

SYNTHÈSE D'OLIGOSACCHARIDES SUR POLYMERE SUPPORT—IV†

REACTIONS SUR POLYMERE "POPCORN"

G. EXCOFFIER, D. GAGNAIRE,* J-P. UTILLE et M. VIGNON

Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales, Centre National de la Recherche Scientifique, Domaine
Universitaire. B.P. 53-38041 Grenoble, France

(Received in France 14 March 1974; received in the UK for publication 13 September 1974)

Résumé—Un schéma itératif de synthèse d'oligosaccharides sur polymère support a été étudié sur polystyrène "popcorn" fonctionnalisé: ancrage de la première unité glucidique, libération d'un hydroxyle sélectivement protégé, réaction de glycosylation et rupture de la liaison support-glucide. L'ancrage est réalisé par une liaison ester benzoïque, clivée par méthanolyse (méthode de Zemplén); le groupe β -benzoylpropionyle a été utilisé comme groupe protecteur temporaire. Nous décrivons à titre d'exemple la synthèse du benzyl-2-acétamido-4,6-di-O-acétyl-3-O-(2-acétamido-3,4,6-tri-O-acétyl-2-désoxy- β -D-glucopyranosyl)-2-désoxy- α -D-glucopyranoside.

Abstract—The different steps leading to oligosaccharide synthesis on polymeric support have been studied in the case of a functionalized "popcorn" polystyrene: anchoring of the first glucidic group, unblocking of a selectively protected hydroxyl group, glycosylation and cleavage of the glucide support bond. The first glucidic unit is attached by a benzoic ester bond cleaved by methanolysis (Zemplén's method); β -benzoylpropionic ester was used as temporary protecting group. The synthesis of benzyl-2-acetamido-4,6-di-O-acetyl-3-O-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-deoxy- β -D-glucopyranosyl)-2-deoxy- α -D-glucopyranoside is described as an example.

La synthèse d'oligosaccharides sur polymère support est une possibilité encore peu exploitée; la complexité du problème est reflétée dans les premiers rapports sur ce sujet¹⁻⁶ par des différences essentielles dans le choix du support, de la liaison d'ancrage, de la méthode de libération de l'oligosaccharide fixé sur le polymère. Dans notre laboratoire les principes généraux adoptés ont été précédemment indiqués⁴ et l'application à la synthèse d'un disaccharide a été brièvement décrite.⁵ Cette synthèse cependant n'utilise pas le déblocage sélectif d'un seul hydroxyle de la première unité fixée sur le support.

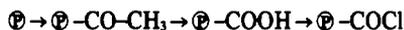
Le but de cet article est de préciser les conditions des différentes réactions chimiques nécessaires sur polymère pour la synthèse d'un oligosaccharide, et de montrer sur un exemple la possibilité d'enchaînement de toutes ces étapes.

RESULTATS ET DISCUSSION

Choix du polymère support et réaction d'ancrage. A part quelques exceptions récentes (silice,⁷ Sephadex LH20,⁸ polyéthylène glycol⁹) pour lesquelles on manque de détails expérimentaux, la plupart des synthèses d'oligonucléotides selon la technique Merrifield ont utilisé comme support des polystyrènes solubles¹⁰ ou insolubles. Ces derniers, selon le mode de préparation et le degré de réticulation par le divinylbenzène étaient le copolymère en "perles"¹¹ couramment employé en synthèse peptidique,¹² ou plus fréquemment¹³ un copolymère "popcorn".

Ce dernier type de polymère, fonctionnalisé par des fonctions chlorures d'acide, permet l'ancrage d'un glucide

par une liaison ester, utilisée par exemple par Letsinger pour des liaisons thymidine-3'-polymère^{13b} et desoxyguanosine-5'-polymère^{13c}; il a été préparé selon les indications de Letsinger¹⁴ par la séquence:



où Ⓢ représente un polystyrène réticulé par 0.16% de divinylbenzène; bien que le mode opératoire décrit ait été suivi aussi exactement que possible, la réaction de Friedel et Crafts qui est l'étape déterminante, a été pratiquement quantitative, et le copolymère obtenu est nettement plus riche en groupes fonctionnels que celui de Letsinger (1.7 meq/g. au lieu de 0.74).

