



HAL
open science

Synthèse de mimes de fragments d'héparane sulfate pour les études de relation structure-activité sur un nouveau type d'inhibiteur d'entrée du VIH

Yunyu Lu

► **To cite this version:**

Yunyu Lu. Synthèse de mimes de fragments d'héparane sulfate pour les études de relation structure-activité sur un nouveau type d'inhibiteur d'entrée du VIH. Chimie organique. Université Paris Saclay (COmUE), 2016. Français. NNT : 2016SACLS553 . tel-01415629

HAL Id: tel-01415629

<https://theses.hal.science/tel-01415629v1>

Submitted on 13 Dec 2016

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

NNT : 2016SACLS553

THESE DE DOCTORAT
DE
L'UNIVERSITE PARIS-SACLAY
PREPAREE A
L'UNIVERSITE PARIS-SUD

ECOLE DOCTORALE N° 571

Sciences Chimiques : Molécules, Matériaux, Instrumentation et Biosystèmes

Au sein de l'Institut de Chimie Moléculaire et des Matériaux d'Orsay

DISCIPLINE : CHIMIE

Par

M. Yunyu LU

**SYNTHÈSE DE MIMES DE FRAGMENTS D'HÉPARANE SULFATE
POUR LES ÉTUDES DE RELATION STRUCTURE-ACTIVITÉ SUR
UN NOUVEAU TYPE D'INHIBITEUR D'ENTRÉE DU VIH**

Thèse présentée et soutenue à Orsay, le 4 octobre 2016 :

Composition du Jury :

M. Yongmin ZHANG	Professeur, Université Pierre et Marie Curie	Président
Mme Chrystel LOPIN-BON	Maître de Conférences, Université d'Orléans	Rapporteur
M. Yves QUENEAU	Directeur de Recherches, Université Claude Bernard Lyon 1	Rapporteur
M. Regis DANIEL	Directeur de Recherches, Université d'Évry Val-d'Essonne	Examineur
M. David BONNAFFÉ	Professeur, Université Paris-Saclay	Directeur de thèse
Mme Christine LE NARVOR	Chargée de recherche, Université Paris-Saclay	Co-encadrante de thèse



DÉDICACE

À mes chers parents, et à la femme de ma vie Lin

REMERCIEMENTS

*Soyons reconnaissants aux personnes qui nous donnent du bonheur ;
elles sont les charmants jardiniers par qui nos âmes sont fleuries.*

Marcel Proust

*Une âme délicate est gênée de savoir qu'on lui doit des remerciements,
une âme grossière, de savoir qu'elle en doit.*

Friedrich Nietzsche

Ce travail de thèse a été effectué au sein de l'équipe Glycosaminoglycanes et Diversité Moléculaire, du laboratoire Méthodologie, Synthèse & Molécules Thérapeutiques (MS&MT) à l'Université Paris-Sud (Université Paris-Saclay) sur le campus d'Orsay. Au terme de la rédaction de cette recherche, je suis convaincue que la thèse est loin d'être un travail solitaire. Et cette page fut sans aucun doute celle qui aura nécessité le plus d'efforts et d'attention de ma part, tant je tenais à remercier comme il se doit les personnes ayant participé de près ou de loin au bon déroulement de cette thèse.

Je tiens en premier lieu à adresser mes plus sincères remerciements à mon directeur de thèse, le Pr. David BONNAFFÉ, pour la confiance qu'il m'a accordée, un "Young Guy From China", en acceptant d'encadrer ce travail doctoral, pour la préparation des documents nécessaires par l'échange d'e-mails (quatre-vingt-deux, si je dois vous dire le nombre), et pour sa signature effectuée en face à face à l'hôtel près du Shanghai Institute of Organic Chemistry en Chine sur la lettre d'invitation. Je lui suis très reconnaissant de m'avoir fait bénéficier tout au long de ces quatre années de sa maîtrise remarquable de notre domaine, de sa rigueur intellectuelle, de son dynamisme, et de son goût pour l'art et la musique (Buzzcocks à la Cité de la musique et Kraftwerk à la Fondation Louis Vuitton). A l'issue de la rédaction de ce manuscrit qui constitua l'une des étapes les plus longues et douloureuses,

spécialement dans un autre pays, j'aimerais également le remercier pour toutes les heures qu'il a consacrées à la correction de cette thèse et au processus long et complexe pour la préparation des dossiers de réinscription, dérogation et soutenance de thèse quand j'étais aux Pays-Bas en post-doctorat. Qu'elle trouve ici l'expression de toute ma franche et profonde gratitude !

Je remercie ensuite tout particulièrement le Dr. Christine LE NARVOR pour avoir participé de façon significative au co-encadrement de ma thèse. Elle a dirigé et accompagné de très près, à vrai dire jour par jour, et avec beaucoup de patience au cours de ce travail doctoral. J'ai été extrêmement sensible à son soutien constant, sa confiance, ses encouragements sans faille, ses qualités humaines d'écoute et de compréhension, et ses précieux conseils scientifiques et personnels. Je n'oublie évidemment pas son aide lors de l'analyse HPLC et la correction de la partie expérimentale de cette thèse. Soyez assuré de mon attachement et de ma profonde gratitude.

Mes sincères remerciements vont également à chacun des membres du jury d'avoir accepté d'évaluer cette thèse et d'avoir contribué aux discussions lors de la soutenance : au Dr. Yongmin ZHANG (Université Pierre et Marie Curie), qui m'a fait l'honneur de présider mon jury de thèse, pour ses questions sur les mécanismes réactionnels et pour m'encourager l'usage du français ; au Dr. Chrystel LOPIN-BON (Université d'Orléans), pour avoir accepté de rapporter ces travaux et surtout pour les "coquilles" qu'elle a très-bien remarqué dans le manuscrit ; au Dr. Yves QUENEAU (Université Claude Bernard Lyon 1), qui a aussi accepté d'être rapporteur de cette thèse, pour ses conseils avisés sur les principes de la recherche scientifique, ainsi qu'au Dr. Regis DANIEL (Université d'Évry Val-d'Essonne), examinateur de cette thèse, pour ses questions sur la biologie.

Le remerciement suivant revient bien justement au Dr. Zhaoyu HU qui a contribué à mon initiation et à mon intégration au sein de l'équipe. Les résultats empiriques antérieurs à l'issue de ses travaux de recherche ont été prépondérants pour la bonne réussite de cette thèse. Elle est inévitablement rouge et piquante ta cuisine, mais super chouette !

Je souhaiterais exprimer ma grande gratitude à Mme. Maryline MACÉ pour les conversations plaisantes et intéressantes en bord de paillasse. Elle m'a énormément encouragée à parler et m'a beaucoup aidée à améliorer mon français. Donne-moi des nouvelles de petite Liz de temps en temps !

Je me dois aussi de remercier le Dr. Aurélien ALIX pour ces multiples discussions formelles et informelles reflétant parfaitement sa grande compétence scientifique, sa disponibilité, son optimisme, et son sens de l'humour. Ne t'arrête pas de fabriquer la liqueur de Génépi !

Je remercie infiniment tous les membres et ex-membres formidables de laboratoire, qu'ils soient permanents, thésards ou stagiaires, pour créer une ambiance conviviale et chaleureuse dans lequel ils m'ont permis de travailler.: Dr. Vladimir IVASHCHENKO (son talent et sa passion de la langue m'ont impressionné), Dr. Wenqing LIU (pour toute l'aide qu'elle m'a apportée à la vie quotidienne surtout pendant mes premiers mois en France), Dr. Lu TANG (dans tous les aspects de la vie en France et en Chine), Maxime MOCK-JOUBERT (c'est toi le prochain ! bon courage !), Junjun MA (je te passe la torche du "chinese squad" de David ! allez courage !), Dr. Stéphane LAVAL (tu joues encore au foot à Shanghai ?), Dr. Christian FERNANDEZ GARCIA, Jérôme HÉNAULT ("une bonne âme ayant une voiture" ! ouais encore une bière !), Valentine SEYER (sa sympathie), Thomas FAROUAULT (le beau garçon tres gentil !), Damien CABRERA, Aniss ZAOUI, Johan BOURDARIAS, et Kevin MURU (pour bien assister à ma soutenance). J'ai pris beaucoup de plaisir à travailler avec eux.

Mes sentiments de reconnaissance vont aussi à mes chers collègues qui, d'une quelconque manière, m'ont apporté leur amitié, leur attention, leurs encouragements, et leur appui. Dr. Sophie BEDEL (pour son sourire espiègle et sa bonne humeur contagieuse), Marc THILLOY (le grand maître de verre !), Florian AUBERT (sur la route du grand maître de verre...), Michelle JOUSSET (son enthousiasme et les photos prises lors de ma soutenance), Dr. Annie MALLERON, Pr. Cyrille KOUKLOVSKY, Dr. Nadine AUBRY-BARROCA, Dr. Bénédicte LEPOITTEVIN, Pr. Philippe ROGER, Dr. Boris VAUZEILLES, Jean DOMAS-FRANCESCONI, Ludovic COSTA, Shuhao GUO, Saldhyna DI AMORA, et tous ces personnes dans l'ombre dont la contribution à mon travail est non négligeable, notre secrétaire de l'Ecole doctorale Mme. Corinne RUELLO (pour sa sympathie et son aide grandement appréciée au processus de la preparation des dossiers de réinscription, dérogation et soutenance de thèse), Jean Pierre BALTAZE (Service de RMN), Amandine DOS SANTOS (Service de RMN).

Je remercie le China Scholarship Council (CSC) pour le financement de mes trois ans de thèse, et le CEPHYTEN pour un contrat de recherche dans les trois mois suivants.

Je suis très honoré à remercier le Pr. Hermen OVERKLEEF et le Dr. Mario VAN DER STELT pour m'avoir accueilli en post-doctorat à l'Université de Leyde (Universiteit Leiden) aux Pays-Bas même si je n'avais pas encore reçu mon diplôme, ainsi qu'au European Lead Factory pour financer mon post-doctorat depuis février 2016. Je tiens également à remercier le Dr. Dmitri FILIPPOV, le Dr. Jeroen CODEE, et le Pr. Gijs VAN DER MAREL pour les discussions sur la chimie.

Mention spéciale à Mme. Laurence PEYRAUD et Mme. Marie BONAIL, mes professeurs de français. Elles m'ont beaucoup aidé à avoir un meilleur niveau de la langue française.

Un immense merci à Mme. Catherine LIEUTAUD-REMBRY et M. Jacques LIEUTAUD, mes grands-parents français, pour les bons repas typiquement français des vendredis soir une fois par mois à la maison, pour les conversations très ouvertes et super amicales sur la table, et pour m'avoir invité et reçu chez eux pendant ces jours autour de la soutenance. Je vous embrasse bien fort !

Je renouvelle toute mon amitié et ma sympathie à mes amis Chinois pour avoir facilité et enjolivé la longue traversée de mes années de doctorat, loin du pays, de la famille, et les proches. Merci à Jijin WANG, Ji WANG, Li CHEN, Miao MA, Jun MA, Da CHEN, Weizhen FANG, Yang WAN, Xiaokai ZHANG, Jing YANG, Linhao SUN, Shun TANG, Su WANG, Na CHEN, Chenxiao QI, et Feng SHAO.

Je ne saurais terminer sans remercier de tout mon cœur à ma famille en Chine. Mon père, il ne s'exprime pas beaucoup devant moi et garde au fond de lui son sens de l'humour. Mais je le connais par cœur, un homme qui est très gentil et attentionné, comme si je l'avais fait. Ma mère, elle parle beaucoup trop, du matin au soir, tout au long de cette thèse. La seule chose que je peux faire est de l'écouter et dire "oui". Tiens ! Voilà un couple parfait. Merci pour leur soutien inconditionnel.

Mes derniers remerciements et non les moindres, s'adressent à la femme de ma vie Lin. Sans elle, cette réalisation n'aurait pas la même saveur. Les mots me manquent pour exprimer ce que je ressens. Merci d'enchanter ma réalité.

TABLE DES MATIÈRES

DÉDICACE	I
REMERCIEMENTS	III
TABLE DES MATIÈRES	VII
LISTE DES FIGURES	XIII
LISTE DES SCHÉMAS	XV
LISTE DES TABLEAUX	XIX
LISTE DES ABRÉVIATIONS	XXI
CHAPITRE I : INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
I.1. Généralités sur les héparanes sulfates et l'héparine	1
I.2. Mimes oligosaccharidiques sulfatés d'HS/HP	3
I.3. Inhibiteurs d'entrée du VIH.....	11
I.3.1. Le processus d'entrée du VIH	11
I.3.2. La gp120 : une cible thérapeutique pertinente.....	13
I.3.3. Nouvelle stratégie pour des inhibiteurs d'entrée du VIH.....	14
I.3.4. Optimisation de la partie d'HS de l'inhibiteur mCD4-HS12	17
I.4. Présentation du sujet de thèse.....	20
I.4.1. Stratégie hautement divergente pour la synthèse d'une chimiothèque d'oligomaltosides sulfatés.....	20
I.4.2. Rétrosynthèse envisagée pour la préparation de l'oligomaltoside	22
CHAPITRE II : SYNTHÈSE D'UNE BRIQUE MALTOTRIOSE OLIGOMÉRISABLE	23
II.1. Choix des groupements protecteurs orthogonaux et stratégie de fonctionnalisation du maltotriose.....	23
II.1.1. Choix des groupements protecteurs orthogonaux	23

II.1.2. Rétrosynthèse du maltotriose fonctionnalisé.....	24
II.2. Peracétylation et bromation de la position anomérique du maltotriose	25
II.3. Allylation de l'unité réductrice du maltotriose.....	25
II.3.1. Méthodes décrites d'allylation	25
II.3.2. Travaux précédents au labo	27
II.3.2.1. Premiers essais d'allylation	27
II.3.2.2. Utilisation de promoteur doux pour favoriser un mécanisme de type SN2	29
II.3.2.3. Utilisation d'un grand excès d'alcool allylique pour favoriser les processus bimoléculaires	31
II.3.3. Allylation de la position anomérique du maltotriose avec AgOTf.....	31
II.3.4. Conclusion.....	32
II.4. Desacétylation et introduction du 4 ^{III} ,6 ^{III} - <i>para</i> -méthoxybenzylidène et des TBDPS sans purification intermédiaire	32
II.4.1. Desacétylation	33
II.4.2. Introduction du groupement 4 ^{III} ,6 ^{III} - <i>para</i> -methoxybenzylidène	34
II.4.2.1. Conditions usuelles pour l'introduction du groupement 4 ^{III} ,6 ^{III} - <i>para</i> -methoxybenzylidène	34
II.4.2.2. Travaux précédents au laboratoire.....	35
II.4.2.2.1. Transacétalisation par le diméthylacétal du <i>p</i> -anisaldéhyde	35
II.4.2.2.2. Acétalisation par le <i>p</i> -anisaldéhyde.....	35
II.4.2.2.3. Optimisation de la réaction en présence de Yb(OTf) ₃	37
II.4.2.3. Installation du 4 ^{III} ,6 ^{III} - <i>para</i> -methoxybenzylidène avec Nd(OTf) ₃	39
II.4.2.3.1. Influence de la basse pression	39
II.4.2.3.2. Mise au point du traitement.....	40
II.4.2.3.3. Transformation des acétals mixtes au bon produit	41
II.4.2.4. Conclusion.....	42
II.4.3. Silylation sélective des hydroxyles primaires du 4 ^{III} ,6 ^{III} - <i>para</i> -methoxybenzylidène	42
II.4.3.1. Silylation des motifs D-glucopyranosides	42
II.4.3.2. Travaux précédents au labo	45

II.4.3.2.1. Premiers essais de silylation par TBDPSCl	45
II.4.3.2.2. Etude modèle sur l'α-D-glucopyranoside de méthyle	45
II.4.3.2.2.a. Optimisation de la quantité de réactifs et de la concentration.....	46
II.4.3.2.2.b. Optimisation du solvant et de la température de réaction.....	47
II.4.3.2.2.c. Influence de la nature de la base.....	48
II.4.3.2.2.d. Conclusion.....	49
II.4.3.2.3. Application des conditions optimisées sur le dérivé de maltotriose.....	49
II.4.3.3. Mise au point de la silylation	50
II.4.4. Trois étapes sans purification intermédiaire.....	51
II.5. Fin de synthèse du maltotriose fonctionnalisé	52
II.5.1. Benzylation des hydroxyles libres restants	52
II.5.2. Ouverture réductrice régiosélective du groupement <i>para</i> -méthoxybenzylidène	53
II.5.3. Acétylation ou benzoxylation de la position O-6 ^{III}	53
II.6. Scale-up et conclusion.....	54
CHAPITRE III : OLIGOMÉRISATION DE LA BRIQUE MALTOTRIOSIQUE FONCTIONNALISÉ ET ACCES AUX HEXA, NONA ET DODECASACCHARIDE PROTÉGÉS.....	57
III.1. Méthodes décrites de la glucosylation α(1→4)	57
III.1.1. Introduction.....	57
III.1.2. Glucosylation α(1→4) utilisant un donneur de β-D-glucosyle	58
III.1.3. Glucosylation α(1→4) contrôlées par la nature des groupements protecteurs.....	58
III.1.4. Influence des solvants éthers sur la stéréosélectivité des glucosylation α(1→4).....	61
III.1.5. Autres glucosylations α(1→4)	63
III.1.6. Conclusion	65
III.2. Glycosylations des donneurs en présence d'un groupement encombré TBDPS en O-6 ^I et O-6 ^{II}	65
III.2.1. Glycosylation en activant le donneur sous forme de TCA	66

III.2.1.1. Synthèse de l'accepteur acétylé et du donneur TCA	66
III.2.1.2. Glycosylation	67
III.2.1.1.3. Conclusion	69
III.2.2. Glycosylation en activant le donneur sous forme de PTFA.....	70
III.2.2.1. Synthèse de l'accepteur benzoylé et du donneur PTFA.....	70
III.2.2.2. Premier essai de la glycosylation.....	71
III.2.2.3. Essais avec différents promoteurs.....	73
III.2.2.4. Etude de la température	74
III.2.2.5. Essai de procédure inverse.....	74
III.2.2.6. Glycosylations en présence de tamis acide.....	75
III.2.2.7. Produits secondaires des glycosylations et problèmes liés aux groupements silyles.....	75
III.2.2.8. Conclusion	76
III.3. Glycosylations des différents donneurs avec différents groupements protecteurs	76
III.3.1. Choix des différents groupements protecteurs.....	76
III.3.2. Préparation des différents donneurs.....	78
III.3.3. Glycosylations avec les différents donneurs.....	78
III.3.3.1. Glycosylation avec le donneur possédant un TBDMS en position O-6	79
III.3.3.2. Effet de solvant sur les glycosylations en présence de TBDPS ou Bz en position O-6	80
III.3.3.3. Rendements des glycosylations dans l'Et ₂ O et le toluène avec les différents donneurs 114-117	81
III.3.3.4. Stéréosélectivités des glycosylations avec les différents donneurs 92 et 113-117	82
III.3.3.5. Conclusion	89
III.4. Mise au point et scale-up de la glycosylation avec le donneur 92	90
III.4.1. Faire varier le rapport donneur/accepteur	90
III.4.2. Scale-up deux fois plus concentré.....	92
III.5. Accès aux nona et dodecasaccharide protégés.....	92
III.6. Conclusion	93

CHAPITRE IV : DÉPROTECTIONS CHIMIOSÉLECTIVES ET

DIVERSIFICATION EN SULFOFORMES	97
IV.1. Stratégie générale	97
IV.2. Débenzylation chimiosélective	97
IV.3. Désilylation chimiosélective	100
IV.3.1. Désilylation en présence de TBAF.....	100
IV.3.2. Essais d'une séquence débenzylation-benzoylation-désilylation	102
IV.3.3. Désilylation en présence d'HF-pyridine	102
IV.4. Désilylation-débenzylation " <i>one-pot</i> "	104
IV.5. Sulfatation des oligomaltosides sélectivement déprotégés	105
IV.6. Déprotection du groupement protecteur des positions primaires restants.....	106
IV.7. Caractérisation préliminaire par spectrométrie de masse des composés 131,133, 135, 136, 146 et 148	108
IV.8. Conclusion.....	112
CHAPITRE V : CONCLUSION ET PERSPECTIVES	113
V.1. Conclusion.....	113
V.2. Perspectives	114
PARTIE EXPÉRIMENTALE	117
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	189

LISTE DES FIGURES

Figure I.1 : Unité répétitive des chaînes d'HS.....	1
Figure I.2 : Le fragment pentasaccharidique d'HP et son mime.....	4
Figure I.3 : Des mimes d'HP à base de maltose.....	5
Figure I.4 : Une β -cyclodextrine sulfatée possédant une activité anti-VIH.....	6
Figure I.5 : Synthèse du mime d'HP PI-88	6
Figure I.6 : Des analogues synthétiques du PI-88	7
Figure I.7 : Conjugués lipophiles possédant des activités anti-VIH sur des souches CCR5 et CCR5/CXCR4 dual-tropique.....	8
Figure I.8 : Comparaison de taille entre un motif tetrasaccharidique d'HP et un peptide sulfaté.....	8
Figure I.9 : Les constantes de dissociation des mimes peptidiques et des protéines reconnaissant l'HP, mesurées par SPR.....	9
Figure I.10 : Cycle de réplication du VIH.....	10
Figure I.11 : Processus d'entrée du VIH.....	12
Figure I.12 : L'étape initiale d'entrée du VIH : la fixation du CD4 et CR à la gp120 et exposition du site CD4i.....	13
Figure I.13 : Structure de BSM-806 et les dérivés de l'acide bétulinique R	14
Figure I.14 : Les chaînes d'HS immobilisent le VIH sur la surface cellulaire.....	15
Figure I.15 : L'affinité de la gp120 pour les chaînes d'HS augmente en présence de sCD4.....	15
Figure I.16 : Nouvel inhibiteur d'entrée du VIH : mCD4-HS12L.....	16
Figure I.17 : Partie polyanionique de mCD4-HS12Bzl et mCD4-HS4Bzl.....	17
Figure I.18 : une simplification de la partie poly anionique par une mines peptidique d'HS.....	19

Figure II.1 : Choix des groupements protecteurs pour la brique maltotriose oligomérisable 3.....	24
Figure II.2 : Produits secondaires obtenus pendant la réaction d'allylation.....	28
Figure II.3 : Activation de la nucléophilie de O-2 dans les α -D-glucopyranosides.....	44
Figure II.4 : Liaisons H sur le produit 9	44
Figure III.1 : Produit secondaire 91 obtenu par réarrangement du donneur TCA.....	69
Figure III.2 : Nouveau donneur PTFA 92	70
Figure III.3 : Produits secondaires du glycosylation de l'accepteur 93 par le donneur 92	75
Figure III.4 : La glycosylation de l'accepteur 93 par le donneur 112 conduit au produit 1,6-anhydro 124	80
Figure III.5 : La glycosylation de l'accepteur 93 par le donneur 113 conduit au produit glycal 125	80
Figure III.6 : Chromatogramme HPLC pour le mélange d'hexasaccharide 123	84
Figure III.7 : Spectres RMN ^1H des mélanges des anomères 123	84
Figure III.8 : Spectre HSQC de l'hexasaccharide 123α	86
Figure III.9 : Spectre HSQC d'un mélange de l'anomère 123 α/β 20/80.....	86
Figure III.10 : Spectres RMN ^1H des hexasaccharides 96 , 120 et 122	87
Figure III.11 : Spectres RMN ^1H des mélanges des anomères 121 dans le cas de l' Et_2O ...88	88
Figure III.12 : Spectres RMN ^1H des mélanges des anomères 121 dans le cas du toluène.88	88
Figure III.13 : Spectres RMN ^1H des mélanges des anomères 119	89
Figure IV.1 : Spectres de masse (ESI-TOF, mode négatif) de l'hexasaccharide disulfaté 131	109
Figure IV.2 : Spectres de masse (ESI-TOF, mode négatif) de l'hexasaccharide tetrasulfaté 133	109
Figure IV.3 : Spectres de masse (ESI-TOF, mode négatif) de l'hexasaccharide hexasulfaté 135	110
Figure IV.4 : Spectres de masse (ESI-TOF, mode négatif) du nonasaccharide trisulfaté 146	110
Figure IV.5 : Spectres de masse (ESI-TOF, mode négatif) du nonasaccharide hexasulfaté 148	111
Figure IV.6 : Spectres de masse (ESI-TOF, mode négatif) du nonasaccharide nonasulfaté 136	111

LISTE DES SCHÉMAS

Schéma I.1 : Stratégie hautement divergente pour la synthèse d'une chimiothèque de sulfoformes d'oligomaltosides.....	21
Schéma I.2 : Rétrosynthèse des oligomaltosides S.....	22
Schéma II.1 : Rétrosynthèse du maltotriose fonctionnalisé.....	24
Schéma II.2 : Synthèse du bromure de glycoside 12	25
Schéma II.3 : Alkylation d'un halogénure de glycoside.....	26
Schéma II.4 : Alkylation de maltotriose dans la littérature.....	26
Schéma II.5 : Premières conditions choisies pour l'alkylation du produit 12	27
Schéma II.6 : Exemple de désacétylation en O-2 pendant une réaction d'alkylation.....	28
Schéma II.7 : Un mécanisme plausible pour la désacétylation en O-2 pendant l'alkylation.....	29
Schéma II.8 : Alkylation du bromure 12 en présence d' InCl_3	30
Schéma II.9 : Mécanisme proposé pour la formation de l'anomère α	30
Schéma II.10 : Alkylation du produit 12 en présence d' AgOTf et de 52 éq. d' AlOH	32
Schéma II.11 : Préparation du produit 8 à partir du produit 15 sans purification intermédiaire.....	33
Schéma II.12 : Synthèse du produit 10 à partir du produit 15	34
Schéma II.13 : Acétalisation et transacétalysation pour l'introduction d'un <i>para</i> -methoxybenzylidène.....	34
Schéma II.14 : Introduction d'un benzylidène sur l'extrémité non réductrice d'oligomaltosides.....	35
Schéma II.15 : Introduction du groupement <i>p</i> -methoxybenzylidène par transacétalisation.....	35
Schéma II.16 : Acétalisation du produit 10 par le <i>p</i> -anisaldéhyde.....	36

Schéma II.17 : Optimisation de la réaction en présence de Yb(OTf) ₃	38
Schéma II.18 : Installation du 4 ^{III} ,6 ^{III} - <i>para</i> -methoxybenzylidène avec Nd(OTf) ₃	40
Schéma II.19 : Transformation des acétals mixtes au bon produit.....	41
Schéma II.20 : Quelques exemples de silylation d'hydroxyles primaires en série D- <i>gluco</i>	43
Schéma II.21 : Premiers essais de silylation par TBDPSCl sur le produit 9	45
Schéma II.22 : La silylation d'hydroxyle primaire sur l' α -méthylglycoside 44 par TBDPSCl.....	45
Schéma II.23 : Silylations du dérivé de matotrioside 9 dans des conditions optimisées par les études modèles.....	49
Schéma II.24 : Silylation sélective des hydroxyles primaires par TBDPSCl sur le produit 9	50
Schéma II.25 : Desacétylation, acétalisation et silylation sans purification intermédiaire.....	51
Schéma II.26 : Recyclage des produits secondaires dans les trois étapes.....	52
Schéma II.27 : Benzoylation du produit 8	53
Schéma II.28 : Ouverture réductrice du groupement <i>p</i> -méthoxybenzylidène.....	53
Schéma II.29 : Acétylation ou benzoxylation de la position O-6 ^{III} du maltotrioside 49	54
Schéma II.30 : Synthèse du maltotriose fonctionnalisé à grande échelle.....	55
Schéma III.1 : Glucosylation 1,4- α à l'aide d'un donneur de β -glucosyle.....	58
Schéma III.2 : Les effets du groupement en O-6 du donneur.....	59
Schéma III.3 : Effet du groupement en O-6 du donneur sur la sélectivité de réactions de glucosylation.....	60
Schéma III.4 : Effet des groupements acétate en O-3 et O-6 d'un donneur de glucosyle...61	61
Schéma III.5 : Glucosylation $\alpha(1\rightarrow4)$ dans CH ₂ Cl ₂ /Et ₂ O.....	62
Schéma III.6 : Glycosylation $\alpha(1\rightarrow4)$ avec un donneur 2-azido-2-désoxy de configuration D- <i>gluco</i>	62
Schéma III.7 : Glucosylation α -1,4 intramoléculaire utilisant une accroche entre les positions O-2 et O-3.....	63
Schéma III.8 : Application de la glucosylation intramoléculaire à la synthèse d'un antigène bactérien.....	64
Schéma III.9 : Glucosylation α -1,4 intramoléculaire utilisant une accroche entre les positions O-6.....	64

Schéma III.10 : Groupement participant de type S-auxiliaire en O-2.....	65
Schéma III.11 : Une application du groupement S-auxiliaire.....	65
Schéma III.12 : Glycosylation en activant le donneur 84 sous forme de TCA.....	66
Schéma III.13 : Préparation de l'accepteur 87 et du donneur 89	67
Schéma III.14 : Glycosylation de l'accepteur 87 par le donneur 89	68
Schéma III.15 : Préparation de l'accepteur 93 et du donneur 92	71
Schéma III.16 : Glycosylation de l'accepteur 93 par le donneur 92	72
Schéma III.17 : Préparation du donneur en présence de différents groupements en position O-6.....	77
Schéma III.18 : Glycosylations de l'accepteur 93 par les donneurs 112-117	78
Schéma III.19 : Zemplén déacétylation de l'hexasaccharide 119-122 en vue d'analyses HPLC.....	83
Schéma III.20 : Mise au point de la glycosylation du donneur 92	91
Schéma III.21 : Accès aux nona et dodecasaccharide protégés.....	93
Schéma III.22 : Accès aux hexa, nona et dodecasaccharide protégés.....	95
Schéma IV.1 : Vers la préparation d'une chimiothèque de sulfoformes d'oligomaltosides.....	98
Schéma IV.2 : Débenzoylation chimiosélective à l'aide de MeONa.....	99
Schéma IV.3 : Désilylation chimiosélective en présence de TBAF.....	101
Schéma IV.4 : Essais d'une séquence débenzoylation-benzoylation-désilylation.....	103
Schéma IV.5 : Désilylation par méthode de HF-pyridine.....	104
Schéma IV.6 : Désilylation-débenzoylation " <i>one-pot</i> ".....	105
Schéma IV.7 : Sulfatation des oligomaltosides sélectivement déprotégés.....	106
Schéma IV.8 : Désilylation de l'hexasaccharide sulfaté 145	107
Schéma IV.9 : Débenzoylation de l'hexasaccharide sulfaté 147	107
Schéma IV.10 : Préparation des oligomaltosides sulfatés.....	112
Schéma V.1 : Vers une chimiothèque de sulfoformes des oligomaltosides.....	115

