

**SYNTHÈSE, CONFORMATION ET AFFINITÉ TRÉHALASIQUE DES  
 $\alpha$ -D-GLUCOPYRANOSYL- $\alpha$ -D-XYLOPYRANOSIDE,  $\alpha$ -D-GLUCO-  
PYRANOSYL- $\alpha$ -D-MANNOPYRANOSIDE ET  $\alpha$ -D-ALLOPYRANOSYL-  
 $\alpha$ -D-GLUCOPYRANOSIDE\*†**

ÉDITH BAR-GUILLOUX, JACQUES DEFAYE, HUGUES DRIGUEZ ET DANIEL ROBIC

*Centre de Recherche sur les Macromolécules Végétales, C.N.R.S.,*

*B.P. 53, 38041 Grenoble (France) et Université René Descartes,*

*Laboratoire de Chimie Biologique, Avenue de l'Observatoire, 75006 Paris (France)*

(Reçu le 30 juin 1975; accepté le 15 septembre 1975)

**ABSTRACT**

$\alpha$ -D-Glucopyranosyl  $\alpha$ -D-xylopyranoside has been synthesized in 49% yield by treatment of 2,3,4-tri-*O*-benzyl- $\alpha$ -D-xylopyranosyl bromide with 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-D-glucopyranose in nitromethane–benzene with mercuric cyanide and bromide, followed by catalytic hydrogenolysis and *O*-deacetylation. Condensation of 2,3,4,6-tetra-*O*-benzyl-D-glucopyranose with 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyl bromide in acetonitrile–dichloromethane with mercuric cyanide, followed by catalytic hydrogenolysis and *O*-deacetylation, gave  $\alpha$ -D-glucopyranosyl  $\alpha$ -D-mannopyranoside and  $\beta$ -D-glucopyranosyl  $\beta$ -D-mannopyranoside in 44 and 25% yield, respectively. The mixture was resolved by column chromatography of the fully acetylated derivatives. Selective acetylation of the di-*O*-benzylidene derivative of trehalose with *N*-acetylimidazole, followed by oxidation with dimethyl sulfoxide–acetic anhydride at C-3 and stereoselective reduction gave, after removal of the protecting groups,  $\alpha$ -D-allopyranosyl  $\alpha$ -D-glucopyranoside in 20% overall yield. The structure of the compounds was confirmed by  $^1\text{H}$ - and  $^{13}\text{C}$ -n.m.r., and mass spectrometry.  $\alpha$ -D-Glucopyranosyl  $\alpha$ -D-xylopyranoside and  $\alpha$ -D-allopyranosyl  $\alpha$ -D-glucopyranoside are less efficient substrates than trehalose for cockchafer trehalase, but  $\alpha$ -D-glucopyranosyl  $\alpha$ -D-mannopyranoside is a competitive inhibitor of the enzyme.

**SOMMAIRE**

L' $\alpha$ -D-glucopyranosyl- $\alpha$ -D-xylopyranoside est obtenu avec un rendement de 49% par action du bromure de 2,3,4-tri-*O*-benzyl- $\alpha$ -D-xylopyranosyle sur le 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-D-glucopyranose dans le nitrométhane–benzène, en présence des bromure et

\*Dédié à la mémoire du Dr. Hewitt G. Fletcher, Jr.

†Analogues asymétriques du tréhalose. III. Pour la seconde partie, voir la Réf. 1. Ce travail a fait l'objet d'une présentation orale aux Journées du Groupe Français des Glucides, Lille, Septembre 1974; *Abstr. Actual. Chim.*, (1974) No. 7, 42. Il constitue une partie de la thèse de Doctorat d'État de H. Driguez.

cyanure mercuriques, suivie des séquences de déprotection usuelles. De même la condensation du 2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl-D-glucopyranose avec le bromure de 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyle dans l'acétonitrile-dichlorométhane en présence de cyanure mercurique conduit à l' $\alpha$ -D-glucopyranosyl- $\alpha$ -D-mannopyranoside correspondant à côté de l'anomère  $\beta,\beta$  avec des rendements respectifs de 44 et 25 %; la même séquence de purification et déprotection conduit successivement aux dérivés peracétylés et aux formes libres. Une modification asymétrique de l' $\alpha,\alpha$ -tréhalose faisant intervenir une acétylation sélective au moyen du *N*-acétylimidazole du dérivé di-*O*-benzylidène, suivie d'une oxydation par le réactif diméthyl sulfoxyde-anhydride acétique de l'hydroxyle libre en C-3 et d'une réduction stéréospécifique conduit, après déprotection, à l'isomère  $\alpha$ -D-allopyranosyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside avec un rendement global de 20 %. La structure de ces disaccharides est confirmée par spectrométrie de  $^1\text{H}$ - et  $^{13}\text{C}$ -r.m.n. ainsi que par spectrométrie de masse. Les  $\alpha$ -D-glucopyranosyl- $\alpha$ -D-xylopyranoside et  $\alpha$ -D-allopyranosyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside sont encore des substrats pour la tréhalase de hanneton, bien que l'affinité de l'enzyme soit inférieure à celle mesurée pour le tréhalose. L'isomère  $\alpha$ -D-glucopyranosyl- $\alpha$ -D-mannopyranoside est un inhibiteur compétitif de la même tréhalase.

## INTRODUCTION

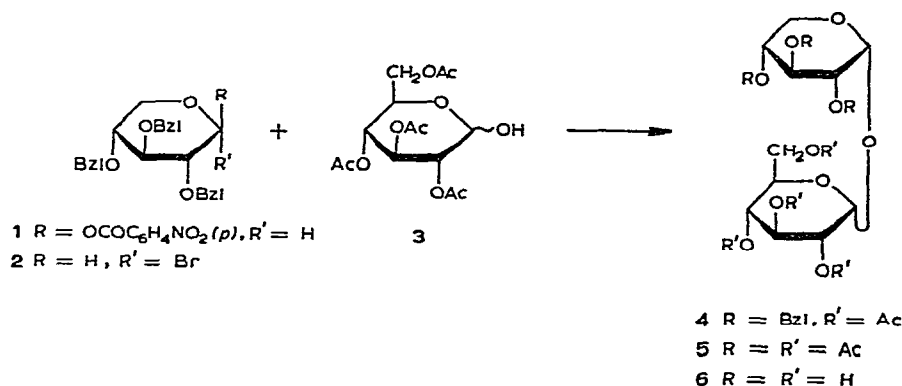
On sait que les tréhalases ( $\alpha,\alpha$ -tréhalose glucohydrolases, EC 3.2.1.28) sont des enzymes particulièrement spécifiques. Ainsi, jusqu'à présent, un seul dérivé asymétrique du tréhalose, le 6-désoxy- $\alpha,\alpha$ -tréhalose<sup>1,2</sup>, a montré une activité de substrat notable vis-à-vis des tréhalases de *Pseudomonas* et de hanneton. Dans le cadre de travaux concernant la purification<sup>3</sup>, le mode d'action et de fixation de ces enzymes<sup>1,4</sup> particulièrement répandues chez les insectes, les levures, certains végétaux et de nombreux vertébrés supérieurs<sup>5</sup>, nous souhaitons avoir à notre disposition des dérivés monomodifiés asymétriques, analogues de l' $\alpha,\alpha$ -tréhalose. Le présent mémoire rapporte la préparation de l'analogue stériquement le plus proche du 6-désoxy- $\alpha,\alpha$ -tréhalose, l' $\alpha$ -D-glucopyranosyl- $\alpha$ -D-xylopyranoside (**6**), des épimères asymétriques du tréhalose de configuration *manno* (**13**) et *allo* (**23**), ainsi que l'activité enzymatique de la tréhalase de hanneton vis-à-vis de ces substrats potentiels.

## RÉSULTATS ET DISCUSSION

Si l'introduction de groupes fonctionnels simultanément sur les deux groupes D-glucopyranosyles du tréhalose présente peu de difficultés, l'obtention de dérivés modifiés sur un seul groupe est en revanche plus délicate. Deux méthodes peuvent être envisagées partant soit du tréhalose par modification asymétrique spécifique<sup>1,6,7</sup>, soit utilisant des dérivés monosaccharidiques appropriés et le couplage interglycosidique<sup>8-12</sup>. Ces deux voies ont été suivies dans le présent travail.

Peu de travaux ont été consacrés aux synthèses, par couplage anomérique, d' $\alpha,\alpha$ -tréhalose ou d'analogues. À la difficulté d'obtention de liaisons anomères  $\alpha$

s'ajoute en effet la nécessité d'un contrôle simultané sur les deux centres anomériques. Mis à part la synthèse originale de Lemieux et Bauer<sup>8</sup> qui obtiennent le tréhalose par l'intermédiaire de l'anhydride de Brigl, toutes les méthodes décrites utilisent des réactions de type Koenigs-Knorr impliquant soit une anomérie  $\alpha$  préalable du nucléophile hétérocyclique<sup>9,10</sup>, soit la présence de groupes non-participants en position vicinale du centre électrophile<sup>10-12</sup>. Ces méthodes ont conduit aux disaccharides  $\alpha,\alpha$  avec des rendements variant de 0,5 à 35%. Des concepts récents<sup>13</sup> concernant les réactions sur le carbone anomère nous ont permis l'accès aux disaccharides glucopyranosyl-xylopyranoside **6** et glucopyranosyl-mannopyranoside **13** avec des rendements sensiblement plus élevés.



