

## SYNTHÈSE DES SUBSTANCES DE GROUPE SANGUIN—IX†

### UNE SYNTHÈSE DU 2-O-( $\alpha$ -L-FUCOPYRANOSYL)-3-O-( $\alpha$ -D-GALACTOPYRANOSYL)-D-GALACTOSE, LE DETERMINANT ANTIGENIQUE DU GROUPE SANGUIN B

J. C. JACQUINET et P. SINAÏ\*

E.R.A. No. 739 Synthèse Oridique, Laboratoire de Biochimie Structurale, U.E.R. de Sciences Fondamentales et Appliquées, 45045 Orléans Cédex, France

(Received in France 7 June 1978)

**Résumé**—Le trisaccharide 2-O-( $\alpha$ -L-fucopyranosyl)-3-O-( $\alpha$ -D-galactopyranosyl)-D-galactose a été synthétisé de façon stéréospécifique par emploi de la méthode à l'imidate. L'allyl-3-O-benzoyl-4,6-O-benzylidène- $\beta$ -D-galactopyranoside est d'abord  $\alpha$ -L-fucosylé à l'aide du 1-O-(N-méthyl)-acétimidyl-2,3,4-tri-O-benzyl- $\beta$ -L-fucopyranose. Après O-débenzoylation, le dérivé obtenu est  $\alpha$ -D-galactosylé par le 1-O-(N-méthyl)-acétimidyl-2,3,4,6-tétra-O-benzyl- $\beta$ -D-galactopyranose. Le même trisaccharide peut être obtenu à partir de l'allyl-2-O-benzoyl-4,6-O-benzylidène- $\beta$ -D-galactopyranoside après  $\alpha$ -D-galactosylation, O-débenzoylation et  $\alpha$ -L-fucosylation. Ces glycosylations sont effectuées à température ambiante dans le nitrométhane, en présence d'acide p-toluènesulfonique. Une désallylation suivie d'une hydrogénation catalytique conduit au déterminant antigénique du groupe sanguin B. Le groupement allyle peut également être sélectivement transformé en groupement hydroxyéthyle.

**Abstract**—The trisaccharide 2-O-( $\alpha$ -L-fucopyranosyl)-3-O-( $\alpha$ -D-galactopyranosyl)-D-galactose has been synthesised stereospecifically using the imidate procedure. Allyl 3-O-benzoyl-4,6-O-benzylidene- $\beta$ -D-galactopyranoside was first  $\alpha$ -L-fucosylated by 1-O-(N-methyl)-acetimidyl-2,3,4-tri-O-benzyl- $\beta$ -L-fucopyranose then, after O-debenzoylation,  $\alpha$ -D-galactosylated by 1-O-(N-methyl)-acetimidyl 2,3,4,6-tetra-O-benzyl- $\beta$ -D-galactopyranose. The resulting trisaccharide has also been obtained from allyl 2-O-benzoyl-4,6-O-benzylidene- $\beta$ -D-galactopyranoside after  $\alpha$ -D-galactosylation, O-debenzoylation and  $\alpha$ -L-fucosylation. The glycosylations were performed at room temperature in nitromethane in the presence of p-toluenesulfonic acid. Desallylation followed by catalytic hydrogenolysis gave the B blood-group antigenic determinant. The allyl group was also selectively transformed into hydroxyethyl group.

Nous avons décrit en 1977 une nouvelle technique de synthèse de disaccharides 1,2-*cis*, que nous proposons désormais d'appeler la méthode à l'imidate.<sup>1</sup> Etant donné notre intérêt dans la préparation des déterminants antigéniques à structure oligosaccharidique des substances de groupes sanguins humains, l'application de cette méthode à la synthèse stéréospécifique du trisaccharide du titre nous est apparue comme un bon test de son efficacité. Une préparation à haut rendement de ce composé présente en outre un grand intérêt pratique: l'obtention ultérieure d'immunabsorbants permettant l'absorption sélective d'un anticorps anti-B. La détermination des groupes sanguins des donneurs de sang s'effectue à l'aide de sérums-tests d'origine humaine. C'est ainsi que pour effectuer la détermination systématique du groupe Rhésus standard (antigène D), il est utilisé chaque année en France plusieurs milliers de litres d'antisérum anti-D. Pour que la spécificité de ce réactif, d'origine humaine, soit dirigée uniquement contre l'antigène D, il est nécessaire d'absorber les anticorps naturels

anti-A ou anti-B, initialement présents dans ces sérums, sur des globules rouges A ou B de groupe Rhésus négatif. Plusieurs milliers de litres de sang du groupe B Rhésus négatif sont utilisés à cet effet. Ceci représente non seulement des manipulations de très gros volumes, mais surtout utilise un sang relativement rare (fréquence du groupe B Rhésus négatif: 1,2% de la population). Par fixation sur un support solide de notre dérivé synthétique, nous pouvons créer un modèle artificiel des globules B Rhésus négatif.

Le trisaccharide B a été synthétisé pour la première fois avec un rendement modeste,<sup>2</sup> ensuite amélioré,<sup>3</sup> par Lemieux et al. en employant la méthode de catalyse par les ions bromure.<sup>4</sup> Cet antigène a ensuite été fixé sur des billes de verre.<sup>5</sup>

#### RÉSULTATS ET DISCUSSION

L'intermédiaire clé de la synthèse est l'allyl-3-O-benzoyl-4,6-O-benzylidène- $\beta$ -D-galactopyranoside 6. Par équilibration en milieu alcalin, il conduit au benzoside 7. Ainsi les glycosylations successives des hydroxyles en C-2 et C-3 sont réalisables dans un ordre quelconque. Le choix du groupement allyle comme protecteur de l'hydroxyle anomère permet de la souplesse: son élimination en fin de synthèse conduit au trisaccharide libre; sa transformation conduit à un dérivé fixable sur un support insoluble.

L'allyl- $\beta$ -D-galactopyranoside<sup>2-7</sup> a été préparé en s'in-

†Partie VIII. R.M. 10. Ce travail a bénéficié de l'aide de subventions de l'Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (C.R.L. 76.1.120.1.), de la Caisse Régionale d'Assurance Maladie du Centre et de la Délégation Générale à la Recherche Scientifique et Technique (Contrats ASCO NO. 75.7.1364 et 77.7.0769).



