

## ALLONGEMENT DE LA CHAÎNE PEPTIDIQUE DU CÔTÉ C-TERMINAL D'UN GLYCOSYLAminoACIDE\*

JEAN MARTINEZ, ANDRÉ PAVIA† ET FRANÇOIS WINTERNITZ

École Nationale Supérieure de Chimie de Montpellier, 8 rue de l'École Normale,  
34075 Montpellier (France)

(Reçu le 1<sup>er</sup> novembre 1975; accepté sous forme revisée le 25 mars 1976)

### ABSTRACT

An O-glycodipeptide was synthesized by lengthening the peptide chain on the C-terminal side of a glycosylamino acid unit. *N*-(Benzoyloxycarbonyl)-3-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-L-threonine *o*-nitrophenyl ester and pentachlorophenyl ester were condensed with glycine benzyl ester to give both the same glycodipeptide, [*N*-(benzoyloxycarbonyl)-3-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-L-threonyl]glycine benzyl ester (9). The two anomers, *N*-(benzoyloxycarbonyl)-3-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ - and  $\beta$ -D-glucopyranosyl)-L-threonine pentachlorophenyl ester were also prepared. <sup>1</sup>H-N.m.r. studies ascertained the structure and anomeric configuration expected.

### SOMMAIRE

Un O-glycodipeptide a été obtenu par allongement de la chaîne peptidique d'un glycosylaminoacide du côté C-terminal. L'ester *o*-nitrophénylique de la *N*-(benzoyloxycarbonyl)-3-*O*-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-L-thréonine a conduit au dipeptide glycosylé 9 par condensation avec l'ester benzylique de la glycine. De même les deux anomères ( $\alpha$  et  $\beta$ ) de l'ester pentachlorophénylique de la *N*-(benzoyloxycarbonyl)-3-*O*-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-D-glucopyranosyl)-L-thréonine ont été préparés et l'anomère  $\beta$  a conduit au glucodipeptide 9 par condensation avec l'ester benzylique de la glycine.

### INTRODUCTION

Dans un précédent travail<sup>1\*\*</sup>, nous avons montré qu'il était possible de synthétiser des O-glycopeptides de configuration anomérique connue dans lesquels l'hydroxyaminoacide porteur de l'unité glucidique avait une position terminale dans l'enchaînement, par allongement du squelette peptidique côté N-terminal d'un glycosylaminoacide de base. Le travail que nous rapportons ici concerne les résultats que

\*Synthèse et Étude Structurale de O-Glycopeptides. Partie II. Pour la Partie I, voir réf. 1.

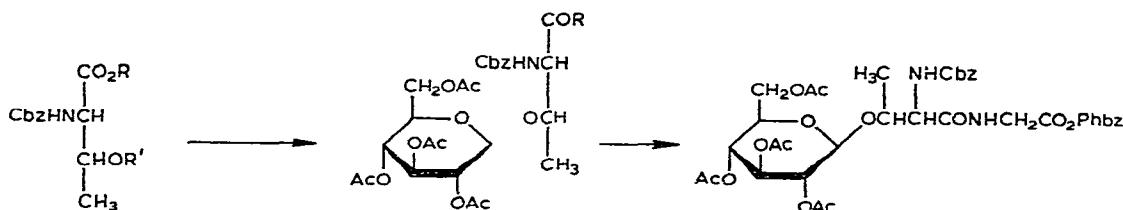
†Centre Universitaire d'Avignon, Faculté des Sciences, 33, rue Louis Pasteur, 84000 Avignon (France).

\*\*Ce travail apparaît sur les pages 148-151 de cette parution.

nous avons obtenus dans le cadre d'une deuxième hypothèse de travail, à savoir: allongement de la chaîne peptidique du côté C-terminal et obtention d'un glycopeptide avec le glycosylaminoacide en position initiale.