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I.1 : Les peptides sulfatés testés par l'équipe de Kiick.....	9
Tableau I.2 : Activité antivirale des premiers mCD4-polyanions.....	18
Tableau II.1 : Résultats des premières allylations du bromure 12	27
Tableau II.2 : Résultats des acétalisations du produit 10 en présence des différents catalyseurs.....	37
Tableau II.3 : Résultats des acétalisations en présence de Yb(OTf) ₃ dans différentes conditions.....	38
Tableau II.4 : Optimisation des quantités de réactifs et de la concentration.....	46
Tableau II.5 : Influence de la nature du solvant et de la température de réaction.....	47
Tableau II.6 : Résultats des silylations en présence d'autres bases.....	48
Tableau III.1 : Glycosylation de l'accepteur 87 par le donneur 89 dans différents solvants.....	69
Tableau III.2 : Glycosylations de l'accepteur 93 par 1.3 éq. de donneur 92 dans CH ₂ Cl ₂ ..	73
Tableau III.3 : Glycosylations de l'accepteur 93 par les donneurs 92 et 112-117	79
Tableau III.4 : Glycosylations de l'accepteur 93 par le donneur 92 dans le toluène.....	91
Tableau IV.1 : Débenzoylation chimiosélective à l'aide de MeONa.....	99
Tableau IV.2 : Désilylation chimiosélective en présence de TBAF.....	101

LISTE DES ABRÉVIATIONS

A	Ac	Acétyle
	Allyl	allyle
	aq.	aqueuse
	arom	aromatique
	AT	antithrombine
	AZT	azidothymidine
B	Bn	benzyle
	br	broad
	Bz	benzoyle
C	CCM	chromatographie sur couche mince
	CD4i	CD4 induit
	COD	cycloocta-1,5-diène
	COSY	spectroscopie de corrélation
	CPME	cyclopentylméthylether
	CRS-héparine	carbonyle réduit héparine sulfatée
D	d	doublet
	δ	déplacement chimique
	dd	doublet de doublet
	ddd	doublet de doublet de doublet
	dddd	doublet de doublet de doublet de doublet

	DMAP	4-diméthylaminopyridine
	DMF	<i>N,N</i> -diméthylformamide
	DMSO	diméthylsulfoxyde
	dt	doublet de triplet
E	éq.	équivalent(s)
	ED ₅₀	dose efficace médiane
	Et	éthyle
	ESI	ionisation par électronébulisation
	<i>et al.</i>	<i>et alii</i> (et les autres)
F	FGF	facteur de croissance des fibroblastes
G	GAG	glycosaminoglycane
	GlcUA	acide D-glucuronique
	gp	glycoprotéine
	GPR	récepteur couplé à la protéine G
H	HIP	plaquette induite par l'héparine
	HMBC	corrélation hétéronucléaire multiple-bond
	HP	héparine
	HPLC	chromatographie en phase liquide haute performance
	HRMS	spectrométrie de masse haute résolution
	HS	sulfate d'héparane
	HSQC	corrélation hétéronucléaire simple quantum
I	IdoUA	acide L-iduronique
	<i>iPr</i>	<i>iso</i> -propyle
J	<i>J</i>	constante de couplage
M	m	multiplet
	M	molL ⁻¹
	mCD4	mini CD4
	Me	méthyle

	MPER	région externe membrane-proximale
	<i>m/z</i>	rapport masse/charge
P	PE	éther de pétrole
	PF	facteur plaquettaire
	Ph	phényle
	Piv	pivaloyle
	<i>p</i> MB	<i>para</i> -méthoxybenzyle
	PMBC	cellule mononucléaire du sang périphérique
	<i>p</i> MeOPh	<i>para</i> -méthoxybenzylidène
	<i>p</i> NO ₂ Bz	<i>para</i> -nitrobenzoyle
	ppm	partie par million
	PTFA	<i>N</i> -phényltrifluoroacétimide
	<i>p</i> TsOH	acide <i>para</i> -toluènesulfonique
R	R _f	rapport frontal
	RMN	résonance magnétique nucléaire
	RP-C18	Phase inverse C18
S	s	singulet
	sCD4	CD4 soluble
	SIDA	syndrome d'immunodéficience acquise
	SPR	résonance plasmonique de surface
T	t	triplet
	t.a.	température ambiante
	TBAF	fluorure de <i>tétra-n</i> -butylammonium
	TBAI	iodure de <i>tétra-n</i> -butylammonium
	TBDMS	<i>tert</i> -butyldiméthylsilyle
	TBDPS	<i>tert</i> -butyldiphénylsilyle
	<i>t</i> Bu	<i>tert</i> -butyle
	TCA	trichloacétimide

	Tf	triflyle
	TFA	acide trifluoroacétique
	THF	tétrahydrofurane
	TMS	triméthylsilyle
	TOCSY	spectroscopie de corrélation totale
U	UV	ultraviolet
V	VEGF	facteur de croissance de l'endothélium vasculaire
	VIH	virus de l'immunodéficience humaine

CHAPITRE I : INTRODUCTION GÉNÉRALE

I.1. Généralités sur les héparanes sulfates et l'héparine

L'Héparane Sulfate (HS) et l'Héparine (HP) sont des polysaccharides linéaires qui appartiennent à la famille des Glycosaminoglycane (GAG). Ils sont constitués par une unité répétitive d'un disaccharide qui comporte un acide uronique, α -L-iduronique (α -L-IdoUA) ou β -D-glucuronique (β -D-GlcUA), lié en position C-4 d'une α -D-glucosamine (Figure I.1).

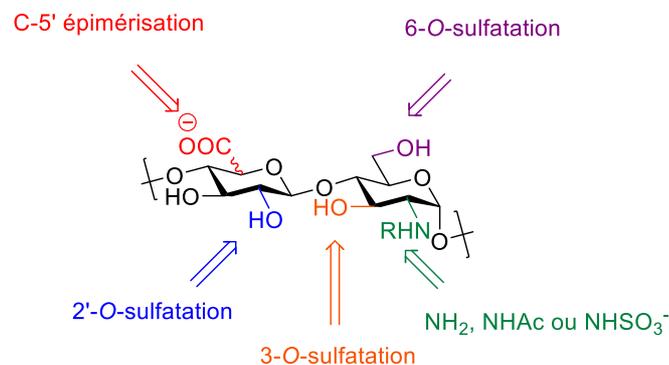


Figure I.1 : Unité répétitive des chaînes d'HS

Les disaccharides de répétition sont liés par une liaison α -1,4.¹ La fonction amine du résidu glucosamine peut être N-acétylée, N-sulfatée ou plus rarement libre. Les hydroxyles en positions C-3, C-6 de l' α -D-glucosamine et C-2 de l'acide uronique peuvent être libres ou

[1] B. Casu, in *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, Vol. Volume 43 (Eds.: R. S. Tipson, H. Derek), Academic Press, 1985, pp. 51-134.

sulfatés. Toutes ces modifications font que les HS/HP sont des polysaccharides hautement hétérogènes.

L'HS et l'HP peuvent se différencier par leur taux de sulfatation et la richesse en acide L-iduronique, mais surtout par leur lieu de production et de localisation. Les chaînes d'HP plus sulfatées et plus riches en acide L-iduronique sont produites exclusivement par les mastocytes et stockées dans leurs granules intracellulaires. Celles d'HS sont présentes en proportions variables à la surface des cellules des mammifères ainsi que dans la matrice extracellulaire.

La haute charge négative et les diversités structurales de ces polymères leur permettent de se lier, souvent de manière spécifique, à de nombreuses protéines, y compris des récepteurs, ce qui est à l'origine de leurs nombreuses activités biologiques.²

Les HS/HP peuvent être obtenus par extraction des tissus animaux. En 1916, l'HP fut extrait pour la première fois du foie de chien sous le nom d'"héparphosphatide" et déjà caractérisée pour son activité anticoagulante et antithrombotique par un jeune étudiant en médecine Jay MacLean. Il a fallu attendre les années 1930 pour que Brinkhous et ses collègues démontrent que l'héparine était un anticoagulant indirect, nécessitant un cofacteur que l'on appela antithrombine III (AT-III). Depuis plus de 80 ans, l'HP, isolée des mastocytes de la muqueuse d'intestin de porc, a été utilisée comme un médicament anticoagulant.

Mais l'utilisation d'HP naturelle est associée à des effets secondaires comme des hémorragies³ ou des thrombocytopénies.⁴ De plus, la pureté de l'HP provenant d'animaux est difficile à contrôler. L'HP provenant de bovin n'est plus commercialisée à cause de possibles contaminations virales et des problèmes liés aux prions. On se rappelle aussi qu'en 2008, de l'HP produite en Chine avait été contaminée par du Chondroïtine Sulfate hypersulfaté chimiquement. Les analyses pratiquées à l'époque ne permettaient pas de détecter ce produit toxique, ce qui avait causé des centaines de morts dans le monde.⁵ En outre, le fort pouvoir anticoagulant des HS et HP naturels ne permet pas de les utiliser

[2] R. Lever, C. P. Page, *Nat. Rev. Drug Discov.* **2002**, *1*, 140-148.

[3] V. V. Kakkar, S. Kakkar, R. M. Sanderson, C. E. Peers, *Pathophysiol. Haemost. Thromb.* **1986**, *16(suppl 2)*, 19-24.

[4] J. Fareed, D. A. Hoppensteadt, R. L. Bick, *Semin. Thromb. Hemost.* **2000**, *26*, 5-22.

[5] H. Liu, Z. Zhang, R. J. Linhardt, *Nat. Prod. Rep.* **2009**, *26*, 313-321.

comme des drogues anti-inflammatoires, anti-cancéreuses ou antivirales.

C'est pourquoi la préparation de fragments d'HS/HP et d'analogues avec une structure définie, via des méthodes chimiques et/ou des méthodes enzymatiques (ou chimioenzymatiques), permet d'éviter les contaminations, d'obtenir plus de spécificité de l'effet biologique et diminuer les effets secondaires.² Dans ce but, des fragments d'HS ou d'HP et des mimes sont synthétisés pour des différentes utilisations thérapeutiques. En effet, des produits purs et parfaitement caractérisés peuvent être obtenus par ces méthodes.

I.2. Mimes oligosaccharidiques sulfatés d'HS/HP

Un exemple emblématique de l'utilité de la synthèse chimique de fragment d'HS/HP est le fondaparinux **A** (Figure I.2), préparé grâce aux efforts conjoints des équipes de P. Sinaÿ, de Sanofi-Synthélabo et d'Organon et capable d'activer spécifiquement l'AT-III.^{6,7} Ce pentasaccharide a obtenu, sous le nom d'Arixtra[®] son autorisation de mise sur le marché en 2001 comme anticoagulant. Par rapport à l'HP naturel extrait, Arixtra n'a pas autant d'effets secondaires et il est 50% plus efficace pour éviter la thrombose. La synthèse de ce pentasaccharide a été effectuée plusieurs fois en utilisant des voies différentes.⁸ Les synthèses réalisées sont longues et comportent des jeux de protection/déprotection ainsi que des étapes dont il faut contrôler la stéréosélectivité.

Pour essayer de simplifier la synthèse, un autre pentasaccharide **B** (idraparinux), mime du composé **A**, a été préparé par van Boeckel et ses collègues.^{9,10} Dans ce composé, les groupements *N*-sulfates sont remplacés par les groupements *O*-sulfates et les positions non sulfatées sont méthylées. Ce composé est beaucoup plus simple à préparer et possède une activité anticoagulante (anti facteur Xa) similaire au fondaparinux. Cela a prouvé que le

[6] P. Sinaÿ, J.-C. Jacquinet, M. Petitou, P. Duchaussoy, I. Lederman, J. Choay, G. Torri, *Carbohydr. Res.* **1984**, *132*, C5-C9.

[7] M. Petitou, P. Duchaussoy, I. Lederman, J. Choay, P. Sinaÿ, J.-C. Jacquinet, G. Torri, *Carbohydr. Res.* **1986**, *147*, 221-236.

[8] C. A. A. van Boeckel, M. Petitou, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 1671-1690.

[9] M. Petitou, C. A. A. van Boeckel, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 3118-3133.

[10] P. Westerduin, J. E. M. Basten, M. A. Broekhoven, V. de Kimpe, W. H. A. Kuijpers, C. A. A. van Boeckel, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 331-333.

remplacement du groupement *N*-sulfate par le groupement *O*-sulfate est une stratégie envisageable pour la synthèse de mimes d'HS/HP.

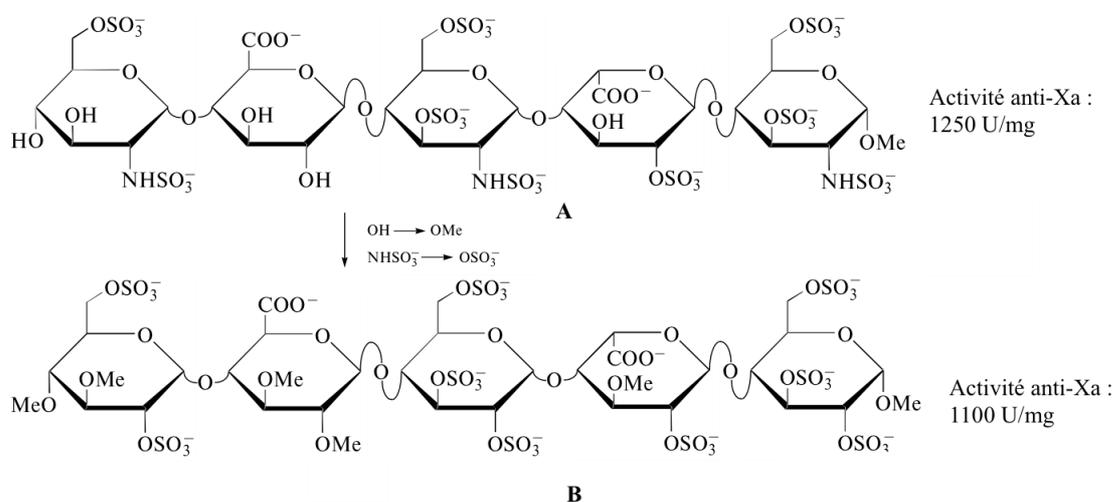


Figure I.2 : Le fragment pentasaccharidique d'HP et son mime

L'équipe de Wessel a montré que la réduction des fonctions carboxylates de l'héparine suivie par la sulfatation des fonctions hydroxyles primaires, permettait d'obtenir le "CRS-héparine" (Carboxyl Reduced Sulfated héparine). Cette modification chimique du polymère naturel abolit son activité anticoagulante alors que son activité antiproliférative est conservée.¹¹ En croisant ces résultats avec ceux obtenus par les équipes de van Boeckel et Petitou, ils ont décidé de synthétiser l'oligosaccharide **C** (Figure I.3) dans lequel le disaccharide répétitif de l'HP est remplacé par du maltose.¹² Ce composé possède une activité antiproliférative comparable à l'héparine mais avec une faible activité anticoagulante, ce qui est important pour des applications thérapeutiques.

Les oligosaccharides **D**, **E**, **F** (Figure I.3) ont aussi été synthétisés.¹³ Ils ont des structures relativement proches de celle du composé **C**, mais avec une unité α -trehalose à l'extrémité réductrice. Tous ces oligosaccharides ont présenté une activité antiproliférative comparable à héparine mais avec une faible activité anticoagulante.¹⁴

Les résultats décrits ci-dessus semblent montrer que le paramètre le plus important dans les

[11] H. P. Wessel, M. Hosang, T. B. Tschopp, B.-J. Weimann, *Carbohydr. Res.* **1990**, *204*, 131-139.

[12] H. P. Wessel, R. Minder, G. Englert, *J. Carbohydr. Chem.* **1995**, *14*, 1101-1115.

[13] H. P. Wessel, J. Niggemann, *J. Carbohydr. Chem.* **1995**, *14*, 1089-1100.

[14] H. P. Wessel, T. B. Tschopp, M. Hosang, N. Iberg, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 1419-1422.

interactions HS/HP-protéines est probablement les arrangements des charges négatives. De plus, les carboxylates et les *N*-sulfates peuvent parfois être remplacé par des *O*-sulfates.

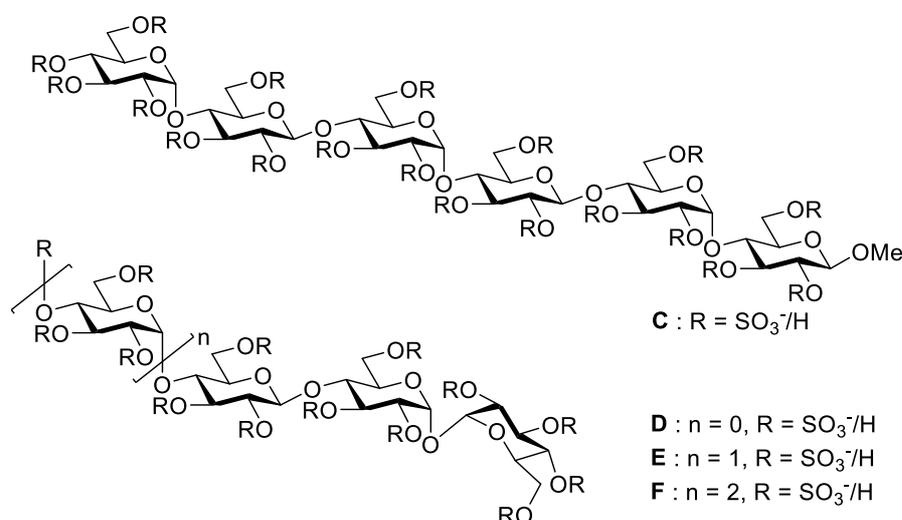


Figure I.3 : Des mimes d'HP à base de maltose

A partir ce point de vue, différents mimes oligosaccharidique d'HS ont été développés : cyclodextrine sulfatée, oligomannoside sulfaté, oligomaltoside sulfaté, etc. Quelques exemples seront présentés ci-dessous :

L'équipe de Kunita a synthétisé une série des dérivés de cyclodextrine sulfatée pour remplacer des composés polyanioniques comme le sulfate de dextran ou de pentosane (HOE/BAY-946), connus pour avoir une activité anti-VIH *in vitro*.¹⁵ En effet, l'utilisation thérapeutique de ces polymères est limitée car ils présentent une mauvaise absorption orale, en raison de leur grande taille moléculaire et de leur hydrophilie, possèdent une courte demi-vie dans l'organisme, car ils sont rapidement métabolisés par les hydrolases présentes *in vivo*, et ont une activité anti-coagulante résiduelle. Cela a montré l'importance de rechercher des drogues potentielles parmi des molécules plus petites et de structure définie comme par exemple la cyclodextrine sulfatée. Parmi les dérivés de cyclodextrines sulfatées synthétisés par l'équipe de Kunita, la β -cyclodextrine sulfatée **G** (Figure I.4) a présenté la meilleure activité anti-VIH et la plus faible activité anticoagulante.

[15] T. Moriya, K. Saito, H. Kurita, K. Matsumoto, T. Otake, H. Mori, M. Morimoto, N. Ueba, N. Kunita, *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 1674-1677.

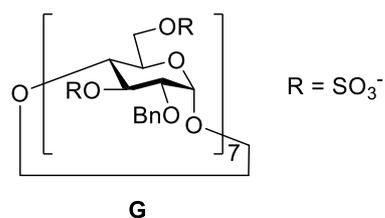


Figure I.4 : Une β -cyclodextrine sulfatée possédant une activité anti-VIH

Le **PI-88** (Muparfostat[®]) est présenté comme un mime oligomannosidique d'HS/HP, C'est en fait un mélange d'oligomannosides sulfatés, qui possède des propriétés antitumorales et anti métastatiques, de part sa capacité à inhiber l'activité des héparanases, des sulfatases et des facteurs de croissance FGF-1, FGF-2 et VEGF.¹⁶ Ce produit, actuellement en phase III d'essais cliniques,¹⁷ a été obtenu dans l'équipe de Ferro par une sulfatation incomplète de fractions d'oligosaccharides phosphorylés obtenues par hydrolyse ménagée de phosphomannanes extraits de cultures de *Pichia holstii* (Figure I.5).¹⁸

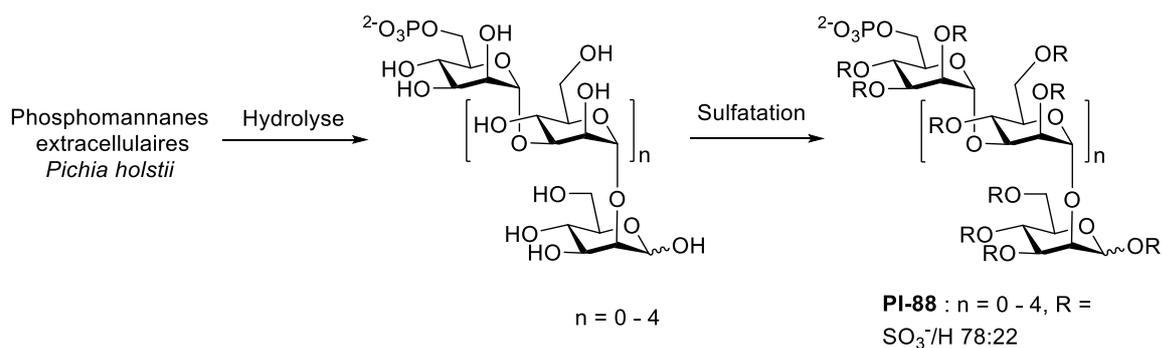


Figure I.5 : Synthèse du mime d'HP **PI-88**

Comme c'est un mélange de produits difficilement séparables par chromatographie, l'étude structure-activité est limitée. Pour contourner ce problème, les oligomannosides sulfatés **H-L** ont été synthétisés (Figure I.6). Dans ces composés, le groupement phosphate présent dans le **PI-88** a été remplacé par un groupement sulfate sans que cela diminue leur activité anti-tumorale. Parmi les produits, le pentasaccharide **K** s'est avéré être le meilleur inhibiteur compétitif de l'héparanase par rapport à l'HP.¹⁹

[16] S. Cochran, C. Li, J. K. Fairweather, W. C. Kett, D. R. Coombe, V. Ferro, *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 4601-4608.

[17] <https://www.evaluatepharma.com/Universal/View.aspx?type=Story&id=248425>.

[18] V. Ferro, C. Li, K. Fewings, M. C. Palermo, R. J. Linhardt, T. Toida, *Carbohydr. Res.* **2002**, *337*, 139-146.

[19] J. K. Fairweather, E. Hammond, K. D. Johnstone, V. Ferro, *Biorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 699-709.

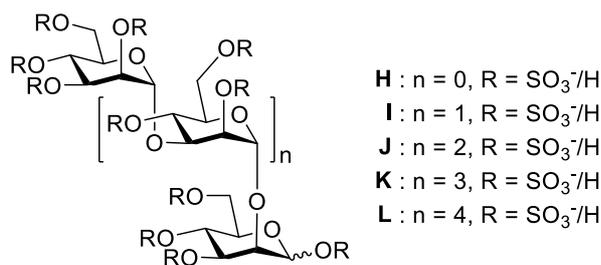


Figure I.6 : Des analogues synthétiques du **PI-88**

Plus récemment, ces oligomannosides sulfatés ainsi que des maltotri et tétraoses sulfatés ont servi de base pour fabriquer une chimiothèque de dérivés lipophiles, dans le but de développer des microbicides anti-VIH capables d'empêcher l'interaction du virus avec les HS de la muqueuse. Quarante-sept produits ont été testés pour leurs activités anti-VIH. Les produits **M-P** (Figure I.7) se sont montrés actifs contre des isolats cliniques de souches virales CCR5 et CCR5/CXCR4 dual-tropique.²⁰ Parmi les quatre produits, le conjugué lipophile contenant un maltotétraose sulfaté **N (PG545)**, présente l'indice de sélectivité (SI = CC₅₀/IC₅₀ = 130-160) le plus élevé avec une valeur IC₅₀ de 1.9 à 2.4 μM sur des souches CCR5 et CCR5/CXCR4 dual-tropique).²¹

A côté des composés polyanioniques comportant une structure oligosaccharidique, d'autres composés linéaires polyanioniques peuvent aussi servir comme mimes d'HS/HP. Les peptides sont des substances naturelles et peuvent facilement être synthétisés de façon à avoir une longueur de chaîne suffisante pour mimer le domaine d'interaction d'HS/HP. De plus, ils ont de nombreux groupements qui sont faciles à fonctionnaliser. Quelques exemples seront donnés ici.

Meldal et ses collègues ont préparé des peptides sulfatés et testé leurs interactions avec FGF-1.²² Un décapeptide **Q** peut se lier aux FGFs (Figure I.8) et peut inhiber la fixation de cette protéine à l'héparine à l'échelle du micromolaire.

L'équipe de Kiick a essayé de contrôler l'affinité et la sélectivité de mimes peptidiques

[20] J. Said, E. Trybala, E. Andersson, K. Johnstone, L. Liu, N. Wimmer, V. Ferro, T. Bergström, *Antiviral Res.* **2010**, 86, 286-295.

[21] V. Ferro, L. Liu, K. D. Johnstone, N. Wimmer, T. Karoli, P. Handley, J. Rowley, K. Dredge, C. P. Li, E. Hammond, K. Davis, L. Sarimaa, J. Harenberg, I. Bytheway, *J. Med. Chem.* **2012**, 55, 3804-3813.

[22] S. Vázquez-Campos, P. M. St. Hilaire, D. Damgaard, M. Meldal, *QSAR Comb. Sci.* **2005**, 24, 923-942.

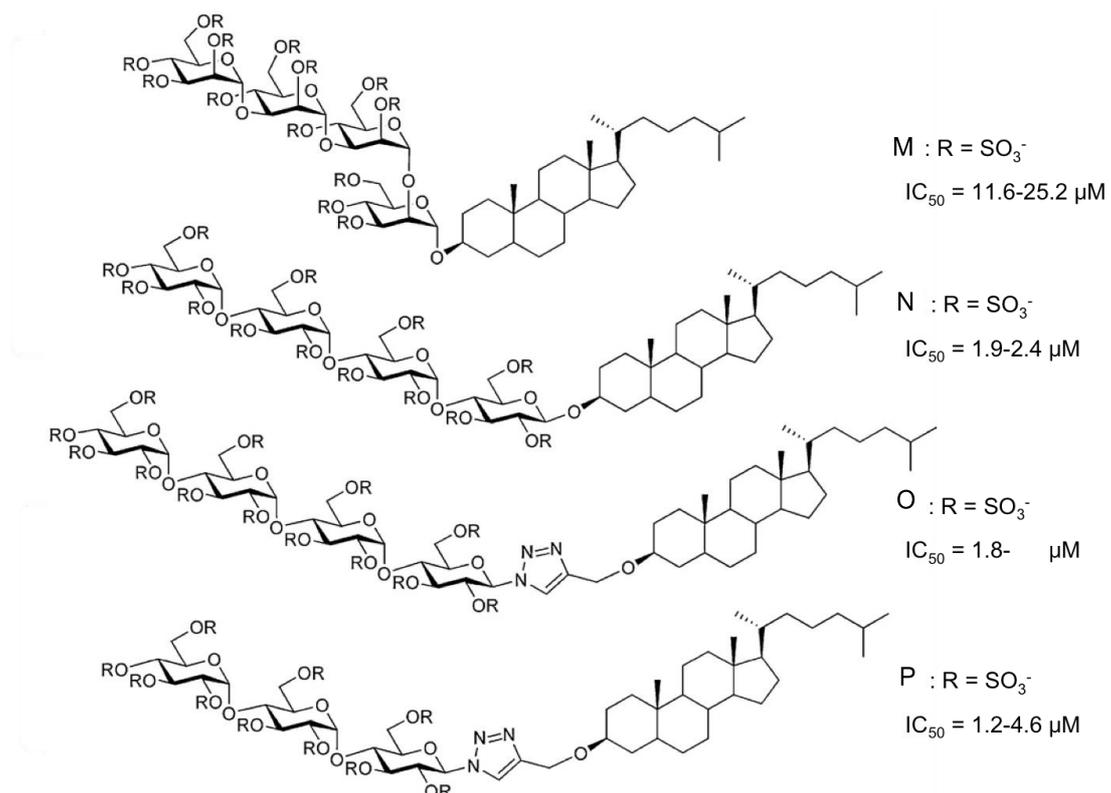


Figure I.7 : Conjugués lipophiles possédant des activités anti-VIH sur des souches CCR5 et CCR5/CXCR4 dual-tropique

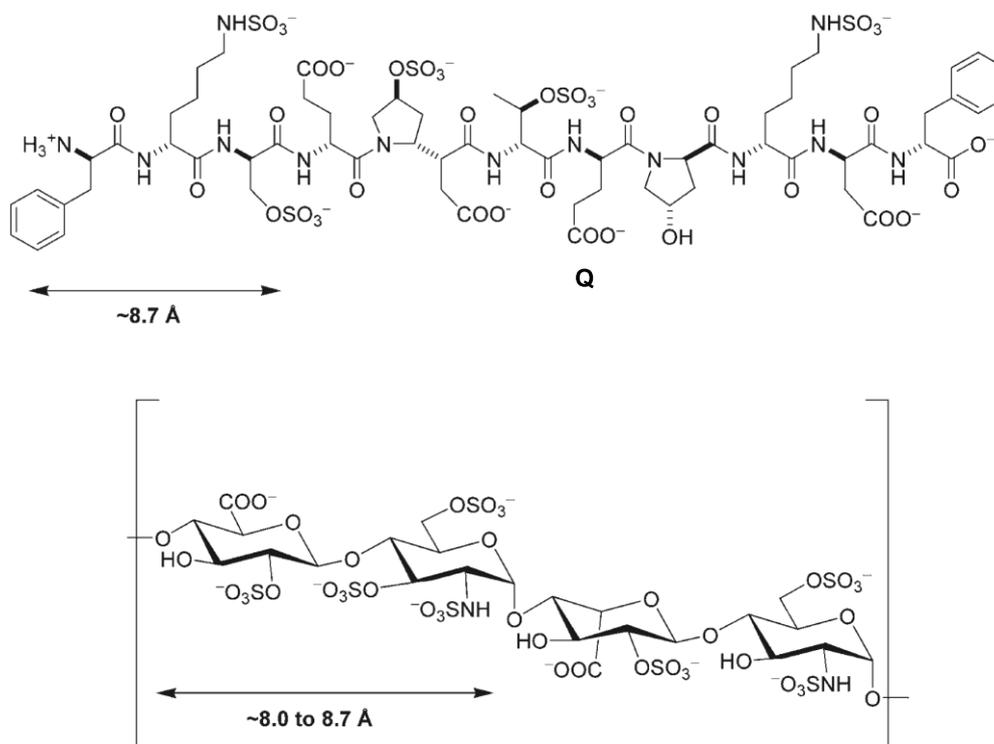


Figure I.8 : Comparaison de taille entre un motif tetrasaccharidique d'HP et un peptide sulfaté

d'HP en changeant les séquences des peptides.²³ Trois peptides ont été préparés et sont présentés dans le Tableau I.1. Dans les séquences, la sérine, l'acide aspartique et la tyrosine sulfatés sont choisis pour mimer le groupement hydroxyde, carboxylate et sulfate des oligosaccharides. L'affinité des peptides sulfatés sont testés vis à vis de plusieurs protéines reconnaissant l'HP (ATIII, HIP, PF4, VEGF165). La Figure I.9 montre les résultats mesurés par résonance plasmonique de surface (SPR). Parmi les trois peptides, le SP_a, qui comporte 12 acides aminés, a la meilleure affinité avec les quatre protéines. Des peptides sulfatés avec une séquence courte peuvent bien mimer l'HP. En changeant les séquences des peptides, il est possible de changer l'affinité avec les différentes protéines et donc de gagner en spécificité.

