13,14</sup> est probablement prédominant dans un solvant polaire comme l'acétonitrile. La formation de l' $\alpha\text{-D-glucoside}$  est envisageable par anomérisation de la paire d'ions  $\alpha\text{-D-glucosyle}^+ \cdot \text{HgBr}_3^- \rightleftharpoons \beta\text{-D-glucosyle}^+ \cdot \text{HgBr}_3^-$  et attaque de l'alcool sur le côté  $\alpha$  de la paire  $\beta\text{-D-glucosyle}^+ \cdot \text{HgBr}_3^-$ ; cette inversion peut se produire par échange d'anions entre deux paires d'ions ou, plus probablement, par réarrangement, l'anion tribromomercurate contournant le centre électrophile en

restant dans son voisinage immédiat. Il ne s'agit là que d'un modèle et il n'y a peut-être pas lieu d'établir une distinction aussi formelle entre paires d'ions « anomères » en raison des dimensions de l'anion tribromomercurate. On ne peut d'autre part exclure la possibilité d'attaque sur un ion glycosyloxy « libre », conduisant à la formation de glycosides  $\alpha$  et  $\beta$ . Ce second mécanisme opère dans les solvants peu polaires, qui ne favorisent pas la dissociation des paires d'ions.

La variation de la réactivité de C-1 et de l'orientation de la glycosylation a déjà été mise en évidence pour le D-glucose<sup>12,14-16</sup> et le L-fucose<sup>17,18</sup>. Pour tester l'influence d'un substituant en C-6, l'homologue trichloroacétylé **10** du bromure acétylé **6** a été préparé à partir du 2-O-benzyl-D-glucose<sup>19</sup> (**4**) par l'intermédiaire du dérivé tritylé **7**, de l'alcool **8** et du trichloroacétate **9**; la variation du rapport de  $\alpha$  à  $\beta$  est très faible (17:3 à 9:1).

Nous avons parallèlement étudié la glycosylation du groupement hydroxyle primaire d'une unité D-glucose fixée par sa position anomère sur un support insoluble; celui-ci est un copolymère styrène-2 % divinylbenzène fonctionnalisé par succinylation statistique<sup>20</sup> (2,2 meq. d'acide par gramme). La réaction du bromure de 2,3,4-tri-O-acétyl-6-O-trichloroacétyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyle sur ce polymère acide, le retrait du groupe trichloroacétyle du polymère **21** et l'estérification des fonctions acides résiduelles ont été réalisées comme précédemment décrit<sup>1</sup>; le taux d'ancrage est estimé par pesée du polymère **22** à 0,37 mmol de D-glucose par gramme de polymère initial.



**33**

$\textcircled{\text{P}}$  = polystyrène réticulé

La glycosylation de **22** dans le 1,2-dichloroéthane en présence de cyanure mercurique est complète (gravimétrie, i.r.) après deux traitements par 1,4 équiv. de bromure **6**. La partie glucidique du polymère (**23** et **28**) obtenu est séparée par action de l'acétate d'hydrazine dans le *N,N*-diméthylformamide<sup>21</sup>; le mélange brut, contenant **24**, **29** et un peu de monomère, est acétylé. La fraction disaccharidique (**25** et **30**, 76 % par rapport à **21**) est séparée par c.c.m. préparative, débenzylée et acétylée. Les quatre isomères contenus dans le mélange final (**27** et **32**) sont dans les proportions (r.m.n.; voir Fig. 1):  $\alpha$ -gentiobiose octaacétate, 13 %;  $\beta$ -gentiobiose octaacétate, 5,5 %;  $\alpha$ -isomaltose octaacétate, 57 %;  $\beta$ -isomaltose octaacétate, 24,5 %. Le rapport

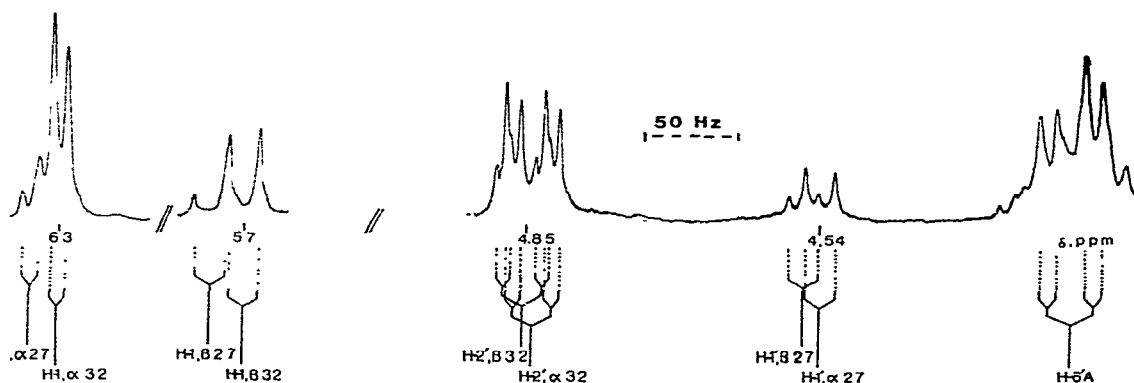


Fig. 1. Spectre r.m.n. à 250 MHz du mélange **27** et **32**.