L'estérification a d'abord été réalisée avec quatre modèles simples, le méthyl 2,3,4-tri-O-acétyl- α -D-glucopyranoside 1, le méthyl 2,3,4-tri-O-benzoyl- α -D-glucopyranoside 2, le 2,3,4,6-tetra-O-acétyl- β -D-glucopyranose 3, le méthyl 6-O-trityl- α -D-glucopyranoside 4, dans différents systèmes de solvants. Certains résultats sont consignés dans le Tableau 1. Les taux de réaction ont été déterminés par augmentation de poids du polymère après estérification des fonctions chlorures d'acide résiduelles par le méthanol.

Le taux de fixation peut être très approximativement suivi par mesure du pouvoir rotatoire de la solution en fonction du temps et de façon plus précise, par gravimétrie en fin d'expérience. L'examen des résultats (Tableau 1) montre deux aspects: (a) Les temps utilisés éliminent tout facteur cinétique; et (b) l'encombrement stérique est très important pour le taux de fixation (voir par exemple le dérivé tritylé 4).

†Partie III, voir Réf 17.

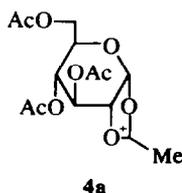
Tableau I

ESSAIS	Solvant	Alcool	Température (°C)	Temps (h)	Rapport molaire glucide/polymère	Taux d'ancrage (% de fonctions chlorures d'acide estérifiées)	
						polarimétrie	gravimétrie
A	C ₆ H ₆ -C ₃ H ₅ N 95:5	1	10	168	1.9		71
B	C ₆ H ₆ -C ₃ H ₅ N 95:5	1	40	168	1.9	68	76
C	C ₆ H ₆ -C ₃ H ₅ N 9:1	1	10	168	1.9	73.5	80
D	C ₆ H ₆ -C ₃ H ₅ N 9:1	1	40	168	1.9	77	82.5
E	C ₃ H ₅ N	1	40	168	1.9	73.5	82
F	C ₆ H ₆ -C ₃ H ₅ N 9:1	2	40	168	1.9	68	75
G	C ₆ H ₆ -C ₃ H ₅ N 9:1	3	60	30	1		56
H	CHCl ₃ -C ₃ H ₅ N 9:1	3	60	30	1		58
I	C ₃ H ₅ N	4	75	4*	1	20	23.5

*Le pouvoir rotatoire de la solution reste constant après 2 h de réaction.

La fixation de la première unité a été réalisée par création d'une liaison glycosidique par Frechet et Schuerch¹ et Zehavi et Patchornik.⁶ Pour notre part, nous avons cherché à réaliser cet ancrage par liaison ester sur la position anomère du premier sucre (couplage d'un halogénure avec le polymère acide \oplus -COOH).

L'acétobromoglucose α 5, traité dans un solvant inerte (chloroforme, benzène) par un faible excès d'acide benzoïque en présence d'ions bromures (fournis par le bromure de tétra-butylammonium) et d'une base encombrée (2,6-lutidine ou 2,4,6-collidine) produit avec un rendement de 84% un mélange de 1-O-benzoyl-2,3,4,6-tétra-O-acétyl-D-glucopyranoses anomères (α 6 et β 6) dans le rapport $\beta/\alpha = 3$. Les conditions expérimentales sont voisines de celles utilisées par Lemieux et Morgan¹⁵ pour la synthèse d'orthoesters à partir de bromures de glycosyles. Après anomérisation du bromure initial (α 5 \rightarrow β 5), il y a probablement compétition entre l'attaque directe de β 5 par RCO_2^- pour donner l'ester α 6, et la formation de l'ion 1,2-dioxolanylium 4a.



4a

L'ester β 6 est formé par attaque de RCO_2^- sur le carbone anomère de cet ion. L'acide β -benzoylpropionique fournit dans les mêmes proportions les esters α 7 et β 7.