La condensation du bromure de 2,3,4-tri-*O*-benzyl- $\alpha$ -D-xylopyranosyle (**2**), obtenu à partir du *p*-nitrobenzoate **1**, avec le 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-D-glucopyranose<sup>14</sup> (**3**) dans un mélange nitrométhane- benzène à 40°, en présence de bromure et de cyanure mercuriques, conduit au disaccharide  $\alpha,\alpha$  **4** avec un rendement de 56%. Son spectre de <sup>1</sup>H-r.m.n., mesuré à la fréquence de 250 MHz, montre un ensemble de signaux essentiellement du premier ordre (Tableau I) comportant en particulier deux doublets nettement différenciés à  $\delta$  5,23 et 5,04 p.p.m. avec des couplages de 3,7 et 3,5 Hz attribuables aux protons anomères respectifs des restes D-glucosyle et D-xylosyle et en accord avec une configuration  $\alpha,\alpha$ . Notons que si cette adaptation de la méthode de Koenigs-Knorr donne bien le disaccharide attendu, la méthode à l'ion halogénure de Lemieux<sup>15</sup>, utilisant les mêmes substrats, n'a conduit à la formation d'aucun disaccharide. Ce fait peut probablement être attribué à la faible nucléophilie du groupe hydroxyle anomérique d'un ose comparativement aux fonctions alcooliques des autres positions. On doit également noter que la réaction inverse, utilisant dans les mêmes conditions le bromure de 2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyle<sup>16</sup> et le 2,3,4-tri-*O*-acétyl-D-xylopyranose<sup>9</sup>, ne permet pas l'obtention de dérivés disaccharidiques avec un rendement acceptable, ce qui peut être imputé soit à une nucléophilie moindre du dérivé du D-xylopyranose, soit à une moindre réactivité de l'halogénure d'hexopyranosyle<sup>17</sup>. L'hydrogénolyse des groupes protecteurs

TABLEAU I

DONNÉES DE  $^1\text{H-R.M.N.}$  ( $\delta$ ) POUR LES DÉRIVÉS DISACCHARIDIQUES 4, 5, 11, 12, 16-22

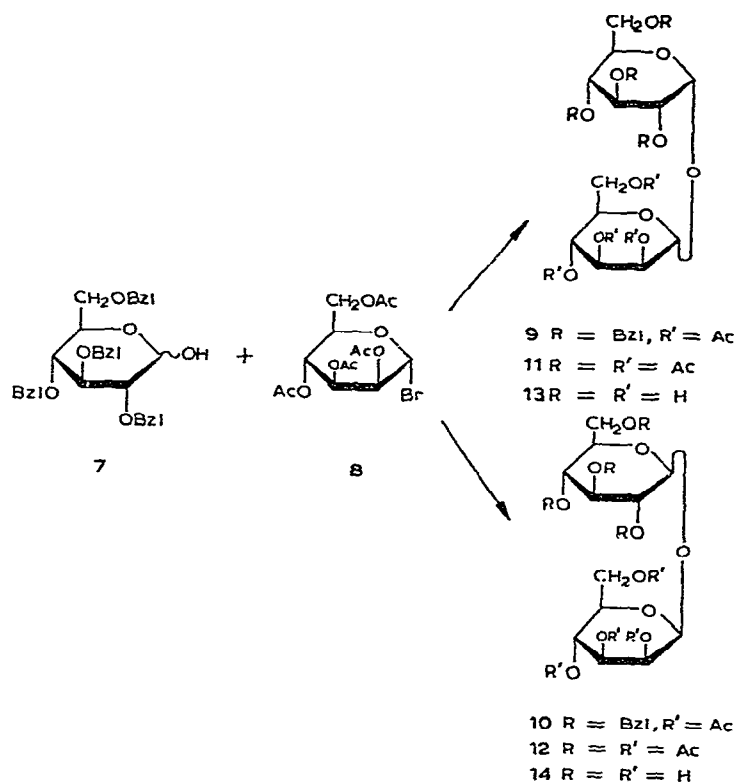
| Com- Solvant<br>posé                           | Protons du reste D-glucopyranosyle <sup>a</sup> |                              |                             |                              |                                                 |                               |           |
|------------------------------------------------|-------------------------------------------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|-------------------------------------------------|-------------------------------|-----------|
|                                                | H-1                                             | H-2                          | H-3                         | H-4                          | H-5                                             | H-6a                          | H-6b      |
| 4 Chloroforme- <i>d</i>                        | 5,23<br>d<br>$J_{1,2}$ 3,7                      | 5,00<br>dd<br>$J_{2,3}$ 10,0 | 5,55<br>t<br>$J_{3,4}$ 10,0 | 5,08<br>t<br>$J_{4,5}$ 10,0  | 4,32<br>o<br>$J_{5,6a}$ 3,4<br>$J_{5,6b}$ 2,0   | 3,98<br>q<br>$J_{6a,6b}$ 12,4 | 3,76<br>q |
| 5 <sup>b</sup> Chloroforme- <i>d</i>           | 5,23<br>d<br>$J_{1,2}$ 3,9                      | 5,04<br>dd<br>$J_{2,3}$ 10,5 | 5,52<br>dd<br>$J_{3,4}$ 9,4 | 5,09<br>dd<br>$J_{4,5}$ 10,0 | 4,14<br>o<br>$J_{5,6a}$ 5,5<br>$J_{5,6b}$ 2,1   | 4,29<br>q<br>$J_{6a,6b}$ 12,0 | 4,01<br>q |
| 11 Chloroforme- <i>d</i>                       | 5,35<br>d<br>$J_{1,2}$ 3,5                      | 5,07<br>dd<br>$J_{2,3}$ 10,0 | 5,48<br>t<br>$J_{3,4}$ 10,0 | 5,10<br>t<br>$J_{4,5}$ 10,0  | 3,95<br>o<br>$J_{5,6a}$ 6,5<br>$J_{5,6b}$ 2,5   | 4,10<br>m                     |           |
| 12 Chloroforme- <i>d</i>                       | 4,74<br>d<br>$J_{1,2}$ 7,5                      | 5,05<br>dd<br>$J_{2,3}$ 10,0 | 5,23<br>t<br>$J_{3,4}$ 10,0 | 5,08<br>t<br>$J_{4,5}$ 10,0  |                                                 | 4,0-4,5<br>m                  |           |
| 16 Acétone- <i>d</i> <sub>6</sub>              | 5,37<br>d<br>$J_{1,2}$ 3,7                      | 5,00<br>dd<br>$J_{2,3}$ 10,0 | 5,60<br>t<br>$J_{3,4}$ 10,0 | 3,86<br>t<br>$J_{4,5}$ 10,0  |                                                 |                               |           |
| 17 Acétone- <i>d</i> <sub>6</sub>              | 5,31<br>d<br>$J_{1,2}$ 3,7                      | 4,04<br>dd<br>$J_{2,3}$ 9,5  | 4,18<br>dt<br>$J_{3,4}$ 9,5 | 3,69<br>t<br>$J_{4,5}$ 9,5   | 4,01<br>m<br>$J_{5,6a}$ 4,75<br>$J_{5,6b}$ 10,5 | 4,17<br>q<br>$J_{6a,6b}$ 10,5 | 3,84<br>t |
| 18 Acétone- <i>d</i> <sub>6</sub>              | 5,41<br>d<br>$J_{1,2}$ 3,8                      | 5,05<br>dd<br>$J_{2,3}$ 9,7  | 5,62<br>t<br>$J_{3,4}$ 9,7  | 3,90<br>t<br>$J_{4,5}$ 9,7   | 4,08<br>dt<br>$J_{5,6a}$ 4,7<br>$J_{5,6b}$ 9,7  | 4,20<br>q<br>$J_{6a,6b}$ 10,3 | 3,85<br>q |
| 19 <sup>b</sup> Acétone- <i>d</i> <sub>5</sub> | 5,44<br>d<br>$J_{1,2}$ 3,8                      | 5,03<br>dd<br>$J_{2,3}$ 10,0 | 5,51<br>t<br>$J_{3,4}$ 10,0 |                              |                                                 |                               |           |
| 20 Acétone- <i>d</i> <sub>6</sub>              | 5,38<br>d<br>$J_{1,2}$ 3,75                     | 4,97<br>dd<br>$J_{2,3}$ 9,75 | 5,59<br>t<br>$J_{3,4}$ 9,75 | 3,86<br>t<br>$J_{4,5}$ 9,75  |                                                 |                               |           |
| 22 Chloroforme- <i>d</i>                       | 5,35<br>d<br>$J_{1,2}$ 3,5                      | 5,02<br>dd<br>$J_{2,3}$ 10,0 | 5,40<br>dd<br>$J_{3,4}$ 9,5 | 5,10<br>t<br>$J_{4,5}$ 9,5   |                                                 | 4,0-4,4<br>m                  |           |

<sup>a</sup>Abbréviations : d, doublet; t, triplet; dd, doublet de doublets; dt, doublet de triplets; q, quadruplet; o, m, multiplet du second ordre. <sup>b</sup>Spectre partiel. <sup>c</sup>Attribution tentative.

*Protons de l'autre reste pento- ou hexo-pyranosyle ou D-glucopyranosyle partiellement substitué<sup>a</sup>*

| <i>H-1</i>                 | <i>H-2</i>                   | <i>H-3</i>                                     | <i>H-4</i>                                     | <i>H-5</i>                                     | <i>H-6a</i>                 | <i>H-6b</i> | <i>Autres protons</i>                                                                                           |
|----------------------------|------------------------------|------------------------------------------------|------------------------------------------------|------------------------------------------------|-----------------------------|-------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 5,04<br>d<br>$J_{1,2}$ 3,5 | 3,51<br>dd<br>$J_{2,3}$ 9,8  | 3,98<br>m                                      | 3,58<br>m                                      | 3,58<br>m                                      |                             |             | Ph(CH <sub>2</sub> ): 7,2–7,4,m;<br>CH <sub>2</sub> (Ph): AB centré<br>à 4,7; OAc:<br>2–2,1,m                   |
| 5,25<br>d<br>$J_{1,2}$ 3,9 | 5,00<br>dd<br>$J_{2,3}$ 10,0 | 5,51<br>t<br>$J_{3,4}$ 10,0                    | 5,05<br>m                                      | 3,81<br>dd<br>$J_{4,5}$ 6,4                    | 3,73<br>t<br>$J_{5,5}$ 11,0 |             |                                                                                                                 |
| 5,11<br>d<br>$J_{1,2}$ 1,7 | 5,27<br>dd<br>$J_{3,2}$ 3,2  | 5,37<br>dd<br>$J_{3,4}$ 10,0                   | 5,25<br>t<br>$J_{4,5}$ 10,0                    |                                                | 4,10<br>m                   |             | OAc: 2,16(3); 2,10(9)<br>2,06(6); 2,04(6)                                                                       |
| 5,06<br>d<br>$J_{1,2}$ 1,7 | 5,14<br>dd<br>$J_{3,2}$ 3,5  | 5,31 <sup>c</sup><br>dd déf.<br>$J_{3,4}$ 10,0 | 5,38 <sup>c</sup><br>dt déf.<br>$J_{4,5}$ 10,0 | 3,68<br>dt<br>$J_{5,6a}$ 3,5<br>$J_{5,6b}$ 3,5 | 4,0–4,5<br>m                |             | OAc: 2,18(3);<br>2,12(6); 2,11(3);<br>2,08(3); 2,07(3),<br>2,05(3); 2,02(3)                                     |
| 5,31<br>d<br>$J_{1,2}$ 4,0 | 4,86<br>dd<br>$J_{2,3}$ 9,5  | 4,19 <sup>c</sup><br>dt                        | 3,68<br>t<br>$J_{3,4}$ 9,5                     |                                                |                             |             | OH: 4,87, d,<br>$J_{OH,3}$ 4,75                                                                                 |
|                            |                              |                                                |                                                |                                                |                             |             | Ph(CH <sub>2</sub> ): 7,4–7,6m;<br>CH <sub>2</sub> (Ph): 5,66, s;<br>OH: 4,98 d, $J_{OH,3}$<br>4,5; OAc: 2,16,s |
|                            |                              |                                                |                                                |                                                |                             |             | Ph(CH <sub>2</sub> ): 7,3–7,5,m;<br>CH <sub>2</sub> (Ph): 5,64, s;<br>OAc: 2,00 et 2,12,s                       |
| 5,76<br>d<br>$J_{1,2}$ 4,5 | 5,59<br>dd<br>$J_{2,4}$ 1,25 |                                                | 4,77<br>dd<br>$J_{4,5}$ 9,5                    |                                                |                             |             |                                                                                                                 |
| 5,29<br>d<br>$J_{1,2}$ 4,0 | 4,90<br>dd<br>$J_{2,3}$ 3,1  | 4,24 <sup>c</sup><br>m<br>$J_{3,4}$ 2,5        | 3,77<br>dd<br>$J_{4,5}$ 9,2                    |                                                |                             |             |                                                                                                                 |
| 5,23<br>d<br>$J_{1,2}$ 4,1 | 5,07<br>dd<br>$J_{2,3}$ 3,5  | 5,72<br>t<br>$J_{3,4}$ 3,5                     | 5,01<br>dd<br>$J_{4,5}$ 10,5                   | 4,0–4,4<br>m                                   |                             |             | OAc: 3s, 2,05(9);<br>2,10(12); 2,30(3)                                                                          |