#### RÉSULTATS ET DISCUSSION

Pour allonger la chaîne peptidique côté C-terminal, nous avons choisi d'appliquer la méthode dite des « esters actifs » à un glycosylaminoacide. Les dérivés *o*-nitrophényliques<sup>2</sup> (6) et pentachlorophényliques<sup>3</sup> (7) de la *N*-(benzyloxycarbonyl)-3-*O*-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-L-thréonine ont été obtenus par une condensation de Koenigs-Knorr entre les esters *o*-nitrophénylique 3 et pentachlorophénylique 5 de la *N*-(benzyloxycarbonyl)-L-thréonine et le bromure de 2,3,4,6-tétra-



- 1 R = H, R' = Bu<sup>t</sup>
- 2 R = C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>NO<sub>2</sub> (*o*), R' = Bu<sup>t</sup>
- 3 R = C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>NO<sub>2</sub> (*o*), R' = H
- 4 R = C<sub>6</sub>Cl<sub>5</sub>, R' = Bu<sup>t</sup>
- 5 R = C<sub>6</sub>Cl<sub>5</sub>, R' = H

6 R = OC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>NO<sub>2</sub> (*o*)

7 R = OC<sub>6</sub>Cl<sub>5</sub>

8 R = NH<sub>2</sub>

9

*O*-acétyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyle. La *N*-(benzyloxycarbonyl)-*O*-(*tert*-butyl)-L-thréonine (1) a été transformée en ester *o*-nitrophénylique par la méthode de Bodanszky<sup>2</sup>. L'ester 2 a été obtenu sous forme d'une huile. Par action de l'acide trifluoracétique, 2 donne 3 sous forme cristalline, qui a été condensé avec le bromure de 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyle en présence de cyanure de mercure, dans les mêmes conditions que celles décrites dans notre précédent travail<sup>1</sup>. Nous avons obtenu 6 sous forme d'une huile. La structure et la stéréochimie de 6 ont été démontrées par le spectre de r.m.n. à 100 MHz et les expériences de double irradiation (cf. Tableau I). Par rapport à l'ester méthylique<sup>1</sup>, on note la présence de quatre protons supplémentaires, dont un à 8,04 p.p.m. (dd, *J*<sub>o</sub> 7,8 Hz; *J*<sub>m</sub> 2,7 Hz) correspondant au proton en position ortho du groupement nitro, et un système plus complexe masqué en partie par le signal des 5 protons de l'autre noyau aromatique. L'absence du signal du groupe méthoxyle permet une identification plus facile du proton H-5 à 3,73 p.p.m. On note également le doublet du proton anomère H-1 à 4,63 p.p.m. (*J* 7,5 Hz) qui confirme bien la configuration  $\beta$  et qui se superpose à un multiplet complexe correspondant aux deux protons H- $\alpha$  et H- $\beta$  de déplacements chimiques voisins.

Dans une deuxième expérience, nous avons effectué la synthèse de l'ester pentachlorophénylique de la *N*-(benzyloxycarbonyl)-3-*O*-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- $\beta$ -

TABLEAU I  
DONNÉES DE  $^1\text{H}$ -R.M.N. POUR LES COMPOSÉS 3 ET 5-9<sup>a</sup>

Prototis	Composés	Anomère $\alpha$ de 7						9
		3	5	6	7	8	9	
NH (Gly)								7,07 t J 5
NH (Thr)	5,81 d J 10	5,82 d J 10	5,84 d J 8	5,77 d J 9,5	5,67 d J 9,5	5,88 d J 6,5		5,92 d J 6,5
C $\alpha$ -H	4,70		4,6 m	4,72 dd	4,76 dd	4,50 q		4,53
C $\beta$ -H	4,60		4,6 m	4,61 dm	4,78 m	J 6,5, J 3,0		J 6,5, J 3
CH <sub>2</sub> (Gly)								4,25
CH <sub>3</sub>	1,35 J 6	1,35 J 6	1,34 d J 6,2	1,46 d J 6,2	1,35 d J 6,2	1,12 d J 6,2		1,12
H-1			4,63 d	5,18 d	4,63 d	4,72 d		J 6,2
H-2			7,5	7,3,2	7,5	7,5		4,69
H-3			4,97 q	4,95 q	4,96 q	4,97 q		J 7,5, J 9,0
H-4			J 7,5, J 9,0	J 3,2, J 10,0	J 7,5, J 9	J 7,5, J 9		J 7,5, J 9,0
H-5			5,24 t	5,43 q	5,25 t	5,24 t		5,25
H-6			J = J = 9,0	J 9,0, J 10,0	J = J = 9,0	J = J = 9,0		J = J = 9,0
H-6'			5,06 t	5,04 t	5,07 t	5,06 t		5,06
			J 9,0	J = J = 9,0	J = J = 9,0	J = J = 9,0		J = J = 9,0
			3,73 m	4,15 m	3,68 m	3,82 m		3,80
			4,20 q	4,10	4,25	4,23 m		4,20
			J 4,3, J 12,0		J 4,2, J 12,5			
			4,00	4,10	4,07	4,20 m		4,20
			J 2,5, J 12,0		J 2,0, J 12,5			