Dans des conditions analogues, 1g de polymère "popcorn" acide \oplus -COOH forme avec un excès

d'acétobromoglucose, 0.94 mmoles d'ester 8. On peut noter que cette valeur est proche de celle fournie par l'ancrage du tétraacétate 3 sur le polymère \oplus -COCl.

L'utilisation du cyanure mercurique comme accepteur d'acide, dans différents systèmes de solvants (nitrométhane, dioxanne, chloroforme) ne fournit pas de résultat satisfaisant.

Comme exemple d'étape initiale d'une séquence réactionnelle complète, le benzyl 2-acétamido-3-O-benzoylpropionyl-2-désoxy- α -D-glucopyranoside 11 brut, obtenu via les acétals 9¹⁶ et 10, est ancré sur polymère chlorure d'acide en milieu benzène-pyridine (10:1); l'ancrage s'effectue vraisemblablement en grande partie par la position OH-6. L'hydroxyle résiduel est benzoylé; par pesée du polymère 12, le taux d'ancrage est estimé à 1 mmole par g de polymère initial.

Libération sur le support d'un hydroxyle sélectivement protégé. Il a été précédemment montré⁴ que le clivage par l'acétate d'hydrazine du groupe β -benzoylpropionyle pouvait être réalisé très sélectivement en présence d'esters benzoïques; cette réaction a été appliquée au polymère 12, et se traduit par une perte de poids correspondant à la valeur théorique. Rappelons cependant que dans ces conditions réactionnelles il y a également clivage des esters anomères;⁴ le groupe β -benzoylpropionyle ne pourrait donc pas être utilisé comme substituant temporaire dans le cas où l'ancrage serait réalisé par un ester en position anomère, pas plus que le groupe chloroacétyle, également étudié dans notre laboratoire.¹⁷

Glycosylation. La plupart des travaux sur les mécanismes et les résultats des réactions de glycosylation ont concerné jusqu'ici la solvolysé d'halogénures de glycosyle par des alcools simples; les conclusions ne peuvent être toujours étendues à des réactions plus

complètes, comme l'ont récemment vérifié Fréchet et Schuerch qui n'ont pas retrouvé sur support solide² le contrôle stérique obtenu selon la nature du groupe acyle lors de la méthanolyse de bromures de 6-*O*-acyl-2,3,4-tri-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyle.¹⁸

Nous nous sommes limités à des agents glycosylants dérivés de la *N*-acétylglucosamine, qui présentent deux avantages: contrôle stérique par participation du substituant azoté en position C-2 d'où obtention d'une liaison β ; absence de certaines réactions parasites entre l'agent glycosylant et l'alcool: on sait que même dans le cas d'un halogénure de glycosyle 1,2-cis, la formation d'orthoester est possible si le carbone C-2 porte un groupe acétoxy;¹⁹ à notre connaissance aucune réaction analogue n'a été signalée dans le cas d'un groupe *N*-acétyle.

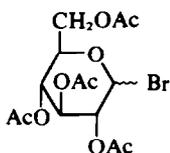
La glycosylation de l'hydroxyle primaire en C-6 d'un benzyl 2-acétamido-2-désoxy- α -D-glucopyranoside ancré sur support "popcorn" a été brièvement décrite;⁵ les agents glycosylants étaient soit la 2-méthyl-4,5-(3,4,6-tri-*O*-acétyl-2-désoxy- α -D-glucopyranose)-2-oxazoline, en présence d'acide *p*-toluène sulfonique, soit le chlorure de 2-acétamido-3,4,6-tri-*O*-acétyl-2-désoxy- α -D-glucopyranosyle **16**, avec le cyanure mercurique comme accepteur d'acide.