1

2: R = R' = H

3: R = R' = Ph-CH<sub>2</sub>

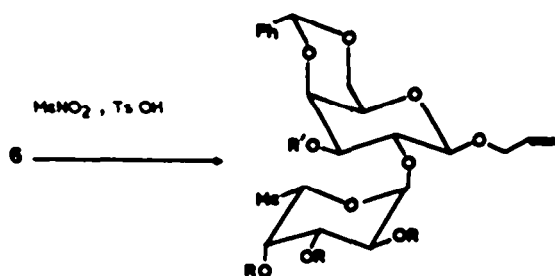
4: R = R' = Ac

5: R = R' = Ph-CO

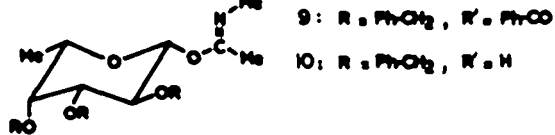
6: R = H, R' = PhCO

7: R = Ph-CO, R' = H

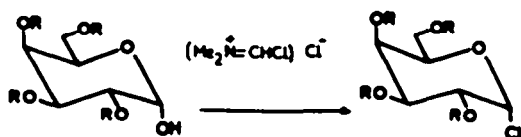
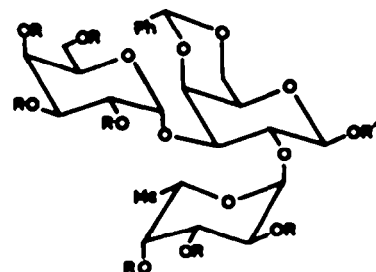
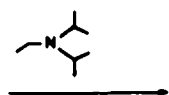
spirant de la technique décrite par Schroeder *et al.*<sup>11</sup> Il est transformé en allyl-4,6-*O*-benzylidène-β-D-galactopyranoside 2 par action de l'aldéhyde benzoïque en présence de chlorure de zinc. Une benzylation à l'aide de *N*-benzoylimidazole conduit sélectivement avec un bon rendement (85%) à l'allyl-3-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidène-β-D-galactopyranoside 6. Une telle sélectivité a déjà été observée par Chittenden<sup>9</sup> sur des dérivés voisins. La localisation de la fonction ester en C-3 est confirmée par le déplacement chimique du proton H-3.



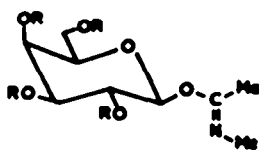
6

MeNO<sub>2</sub>, TsOH8: R = Ph-CH<sub>2</sub>9: R = Ph-CH<sub>2</sub>, R' = Ph-CO10: R = Ph-CH<sub>2</sub>, R' = HMeNO<sub>2</sub>, TsOH

13

11: R = Ph-CH<sub>2</sub>12: R = Ph-CH<sub>2</sub>Me-NH-CO-Me, Ag<sub>2</sub>O

Tamis moléculaire 4 Å

13: R = Ph-CH<sub>2</sub>

La méthode à l'imidate<sup>1</sup> a alors été appliquée à l'α-L-fucosylation stéréospécifique de l'alcool 6. Le 1-*O*-(*N*-méthyl)-acétimidyl-2,3,4-tri-*O*-benzyl-β-L-fucopyranose 8<sup>10</sup> est condensé à la température ambiante et à l'abri de l'humidité avec l'alcool 6 dans le nitrométhane en présence d'acide *p*-toluènesulfonique. L'allyl-3-*O*-benzoyl-2-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzyl-α-L-fucopyranosyl)-4,6-*O*-benzylidène-β-D-galactopyranoside 9 est ainsi obtenu avec un excellent rendement (91%). Le déplacement chimique du proton H-3 (δ 5.40) indique que cette position est benzoylée et que la condensation ne s'est pas accompagnée d'une migration de l'ester. Le proton H-2, dont l'hydroxyle correspondant est glycosylé, sort à champ plus élevé (δ 4.10). Une débenzylation (méthylate de sodium) conduit à l'alcool 10 cristallin. La méthode à l'imidate a maintenant été

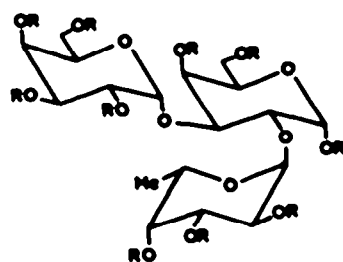
appliquée à l'α-D-galactosylation stéréospécifique de cet alcool 10. Par action du chlorure de diméthylchloroformiminium,<sup>11</sup> le 2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl-α-D-galac-

14: R = Ph-CH<sub>2</sub>, R' = CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>15: R = Ph-CH<sub>2</sub>, R' = H (α, β)16: R = Ph-CH<sub>2</sub>, R' = CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>OH17: R = Ph-CH<sub>2</sub>, R' = CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>OAc

topyranose 11<sup>12</sup> est aisément transformé (rendement 93%) en chlorure de 2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- $\alpha$ -D-galactopyranosyle 12.<sup>13</sup> Lorsqu'une solution benzénique de ce chlorure est agitée à la température ambiante en présence de *N*-méthylacétamide, d'oxyde d'argent, de diisopropyléthylamine et de tamis moléculaire 4 Å en poudre, le 1-*O*-(*N*-méthyl)-acétimidyl-2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- $\beta$ -D-galactopyranose 13 est obtenu stéréospécifiquement (rendement 92%). Cet imidate est ensuite condensé avec l'alcool 10 à la température ambiante et à l'abri de l'humidité, dans le nitrométhane en présence d'acide *p*-toluènesulfonique, conduisant au trisaccharide protégé cristallin 14, avec un rendement de 84%.