PEPTIDE	SEQUENCE
SP _A	NH ₂ -GGGG-SY _{SO₃} DY _{SO₃} GGGG-OH
SP _B	NH ₂ -GGGG-SY _{SO₃} DY _{SO₃} SY _{SO₃} DY _{SO₃} G-OH
SP _C	NH ₂ -GGGG-Y _{SO₃} Y _{SO₃} GGY _{SO₃} DY _{SO₃} G-OH

Tableau I.1 : Les peptides sulfatés testés par l'équipe de Kiick

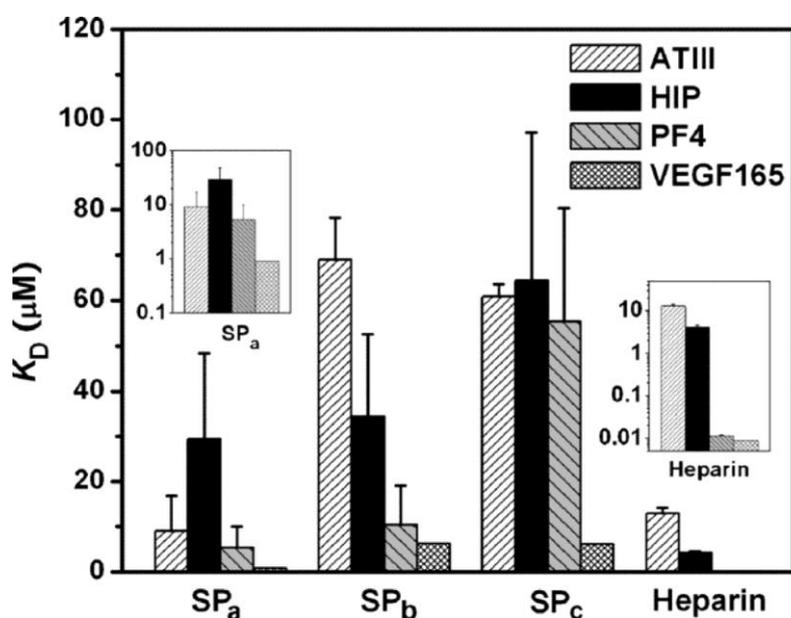


Figure I.9 : Les constantes de dissociation des mimes peptidiques et des protéines reconnaissant l'HP, mesurées par SPR

[23] S. H. Kim, K. L. Kiick, *Peptides* 2007, 28, 2125-2136.

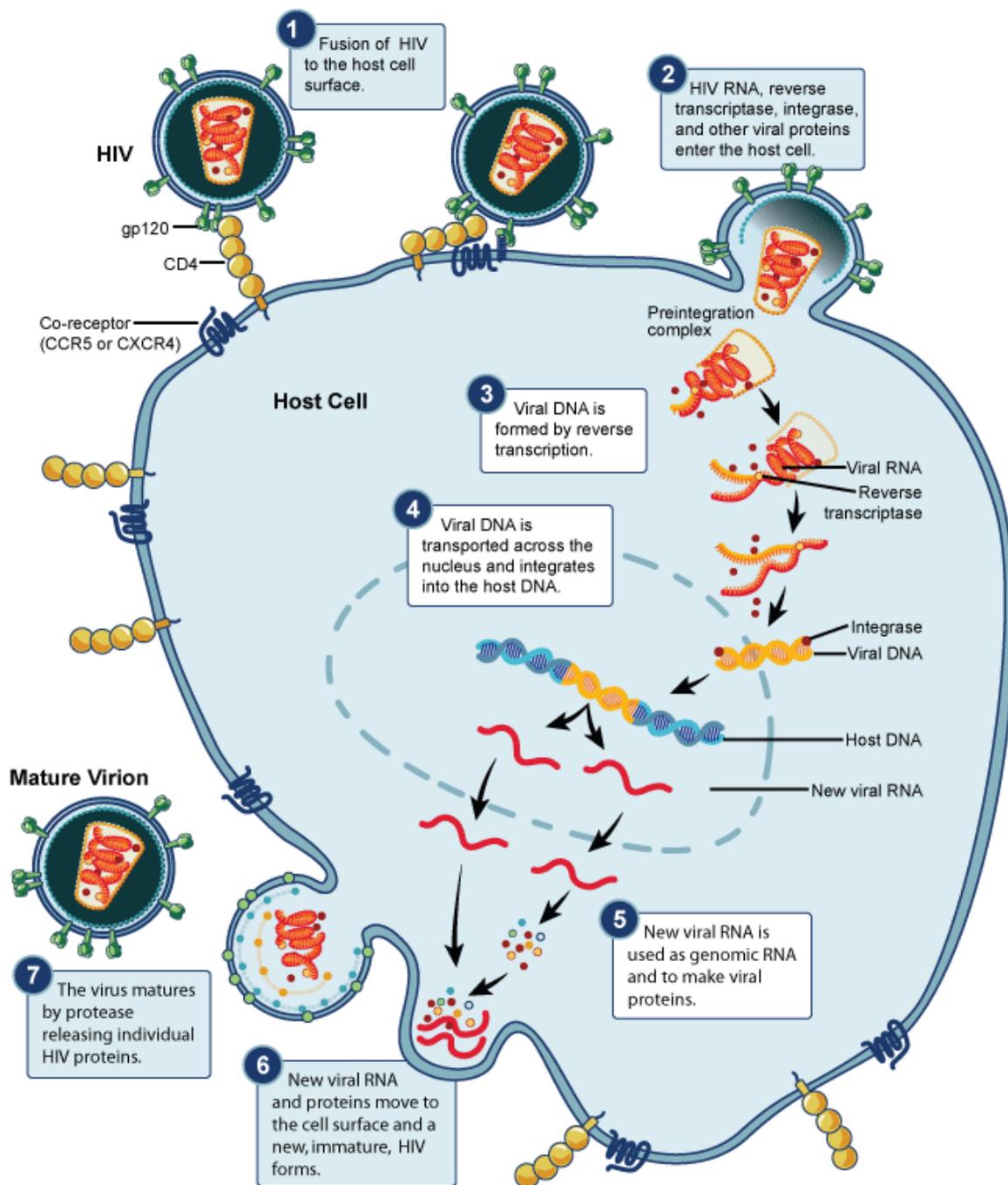


Figure I.10 : Cycle de répliation du VIH

I.3. Inhibiteurs d'entrée du VIH

I.3.1. Le processus d'entrée du VIH

Le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), qui cause le SIDA, est à l'origine de plus de 25 millions de décès et de plus de 5 millions de nouveaux cas d'infections chaque année.²⁴ En ciblant les différentes étapes du cycle de réplication du VIH (Figure I.10), différents médicaments anti-VIH ont été développés : inhibiteurs nucléosidiques (ex : zidovudine, lamivudine, emtricitabine, etc.) ou non-nucléosidiques (ex : efavirenz, nevirapine, delavridine, etc.) de la transcriptase inverse, inhibiteurs de la protéase (ex : amprenavir, tipranavir, indinavir, etc.), inhibiteurs de l'intégrase (ex : raltégravir, elvitégravir, dolutégravir, etc.), inhibiteurs d'entrée (inhibiteur de fusion : enfuvirtide ; antagoniste compétitif du corécepteur CCR5 : maraviroc). Les thérapies actuelles, dont la plupart ciblent les enzymes de réplication du VIH, ont déjà amélioré beaucoup la qualité de vie des patients et permis une diminution très notable de la mortalité liée à l'infection à VIH. Cependant, l'apparition de résistance²⁵ et l'absence à court terme de vaccin renforcent la nécessité non seulement, de poursuivre le développement des classes de médicaments existants mais surtout de concevoir de nouvelles drogues ciblant l'autre étape du cycle viral. Parmi les approches récemment développées, l'inhibition de l'entrée du VIH est apparue comme une cible thérapeutique prometteuse.

Dans ce processus d'entrée, les protéines de l'enveloppe du VIH, glycoprotéine 120 (gp120) et glycoprotéine 41 (gp41) jouent un rôle crucial. Des études structurales et fonctionnelles de ces protéines et de leurs complexes, alliées à celles menées sur les protéines d'enveloppe d'autres virus,^{26,27} ont permis d'établir que le mécanisme d'entrée du VIH se déroule en trois étapes principales (Figure I.11)²⁸ : (1) la liaison du virus aux récepteurs cibles, (2) l'attachement du virus à la membrane cible, (3) la fusion des membranes virales et cellulaires. Dans ce processus, il existe au moins quatre conformations différentes du

[24] A. S. Fauci, *Science* **2006**, *313*, 409-409.

[25] R. W. Shafer, J. M. Schapiro, *AIDS reviews* **2008**, *10*, 67-84.

[26] K. H. Roux, K. A. Taylor, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2007**, *17*, 244-252.

[27] S. C. Harrison, *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2008**, *15*, 690-698.

[28] M. Caffrey, *Trends Microbiol.* **2011**, *19*, 191-197.

complexe gp120-gp41 : "free", "receptor bound", "tethered" and "fusion". Dans la première étape, la gp120 de l'état "free" se lie au récepteur CD4, ce qui entraîne la structuration du site de liaison aux corécepteurs CXCR4 ou CCR5, la liaison de la gp120 avec ces derniers et le passage à la conformation "receptor bound". Puis, dans l'étape suivante, la gp120 se dissocie de la gp 41 qui subit un grand changement conformationnel qui permet d'exposer le peptide de fusion. Ce dernier s'insère dans la membrane de la cellule cible pour former l'état "tethered". A la fin, dans l'étape finale, les domaines HR1 et HR2 (*heptad repeat region*) interagissent, ce qui permet de rapprocher les membranes virales et cellulaires, ce qui permet leur fusion et l'entrée de la capside du virus dans le cytoplasme. Chacun de ces états ou processus peut constituer une cible thérapeutique : la mise sur le marché du Fuzon²⁹ (1^{er} inhibiteur peptidique de l'étape de fusion) et du Maraviroc³⁰ (un antagoniste de CCR5) sont des exemples réussis qui valident cette hypothèse. Ces dernières années, de nombreuses équipes se sont engagées dans la recherche d'inhibiteur d'entrée. Avec les efforts de recherche, le mécanisme détaillé de chaque étape est de plus en plus clair, surtout l'étape initiale de ce processus : la liaison du gp 120 aux récepteurs de cible.

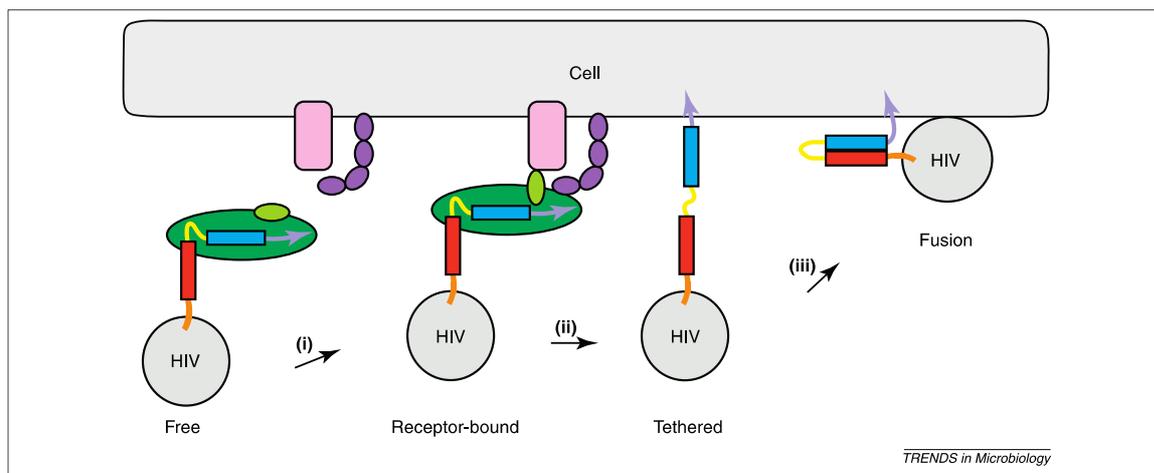


Figure I.11 : Processus d'entrée du VIH

Le récepteur CD4 et les corécepteurs de la cellule cible sont de couleur violet et rose. La gp120 est colorée en vert avec la boucle V3 en vert clair. Les domaines de la gp 41 représentés sont : le peptide de fusion (violet clair), HR1 (cyan), un pont disulfure (jaune), HR2 (rouge), et MPER (orange)

[29] T. Matthews, M. Salgo, M. Greenberg, J. Chung, R. DeMasi, D. Bolognesi, *Nat. Rev. Drug Discov.* **2004**, 3, 215-225.

[30] M. Westby, E. v. d. Ryst, *Antiviral Chem. Chemother.* **2010**, 20, 179-192.

I.3.2. La gp120 : une cible thérapeutique pertinente

Dans cette étape initiale, la gp120 se lie en premier au récepteur CD4.³¹ Cela déclenche des changements conformationnels qui délocalisent plusieurs domaines de la gp120 et exposent le site CD4 induit (CD4i, Figure I.12).^{32,33} Ensuite, ce site hautement conservé, proche de la boucle V3, reconnaît un des corécepteurs (CXCR4 ou CCR5).^{34,35} Les interactions de la gp120 avec CD4 et les corécepteurs sont des étapes clés de l'infection. La gp120 semble donc une cible thérapeutique pertinente et différentes molécules ont été conçues pour cibler les interactions des différents sites de liaisons de la gp120 avec ses ligands sur la cellule hôte.

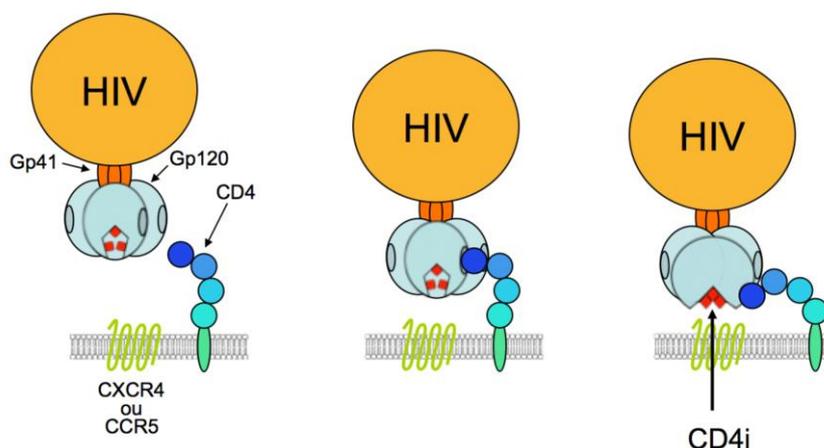


Figure I.12 : L'étape initiale d'entrée du VIH : la fixation du CD4 et CR à la gp120 et exposition du site CD4i

Par exemple, le **BMS-806 (BMS 378806, Figure I.13)**, une petite molécule conçue pour se lier au site de liaison de la gp120 au CD4, est développée comme inhibiteur d'entrée du VIH.³⁶ L'anticorps monoclonal b12, qui cible aussi ce site de liaison, est également

[31] D. Klatzmann, E. Champagne, S. Chamaret, J. Gruet, D. Guetard, T. Hercend, J. C. Gluckman, L. Montagnier, *Nature* **1984**, 312, 767-768.

[32] P. D. Kwong, R. Wyatt, J. Robinson, R. W. Sweet, J. Sodroski, W. A. Hendrickson, *Nature* **1998**, 393, 648-659.

[33] B. Chen, E. M. Vogan, H. Gong, J. J. Skehel, D. C. Wiley, S. C. Harrison, *Nature* **2005**, 433, 834-841.

[34] C. D. Rizzuto, R. Wyatt, N. Hernández-Ramos, Y. Sun, P. D. Kwong, W. A. Hendrickson, J. Sodroski, *Science* **1998**, 280, 1949-1953.

[35] O. Hartley, P. J. Klasse, Q. J. Sattentau, J. P. Moore, *AIDS Res. Hum. Retroviruses* **2005**, 21, 171-189.

[36] P.-F. Lin, W. Blair, T. Wang, T. Spicer, Q. Guo, N. Zhou, Y.-F. Gong, H.-G. H. Wang, R. Rose, G. Yamanaka, B. Robinson, C.-B. Li, R. Fridell, C. Deminie, G. Demers, Z. Yang, L. Zadajura, N. Meanwell, R. Colomno, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2003**, 100, 11013-11018..

développé comme inhibiteur d'entrée du VIH.³⁷ Le site de liaison aux corécepteurs, qui s'expose lors du réarrangement de la boucle V3, a été ciblé aussi par des dérivés de l'acide bétulinique **R** (Figure I.13) qui sont développés aussi comme inhibiteurs d'entrée du VIH.³⁸ Il est intéressant de noter que des composés qui peuvent perturber l'interaction de la gp120 avec le récepteur CD4 et les corécepteurs dans le même temps ont été décrits. Le peptide 12p1 (RINNIPWSEAMM) est un exemple qui donne une "dual-inhibition" de l'interaction de la gp120 avec le récepteur CD4 et le corécepteur CCR5.³⁹

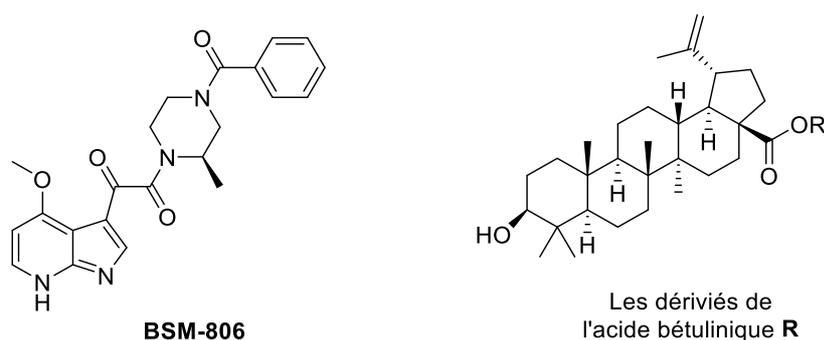


Figure I.13 : Structure de **BSM-806** et les dérivés de l'acide bétulinique **R**

I.3.3. Nouvelle stratégie pour des inhibiteurs d'entrée du VIH

A part le récepteur CD4 et les corécepteurs CXCR4 ou CCR5 qui participent directement dans le processus d'entrée du VIH, d'autres molécules présentes à la surface de la cellule cible semblent également influencer l'attachement et la cinétique de l'infection. En particulier, il est connu depuis longtemps que les mannoses des chaînes O-glycanes de la gp120 peuvent interagir avec des lectines, (par exemple DC-SIGN) et que les héparanes sulfates (HS), présents à la surface de nombreuses cellules, peuvent interagir avec la gp120 et permettre une immobilisation rapide et stable des particules virales sur la surface cellulaire, ce qui facilite l'infection (Figure I.14).⁴⁰

[37] T. Zhou, L. Xu, B. Dey, A. J. Hessel, D. Van Ryk, S.-H. Xiang, X. Yang, M.-Y. Zhang, M. B. Zwick, J. Arthos, D. R. Burton, D. S. Dimitrov, J. Sodroski, R. Wyatt, G. J. Nabel, P. D. Kwong, *Nature* **2007**, *445*, 732-737.

[38] W. Lai, L. Huang, P. Ho, Z. Li, D. Montefiori, C.-H. Chen, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2008**, *52*, 128-136.

[39] A. C. Biorn, S. Cocklin, N. Madani, Z. Si, T. Ivanovic, J. Samanen, D. I. Van Ryk, R. Pantophlet, D. R. Burton, E. Freire, J. Sodroski, I. M. Chaiken, *Biochemistry* **2004**, *43*, 1928-1938.

[40] T. Endreß, M. Lampe, J. A. G. Briggs, H.-G. Kräusslich, C. Bräuchle, B. Müller, D. C. Lamb, *Eur. Biophys. J.*

La complexation de la gp120 aux HS (chargés négativement) a été principalement attribuée aux résidus basiques (chargés positivement) de la boucle V3.^{41,42,43} Cependant, H. Lortat-Jacob et ses collaborateurs ont démontré que plusieurs autres domaines de la gp120 contribuent fortement à cette complexation et particulièrement le site CD4i. Ils ont, en effet, montré que l'affinité de la gp120 aux HS est augmentée en présence de CD4 soluble (sCD4) (Figure I.15).⁴⁴

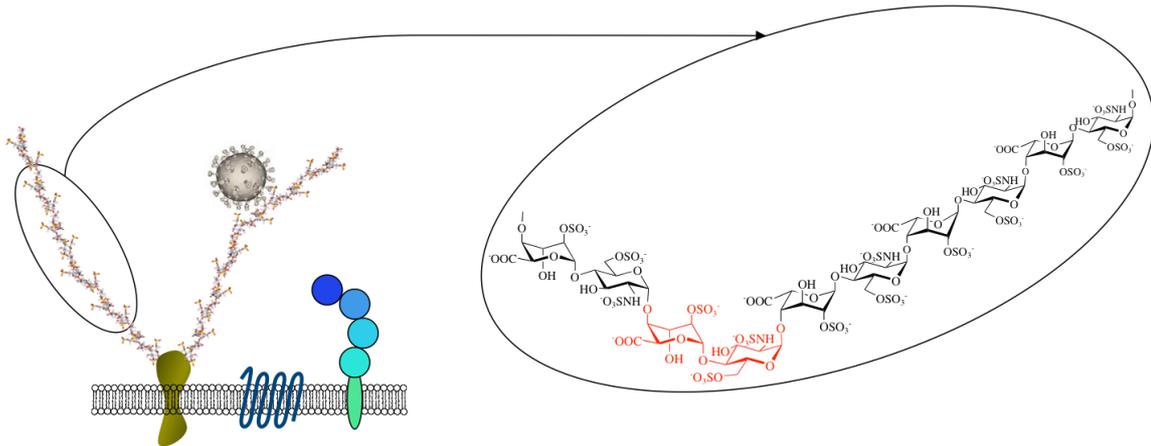


Figure I.14 : Les chaînes d'HS immobilisent le VIH sur la surface cellulaire

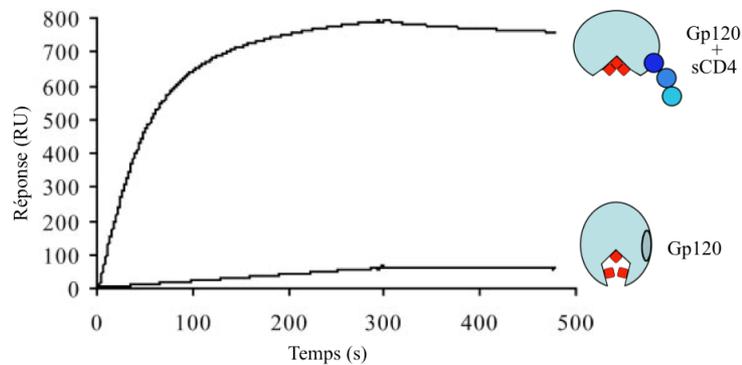


Figure I.15 : L'affinité de la gp120 pour les chaînes d'HS augmente en présence de sCD4

2008, 37, 1291-1301.

[41] C. C. Rider, D. R. Coombe, H. A. Harrop, E. F. Hounsell, C. Bauer, J. Feeney, B. Mulloy, N. Mahmood, A. Hay, C. R. Parish, *Biochemistry* **1994**, 33, 6974-6980.

[42] G. Roderiquez, T. Oravec, M. Yanagishita, D. C. Bou-Habib, H. Mostowski, M. A. Norcross, *J. Virol.* **1995**, 69, 2233-2239.

[43] M. Moulard, H. Lortat-Jacob, I. Mondor, G. Roca, R. Wyatt, J. Sodroski, L. Zhao, W. Olson, P. D. Kwong, Q. J. Sattentau, *J. Virol.* **2000**, 74, 1948-1960.

[44] E. Crublet, J.-P. Andrieu, R. R. Vivès, H. Lortat-Jacob, *J. Biol. Chem.* **2008**, 283, 15193-15200.

Sur la base de cette identification du site CD4i comme site de liaison aux HS, il semblait possible qu'un glycoconjugué, constitué d'un fragment ou mime fonctionnel de CD4 (mini CD4) lié de façon covalente à un fragment d'HS, pourrait se fixer sur la gp120 par la partie CD4 et exposer le site de liaison des corécepteurs, qui deviendrait alors disponible pour être bloqué par le fragment d'HS. Ce genre de molécule devrait alors pouvoir bloquer l'interaction de la gp120 avec le récepteur CD4, les corécepteurs CXCR4 ou CCR5 et les chaînes d'HS et ainsi inhiber l'entrée du VIH. Pour tester cette idée, les deux parties (mini CD4 et fragment d'HS) des chimères ont été synthétisées, fonctionnalisées puis conjuguées pour former les molécules cibles (Figure I.16). Des résultats très encourageants ont été obtenus avec le glycopeptide mCD4-HS12L, associant un nouveau mini CD4 (mCD4g : TpaNLHKCQLRCSSLGLLGRCAGSBipCACV) lié de façon covalente à un fragment dodécasaccharide d'HS entièrement synthétique.⁴⁵ Ce composé inhibe l'entrée du VIH dans les PMBC à des concentrations "low nanomolar" et ce sur des souches R5, X4 ou dual tropique. Des ED₅₀ variant de 1.4 à 18 nM ont été obtenues pour les souches LAI (X4) et Ba-L (R5). Ces résultats sont d'autant plus intéressants qu'aucune toxicité n'a été observée jusqu'à des doses de 1 µM.

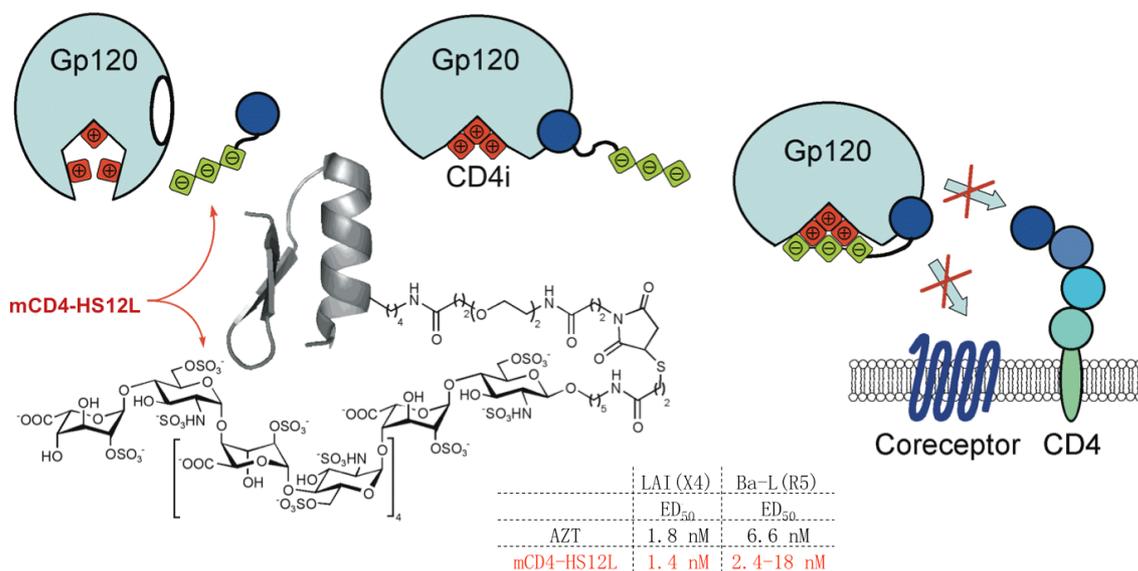


Figure I.16 : Nouvel inhibiteur d'entrée du VIH : mCD4-HS12L

[45] F. Baleux, L. Loureiro-Morais, Y. Hersant, P. Clayette, F. Arenzana-Seisdedos, D. Bonnaffe, H. Lortat-Jacob, *Nat. Chem. Biol.* **2009**, 5, 743-748.