benzyles en présence de palladium sur charbon, suivie d'une acétylation, conduit quantitativement à l'hepta-acétate **5**, déjà obtenu par Belocopitow *et al.*<sup>2</sup> en rendement faible par synthèse enzymatique. L'étude du spectre de <sup>1</sup>H-r.m.n. de ce composé (Tableau I) ne permet cependant aucun doute quant à son identité. On remarque en effet deux doublets à 5,25 et 5,23 p.p.m. avec un couplage identique de 3,9 Hz confirmant la double anomérie α(D) et des couplages voisins de 10 Hz pour les protons en C-2 et C-3 des deux restes glycosyles, assignations qui ont pu être différenciées par irradiation récurrente partant des signaux H-5, H-5'a et H-5'b des deux cycles. Ces valeurs sont en accord avec une conformation exclusivement <sup>4</sup>C<sub>1</sub>(D) des deux systèmes hétérocycliques. La désacétylation par action de la triéthylamine dans le méthanol aqueux conduit à un composé analytiquement pur **6**, obtenu sous forme microcristalline par lyophilisation et dont le pouvoir rotatoire moléculaire mesuré en solution aqueuse (M<sub>D</sub> +53,0°) est voisin de celui que prédisent les règles de Klyne<sup>18</sup> sur la base du pouvoir rotatoire moléculaire des méthyl-α-D-glucopyranoside et -xylopyranoside (M<sub>D</sub> +55,8°).



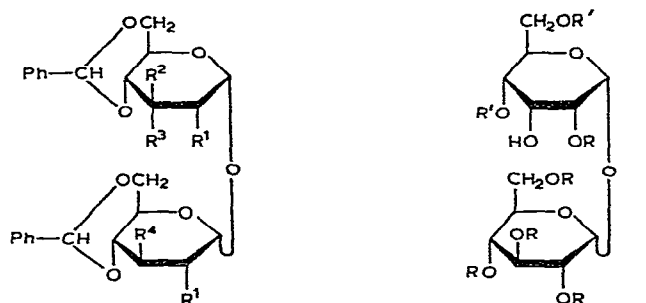
L'α-D-glucopyranosyl-α-D-mannopyranoside (**13**) a été préparé, selon la réaction classique de Koenigs-Knorr, par action du 2,3,4,6-tétra-O-benzyl-D-glucopyranose<sup>19</sup> (**7**) sur le bromure de 2,3,4,6-tétra-O-acétyl-α-D-mannopyranosyle<sup>20</sup> (**8**). On sait en

effet que, en opposition avec le cas précédent, l'obtention de liaisons glycosidiques 1,2-*trans* est généralement prépondérante lorsque l'halogénure de glycosyle porte en C-2 un groupement participant susceptible de former un ion acyloxonium cyclique stabilisant le carbocation formé lors de la solvolysse de l'halogénure<sup>13</sup>. Là encore, la réactivité nucléophile du reste D-glucopyranosyle est fondamentale, et des essais réalisés en utilisant, sous les mêmes conditions, le dérivé tétra-*O*-acétylé correspondant du D-glucose<sup>14</sup> **3** n'ont donné lieu à aucun produit de couplage, ce qui doit être attribué à une diminution du caractère nucléophile du groupement hydroxyle anomère du fait de la présence d'un groupe électroattracteur en C-2. La réaction de condensation, réalisée dans un mélange acétonitrile-dichlorométhane en présence de cyanure mercurique, a conduit avec un rendement de 85 % à un disaccharide homogène en chromatographie sur couche mince (c.c.m.), mais qui est en fait un mélange des anomères  $\alpha,\alpha$  (**9**) et  $\beta,\beta$  (**10**). Ce mélange anomérique a pu être séparé au niveau des dérivés peracétylés **11** et **12**, après débenzylation catalytique suivie de réacétylation. Un spectre de <sup>1</sup>H-r.m.n. du produit brut indique une proportion 3,5:1 de **11** et de **12** basée sur les signaux respectifs de H-5 et H-1 *gluco* des deux disaccharides. Le disaccharide  $\alpha,\alpha$  (**11**) attendu a été obtenu sous forme d'une mousse cristalline avec un rendement de 44 %. Son spectre de <sup>1</sup>H-r.m.n. montre en particulier à  $\delta$  5,35 et 5,11 p.p.m. deux doublets avec des couplages respectifs de 3,5 et 1,7 Hz, en bon accord avec une configuration  $\alpha,\alpha$  des restes D-glucosyle et D-mannosyle; on remarque également un couplage gauche de 3,2 Hz pour les protons en C-2 et C-3 du reste D-mannopyranosyle et des couplages de 10 Hz, *trans*-diaxiaux, pour les protons en C-3, C-4 et C-4, C-5 des deux hétérocycles. Ces valeurs indiquent une conformation <sup>4</sup>C<sub>1</sub>(D) exclusive.

Le disaccharide **12**, légèrement plus polaire que **11**, a été obtenu homogène à la suite d'une purification chromatographique supplémentaire, avec un rendement de 25 %. Son spectre de <sup>1</sup>H-r.m.n. montre un couplage de 7,5 Hz pour le proton anomérique du reste D-glucopyranosyle, associé aux couplages *trans*-diaxiaux attendus, de l'ordre de 10 Hz, pour les protons en C-2, C-3 et C-4. Ces données suggèrent donc une configuration  $\beta$ (D) et une conformation <sup>4</sup>C<sub>1</sub>(D) pour cet hétérocycle. Le reste D-mannopyranosyle présente quant à lui un ensemble de couplages voisins de ceux obtenus pour le disaccharide précédent, laissant par conséquent supposer une configuration identique au niveau du carbone anomérique. Ce point n'est cependant pas confirmé par l'étude ultérieure en <sup>13</sup>C-r.m.n. du dérivé correspondant dé-*O*-acétylé **14**, et une configuration tentative  $\beta$  est proposée sur ces bases pour cet hétérocycle. La désacétylation de ces deux disaccharides, réalisée comme précédemment en présence de triéthylamine dans le méthanol aqueux, a conduit après lyophilisation à des substances microcristallines **13** ( $\alpha,\alpha$ ) et **14** ( $\beta,\beta$ ) comportant, comme le dérivé D-glucopyranosyl-D-xylopyranoside précédent (**6**) une molécule d'eau de cristallisation.

Bien qu'il puisse être obtenu également par couplage anomérique, le disaccharide  $\alpha$ -D-allopyranosyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (**23**) n'a cependant pas été synthétisé par cette voie, du fait de la difficulté d'accès aux dérivés de l'allopyranose.

Une synthèse directe par modification sélective sur l'un des deux sites du tréhalose a donc été envisagée. Des exemples récents de benzylation sélective du méthyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside<sup>21</sup>, du méthyl- $\beta$ -D-lactoside<sup>22</sup>, et d'acétylation sélective du benzyl- $\beta$ -D-glucopyranoside<sup>23</sup>, du méthyl-4,6-*O*-benzylidène- $\alpha$ -D-glucopyranoside<sup>24,25</sup>, du maltose<sup>26,27</sup>, du lactose<sup>28</sup> et du méthyl- $\beta$ -D-cellobioside<sup>29</sup> indiquent sans ambiguïté une moindre réactivité du groupement hydroxyle en C-3 d'un dérivé D-glucopyranosidique vis-à-vis des agents alcoylants ou acylants\*. En accord avec ces résultats, l'action de trois équivalents moléculaires de *N*-acétylimidazole<sup>31</sup> sur le 4,6:4',6'-di-*O*-benzylidènetréhalose<sup>32</sup> (15) en solution chloroformique, a conduit avec un rendement de 40 % au dérivé 2,2',3-tri-*O*-acétylé correspondant (16) à côté des dérivés 2,2'-di-*O*-acétylé (17) et 2,2',3,3'-tétra-*O*-acétylé (18) obtenus avec des



- 15  $R^1 = R^2 = R^4 = OH; R^3 = H$   
 16  $R^1 = R^4 = OAc; R^2 = OH; R^3 = H$   
 17  $R^1 = OAc; R^2 = R^4 = OH; R^3 = H$   
 18  $R^1 = R^2 = R^4 = OAc; R^3 = H$   
 19  $R^1 = R^4 = OAc; R^2, R^3 = OH$   
 20  $R^1 = R^4 = OAc; R^2 = H; R^3 = OH$

- 21  $R = Ac; R' = H$   
 22  $R = R' = Ac$   
 23  $R = R' = H$

rendements respectifs de 16 et 23 %. L'attribution des sites de substitution du dérivé trisubstitué 16 est réalisée sans difficulté sur la base du déplacement chimique comparatif du même proton dans les dérivés di- et tétra-*O*-acétylés 17 et 18. C'est ainsi que l'un des protons en C-3 du triacétate 16 donne son signal sous la forme d'un triplet, dédoublé par la présence du groupement hydroxyle géminale à 4,19 p.p.m., alors que le dérivé tétra-*O*-acétylé correspondant 18 donne un seul signal pour C-3 et C-3' à 5,62 p.p.m. Quant au dérivé di-*O*-acétylé 17, le doublet de doublets à bas champ est sans ambiguïté attribué aux protons en C-2 par irradiation du doublet anomérique.