isomaltose à gentiobiose (163:37) est donc identique à celui qui résulte de la glycosylation en phase homogène dans le 1,2-dichloroéthane; d'autres expériences en cours dans notre laboratoire semblent confirmer que la stéréodirectivité des glycosylations en présence de sels mercuriques n'est pas fortement influencée par l'immobilisation de l'alcool sur support. Dans le cas de notre étude sur la formation de liaisons glycosidiques  $\alpha$ -D-(1 $\rightarrow$ 6), cette sélectivité, qui atteint au mieux 90 %, ne permet guère d'envisager la synthèse supportée d'oligosaccharides vrais contenant ce type de liaison.

#### PARTIE EXPÉRIMENTALE

**Méthodes générales.** — Les points de fusion, non corrigés, ont été mesurés sur appareil Büchi-Tottoli. Les pouvoirs rotatoires ont été déterminés à l'aide d'un polarimètre « Quick » Roussel-Jouan. Les spectres r.m.n. (dans le chloroforme-*d*, avec le tétraméthylsilane comme référence interne) ont été enregistrés sur appareils Varian A-60-A, Varian HA-100 ou Cameca 250. Les chromatographies sur couches minces (c.c.m.) ont été effectuées sur des plaques finies de Kieselgel F<sub>254</sub> (Merck, Darmstadt), d'épaisseur 0,25 mm pour la c.c.m. analytique, ou 2 mm pour la c.c.m. préparative, éluées par un mélange benzène-acétone (3:1). Les spectres i.r. ont été

enregistrés à l'aide d'un appareil Perkin-Elmer 237, à des concentrations de 10 % environ dans le bromure de potassium. Les spectres de masse ont été réalisés sur un spectrophotomètre MS-30 (AEI). Les analyses ont été effectuées par le Service Central de Microanalyse du C.N.R.S.

**3,4,6-Tri-O-acétyl-2-O-benzyl- $\beta$ -D-glucopyranose (1).** — Ce composé a été préparé selon le mode opératoire décrit par Finan et Brennan<sup>9</sup> et cristallisé dans un mélange chloroforme-éther éthylique, p.f. 148–149°,  $[\alpha]_D^{20} + 68^\circ$  (*c* 0,5, chloroforme);  $[\alpha]_D^{20} + 72^\circ$  (10 min)  $\rightarrow +91^\circ$  (4 jours, *c* 1, pyridine); r.m.n. (60 MHz):  $\delta$  4,85 (H-1,  $J_{1,2}$  7,5 Hz); litt.<sup>9</sup>: p.f. 141°,  $[\alpha]_D + 67^\circ$  (*c* 1, chloroforme).

L'acétylation de **1** (pyridine-anhydride acétique, 0°, 12 h) fournit le 1,3,4,6-tétra-O-acétyl-2-O-benzyl- $\beta$ -D-glucopyranose (**2**), p.f. 92°,  $[\alpha]_D^{20} + 39^\circ$  (*c* 1, chloroforme); r.m.n. (60 MHz):  $\delta$  5,7 (H-1,  $J_{1,2}$  8 Hz); litt.<sup>9</sup>: p.f. 88°,  $[\alpha]_D + 44^\circ$  (*c* 1, chloroforme).

**3,4,6-Tri-O-acétyl-2-O-benzyl-1-O-p-nitrobenzoyl- $\beta$ -D-glucopyranose (3).** — Le composé **1** (0,99 g, 0,25 mmol) est ajouté à une solution de 2,3 g (1,25 mmol) de chlorure de *p*-nitrobenzoyle dans 20 ml de pyridine refroidie à 0°. Après 18 h d'agitation à température ambiante, le mélange est versé dans l'eau glacée (50 ml) et le précipité formé est essoré; on obtient **3** (1 g, 75 %) par cristallisation dans l'éthanol, p.f. 160°,  $[\alpha]_D^{20} - 40^\circ$  (*c* 1, chloroforme); r.m.n. (60 MHz, chloroforme-*d*):  $\delta$  8,16 (m, 4 H, protons Ar de *p*-NO<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>CO), 7,2 (s large, 5 H, protons Ar de Bzl), 5,9 (d,  $J_{1,2}$  8 Hz, H-1), 5–5,2 (2 triplets, 2 H,  $J$  8 Hz, H-3 et H-4), 4,66 (s large, 2 H méthyléniques de Bzl), 3,9–4,35 (m, 3 H, H-5, H-6a et H-6b), 3,84 (t,  $J$  8 Hz, H-2), 2,03–1,97 (deux singulets larges respectivement dans le rapport 2:1 correspondant aux 9 H de AcO).

*Anal.* Calc. pour C<sub>25</sub>H<sub>28</sub>NO<sub>12</sub>: C, 56,18; H, 5,28; N, 2,62. Trouvé: C, 56,98; H, 5,16; N, 2,99.