Il est cependant important de noter que la synthèse de la partie dodécasaccharidique (HS12L) nécessite une quarantaine d'étapes. Les recherches des mimes d'HS, plus simple à préparer et capables de conférer au glycoconjugué une aussi bonne, ou une plus forte, affinité et spécificité, serait un avantage pour son développement préclinique et clinique.

I.3.4. Optimisation de la partie d'HS de l'inhibiteur mCD4-HS12

En fait, à part le conjugué mCD4-HS12L, nos collaborateurs ont testé l'activité antivirale de trois autres conjugués possédant d'autres chaînes polyanioniques : mCD4-HS12Bzl, mCD4-HS4Bzl (Figure I.17) et mCD4-GPR1, pour lequel le peptide GPR1 (MEDLDDTLFDDFDNYSYDLDYISLDSC) a été sélectionné sur la base de la présence de nombreux acides aminés Asp et Glu et de son activité antivirale ciblant le site CD4i.⁴⁶ Les activités antivirales de ces composés sont résumées dans le Tableau I.2 et montrent, outre la synergie apportée par la liaison covalente du mini CD4 à la partie polyanionique, que les conjugués dans lesquels mCD4 est couplé à un peptide comportant des résidus acides (GPR1) ou un fragment d'HS plus court et/ou plus hydrophobe possèdent aussi une activité antivirale non négligeable. Nous avons pensé qu'une optimisation de la structure de la partie polyanionique était possible.

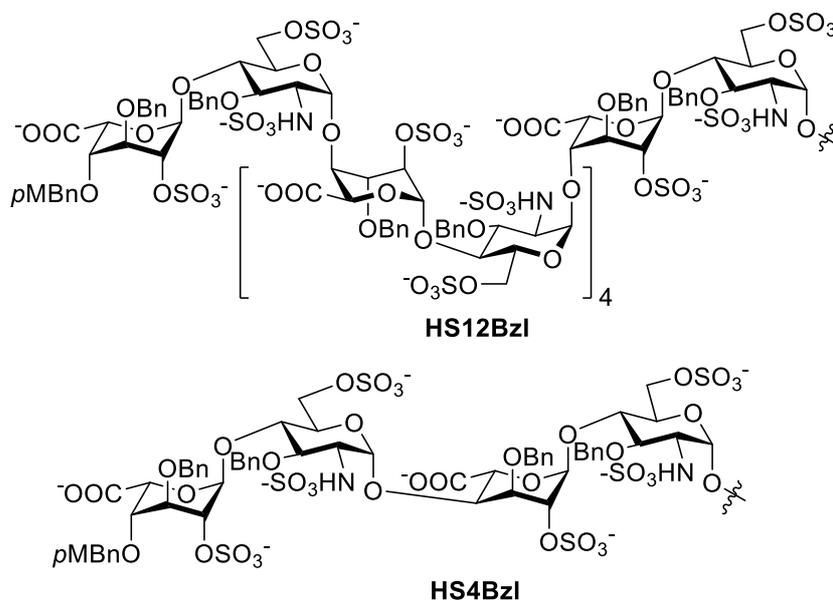


Figure I.17 : Partie polyanionique de mCD4-HS12Bzl et mCD4-HS4Bzl

[46] K. Ikeda, K. Konishi, M. Sato, H. Hoshino, K. Tanaka, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 2607-2609.

	VIH-1/LAI (X4, nM)			Cytotoxicité			VIH-1/Ba-L (R5, nM)		
	DE ₅₀	DE ₇₀	DE ₉₀	TC ₅₀	TC ₇₀	TC ₉₀	DE ₅₀	DE ₇₀	DE ₉₀
mCD4-HS4Bzl	83	84	86	>1000	>1000	>1000	184	195	211
mCD4- HS12Bzl	343	388	471	>1000	>1000	>1000	200	212	234
mCD4- HS12L	1,4	2,05	3	>1000	>1000	>1000	2,4	4,9	11,1
mCD4- GPR1	66	67	67,5	>1000	>1000	>1000	205	231	309
HS4Bzl	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	non testé : Qté insuffisante		
HS12Bzl	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
HS12L	>500	>500	>500	>1000	>1000	>1000	>500	>500	>500
GPR1	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
mCD4	244	377	560	>1000	>1000	>1000	>500	>500	>500
AZT	8	15	41	>200	>200	>200	10	28	111

Tableau I.2 : Activité antivirale des premiers mCD4-polyanions

Au vu de ces résultats, nous avons donc exploré deux axes de recherche dans le cadre d'un projet soutenu par l'ANRS et Sidaction :

1. Utilisation de peptides polyanioniques pour remplacer la partie HS₁₂
2. Etude structure activité sur la partie HS₁₂ :
 - a. détermination de l'influence de la longueur du fragment d'HS sur l'activité,
 - b. possibilité de la remplacer par d'autres oligosaccharides sulfatés dans lesquels la lipophilie et le degré de sulfatation pourraient être modulés.

Le premier axe a été effectué au sein de l'équipe de F. Baleux à l'Institut Pasteur. Douze conjugués de formule générale mCD4-linker-Peptides ont été préparés et leurs activités biologiques ont été mesurées. Les résultats sont remarquables. L'un des nouveaux composés, mCD4-P3YSO3 (Figure I.18), s'est montré encore plus actif que mCD4-HS12L

(ED₅₀ de 0.5 à 1.3 nM sur les souches LAI (X4) et Ba-L (R5)).⁴⁷ Cela a confirmé la pertinence d'explorer le remplacement de la partie HS12 par d'autres chaînes polyanionique.

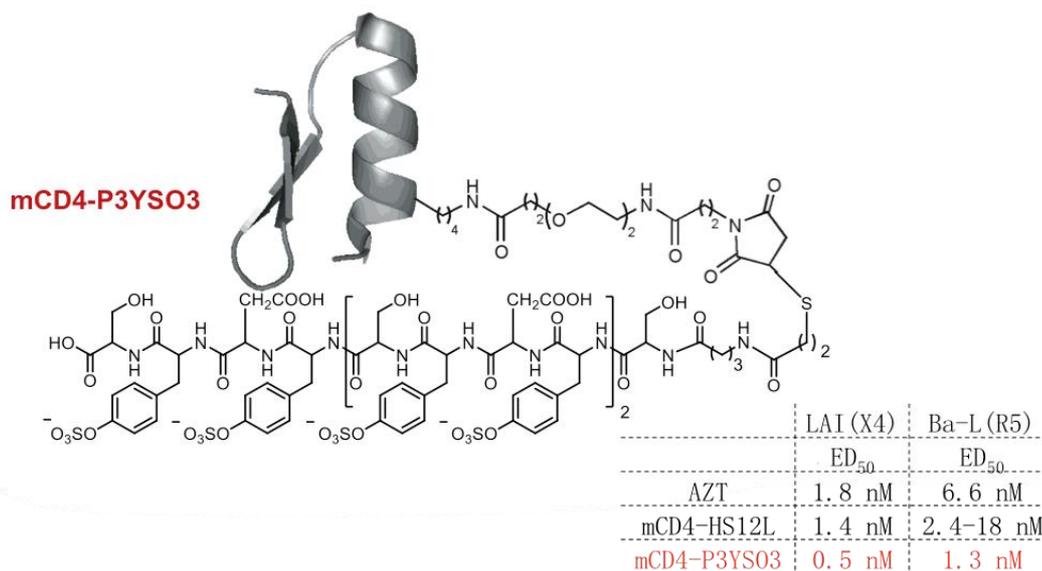


Figure I.18 : une simplification de la partie poly anionique par une mines peptidique d'HS

Par rapport à la synthèse d'oligosaccharide, la synthèse de peptide peut être automatisable et plus rapide. Maintenant, une question peut être proposée : est ce qu'il est encore utile de travailler à la synthèse d'un mime oligosaccharidique d'HS₁₂ ? Au point de vue du développement d'un nouveau médicament, la réponse est oui. En effet, beaucoup de composés actifs sont abandonnés en préclinique ou phase I car ils ont de mauvaises biodisponibilités, pharmacocinétiques ou répartition tissulaire, voire sont immunogènes, etc. Si l'on veut que notre nouvelle approche anti-VIH arrive à la mise sur le marché d'un nouveau médicament anti-VIH, il est indispensable de disposer de plusieurs molécules agissant selon le même mode d'action mais de structures différentes. Dans ce cadre, même si la synthèse d'oligosaccharide présente le désavantage de n'être que difficilement automatisable, la rigidité des structures oligosaccharidiques sulfatées (conformations en hélice) et donc la pré-organisation de la répartition des groupements sulfates, peut permettre de réaliser un gain entropique important favorisant grandement la liaison à la cible. Dans le but d'obtenir le composé présentant le meilleur compromis activité biologique/simplicité

[47] Bridgette J. Connell, F. Baleux, Y.-M. Coic, P. Clayette, D. Bonnaffé, H. Lortat-Jacob, *Chem. Biol.* **2012**, *19*, 131-139.

de synthèse, nous avons décidé de continuer à explorer, l'utilisation de polyanions oligosaccharidiques dans les chimères de type mCD4-HS12L.

I.4. Présentation du sujet de thèse

I.4.1. Stratégie hautement divergente pour la synthèse d'une chimiothèque d'oligomaltosides sulfatés

Au vu de tous les résultats décrits ci-dessus, nous avons décidé de préparer des oligomaltosides sulfatés comme mimes de fragments d'HS et de les coupler au mCD4. Comme dans les exemples décrits ci-dessous, les charges négatives des fonctions carboxylates et des *N*-sulfates d'HS seront remplacées par celles des *O*-sulfates. Mais, contrairement aux structures oligosaccharidiques sont persulfatées décrites ci-dessus (Figure I.3 à I.7), nous souhaitons mettre au point une synthèse permettant de générer un grand nombre de sulfoformes à partir d'un nombre restreint de précurseurs protégés. Le choix de structures de type oligomaltoside a reposé sur le fait que, tout comme les fragments d'HS, elles présentent une structure hélicoïdale en solution. De plus, des oligomères de taille définie sont disponibles commercialement (maltotriose, maltotétraose, etc.) ou par ouverture de cyclodextrines fonctionnalisées.^{48, 49, 50}. Ceci devrait nous permettre de préparer des briques oligomérisables rapidement.

Pour nous permettre de faire des études structure-activité sur les glycoconjugués anti-VIH de type mCD4-HS₁₂ et identifier une structure de partie polyanionique qui donne le meilleur compromis activité biologique/simplicité de synthèse, nous avons décidé de préparer une chimiothèque d'oligomaltosides. Cette chimiothèque doit contenir des oligomaltosides sulfatés de tailles différentes et présentant divers taux de sulfatation.

Nous avons pensé que des oligomaltosides de différentes longueurs et de structure générique **S** nous permettraient d'atteindre notre objectif (Schéma I.1). Les groupements protecteurs R²⁻⁵ seront choisis orthogonaux entre eux et avec R¹, afin de pouvoir être

[48] N. Sakairi, K. Matsui, H. Kuzuhara, *Carbohydr. Res.* **1995**, 266, 263-268.

[49] E. Farkas, L. Jánossy, J. Harangi, L. Kandra, A. Lipták, *Carbohydr. Res.* **1997**, 303, 407-415.

[50] D. Lesur, A. Gassama, V. Moreau, S. Pilard, F. Djedaini-Pilard, *Carbohydr. Res.* **2005**, 340, 1225-1231.

déprotégés, soit pour permettre l'allongement de la chaîne, soit pour générer différents motifs de sulfatation. Ainsi, cette stratégie hautement divergente devrait nous permettre de préparer différents oligomaltosides, tels les composés **T-V**. Nous détaillerons la stratégie de la synthèse que nous avons envisagé pour préparer les oligomaltosides protégés **S**.

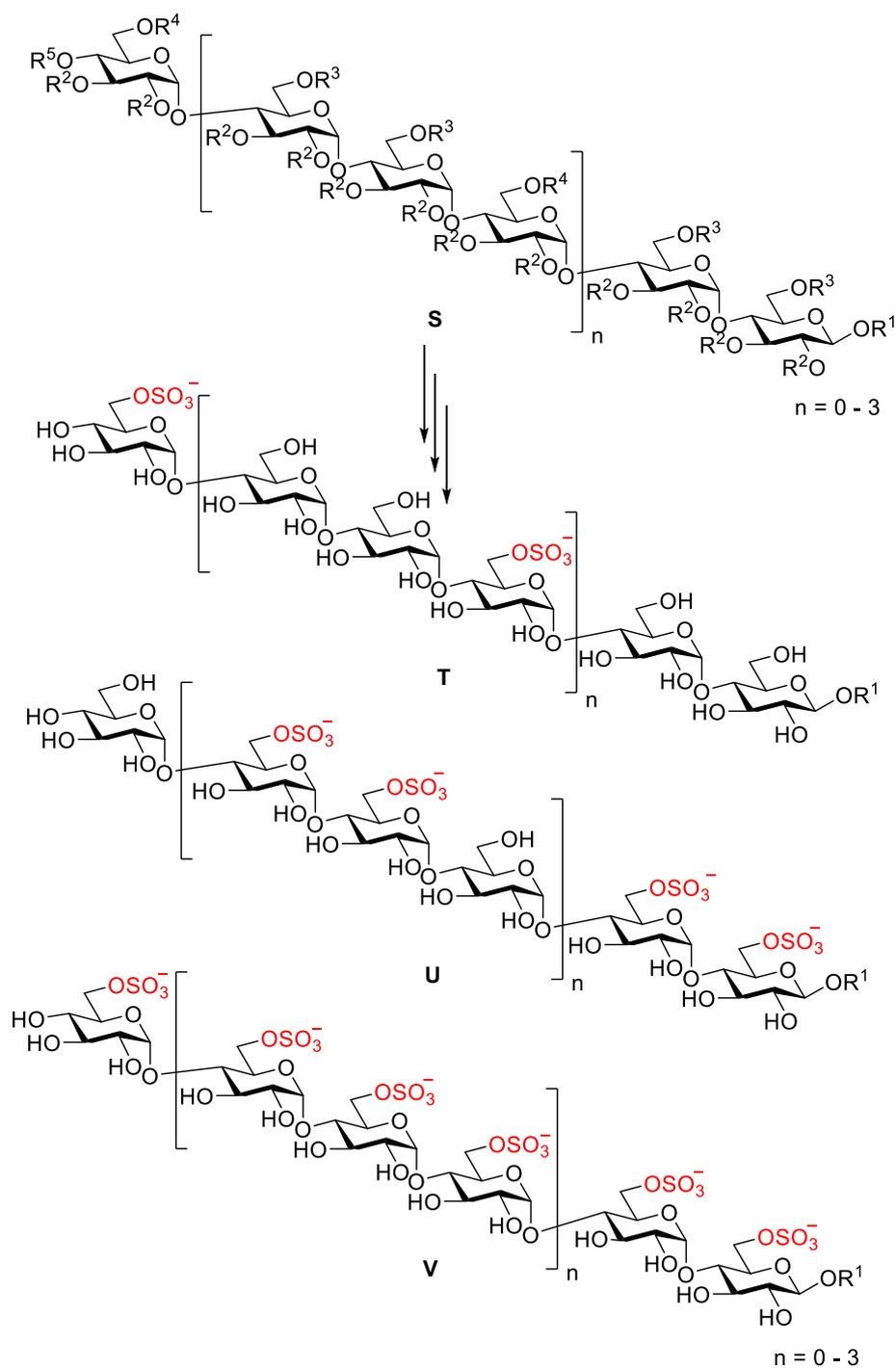


Schéma I.1 : Stratégie hautement divergente pour la synthèse d'une chimiothèque de sulfoformes d'oligomaltosides

(R²⁻⁵ représentent orthogonaux entre eux)

I.4.2. Rétrosynthèse envisagée pour la préparation de l'oligomaltoside

Nous avons décidé de synthétiser l'oligomaltoside **S**, base d'une chimiothèque de sulfoformes, à partir de maltotriose (Schéma I.2). L'oligomaltoside **S** sera préparé par des glycosylations $\alpha(1\rightarrow4)$ entre le donneur **1** et l'accepteur **2** qui peuvent être tous deux obtenus à partir de la même brique de maltotriose fonctionnalisée **3** que nous appellerons par la suite "brique maltotriose". La stratégie de protection sera explicitée dans le chapitre suivant. Comme cette brique **3** est un produit intermédiaire très important dans la synthèse, le premier objectif de ma thèse a été la synthèse du maltotriose fonctionnalisé **3**. Nous avons décidé d'utiliser comme produit de départ le maltotriose **4**, commercial et issu de ressources renouvelables, et d'introduire différents groupements protecteurs pour fournir la brique de maltotriose **3**.

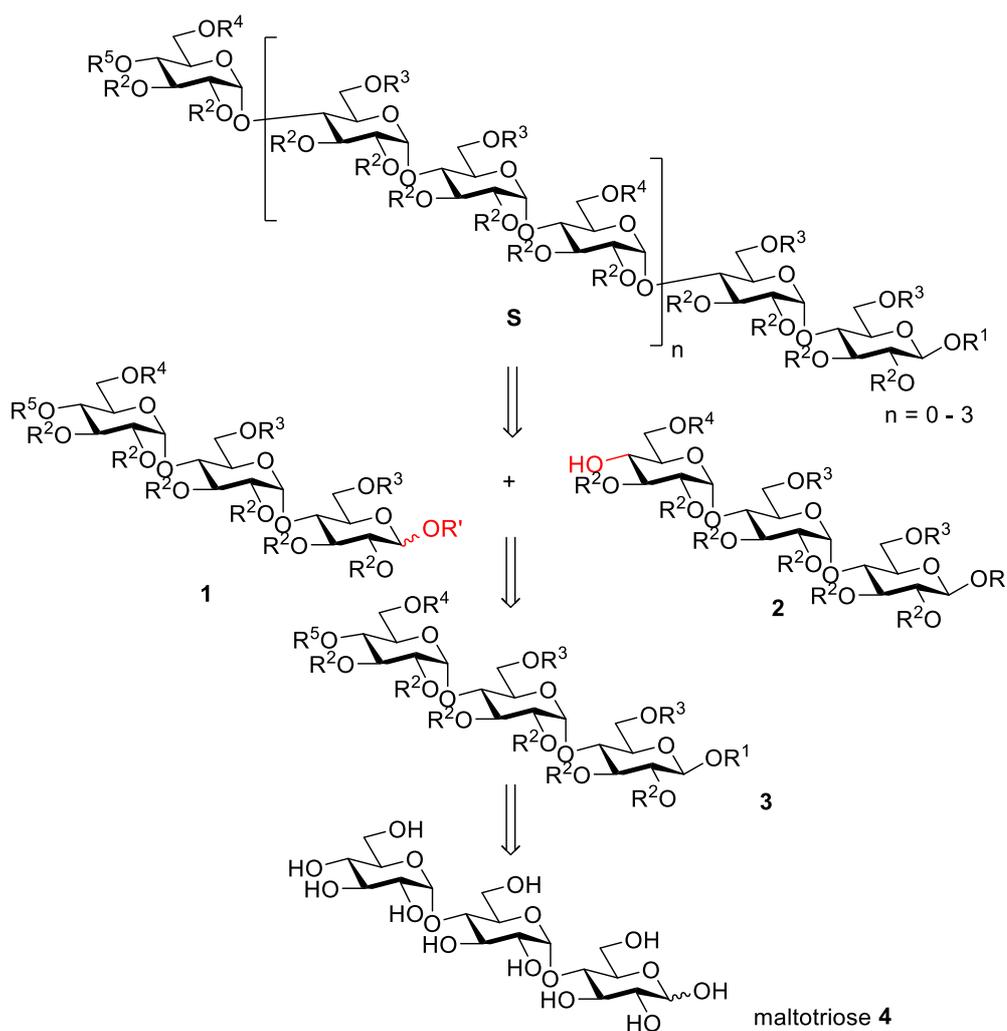


Schéma I.2 : Rétrosynthèse des oligomaltosides **S**

CHAPITRE II : SYNTHÈSE D'UNE BRIQUE MALTOTRIOSE OLIGOMÉRISABLE

II.1. Choix des groupements protecteurs orthogonaux et stratégie de fonctionnalisation du maltotriose

II.1.1. Choix des groupements protecteurs orthogonaux

Les groupements protecteurs utilisés dans la synthèse du maltotriose fonctionnalisé **3** doivent être orthogonaux ce qui nous permettra de préparer des donneurs et des accepteurs et de diversifier l'oligomaltoside **S** en diverses sulfoformes. Tout d'abord pour la préparation des donneurs et des accepteurs, on a choisi un allyle (Allyl) en position anomérique, car son enlèvement suivi d'une activation sous forme de trichloroacétimide ou *N*-phényltrifluoroacétimide permettra de synthétiser le donneur générique **1** ou, alternativement, de faire une réaction thiol-ène en fin de synthèse pour installer un bras fonctionnalisé. Un groupement *para*-méthoxybenzylidène, entre les positions O-4^{III} et O-6^{III}, pourra être transformé en un groupement *para*-méthoxybenzyle (*p*MB) en O-4^{III} et permettre la synthèse de l'accepteur **2**. Nous avons choisi un ester, acetate (Ac) dans un premier temps ou benzoate (Bz) finalement (voir paragraphe II.5.3) pour protéger la position O-6^{III} libérée dans la réaction précédente. Puis pour favoriser la glycosylation $\alpha(1\rightarrow4)$, un groupement encombré doit être installé en position O-6 pour favoriser la formation du α -glycoside. Le groupement *tert*-butyldiphénylsilyle (TBDPS) qui est, en théorie, sélectif pour les hydroxyles primaires est choisi pour la protection des positions O-6^I et O-6^{II}. Après, le reste des hydroxyles secondaires sont protégés par des groupements

benzyles (Bn). Ainsi, tous les groupes protecteurs utilisés dans la synthèse sont à priori orthogonaux (Figure II.1, Schéma II.1).

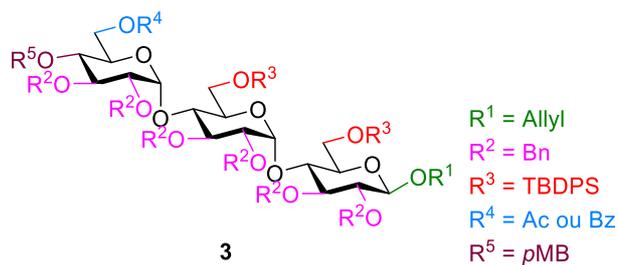


Figure II.1 : Choix des groupes protecteurs pour la brique maltotriose oligomérisable **3**

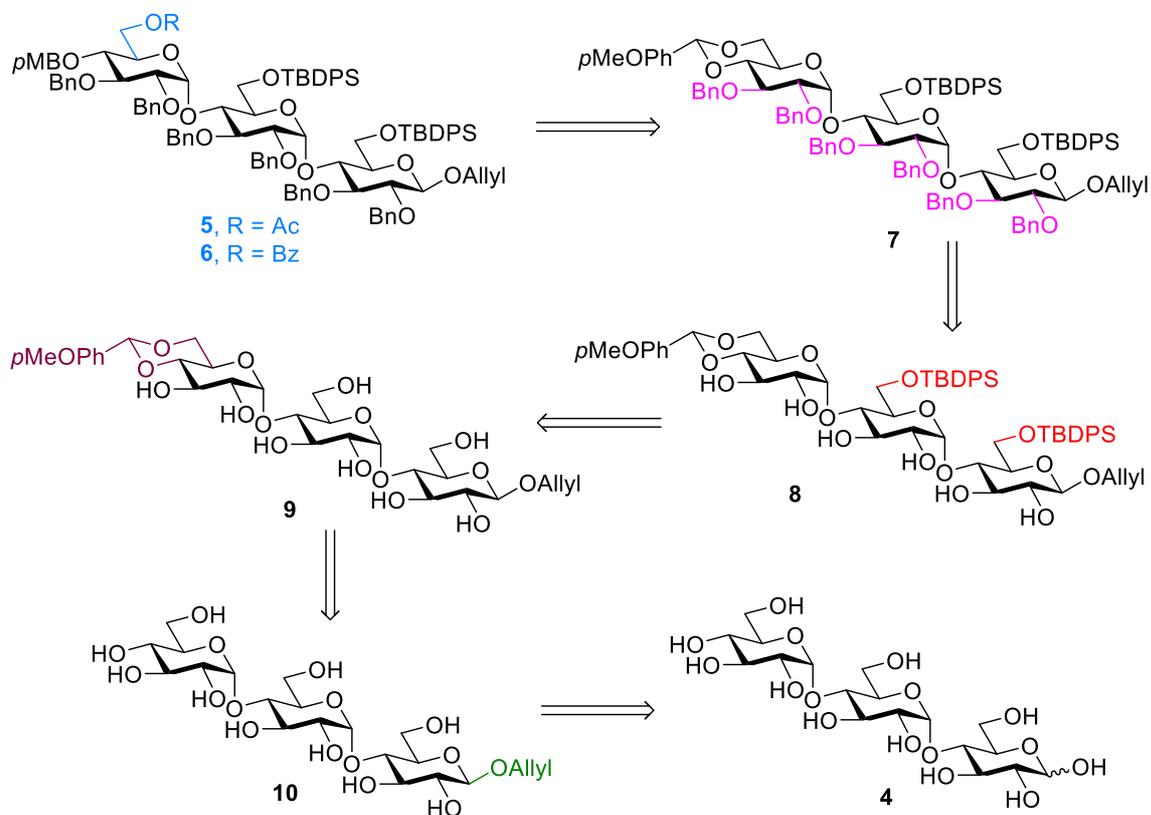


Schéma II.1 : Rétrosynthèse du maltotriose fonctionnalisé

II.1.2. Rétrosynthèse du maltotriose fonctionnalisé

Dans la mise en œuvre de la stratégie de protection décrite ci-dessus (dans un premier temps par le Dr. Zhaoyu HU, puis par moi-même), nous avons été bloqués par trois étapes qui nous ont demandé une longue optimisation (Schéma II.1) :

1. Alkylation de la position anomérique
2. Installation du *para*-méthoxybenzylidène entre les positions O-4^{III} et O-6^{III}
3. Silylations sélectives des hydroxyyles primaires pour introduire les TBDPS

II.2. Peracétylation et bromation de la position anomérique du maltotriose

Pour commencer, le bromure de glycoside **12** est préparé selon un protocole décrit dans la littérature.⁴⁹ Le maltotriose **4** est tout d'abord peracétylé pour fournir le produit **11**, qui est traité ensuite par HBr-AcOH dans CH₂Cl₂, pour donner le glycoside **12**. Nous avons facilement obtenu un rendement de 93 % sur 2 étapes après recristallisation et avons par la suite effectué cette étape à des échelles allant jusqu'à 15 g (Schéma II.2).

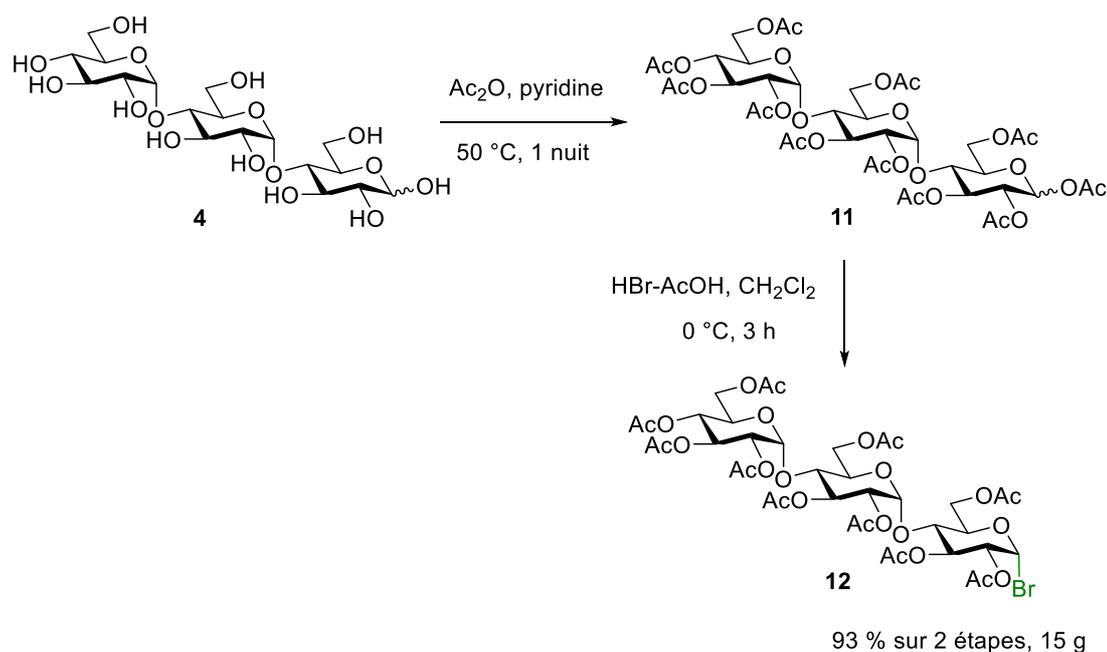


Schéma II.2 : Synthèse du bromure de glycoside **12**

II.3. Alkylation de l'unité réductrice du maltotriose

II.3.1. Méthodes décrites d'alkylation

L'alkylation de la position anomérique d'un monosaccharide est souvent effectuée via une réaction de Fischer, mais cette méthode s'applique difficilement à l'alkylation

d'oligosaccharides. Dans ce dernier cas, une glycosylation entre un halogénure de glycoside et l'alcool allylique est le plus couramment utilisée (Schéma II.3). Il existe différents promoteurs qui ont été développés pour cette réaction comme le carbonate d'argent (Ag_2CO_3),⁵¹ l'oxyde d'argent (AgO),⁵² le triflate d'argent (AgOTf),⁵³ le bromure de mercure/oxyde de mercure (HgO/HgBr_2),⁵⁴ le cyanure de mercure ($\text{Hg}(\text{CN})_2$),⁵⁵ le chlorure d'indium (InCl_3)⁵⁶ etc.