L'action du réactif diméthylsulfoxyde-anhydride acétique sur le triacétate 16 conduit avec un rendement quantitatif au disaccharide monohexuloside correspon-

\* Cette sélectivité n'a pas été observée avec les anhydrides par Jeanloz et Jeanloz<sup>30</sup> qui ont obtenu les méthyl-3-*O*-acétyl- et 3-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidène- $\alpha$ -D-glucopyranosides de façon préférentielle par action respective d'anhydrides acétique et benzoïque en proportion équimoléculaire sur le dérivé dihydroxylé correspondant.

dant en C-3 dont le spectre de r.m.n. montre en particulier pour H-2 et H-4 du reste hexulopyranoside un doublet de doublets suggérant un couplage à longue distance  $J_{2,4}$  de 1,25 Hz du type observé dans des systèmes cyclohexanone et glycopyranosidulose<sup>25</sup>. Comme cela a été montré dans le cas de réductions par un hydrure métallique<sup>33</sup> d' $\alpha$ -alkylhex-3-ulopyranosides qui conduisent préférentiellement à l'alcool axial correspondant, l'hydrogénation catalytique de **19** en présence de catalyseur d'Adams a conduit de façon très stéréospécifique au D-allosyl-D-glucoside **20**. Une c.c.m. du produit brut d'hydrogénation catalytique, en présence du précurseur **16**, dérivé du tréhalose, ne montre en effet pas trace de ce dernier composé, pas plus d'ailleurs que l'examen du spectre de  $^1\text{H}$ -r.m.n. Ce dernier a pu être en effet résolu à haute fréquence (Tableau I) sous la forme d'un système de signaux essentiellement du premier ordre, avec en particulier deux doublets d'égale intensité à  $\delta$  5,38 et 5,29 p.p.m de couplages respectifs 3,75 et 4 Hz attribuables aux protons anomériques des restes D-glucosyle et D-allosyle et confirmant le maintien de l'anomérie  $\alpha,\alpha$  (D), suivis des autres systèmes de signaux attendus. L'hydrolyse des groupes protecteurs benzyldènes sur ce dérivé D-allosyl-D-glucoside **20** s'est révélée particulièrement délicate et a provoqué, dans les conditions standard utilisées pour des  $\alpha$ -alkyl-D-glucopyranosides, la rupture concomitante de la liaison interglycosidique. Une hydrogénation catalytique en présence de noir de palladium selon la technique de Fletcher<sup>34</sup> a néanmoins conduit au dérivé déprotégé en C-4 et C-6 (**21**), isolé sous la forme du dérivé correspondant octa-O-acétylé **22** avec un rendement de 50 % par rapport à l'uloside **19**. Le spectre de  $^1\text{H}$ -r.m.n. de ce composé montre en particulier un triplet à 5,72 p.p.m. avec un couplage de 3,5 Hz attribuable au proton en C-3 du reste D-allopyranosyle. Ce déplacement à bas champ d'un proton porté par un groupe acétoxy axial comparativement au signal donné par le même proton dans le reste D-glucopyranosyle correspondant ( $\delta$  5,40 p.p.m.) est en bon accord avec les données de la littérature<sup>35</sup>. Les couplages respectifs de 4,1, 3,5 et 10,5 Hz pour  $J_{1,2}$ ,  $J_{2,3}$  et  $J_{4,5}$  confirment une conformation exclusivement  $^4\text{C}_1(\text{D})$  pour la partie D-allopyranosyle du disaccharide, le reste D-glucosyle n'étant pas modifié par rapport aux données précédentes. La dé-O-acétylation selon la technique précédemment décrite a conduit au disaccharide libre **23** cristallisant avec 1,5 molécule d'eau et pour lequel la spectrométrie r.m.n. montre deux doublets à  $\delta$  5,66 et 5,64 p.p.m. avec un couplage de 4 Hz. Une hydrolyse acide de ce disaccharide **23** suivie d'une identification par chromatographie sur papier confirme bien la présence unique de D-allose et de D-glucose.

La fragmentation sous impact électronique de l'ensemble des dérivés substitués  $\alpha$ -D-glycopyranosyl- $\alpha$ -D-glycopyranosides **5**, **11**, **16-20** et **22** décrits dans ce travail est caractérisée par une rupture primaire de la liaison C-1-O-1 conduisant à deux ions oxycarbonium cycliques, identiques dans le cas des disaccharides hexopyranosyles **11**, **17**, **18** et **22** symétriquement substitués et, comme on peut l'attendre, différenciables dans le cas des dérivés asymétriques D-glucopyranosyl-D-xylopyranoside **5** ou asymétriquement substitués **16**, **19** et **20** (Schémas 1 et 2). Cette fragmentation initiale déjà observée par Hough *et al.*<sup>36</sup> dans le cas de dérivés du tréhalose se caractérise par

l'absence d'ion moléculaire dans le cas des dérivés peracétylés; cet ion ne se retrouve que dans le cas des dérivés substitués par un groupement 4,6-*O*-benzylidène (Schéma 2). Elle est suivie de fragmentations séquentielles classiques pour le type de dérivé monosaccharidique correspondant<sup>37</sup>.

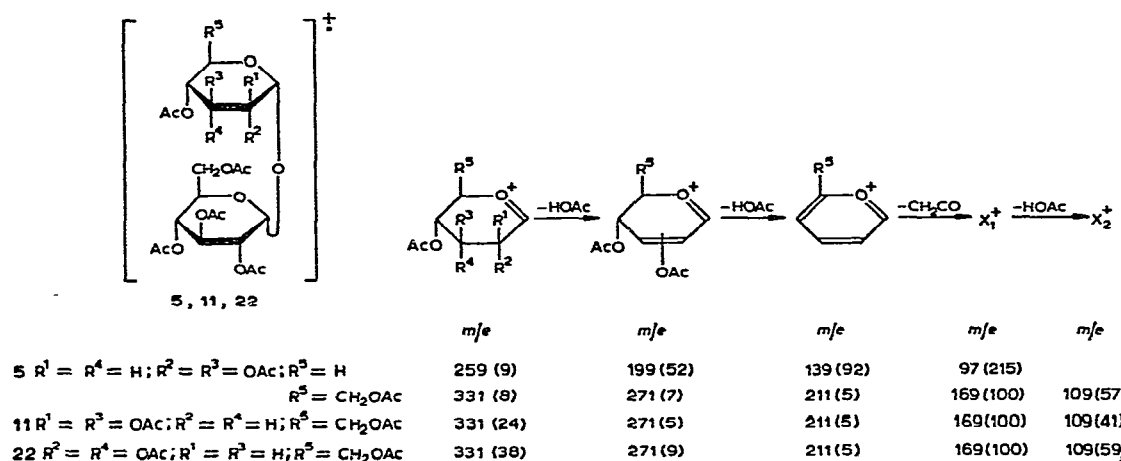


Schéma 1. Principales fragmentations sous impact électronique des disaccharides peracétylés 5, 11 et 22.

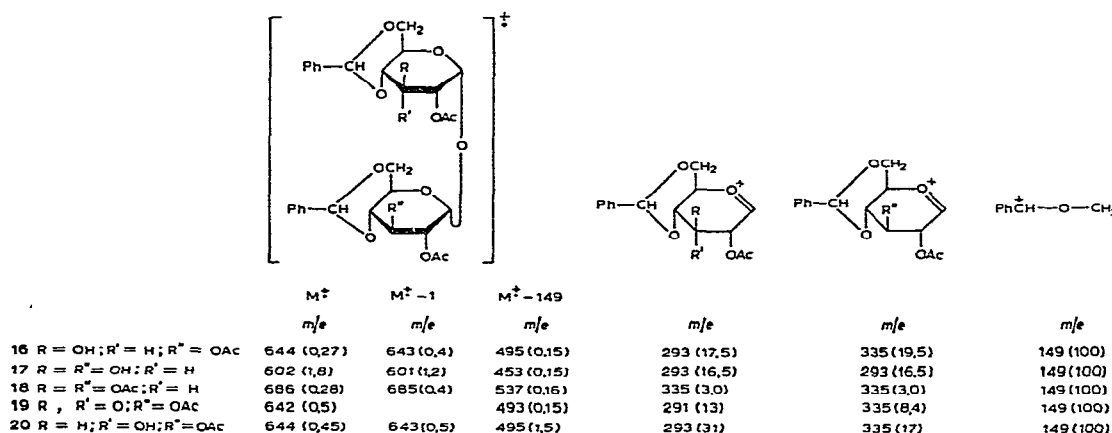


Schéma 2. Principales fragmentations sous impact électronique des 4,6-*O*-benzylidène-disaccharides 16-20.