<sup>a</sup>Les spectres de r.m.n. ont été enregistrés sur un appareil Varian HA-100. Les déplacements chimiques sont donnés en valeurs  $\delta$ , pour des solutions de concentration proche de 5% dans  $\text{CDCl}_3$  par rapport au tétraméthylsilane comme référence interne;  $J$  en Hz. Abréviations: d = doublet; t = triplet; q = quartet; m = multiplet.

D-glucopyranosyl)-L-thréonine (7). L'ester 4 a été obtenu en condensant 1 avec le pentachlorophénol, dans le dichlorométhane, en présence de dicyclohexylcarbodi-imide comme agent de condensation. Par action de l'acide trifluoracétique sur 4, 5 a été isolé, puis cristallisé. Le spectre de r.m.n. de 5 confirme bien la structure du produit attendu (voir Tableau I). L'ester 5 a été traité par le bromure de 2,3,4,6-tétracétyle- $\alpha$ -D-glucopyranosyle en présence de cyanure de mercure dans l'acétonitrile anhydre. Après chromatographie, nous avons isolé 7 et son anomère  $\alpha$ . Le composé 7 donne un spectre dans lequel la plupart des signaux sont analysables, à l'exception des protons H- $\alpha$  et H- $\beta$  dont les déplacements chimiques voisins ne permettent pas d'en faire une analyse précise. Néanmoins, l'irradiation du doublet du NH (5,67 p.p.m.,  $J$  9,5 Hz) permet de déterminer avec précision le déplacement chimique de H- $\alpha$  à 4,76 p.p.m. Tous les protons du résidu de D-glucose sont observables et en particulier on note le doublet du proton H-1 à 4,63 p.p.m. ( $J_{1,2}$  7,5 Hz). Les déplacements chimiques des protons H-1, H-3, H-5 sont caractéristiques d'une structure de  $\beta$ -D-glucoside.

Le spectre de l'anomère  $\alpha$  de 7 est très différent de celui de 7. On constate en effet un déblindage important des protons: le signal de H-5 à 4,15 au lieu de 3,68 p.p.m., H-3 à 5,43 au lieu de 5,25 p.p.m. et H-1 à 5,18 au lieu de 4,63 p.p.m. avec  $J_{1,2}$  3,2 Hz au lieu de  $J_{1,2}$  7,5 Hz. On note également le quartet du proton H-2 ( $J_{1,2}$  3,2 Hz,  $J_{2,3}$  10,0 Hz) ainsi que les signaux des protons NH, H- $\alpha$ , H- $\beta$  et CH<sub>3</sub>. Toutes ces données sont en accord avec une structure de  $\alpha$ -D-glucoside. Les signaux des groupes acétates sont présents à 1,86; 1,98; 2,02; 2,07 p.p.m. ( $\delta$ ). L'absence de signal pour le groupe méthyle entre 1,6 et 1,8 p.p.m. et les valeurs des constantes de couplage  $J_{1,2}$  3,2 Hz,  $J_{2,3}$  10,0 Hz et  $J_{3,4}$  9,0 Hz permettent d'éliminer une éventuelle structure orthoester<sup>4-6</sup> pour l'anomère  $\alpha$  de 7. Par ailleurs le spectre de r.m.n. du <sup>13</sup>C rend compte de la présence des 6 groupes carbonyles entre 156,45 p.p.m. (CO uréthane) et 170,50 p.p.m. et ne permet pas de mettre en évidence un atome de carbone quaternaire du type orthoester entre 125 et 130 p.p.m.<sup>7</sup>. Par action contrôlée de l'ammoniac sur les composés 6 et 7, nous avons obtenu le même amide 8, parfaitement identifié. Les composés 6 et 7 ont été condensés avec l'ester benzylique de la glycine pour donner le même glucodipeptide 9.