Dans une autre approche du trisaccharide 14, l'allyl-2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidène- $\beta$ -D-galactopyranoside 7 a été utilisé comme produit de départ. Il est obtenu par équilibration du benzoate 6 en milieu alcalin. Cet alcool 7 est condensé avec l'imidate 13 à la température ambiante et à l'abri de l'humidité, dans le nitrométhane en présence d'acide *p*-toluènesulfonique. L'allyl-2-*O*-benzoyl-3-*O*-(2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- $\alpha$ -D-galactopyranosyl)-4,6-*O*-benzylidène- $\beta$ -D-galactopyranoside 20 est obtenu avec un bon rendement (86%). Une débenzoylation (méthylate de sodium) conduit à l'alcool cristallin 21 (94%). Avant de poursuivre la synthèse, ce composé a été successivement désallylé<sup>14</sup> puis hydrogéné catalytiquement, le disaccharide connu<sup>4,15,16</sup> 3-*O*-( $\alpha$ -D-galactopyranosyl)-D-galactose 23 étant obtenu sous forme d'une poudre amorphe. Il a été caractérisé par un  $\beta$ -peracétate cristallin 24 dont les propriétés physiques (p.f. et pouvoir rotatoire) sont très voisines de celles décrites par Morgan et O'Neill.<sup>15</sup> L'alcool 21 a alors été stéréospécifiquement  $\alpha$ -L-fucosylé à l'aide de l'imidate 8 dans les conditions décrites ci-dessus, conduisant au trisaccharide protégé 14 identique à celui obtenu précédemment.

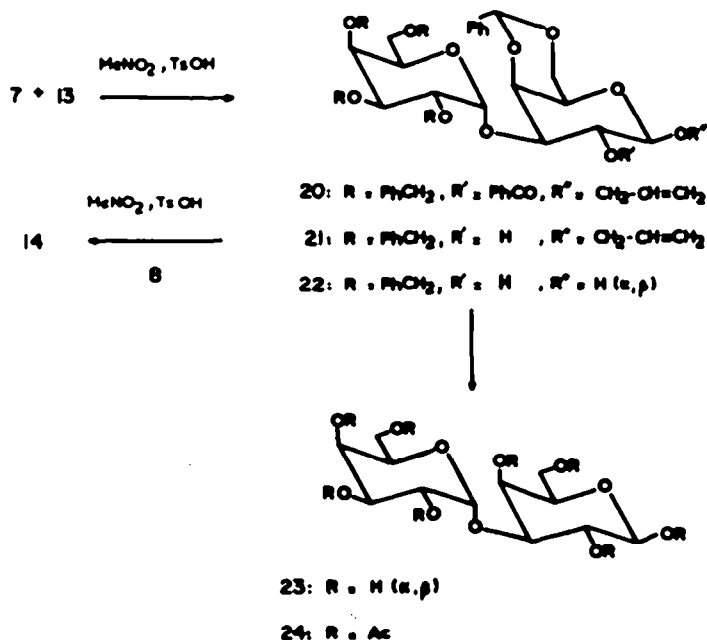
L'obtention stéréospécifique d'un composé tel que 14 avec un rendement très élevé constitue un exemple particulièrement frappant de l'efficacité de la méthode à l'imidate.

16: R = H ( $\alpha, \beta$ )

17: R = Ac

En vue de préparer le trisaccharide 16, le composé 14 est désallylé à l'aide d'un traitement au *tert*-butoxyde de potassium dans le diméthylsulfoxyde suivi d'une hydrolyse douce à l'aide de chlorure mercurique et d'oxyde mercurique.<sup>14</sup> Le dérivé 15 obtenu est hydrogéné dans l'acide acétique en présence de palladium sur charbon à 10% donnant le trisaccharide cherché 16 avec un rendement pratiquement quantitatif. Le pouvoir rotatoire de ce dérivé est identique à celui publié par Lemieux et Driguez.<sup>2</sup> Il a de plus été caractérisé par un  $\alpha$ -peracétate cristallin 17.

Le but de ce travail est la réalisation d'un modèle artificiel des globules B Rhésus négatif. Le groupement allyle est transformé selon le Schéma 1, dans lequel R représente un mono-ou oligosaccharide complètement substitué par des éthers benzylques et un benzylidène acétal. A titre de modèle simple, l'allyl-2,3-di-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidène- $\beta$ -D-galactopyranoside 3 a été aisément transformé, selon ce schéma, en alcool 25 cristallin avec un rendement de 80%. La même série de transformation, appliquée au trisaccharide protégé 14, conduit à l'alcool 18 avec un rendement de 79%. L'emploi de cet alcool pour l'élaboration d'immunoabsorbants synthétiques est à l'étude dans notre laboratoire.





composé 2 (1 g) dans du chloroforme anhydre (20 ml). L'ensemble est porté à reflux à l'abri de l'humidité pendant 18 h. Après refroidissement et dilution avec du chloroforme (50 ml), le mélange réactionnel est lavé avec une solution aqueuse à 5% d'hydrogénocarbonate de sodium, avec de l'eau, séché (chlorure de calcium) et évaporé. Le solide blanc obtenu est cristallisé deux fois dans un mélange acétate d'éthyle-éther pour donner 6 (1.136 g, 85%);  $F$  172–173°;  $[\alpha]_D^{20} + 83^\circ$  (c 1, chloroforme); RMN (chloroforme-d):  $\delta$  7.45 (BH, m, Ph), 5.16 (1H, dd,  $J_{2,3}$  5.5 Hz,  $J_{3,4}$  3.5 Hz, H<sub>3</sub>), 2.70 (1H, OH); Calc. pour  $C_{27}H_{34}O_7$ : C, 66.98; H, 5.87. Tr.: C, 67.01; H, 5.75%.