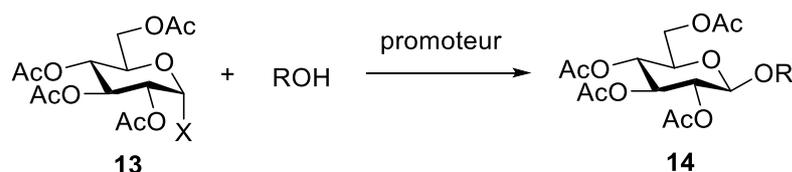


Schéma II.3 : Allylation d'un halogénure de glycoside

(X = Cl, Br, I)

L'équipe de Wessel⁵⁷ et l'équipe de Koto⁵⁸ ont appliqué cette réaction dans la synthèse de l'allyl-glycoside β peracétylé **15** (Schéma II.4). Le bromure de glycoside **12** est couplé avec l'alcool allylique en présence d'un sel de mercure ou d'un sel d'argent avec un rendement de 80 % (avec $\text{Hg}(\text{CN})_2$) ou 50 % (avec Ag_2CO_3). Il est intéressant de noter que, de manière inhabituelle, l'alcool allylique est utilisé comme solvant dans ces deux réactions.

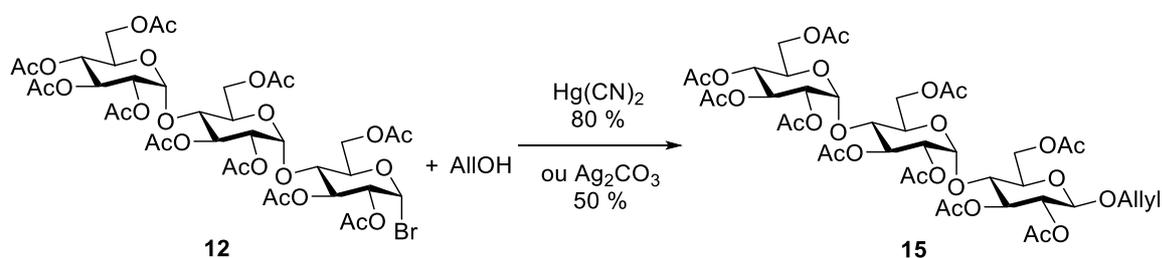


Schéma II.4 : Allylation de maltotriose dans la littérature

[51] R. Rodebaugh, B. Fraser-Reid, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 7663-7678.

[52] E. A. Talley, M. D. Vale, E. Yanovsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1945**, *67*, 2037-2039.

[53] M. Haribal, Z. Yang, A. B. Attygalle, J. A. A. Renwick, J. Meinwald, *J. Nat. Prod.* **2001**, *64*, 440-443.

[54] E. Rodriguez, R. Stick, *Aust. J. Chem.* **1990**, *43*, 665-679.

[55] K. i. Takeo, T. Imai, *Carbohydr. Res.* **1987**, *165*, 123-128.

[56] D. Mukherjee, P. Kumar Ray, U. Sankar Chowdhury, *Tetrahedron* **2001**, *57*, 7701-7704.

[57] H. P. Wessel, B. Mayer, G. Englert, *Carbohydr. Res.* **1993**, *242*, 141-151.

[58] K. Shinkiti, H. Hisamitsu, S. Sonoko, H. Motoko, N. Teiko, M. Chika, F. Misuzu, G. Ayano, S. Tomoko, O. Masato, Z. Shonosuke, Y. Kazuo, T. Fumiya, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1995**, *68*, 2331-2348.

II.3.2. Travaux précédents au labo

II.3.2.1. Premiers essais d'allylation

L'allylation du glycoside **12** a été réalisée en modifiant les méthodes décrites ci-dessus (Schéma II.5). Nous avons utilisé le CH_2Cl_2 comme solvant avec l'alcool allylique en tant que réactif. Pour le promoteur, nous avons préféré n'utiliser ni $\text{Hg}(\text{CN})_2$, car il entraîne l'émission d' HCN , ni Ag_2CO_3 , décrit pour donner de mauvais rendements.⁶¹ Dans un premier temps, nous avons choisi de tester le mélange HgO/HgBr_2 , puis nous nous sommes tournés vers AgOTf a priori moins toxique (Schéma II.5).

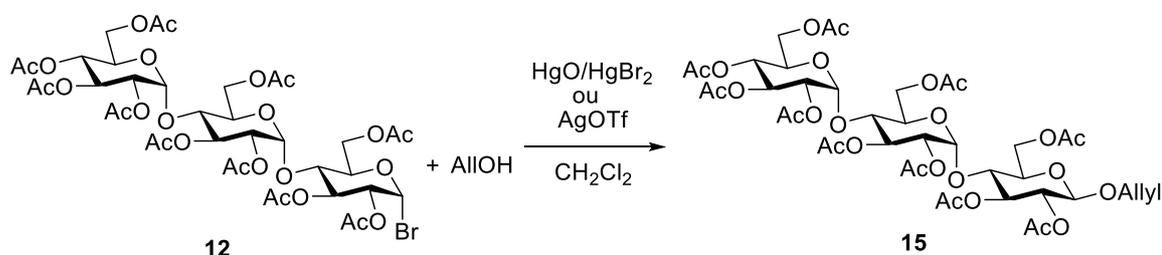


Schéma II.5 : Premières conditions choisies pour l'allylation du produit **12**

Entrée	Concentration	AlOH	Promoteur	Température	Temps	Rendement
1	0,15 M	52 éq.	HgO/HgBr_2	t.a.	4 h	78 %
2	0,15 M	1,5 éq.	AgOTf	-20 °C à 0 °C	2 h	34 %

Tableau II.1 : Résultats des premières allylations du bromure **12**

En présence de HgO/HgBr_2 , le glycoside 1,2-*trans* désiré **15** est obtenu avec un rendement de 78 %, mais HgO/HgBr_2 est toxique et nécessite un traitement lourd (Tableau II.1, entrée 1). Dans le cas de AgOTf , le rendement est beaucoup plus faible, seulement 34 % de produit désiré **15** est obtenu (Tableau II.1, entrée 2). Dans ce cas, on a récupéré aussi 45 % d'un mélange de produits secondaires dont les spectres RMN ^1H et de masse ont montré qu'il s'agissait d'un mélange α/β d'allyle-glycosides **16**, dans lequel l'acétate en position 2 de l'extrémité réductrice a été déprotégé. Dans le spectre RMN ^1H , les signaux de H-1¹ et H-2¹ sont déplacés par rapport à ce que l'on observe dans le spectre RMN ^1H du produit **15**. Tout particulièrement, le signal de H-2¹ est déplacé de 4,85 ppm vers les champs forts, on

en a donc conclu que le produit secondaire est le mélange α/β **16** d'allyle-glycoside ayant perdu un acétate en O-2¹ (Figure II.2).

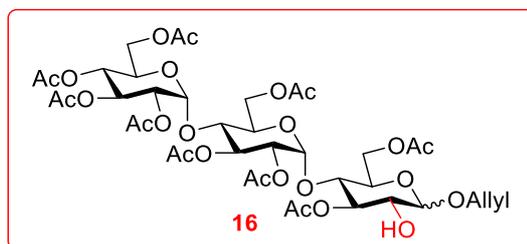


Figure II.2 : Produits secondaires obtenus pendant la réaction d'allylation

Un produit secondaire similaire **19** avait déjà été observé par l'équipe de A. Iadonisi au cours de réactions d'allylation de l'iodures anomérique **17**,⁵⁹ Ils ont de plus montré que la formation du produit secondaire se passe après la formation de l'intermédiaire orthoester **20** (Schéma II.6).

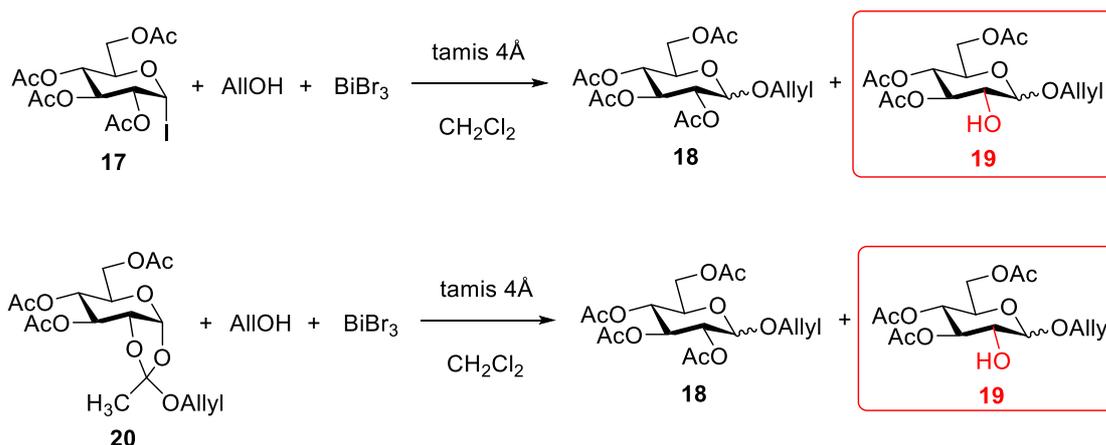


Schéma II.6 : Exemple de désacétylation en O-2 pendant une réaction d'allylation

Dans la littérature,⁶⁰ un mécanisme plausible expliquant une désacétylation en O-2 lors d'une réaction de glycosylation a été proposé (Schéma II.7). En activant avec un promoteur fort comme AgOTf, le bromure de glycoside **21** est converti en acétoxonium **22**. L'attaque de l'alcool allylique par la face β sur la position anomérique donne le β -glycoside désiré **23**. Mais une attaque sur le carbone de l'acétoxonium conduit à la formation de l'orthoester protonné **24** qui est en équilibre avec sa forme tautomère **25**. Ce dernier peut conduire à

[59] A. Pastore, M. Adinolfi, A. Iadonisi, *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 2008, 6206-6212.

[60] U. Aich, D. Loganathan, *Carbohydr. Res.* **2006**, 341, 19-28.

l'oxocarbénium **26** qui peut éliminer une molécule d'acétate d'allyle pour conduire au glycosyle cation **27**. Ce dernier, ne possédant plus de groupement participant en 2, conduit à un mélange de glycosides 1,2-*cis* et 1,2-*trans* après attaque de l'alcool allylique. Donc, si on veut éviter la formation du produit secondaire **28**, on a deux choix :

1. Favoriser un mécanisme de type SN2
2. Favoriser les processus bimoléculaires

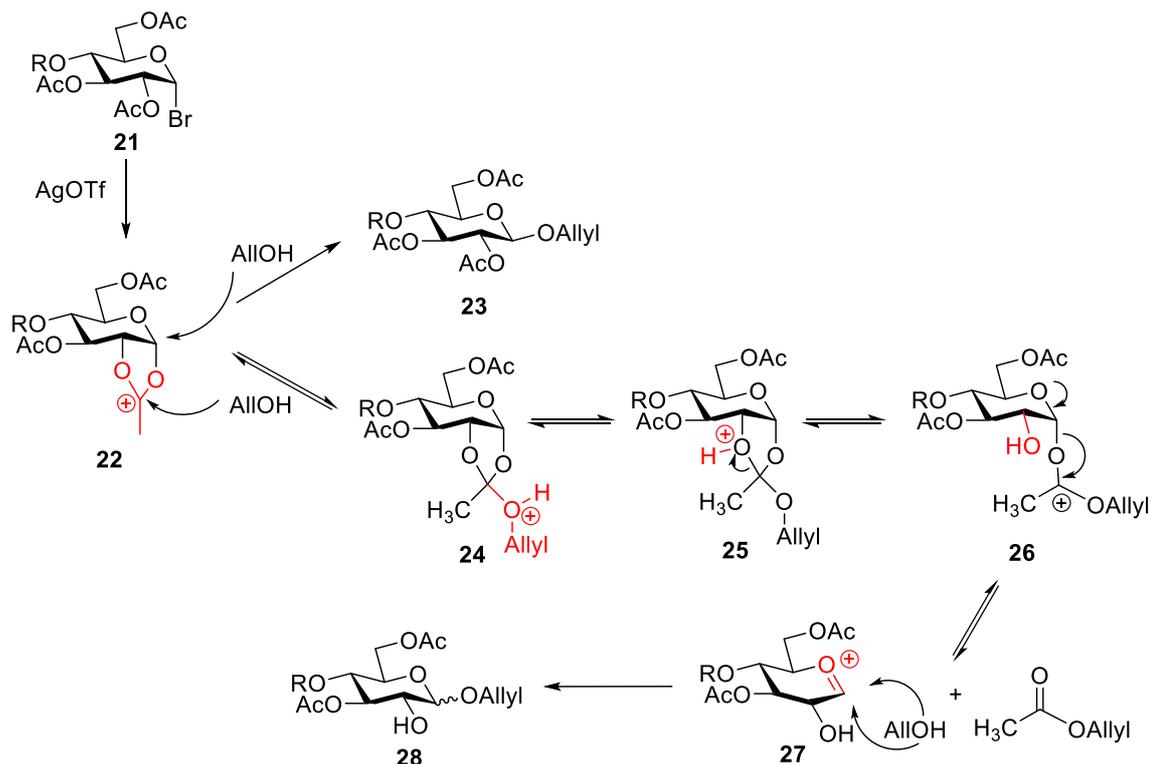


Schéma II.7 : Un mécanisme plausible pour la désacétylation en O-2 pendant l'allylation

II.3.2.2. Utilisation de promoteur doux pour favoriser un mécanisme de type SN2

On choisit un promoteur doux comme le sel de mercure, dans ce cas, la réaction est supposée être plutôt de type SN2. On est donc sensé éviter la formation de l'ion acétoxonium **22** et donc d'éviter la formation de produit secondaire **28**. Avec HgBr₂/HgO, nous avons obtenu un bon rendement de 78 % (Tableau II.1), ce qui confirme cette hypothèse (l'utilisation de 52 équivalents d'alcool allylique peut aussi être, comme on le verra ci-dessous, à l'origine de ce bon rendement). Mais les sels de mercure sont toxiques

et nécessitent un traitement post réaction comprenant de nombreuses extractions. On peut essayer d'autres promoteurs doux comme par exemple : InCl_3 .

Nous avons testé InCl_3 comme promoteur. Le bromure de glycoside **12** est couplé avec 1,5 équivalents d'alcool allylique dans le dichlorométhane à 0°C (Schéma II.8). Comme prévu, il n'a pas eu la formation du produit secondaire **16**. Mais le taux de conversion estimé par CCM est seulement 50 % et on a eu un mélange d'allyl-glycosides α (**29**) et β (**15**) dans un rapport α/β de 1/9. La présence de l'anomère α **29** peut s'expliquer par un mécanisme de type anomérisation *in situ* de Lemieux résultant de l'attaque d'ion chlorure sur la position anomérique (Schéma II.9). Ces résultats confortent donc l'hypothèse du passage par un mécanisme de type "pseudo $\text{S}_\text{N}2$ " dans cette réaction de glycosylation.

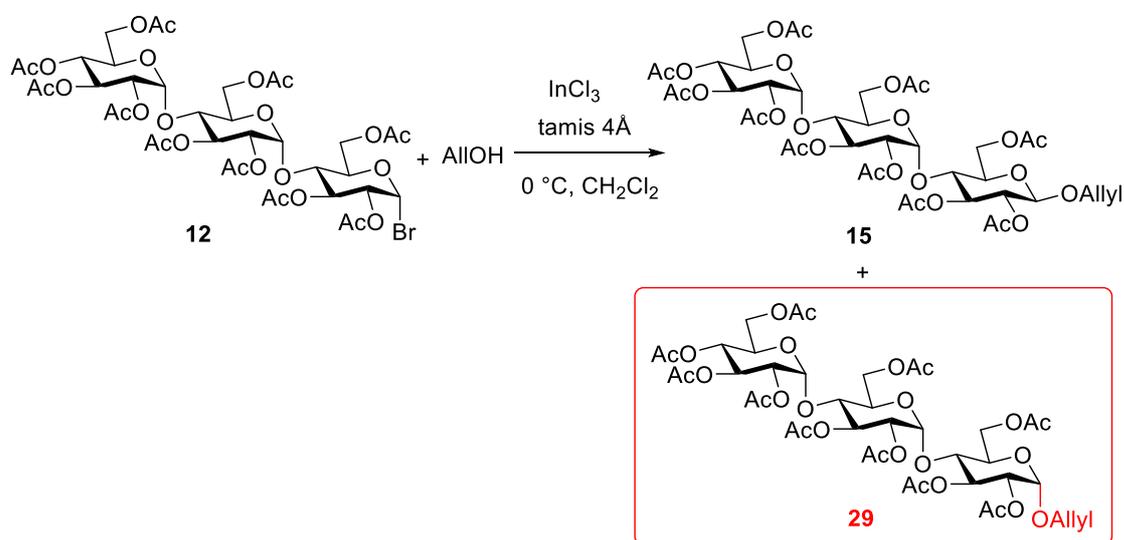


Schéma II.8 : Alkylation du bromure **12** en présence d' InCl_3

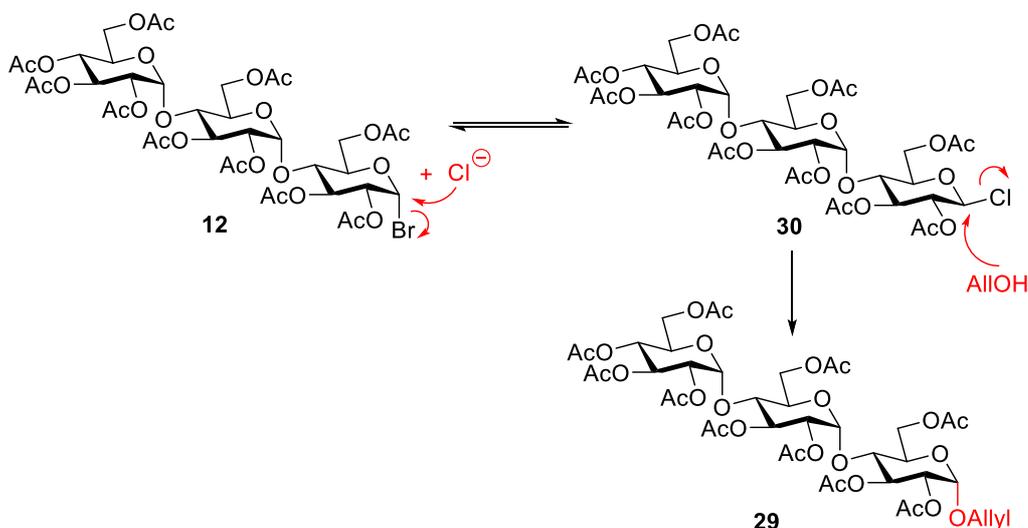


Schéma II.9 : Mécanisme proposé pour la formation de l'anomère α

II.3.2.3. Utilisation d'un grand excès d'alcool allylique pour favoriser les processus bimoléculaires

Maintenant, nous avons encore une autre possibilité pour favoriser la formation du produit désiré **22** : favoriser les processus bimoléculaires. Si on choisit comme promoteur AgOTf, on forme l'ion acétoxonium **22** (Schéma II.7). Dans la voie qui conduit à la formation du produit désiré **23**, il n'existe qu'une réaction intermoléculaire. Par contre dans la voie qui conduit à la formation du produit secondaire **28**, il existe plusieurs étapes monomoléculaires. Si on augmente la quantité d'AlIOH, on favorise plutôt la réaction intermoléculaire et donc la formation du produit désiré **23** par rapport au produit secondaire **28**.

Dans une réaction de glycosylation, il est accepté que l'étape limitante est la formation de l'intermédiaire oxocarbénium. On peut donc penser que, dans le chemin réactionnel conduisant de l'ion acétoxonium **22** au mélange **28** de glycosides désacétylés en O-2, l'étape limitante est l'élimination d'acétate d'allyle (**26**→**27**). Comme ce processus est monomoléculaire, donc indépendant de la concentration en alcool allylique, alors que la cinétique de formation de l'allyle glycoside **23** est vraisemblablement d'ordre partiel 1 par rapport à l'ion **22** et l'alcool allylique, on peut attendre qu'une augmentation de la concentration en accepteur limite la formation des produits secondaires **28**. C'est peut-être pourquoi, comme souligné ci-dessus, l'alcool d'allylique a été utilisé comme solvant dans certaines réactions d'allylation décrites dans la littérature (Schéma II.4).

II.3.3. Allylation de la position anomérique du maltotriose avec AgOTf

Nous avons donc testé l'effet de l'augmentation de la quantité de l'alcool allylique en utilisant AgOTf comme promoteur. Le bromure de glycoside **12** réagit avec l'alcool allylique dès -20 °C (Schéma II.10). En travaillant avec 52 équivalents d'alcool allylique, le produit désiré **15** a été isolé avec un rendement de 89 % à des échelles allant jusqu'à 17 g, avantageux par rapport au rendement de 34 % obtenu en utilisant seulement 1,5 équivalents d'alcool allylique (Tableau II.1). Comme attendu, on n'a pas observé de produit

secondaire **16**. Il semblerait donc bien que la réaction intermoléculaire soit favorisée avec un grand excès d'alcool allylique.

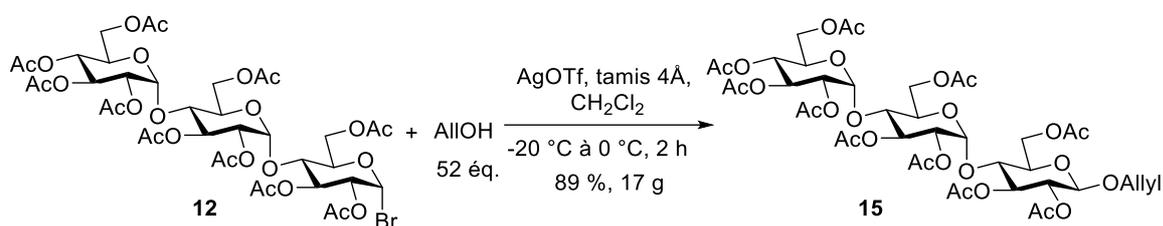


Schéma II.10 : Alkylation du produit **12** en présence d'AgOTf et de 52 éq. d'AlIiOH

II.3.4. Conclusion

Nous avons trouvé deux conditions pour l'allylation de la position anomérique du maltotriose **4** :

- (1) En utilisant HgO/HgBr₂ comme promoteur avec 52 équivalents d'alcool allylique, on obtient le bon produit avec un rendement de 78 %.
- (2) En utilisant AgOTf comme promoteur avec 52 équivalents d'alcool allylique, le produit désiré est aussi obtenu avec un rendement de 83 %.

Comme HgO/HgBr₂ est toxique et nécessite un traitement plus lourd, on a décidé de choisir la condition avec AgOTf pour la préparation du produit **15**.

II.4. Desacétylation et introduction du 4^{III},6^{III}-*para*-méthoxybenzylidène et des TBDPS sans purification intermédiaire

En suivant la stratégie de synthèse du maltotriose fonctionnalisé (Schéma II.1), le composé **15** doit être désacétylé, puis un groupement *para*-méthoxybenzylidène doit être installé sur la position O-4^{III} et O-6^{III} du composé **10**. L'étape suivante est la protection des hydroxyles primaires sur les positions O-6^I et O-6^{II} de composé **9** par des groupements TBDPS pour donner le composé **8** (Schéma II.11). Cependant, une purification par chromatographie d'exclusion stérique (Sephadex LH-20) est nécessaire pour isoler le produit **9** entre les trois étapes car les composés **10** et **9** sont solubles dans l'eau. Cette purification complique la

synthèse et limite à 200-300 mg l'échelle à laquelle la réaction d'introduction du *para*-méthoxybenzylidène peut être menée. Donc, nous avons tenté d'éliminer cette étape de purification par Sephadex LH-20 et de réaliser les trois étapes directement l'une après l'autre. Pour ce faire il nous fallait remplacer la purification par Sephadex LH-20 par un traitement plus simple et bien choisir des conditions réactionnelles.

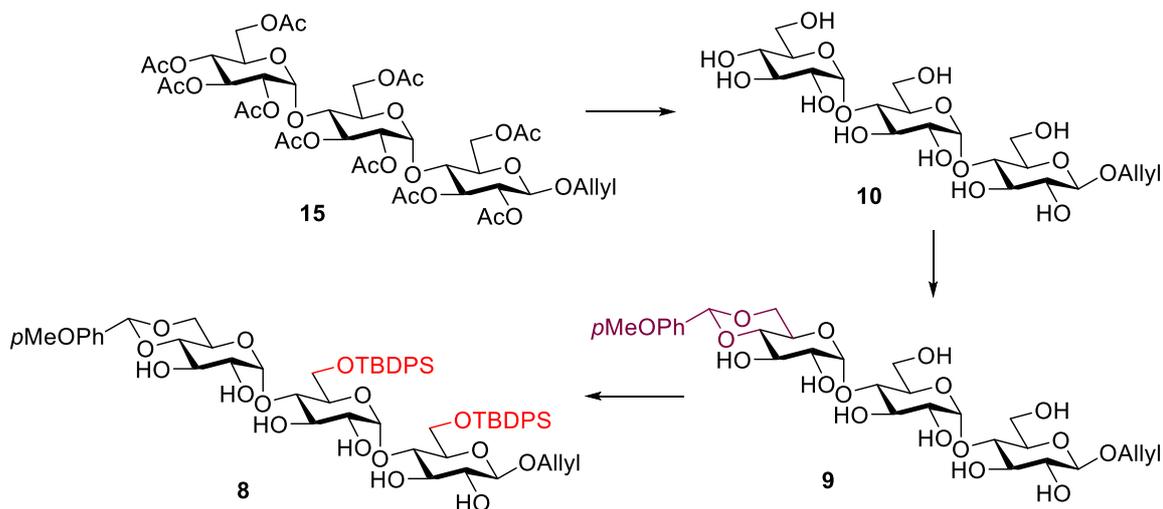


Schéma II.11 : Préparation du produit **8** à partir du produit **15** sans purification intermédiaire

II.4.1. Desacétylation

Nous avons utilisé deux conditions pour la desacétylation du produit **15** (Schéma II.12) :

(1) En utilisant 0,1 équivalent de méthanolate de sodium comme base et le méthanol comme solvant, on obtient le produit **10** attendu avec un rendement quantitatif à des échelles de plusieurs grammes.

(2) En utilisant 1 équivalent de carbonate de potassium comme base et en menant la réaction à 50 °C dans le méthanol, le produit désiré est aussi obtenu avec un rendement quantitatif, là aussi à des échelles de plusieurs grammes.

Dans les deux cas, nous avons appliqué le même traitement : ajout d'eau, puis neutralisation avec une résine échangeuse d'ions (Dowex 50WX8-400 H⁺), filtration et lyophilisation. Mais dans le cas du carbonate de potassium, il est nécessaire d'utiliser beaucoup plus de résine à l'origine d'impuretés qui inhibent la réaction suivante. Donc, on a décidé de choisir la condition en utilisant méthanolate de sodium dans le méthanol pour la préparation du

produit **10**.

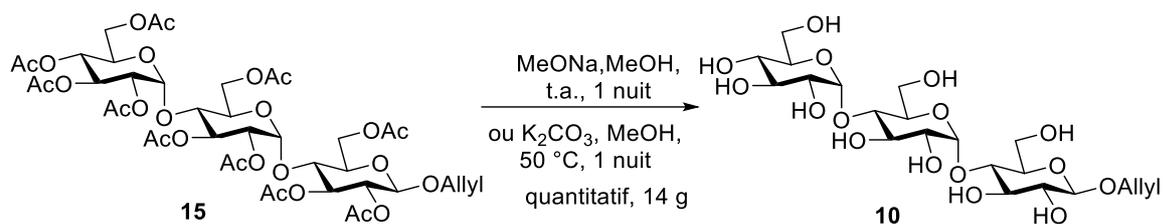


Schéma II.12 : Synthèse du produit **10** à partir du produit **15**

II.4.2. Introduction du groupement $4^{\text{III}},6^{\text{III}}$ *para*-methoxybenzylidène

II.4.2.1. Conditions usuelles pour l'introduction du groupement $4^{\text{III}},6^{\text{III}}$ *para*-methoxybenzylidène

Ensuite le *para*-méthoxybenzylidène doit être installé sélectivement sur la position O- 4^{III} et O- 6^{III} . Il existe deux réactions principales pour l'introduction d'un groupement *para*-méthoxybenzylidène : l'acétalisation avec l'anisaldéhyde **32** ou la transacétalisation avec le diméthylacétal **33** (Schéma II.13).

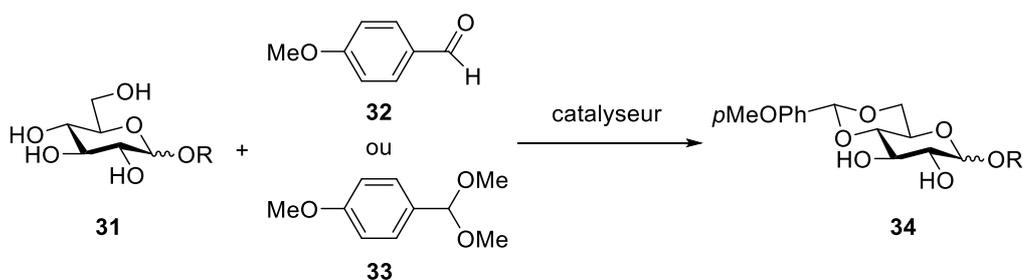


Schéma II.13 : Acétalisation et transacétalisation pour l'introduction d'un *para*-methoxybenzylidène

Dans la littérature, la formation d'un benzylidène **36** sur un maltotriose **4** avec le diméthylacétal **35**⁶¹ et la formation d'un *para*-méthoxybenzylidène **38** sur un maltose **37**⁶² avec le diméthylacétal **33** ont été décrites (Schéma II.14). La réaction de transacétalisation

[61] T. K. Lindhorst, C. Braun, S. G. Withers, *Carbohydr. Res.* **1995**, 268, 93-106.