**Bromure de 3,4,6-tri-O-acétyl-2-O-benzyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyle (6).** — Ce composé a été préparé à partir des dérivés **2**, **3** ou **5**: (a) Par action d'une solution d'acide bromhydrique à 40 % dans l'acide acétique<sup>9</sup>. (b) Par action de l'acide bromhydrique dans le dichlorométhane<sup>22</sup>: on fait passer l'acide bromhydrique bulle à bulle dans une solution de 4 mmol d'ester dans 20 ml de dichlorométhane pendant 2 h à 0°; dans le cas de l'ester **3** il y a précipitation d'acide *p*-nitrobenzoïque; le traitement habituel<sup>9</sup> fournit **6** (68–83 %), p.f. 102°,  $[\alpha]_D^{20} + 163^\circ$  (*c* 1, chloroforme); r.m.n. (60 MHz):  $\delta$  6,3 (H-1,  $J_{1,2}$  3,5 Hz); litt.<sup>9</sup>: p.f. 99°,  $[\alpha]_D + 150,5^\circ$  (*c* 1, chloroforme).

*Anal.* Calc. pour C<sub>19</sub>H<sub>23</sub>BrO<sub>8</sub>: C, 49,70; H, 5,05; Br, 17,40; O, 27,87; Trouvé: C, 49,81; H, 5,19; Br, 17,44; O, 27,57.

Dans les deux cas (a) ou (b), le prolongement de la réaction conduit à la débenzylation de O-2, qui est ensuite acétylé dans les conditions (a).

**1,3,4-Tri-O-acétyl-2-O-benzyl-6-O-trityl- $\beta$ -D-glucopyranose (7).** — À une solution de 2-O-benzyl- $\alpha$ -D-glucopyranose<sup>19</sup> (**4**) (6,52 g, 2,4 mmol) dans la pyridine anhydre (30 ml), on ajoute du chlorotriphénylméthane (7,02 g, 2,52 mmol); on agite pendant 24 h à température ambiante, puis pendant 5 h à 70°; on ajoute, en 0,5 h, 60 ml d'un mélange pyridine-anhydride acétique (1:1). La solution est maintenue

pendant 2,5 h à 70°, puis pendant 14 h à 20° et traitée par un mélange eau et glace pendant 1 h. Après extraction par le chloroforme, le traitement habituel de la phase organique fournit 10,43 g (67,7%) de **7** (éther éthylique-éther de pétrole), p.f. 161–162°,  $[\alpha]_D^{20} + 61^\circ$  (c 1, chloroforme); r.m.n. (60 MHz):  $\delta$  5,84 (H-1,  $J_{1,2}$  8 Hz).

*Anal.* Calc. pour  $C_{38}H_{38}O_9$ : C, 71,46; H, 6,00; O, 22,54. Trouvé: C, 71,16; H, 5,95; O, 22,50.

**1,3,4-Tri-O-acétyl-2-O-benzyl- $\beta$ -D-glucopyranose (8).** — Le composé **7** est détritylé selon la méthode de Lehrfeld<sup>23</sup>: À une solution de **7** (3,7 g, 5,79 mmol) dans 200 ml de benzène on ajoute 200 g de silica gel Davison grade 12, activité grade I. Après 36 h à température ambiante, on verse la suspension dans une colonne pour chromatographie contenant 50 g de silica gel Davison. Le triphénylméthanol est élué par un mélange benzène-éther éthylique (4:1), et le composé **8** par un mélange 1:1 des mêmes solvants. Une cristallisation (éther éthylique-éther diisopropylique) fournit **8** pur (1,73 g, 75,4%), p.f. 98°,  $[\alpha]_D^{20} + 50^\circ$  (c 1, chloroforme); r.m.n. (60 MHz):  $\delta$  5,75 (H-1,  $J_{1,2}$  8 Hz).

*Anal.* Calc. pour  $C_{19}H_{24}O_9$ : C, 57,57; H, 6,10. Trouvé: C, 57,65; H, 6,10.

**1,3,4-Tri-O-acétyl-2-O-benzyl-6-O-trichloroacétyl- $\beta$ -D-glucopyranose (9).** — Ce composé est préparé avec un rendement de 85 % d'après le mode opératoire décrit par Stevens et Blumbergs<sup>24</sup> pour le 1,2,3,4-tétra-O-acétyl-6-O-trichloroacétyl- $\beta$ -D-glucopyranose et cristallise dans l'éthanol, p.f. 163°,  $[\alpha]_D^{20} + 41^\circ$  (c 1, chloroforme); r.m.n. (60 MHz):  $\delta$  5,56 (H-1,  $J_{1,2}$  8 Hz).

*Anal.* Calc. pour  $C_{21}H_{23}Cl_3O_{10}$ : C, 46,56; H, 4,28; Cl, 19,63; O, 29,53. Trouvé: C, 46,75; H, 4,26; Cl, 19,44; O, 29,34.