Des conditions expérimentales semblables ont été utilisées dans le cas de la glycosylation par le chlorure **16** de l'hydroxyle libre de **13**: quatre traitements successifs avec un excès de deux moles de **16** par mole d'alcool sont nécessaires pour atteindre un rendement de 85% (d'après

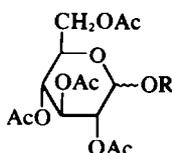
l'augmentation de poids). Dans les deux cas la moitié seulement des fonctions alcools sont glycosylées lors du premier traitement. Il est donc clair par cet exemple que l'accessibilité des alcools à la glycosylation est relativement faible, et impose dans le cas du polymère "popcorn" utilisé plusieurs traitements successifs. Il n'en est pas de même, selon Fréchet et Schuerch,² dans le cas d'un polymère plus réticulé où les glycosylations sont plus aisées que l'ancrage initial.

Rupture de la liaison support-glucide. La réaction a été tout d'abord étudiée sur un polymère estérifié par le glucoside **1**, résultant des expériences d'ancrage A, B, C, ou D.

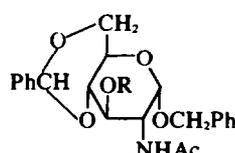
(a) *Ammonolyse.* L'action de l'ammoniac en solution dans le méthanol ou dans des mélanges dioxanne-méthanol (1:2 ou 2:1) possédant un pouvoir gonflant supérieur, ne libère qu'une faible partie du méthyl α -D-glucopyranoside attendu. L'apparition dans le spectre IR d'une bande alcool large et intense (λ_{\max} 3450 cm^{-1}), la disparition de la bande acétate à 1750–1770 cm^{-1} , la persistance de la bande benzoate à 1700–1720 cm^{-1} , enfin la présence d'acétamide volatil dans le filtrat, font conclure à une ammonolyse totale des esters acétiques. En revanche, les liaisons benzoate support-glucide restent pratiquement intactes dans les mélanges méthanol-dioxanne, et sont incomplètement coupées dans le méthanol seul. Outre un peu de matériau polymérique, les filtrats contiennent toujours du chlorure d'ammonium: la présence de ce sel provient vraisemblablement de



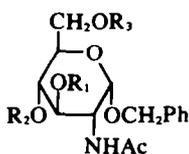
5



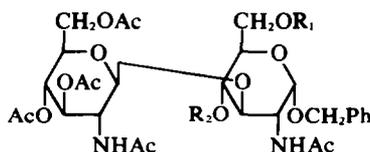
6: R = PhCO
7: R = PhCOCH₂CH₂CO
8: R = $\text{C}\equiv\text{O}$



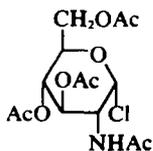
9: R = H
10: R = PhCOCH₂CH₂CO



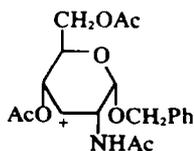
11: R₁ = PhCOCH₂CH₂CO;
R₂ = R₃ = H
12: R₁ = PhCOCH₂CH₂CO;
R₂ = PhCO; R₃ = $\text{C}\equiv\text{O}$
13: R₁ = H; R₂ = PhCO; R₃ = $\text{C}\equiv\text{O}$



14: R₁ = $\text{C}\equiv\text{O}$; R₂ = PhCO
15: R₁ = R₂ = Ac



16



A: m/e 378

fonctions chlorures d'acide résiduelles, non estérifiées par le méthanol à la fin de l'ancrage.

(b) *Méthanolyse.* La transestérification par le méthoxyde de sodium dans les mêmes systèmes de solvants libre quantitativement le méthyl α - D - glucopyranoside. Toutefois, la réaction ne se produit que si la quantité de sodium atteint environ 0.1 meq par g de polymère; cette valeur anormalement élevée peut s'expliquer, au moins en partie, par une capture des ions sodium par les fonctions acides et chlorures d'acide résiduelles du polymère. Comme dans le cas de l'ammonolyse, le filtrat contient des ions chlorures et un peu de matériau polymérique. Ainsi, il paraît souhaitable d'utiliser une méthode de rupture non catalytique, puisque la neutralisation complète des groupes fonctionnels du polymère, quels qu'ils soient, est problématique.