L'obtention du glucodipeptide 9 montre bien qu'il est possible, à partir des intermédiaires 6 et 7, d'allonger la chaîne peptidique du côté C-terminal. La structure et la stéréochimie de 9 sont prouvées par le spectre de r.m.n. On note en effet la présence des deux signaux NH respectivement à 7,07 p.p.m. (triplet élargi,  $J$  5 Hz) pour celui de la glycine et à 5,92 p.p.m. (doublet élargi,  $J$  6,5 Hz) pour celui de la L-thréonine. Comme nous l'avions souligné<sup>1</sup>, la formation du peptide s'accompagne du déblindage relatif du proton H- $\alpha$  qui est présent dans le spectre sous la forme d'un quartet ( $J$  6,5 Hz,  $J$  3,0 Hz) à 4,53 p.p.m. Le proton H- $\beta$  est partiellement masqué par le signal complexe des deux protons H-6 et H-6' du résidu de D-glucose, mais sa présence est démontrée par la double irradiation réciproque du CH<sub>3</sub> et du H- $\beta$ . On note également la présence du groupe CH<sub>2</sub> de la glycine sous la forme d'un doublet à 4,06 p.p.m. ( $J$  5 Hz). La configuration  $\beta$  est montrée par la position et la

multiplicité de H-1 (4,69 p.p.m., doublet,  $J$  7,5 Hz) et de H-5 (multiplet de doublet à 3,80 p.p.m.), ainsi que ceux des protons H-2, H-3 et H-4 (voir Tableau I).

L'obtention du glycodipeptide **9** de deux façons différentes à partir d'une même unité de base « *O*-(glycosyl)aminoacide », montre que l'allongement de la chaîne peptidique côté C-terminal est réalisable. Ces produits ont été obtenus très purs et leur configuration anomérique est parfaitement conservée lors de l'étape principale de cette synthèse. Comme nous l'avions noté précédemment<sup>1</sup>, cet aspect est essentiel car si le contrôle de l'anoméries est relativement aisément au niveau du glycosyl-aminoacide ou glycodipeptide, il est probable que le problème sera beaucoup plus complexe au fur et à mesure que l'on allongera la chaîne peptidique ou glucidique.

#### PARTIE EXPÉRIMENTALE

Les spectres u.v. ont été réalisés sur un appareil Varian 635 D, pour des composés en solution dans l'éthanol à une concentration de 20 mg/litre. Les analyses ont été effectuées par le Service Central de Microanalyse du C.N.R.S., division de Montpellier. Les pouvoirs rotatoires ont été pris sur un micropolarimètre Roussel-Jouan. Les points de fusion (non corrigés) ont été pris en tube capillaire, avec l'appareil Tottoli. Les chromatographies ont été réalisées avec du gel de silice 60 (Merck, Darmstadt, Allemagne). Les chromatographies en couches minces sont faites sur plaques de gel de silice G (Merck) et révélées par vaporisation de  $H_2SO_4$  10% et chauffage à 110°. Pour les esters *o*-nitrophényliques, une première révélation est effectuée par les vapeurs d'ammoniac.