On connaît l'apport fondamental de la résonance magnétique nucléaire du <sup>13</sup>C en série oligo- et poly-saccharidique<sup>35</sup>. Il était intéressant de vérifier et étendre sa validité en fonction de la présente série homogène, comportant deux isomères de

TABLEAU II

DONNÉES DE  $^{13}\text{C}$ -R.M.N. POUR LES DISACCHARIDES 6, 13, 14, 23 ET LES  $\alpha,\alpha$ -,  $\beta,\beta$ -TRÉHALOSES ET MÉTHYL-GLYCOSIDES DE RÉFÉRENCE

| Composé                                                                 | C-1   | C-2               | C-3               | C-4               | C-5               | C-6  | OMe  | C-1   | C-2               | C-3               | C-4               | C-5               | C-6  | OMe  |
|-------------------------------------------------------------------------|-------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------|------|-------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------|------|
| Méthyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside                                     | 100,3 | 72,6              | 74,1              | 70,6              | 72,3              | 61,6 | 56,1 |       |                   |                   |                   |                   |      |      |
| Méthyl- $\alpha$ -D-xylopyranoside                                      |       |                   |                   |                   |                   |      |      | 100,5 | 72,2              | 74,2              | 70,3              | 61,9              |      | 56,1 |
| $\alpha,\alpha$ -Tréhalose                                              | 94,4  | 73,3              | 73,7              | 70,9              | 72,2 <sup>a</sup> | 61,8 |      |       |                   |                   |                   |                   |      |      |
| $\alpha$ -D-Glucopyranosyl- $\alpha$ -D-xylopyranoside (6)              | 94,5  | 73,3              | 73,7              | 70,9              | 72,2              | 61,8 |      | 94,6  | 72,2              | 73,9              | 70,7              | 62,8              |      |      |
| Méthyl- $\alpha$ -D-mannopyranoside                                     |       |                   |                   |                   |                   |      |      | 101,9 | 71,1              | 71,8              | 68,0              | 73,7              | 62,2 | 56,0 |
| $\alpha$ -D-Glucopyranosyl- $\alpha$ -D-mannopyranoside (13)            | 94,6  | 73,6              | 74,3              | 70,7              | 72,0              | 61,7 |      | 96,1  | 71,1              | 71,4              | 67,8              | 73,7              | 62,1 |      |
| Méthyl- $\beta$ -D-glucopyranoside                                      | 104,3 | 74,2              | 77,0              | 70,7              | 76,9              | 61,9 | 58,3 |       |                   |                   |                   |                   |      |      |
| Méthyl- $\beta$ -D-mannopyranoside                                      |       |                   |                   |                   |                   |      |      | 101,0 | 70,3              | 73,0              | 79,3              | 76,3              | 61,3 | 56,6 |
| $\beta,\beta$ -Tréhalose (Réf. 41)                                      | 100,7 | 74,2              | 77,3              | 71,1              | 77,3              | 62,5 |      |       |                   |                   |                   |                   |      |      |
| $\beta$ -D-Glucopyranosyl- $\beta$ -D-mannopyranoside (14) <sup>b</sup> | 104,7 | 71,6 <sup>c</sup> | 72,3 <sup>c</sup> | 71,3 <sup>c</sup> | 77,6 <sup>c</sup> | 62,7 |      | 103,7 | 68,4 <sup>c</sup> | 71,3 <sup>c</sup> | 78,2 <sup>c</sup> | 74,9 <sup>c</sup> | 62,3 |      |
| Méthyl- $\alpha$ -D-allopyranoside                                      |       |                   |                   |                   |                   |      |      | 100,4 | 68,1 <sup>c</sup> | 72,3              | 67,3              | 68,3 <sup>c</sup> | 62,0 | 56,7 |
| $\alpha$ -D-Allopyranosyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (23)             | 94,3  | 73,4              | 73,7              | 70,8              | 72,0              | 61,7 |      | 94,7  | 68,1 <sup>c</sup> | 72,0              | 67,2              | 68,6 <sup>c</sup> | 61,9 |      |

<sup>a</sup>Litt. <sup>41</sup> : 77,3. <sup>b</sup>Enregistré sur appareil Bruker WP60 à 15,08 MHz. <sup>c</sup>Valeurs qui peuvent être inversées dans une même ligne.

configuration (13 et 23) et un homologue (6), analogues du tréhalose. Les attributions des signaux correspondants qui figurent dans le Tableau II ont été établies selon la méthode de Dorman et Roberts<sup>38</sup> en utilisant comme composés modèles les méthyl- $\alpha$ -D-xylopyranoside<sup>39</sup>, méthyl- $\alpha$ - et  $\beta$ -D-glucopyranosides<sup>39</sup>, méthyl- $\alpha$ - et  $\beta$ -D-mannopyranosides<sup>39,40</sup>, méthyl- $\alpha$ -D-allopyranoside et les  $\alpha,\alpha$ - et  $\beta,\beta$ -tréhaloses<sup>41</sup>. On remarque d'emblée que la résonance des carbones anomères des disaccharides 6, 13 et 23 varie dans des proportions très étroites, de 94,3 à 96,1 p.p.m., ce qui est en bon accord avec les valeurs trouvées pour l' $\alpha,\alpha$ -tréhalose (94,4 p.p.m.), en opposition avec l'anomère  $\beta$  (100,7 p.p.m.), et confirme l'anomérisation  $\alpha$  précédemment avancée sur la base des couplages anomériques des protons correspondants. On remarque également que le déplacement chimique de l'atome de carbone anomère  $\alpha$  du reste D-mannosyle dans 13 se retrouve déplacé à plus bas champ, de 1,5 p.p.m. par rapport à l'atome de carbone correspondant du reste D-glucosyle. Ce point est en accord avec les règles empiriques<sup>42</sup> qui définissent que la résonance d'un atome de carbone portant un groupement hydroxyle axial est déplacée à plus bas champ d'environ  $1,7 \pm 0,3$  p.p.m. lorsque la position vicinale porte également un groupement hydroxyle axial. Ces données permettent par ailleurs de lever l'ambiguïté quant à la configuration anomérique du produit secondaire D-glucopyranosyl-D-mannopyranoside 14 obtenu lors de la préparation du disaccharide  $\alpha,\alpha$  correspondant et pour lequel la spectrométrie r.m.n. du proton n'était pas décisive. Le déplacement chimique des deux atomes de carbone anomères de 14 est de 104,7 et 103,7 p.p.m., en bon accord avec une anomérie  $\beta,\beta$  pour les deux hétérocycles hexopyranosyles. On remarque par ailleurs pour ce même disaccharide un fort blindage dépassant quelque fois 5 p.p.m. pour C-2 et C-3 des deux hétérocycles, associé à un déblindage de 3 p.p.m. pour C-1 et C-1'. Cette observation pourrait être en accord avec la présence de liaisons hydrogène intramoléculaires au niveau des atomes de carbone considérés d'un type différent de celles rencontrées dans l' $\alpha,\alpha$ -tréhalose<sup>43</sup> et l'attribution des configurations est, par conséquence, tentative.

La réactivité enzymatique de la tréhalase de hanneton, d'activité spécifique 9,2 pour le tréhalose, a été mesurée vis-à-vis des disaccharides 6, 13 et 23 en tampon de McIlvaine, pour des concentrations variables de substrat, en fonction de temps d'incubation de 1 à 6 h à 37°. La constante de Michaelis est de 0,617mM pour le tréhalose, 3,57mM pour l' $\alpha$ -D-allopyranosyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (23) et 27,7mM pour l' $\alpha$ -D-glucopyranosyl- $\alpha$ -D-xylopyranoside (6). Les  $V_{\max}$  sont de 0,178 pour le dérivé D-allopyranosyle 23 et de 0,238 pour le dérivé D-xylosyle 6 (soit 1,7% et 2,3% de celles mesurées pour le tréhalose). La constante de Michaelis du 6-désoxy- $\alpha,\alpha$ -tréhalose<sup>1</sup> est dans les mêmes conditions, avec une enzyme d'activité spécifique 0,29, de 2,0mM et sa  $V_{\max}$  de 0,03 (10% de celle du tréhalose). En présence du D-glucopyranosyl-D-mannoside 13, la constante de Michaelis de l'enzyme pour le tréhalose est modifiée et devient 12,5mM à la concentration de 0,3125 et 9mM à la concentration 0,156mM. La  $V_{\max}$  n'est cependant pas modifiée, ce qui suppose par conséquent que 13 est un inhibiteur compétitif de la tréhalase.

## PARTIE EXPÉRIMENTALE

*Méthodes générales.* — Les solvants utilisés sont purifiés avant d'être utilisés<sup>44</sup>. Les mélanges réactionnels sont lavés à 0° par les solutions aqueuses mentionnées, puis séchés sur sulfate de sodium et concentrés sous pression réduite à des températures ne dépassant pas 45°. Le cours des réactions ainsi que l'homogénéité des composés décrits sont contrôlés par chromatographie sur couche mince (c.c.m.) de gel de silice (Merck F 254, Merck, Darmstadt, Allemagne) avec révélation par pulvérisation d'acide sulfurique aqueux (1:1) et chauffage à 100°, ou par chromatographie sur papier (Whatman No. 1) par la méthode descendante avec le système éluant butanol-pyridine-eau (6:4:3, v/v) et révélation par le nitrate d'argent alcalin<sup>45</sup>. Les séparations et purifications sont réalisées sur colonne de gel de silice (Merck 60, 70–230 mesh). Les points de fusion sont mesurés sur platine de Leitz, sous microscope, et sont corrigés. Les microanalyses élémentaires ont été réalisées par le Service Central de Microanalyse du C.N.R.S. (Thiais). Les pouvoirs rotatoires ont été mesurés à l'aide du « Quick Polarimètre » de Roussel et Jouan. Les spectres de <sup>1</sup>H-r.m.n. ont été établis sauf indication contraire, à 250 MHz sur appareil Cameca (Thomson C.S.F., Paris) ou à 100 MHz sur appareil Varian HA-100; les déplacements chimiques sont donnés en  $\delta$  (p.p.m.) par rapport au signal du tétraméthylsilane pris comme référence interne ou, dans le cas de solutions aqueuses, comme référence externe (tube concentrique de tétraméthylsilane-tétrachlorure de carbone, 1:1, v/v). Les attributions sont généralement confirmées par découplage de spin. Les spectres de <sup>13</sup>C-r.m.n. ont été établis, sauf indication contraire, à 25,2 MHz dans l'oxyde de deutérium sur appareil Varian XL-100 équipé d'un système de transformée de Fourier Informatéc et découplage du proton; les déplacements chimiques sont mesurés en  $\delta$  (p.p.m.) à partir du signal du tétraméthylsilane pris comme référence externe (tube concentrique de tétraméthylsilane pur). Les spectres de masse ont été enregistrés sur appareil MS 30 (A.E.I.) à double faisceau, en introduction directe avec une tension d'accélération de 2 KV, une tension d'ionisation de 70 eV et un courant électronique de 330 mA; les températures de sources variaient de 150 à 250°; les abondances relatives par rapport au pic de base sont données entre parenthèses.

*2,3,4-Tri-O-benzyl-1-O-p-nitrobenzoyl- $\beta$ -D-xylopyranose (1).* — Le 2,3,4-tri-O-benzyl-D-xylopyranose<sup>46</sup> (16,8 g, 40 mmol), dissous dans le dichlorométhane (160 ml), est additionné de chlorure de *p*-nitrobenzoyle (12 g, 65 mmol) dans le dichlorométhane (40 ml) et la pyridine (12 ml). Après une agitation magnétique de 12 h à température ambiante, le mélange réactionnel est additionné d'un cristal de glace. Après 2 h, la solution est lavée à l'eau (100 ml), puis par une solution d'acide sulfurique 1,5M (100 ml), enfin par une solution d'hydrogénocarbonate de sodium à saturation (100 ml), puis par l'eau (100 ml). La concentration de la solution conduit à une huile qui cristallise par trituration avec de l'éthanol (12,7 g); un aliquot recristallisé (dichlorométhane-éther) donne **1**, p.f. 126–128°;  $[\alpha]_D^{25} -52,4^\circ$  (c 1, chloroforme); données de r.m.n. (100 MHz, chloroforme-*d*):  $\delta$  5,87 (d,  $J_{1,2}$  6 Hz, H-1).