**Allyl-2-O-benzoyl-4,6-O-benzylidène- $\beta$ -D-galactopyranoside 7.** Une solution aqueuse de soude 0.05 N (50 ml) est ajoutée en une seule fois à une solution du benzoate 6 (1.5 g) dans l'acétone (15 ml). Après 2 min à 0°, le mélange est extrait avec du chloroforme (4  $\times$  20 ml). Les phases organiques sont lavées avec de l'eau, séchées (CaCl<sub>2</sub>), filtrées et évaporées. Le résidu est chromatographié sur une colonne de gel de silice (80 g). L'élution par le mélange acétate d'éthyle-hexane (1:1, v/v) donne, par ordre d'élution le benzoate 6, cristallisant dans un mélange acétate d'éthyle-éther (782 mg, 52%);  $F$  172–173°, et le benzoate 7, cristallisant dans un mélange acétate d'éthyle-éther (661 mg, 44%);  $F$  144–145°;  $[\alpha]_D^{20} + 10^\circ$  (c 1, chloroforme); RMN (chloroforme-d):  $\delta$  7.45 (BH, m, Ph), 5.40 (1H, dd,  $J_{1,2}$  6 Hz,  $J_{2,3}$  10 Hz, H<sub>2</sub>), 2.68 (1H, OH); Calc. pour  $C_{27}H_{34}O_7$ : C, 66.98; H, 5.87. Tr.: C, 67.04; H, 6.03.

**Allyl-3-O-benzoyl-4,6-O-benzylidène-2-O-(2,3,4-tri-O-benzyl- $\alpha$ -L-fucopyranosyl)- $\beta$ -D-galactopyranoside 9.** Une solution du benzoate 6 (619 mg, 1.5 mM) dans le nitrométhane (20 ml) est agitée pendant 3 h à la température ambiante sous courant d'azote sec et en présence de tamis moléculaire 4 Å pulvérisé (1 g). L'imide 8<sup>10</sup> (1.22 g, 2.5 mM) et l'acide p-toluènesulfonique anhydre (344 mg, 2 mM) sont ajoutés et l'agitation est maintenue pendant 20 h. Après addition de triéthylamine (1 ml), le mélange réactionnel est filtré et le filtrat évaporé. Le résidu est chromatographié sur une colonne de gel de silice (150 g). L'élution par le mélange hexane-acétate d'éthyle (5:2, v/v) donne le disaccharide 9 à l'état pur, sous forme d'un sirop qu'il n'a pas été possible de cristalliser (1.131 g, 91%,  $[\alpha]_D^{20} + 13^\circ$  (c 1, chloroforme); RMN (chloroforme-d):  $\delta$  7.30 (20H, m, Ph), 5.40 (1H, dd,  $J_{2,3}$  12 Hz,  $J_{3,4}$  4 Hz, H<sub>3</sub>), 5.19 (1H, d,  $J_{1,2}$  4 Hz, H<sub>2</sub>), 1.13 (3H, d, J 7 Hz, CMe); Calc. pour  $C_{40}H_{52}O_{11}$ : C, 72.44; H, 6.32. Tr.: C, 72.66; H, 6.32%.

**Allyl-4,6-O-benzylidène-2-O-(2,3,4-tri-O-benzyl- $\alpha$ -L-fucopyranosyl)- $\beta$ -D-galactopyranoside 10.** Le disaccharide 9 (1.03 g) est débénzoylé (méthylate de sodium dans le méthanol) pendant 1 h à la température ambiante. Le milieu réactionnel est alors concentré sous pression réduite, versé dans un mélange eau-glace (100 ml) et extrait avec du chloroforme. Les phases organiques sont lavées avec de l'eau, séchées (chlorure de calcium) et évaporées. Le résidu est cristallisé dans un mélange acétate d'éthyle-éther-hexane pour donner 10 (847 mg, 94%);  $F$  166–167°;  $[\alpha]_D^{20} - 58^\circ$  (c 1, chloroforme); RMN (chloroforme-d):  $\delta$  7.40 (20H, m, Ph), 5.25 (1H, d,  $J_{1,2}$  4 Hz, H<sub>2</sub>), 1.12 (3H, d, J 7 Hz, CMe); Calc. pour  $C_{40}H_{52}O_{10}$ : C, 71.52; H, 6.67. Tr.: C, 71.68; H, 6.62%.

**1-O-(N-méthyl)-actimidyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- $\beta$ -D-galactopyranose 13.** Une solution de N,N-diméthylformamide anhydre (0.383 ml) dans le tétrachlorure de carbone (4 ml) est ajoutée rapidement à une suspension de pentachlorure de phosphore (1.04 g) dans le tétrachlorure de carbone (10 ml). Le mélange réactionnel est agité 10 min et le précipité blanc formé est essoré et ajouté le plus rapidement possible à une solution de 2,3,4,6-tetra-O-benzyl- $\alpha$ -D-galactopyranose<sup>12,13</sup> 11 (1.08 g, 2 mM) dans le dichlorométhane (20 ml). Après agitation pendant 15 min à la température ambiante, le mélange réactionnel est dilué avec du dichlorométhane (50 ml). La solution obtenue est lavée avec de l'eau, séchée (chlorure de calcium) et évaporée. Le chlorure de 2,3,4,6-tetra-O-benzyl- $\alpha$ -D-galactopyranosyle 12 est obtenu sous forme d'un sirop incolore (1.041 g, 93%);  $[\alpha]_D^{20} + 151^\circ$  (c 2.5, benzène); litt.<sup>12</sup>  $[\alpha]_D^{20} + 147^\circ$  (c 2, benzène).

Une solution de N-méthylactéamide (160 mg, 2.2 mM) dans le benzène est agitée à l'abri de la lumière et sous courant d'azote sec en présence d'oxyde d'argent (1.15 g, 5 mM, fraîchement préparé) et de tamis moléculaire 4 Å pulvérisé (1 g) pendant 5 h à

la température ambiante. Le chlorure 12 (1.04 g, 1.85 mM) et l'éthylidiazopropylamine (0.260 g, 2 mM) sont alors ajoutés et le mélange réactionnel est laissé 20 h dans ces conditions. Après filtration (verre fritté, porosité n° 5, lit d'alumine neutre activité I) et lavage des solides avec un mélange benzène-éther (100 ml, 1:1, v/v, contenant 0.1% de triéthylamine), le filtrat est évaporé à sec pour donner l'imide 13 sous forme d'un sirop qu'il n'a pas été possible de cristalliser (1.023 g, 92%);  $[\alpha]_D^{20} + 25^\circ$  (c 1, chloroforme); RMN (chloroforme-d):  $\delta$  7.30 (20H, m, Ph), 5.82 (1H, d,  $J_{1,2}$  8 Hz, H<sub>2</sub>), 2.95 (3H, s, N-Me), 1.84 (3H, s, CMe); IR (nujol):  $\nu_{\text{max}}$  1710 cm<sup>-1</sup> (C=N); Calc. pour  $C_{37}H_{44}NO_6$ : C, 74.60; H, 6.94; N, 2.75. Tr.: C, 74.68; H, 6.91; N, 2.10%.