**Bromure de 3,4-di-O-acétyl-2-O-benzyl-6-O-trichloroacétyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyle (10).** — Le composé **9** (1,084 g, 2 mmol) est dissous dans 6 ml de dichlorométhane refroidis à 0°; on ajoute 3 ml d'une solution d'acide bromhydrique à 40 % dans l'acide acétique et on maintient pendant 70 min à 0°. Le traitement habituel<sup>9</sup> donne le bromure **10** qui cristallise dans un mélange éther éthylique-éther diisopropylique (0,45–0,68 g, 40–60%), p.f. 94°,  $[\alpha]_D^{20} + 148^\circ$  (c 1, chloroforme); r.m.n. (60 MHz):  $\delta$  6,62 (H-1,  $J_{1,2}$  4 Hz).

*Anal.* Calc. pour  $C_{19}H_{20}BrCl_3O_8$ : C, 40,56; H, 3,58; Br, 14,20; Cl, 18,90; O, 22,75. Trouvé: C, 40,51; H, 3,53; Br, 14,19; Cl, 18,68; O, 22,76.

**1,2,3,4-Tétra-O-acétyl-6-O-(3,4,6-tri-O-acétyl-2-O-benzyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranose (11).** — Un mélange de 1,2,3,4-tétra-O-acétyl- $\beta$ -D-glucopyranose (210 mg, 0,6 mmol), de bromure **6** (320 mg, 0,69 mmol), de cyanure mercurique (150 mg, 0,6 mmol) et de bromure mercurique (15 mg) est dissous dans 5 ml d'acétonitrile et agité pendant 6 h à 30°. Après évaporation de l'acétonitrile, une solution du résidu dans le chloroforme est lavée par une solution de bromure de potassium, par l'eau et séchée sur sulfate de sodium; le solvant est évaporé et le résidu repris par l'éther éthylique; le disaccharide **11** obtenu (260 mg, 60%) est légèrement contaminé par l'anomère  $\alpha$  (**16**). Plusieurs recristallisations dans des mélanges chloroforme-éther éthylique fournissent **11** pur (240 mg, 55%), p.f. 175°,  $[\alpha]_D^{20} + 35^\circ$  (c 1, chloroforme); r.m.n. (250 MHz, chloroforme *d*):  $\delta$  7,32 (m, 5 H, protons Ar de Bzl), 5,76

(d,  $J_{1,2}$  8 Hz, H-1), 5,3 (t,  $J_{2,3} = J_{3,4} = 9,5$  Hz, H-3), 5,24 (deux triplets, 2 H,  $J$  8–9 Hz, H-2;  $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 10$  Hz, H-3'), 5,02 (t,  $J_{3,4} = J_{4,5} = 10$  Hz, H-4), 4,96 (t,  $J_{3',4'} = J_{4',5'} = 10$  Hz, H-4'), 4,84–4,55 (q, 2 H méthyléniques de Bzl), 4,49 (d,  $J_{1',2'}$  8 Hz, H-1'), 4,3 (q,  $J_{5',6'a}$  5 Hz,  $J_{6'a,6'b}$  12 Hz, H-6'a), 4,09 (q,  $J_{5',6'b}$  2 Hz,  $J_{6'a,6'b}$  12 Hz, H-6'b), 4,2–3,9 (massif de m, 2 H, H-5 et H-6b), 3,66 (m, 2 H, H-6a et H-5'), 3,43 (q,  $J_{1',2'}$  8 Hz,  $J_{2',3'}$  10 Hz, H-2'); s.m.:  $m/e$  667 (13) ( $M^+ - \text{AcO}^-$ ), 379 (28) ( $\text{NS}_1$ )<sup>25</sup>, 331 (45) ( $\text{RS}_1$ )<sup>25</sup>, 317 (62) [ $M^+ - (\text{NS}_1 - \text{OCH}_2) \cdot$ ], 169 (100).

*Anal.* Calc. pour  $\text{C}_{33}\text{H}_{42}\text{O}_{18}$ : C, 54,54; H, 5,83; O, 39,63. Trouvé: C, 54,69; H, 5,87; O, 39,38.

À partir du filtrat de cristallisation, on peut récupérer 70 mg (16 %) d'anomère  $\alpha$  (16).

*1,2,3,4-Tétra-O-acétyl-6-O-(3,4,6-tri-O-acétyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranose (12).* — Le composé **11** (150 mg) est hydrogéné sous pression de 3 atm en présence de 100 mg de palladium sur charbon (10 %), dans 50 ml d'éthanol à 90 % pendant 24 h à température ambiante; le catalyseur est essoré et la solution concentrée sous vide; on obtient par cristallisation dans l'éthanol 115 mg (87,8 %) de **12** pur (c.c.m.), p.f. 154°,  $[\alpha]_D^{20} + 24^\circ$  (c 1, chloroforme).

*Anal.* Calc. pour  $\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{O}_{18}$ : C, 49,06; H, 5,70; O, 45,24. Trouvé: C, 48,84; H, 5,71; O, 45,44.

L'acétylation de **12** (anhydride acétique-pyridine, 0°, 12 h) fournit le  $\beta$ -gentiobiose octa-acétate **13** (84 % après cristallisation dans l'éthanol), p.f. 196°,  $[\alpha]_D^{20} - 2^\circ$  (c 1, chloroforme); litt.<sup>26,27</sup>: p.f. 196°,  $[\alpha]_D - 5^\circ$  (c 5, chloroforme).