*Ester o-nitrophénylique de la N-(benzyloxycarbonyl)-L-thréonine (3).* — Une solution de *N*-(benzyloxycarbonyl)-*O*-(*tert*-butyl)-L-thréonine (**1**, 8,5 g) et d'*o*-nitrophénol (7,55 g) dans la pyridine anhydre (40 ml) est agitée et refroidie au bain de glace. Une solution de dicyclohexylcarbodiimide (5,1 g) dans la pyridine (20 ml) est ajoutée. Après 24 h à température ambiante, le précipité de *N,N*-dicyclohexylurée est filtré et rincé par le chloroforme (100 ml). Le filtrat est concentré sous vide à basse température. L'huile résiduelle obtenue est reprise dans l'éther (300 ml). L'extrait est lavé avec une solution d'acide citrique à 5% ( $2 \times 100$  ml), à l'eau ( $2 \times 100$  ml), avec une solution de NaOH 0,2M ( $5 \times 50$  ml), à l'eau jusqu'à neutralité, séché ( $Na_2SO_4$ ) et concentré sous vide. Le résidu huileux obtenu (11 g) contient encore de l'*o*-nitrophénol et est chromatographié sur gel de silice. Par élution au chloroforme, on récupère une huile légèrement jaune (9 g, **2**) pratiquement pure. Tous nos essais de purification ne nous ont pas permis de la cristalliser. Cette huile est dissoute dans l'acide trifluoracétique (15 ml). Après 5 h à la température ambiante le milieu réactionnel est concentré *in vacuo* à 30-40° et le résidu huileux obtenu est chromatographié sur gel de silice (200 g) en utilisant le chloroforme comme solvant d'élution. Le résidu obtenu (7 g) cristallisé dans éther-éther de pétrole donne **3** isolé sous forme d'aiguilles légèrement jaunes. On peut obtenir **3** de la même manière sans purifier **2**, p.f. 74-76°,  $[\alpha]_D^{20} -68,3^\circ$  (*c* 0,6, chloroforme); i.r.: 1775  $cm^{-1}$  (ester); u.v.:  $\lambda_{max}^{EtOH}$  343 (*ε* 1025), 258 nm (5030),  $\lambda_{max}^{NaOH}$  281 nm (*ε* 4500); r.m.n.: *cf.* partie théorique.

*Anal.* Calc. pour  $C_{18}H_{18}N_2O_7$  (374): C, 57,75; H, 4,81; N, 7,49. Trouvé: C, 58,08; H, 4,80; N, 7,38.

*Ester o-nitrophénylique de la N-(benzyloxycarbonyl)-3-O-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-L-thréonine (6).* — Une solution de **3** (1,39 g) dans l'acétonitrile anhydre (5 ml) est additionnée de cyanure de mercure sec (0,82 g). Le mélange réactionnel est agité et maintenu sous un courant d'azote. Le bromure de 2,3,4,6-tétra-O-acétyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyle solide (3,2 g) est ajouté par petites fractions pendant 1-2 h. Après 48 h le mélange réactionnel est concentré *in vacuo* à basse température et le résidu repris dans le chloroforme (200 ml). La phase organique est lavée avec une solution de KBr (2  $\times$  100 ml) et à l'eau (2  $\times$  100 ml), puis séchée ( $Na_2SO_4$ ) et concentrée *in vacuo* à basse température. L'huile jaune obtenue est chromatographiée sur gel de silice (200 g) en éluant avec acétate d'éthyle-benzène 2:3 (v/v). Les fractions contenant **6** sont réunies et concentrées pour donner **6** sous forme d'une huile jaune,  $[\alpha]_D^{20} - 22,3^\circ$  (*c* 2,4, chloroforme); i.r. 1775  $cm^{-1}$  (ester); u.v.:  $\lambda_{max}^{EtOH}$  258 nm (*ε* 1840),  $\lambda_{max}^{NaOH}$  286 nm (*ε* 1480); r.m.n.: cf. partie théorique.

*Anal.* Calc. pour  $C_{32}H_{36}N_2O_{16}$  (704): C, 54,55; H, 5,11; N, 3,98. Trouvé: C, 54,40; H, 5,06; N, 3,89.