**Allyl-4,6-O-benzylidène-2-O-(2,3,4-tri-O-benzyl- $\alpha$ -L-fucopyranosyl)-3-O-(2,3,4,6-tetra-O-benzyl- $\alpha$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-galactopyranoside 14.** Une solution du disaccharide 10 (600 mg, 0.825 mM) et de l'imide 13 (900 mg, 1.5 mM) dans le nitrométhane anhydre (15 ml) est agitée sous courant d'azote sec en présence de tamis moléculaire 4 Å pulvérisé (1 g) pendant 3 h à la température ambiante. Une solution d'acide p-toluènesulfonique anhydre (150 mg, 0.8 mM) dans le nitrométhane anhydre (5 ml) est alors ajoutée et l'agitation est maintenue 48 h dans ces conditions. Après addition de triéthylamine (1 ml) et dilution avec du chloroforme (100 ml), les solides sont essorés et le filtrat est évaporé. Le résidu est repris dans du chloroforme (50 ml), la solution est lavée avec une solution aqueuse à 5% d'hydrogénocarbonate de sodium, avec de l'eau, séchée (chlorure de calcium) et évaporée. Le résidu est chromatographié sur une colonne de gel de silice (80 g). L'élution par le mélange hexane-acétate d'éthyle (5:2, v/v) permet de recueillir le trisaccharide 14 à l'état pur, cristallisant dans un mélange éthanol-eau (19:1, v/v) et recristallisé dans un mélange éther-hexane (965 mg, 84%);  $F$  117–118°;  $[\alpha]_D^{20} + 2^\circ$  (c 1, chloroforme); RMN (chloroforme-d):  $\delta$  7.25 (40H, m, Ph), 5.60 (1H, d, J 2.5 Hz, H<sub>2</sub>), 5.38 (1H, d, J 3 Hz, H<sub>3</sub>), 1.18 (3H, d, CMe, J 7 Hz); Calc. pour  $C_{77}H_{102}O_{15}$ : C, 74.13; H, 6.62. Tr.: C, 74.22; H, 6.64%.

**4,6-O-benzylidène-2-O-(2,3,4-tri-O-benzyl- $\alpha$ -L-fucopyranosyl)-3-O-(2,3,4,6-tetra-O-benzyl- $\alpha$ -D-galactopyranosyl)-D-galactopyranose 15.** Une solution du trisaccharide 14 (312 mg, 0.25 mM) dans le diméthylsulfoxyde (10 ml) est agitée à 100°, sous courant d'azote sec, en présence de *tert*-butoxide de potassium (224 mg, 2 mM) pendant 2 h. Après refroidissement le mélange réactionnel est versé dans une solution glacée à 10% de chlorure d'ammonium et extrait avec du chloroforme. Les phases organiques sont lavées avec de l'eau, séchées (chlorure de calcium) et évaporées. Le résidu est dissous dans un mélange acétone-eau (9:1, v/v, 10 ml) et agité en présence d'oxyde mercurique jaune (214 mg) et de chlorure mercurique (136 mg) pendant 30 min à la température ambiante. Le mélange réactionnel est filtré, les solides sont lavés avec du chloroforme (100 ml) et le filtrat est lavé avec une solution aqueuse à 10% d'iodure de potassium, avec de l'eau, séché (chlorure de calcium) et évaporé. Le résidu est chromatographié sur une colonne de gel de silice (30 g). L'élution par le mélange hexane-acétate d'éthyle (3:2, v/v) permet de recueillir le trisaccharide réducteur 15 sous forme d'un sirop qu'il n'a pas été possible de cristalliser (248 mg, 82%);  $[\alpha]_D^{20} + 50^\circ$  (c 1, méthanol-eau, 19:1, v/v), pas de mutarotation; RMN (chloroforme-d):  $\delta$  7.30 (40H, m, Ph), 5.49 (1H, d, J 3 Hz), 5.37 (1H, d, J 2.5 Hz), 1.00 (3H, d, J 7 Hz, CMe); Calc. pour  $C_{74}H_{100}O_{15}$ : C, 73.61; H, 6.51. Tr.: C, 73.80; H, 6.58%.

**2-O-( $\alpha$ -L-fucopyranosyl)-3-O-( $\alpha$ -D-galactopyranosyl)-D-galactose 16.** Le trisaccharide 15 (480 mg) est hydrogénolysé dans l'acide acétique glacial (20 ml) en présence de palladium sur charbon à 10% (500 mg) pendant 20 h à la température ambiante. Le catalyseur est essoré et le filtrat est évaporé. Le résidu est trituré dans l'éthanol pour donner le trisaccharide 16 sous forme d'une poudre blanche qu'il n'a pas été possible de cristalliser (186 mg, 96%);  $F$  135–138° (décomposition);  $[\alpha]_D^{20} + 35^\circ$  (c 1, eau-méthanol, 19:1, v/v) pas de mutarotation; RMN (D<sub>2</sub>O):  $\delta$  5.88 (d, J 3, 5 Hz), 5.72 (d, J 3 Hz), 5.62 (d, J 3 Hz), 1.70 (d, J 7 Hz, CMe); la présence d'une faible quantité d'anomère  $\beta$  (20% environ) est indiquée par un dédoublement du signal à 1.70; litt.<sup>2</sup>  $[\alpha]_D^{20} + 35.1^\circ$  (c 1.1, eau); Calc. pour  $C_{18}H_{32}O_{15}$ : C, 44.26; H, 6.61. Tr.: C, 44.29; H, 6.71%.

Après réduction au borohydrure de sodium et per(triméthyl-

silylation),<sup>17</sup> le dérivé obtenu est homogène en chromatographie en phase gazeuse,  $t_R$  2.34.