*Anal.* Calc. pour  $C_{23}H_{31}NO_8$ : C, 69.58; H, 5.49; N, 2.46. Trouvé: C, 69.50; H, 5.33; N, 2.77.

Les eaux-mères de cristallisation (15 g) sont déposées sur une colonne de gel de silice (100 g) et une élution par le mélange éther-hexane (1:1, v/v) permet de récupérer 9 g du produit attendu **1** contaminé par une égale proportion de son anomère  $\alpha$  (c.c.m., éther-hexane, 1:1, v/v), rendement total 96 %.

(2,3,4,6-Tétra-O-acétyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl)-2,3,4-tri-O-benzyl- $\alpha$ -D-xylopyranoside (**4**). — Le dérivé **1** ou son mélange anomérique (6,54 g, 11,5 mmol), dissous dans le dichlorométhane fraîchement distillé sur anhydride phosphorique<sup>44</sup> (20 ml), est soumis à 0° à un barbotage d'acide bromhydrique jusqu'à disparition, par contrôle en c.c.m. (éther-hexane, 1:1, v/v), du produit de départ. Après élimination par filtration du précipité formé, lavage à l'eau froide (20 ml) de la solution organique et concentration, une huile (5,9 g) est obtenue qui montre en spectrométrie de  $^1H$ -r.m.n. (60 MHz, chloroforme-*d*) un signal à  $\delta$  6,32 p.p.m. (*J* 4 Hz) d'intégration globale 1/12 par rapport aux protons aromatiques des groupements benzyles, ce qui suppose une proportion de 83 % pour le bromure de glycosyle (**2**) intermédiaire attendu. Un mélange benzène-nitrométhane (1:1, v/v, 100 ml) contenant du cyanure mercurique (2,92 g, 11,5 mmol) et du bromure mercurique (292 mg, 1,1 mmol) est alors concentré à pression ordinaire jusqu'à un volume de 80 ml, puis il est refroidi à 40° et additionné de 2,3,4,6-tétra-O-acétyl-D-glucopyranose<sup>14</sup> (**3**, 2 g, 5,7 mmol) et du bromure de D-xylosyle **2** brut dissous dans le même solvant (10 ml). Après 24 h à 40°, avec agitation magnétique sous atmosphère d'azote, le mélange réactionnel est concentré, repris par le dichlorométhane (100 ml) et la solution lavée par une solution de bromure de potassium (M,  $2 \times 100$  ml), par l'eau (100 ml), enfin par une solution d'hydrogénéocarbonate de sodium à saturation (100 ml), puis par l'eau ( $2 \times 100$  ml), les eaux de lavage étant elles-mêmes réextraites à nouveau par le dichlorométhane ( $2 \times 200$  ml). Les solutions réunies sont concentrées et l'huile obtenue (8,0 g) qui montre en c.c.m. (éther-hexane, 2:1, v/v) une tache essentielle de  $R_F$  0,37, accompagnée de taches mineures de  $R_F$  0,41 et 0,22, est purifiée par passage sur une colonne de gel de silice (400 g,  $600 \times 45$  mm) avec l'éluant éther-hexane (3:2, v/v). Le passage de 800 ml d'éluant permet d'isoler le dérivé disaccharidique attendu sous la forme d'une huile homogène en c.c.m. (éther-hexane, 2:1, v/v) (2,4 g, 56 %);  $[\alpha]_D^{25} + 138^\circ$  (*c* 0,5, chloroforme), mais dont l'analyse élémentaire n'est pas néanmoins dans les limites acceptables (Calc. pour  $C_{40}H_{46}O_{14}$ : C, 63.99; H, 6.17. Trouvé: C, 65.19; H, 6.51).

2,3,4,6-Tétra-O-acétyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl-2,3,4-tri-O-acétyl- $\alpha$ -D-xylopyranoside (**5**). — Le dérivé disaccharidique **4** (2,4 g) est dissous dans l'éthanol aqueux (19:1, v/v, 100 ml) et soumis à une hydrogénation catalytique en présence de palladium sur charbon à 10 % jusqu'à formation (24 h) d'un produit homogène en c.c.m. (acétate d'éthyle-*p*-dioxanne, 1:1, v/v). La concentration de la solution éthanolique, après élimination du catalyseur par filtration sur Célite, conduit à un verre qui, après séchage, est additionné de pyridine (10 ml) et d'anhydride acétique (5 ml). Après 12 h à température ambiante, le mélange réactionnel, refroidi dans la glace, est additionné de méthanol (5 ml) et, après 1 h, évaporé. Le résidu est repris par le chloroforme

(20 ml) et lavé par de l'eau ( $2 \times 10$  ml), les eaux de lavage étant elles-mêmes ré-extraites par le chloroforme ( $2 \times 20$  ml). Les phases chloroformiques réunies conduisent, après concentration, à une mousse (1,67 g, 87 %) qui n'a pu être cristallisée,  $[\alpha]_D^{22} + 134^\circ$  ( $c$  1, chloroforme); litt.<sup>2</sup>:  $[\alpha]_D^{22} + 151,8^\circ$  ( $c$  0,3, chloroforme).

*Anal. Calc.* pour  $C_{25}H_{34}O_{17}$ : C, 49.51; H, 5.65. Trouvé: C, 49.73; H, 5.74.

*$\alpha$ -D-Glucopyranosyl- $\alpha$ -D-xylopyranoside* (6). — Le dérivé hepta-*O*-acétylé 5 (1,67 g) est dissous dans le méthanol aqueux (9:1, v/v, 70 ml) et additionné de triéthylamine (7 ml). Après 12 h à température ambiante, la solution est neutralisée par addition d'Amberlite IR-120 ( $H^+$ ) et lyophilisée (870 mg, 49 % à partir de 3),  $[\alpha]_D^{22} + 158^\circ$  ( $c$  1, eau);  $R_{Glc}$  0,84; litt.<sup>2</sup>:  $[\alpha]_D^{22} + 164,4^\circ$  ( $c$  1,2, eau),  $R_{Glc}$  0,67; données de r.m.n. (100 MHz, oxyde de deuterium):  $\delta$  5,62 (d, 1 H,  $J$  3 Hz), H-1 et H-1').

*Anal. Calc.* pour  $C_{11}H_{20}O_{10} \cdot H_2O$ : C, 40.00; H, 6.71. Trouvé: C, 39.79; H, 6.71.

Un chauffage à  $100^\circ$  pendant 8 h sous pression réduite en présence de penta-oxyde de phosphore conduit au composé anhydre,  $[\alpha]_D^{22} + 160^\circ$  ( $c$  1, eau).

*Anal. Calc.* pour  $C_{11}H_{20}O_{10}$ : C, 42.30; H, 6.45. Trouvé: C, 42.14; H, 6.46.

(2,3,4,6-Tétra-*O*-benzyl- $\alpha,\beta$ -D-glucopyranosyl)-2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- $\alpha$ - et  $\beta$ -D-mannopyranosides (9 et 10). — À un mélange d'acétonitrile, fraîchement distillé sur hydrure de calcium<sup>44</sup> (24 ml), et de dichlorométhane (3 ml) est ajouté le 2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl-D-glucopyranose<sup>19</sup> (7, 1,5 g, 2,78 mmol) et le cyanure mercurique (1,8 g, 7 mmol). Après 1 h à  $50^\circ$  est ajouté le bromure de 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-D-mannopyranosyle<sup>20</sup> (8, 2,95 g, 7 mmol) en solution dans l'acétonitrile (9 ml). Après 48 h d'agitation magnétique à  $50^\circ$ , une c.c.m. (éther-hexane, 3:1, v/v) indique la disparition pratiquement totale des réactants avec apparition d'une tache essentielle de  $R_F$  0,52. Les solvants sont alors éliminés par concentration et le résidu, dissous dans le dichlorométhane (100 ml), est lavé successivement par une solution M de bromure de potassium ( $2 \times 100$  ml), par l'eau (100 ml), par une solution saturée d'hydrogénocarbonate de sodium ( $2 \times 100$  ml), enfin par l'eau ( $2 \times 100$  ml); les phases aqueuses de lavage sont dans un deuxième temps ré-extraites avec du dichlorométhane ( $2 \times 100$  ml). Les solutions organiques réunies sont concentrées et le résidu est placé sur une colonne de gel de silice ( $900 \times 25$  mm) avec élution par le mélange éther-hexane (1:1, v/v): 1,0 litre d'éluant conduit au 2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl-D-glucopyranose de départ inchangé (31 mg, 2 %); le mélange des disaccharides 9 et 10 (2,06 g, 85 %) est élué par 2,5 litres de solvant; 3,0 litres d'éluant permettent de récupérer encore 300 mg du mélange de 9 et 10 non-homogène en c.c.m.

(2,3,4,6-Tétra-*O*-acétyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl)-2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- $\alpha$ -D-mannopyranoside (11) et (2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- $\beta$ -D-mannopyranoside (12). — Le mélange de disaccharides 9 et 10 (1,34 g) est dissous dans l'éthanol (100 ml) et hydrogéné sous 3 atm en présence de palladium sur charbon à 10 % (1,34 g). Après un temps variant entre 24 et 72 h, on constate, sur un aliquot, la disparition des signaux attribuables en spectrométrie de r.m.n. aux groupes protecteurs benzyles. Le catalyseur est alors éliminé par filtration sur Célite et le solvant évaporé. L'huile obtenue (853 mg) est dissoute dans la pyridine (8 ml)

et additionnée d'anhydride acétique (4 ml). Après 24 h, le mélange réactionnel est extrait comme décrit pour le peracétate **5**. L'huile obtenue, qui montre deux taches en c.c.m. (dichlorométhane-éther, 1:3, v/v,  $R_F$  0,77 et 0,66), est séparée par passage sur une colonne de gel de silice avec le mélange éluant éther-hexane (3:1, v/v). Le disaccharide peracétylé  $\alpha,\alpha$  (**11**) est obtenu sous la forme d'une mousse (450 mg, 44 %, par rapport au mélange de **9** et **10**), homogène en c.c.m. (éther);  $[\alpha]_D^{22} + 116^\circ$  (c 1,8 chloroforme).