[62] J. C. Morales, S. Penadés, *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 5011-5014.

catalysée par *p*TsOH est appliquée dans les deux publications. Mais il n'y a pas celle d'un *para*-méthoxybenzylidène sur un maltotriose. Donc, dans un premier temps, on a appliqué la transacétalisation pour installer le *para*-méthoxybenzylidène sur l'allyl- β -maltotriose **10**.

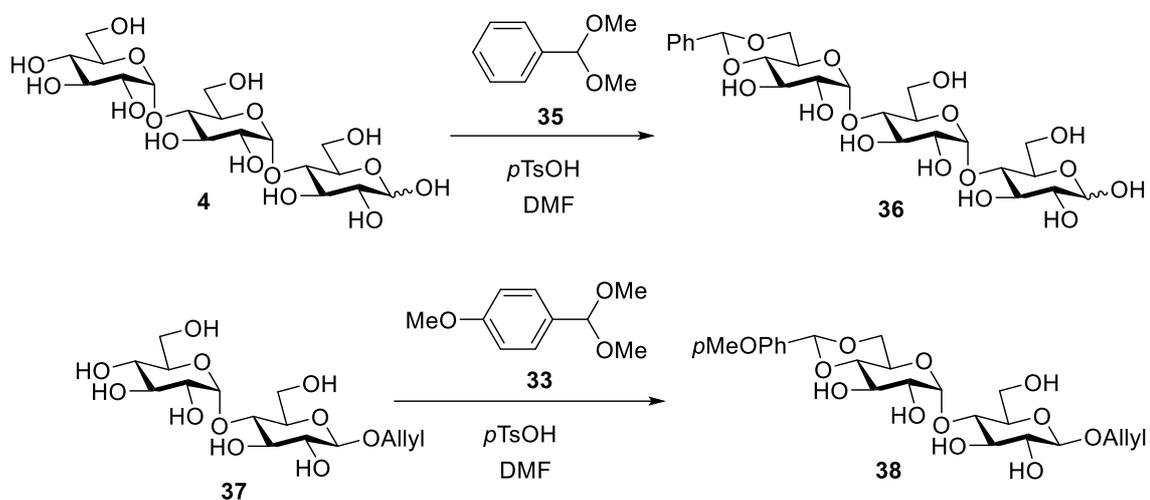


Schéma II.14 : Introduction d'un benzylidène sur l'extrémité non réductrice d'oligomaltosides

II.4.2.2. Travaux précédents au laboratoire

II.4.2.2.1. Transacétalisation par le diméthylacétal du *p*-anisaldéhyde

En présence de *p*TsOH comme catalyseur, l'allyl- β -maltotriose **10** a réagi avec le diméthylacétal du *p*-anisaldéhyde **33** à température ambiante (Schéma II.15). Mais, après trois heures, la réaction n'avance plus et seule la moitié du produit **10** a réagi. Le produit désiré **9** s'est formé, mais accompagné de produits secondaires, sans doute des acétals mixtes.

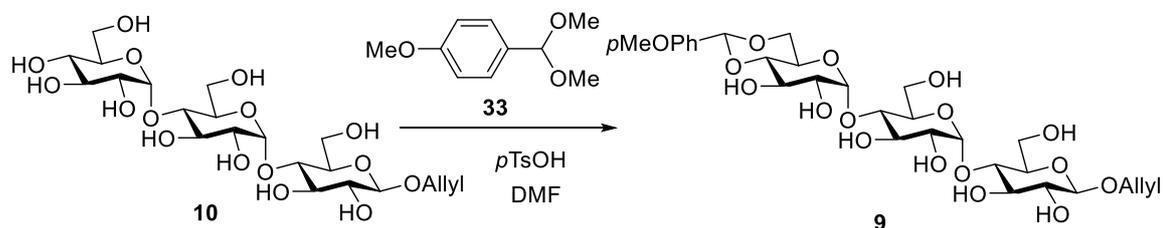


Schéma II.15 : Introduction du groupement *p*-methoxybenzylidène par transacétalisation

II.4.2.2.2. Acétalisation par le *p*-anisaldéhyde

Nous avons alors décidé d'essayer l'acétalisation classique par le *p*-anisaldéhyde **32**. Selon la littérature, différents catalyseurs peuvent être utilisés dans cette réaction : ZnCl₂,⁶³ TFA,⁶⁴ VO(OTf)₂,⁶⁵, etc. Nous avons testé les réactions dans le *p*-anisaldéhyde en présence de ZnCl₂, TFA ou Yb(OTf)₃ (Yb(OTf)₃ est choisi pour remplacer VO(OTf)₂ qui n'est pas un produit commercial) (Schéma II.16).

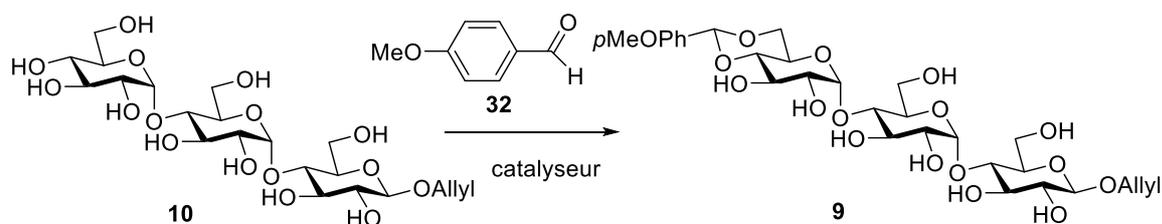


Schéma II.16 : Acétalisation du produit **10** par le *p*-anisaldéhyde

Après trois heures, les trois réactions n'avancent plus et, dans chaque cas, le taux de conversion du produit de départ **10** estimé par CCM est de 40 % (Tableau II.2, entrées 1 à 3). En présence de ZnCl₂ et Yb(OTf)₃, il n'y a pas de produit secondaire. Cependant, en présence de TFA, des produits secondaires, de rapport frontal plus élevé en CCM, se sont formés dès le début de la réaction, ce qui nous a conduit à abandonner ce catalyseur. Les deux autres réactions ont alors été placées sous vide ($3,1 \times 10^{-2}$ kPa) afin d'éliminer l'eau qui se forme pendant la réaction et donc déplacer l'équilibre dans le sens désiré. Après 1 h sous vide, les deux réactions sont finies. Le suivi par CCM indique que la réaction en présence de ZnCl₂ conduit à la formation de moins de produits secondaires que celle menée avec Yb(OTf)₃. La "catalyse" par ZnCl₂ (4 équivalents) semble donc la plus appropriée, mais, comme détaillé ci-dessous, le traitement de la réaction s'est avéré problématique.

Normalement, dans les traitements usuels, le ZnCl₂ est enlevé par un lavage à l'eau. Malheureusement, le produit **9** est aussi soluble dans l'eau. Nous avons donc essayé de précipiter l'ion Zn²⁺ avec une solution de Na₂CO₃, mais cela n'a pas fonctionné. Nous n'avons donc pas trouvé un traitement efficace pour enlever les 4 équivalents de ZnCl₂. En revanche comme Yb(OTf)₃ est utilisé en quantité sub-stoechiométrique (0,1 équivalent), nous avons pensé qu'il ne serait peut-être pas nécessaire de l'éliminer avant d'engager la

[63] L. Zervas, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1931**, *64*, 2289-2296.

[64] B. Thollas, J.-C. Jacquinet, *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 434-442.

[65] C.-T. Chen, S.-S. Weng, J.-Q. Kao, C.-C. Lin, M.-D. Jan, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 3343-3346.

réaction de silylation. Donc, nous avons décidé de choisir Yb(OTf)₃ comme catalyseur pour effectuer la réaction d'acétalisation. Mais, comme il se forme pas mal de produits secondaires, une optimisation était nécessaire.

Entrée	Concentration	Catalyseur	Eq. de catalyseur	Température	Temps	Conversion
1	0,1 M	TFA	5,4 éq.	t.a.	3 h	40 % ^b
2	0,27 M	ZnCl ₂	4 éq.	t.a.	3 h	40 % ^a
3	0,1 M	Yb(OTf) ₃	0,1 éq.	t.a.	3 h	40 % ^a

a. Formation seulement du produit désiré

b. Formation du produit désiré et produit secondaire

Tableau II.2 : Résultats des acétalisations du produit **10** en présence des différents catalyseurs

II.4.2.2.3. Optimisation de la réaction en présence de Yb(OTf)₃

Pour augmenter le rendement de cette réaction, il faut limiter la formation des produits secondaires. Dans la réaction précédente, on a constaté que les produits secondaires se forment à une pression de $3,1 \times 10^{-2}$ kPa (0,2 mm Hg). Ça veut dire que la basse pression a trop déplacé l'équilibre, sans doute vers la formation d'acétals mixtes entre deux trisaccharides. Bien sûr, la concentration du produit peut jouer un rôle important aussi. Donc, il faut essayer de modifier la concentration et la pression afin de trouver un compromis pour que l'eau formée dans la réaction soit éliminée suffisamment lentement pour que la formation des produits secondaires soit faible. Plusieurs essais ont été effectués (Schéma II.17, Tableau II.3). Dans cette période d'optimisation, le produit désiré a été isolé à chaque fois par chromatographie d'exclusion stérique (Sephadex LH-20). Les résultats consignés dans les trois premières lignes du Tableau II.3, entrées 1 à 3 montrent que les changements de concentration et de quantité de catalyseur n'ont que peu d'influence sur le résultat de la réaction avec des rendements après Sephadex LH-20 variant de 49 % à 53 %. On a essayé aussi de diminuer la quantité d'anisaldéhyde à 1 équivalent, en l'utilisant comme réactif dans le DMF, mais il n'y a pas eu de réaction (Tableau II.3, entrée 4). Ensuite, nous avons fait varier la pression de 0,031 à 2,3 kPa (0,2 à 17,3 mm Hg). Nous avons trouvé que plus la pression était faible, plus le rendement diminuait (Tableau II.3, entrées 1, 5 et

6). Ainsi, le rendement en produit désiré **9** a augmenté à 76 % et 82 % en mettant la réaction sous un vide de 0,6 et 2,3 kPa (4,5 et 17,3 mm Hg, Tableau II.3, entrée 5 et 6). De manière intéressante, le même résultat est obtenu en utilisant 5 mol % de catalyseur à basse pression de 2,3 kPa (17,3 mm Hg) et en augmentant le temps de réaction de 6 à 8 h (entrée 7).

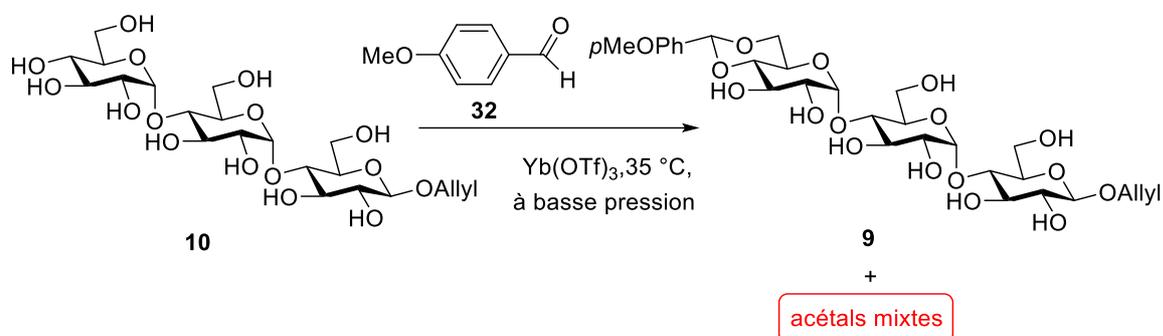


Schéma II.17 : Optimisation de la réaction en présence de Yb(OTf)_3

Entrée	Concentration	32	Yb(OTf)_3	Durée	Pression (kPa/mm Hg)	Rendement ^c
1	0,1 M	solvant	10 mol %	1 h ^a	0,031 / 0,2	49 %
2	0,03 M	solvant	10 mol %	3 h ^a	0,031 / 0,2	53 %
3	0,1 M	solvant	5 mol %	2 h ^a	0,031 / 0,2	52 %
4	0,1 M	1,1 éq. dans DMF	10 mol %	5 h ^a	0,031 / 0,2	—
5	0,1 M	solvant	10 mol %	6 h ^b	0,6 / 4,5	76 %
6	0,1 M	solvant	10 mol %	6 h ^b	2,3 / 17,3	82 %
7	0,1 M	solvant	5 mol %	8 h ^b	2,3 / 17,3	82%

a. la réaction est directement mise à basse pression.

b. la réaction est laissée à pression atmosphérique pendant 3 h, puis à basse pression jusqu'à ce que la réaction n'évolue plus.

c. rendement après purification par chromatographie d'exclusion stérique (Sephadex LH-20)

Tableau II.3 : Résultats des acétalisations en présence de Yb(OTf)_3 dans différentes conditions

Donc, après une optimisation de cette réaction, un rendement de 82 % a été obtenu en utilisant 5 mol % ou 10 mol % Yb(OTf)_3 dans l'anisaldéhyde (0.1 M) sous un vide de 2,3 kPa (17,3 mm Hg, Tableau II.3, entrées 6 et 7). Mais, à partir de 200 mg de produit **10**, un

problème est apparu : si on met la réaction à basse pression de 2,3 kPa (17,3 mm Hg), la conversion devient inférieure à 50 % et si on la met à plus basse pression de 0,6 ou 0,031 kPa (4,5 ou 0,2 mm Hg), une augmentation des produits secondaires est observée. Nous avons aussi essayé d'ajouter du tamis moléculaire 4Å (normal ou lavé à l'acide), mais cela n'a eu que peu d'influence. Donc, pour les réactions à large échelle avec Yb(OTf)₃, nous n'avons pas trouvé de bonne condition pour consommer tout le produit de départ sans former beaucoup de produits secondaires.

II.4.2.3. Installation du 4^{III},6^{III}-*para*-methoxybenzylidène avec Nd(OTf)₃

Heureusement, nous avons trouvé qu'en remplaçant Yb(OTf)₃ par Nd(OTf)₃, un autre triflate de lanthanide plus doux, il était possible de mener la réaction d'installation du 4^{III},6^{III}-*para*-methoxybenzylidène à grande échelle à basse pression sans formation de beaucoup de produit secondaire.

II.4.2.3.1. Influence de la basse pression

Plusieurs essais ont été effectués. Tout d'abord, à une concentration de 0,1 M dans le *p*-anisaldéhyde **32**, la réaction est laissée à pression atmosphérique pendant 3 heures à 35 °C en présence 10 % mol Nd(OTf)₃. On constate qu'alors, le produit de départ **10** s'est bien solubilisé. Puis, la réaction a été mise sous vide de 0,044 kPa (0,3 mm Hg) en utilisant une pompe à palettes et l'agitation maintenue à 35 °C, entre 40 minutes à 1 heure, jusqu'à ce que la réaction n'évolue plus (Schéma II.18). Cependant, si on laisse la réaction se prolonger encore 30 minutes, des produits secondaires commencent à se former en quantité non négligeable. L'équilibre a sans doute été trop déplacé, entraînant la formation d'acétals mixtes entre deux trisaccharides. Il est important de noter que pour suivre l'évolution de la réaction, une CCM-2D, qui nécessite au moins 15 minutes, est nécessaire car le *p*-anisaldéhyde utilisé comme solvant et est peu volatile. Les conditions décrites ci-dessus se sont donc avérées peu reproductibles car il est difficile de stopper la réaction à un optimum de conversion et avant l'apparition de produits secondaires. D'autre part, nous avons constaté que la faible solubilité du produit de départ dans le milieu réactionnel représentait un autre facteur de non reproductibilité. En effet, nous avons observé que dans certains cas, même après 3 heures d'agitation à pression atmosphérique et 40 minutes sous vide de 0,044

kPa (0,3 mm Hg), il restait toujours une quantité non négligeable de produit de départ non solubilisé dans le *p*-anisaldéhyde. Dans ce cas, deux molécules du bon produit **9** vont réagir avec le *p*-anisaldéhyde produisant un acétal mixte avant une conversion complète de produit de départ.

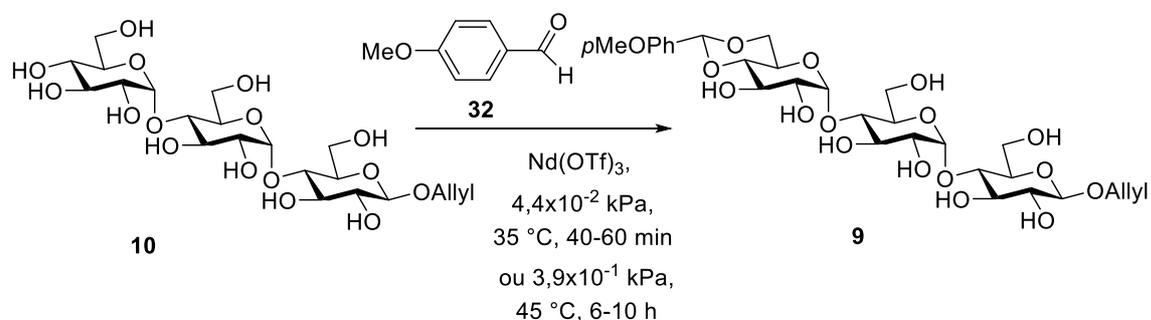


Schéma II.18 : Installation du 4^{III},6^{III}-*para*-methoxybenzylidène avec Nd(OTf)₃

La faible cinétique de solubilisation du composé **10** nous étant apparue comme néfaste à une bonne reproductibilité, nous avons donc décidé d'augmenter la pression de 0,044 kPa (0,3 mm Hg) à 0,39 kPa (2,9 mm Hg) pour augmenter le temps de réaction et donc permettre une solubilisation régulière du composé **10**. La réaction est ainsi directement mise à basse pression de 0,39 kPa (2,9 mm Hg) et maintenue sous agitation à 45 °C pendant 6 à 10 heures. Dans ces conditions, la réaction peut être suivie par CCM-2D et arrêtée dès qu'il ne reste plus que des traces de produit de départ et avant que les produits secondaires commencent à se former. De manière intéressante, nous avons remarqué que la réaction devait être arrêtée dès que le milieu réactionnel devient limpide, un autre indice de la consommation quasi totale du produit de départ **10**. Ainsi, en contrôlant le temps de réaction de manière plus précise, nous avons pu limiter la formation des produits secondaires et obtenir des rendements de plus de 80 % à des échelles multi-grammes.

II.4.2.3.2. Mise au point du traitement

Le traitement de la réaction d'acétalisation est aussi très important pour la réaction suivante. Comme le *p*-anisaldéhyde est soluble en solvant organique, alors que le composé **9** et le triflate de néodyme(III) (10 mol%) sont solubles dans l'eau, nous avons simplement neutralisé le milieu en ajoutant 1 équivalent de Et₃N, dilué le milieu réactionnel par de l'eau et lavé la phase aqueuse par du solvant organique. Entre tous les solvants souvent utilisés, dichlorométhane est le meilleur pour bien éliminer le *p*-anisaldéhyde et les produits

secondaires de la phase aqueuse. Mais il y a aussi une quantité importante de produit désiré **9** qui est soluble dans le dichlorométhane. Nous avons donc décidé d'optimiser les proportions d'un mélange dichlorométhane/diéthyl éther comme phase organique de lavage. Avec un ratio $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Et}_2\text{O}$ 4/1 (v/v), il est possible d'enlever tout l'excès de *p*-anisaldéhyde et les produits secondaires par simple traitement extractif. Le produit désiré brut est directement engagé dans la réaction de silylation après une concentration sous vide suivie d'une lyophilisation finale.

II.4.2.3.3. Transformation des acétals mixtes au bon produit

En outre, comme les produits secondaires extraits dans la phase organique sont des acétals mixtes entre deux trisaccharides, moins stables qu'un acétal cyclique, nous avons pensé qu'il est possible d'obtenir le bon produit **9** via une réaction de méthanolyse sélective. Pour cela, après évaporation du mélange $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Et}_2\text{O}$, nous avons ajouté 10 équivalents de méthanol et 5 mol% de $\text{Nd}(\text{OTf})_3$ à 0 °C pendant 2 à 3 heures (Schéma II.19). Dans ces conditions, la majorité des acétals mixtes se sont transformé en bon produit. Nous avons aussi essayé d'ajouter le méthanol directement dans le milieu réactionnel au bout de la réaction avant la neutralisation par Et_3N , mais il reste toujours beaucoup de produits secondaires. Une explication rationnelle est qu'il y a déjà trop de bon produit dans le milieu réactionnel et qu'on ne peut déplacer l'équilibre plus loin dans le sens désiré.

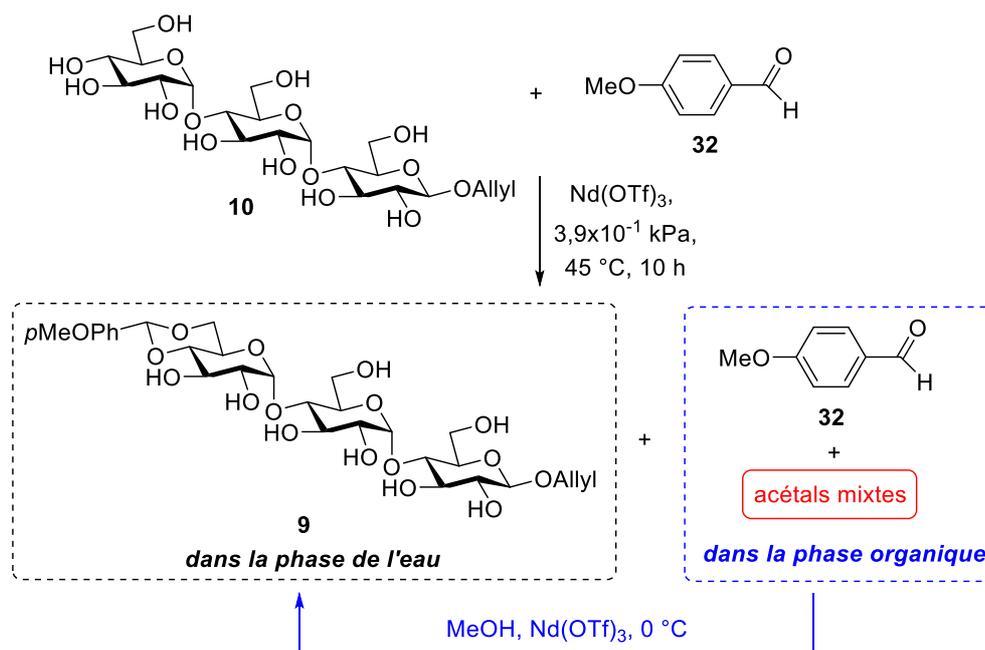


Schéma II.19 : Transformation des acétals mixtes au bon produit

II.4.2.4. Conclusion

Pour conclure, nous avons pu mettre au point une réaction d'acétalisation simple et reproductible à l'échelle multigramme du décaol **10** par l'anisaldéhyde. A une concentration de 0,1 M dans le *p*-anisaldéhyde utilisé comme solvant, en présence 10 % mol Nd(OTf)₃ et à basse pression de 0,39 kPa sous trompe à eau, il est possible de consommer tout le produit de départ **9** en ne formant que très peu de produits secondaires.

II.4.3. Silylation sélective des hydroxyles primaires du 4^{III},6^{III}-*para*-methoxybenzylidène

II.4.3.1. Silylation des motifs D-glucopyranosides

L'étape suivante est la protection des hydroxyles primaires sur les positions O-6^I et O-6^{II} par des groupements TBDPS. Dans la littérature, nous n'avons trouvé aucune description de silylation des hydroxyles primaires d'un dérivé de maltotriose. En revanche, nous avons trouvé quelques exemples sur des dérivés de maltose et de cyclodextrines (Schéma II.20).

En présence d'imidazole et de DMAP dans le DMF, le glycoside de maltose **39** a réagi avec TBDPSCl pour donner le 6^I,6^{II}-di-O-tert-butyldiphénylsilyle **40** avec un rendement de 80 %.⁶⁶ Sur les dérivés de cyclodextrine **41**, tous les hydroxyles sont bien sélectivement protégés en position O-6 par TBDMSCl lorsque la réaction est menée à température ambiante dans la pyridine⁶⁷ ou dans le DMF en présence d'imidazole.⁶⁸ Mais, si on utilise une condition plus forte, augmentation de la température par exemple, le produit **43**, dans lequel les positions O-2 sont aussi silylées, est obtenu comme le produit majoritaire.⁶⁷ De plus, en ajoutant une quantité catalytique de DMAP, le rendement du produit **43** est encore

[66] T. Fyrner, H.-H. Lee, A. Mangone, T. Ekblad, M. E. Pettitt, M. E. Callow, J. A. Callow, S. L. Conlan, R. Mutton, A. S. Clare, P. Konradsson, B. Liedberg, T. Ederth, *Langmuir* **2011**, *27*, 15034-15047.

[67] P. Fügedi, *Carbohydr. Res.* **1989**, *192*, 366-369.

[68] K. Takeo, H. Mitoh, K. Uemura, *Carbohydr. Res.* **1989**, *187*, 203-221.

augmenté.⁶⁹ Le même genre de produit disilylé **46**⁷⁰ est obtenu comme produit parasite lors de réactions de silylation de l' α -méthylglycoside **44**. Par contre, en appliquant la même condition sur le β -méthylglycoside **47**, le produit monosilylé **48** est obtenu comme produit unique.⁷¹

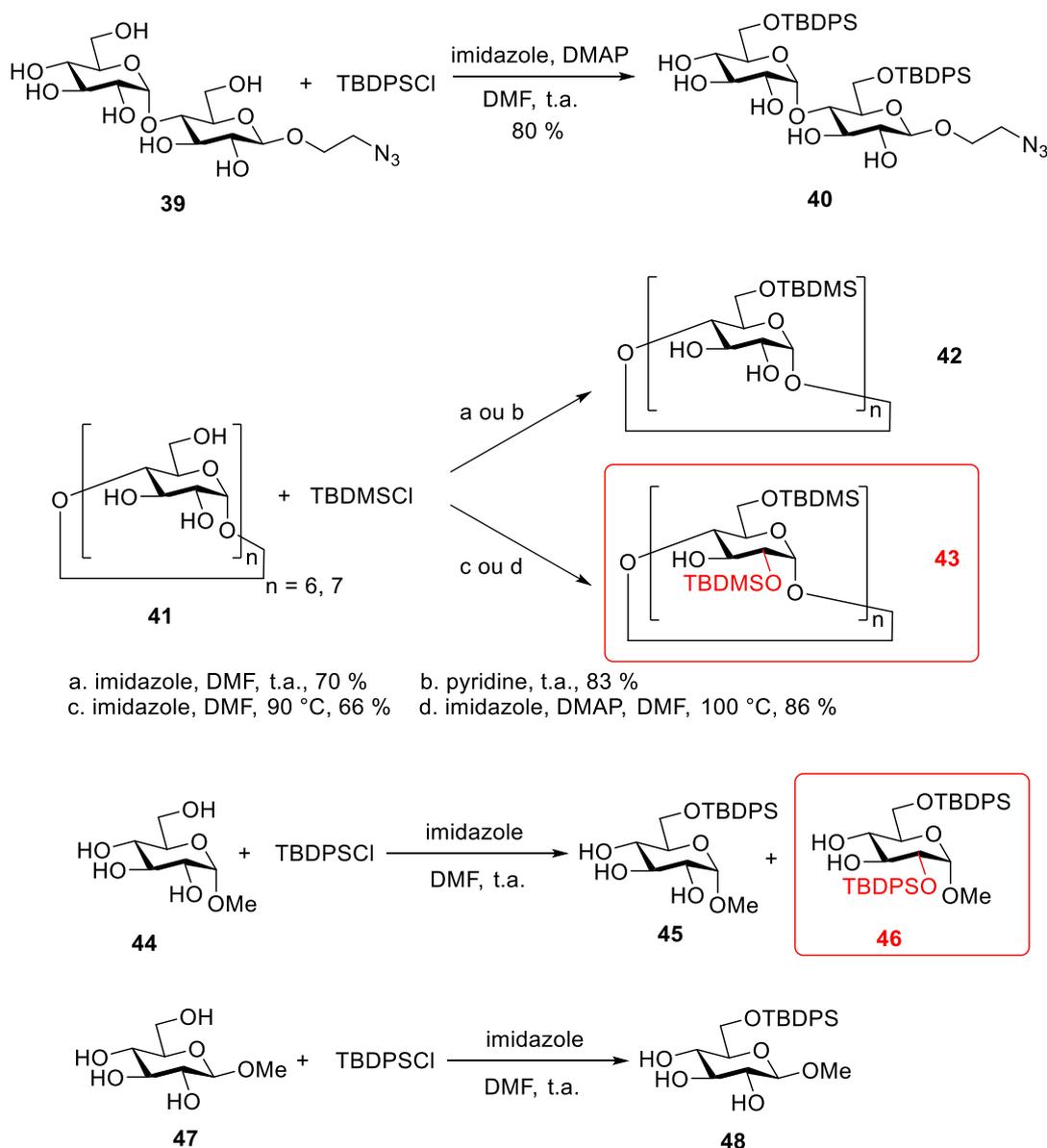


Schéma II.20 : Quelques exemples de silylation d'hydroxyles primaires en série D-*gluco*

[69] P. R. Ashton, S. E. Boyd, G. Gattuso, E. Y. Hartwell, R. Koeniger, N. Spencer, J. F. Stoddart, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 3898-3903.

[70] J. I. Padrón, J. T. Vázquez, *Tetrahedron: Asymmetry* **1998**, *9*, 613-627.

[71] A. Roën, J. I. Padrón, J. T. Vázquez, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 4615-4630.