1,4,6 - Tri - O - acétyl - 2 - O - (2,3,4 - tri - O - acétyl -  $\alpha$  - L - fucopyranosyl) - 3 - O - (2,3,4,6 - tétra - O - acétyl -  $\alpha$  - D - galactopyranosyl) -  $\alpha$  - D - galactopyranose 17. Le trisaccharide 16 (65 mg) est acétylé (anhydride acétique-pyridine) pendant 2 h à 0° puis 18 h à la température ambiante. Après évaporation à sec, le résidu est chromatographié sur une colonne de gel de silice (10 g). L'élution par le mélange 1,2-dichloroéthane-acétone (9:1, v/v) permet de recueillir le peracétate 17, cristallisant dans un mélange éther-éthanol (66 mg, 55%); F 215–216°;  $\{\alpha\}_D + 51^\circ$  (c 1, chloroforme); RMN (chloroforme-d):  $\delta$  6.40 (1H, d,  $J_{1,2}$  3.5 Hz, H<sub>1</sub>), 5.62 (1H, d,  $J$  4 Hz), 2.30, 2.26, 2.24, 2.10, 2.08, 2.02, 1.99 et 1.90 (30H, 8s, OAc), 1.08 (3H, d,  $J$  6.5 Hz, CMe); Calc. pour C<sub>36</sub>H<sub>52</sub>O<sub>25</sub>: C, 50.22; H, 5.77. Tr.: C, 50.14; H, 5.81%.

2 - Hydroxyéthyl - 4,6 - O - benzylidène - 2 - O - (2,3,4 - tri - O - benzyl -  $\alpha$  - L - fucopyranosyl) - 3 - O - (2,3,4,6 - tétra - O - benzyl -  $\alpha$  - D - galactopyranosyl) -  $\beta$  - D - galactopyranose 18. Une solution du trisaccharide 14 (312 mg, 0.25 mM) dans le mélange dioxanne-eau (3:1, v/v, 16 ml) est agitée pendant 1 h à la température ambiante en présence de tétr oxyde d'osmium<sup>18</sup> (2.5 mg, 10 mM). Du périodate de sodium finement pulvérisé (112 mg, 0.525 mM) est alors ajouté par petites portions et l'agitation est maintenue pendant 4 h. Du borohydrure de sodium (50 mg) est alors ajouté et, après 10 min, le mélange réactionnel est évaporé. Le résidu est dissous dans le chloroforme (100 ml), la phase organique est lavée avec une solution aqueuse à 10% de sulfite de sodium, avec une solution aqueuse saturée de chlorure d'ammonium, avec de l'eau, séchée (chlorure de calcium) et évaporée. Le résidu est dissous à nouveau dans un mélange dioxanne-eau (16 ml, 3:1, v/v) et agité en présence de périodate de sodium (52 mg). Après 3 h, du borohydrure de sodium (50 mg) est ajouté et l'agitation est maintenue 10 min. Le mélange réactionnel est traité comme précédemment et le résidu est chromatographié sur une colonne de gel de silice (20 g). L'élution par le mélange acétate d'éthyle-hexane (3:1, v/v) donne le dérivé 18, cristallisant dans un mélange acétate d'éthyle-hexane (247 mg, 79%); F 84–85°;  $\{\alpha\}_D - 6^\circ$  (c 1, chloroforme); RMN (chloroforme-d):  $\delta$  7.30 (40H, m, Ph), 5.46 (1H, d,  $J$  3 Hz), 5.33 (1H, d,  $J$  2.5 Hz), 1.16 (3H, d,  $J$  7 Hz, CMe); Calc. pour C<sub>72</sub>H<sub>82</sub>O<sub>16</sub>: C, 72.94; H, 6.60. Tr.: 72.69; H, 6.60%.

2 - Acétoxyéthyl - 4,6 - O - benzylidène - 2 - O - (2,3,4 - tri - O - benzyl -  $\alpha$  - L - fucopyranosyl) - 3 - O - (2,3,4,6 - tétra - O - benzyl -  $\alpha$  - D - galactopyranosyl) -  $\beta$  - D - galactopyranoside 19. Le composé 18 (60 mg) est acétylé (anhydride acétique-pyridine) pendant 20 h à la température ambiante. Après évaporation à sec, le résidu est cristallisé deux fois dans un mélange éther-hexane pour donner 19 (54 mg, 87%); F 116–117°;  $\{\alpha\}_D + 14^\circ$  (c 1, chloroforme); RMN (chloroforme-d):  $\delta$  7.30 (40H, m, Ph), 5.62 (1H, d,  $J$  2.5 Hz), 5.38 (1H, d,  $J$  3 Hz), 1.97 (3H, d,  $J$  6.5 Hz, CMe); Calc. pour C<sub>72</sub>H<sub>84</sub>O<sub>17</sub>: C, 72.43; H, 6.55. Tr.: C, 72.48; H, 6.61%.

Allyl - 2 - O - benzoyl - 4,6 - O - benzylidène - 3 - O - (2,3,4,6 - tétra - O - benzyl -  $\alpha$  - D - galactopyranosyl) -  $\beta$  - D - galactopyranoside 20. Une solution du benzoate 7 (285 mg, 0.66 mM) et de l'imidate 13 (596 mg, 1 mM) dans le nitrométhane (10 ml) est agitée pendant 3 h à la température ambiante sous courant d'azote sec en présence de tamis moléculaire 4 Å pulvérisé (1 g). Une solution d'acide p-toluènesulfonique anhydre (115 mg, 0.66 mM) dans le nitrométhane (2 ml) est ajoutée et l'agitation est maintenue pendant 24 h. De la triéthylamine (0.5 ml) et du chloroforme (50 ml) sont ajoutés, les solides sont essorés et le filtrat est lavé avec une solution aqueuse à 5% d'hydrogencarbonate de sodium, avec de l'eau, séché (chlorure de calcium) et évaporé. Le résidu est chromatographié sur une colonne de gel de silice (40 g). L'élution par le mélange hexane-acétate d'éthyle (2:1, v/v) permet de recueillir le disaccharide 20 à l'état pur, sous forme d'un sirop qu'il n'a pas été possible de cristalliser (594 mg, 94%);  $\{\alpha\}_D + 80^\circ$  (c 1, chloroforme); RMN (chloroforme-d):  $\delta$  7.35 (28H, m, Ph), 5.71 (1H, dd,  $J_{2,3}$  10 Hz, H<sub>2</sub>), 5.14 (1H, d,  $J_{1,2}$  3.5 Hz, H<sub>1</sub>), 4.62 (1H, d,  $J_{1,2}$  8 Hz, H<sub>1</sub>); Calc. pour C<sub>50</sub>H<sub>54</sub>O<sub>11</sub>: C, 73.21; H, 6.25. Tr.: C, 73.06; H, 6.02%.