*Anal.* Calc. pour  $C_{28}H_{38}O_{19}$ : C, 49.55; H, 5.64. Trouvé: C, 50.35; H, 5.74.

Une élution complémentaire permet d'obtenir le deuxième composant **12** (340 mg) encore contaminé par **11**. Un second passage sur colonne dans les mêmes conditions conduit au disaccharide **12** homogène (260 mg, 25 % par rapport au mélange de **9** et **10**);  $[\alpha]_D^{22} + 40^\circ$  (c 0,5, chloroforme).

*Anal.* Calc. pour  $C_{28}H_{38}O_{19}$ : C, 49.55; H, 5.64. Trouvé: C, 49.51; H, 5.77.

$\alpha$ -D-Glucopyranosyl- $\alpha$ -D-mannopyranoside (**13**). — Le dérivé peracétylé **11** (290 mg, 0,43 mmol) est dissous dans le méthanol aqueux (9:1, v/v, 25 ml) et additionné de triéthylamine (2,5 ml). Après le même traitement qui a conduit à **6**, une lyophilisation de la solution aqueuse conduit à une poudre microcristalline (147 mg, 95 %), p.f. 120–125°,  $[\alpha]_D^{22} + 110^\circ$  (c 1, eau),  $R_{Glc}$  0,59; données de r.m.n. (250 MHz, oxyde de deutérium):  $\delta$  4,73 (d, 1 H,  $J$  3,6 Hz, H-1 *gluco*) et 4,67 (d, 1 H,  $J$  1,4 Hz, H-1 *manno*).

*Anal.* Calc. pour  $C_{12}H_{22}O_{11} \cdot H_2O$ : C, 40.00; H, 6.71. Trouvé: C, 40.18; H, 6.47.

Un chauffage à 100° pendant 10 h sous pression réduite en présence de pentaoxyde de phosphore conduit à un composé partiellement déshydraté, p.f. 126–134°;  $[\alpha]_D^{22} + 162^\circ$  (c 0,5, eau).

*Anal.* Calc. pour  $C_{12}H_{22}O_{11} \cdot 0,5H_2O$ : C, 41.03; H, 6.60. Trouvé: C, 41.00; H, 6.71.

$\beta$ -D-Glucopyranosyl- $\beta$ -D-mannopyranoside (**14**). — Le dérivé peracétylé **12** (260 mg, 0,38 mmol), traité dans les conditions qui ont permis l'obtention de **13** à partir de **11**, conduit à une poudre microcristalline (120 mg, 87 %), p.f. 120–125°;  $[\alpha]_D^{22} + 44^\circ$  (c 1, eau);  $R_{Glc}$  0.57; données de r.m.n. (100 MHz, oxyde de deutérium):  $\delta$  5.11 (d, 1 H,  $J$  7,2 Hz, H-1 *gluco*) et 5,60 (d, 1 H,  $J$  1,7 Hz, H-1 *manno*).

*Anal.* Calc. pour  $C_{12}H_{22}O_{11} \cdot H_2O$ : C, 40.00; H, 6.71. Trouvé: C, 39.84; H, 6.78.

Un chauffage à 100° pendant 10 h sous pression réduite en présence de pentaoxyde de phosphore conduit au composé déshydraté, p.f. 122–128°;  $[\alpha]_D^{22} + 52^\circ$  (c 1, eau).

*Anal.* Calc. pour  $C_{12}H_{22}O_{11}$ : C, 42.10; H, 6.47. Trouvé: C, 42.15; H, 6.74.

(2,3-Di-O-acétyl-4,6-O-benzylidène- $\alpha$ -D-glucopyranosyl)-2-O-acétyl-4,6-O-benzylidène- $\alpha$ -D-glucopyranoside (**16**). — L'imidazole (3,4 g, 50 mmol) est dissous dans le chloroforme fraîchement distillé sur pentaoxyde de phosphore<sup>44</sup> (50 ml) et, à 0°, additionné de chlorure d'acétyle (1,96 g, 24,9 mmol). Après 1 h, le chlorhydrate d'imidazole est séparé par filtration et lavé par le chloroforme (2  $\times$  10 ml). Les

solutions chloroformiques contenant le *N*-acétylimidazole (24,9 mmol) sont additionnées de 4,6:4',6'-di-*O*-benzylidènetréhalose<sup>32</sup> (**15**, 4,3 g, 8,3 mmol) dissous dans le chloroforme sec (100 ml). Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant 24 h puis, après refroidissement, dilué avec le chloroforme (200 ml) et lavé successivement par l'eau (100 ml), l'hydrogénocarbonate de sodium en solution aqueuse saturée (100 ml), puis par l'eau (100 ml), les eaux de lavage étant elles-mêmes réextraites par le dichlorométhane (2 × 200 ml). Après concentration, le résidu est placé sur une colonne de gel de silice (600 × 45 mm, 400 g) éluée par un mélange acétate d'éthyle-hexane (1:2, v/v); 700 ml de solvant conduisent au 2,3:2',3'-tétra-*O*-acétyl-4,6:4',6'-di-*O*-benzylidènetréhalose (**18**, 1,27 g, 23 %), p.f. 246–247° (cristallisé de dichlorométhane-éther);  $[\alpha]_D^{22} + 124^\circ$  (c 1, chloroforme).

*Anal.* Calc. pour  $C_{34}H_{38}O_{15}$ : C, 59.47; H, 4.99. Trouvé: C, 59.66; H, 5.04.

Une élution par 2 litres de solvant permettent d'isoler **16** (2,14 g, 40 %), homogène en c.c.m. (acétate d'éthyle-hexane, 1:1, v/v,  $R_F$  0,73); p.f. 214–216° (cristallisé de l'acétone-hexane),  $[\alpha]_D^{22} + 89^\circ$  (c 1, chloroforme).

*Anal.* Calc. pour  $C_{32}H_{36}O_{14}$ : C, 59.62; H, 5.63. Trouvé: C, 59.42; H, 5.61.

Une élution finale avec 2,5 litres de solvant conduit au 2,2'-di-*O*-acétyl-4,6:4',6'-di-*O*-benzylidènetréhalose (**17**, 276 mg, 16 %), p.f. 270–272° (cristallisé de l'acétone);  $[\alpha]_D^{22} + 102^\circ$  (c 1, acétone).

*Anal.* Calc. pour  $C_{30}H_{34}O_{13} \cdot 0,5H_2O$ : C, 58.92; H, 5.76. Trouvé: C, 58.93; H, 5.49.

(2,3-*Di-O-acétyl-4,6-O-benzylidène- $\alpha$ -D-glucopyranosyl*)-2-*O-acétyl-4,6-O-benzylidène- $\alpha$ -D-ribo-hexopyranosid-3-ulose* (**19**). — Le dérivé tri-*O*-acétylé **16** (1 g) est dissous dans le diméthyl sulfoxyde (20 ml) et additionné d'anhydride acétique (10 ml). Après 24 h à température ambiante, la concentration de la solution conduit à un composé huileux qui est placé sur une colonne de gel de silice (100 g) éluée par un mélange acétate d'éthyle-hexane (1:2, v/v). L'hexulose **19** (910 mg, 92 %) est obtenu sous la forme d'une mousse homogène en c.c.m. (acétate d'éthyle-hexane, 1:1, v/v,  $R_F$  0.67),  $[\alpha]_D^{22} + 51^\circ$  (c 1, chloroforme).

*Anal.* Calc. pour  $C_{32}H_{34}O_{14}$ : C, 59.81; H, 5.33. Trouvé: C, 59.47; H, 5.47.

(2-*O-Acétyl-4,6-O-benzylidène- $\alpha$ -D-allopyranosyl*)-2,3-*di-O-acétyl-4,6-O-benzylidène- $\alpha$ -D-glucopyranoside* (**20**). — L'uloside **19** (712 mg), en solution dans l'éthanol (165 ml), est soumis à une hydrogénation catalytique en présence d'oxyde de platine d'Adams (210 mg) pendant 24 h sous une pression de 3 atm. Après élimination du catalyseur par filtration et concentration, une huile (705 mg, 99 %), homogène en c.c.m. (acétate d'éthyle-hexane, 1:1, v/v,  $R_F$  0,79) est obtenue dont un aliquot (166 mg) cristallisé dans l'éthanol, permet d'obtenir le produit analytique (66 mg, 39 %), p.f. 114–115°;  $[\alpha]_D^{22} + 76^\circ$  (c 1, chloroforme).

*Anal.* Calc. pour  $C_{32}H_{36}O_{14}$ : C, 59.62; H, 5.63. Trouvé: C, 59.14; H, 5.83.

(2,3,4,6-*Tétra-O-acétyl- $\alpha$ -D-allopyranosyl*)-2,3,4,6-*tétra-O-acétyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside* (**22**). — Le disaccharide partiellement protégé **20** (540 mg), dissous dans un mélange de méthanol (54 ml) et d'acide acétique glacial (1,1 ml), est hydrogéné sous une pression de 3 atm en présence de noir de palladium (540 mg) jusqu'à disparition en

c.c.m. (acétate d'éthyle-*p*-dioxane, 1:1) du produit de départ (24 à 48 h). Après élimination du catalyseur par filtration et concentration de la solution, le résidu est dissous dans la pyridine (20 ml) et additionné d'anhydride acétique (20 ml). Après 24 h à température ambiante, le dérivé péracétylé **22** est extrait comme précédemment pour l'hepta-acétate **5**. L'huile obtenue (450 mg) est purifiée par passage sur colonne de gel de silice (700 × 17 mm) avec le mélange éluant acétate d'éthyle-hexane (1:2, v/v) (rdt. 285 mg, 50 % par rapport à l'uloside **19**).

*α-D-Allopyranosyl-α-D-glucopyranoside (23).* — Le dérivé péracétylé **22** (250 mg) est dissous dans le méthanol aqueux (19:1, 20 ml) et additionné de triéthylamine (1 ml). Après 12 h à température ambiante, la solution est neutralisée par l'Amberlite IR-120 (H<sup>+</sup>) et concentrée sous pression réduite, l'eau résiduelle étant éliminée par lyophilisation. Le disaccharide libre **23** est obtenu sous la forme d'une mousse microcristalline (130 mg, 98 %), p.f. 118–120°;  $[\alpha]_D^{22} + 150^\circ$  (c 1, eau);  $R_{GlC}$  0,69; données de r.m.n. (100 MHz, oxyde de deuterium):  $\delta$  5,66 et 5,64 (2 d, 4 H, *J* 4,0 Hz, H-1 et H-1').

*Anal.* Calc. pour C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub> · 1,5H<sub>2</sub>O: C, 39,02; H, 6,82. Trouvé: C, 38,95; H, 6,04.