La formation des produits disilylés **43** et **46** peut s'expliquer par l'effet de la liaison H entre l'hydrogène sur O-2 et l'oxygène axial sur la position anomérique (Figure II.3). Pour la cyclodextrine **41** et l' α -méthylglucoside **44**, O-2 et O-1 sont en configuration *cis*, donc on peut avoir une liaison H entre O-1 et l'hydrogène sur O-2. Cela conduit à un allongement de la liaison covalente entre O-2 et son hydrogène et rend cet oxygène plus nucléophile. Dans ce cas, il peut y avoir une compétition de silylation entre l'hydroxyle primaire et l'hydroxyle en position O-2. Mais pour le β -méthylglycoside **47**, O-2 et O-1 ne sont pas du même côté, la distance ne permet pas d'avoir une liaison H entre O-1 et l'hydrogène sur O-2. Dans ce cas, la nucléophilie de l'hydroxyle primaire est plus importante que celle de l'hydroxyle en position O-2, il y a moins de compétition et on peut avoir une bonne régiosélectivité.

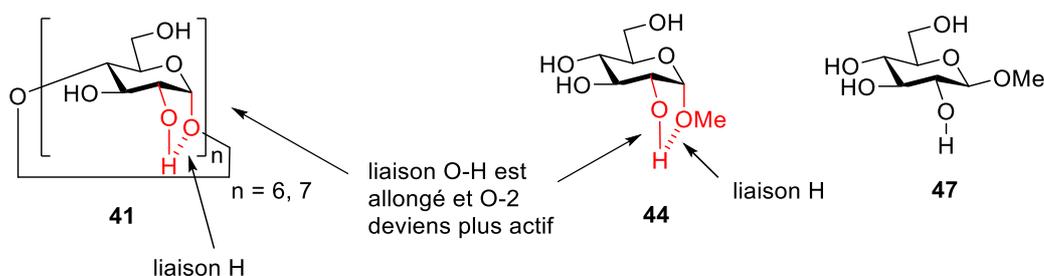


Figure II.3 : Activation de la nucléophilie de O-2 dans les α -D-glucopyranosides

Dans le dérivé du maltotriose **9**, on a la même situation que dans la cyclodextrine **41** et l' α -méthylglucoside **44**. Les hydroxyles en position O-2^{II} et O-2^{III} sont activés par des liaisons H (Figure II.3). Donc, la silylation de la position O-2^{II} et O-2^{III} peut se passer aussi. On doit donc faire attention aux conditions qu'on va choisir pour éviter ce genre de réaction parasite.

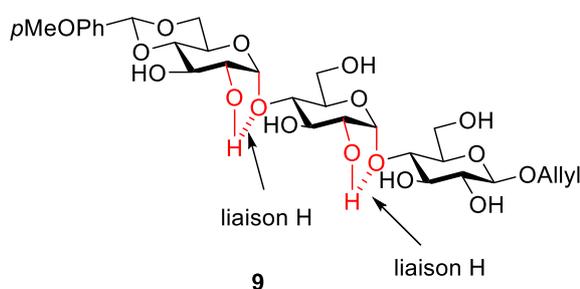


Figure II.4 : Liaisons H sur le produit **9**

II.4.3.2. Travaux précédents au labo

II.4.3.2.1. Premiers essais de silylation par TBDPSCI

Dans un premier temps, on a choisi deux conditions qui fonctionnent bien sur la cyclodextrine **41** (Schéma II.21). Le premier essai a été effectué à température ambiante avec 2,5 équivalents de TBDPSCI, 5 équivalents d'imidazole et à une concentration de 0,1 M dans DMF. Le deuxième essai a été effectué à température ambiante avec 2,5 équivalents de TBDPSCI à une concentration de 0,1 M dans la pyridine. En suivant par CCM, nous avons observé dans chaque cas une conversion très faible. Nous avons alors ajouté 10 mol % de DMAP, mais il n'y a pas eu d'évolution.

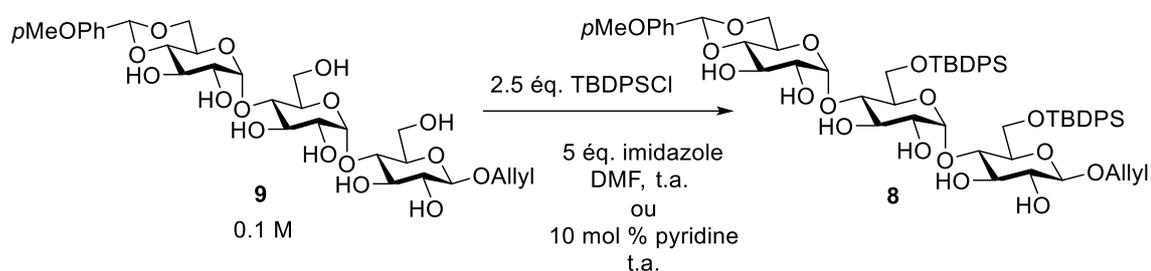


Schéma II.21 : Premiers essais de silylation par TBDPSCI sur le produit **9**

II.4.3.2.2. Etude modèle sur l' α -D-glucopyranoside de méthyle

Il nous a alors semblé nécessaire d'optimiser la réaction à partir d'un modèle pour ne pas gaspiller notre maltotrioside. Comme décrit ci-dessus, l' α -méthylglucoside **44** présente les mêmes liaisons H que le produit **9** et il est commercial. Donc, on a décidé d'optimiser la régiosélectivité de la silylation de l'hydroxyle primaire sur ce composé (Schéma II.22) en faisant varier plusieurs paramètres comme : la concentration du produit ou des réactifs, la température et la nature du solvant et des bases.

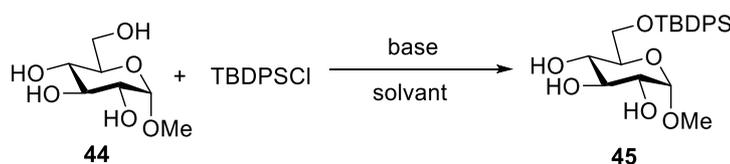


Schéma II.22 : La silylation d'hydroxyle primaire sur l' α -méthylglycoside **44** par TBDPSCI

II.4.3.2.2.a. Optimisation de la quantité de réactifs et de la concentration

Dans un premier temps, on a pris l'imidazole comme base et le DMF comme solvant. On a fixé la concentration du produit de départ **44** à 0,1 M et la quantité de TBDPSCl à 1,05 équivalents et on a étudié l'influence de la quantité d'imidazole (2 ou 10 équivalents). Les résultats sont consignés dans le Tableau II.4, entrées 1 et 2. Dans chaque cas la conversion du produit de départ était toujours d'environ 50 % mais, avec 10 équivalents d'imidazole, un produit secondaire apparaît. Le spectre de masse du produit secondaire correspond à un produit contenant deux TBDPS, vraisemblablement sursilylé en position O-2 **44**. Puis, en maintenant la quantité d'imidazole à 10 équivalents, on a augmenté la quantité de TBDPSCl à 2 équivalents (Tableau II.4, entrée 3). Comme attendu, la conversion du produit de départ a augmenté, atteignant 100 %, mais, assez logiquement, beaucoup de produit sursilylé a été formé. Pour tenter d'augmenter le taux de conversion sans avoir de sursilylation, nous avons étudié l'effet de la concentration tout en gardant une quantité minimum d'imidazole et de TBDPSCl. Donc, la quantité de TBDPSCl a été fixée à 1,05 équivalents et la quantité d'imidazole est fixée à 2 équivalents, nous avons augmenté la concentration du produit de départ de 0,1 M jusqu'à 1M. Avec des concentrations de 0,5 ou 1 M, les résultats sont identiques : la conversion est devenue presque totale sans avoir formé beaucoup de produit secondaire (Tableau II.4, entrées 4 et 5). Pour éviter d'avoir un milieu réactionnel trop visqueux, on a décidé de fixer la concentration à 0,5 M pour faire les optimisations suivantes.

Entrée	Concentration	TBDPSCl	Imidazole	Conversion
1	0,1 M	1,05 éq.	2 éq.	~ 50 % ^a
2	0,1 M	1,05 éq.	10 éq.	~ 50 % ^b
3	0,1 M	2 éq.	10 éq.	100 % ^c
4	0.5 M	1,05 éq.	2 éq.	~ 90 % ^b
5	1 M	1,05 éq.	2 éq.	~ 90 % ^b

a. absence du produit secondaire

b. présence de produit sursilylé

c. présence d'une quantité importante de produit secondaire

Tableau II.4 : Optimisation des quantités de réactifs et de la concentration

II.4.3.2.2.b. Optimisation du solvant et de la température de réaction.

Une fois la concentration du produit de départ et les quantités de TBDPSCl et d'imidazole fixées, nous avons commencé à regarder les influences des solvants et de la température sur la réaction (Tableau II.5). Dans DMF, on observe peu de différence lorsque l'on change la température de T. A. à 0 °C (Tableau II.5, entrées 1 et 2). De même il n'y avait pas de différence au niveau des résultats en passant du DMF au DMSO (Tableau II.5, entrées 1 et 3). En revanche, dans le THF beaucoup plus de produit secondaire s'est formé (Tableau II.5, entrées 1, 3 et 4). Ces résultats peuvent s'expliquer en considérant que dans le DMF ou le DMSO, la liaison hydrogène entre O-1 et l'hydrogène sur O-2 est plus faible que dans le THF. Par la suite, nous avons donc tenté d'affaiblir encore plus cette liaison hydrogène en ajoutant du bromure de lithium, déjà utilisé dans la littérature⁷² pour couper les fortes liaisons hydrogène intermoléculaires dans la cellulose afin de la solubiliser. Malheureusement, nous n'avons observé aucun changement par rapport à l'augmentation de la sélectivité de la silylation de l'hydroxyle primaire.

Entrée	Solvant	Température	Conversion
1	DMF	t.a.	~ 90 % ^q
2	DMF	0 °C	~ 90 % ^a
3	DMSO	t.a.	~ 90 % ^a
4	THF	t.a.	~ 90 % ^b
5	DMF + 6 éq. LiBr	t.a.	~ 90 % ^a

a. présence d'une faible quantité de produit secondaire

b. présence d'une quantité importante de produit secondaire

Tableau II.5 : Influence de la nature du solvant et de la température de réaction

Selon les résultats obtenus ci-dessus, le meilleur solvant est DMF ou DMSO et la température n'a pas beaucoup d'influence. Pour pouvoir donner un rendement isolé, nous

[72] K.-i. Furuhashi, K. Koganei, H.-S. Chang, N. Aoki, M. Sakamoto, *Carbohydr. Res.* **1992**, *230*, 165-177.

avons refait la réaction sur une plus grande quantité (100 mg) dans le DMF à TA avec une concentration en **44** de 0,5 M, 1,05 équivalents de TBDPSCl et 2 équivalents d'imidazole, 75 % de produit désiré **45** a été isolé après une chromatographie.

II.4.3.2.2.c. Influence de la nature de la base

Nous avons aussi remplacé l'imidazole par d'autres bases pour essayer d'obtenir un meilleur rendement (Tableau II.6). Dans les conditions de température, de concentration et d'excès de réactif déterminées ci-dessus, la réaction a été effectuée dans la pyridine en présence de 10 mol % de DMAP. Malheureusement, après trois heures, la réaction s'est bloquée et nous avons constaté que le milieu réactionnel n'était plus basique. Pour faire avancer la réaction, nous avons ajouté 3 équivalents de Et₃N et 1,2 équivalents de TBDPSCl. Une heure après, le produit de départ était totalement consommé, mais on a aussi obtenu beaucoup de produit secondaire. De plus, à cause de l'ajout des réactifs supplémentaires, le milieu réactionnel est devenu visqueux. Donc nous avons diminué la concentration à 0,3 M en **44** et 10 mol % de DMAP, 3 équivalents de Et₃N et 1,05 équivalents de TBDPSCl ont été ajoutés dès le départ. Après 3 h à T. A., 1,2 équivalents de TBDPSCl ont été ajoutés en 3 fois sur trois heures. Après traitement et chromatographie, nous avons isolé 76 % du produit désiré **45**. Puis, nous avons effectué la réaction à 0 °C en suivant le même protocole. Cette fois, nous avons eu moins de produit secondaire et nous avons augmenté le rendement à 86 %.

Entrée	Concentration	TBDPSCl	Base	Solvant	Température	Rendement
1	0,5 M	1,05 éq.	2 éq. imidazole	DMF	t.a.	75 %
2	0,3 M	2,25 éq. ^a	3 éq. Et ₃ N + 10 % DMAP	pyridine	t.a.	76 %
3	0,3 M	2,25 éq. ^a	3 éq. Et ₃ N + 10 % DMAP	pyridine	0 °C	86 %

a. 1,05 éq. TBDPSCl est ajouté au départ, après 3 h, 1,2 éq. TBDPSCl est ajouté en 3 fois (une fois par heure)

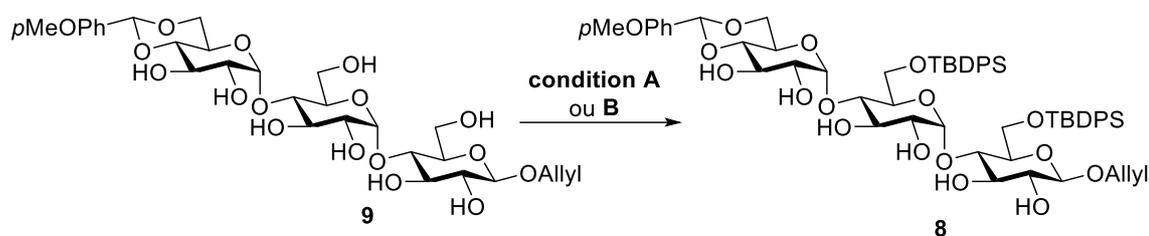
Tableau II.6 : Résultats des silylations en présence d'autres bases

II.4.3.2.2.d. Conclusion

Nous avons amélioré la sélectivité des réactions de silylation pour l'hydroxyle primaire de l' α -méthylglycoside **44**. En utilisant l'imidazole comme base et le DMF comme solvant, le meilleur rendement obtenu a été de 75 % (**condition A**). Nous avons trouvé aussi une autre condition qui nous permet d'obtenir 86 % de rendement : mener la réaction à 0 °C dans la pyridine avec une concentration de 0,3 M, 2,25 équivalents de TBDPSCl, 3 équivalents de Et₃N et 10 mol % de DMAP (**condition B**).

II.4.3.2.3. Application des conditions optimisées sur le dérivé de maltotriose

Nous avons appliqué les deux conditions optimisées sur le dérivé de maltotriose **9** (Schéma II.23).



condition A : 0,5 M dans DMF à t.a., 1,05 éq. TBDPSCl et 2 éq. imidazole

condition B : 0,3 M dans pyridine à 0 °C, 2,25 éq. TBDPSCl, 3 éq. Et₃N et 10 mol % DMAP

(la concentration et les quantités des réactifs sont calculées par rapport aux hydroxyles primaires du **9**)

Schéma II.23 : Silylations du dérivé de maltotriose **9** dans des conditions optimisées par les études modèles

Dans la **condition A**, le suivi par CCM montre qu'après 3 h de réaction il n'y a plus de produit de départ **9**. En revanche, en plus du produit **8** attendu, on a observé la formation de produits secondaires, identifiés par spectrométrie de masse comme étant des produits monosilylés ou sursilylés. Nous avons tenté de pousser la réaction en ajoutant de l'imidazole et du TBDPSCl, mais la réaction était bloquée. Nous avons alors traité la réaction et l'avons relancée dans les mêmes **conditions A**, mais en ne mettant que 0,5 équivalent de TBDPSCl. Le même processus a dû être effectué une troisième fois, pour convertir totalement les produits monosilylés. Avec ce protocole non optimisé, nous avons quand même pu isoler après chromatographie 78 % du produit désiré **8**. Mais, le mode opératoire utilisant l'imidazole comme base, nous semblant difficile à rendre reproductible, nous avons testé les **conditions B**.

Malheureusement, après 3h à 0 °C, aucune réaction n'a eu lieu. Donc nous avons augmenté

la température jusqu'à T.A. et la réaction a démarré. Après 2 h, nous avons constaté, par suivi CCM, que le produit de départ **8** était totalement consommé. Mais une grande quantité de produit monosilylé restait et la réaction était bloquée. Nous avons alors ajouté plusieurs portions de TBDPSCl, Et₃N et DMAP et augmenté la température du milieu réactionnel. Finalement, à 60 °C en présence d'une quantité totale de 12 équivalents de Et₃N, 2 équivalents de DMAP et 7 équivalents de TBDPSCl, le produit monosilylé est totalement converti. Après une chromatographie, nous avons pu isoler 68 % de produit désiré **7**. Pour avoir un protocole descriptible, nous avons refait cette réaction à 60 °C en mettant 12 équivalents de Et₃N, 2 équivalents de DMAP et 3 équivalents de TBDPSCl dès le départ. Après 3 h, la réaction n'était pas complète et nous avons ajouté 1 équivalent de TBDPSCl au milieu réactionnel. Une heure après, la réaction était finie et, après traitement, nous avons isolé le produit **7** avec un rendement de 75 %.

II.4.3.3. Mise au point de la silylation

Après optimisation des conditions, nous avons finalement réussi à effectuer la réaction à une concentration de 0,1 M dans pyridine à 60 °C en utilisant 4 équivalents de TBDPSCl (2 équivalents de TBDPSCl pour chaque hydroxyle primaire), 2 équivalents de DMAP comme catalyseur nucléophile et 12 équivalents de Et₃N comme base (Schéma II.24). Le suivi par CCM montre, qu'après 3 h de réaction, il n'y plus de produit de départ **9**. Cependant, en plus du produit désiré **8** (rendement isolé plus de 80 %), nous avons aussi observé une faible proportion de produits monosilylés et sursilylés. Comme à l'étape précédente (introduction du *p*-méthoxybenzylène), il est nécessaire de suivre la réaction par CCM et de l'arrêter dès qu'il n'y plus de produit de départ et que les produits secondaires commencent à apparaître.

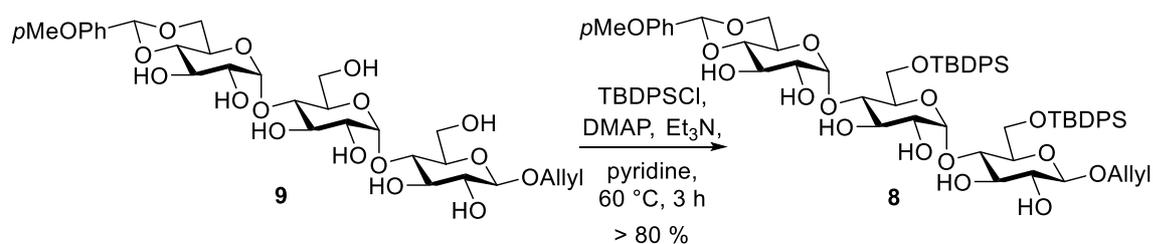


Schéma II.24 : Silylation sélective des hydroxyles primaires par TBDPSCl sur le produit **9**

II.4.4. Trois étapes sans purification intermédiaire

Finalement, nous avons tenté de réaliser les trois étapes (desacétylation, acétalisation et silylation) directement l'une après l'autre en nous basant sur les meilleures conditions mises au point pour chacune d'elles et en nous imposant de ne réaliser qu'une chromatographie sur le produit final fin. Nous avons réussi à des échelles allant jusqu'à 3 g à obtenir le produit désiré **8** avec un rendement global de 62 % sur les trois étapes (Schéma II.25), soit un rendement moyen par étapes de 85 %.

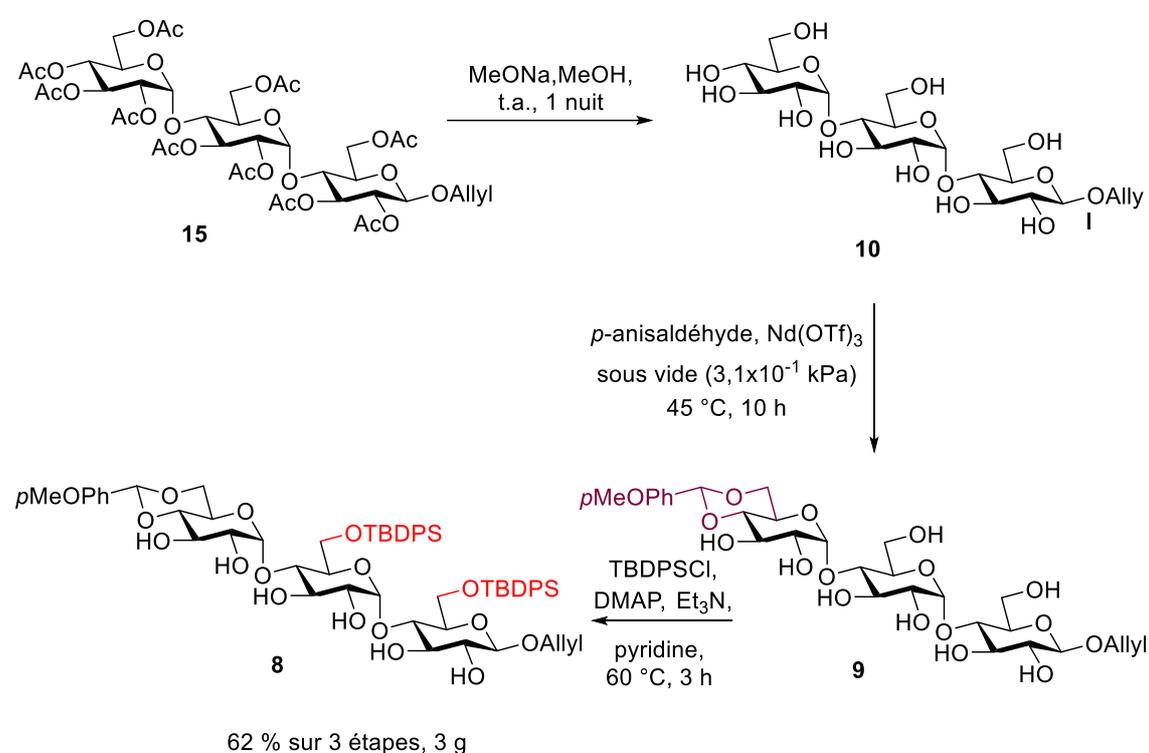


Schéma II.25 : Desacétylation, acétalisation et silylation sans purification intermédiaire

De plus, nous avons aussi pu recycler en produit **10** la majorité des produits monosilylés et sursilylés, ainsi que d'éventuels acétals mixtes silylés en les traitant par du TBAF dans le THF à 60°C pendant une nuit et puis simplement par une résine échangeuse d'ions (Dowex 50WX8-400 H^+). Donc, le rendement réel sur ces trois étapes est plus grand que 62% (Schéma II.26).

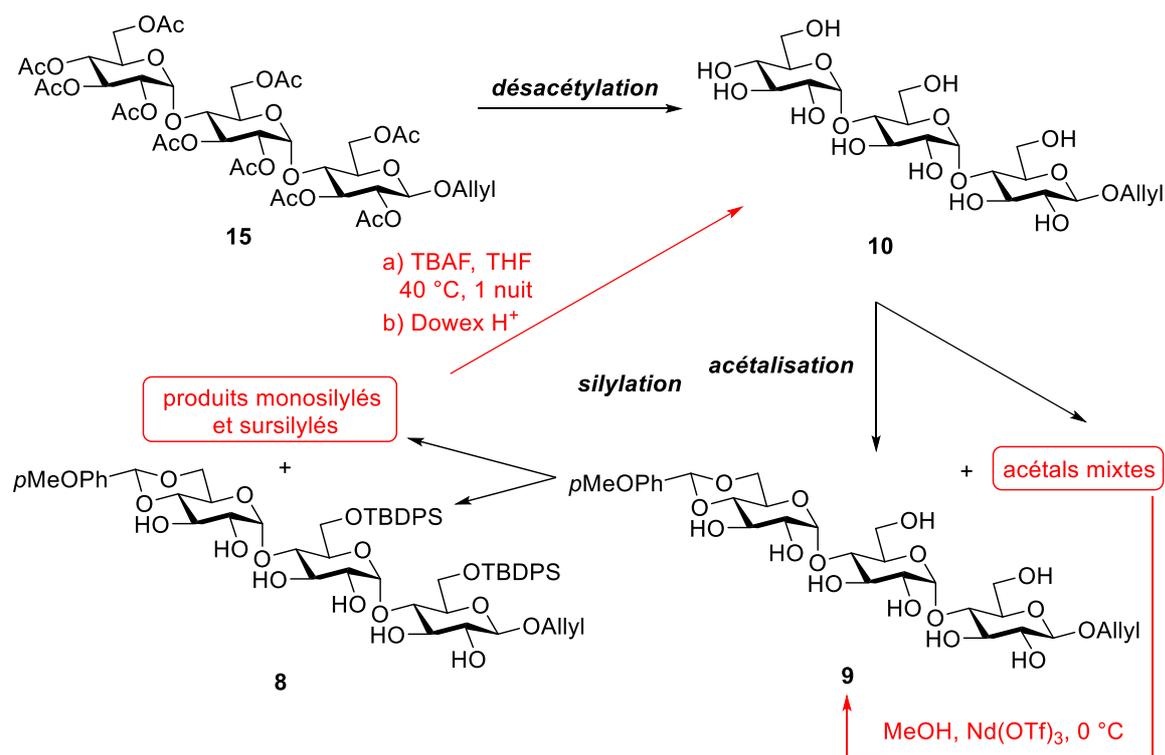


Schéma II.26 : Recyclage des produits secondaires dans les trois étapes

II.5. Fin de synthèse du maltotriose fonctionnalisé

II.5.1. Benzoylation des hydroxyles libres restants

Pour finir la synthèse du maltotriose fonctionnalisé, nous avons tout d'abord benzoylé les hydroxyles libres restants du produit **8** en utilisant du bromure de benzyle et de l'hydruure de sodium comme base et en menant la réaction dans le DMF à 0 °C.⁷³ Dans le traitement de la réaction, il est prudent d'éviter de détruire l'excès de NaH en ajoutant un alcool comme MeOH ou *i*PrOH, car l'alcolate formé peut attaquer et enlever le groupement TBDPS. Nous avons opté pour un ajout de glace au milieu réactionnel qui laisse les groupements TBDPS intacts. Cette étape donc s'est effectuée sans problème avec un rendement de 89 % à des échelles allant jusqu'à 8 g (Schéma II.27).

[73] O. Gavard, Y. Hersant, J. Alais, V. Duverger, A. Dilhas, A. Bascou, D. Bonnaffé, *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 2003, 3603-3620.

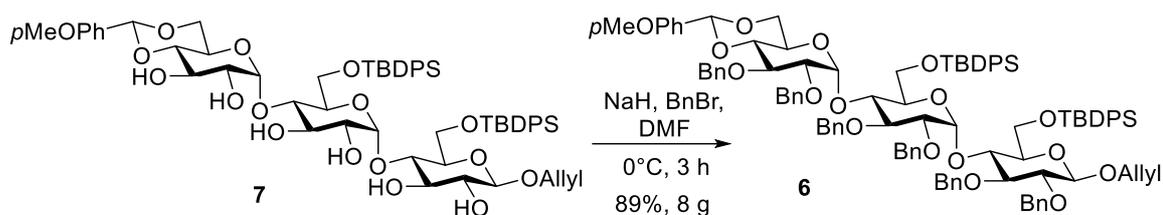


Schéma II.27 : Benzoylation du produit 8

II.5.2. Ouverture réductrice régiosélective du groupement *para*-méthoxybenzylidène

Ensuite, en utilisant le couple $\text{PhBCl}_2/\text{Et}_3\text{SiH}$ dans diéther en présence de tamis moléculaire 4Å, nous avons pu effectuer facilement et avec un excellent rendement (97 %) la réaction d'ouverture régiosélective du groupement *para*-méthoxybenzylidène et de libérer la position O-6^{III} du maltotriose 7, ce à des échelles allant jusqu'à 5 g (Schéma II.28).

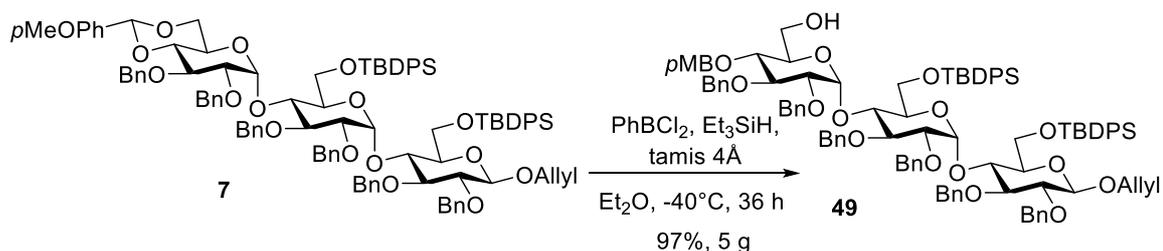


Schéma II.28 : Ouverture réductrice du groupement *p*-méthoxybenzylidène

II.5.3. Acétylation ou benzoylation de la position O-6^{III}

La dernière étape de synthèse du maltotriose fonctionnalisé 5 est la protection d'hydroxyle primaire en position O-6^{III} du produit 49. Nous avons dans un premier temps acétylé l'hydroxyle libre par l'anhydride acétique en présence de pyridine à 50 °C avec un rendement de 96 % en produit 5 à l'échelle de 1 g (Schéma II.27).

Ensuite, en raison de la nécessité d'étudier l'oligomérisation (voir le chapitre suivant), nous avons aussi fait benzoylation du produit 49 par l'action de chlorure de benzoyle dans la pyridine à température ambiante, le produit 6 a été isolé avec un rendement de 93 % à des échelles allant jusqu'à 5 g (Schéma II.27).