Allyl - 4,6 - O - benzylidène - 3 - O - (2,3,4,6 - tétra - O - benzyl -  $\alpha$  - D - galactopyranosyl) -  $\beta$  - D - galactopyranoside 21. Le disaccharide 20 (500 mg) est débenzoylé (méthylate de sodium dans le méthanol) pendant 30 min à la température ambiante. Le

mélange réactionnel est traité de la même manière que pour le composé 10. Le résidu est cristallisé dans un mélange méthanol-eau (19:1, v/v) pour donner 21 (417 mg, 94%); F 150–151°;  $\{\alpha\}_D + 44^\circ$  (c 1, chloroforme); RMN (chloroforme-d):  $\delta$  7.35 (25H, m, Ph), 5.21 (1H, d,  $J_{1,2}$  4 Hz, H<sub>1</sub>), 2.85 (1H, d,  $J$  3 Hz, OH); Calc. pour C<sub>50</sub>H<sub>54</sub>O<sub>11</sub>: C, 72.27; H, 6.55. Tr.: C, 72.46; H, 6.52%.

Trisaccharide 14 (à partir du composé 21). Une solution du disaccharide 21 (275 mg, 0.33 mM) et de l'imidate 10 (325 mg, 0.66 mM) dans le nitrométhane (12 ml) est agitée pendant 3 h à la température ambiante, sous courant d'azote sec en présence de tamis moléculaire 4 Å pulvérisé (0.5 g). Une solution d'acide p-toluènesulfonique anhydre (60 mg, 0.04 mM) dans le nitrométhane (5 ml) est ajoutée et l'agitation est maintenue pendant 48 h. De la triéthylamine (1 ml) est ajoutée et le mélange réactionnel est traité de la manière décrite pour le composé 14. Le résidu est chromatographié sur une colonne de gel de silice (45 g). L'élution par le mélange hexane-acétate d'éthyle (5:2, v/v) permet de recueillir le composé 14, cristallisant dans un mélange éther-eau (19:1, v/v), (370 mg, 89%); F 115–116°;  $\{\alpha\}_D + 2^\circ$  (c 1, chloroforme).

4,6 - O - Benzylidène - 3 - O - (2,3,4,6 - tétra - O - benzyl -  $\alpha$  - D - galactopyranosyl) - D - galactopyranose 22. Une solution du composé 21 (334 mg, 0.4 mM) dans le diméthylsulfoxyde (10 ml) est agitée pendant 1 h à 100° sous courant d'azote sec en présence de *tert*-butylate de potassium (250 mg, 2 mM). Le mélange réactionnel est traité de la manière décrite pour le composé 15. Le résidu est dissous dans un mélange acétone-eau (9:1, v/v, 20 ml) et agité pendant 15 min à la température ambiante en présence d'oxyde mercurique jaune (216 mg) et de chlorure mercurique (135 mg). Après le traitement habituel, le résidu est chromatographié sur une colonne de gel de silice (15 g). L'élution par le mélange acétate d'éthyle-hexane (2:1, v/v) permet de recueillir le composé réducteur 22, cristallisant dans un mélange éther-eau (281 mg, 88%); F 154–155°;  $\{\alpha\}_D + 114^\circ$  (c 0.5, méthanol-eau, 19:1, v/v), pas de mutarotation; Calc. pour C<sub>47</sub>H<sub>50</sub>O<sub>11</sub>: C, 71.37; H, 6.37. Tr.: C, 71.35; H, 6.34%.

3 - O - ( $\alpha$  - D - Galactopyranosyl) - D - galatose 23. Le composé 22 (220 mg) est hydrogéné pendant 24 h dans l'acide acétique glacial (10 ml) en présence de palladium sur charbon à 10% (200 mg). Le catalyseur est essoré et le filtrat est évaporé. Le résidu, trituré dans l'éthanol absolu, donne le disaccharide 23 sous forme d'une poudre blanche qu'il n'a pas été possible de cristalliser (90 mg, 94%); F 103–106° (décomposition);  $\{\alpha\}_D + 155^\circ$  (c 0.5, eau) pas de mutarotation; RMN (D<sub>2</sub>O):  $\delta$  5.84 (d,  $J_{1,2}$  2.5 Hz, H<sub>1</sub>- $\alpha$ ), 5.69 (d,  $J_{1,2}$  3 Hz, H<sub>1</sub>); 5.15 (d,  $J_{1,2}$  7 Hz, H<sub>1</sub>- $\beta$ ); le rapport  $\alpha:\beta$  est de l'ordre de 1; litt.<sup>4,15,16</sup>  $\{\alpha\}_D + 155^\circ$  (c 0.3, eau);  $\{\alpha\}_D + 184^\circ$  (c 1.25, eau);  $\{\alpha\}_D + 155^\circ$  (eau).

Après réduction au borohydrure de sodium et per (triméthylsilylation),<sup>17</sup> le dérivé obtenu est homogène en chromatographie en phase gazeuse,  $t_R$  1.80.

1,2,4,6 - Tétra - O - acétyl - 3 - O - (2,3,4,6 - tétra - O - acétyl -  $\alpha$  - D - galactopyranosyl) -  $\beta$  - D - galactopyranose 24. Le composé 23 (65 mg) est acétylé (pyridine-anhydride acétique) pendant 2 h à 0°, puis 10 h à la température ambiante. Après évaporation, le résidu est chromatographié sur une colonne de gel de silice (10 g). L'élution par le mélange 1,2-dichloroéthane-acétone (23:2, v/v) permet de recueillir le peracétate 24 cristallisant dans l'éthanol (54 mg, 42%); F 96–97° (ramollissement), 157–158° (fusion);  $\{\alpha\}_D + 107.5^\circ$  (c 1, chloroforme); RMN (chloroforme-d):  $\delta$  5.66 (1H, d,  $J_{1,2}$  8.5 Hz, H<sub>1</sub>), 2.18, 2.14, 2.13, 2.06, 2.04, 1.94 (24H, 6s, OAc); litt.<sup>15</sup> F 157.5–158.5°;  $\{\alpha\}_D + 110.2^\circ$  (c 0.5, chloroforme).