Un chauffage à 100° pendant 8 h sous pression réduite en présence de pentaoxyde de phosphore conduit au composé anhydre; p.f. 120–122°;  $[\alpha]_D^{22} + 151^\circ$  (c 1, eau).

*Anal.* Calc. pour C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>: C, 42,10; H, 6,47. Trouvé: C, 42,15; H, 6,47.

*Préparation de la tréhalase de hanneton.* — La purification de l'enzyme est améliorée par rapport aux travaux précédents<sup>1,47</sup>. Les activités spécifiques et les V<sub>MAX</sub> sont exprimées respectivement en μmol de tréhalose et de substrat hydrolysées par min et par mg de protéine enzymatique dans les conditions optimales (37°, pH 6,25, tréhalose dans le milieu 25mM). Le dosage des sucres libérés est réalisé par la méthode de Somogyi–Nelson<sup>48–49</sup>. Les hannetons adultes proviennent de l'élevage de l'Office pour l'Information Entomologique, La Minière, Versailles. La protéine partiellement purifiée est concentrée à la sortie de la colonne d'alumine par filtration sur membrane Diaflo (Amicon) type PM10, puis placée sur colonne d'Ultrogel AcA4/4 (L.K.B.) équilibrée à l'aide d'une solution aqueuse de chlorure de sodium (9:1000, p/v) et éluee par la même solution. Les fractions qui renferment l'activité tréhalasique sont réunies et concentrées sur membrane. Une solution renfermant 140 μg de protéine/ml et d'activité spécifique 9,2 est ainsi obtenue.

*Essais comparatifs d'activité de la tréhalase de hanneton sur les α-D-glucopyranosyl-α-D-xylopyranoside (6), α-D-glucopyranosyl-α-D-mannopyranoside (13), α-D-allopyranosyl-α-D-glucopyranoside (23) et sur l'α,α-tréhalose.* — Le milieu réactionnel est composé de tampon de McIlvaine (20mM, pH 6,25), de protéine enzymatique (28 μg/ml dans le cas des disaccharides **6** et **13**; 1,4 μg/ml dans le cas du tréhalose), du substrat à des concentrations variables (100mM, 50mM, 25mM, 12,5mM, 6,25mM, 3,125mM, 1,562mM pour les disaccharides **6** et **13**; 6,25mM, 3,125mM, 1,562mM, 0,781mM, 0,390mM pour le tréhalose). Les incubations sont d'1 h, 2 h et 6 h à 37° pour les disaccharides, de 30 min et 1 h à 37° pour le tréhalose. Dans le cas

du disaccharide **13**, les essais d'inhibition sont réalisés dans les mêmes conditions de concentration que pour la mesure d'activité sur le tréhalose, mais en présence de deux concentrations différentes du disaccharide (0,3125 et 0,156mM). Les résultats sont rapportés dans la Discussion.

#### REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient M. Claude Bosso pour la réalisation et l'interprétation des spectres de masse, MM. Henri Reutenauer et Albert Rousseau pour l'enregistrement des spectres de  $^1\text{H}$ -r.m.n. et M. Robert Nardin pour l'enregistrement des spectres de  $^{13}\text{C}$ -r.m.n.

#### RÉFÉRENCES

- 1 E. R. GUILLOUX, J. DEFAYE, R. H. BELL ET D. HORTON, *Carbohydr. Res.*, 20 (1971) 421-426.
- 2 E. BELOCOPITOW, L. R. MARECHAL ET E. G. GROS, *Carbohydr. Res.*, 19 (1971) 268-271.
- 3 J. LABAT, F. BAUMANN ET J. E. COURTOIS, *Biochimie*, 56 (1974) 805-813 et références citées.
- 4 J. LABAT, F. BAUMANN ET J. E. COURTOIS, *Carbohydr. Res.*, 26 (1973) 341-349.
- 5 G. G. BIRCH, *Adv. Carbohydr. Chem.*, 18 (1963) 201-225; A. D. ELBEIN, *ibid.*, 30 (1974) 227-256.
- 6 E. R. GUILLOUX, F. PERCHERON ET J. DEFAYE, *Carbohydr. Res.*, 10 (1969) 267-278.
- 7 S. HANESSIAN ET P. LAVALLÉE, *Carbohydr. Res.*, 28 (1973) 303-311.
- 8 R. U. LEMIEUX ET H. F. BAUER, *Can. J. Chem.*, 32 (1954) 340-344.
- 9 B. HELFERICH ET W. OST, *Chem. Ber.*, 95 (1962) 2616-2622.
- 10 A. KLEMER, E. BUHE ET R. KUTZ, *Ann. Chem.*, 739 (1970) 185-193.
- 11 G. J. F. CHITTENDEN, *Carbohydr. Res.*, 9 (1969) 323-326.
- 12 B. HELFERICH, W. M. MÜLLER ET S. KARBACH, *Ann. Chem.*, (1974) 1514-1521.
- 13 G. WULFF ET G. RÖHLE, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 13 (1974) 157-170.
- 14 C. M. MCCLOSKEY, R. E. PYLE ET G. H. COLEMAN, *J. Am. Chem. Soc.*, 66 (1944) 349-351.
- 15 R. U. LEMIEUX, K. B. HENDRICKS, R. V. STICK ET K. JAMES, *J. Am. Chem. Soc.*, 97 (1975), 4056-4062; R. U. LEMIEUX ET H. DRIGUEZ, *ibid.*, 97 (1975), 4063-4075; P. A. GENT ET R. GIGG, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, (1974) 1446-1455.
- 16 T. ISHIKAWA ET H. G. FLETCHER, JR., *J. Org. Chem.*, 34 (1969) 563-571.
- 17 L. J. HAYNES ET F. H. NEWTH, *Adv. Carbohydr. Chem.*, 10 (1955) 207-256.
- 18 J. STANĚK, *Nature*, 179 (1957) 97-98; G. G. BIRCH ET N. D. COWELL, *Carbohydr. Res.*, 5 (1967) 232-234 et références citées.
- 19 C. P. J. GLAUDEMANS ET H. G. FLETCHER, JR., *Methods Carbohydr. Chem.*, 6 (1972) 373-376.
- 20 A. TALLEY, D. D. REYNOLDS ET W. L. EVANS, *J. Am. Chem. Soc.*, 65 (1943) 575-582.
- 21 S. KOTO, Y. TAKEBE ET S. ZEN, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 45 (1972) 291-293.
- 22 J. DEFAYE ET H. DRIGUEZ, résultats non publiés.
- 23 E. E. LEE, A. BRUZZI, E. O'BRIEN ET P. S. O'COLLA, *Carbohydr. Res.*, 35 (1974) 103-109.
- 24 J. DEFAYE, H. DRIGUEZ ET A. GADELLE, *Carbohydr. Res.*, 38 (1974) C4-C6.
- 25 J. DEFAYE, H. DRIGUEZ ET A. GADELLE, *J. Polym. Sci., Polym. Symp.*, sous presse, et références citées.
- 26 W. E. DICK, JR., B. G. BAKER ET J. E. HODGE, *Carbohydr. Res.*, 6 (1968) 52-62.
- 27 P. L. DURETTE, L. HOUGH ET A. C. RICHARDSON, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, (1974) 88-96.
- 28 I. M. VASQUEZ, I. M. E. THIEL ET J. O. DEFERRARI, *Carbohydr. Res.*, 26 (1973) 351-356.
- 29 J. DEFAYE, H. DRIGUEZ ET A. GADELLE, résultats non publiés.
- 30 R. W. JEANLOZ ET D. A. JEANLOZ, *J. Am. Chem. Soc.*, 79 (1957) 2579-2583.
- 31 H. A. STAAB, *Angew. Chem.*, 74 (1962) 407-423.
- 32 S. HANESSIAN ET N. R. PLESSAS, *J. Org. Chem.*, 34 (1969) 1035-1044.
- 33 Y. KONDO, *Carbohydr. Res.*, 30 (1973) 386-389; D. C. BAKER, C. BOEDER, J. DEFAYE, A. GADELLE ET D. HORTON, *Carbohydr. Res.*, 40 (1975) C6-C8; J. DEFAYE ET A. GADELLE, *Carbohydr. Res.*, 42 (1975) 373-378.

- 34 H. G. FLETCHER, JR., *Methods Carbohydr. Chem.*, 2 (1963) 231–232.
- 35 G. KOTOWYCZ ET R. U. LEMIEUX, *Chem. Rev.*, 73 (1973) 669–698.
- 36 L. HOUGH, A. K. PALMER ET A. C. RICHARDSON, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, (1973) 784–788.
- 37 N. K. KOCHETKOV ET O. S. CHIZHOV, *Adv. Carbohydr. Chem.*, 21 (1966) 39–93.
- 38 D. E. DORMAN ET J. D. ROBERTS, *J. Am. Chem. Soc.*, 93 (1971) 4463–4472.
- 39 A. S. PERLIN, B. CASU ET H. J. KOCH, *Can. J. Chem.*, 48 (1970) 2596–2606.
- 40 P. A. J. GORIN, *Carbohydr. Res.*, 39 (1975) 3–10.
- 41 T. USUI, N. Y. AMAOKA, K. MATSUDA, K. TUZIMURA, H. SUGIYAMA ET S. SETO, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, (1973) 2425–2432.
- 42 D. E. DORMAN, S. J. ANGYAL ET J. D. ROBERTS, *J. Am. Chem. Soc.*, 92 (1970) 1351–1354.
- 43 G. M. BROWN, D. C. ROHRER, B. BERKING, C. A. BEEVERS, R. O. GOULD ET R. SIMPSON, *Acta Crystallogr. Sect. B*, 28 (1972) 3145–3158.
- 44 D. D. PERRIN, W. L. F. ARMAREGG ET D. R. PERRIN, *Purification of Laboratory Compounds*, Pergamon, London, 1966.
- 45 W. E. TREVELYAN, D. P. PROCTER ET J. S. HARRISON, *Nature*, 166 (1950) 444–445.
- 46 S. TEJIMA, R. K. NESS, R. L. KAUFMAN ET H. G. FLETCHER, JR., *Carbohydr. Res.*, 7 (1968) 485–490.
- 47 E. GUILLOUX, J. E. COURTOIS ET F. PERCHERON, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 50 (1968) 1915–1931.
- 48 N. NELSON, *J. Biol. Chem.*, 153 (1944) 375–380.
- 49 M. SOMOGYI, *J. Biol. Chem.*, 160 (1945) 61–68.