Cette méthode a cependant été utilisée pour le clivage des liaisons O-acyl du disaccharide substitué 14; le mélange brut obtenu contient un peu de polymère dégradé, légèrement soluble dans le chloroforme, dont une partie au moins semble liée à des motifs glucidiques. Le spectre IR présente, en plus de l'absorption aromatique à 3030 cm^{-1} , une bande large et intense entre 3300 et 3500 cm^{-1} , et une absorption aigue à 1730 cm^{-1} (carbonyle d'un ester benzoate). Ces impuretés sont éliminées par déionisation puis réacétylation; on récupère le dérivé acétylé 15 avec un rendement de 51% par rapport à 12.

PARTIE EXPERIMENTALE

Méthodes générales

Les points de fusion, non corrigés, ont été déterminés en tubes capillaires sur appareil Büchi-Tottoli, et les pouvoirs rotatoires à l'aide d'un polarimètre "Quick" Roussel-Jouan. Les spectres RMN ont été enregistrés sur Varian A-60A ou Varian HA-100, dans le chloroforme-d, avec le TMS comme référence interne. Les spectres IR ont été enregistrés à l'aide d'un appareil Perkin-Elmer 237, à des concentrations de 10% environ dans KBr.

Le spectre de masse du disaccharide 15 a été réalisé sur un appareil spectrophotomètre AEI MS 30; tension d'ionisation: 30 eV; courant électronique: 300 mA; température de la source 250°C .

Le polymère "popcorn" a été synthétisé dans les conditions décrites par Letsinger;¹⁴ le taux de fonctionnalisation, déterminé par dosage de $\text{O}-\text{COOH}$ et de $\text{O}-\text{COCl}$, est de 1.7 meq/g.

Reactions d'ancrage sur polymère chlorure d'acide

La méthode généralement utilisée est décrite ici pour le glucoside 1; les conditions particulières sont indiquées dans le Tableau 1.

2.6 g de 1 (8.1 mmoles) sont dissous dans 25 ml d'un mélange benzène-pyridine (9:1); 20 ml de cette solution (6.48 meq OH) sont traités par 2 g de polymère chlorure d'acide (3.4 meq COCl); la suspension est portée à 40° , et agitée pendant une semaine; les 5 ml résiduels servent de témoin; le pouvoir rotatoire initial de la solution est mesuré sur ce témoin. Cinq prélèvements de 0.2 ml sont effectués à 1h, 3h, 5h, 8h et 24h, après arrêt de l'agitation et décantation. Le pouvoir rotatoire final de la solution est mesuré de la même façon; on en déduit la quantité d'alcool ancré (1.31 mmole par g de polymère initial). Le mélange réactionnel est traité par 2 ml de méthanol, agité pendant 12h, et filtré; le polymère est lavé par le benzène, le chloroforme et l'éther éthylique, et séché sous vide (0.1 Torr) à 45°C , jusqu'à poids constant. L'augmentation de poids est de 0.792 g, correspondant à l'ancrage de 1.4 mmole d'alcool par g de polymère initial.

2,3,4,6 - tétra - O - acétyl - 1 - O - benzoyl - D - glucopyranoses ($\alpha 6$ et $\beta 6$)

2.05 g (5 mmoles) d'acétylbromoglucose ($\alpha 5$), 0.76 g (6.25 mmoles) d'acide benzoïque et 0.5 g (1.55 mmole) de bromure de tétrabutylammonium sont dissous à 65° dans 10 ml de benzène; l'addition de 1.35 ml (10 mmoles) de sym-collidine provoque la précipitation de bromure de collidinium. Après 18 h à 65° , refroidissement et dilution par le chloroforme, la solution est lavée successivement par l'acide chlorhydrique dilué, une solution saturée d'hydrogénocarbonate de sodium, l'eau, et séchée par entraînement avec de l'éthanol. De ce même solvant cristallise d'abord $\beta 6$ (1.5 g, 66%), F $144-5^{\circ}$, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} - 26.5^{\circ}$ (c 1.7, CHCl_3) (Litt.²⁰: F 146° , $[\alpha]_{\text{D}}^{20} - 28.1^{\circ}$), puis $\alpha 6$ (0.41 g, 18%), F $120-1^{\circ}$, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 124.5^{\circ}$ (c 1, CHCl_3) (les données de la littérature:²¹ F $60-3^{\circ}$, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 113.5^{\circ}$ correspondent vraisemblablement à un mélange d'anomères).