*Ester pentachlorophénylique de la N-(benzyloxycarbonyl)-L-thréonine (5).* — Une solution de *N*-(benzyloxycarbonyl)-*O*-(*tert*-butyl)-L-thréonine (**1**, 6,6 g) et de pentachlorophénol (6,9 g) dans le dichlorométhane (70 ml) est agitée et refroidie au bain de glace. Une solution de dichlorométhane (20 ml) contenant la dicyclohexylcarbodi-imide (5 g) est ajoutée. Après 48 h à température ambiante, l'acide acétique (9 ml) est ajouté et après 15 min le produit de la réaction est filtré, le filtre rincé avec le dichlorométhane (100 ml) et le filtrat concentré *in vacuo* à basse température. Le résidu huileux est repris par de l'acétate d'éthyle (300 ml), lavé avec HCl M (2  $\times$  100 ml), à l'eau (2  $\times$  100 ml), au  $NaHCO_3$  10% (2  $\times$  100 ml), à l'eau jusqu'à neutralité, séché ( $MgSO_4$ ) et concentré *in vacuo*. Le résidu huileux rose pâle récupéré (12,9 g) est repris par l'éther (200 ml) et filtré. Cette huile est purifiée par chromatographie sur gel de silice (200 g) et donne **4** (9 g) qui est dissous dans l'acide trifluoracétique (20 ml). Après 3 h, le mélange réactionnel est concentré *in vacuo*. Le résidu semi-cristallin obtenu est repris dans l'éther (200 ml), lavé avec une solution de  $NaHCO_3$  M (2  $\times$  50 ml), à l'eau (2  $\times$  50 ml), avec une solution saturée de NaCl (1  $\times$  100 ml), séché et concentré *in vacuo*. Le résidu semi-cristallin (7 g) est recristallisé dans chloroforme-éther de pétrole pour donner **5**, p.f. 165-167°,  $[\alpha]_D^{20} - 28,7^\circ$  (*c* 0,88, méthanol); i.r.: 1758  $cm^{-1}$  (ester); u.v.:  $\lambda_{max}^{EtOH}$  325 nm (*ε* 1070),  $\lambda_{inflex}$  301 nm (644),  $\lambda_{inflex}^{EtOH}$  252 nm (4457),  $\lambda_{max}^{NaOH}$  324 nm (6257),  $\lambda_{inflex}^{NaOH}$  311 nm (4971),  $\lambda_{inflex}^{NaOH}$  256 nm (12515); r.m.n.: cf. partie théorique.

*Anal.* Calc. pour  $C_{18}H_{14}Cl_5NO_5$  (501,5): C, 43,07; H, 2,79; N, 2,79. Trouvé: C, 42,96; H, 2,86; N, 2,62.

*Ester pentachlorophénylique de la N-(benzyloxycarbonyl)-3-O-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl-D-glucopyranosyl)-L-thréonine (7).* — Une suspension de **5** (2,5 g) et de  $Hg(CN)_2$  (1,2 g) dans l'acétonitrile anhydre (20 ml) est agitée et maintenue sous courant de  $N_2$ . Le bromure de 2,3,4,6-tétra-O-acétyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyle (4 g) est ajouté par

petites fractions pendant 2-3 h. Le mélange réactionnel est chauffé à 30-40°. Après environ 18 h, il est concentré *in vacuo* et le résidu repris par le chloroforme (200 ml). La phase organique est lavée avec une solution M de NaHSO<sub>3</sub> (2 × 100 ml), à l'eau (2 × 50 ml), avec une solution M de KBr (2 × 50 ml), à l'eau (2 × 50 ml), séchée (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) et concentrée *in vacuo*. L'huile jaune obtenue (7,9 g) est chromatographiée sur gel de silice (200 g) et élue avec un mélange éther-éther de pétrole 9:1 (v/v). Deux produits purs sont obtenus, correspondant à 7 (800 mg) et son anomère  $\alpha$  (300 mg), l'anomère  $\alpha$  ayant un  $R_F$  légèrement supérieur. Les deux anomères sont recristallisés dans chloroforme-éther de pétrole pour donner:

Anomère  $\alpha$ , p.f. 195-198°,  $[\alpha]_D^{20} +49,2^\circ$  (c 1,2, chloroforme); r.m.n.: cf. partie théorique.

*Anal.* Calc. pour C<sub>32</sub>H<sub>32</sub>Cl<sub>5</sub>NO<sub>14</sub> (831,5): C, 46,18; H, 3,85; N, 1,68. Trouvé: C, 46,05; H, 4,13; N, 1,73.

Anomère  $\beta$  (7), p.f. 155-156°,  $[\alpha]_D^{20} -13,0^\circ$  (c 1,37, chloroforme); r.m.n.: cf. partie théorique.

*Anal.* Calc. pour C<sub>32</sub>H<sub>32</sub>Cl<sub>5</sub>NO<sub>14</sub> (831,5): C, 46,18; H, 3,85; N, 1,68. Trouvé: C, 46,03; H, 4,13; N, 1,69.

Les deux anomères sont stables dans une solution d'acétone contenant 10% de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,25M à température ambiante, ce qui est une preuve supplémentaire pour éliminer une structure orthoester<sup>8</sup>.