*1,2,3,4-Tétra-O-acétyl-6-O-(3,4,6-tri-O-acétyl-2-O-benzyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranose (16).* — (a) *En présence de sels mercuriques.* Un mélange de bromure **6** (317 mg, 0,69 mmol), de 1,2,3,4-tétra-O-acétyl- $\beta$ -D-glucopyranose (209 mg, 0,6 mmol), de cyanure mercurique (150 mg, 0,6 mmol) et de bromure mercurique (10 mg) dans 5 ml de benzène est agité pendant 10 h à 50°. La solution, séparée des sels insolubles, est lavée par une solution de bromure de potassium et par l'eau. Le résidu d'évaporation (0,45 g) est fractionné par c.c.m. préparative (4 plaques): on obtient 0,32 g (73 %) d'un mélange des disaccharides **11** et **16** dans le rapport 3:17 (r.m.n.),  $[\alpha]_D^{20} + 64^\circ$  (c 1 chloroforme). Une cristallisation dans l'éther éthylique permet de récupérer en partie (35 mg) le composé **11**. Le résidu fournit, après plusieurs cristallisations dans l'éthanol, 220 mg (50,4 %) de composé **16**, pur en c.c.m.

(b) *En présence de tamis moléculaire*<sup>7</sup>. Le composé **6** (0,53 g, 1,15 mmol), 350 mg (1 mmol) de 1,2,3,4-tétra-O-acétyl- $\beta$ -D-glucopyranose, 290 mg (1,4 mmol) de bromure de tétraéthylammonium, 0,6 g de tamis moléculaire 4 Å et 5 ml d'acétonitrile sont maintenus pendant 24 h à 50°. Le tamis est essoré et rincé par du chloroforme; après évaporation, le résidu est chromatographié sur plaque préparative. On obtient 290 mg (40 %) d'un mélange des disaccharides **11** et **16** dans le rapport 1:24. Une cristallisation dans l'éthanol fournit 230 mg de composé **16**, p.f. 96°,  $[\alpha]_D^{20} + 70^\circ$  (c 1, chloroforme); r.m.n. (250 MHz, chloroforme-*d*):  $\delta$  7,36 (s large, 5 H, protons Ar de Bzl), 5,74 (d,  $J_{1,2}$  8 Hz, H-1), 5,44 (t,  $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 10$  Hz, H-3'), 5,3 (t,  $J_{2,3} = J_{3,4} = 9,5$  Hz, H-3), 5,12 (t,  $J_{1,2} = J_{2,3} = 9,5$  Hz, H-2), 5,11 (t,  $J_{3,4} = J_{4,5} = 9,5$  Hz,



H-4), 4,98 (t,  $J_{3',4'} = J_{4',5'} = 10$  Hz, H-4'), 4,79 (d,  $J_{1',2'} = 3,5$  Hz, H-1'), 4,63 (s large, 2 H méthyléniques de Bzl), 4,24 (q,  $J_{5',6'a} = 4,5$  Hz,  $J_{6'a,6'b} = 12,5$  Hz, H-6'a), 4,08–3,84 (massif de m, 3 H, H-5, H-5' et H-6'b), 3,8–3,6 (massif de m, 2 H, H-6a et H-6b), 3,58 (q,  $J_{1',2'} = 3,5$  Hz,  $J_{2',3'} = 10$  Hz, H-2'); s.m.:  $m/e$  667 (0,7) ( $M^+ - \text{AcO}^\cdot$ ), 379 (4,7) ( $\text{NS}_1$ )<sup>25</sup>, 331 (12) ( $\text{RS}_1$ )<sup>25</sup>, 317 (17) [ $M^+ - (\text{NS}_1 - \text{OCH}_2)^\cdot$ ], 169 (100).

*Anal.* Calc. pour  $\text{C}_{33}\text{H}_{42}\text{O}_{18}$ : C, 54,54; H, 5,83; O, 39,63. Trouvé: C, 54,40; H, 5,83; O, 39,50.

On peut récupérer également un composé plus rapidement élué que le disaccharide 16, (92 mg, 21 %) qui correspond à l'élimination d'une molécule d'acide bromhydrique à partir du bromure 6. Ce composé, que l'on n'a pas réussi à cristalliser, le 3,4,6-tri-*O*-acétyl-2-*O*-benzyl-1-désoxy-D-*arabino*-hex-1-énopyranose (33) a été identifié par spectrométrie r.m.n. et par spectrométrie de masse; r.m.n. (60 MHz, chloroforme-*d*):  $\delta$  7,27 (s, 5 H, protons Ar de Bzl); 6,3 (s, H-1), 5,58 (d,  $J_{3,4} = 5$  Hz, H-3), 5,15 (t,  $J_{3,4} = J_{4,5} = 5$  Hz, H-4), 4,65 (s, 2 H méthyléniques de Bzl), 4,4–3,8 (massif de m, 3 H, H-5, H-6a et H-6b); s.m.:  $m/e$  378 (6,5) ( $M^+$ ), 318 (2,5) ( $M^+ - \text{AcOH}$ ), 287 (10,5) ( $M^+ - \text{Bzl}$ ), 125 (100). Cette structure (33) a été identifiée par une synthèse directe: 300 mg de bromure 6, 200 mg de bromure de tétraéthylammonium et 300 mg de tamis 4 Å sont agités dans 5 ml d'acétonitrile pendant 4 jours à 50°. Le mélange est filtré et chromatographié sur silice (dichlorométhane-éther éthylique, 19:1). On récupère 180 mg (72,8 %) de 33 que l'on n'arrive pas à cristalliser,  $R_F$  0,57 (benzène-acétone, 3:1);  $[\alpha]_D^{20} + 17^\circ$  ( $c$  1, chloroforme).