2,3,4,6 - tétra - O - acétyl - 1 - O - (3 - benzoylpropionyl) - D - glucopyranoses ($\alpha 7$ et $\beta 7$)

Selon le même mode opératoire que pour 6, on obtient: $\beta 7$ (68%), F $161-2^{\circ}$, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 13.5^{\circ}$ (c 2.1, CHCl_3); $\alpha 7$ (20%), F $106-7^{\circ}$, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 101^{\circ}$ (c 1, CHCl_3). Calc pour $\text{C}_{24}\text{O}_{12}\text{H}_{38}$: C, 56.69; H, 5.55; Tr. C, 56.62; H, 5.58%.

2,3,4,6 - tétra - O - acétyl - 1 - O - benzoylpolymer - D - glucopyranose (8)

A 1 g $\text{O}-\text{COOH}$ (1.7 meq acide) suspendu dans un mélange de 9 ml de benzène et 1 ml de sym-collidine sont ajoutés 0.82 g (2 mmoles) d'acétylbromoglucose et 0.4 g (0.62 mmole) de bromure de tétrabutylammonium; la suspension est maintenue 40 h à 70° et filtrée; le polymère est lavé par le benzène, puis une solution diluée d'acide chloracétique dans le chloroforme, et par l'éther éthylique. Le polymère obtenu (1.275 g) est à nouveau traité dans le même milieu par 0.41 g (1 mmole) d'acétylbromoglucose, 0.4 g de bromure de tétrabutylammonium, pendant 30 h à 70°C . L'augmentation de poids globale (0.31 g) correspond à l'ancrage de 0.94 mmole de tétra - O - acétylglucopyranose par g de polymère initial.

Benzyl 2 - acétamido - 3 - O - (3 benzoylpropionyl) - 4,6 - O - benzylidène - 2 - désoxy - α - D - glucopyranoside 10

Synthétisé à partir de 2 g (5 mmoles) de glucoside 9¹⁵ et 2.4 g (7 mmoles) d'anhydride β -benzoylpropionique.⁴ Après le traitement habituel, 10 (2.25 g, 80.3%) cristallise de l'éthanol en fines aiguilles, F 207° , $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 64^{\circ}$ (c 1, CHCl_3). Calc. pour $\text{C}_{32}\text{H}_{33}\text{O}_8\text{N}$: C, 68.68; H, 5.94; N, 2.50; Tr. C, 68.74; H, 5.97; N, 2.52%.

Benzyl 2 - acétamido - 3 - O - (3 - benzoylpropionyl) - 2 - désoxy - α - D - glucopyranoside 11

1.73 g (3.09 mmoles) du glucoside précédent 10 sont ajoutés à 56 ml d'un mélange acide acétique-eau (2.5: 1) chauffé au bain-marie; après 0.25 h à $95-100^{\circ}$, le composé de départ a disparu (CCM, chloroforme-acétone 3:1). La solution est évaporée sous vide et les dernières traces d'acide et de benzaldéhyde entraînées par l'eau, puis l'éthanol. On obtient 1.45 g, de 11 sous forme d'une mousse solide, qui refuse de cristalliser, mais présente une seule tache en CCM.

Benzyl 2 - acétamido - 4(6?) - O - benzoyl - 6(4?) - O - benzoylpolymer - 3 - O - (3 - benzoylpropionyl) - 2 - désoxy - α - D - glucopyranoside 12

Le composé 11 (1.415 g, 3 mmoles) est dissous dans 20 ml de benzène, dont on distille 10 ml. Après refroidissement, on ajoute 1 ml de pyridine, puis 1 g de polymère chlorure d'acide. La suspension est agitée 16 h à 50° . On ajoute 40 ml de benzène, et on distille 40 ml de mélange; cette opération est répétée deux fois. Après refroidissement à 0° , on ajoute 2 ml de pyridine anhydre et

1 ml de chlorure de benzoyle; la suspension est agitée 3 h à 0°, 3 h à 25°, et filtrée. Le polymère est lavé plusieurs fois avec du benzène puis du chloroforme, et enfin de l'éther éthylique, séché à 45° sous 0.1 Torr; l'augmentation de poids (0.547 g) correspond à l'ancrage de 1.015 mmole de glucoside.