2 - Hydroxyéthyl - 2,3 - di - O - benzyl - 4,6 - O - benzylidène -  $\beta$  - D - galactopyranoside 25. Une solution du composé 3 (400 mg, 0.82 mM) dans le mélange dioxanne-eau (3:1, v/v, 16 ml) est agitée pendant 20 min à la température ambiante en présence de tétr oxyde d'osmium (5 mg). Du périodate de sodium (370 mg, 1.72 mM) est alors ajouté par petites portions. Après 24 h, du borohydrure de sodium (50 mg) est ajouté et l'agitation est maintenue pendant 10 min. Le mélange réactionnel est évaporé et repris par du chloroforme. La phase organique est lavée avec une solution aqueuse à 10% de sulfite de sodium, avec de l'eau, séchée (sulfate de sodium) et évaporée. Le résidu est dissous dans le mélange dioxanne-eau (3:1, v/v, 16 ml) et agité pendant

2 h à la température ambiante en présence de périodate de sodium (107 mg, 0.5 mM). Du borohydrure de sodium (50 mg) est ajouté et l'agitation est maintenue pendant 10 min. Le mélange réactionnel est évaporé et traité comme précédemment. Le résidu est cristallisé dans un mélange hexane-acétate d'éthyle pour donner 25 (317 mg, 81%); F 127–128°;  $[\alpha]_D^{25} + 35^\circ$  (c 1, chloroforme); RMN (chloroforme-d):  $\delta$  7.45 (1H, m, Ph), 4.44 (1H, d,  $J_{1,2}$  7.5 Hz,  $H_1$ ), 3.56 (1H, dd,  $J_{2,3}$  9 Hz,  $J_{1,4}$  3 Hz,  $H_2$ ), 3.30 (1H,  $H_3$ ), 2.70 (1H, OH); Calc. pour  $C_{25}H_{32}O_7$ : C, 70.71; H, 6.55. Tr.: 70.88; H, 6.58%.

2 - Acétoxyéthyl - 2,3 - di - O - benzyl - 4,6 - O - benzylidène -  $\beta$  - D - galactopyranoside 26. Le composé 25 (55 mg) est acétylé (anhydride acétique-pyridine) pendant 3 h à la température ambiante. Le mélange réactionnel est évaporé à sec et le résidu est cristallisé dans un mélange hexane-acétate d'éthyle pour donner 26 (53 mg, 90%); F 121–122°;  $[\alpha]_D^{25} + 28^\circ$  (c 1, chloroforme); RMN (chloroforme-d):  $\delta$  7.44 (1H, m, Ph), 4.42 (1H, d,  $J_{1,2}$  8 Hz,  $H_1$ ), 3.55 (1H, dd,  $J_{2,3}$  9 Hz,  $J_{1,4}$  3.5 Hz,  $H_2$ ), 3.28 (1H,  $H_3$ ), 1.97 (3H, s, OAc); Calc. pour  $C_{31}H_{34}O_8$ : C, 69.65; H, 6.41. Tr.: C, 69.74; H, 6.44%.

## REFERENCES

- <sup>1</sup>J.-R. Pougny, J.-C. Jacquinot, M. Nassr, D. Duchet, M.-L. Milat et P. Sinaÿ, *J. Am. Chem. Soc.* **99**, 6762 (1977).
- <sup>2</sup>R. U. Lemieux et H. Driguez, *Ibid.* **97**, 4069 (1975).
- <sup>3</sup>R. U. Lemieux et collaborateurs, résultats non publiés.
- <sup>4</sup>R. U. Lemieux, K. B. Hendrika, R. V. Stick et K. James, *J. Am. Chem. Soc.* **97**, 4856 (1975).
- <sup>5</sup>E. Bourquelot et M. Bridel, *Compt. Rend.* **156**, 1104 (1913).
- <sup>6</sup>R. Gigg et C. D. Warren, *J. Chem. Soc.* 2205 (1965).
- <sup>7</sup>R. T. Lee et Y. C. Lee, *Carbohydrate Res.* **37**, 193 (1974).
- <sup>8</sup>L. R. Schroeder, K. M. Counts et F. C. Haigh, *Ibid.* **37**, 368 (1974).
- <sup>9</sup>G. J. F. Chittenden, *Ibid.* **14**, 495 (1971).
- <sup>10</sup>J.-C. Jacquinot et P. Sinaÿ, *J. Chem. Soc., Perkin Trans I*, in press.
- <sup>11</sup>H. H. Boeshard, R. Mory, M. Schmid et Hch. Zollinger, *Helv. Chim. Acta* **42**, 1653 (1959).
- <sup>12</sup>S. Koto, N. Morishima, Y. Miyata et S. Zen, *Bull. Chem. Soc. Japan* **49**, 2639 (1976).
- <sup>13</sup>P. W. Austin, F. E. Hardy, J. G. Buchanan et J. Baddiley, *J. Chem. Soc.* 1419 (1965).
- <sup>14</sup>R. Gigg et C. D. Warren, *Tetrahedron Letters* 1191 (1964).
- <sup>15</sup>K. Morgan et A. N. O'Neill, *Can. J. Chem.* **37**, 1201 (1959).
- <sup>16</sup>T. J. Painter, W. M. Watkins et W. T. J. Morgan, *Nature* **193**, 1042 (1962).
- <sup>17</sup>C. C. Swooley, R. Bentley, M. Makita et W. W. Wells, *J. Am. Chem. Soc.* **85**, 2497 (1963).
- <sup>18</sup>R. Pappo, D. S. Allen, Jr., R. U. Lemieux et W. S. Johnson, *J. Org. Chem.* **21**, 478 (1956).