*Anal.* Calc. pour  $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{O}_8$ : C, 60,31; H, 5,86. Trouvé: C, 60,25; H, 6,00.

*Stereochimie de la glycosylation du 1,2,3,4-tétra-O-acétyl-β-D-glucopyranose.*—

Les résultats portés dans le Tableau I sont obtenus à partir de 110 mg (0,24 mmol) de

TABLEAU I

CONDENSATION DU 1,2,3,4-TÉTRA-*O*-ACÉTYL-β-D-GLUCOPYRANOSE PAR LE BROMURE 6

| Catalyseur                                      | Solvant                                                                     | Rapport<br>$\alpha$ à $\beta$ | Temp. (°) | Durée           | Rdt. (%) |
|-------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|-----------|-----------------|----------|
| <b>HgCN<sub>2</sub></b>                         |                                                                             |                               |           |                 |          |
| HgBr <sub>2</sub>                               | C <sub>6</sub> H <sub>6</sub>                                               | 17:3                          | 50        | 10 h            | 73       |
| HgBr <sub>2</sub>                               | (CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>                             | 41:9                          | 30        | 6 h             | 70       |
| HgBr <sub>2</sub>                               | Et <sub>2</sub> O                                                           | 4:1                           | 20        | 20 h            | 60       |
| HgBr <sub>2</sub>                               | CH <sub>3</sub> NO <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> <sup>a</sup> | 7:3                           | 30        | 1 h             |          |
| HgBr <sub>2</sub>                               | CH <sub>3</sub> NO <sub>2</sub> <sup>b</sup>                                | 1:1                           | 0         | 2 h             | 40       |
| HgBr <sub>2</sub>                               | CH <sub>3</sub> CN                                                          | 1:3                           | 30        | 6 h             | 60       |
| <b>Tamis 4 Å</b>                                |                                                                             |                               |           |                 |          |
| Et <sub>4</sub> N <sup>+</sup> ·Br <sup>−</sup> | C <sub>6</sub> H <sub>6</sub>                                               | 24:1                          | 50        | plusieurs jours |          |
| Et <sub>4</sub> N <sup>+</sup> ·Br <sup>−</sup> | (CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>                             | 24:1                          | 50        | plusieurs jours |          |
| Et <sub>4</sub> N <sup>+</sup> ·Br <sup>−</sup> | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>                                             | 24:1                          | 50        | plusieurs jours |          |
| Et <sub>4</sub> N <sup>+</sup> ·Br <sup>−</sup> | CH <sub>3</sub> CN                                                          | 24:1                          | 50        | 24 h            | 40       |
| Et <sub>4</sub> N <sup>+</sup> ·Br <sup>−</sup> | CH <sub>3</sub> NO <sub>2</sub>                                             | 24:1                          | 50        | 48 h            |          |

<sup>a</sup>Un mélange 1:1 dont on élimine les 3/4. <sup>b</sup>Dans le nitrométhane on a formation de sous-produits, le plus important étant le cyanure de 3,4,6-tri-*O*-acétyl-2-*O*-benzyl-β-D-glucopyranosyle.

bromure **6** et 70 mg (0,2 mmol) de 1,2,3,4-tétra-*O*-acétyl- $\beta$ -D-glucopyranose, dans 2 ml de solvant.

(a) *En présence de sels mercuriques*: 50 mg (0,2 mmol) de cyanure mercurique et 5 mg de bromure mercurique sont ajoutés au milieu réactionnel; en fin de réaction (c.c.m.), les sels mercuriques sont éliminés par la méthode habituelle, et le résidu chromatographié sur plaque préparative; la fraction disaccharidique est analysée par r.m.n.; l'anomère  $\beta$  (**11**) présente dans la région des groupements acétates deux pics à champ fort parfaitement séparés des autres groupements acétates. La glycosylation du 1,2,3,4-tétra-*O*-acétyl- $\beta$ -D-glucopyranose par le bromure trichloroacétylé **10** est réalisée dans des conditions identiques; toutefois, le produit brut final, contenant les disaccharides **14** et **19**, ne peut être directement fractionné par c.c.m., en raison de l'instabilité du groupe trichloroacétyle sur silice sèche; ce substituant est donc éliminé<sup>1</sup> (pyridine-méthanol-chloroforme, 1:1:10, 20°, 2 h). Le résidu d'évaporation contenant **15** et **20** est acétylé (anhydride acétique-pyridine, 20°, 12 h); la chromatographie du mélange brut sur plaque préparative fournit 90 mg (66 %) d'un mélange contenant **11** et **16** dans le rapport 1:9 (r.m.n.).