Benzyl 2 - acétamido - 4(6?) - O - benzoyl - 6(4?) - O - benzoylpolymère - 2 - désoxy - α - D - glucopyranoside 13

Le polymère 12 (1.547 g) suspendu dans 25 ml d'un mélange pyridine-acide acétique (4:1) est traité par 0.275 g (3 mmoles) d'acétate d'hydrazine pendant 20 min à 50°. Le polymère filtré est lavé deux fois par le même système de solvants que pour 12; le traitement précédent est répété deux fois. Lavage final: benzène, chloroforme, éther. La perte de poids (0.166 g) est égale à la valeur théorique.

Benzyl 2 - acétamido - 4(6?) - O - benzoyl - 6(4?) - O - benzoylpolymère - 2 - désoxy - 3 - O - (2 - acétamido - 3,4,6 - tri - O - acétyl - 2 - désoxy - β - D - glucopyranosyl) - α - D - gluco - pyranoside 14

Le polymère 13 (1.381 g) en suspension dans 20 ml de benzène est traité par le chlorure 16 (0.730 g 2 mmoles) en présence de cyanure mercurique (0.5 g, 1 mmole), ajoutés en deux fois à 36 h d'intervalle. Après 72 h à 65°, avec agitation intermittente, le polymère est filtré et lavé avec benzène, chloroforme, méthanol, et éther. Après séchage, le traitement précédent est répété trois fois, les augmentations de poids successives sont: 0.16 g; 0.058 g; 0.043 g; 0.025 g. L'augmentation totale (0.286 g) correspond à un rendement de 85% par rapport à la première unité ancrée.

Benzyl 2 - acétamido - 4,6 - di - O - acétyl - 2 - désoxy - 3 - O - (2 - acétamido - 3,4,6 - tri - O - acétyl - 2 - désoxy - β - D - glucopyranosyl) - α - D - glucopyranoside 15

Le polymère 14 (1.667 g) est suspendu dans 20 ml d'un mélange dioxanne-méthanol (1:1) contenant 0.12 mmole de sodium, pendant 3 h à 40°. Après filtration et lavage répété du polymère par le même système de solvant que pour 14, le filtrat est évaporé. Le résidu, contenant un peu de matériau polymérique, est repris par l'eau, et déionisé à l'aide d'Amberlite IR 120 (H⁺). La solution est évaporée et le résidu (0.54 g) acétylé dans un mélange d'anhydride acétique-pyridine. Après le traitement habituel, le résidu (0.56 g) cristallise dans l'éthanol, fournissant 15 (0.37 g, 51% par rapport à 12) F 254°; $[\alpha]_D^{20} + 56^\circ$ (c 1, CHCl₃) (Litt.²²: F 256-258.5°; $[\alpha]_D^{25} + 59$ (c 1, CHCl₃)); M⁺, m/e 724 (pic moléculaire de faible intensité); m/e 378-1555; calculé pour C₁₉H₂₂O₇N: 378-1552 (94% du pic de base m/e 330) attribué à l'ion A²³; RMN (CDCl₃): δ 6.06 et 5.81 d, J_{2,NH} 7 et 10 Hz, qui disparaissent lentement par deutériation (NHAc du disaccharide); 4.9-5.16 (deux triplets, J 8 Hz); 5.56 (un triplet, J 9 Hz à champ

faible qui correspond à un proton en α d'un acétate secondaire); 4.84 d, J_{1,2} 3.5 Hz (H-1 équatorial de l'extrémité réductrice); 3.27 (un multiplet mal résolu; après deutériation du N-H on a disparition du couplage (J_{2,NH} 7 Hz) et apparition d'un quadruplet attribuable au proton H-2'; J_{1,2} 8 Hz; J_{2,3} 10 Hz). Calc. pour C₂₃H₂₄N₂O₁₄: C, 54.69; H, 6.12; N, 3.87; O, 35.32; Tr. C, 54.54; H, 6.09; N, 3.08; O, 35.08%.