*Amide de la N-(benzyloxycarbonyl)-3-O-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-L-thréonine (8).* — L'obtention de ce produit 8 a été effectuée à partir de 6 et de 7 selon le mode opératoire suivant: Dans une solution éthérée de 6 ou de 7, on fait passer, pendant ~1 h, de l'ammoniac. Le mélange réactionnel est concentré *in vacuo* à basse température. Le résidu cristallisé obtenu est purifié par filtration sur gel de silice et élution avec acétate d'éthyle-benzène 4:1 (v/v). Le composé 8 est recristallisé dans éther-éther de pétrole, p.f. 137-140°,  $[\alpha]_D^{20} +13,6^\circ$  (c 0,94, chloroforme),  $[\alpha]_D^{20} -2,8^\circ$  (c 1,06, méthanol); r.m.n.: cf. partie théorique.

*Anal.* Calc. pour C<sub>26</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>13</sub> (582): C, 53,60; H, 5,84; N, 4,85. Trouvé: C, 53,70; H, 6,05; N, 4,68.

*Ester benzylique de la [N-(benzyloxycarbonyl)-3-O-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-L-thréonyl]glycine (9).* — Une solution de 6 (0,234 g) dans le tétrahydrofurane (10 ml) est refroidie au bain de glace et agitée. Une solution froide du sel d'acide *p*-toluènesulfonique de l'ester benzylique de la glycine (0,140 g) et de triéthylamine (0,06 ml) dans le tétrahydrofurane (10 ml) est additionnée et le mélange réactionnel est maintenu légèrement basique par adjonction de triéthylamine si nécessaire. Après 24 h, le mélange est concentré *in vacuo*, le résidu repris par l'éther (50 ml), et la solution lavée à l'eau (2 × 20 ml), séchée (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) et concentrée *in vacuo*. Le résidu jaune obtenu est chromatographié sur gel de silice (20 g) pour donner une huile incolore, pure (0,188 g) qui n'a pas cristallisé,  $[\alpha]_D^{20} +2,4^\circ$  (c 1,24, chloroforme); r.m.n.: cf. partie théorique.

*Anal.* Calc. pour C<sub>35</sub>H<sub>42</sub>N<sub>2</sub>O<sub>15</sub> (730): C, 57,53; H, 5,75; N, 3,84. Trouvé: C, 57,39; H, 5,68; N, 3,80.

À une solution de 7 (0,445 g) dans le dichlorométhane (10 ml) est ajoutée une solution froide du sel de l'acide *p*-toluènesulfonique de l'ester benzylique de la glycine (0,219 g) et de triéthylamine (0,1 ml) dans le dichlorométhane (10 ml). Après 48 h, la réaction est traitée comme précédemment et on isole 9 (0,209 g) identique au produit obtenu précédemment.

#### RÉFÉRENCES

- 1 J. MARTINEZ, A. PAVIA ET F. WINTERNITZ, *Carbohydr. Res.*, 50 (1976) 148-151.
- 2 M. BODANSZKY, K. W. FUNK ET M. L. FINK, *J. Org. Chem.*, 38 (1973) 3565-3570; M. BODANSZKY, M. KONDO, C. Y. LIN ET G. F. SIGLER, *J. Org. Chem.*, 39 (1974) 444-447.
- 3 A. KAPOOR, dans B. WEINSTEIN ET S. LANDE (Éds.), *Peptides: Chemistry and Biochemistry*, Marcel Dekker, New-York, 1970, pp. 17-32.
- 4 A. S. PERLIN, *Can. J. Chem.*, 41 (1963) 399-406.
- 5 R. U. LEMIEUX ET A. R. MORGAN, *Can. J. Chem.*, 43 (1965) 2199-2204.
- 6 W. E. DICK, D. WEISLEDER ET J. E. HODGE, *Carbohydr. Res.*, 23 (1972) 229-242.
- 7 J. B. STOTHERS, *Carbon-13 NMR Spectroscopy*, Academic Press, 1972, pp. 144-145.
- 8 V. A. DEREVITSKAYA, E. M. KLIMOV ET N. K. KOCHETKOV, *Carbohydr. Res.*, 7 (1968) 7-11.