(b). *En présence de tamis moléculaire*: on ajoute dans ce cas 55 mg (0,26 mmol) de bromure de tétraéthylammonium et 350 mg de tamis moléculaire 4 Å au mélange de bromure **6** et d'alcool. En fin de réaction, la solution est filtrée, concentrée et chromatographiée sur plaque préparative.

1,2,3,4-Tétra-*O*-acétyl-6-*O*-(2,3,4,6-tri-*O*-acétyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranose ( $\beta$ -isomaltose octaacétate) (**18**). — Le composé **16** (350 mg) est débenzylé dans les mêmes conditions que **11**, mais l'heptaacétate **17** ne pouvant être cristallisé, le sirop obtenu (300 mg) est acétylé (pyridine-anhydride acétique). L'octaacétate **18** cristallise dans l'éthanol (230 mg, 70 %), p.f. 144–145°,  $[\alpha]_D^{20} + 100$  (*c* 1, chloroforme); litt.<sup>28,29</sup>: p.f. 142–143°,  $[\alpha]_D^{20} + 98^\circ$  (chloroforme).

2,3,4-Tri-*O*-acétyl-1-*O*-[(4-oxo-4-polystyryl)butyryl]-D-glucopyranose (**22**). — Ce composé est préparé par l'intermédiaire du polymère trichloroacétylé **21**, comme précédemment décrit<sup>1</sup>, à partir de 2 g de polymère succinylé<sup>20,21</sup> et 1,5 g de bromure de 2,3,4-tri-*O*-acétyl-6-*O*-trichloroacétyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyle (ajouté en deux parts égales à 20 h d'intervalle), en présence de 0,3 g de bromure de tétrabutylammonium; l'élimination du groupe trichloroacétyle de **21** et la méthylation des fonctions acides résiduelles ont été effectuées sans séchage intermédiaire du polymère<sup>1</sup>; on récupère 2,254 g de polymère **22**, ce qui correspond à 0,37 mmol de D-glucose par gramme de polymère initial.

2,3,4-Tri-*O*-acétyl-1-*O*-[(4-oxo-4-polystyryl)butyryl]-6-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acétyl-2-*O*-benzyl- $\alpha$ - et  $\beta$ -D-glucopyranosyl)-D-glucopyranose (**23** et **28**). — Le polymère **22** (1,085 g, 0,35 mmol de sucre fixé) dans 6 ml de dichloroéthane est traité par le bromure **6** (244 mg, 0,53 mmol), le cyanure mercurique (134 mg, 0,53 mmol) et le bromure mercurique (8 mg) ajoutés en deux parties égales à 36 h d'intervalle. Après 72 h à 30°, avec agitation intermittente, le polymère est essoré, lavé (benzène, chloroforme, méthanol, éther), séché et le traitement précédent est répété. Les augmentations

de poids successives sont 102 mg et 29 mg. L'augmentation totale correspond à un rendement approximatif de 100 % par rapport à la première unité ancrée **22**.

*1,2,3,4-Tétra-O-acétyl-6-O-(3,4,6-tri-O-acétyl-2-O-benzyl- $\alpha$ - et  $\beta$ -D-glucopyranosyl)-D-glucopyranose (25 et 30).* — Le polymère précédent (**23** et **28**, 1,192 g, 0,35 mmol de sucre fixé), en suspension dans 5 ml de *N,N*-diméthylformamide, est traité par l'acétate d'hydrazine (44 mg, 0,48 mmol), pendant 4 min à 50°. La suspension, diluée par l'acétate d'éthyle, est filtrée sur une solution saturée en chlorure de sodium; après lavage par l'acétate d'éthyle et essorage, le polymère est à nouveau traité par l'acétate d'hydrazine dans les mêmes conditions. À partir des solutions dans l'acétate d'éthyle, réunies, on isole 230 mg (96 % par rapport à la première unité ancrée **22**) d'un mélange contenant les quatre isomères (**24** et **29**). Ce mélange est acétylé (anhydride acétique-pyridine (0°, 12 h); le produit brut (235 mg) obtenu par évaporation des réactifs est résolu par c.c.m. préparative en deux fractions: la plus rapidement éluee contient quelques mg des anomères **2** et **5**, la seconde (205 mg) correspond aux disaccharides **25** et **30**.

*1,2,3,4-Tétra-O-acétyl-6-O-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl-D-glucopyranosyl)-D-glucopyranose (27 et 32).* — Le mélange d'isomères (**25** et **30**, 205 mg) est débenzylé dans les mêmes conditions que **11** et le produit brut (**26** et **31**, 170 mg) est acétylé (anhydride acétique-pyridine, 0°, 12 h). Après évaporation des réactifs on effectue le dosage des quatre disaccharides par r.m.n.; la Fig. 1 montre clairement les signaux sur lesquels peut se faire la détermination des pourcentages relatifs des quatre isomères: H-1  $\alpha$  de **27**, H-1  $\beta$  de **32**, H-1' et H-2' sont très bien séparés à 250 MHz. Les résultats obtenus sont:  $\alpha$ -gentiobiose octaacétate (**27**), 13 %;  $\beta$ -gentiobiose octaacétate (**27**), 5,5 %;  $\alpha$ -isomaltose octaacétate (**32**), 57 %;  $\beta$ -isomaltose octaacétate (**32**), 4,5 %.

#### REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé avec la collaboration de C. Bosso (spectrométrie de masse), H. Reutenauer et A. Rousseau (pour la réalisation des spectres de r.m.n. à haute résolution).

#### RÉFÉRENCES

- 1 G. EXCOFFIER, D. Y. GAGNAIRE ET M. R. VIGNON, *Carbohydr. Res.*, **46** (1976) 201-213.
- 2 G. EXCOFFIER, D. GAGNAIRE, J. P. UTILLE ET M. VIGNON, *Tetrahedron*, **31** (1975) 549-553.
- 3 N. BELORIZKY, G. EXCOFFIER, D. GAGNAIRE, J. P. UTILLE, M. VIGNON ET P. VOTTERO, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **12** (1972) 4749-4753.
- 4 G. EXCOFFIER, D. GAGNAIRE, J. P. UTILLE ET M. VIGNON, *Tetrahedron Lett.*, (1972) 5065-5068.
- 5 P. W. AUSTIN, F. E. HARDY, J. G. BUCHANAN ET J. BADDILEY, *J. Chem. Soc.*, (1964) 2128-2137; (1965) 1419-1424.
- 6 R. U. LEMIEUX ET T. L. NAGABUSHAN, *Methods Carbohydr. Chem.*, **6** (1972) 487-496.
- 7 R. U. LEMIEUX ET H. DRIGUEZ, *J. Am. Chem. Soc.*, sous presse.
- 8 R. U. LEMIEUX, K. B. HENDRIKS ET K. JAMES, *J. Am. Chem. Soc.*, sous presse.
- 9 S. BRENNAN ET P. A. FINAN, *J. Chem. Soc., C*, (1970) 1742-1744.
- 10 M. N. PREOBRAZHENSKAYA ET N. N. SUVOROV, *Zh. Obshch. Khim.*, **35** (1965) 888; *J. Gen. Chem. USSR*, **35** (1965) 891-895.
- 11 P. A. GENT ET R. GIGG, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, (1974) 1446-1455.

- 12 R. EBY ET C. SCHUERCH, *Carbohydr. Res.*, 34 (1974) 79-90.
- 13 N. KORNBLUM, W. J. JONES ET D. E. HARDIES, *J. Am. Chem. Soc.*, 88 (1966) 1704-1706; N. KORNBLUM ET D. E. HARDIES, *ibid.*, 88 (1966) 1707-1711.
- 14 F. J. KRONZER ET C. SCHUERCH, *Carbohydr. Res.*, 27 (1973) 379-390.
- 15 T. ISHIKAWA ET H. G. FLETCHER, JR., *J. Org. Chem.*, 34 (1969) 563-571.
- 16 J. M. FRÉCHET ET C. SCHUERCH, *J. Am. Chem. Soc.*, 94 (1972) 604-609.
- 17 M. DEJTER-JUSZYNSKI ET H. M. FLOWERS, *Carbohydr. Res.*, 18 (1972) 219-226; 23 (1972) 41-45; 28 (1973) 61-74.
- 18 H. M. FLOWERS, *Carbohydr. Res.*, 18 (1971) 211-218.
- 19 A. KLEMER, *Chem. Ber.*, 96 (1963) 634-635.
- 20 K. K. OGILVIE ET K. KROEKER, *Can. J. Chem.*, 50 (1972) 1211-1215.
- 21 G. EXCOFFIER, D. Y. GAGNAIRE ET J. P. UTILLE, *Carbohydr. Res.*, 39 (1975) 368-373.
- 22 C. P. J. GLAUDEMANS ET H. G. FLETCHER, JR., *J. Org. Chem.*, 28 (1963) 3004-3006.
- 23 J. LEHRFELD, *J. Org. Chem.*, 32 (1967) 2544-2546.
- 24 C. L. STEVENS ET P. BLUMBERGS, *J. Org. Chem.*, 30 (1965) 2723-2728.
- 25 O. S. CHIZHOV, N. K. KOCHETKOV, N. N. MALYSHEVA, A. I. SHIYONOK ET V. L. CHASCHIN, *Org. Mass. Spectrom.*, 5 (1971) 1145-1155.
- 26 D. D. REYNOLDS ET W. L. EVANS, *J. Am. Chem. Soc.*, 60 (1938) 2559-2561.
- 27 B. HELFERICH ET W. KLEIN, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, 450 (1926) 219-229.
- 28 B. LINDBERG, *Acta Chem. Scand.*, 3 (1949) 1355-1357; *Nature (London)*, 164 (1949) 706.
- 29 M. L. WOLFROM, L. W. GEORGES ET I. L. MILLER, *J. Am. Chem. Soc.*, 71 (1949) 125-127; M. L. WOLFROM, A. O. PITTET ET I. C. GILLAM, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 47 (1961) 700-705.