Ce travail a été réalisé avec la collaboration de L. Patron (RMN à 100 MHz) et C. Bosso (spectrométrie de masse).

REFERENCES

- ¹J. M. Frechet et C. Schuerch, *J. Am. Chem. Soc.* **93**, 492 (1971)
- ²J. M. Frechet et C. Schuerch, *Carbohydr. Res.* **22**, 399 (1972)
- ³R. D. Guthrie, A. D. Jenkins et J. Stehlicek, *J. Chem. Soc. (C)* **2690**, (1971); R. D. Guthrie, A. D. Jenkins et G. A. F. Roberts, *J. C. S. Perkin I*, 2414 (1973)
- ⁴N. Belorisky, G. Excoffier, D. Gagnaire, J.-P. Utille, M. Vignon et P. Vottero, *Bull. Soc. Chim.* **4749** (1972)
- ⁵G. Excoffier, D. Gagnaire, J.-P. Utille et M. Vignon, *Tetrahedron Letters* **5065** (1972)
- ⁶U. Zehavi et A. Patchornik, *J. Am. Chem. Soc.* **95**, 5673 (1973)
- ⁷E. Bayer, G. Jung, I. Halász et I. Sebastian, *Tetrahedron Letters* **4503** (1970); H. Köster, *Ibid.* **1527** (1972)
- ⁸H. Köster et K. Heyns, *Ibid.* **1531** (1972)
- ⁹H. Köster, *Ibid.* **1535** (1972)
- ¹⁰F. Cramer, R. Helbig, H. Hettler, K. H. Sheit et H. Seliger, *Angew. Chem. Internat. Edit.* **5**, 601 (1966)
- ¹¹L. R. Melby et D. R. Strobach, *J. Am. Chem. Soc.* **89**, 450 (1967); *J. Org. Chem.* **34**, 421, 427 (1969)
- ¹²J. M. Stewart et J. D. Young, *Solid Phase Peptide Synthesis*; W. H. Freeman and Co, San Francisco, 1969
- ¹³R. L. Letsinger et V. Mahadevan, *J. Am. Chem. Soc.* **88**, 5319 (1966); ¹⁴R. L. Letsinger, M. H. Caruthers et D. M. Jerina, *Biochemistry* **6**, 1379 (1967); ¹⁵T. Shimidzu et R. L. Letsinger, *J. Org. Chem.* **33**, 708 (1968); ¹⁶H. Koster et F. Cramer, *Ann.* **766**, 6 (1972)
- ¹⁷R. L. Letsinger, M. J. Kornet, V. Mahadevan et D. M. Jerina, *J. Am. Chem. Soc.* **86**, 5163 (1964)
- ¹⁸R. U. Lemieux et A. R. Morgan, *Can. J. Chem.* **43**, 2199 (1965)
- ¹⁹P. H. Gross et R. W. Jeanloz, *J. Org. Chem.* **32**, 2759 (1967)
- ²⁰D. Y. Gagnaire et P. A. J. Vottero, *Carbohydr. Res.* **28**, 16 (1973)
- ²¹J. M. Frechet et C. Schuerch, *J. Am. Chem. Soc.* **94**, 604 (1972)
- ²²B. Helferich et K. Weis, *Chem. Ber.* **89**, 314 (1956)
- ²³G. Zemplén et E. D. Laszlo, *Ber.* **48**, 923 (1915)
- ²⁴E. Fischer et M. Bergmann, *Ber.* **52**, 829 (1919)
- ²⁵K. Heyns, R. Harrison et H. Paulsen, *Chem. Ber.* **100**, 271 (1967)
- ²⁶N. K. Kochetkov et O. S. Chizhov, *Advan. Carbohydr. Chem.* **21**, 39 (1966)