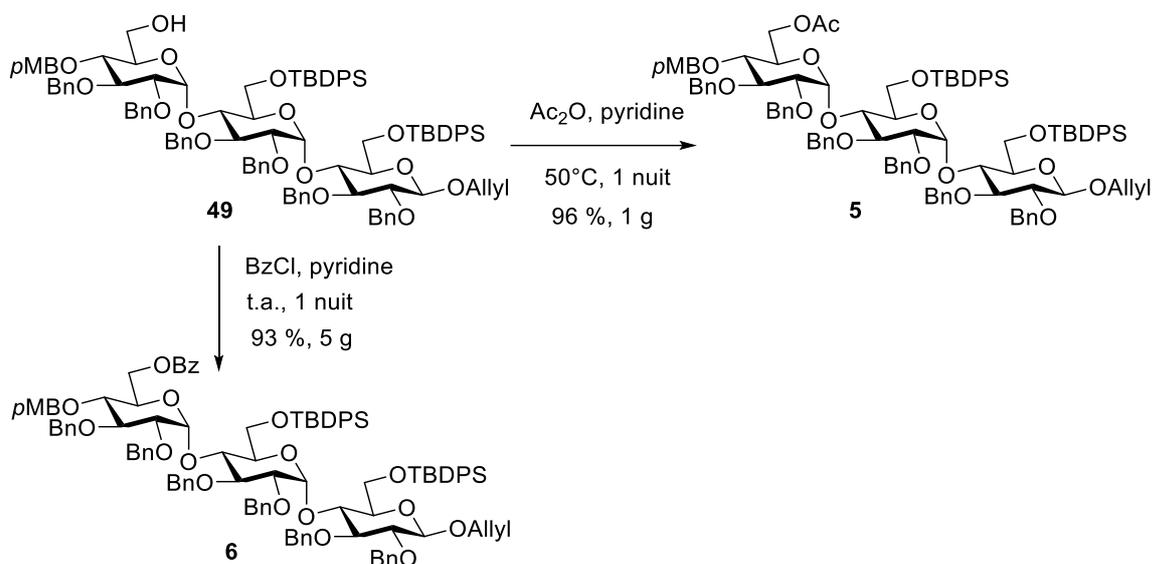


Schéma II.29 : Acétylation ou benzylation de la position O-6^{III} du maltotrioside **49**

II.6. Scale-up et conclusion

Pour avoir assez de maltotriose fonctionnalisé **5** ou **6** pour pouvoir commencer l'étude de son oligomérisation et valider la voie de synthèse à grande échelle, nous avons décidé de préparer la plus grande quantité possible d'intermédiaire clef **49** à partir du maltotriose commercial **4** (95 % de pureté, Schéma II.30). Pour étudier l'effet de la nature du groupement protecteur en position O-6^{III} sur les réactions de glycosylation (voir la Chapitre suivante), cet intermédiaire clef a été acétylé ou benzylé en dérivé maltotrioside oligomérisable **5** ou **6**.

La synthèse que nous avons mise au point nous permet de préparer en 9 étapes à partir du maltotriose commercial **4**, une brique trisaccharidique potentiellement oligomérisable. Outre un bon rendement global de 43 % en produit acétylé **5** et de 41 % en produit benzylé **6**, cette synthèse est facile à mettre en œuvre puisque, nous avons pu obtenir, en deux mois à temps plein, 10 g maltotrioside oligomérisable **6**. Cette voie de synthèse a donc été validée à grand échelle et assez de matière première pour l'étude des réactions de glycosylation a été préparée.

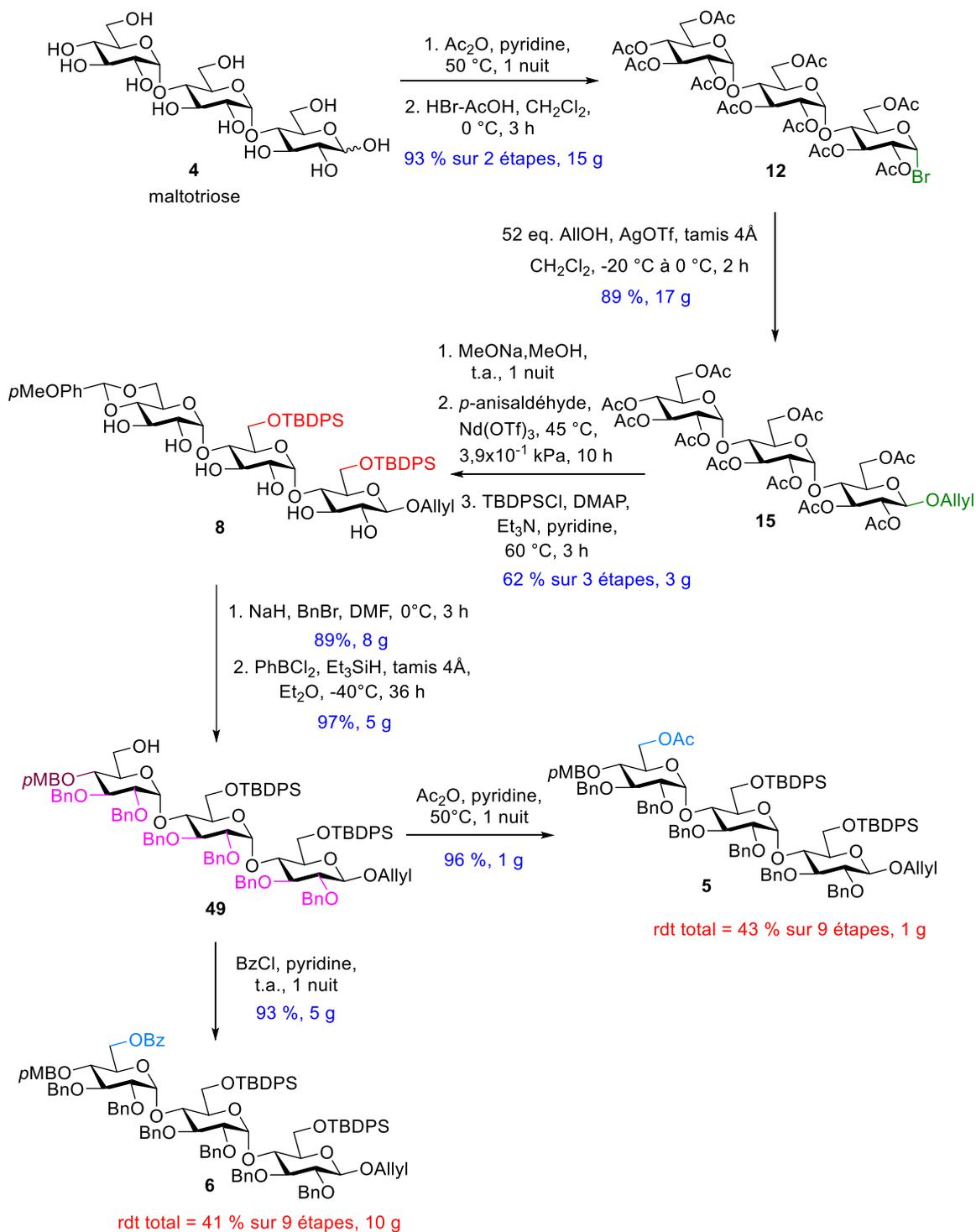


Schéma II.30 : Synthèse du maltotriose fonctionnalisé à grande échelle

CHAPITRE III : OLIGOMÉRISATION DE LA BRIQUE MALTOTRIOSIQUE FONCTIONNALISÉ ET ACCES AUX HEXA, NONA ET DODECASACCHARIDE PROTÉGÉS

III.1. Méthodes décrites de la glycosylation $\alpha(1\rightarrow4)$

III.1.1. Introduction

Dans le chapitre précédent, nous avons décrit comment nous avons obtenu une grande quantité de matière première pour préparer des donneurs et des accepteurs afin de réaliser les études méthodologiques sur la glycosylation $\alpha(1\rightarrow4)$ permettant l'oligomérisation de la brique maltotriosique qui nous donnera à terme la chimiothèque d'oligomaltosides sulfatés.

Au chapitre II, nous avons justifié le choix de certains groupements protecteurs à l'exception de ceux, en position O-2^l et O-6^l, qui influent sur la stéréosélectivité de la réaction de glycosylation. Pour favoriser la formation d'un α -D-glucoside (glycosylation 1,2-*cis*), un groupement non-participant en O-2 est majoritairement utilisé.^{74, 75} Pour préparer des sucres neutres, le groupement non-participant le plus utilisé est le groupement benzyle (Bn). Dans le cas de la préparation de 2-amino-2-désoxy- α -D-glucosides, le groupement utilisé est le groupement N₃. Au-delà de ces considérations très générales, d'autres éléments permettent de jouer sur la stéréosélectivité de la réaction : glycosylation

[74] A. V. Demchenko, *Curr. Org. Chem.* **2003**, 7, 35-79.

[75] J.-H. Kim, H. Yang, J. Park, G.-J. Boons, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 12090-12097.

par un donneur de configuration β -D-glucosyle, glycosylation avec assistance d'un groupement encombrant ou participant à longue distance, glycosylation dans un solvant étheré, glycosylation intramoléculaire etc. Ces différents aspects seront développés ci-dessous.

III.1.2. Glucosylation $\alpha(1\rightarrow4)$ utilisant un donneur de β -D-glucosyle

L'équipe de Mukaiyama a démontré que le fluorure de β -glucoside **50** peut être activé en présence de SnCl_2 et AgClO_4 à $-15\text{ }^\circ\text{C}$ pour donner le disaccharide **52** avec un excellent rendement et une bonne stéréosélectivité α/β de 4/1 (Schéma III.1).⁷⁶ Le même disaccharide a été synthétisé par l'équipe de Sinaÿ en utilisant le β -N-méthylacétimide **53** comme donneur.⁷⁷ Un bon rendement et une sélectivité α totale ont été obtenus dans ces conditions.

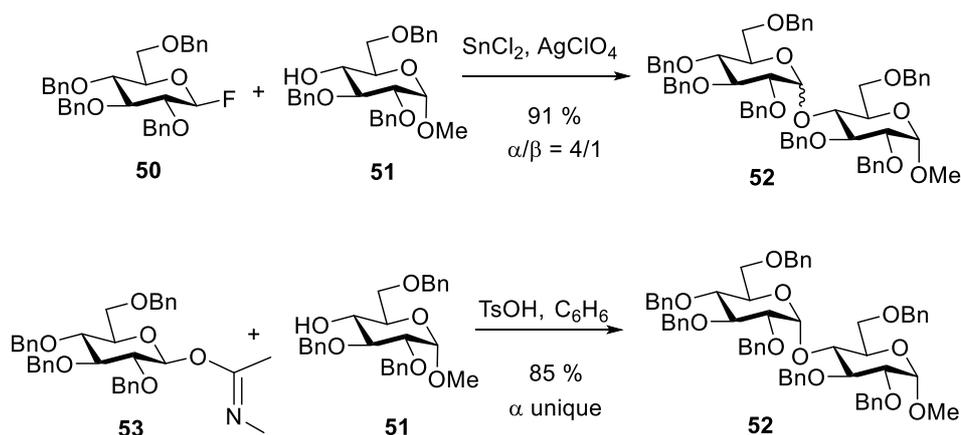


Schéma III.1 : Glucosylation 1,4- α à l'aide d'un donneur de β -glucosyle

III.1.3. Glucosylation $\alpha(1\rightarrow4)$ contrôlées par la nature des groupements protecteurs

La stéréosélectivité $\alpha(1\rightarrow4)$ des réactions de glycosylation peut aussi être favorisée par l'encombrement ou l'assistance d'un groupement participant à longue distance. Un

[76] M. Teruaki, M. Yoshiyuki, S. Shin-ichiro, *Chem. Lett.* **1981**, 10, 431-432.

[77] J. R. Pougny, J. C. Jacquinet, M. Nassr, D. Duchet, M. L. Milat, P. Sinaÿ, *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, 99, 6762-6763.

groupement encombré en O-6 du donneur peut bloquer la face β de son intermédiaire de glycosylation et empêcher l'attaque de l'accepteur sur la face β , favorisant ainsi la formation de l' α -glucoside **54** (Schéma III.2). Un groupement comme un ester en O-6 du donneur **53** peut influencer aussi la stéréosélectivité de la glycosylation via l'interaction de l'oxygène de son carbonyle et le carbone anomérique de l'intermédiaire. Cette interaction peut aussi bloquer la face β et donc augmenter la stéréosélectivité α .

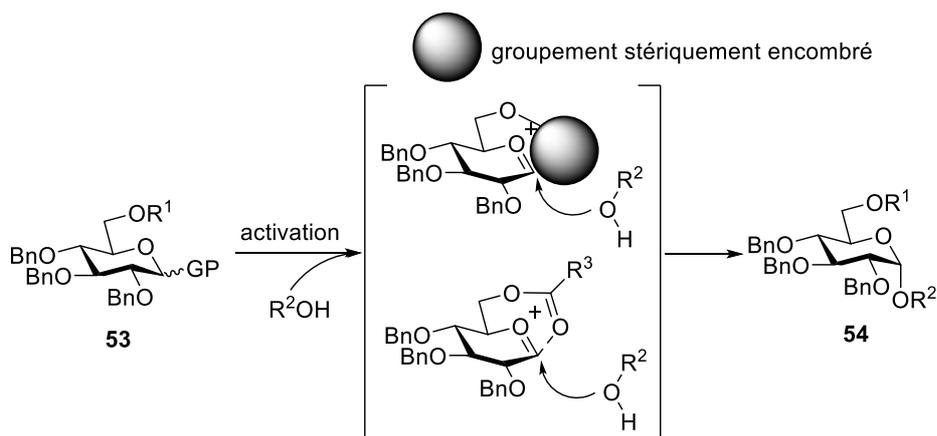


Schéma III.2 : Les effets du groupement en O-6 du donneur

L'équipe de Fukase a fait une étude de l'effet de la nature du groupement en O-6 de donneur de type thioglycosides de configuration *D-gluco*.⁷⁸ L'optimisation des réactions de glycosylation a été effectuée en utilisant l'accepteur **56** libre en position O-6 (Schéma III.3). Dans le cyclopentylméthylether (CPME), qui s'est révélé un solvant de choix, une sélectivité α absolue a été obtenue avec les donneurs **55** et **58**, protégés respectivement en position O-6 par des groupements TBDPS ou *O*-[2-(phénylbenzyl)-oxycarbonyl]benzyle. De manière intéressante, un donneur similaire possédant un groupement benzyle en position O-6 a conduit, dans les mêmes conditions, à une stéréosélectivité α/β de seulement 84/14. Les auteurs ont aussi noté que la réaction obtenue avec le donneur **55**, possédant un groupement TBDPS en position O-6, conduisait à la formation de beaucoup de produits secondaires non identifiés et donc à un rendement isolé de seulement 53 %. Le donneur **58** ayant conduit aux meilleurs résultats, les auteurs l'ont utilisé pour glycosyler l'accepteur **51**, libre en position O-4. Ils ont ainsi obtenu le α -1,4-glucoside désiré avec un bon rendement de 75 % et une sélectivité α absolue.

[78] H. Tokimoto, Y. Fujimoto, K. Fukase, S. Kusumoto, *Tetrahedron: Asymmetry* **2005**, *16*, 441-447.

Ces résultats montrent donc que l'encombrement stérique du groupement protecteur en position O-6 du donneur peut augmenter la sélectivité α de la réaction. En effet, des calculs quantiques en DFT (B3LYP, 6-31G**) effectués sur l'ion oxocarbénium semblent montrer que l'effet stéréodirecteur du groupement *O*-[2-(phénylbenzyl)oxycarbonyl]benzoyl est plus lié à son encombrement qu'à un effet participant à longue distance.

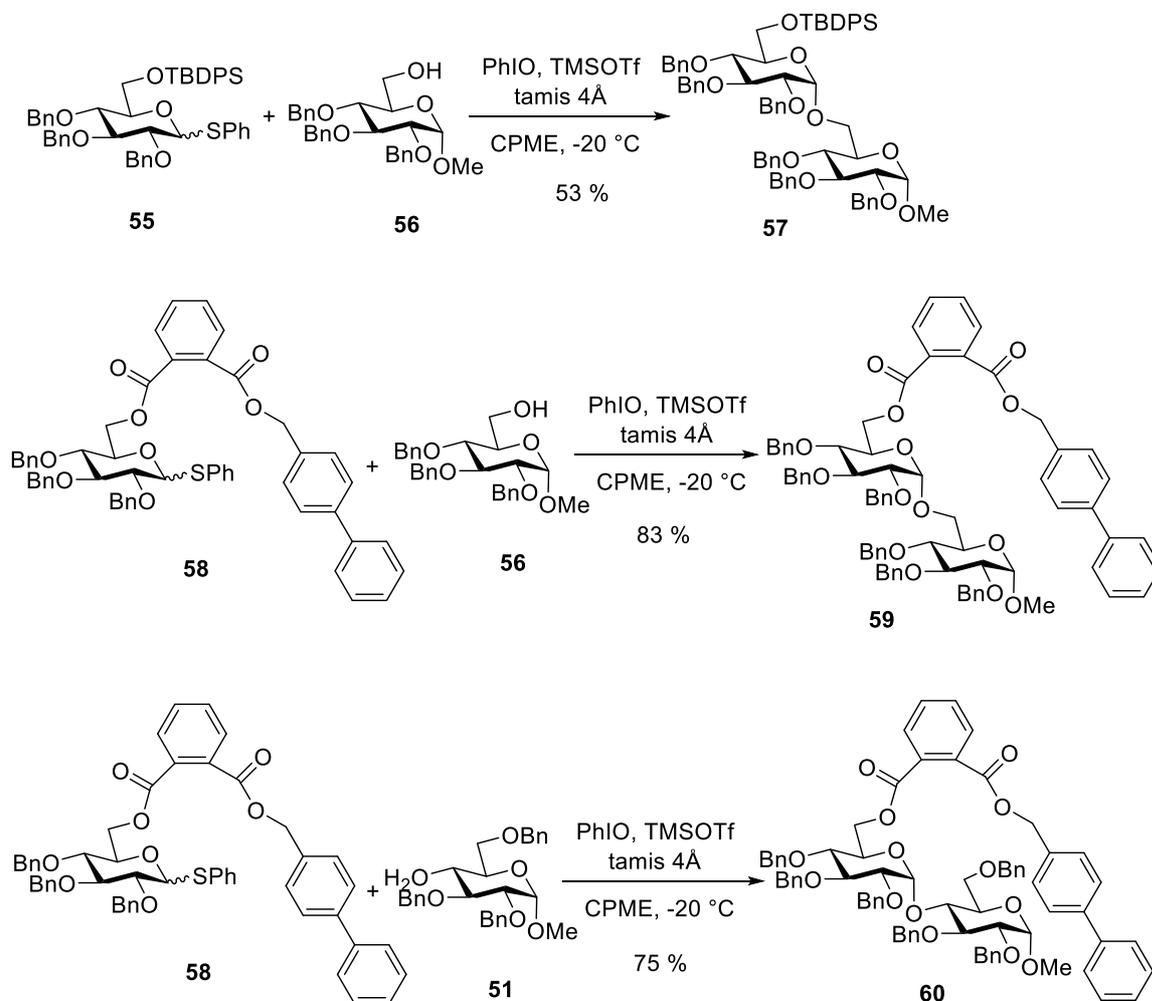


Schéma III.3 : Effet du groupement en O-6 du donneur sur la sélectivité de réactions de glycosylation

Peu après, dans la synthèse d'un fragment trisaccharidique **63** du lipopolysaccharide de *Pseudomonas aeruginosa*,⁷⁹ l'équipe de Nifantiev a réussi à réaliser une glycosylation $\alpha(1\rightarrow4)$ de l'accepteur disaccharidique **62** (Schéma III.4). Ils ont testé les donneurs sous forme de trichloroacétimide (TCA) et *N*-phényltrifluoroacétimide (PTFA). Ces résultats montrent que dans cette réaction, le donneur PTFA **61** donne le meilleur rendement

[79] B. S. Komarova, Y. E. Tsvetkov, Y. A. Knirel, U. Zähringer, G. B. Pier, N. E. Nifantiev, *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 3583-3587.

et un rapport α/β de 8/1. La bonne sélectivité α est principalement attribuable à l'effet de la participation à longue distance des groupements acétates en positions O-3 et O-6 du donneur.

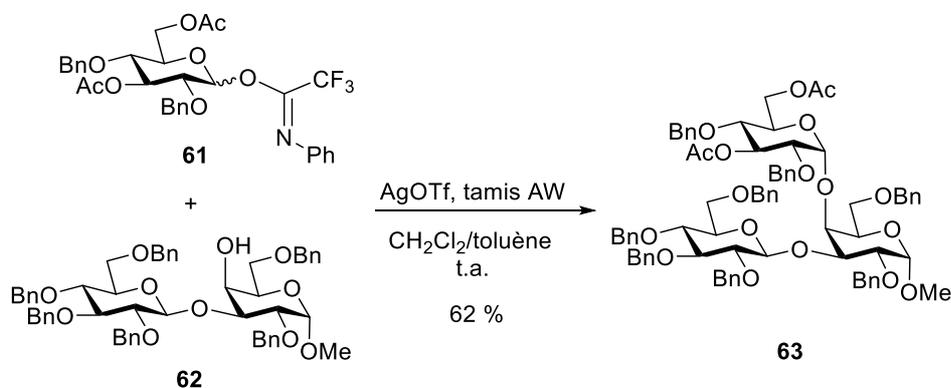


Schéma III.4 : Effet des groupements acétate en O-3 et O-6 d'un donneur de glucosyle

III.1.4. Influence des solvants éthers sur la stéréosélectivité des glycosylation $\alpha(1\rightarrow4)$

Il existe des solvants qui peuvent participer à la réaction et influencer fortement sur sa stéréosélectivité. Les solvants de type éther (comme THF, Et₂O, dioxane, DPME, etc.) sont connus pour favoriser la formation des α -glycosides.^{80,81,82}

Par exemple, dans la synthèse d'un hexasaccharide, unité répétitive de la paroi cellulaire de *B. anthracis*, la réaction de glycosylation du disaccharide accepteur **65** par le disaccharide donneur **64** a conduit au tétrasaccharide **66** avec un bon rendement de 80 % et une sélectivité α totale lorsqu'un mélange CH₂Cl₂/Et₂O a été utilisé comme solvant (Schéma III.5).⁸³

Dans notre laboratoire, nous avons étudié la réaction de glycosylation entre le donneur **67** et l'accepteur **68** (Schéma III.6) dans différents solvants comme : CH₂Cl₂, Et₂O, THF, THF/Et₂O (9/1, v/v), THF/Toluène (9/1, v/v), Dioxane/Toluène (3/1, v/v), etc.⁸⁴ Dans le

[80] G. Wulff, G. Röhle, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1974**, *13*, 157-170.

[81] K. Fukase, A. Hasuoka, I. Kinoshita, Y. Aoki, S. Kusumoto, *Tetrahedron* **1995**, *51*, 4923-4932.

[82] A. Demchenko, T. Stauch, G.-J. Boons, *Synlett* **1997**, *1997*, 818-820.

[83] M. A. Oberli, P. Bindschädler, D. B. Werz, P. H. Seeberger, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 905-908.

[84] R. Lucas, D. Hamza, A. Lubineau, D. Bonnaffé, *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, *2004*, 2107-2117.

CH₂Cl₂, nous avons obtenu un rendement de 57 % avec un rapport α/β de 70/30. Dans le mélange THF/Et₂O (9/1, v/v), le rendement a été augmenté à 90 % et le rapport α/β à 92/8, ce qui confirme l'effet positif des solvants éthers dans les réactions de glycosylation 1,2-*cis* avec un donneur de configuration *D-gluco* contenant un groupement azoture en position O-2.

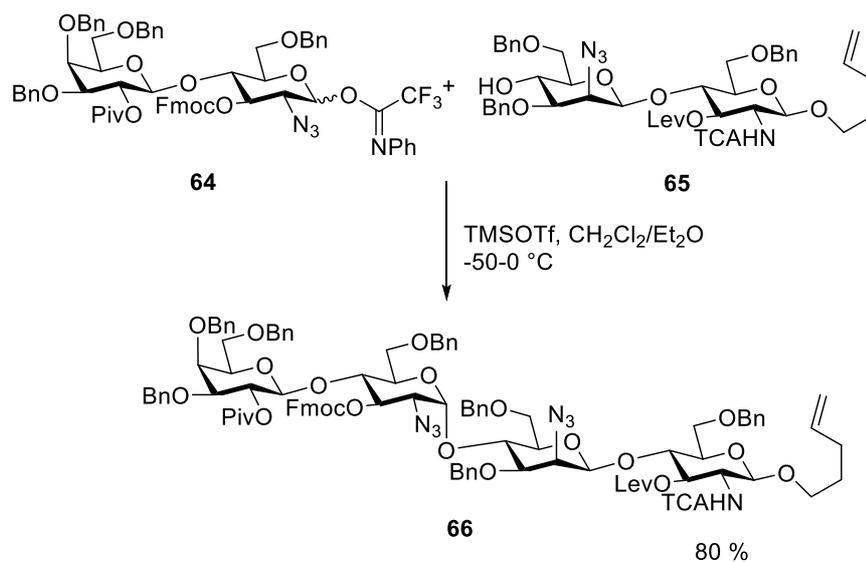


Schéma III.5 : Glycosylation $\alpha(1\rightarrow4)$ dans CH₂Cl₂/Et₂O

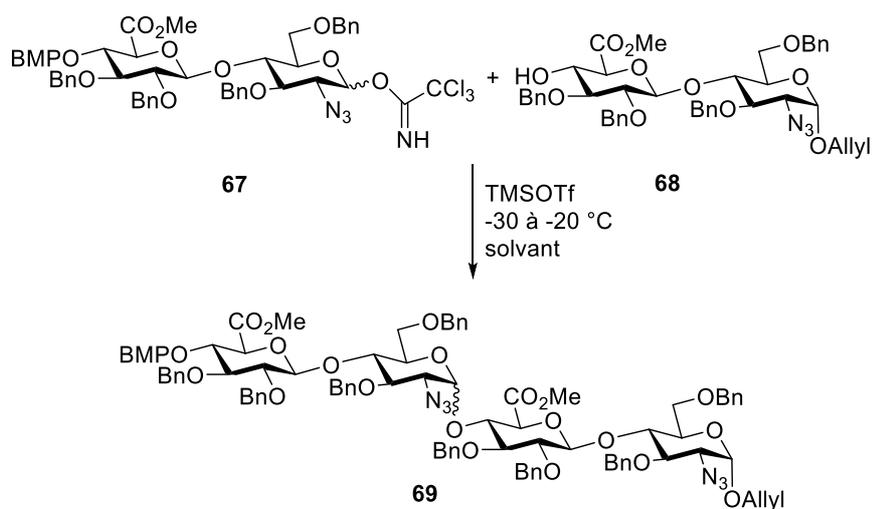


Schéma III.6 : Glycosylation $\alpha(1\rightarrow4)$ avec un donneur 2-azido-2-désoxy de configuration *D-gluco*

III.1.5. Autres glycosylations $\alpha(1\rightarrow4)$

Dans la littérature, il existe encore beaucoup d'exemples de glycosylation $\alpha(1\rightarrow4)$. Plusieurs nouvelles méthodes pour contrôler la formation d'une liaison glycosidique α ont été développées : glycosylation intramoléculaire,⁸⁵ nouveau type de groupement participant en C-2 qui va favoriser la formation du glucoside α , *etc.*

L'équipe de Ziegler a développé une glycosylation $\alpha(1\rightarrow4)$ intramoléculaire utilisant une "accroche" de type succinoyle entre l'accepteur **70** et le donneur **71** (Schéma III.7).⁸⁶ A partir de l'intermédiaire **72**, le disaccharide **73** attendu a été formé avec un rendement de 80 %, sous la forme du seul isomère α .

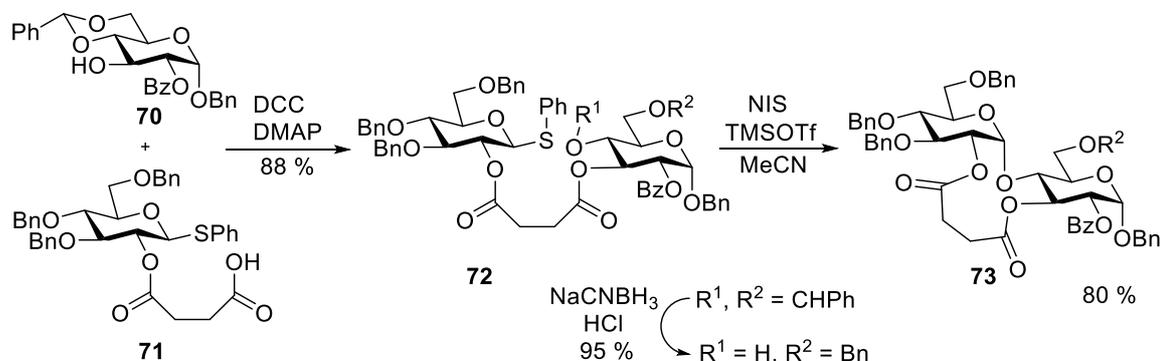


Schéma III.7 : Glycosylation α -1,4 intramoléculaire utilisant une accroche entre les positions O-2 et O-3

Une application de glycosylation $\alpha(1\rightarrow4)$ intramoléculaire, dans laquelle les positions O-2 du donneur **75** et O-3 **76** de l'accepteur servent de point d'accroche, a été la synthèse de l'unité répétitive d'antigènes de *Shigella flexneri* serotype 1a (Schéma III.8).⁸⁷ Là encore un bon rendement et une stéréosélectivité totale ont été observés dans l'étape de glycosylation intramoléculaire.

Une stratégie similaire a été réalisée dans l'équipe de Fukase⁸⁸ en utilisant un espaceur de type phtaloyle pour lier les positions O-6 d'un donneur et d'un accepteur. Dans ce cas aussi, la réaction de glycosylation s'effectue avec un bon rendement de **79** et une excellente sélectivité α (Schéma III.9).

[85] K.-H. Jung, M. Müller, R. R. Schmidt, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 4423-4442.

[86] T. Ziegler, A. Ritter, J. Hürttlen, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 3715-3718.

[87] G. Lemanski, T. Ziegler, *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, *2006*, 2618-2630.

[88] M. Wakao, K. Fukase, S. Kusumoto, *Synlett* **1999**, *1999*, 1911-1914.

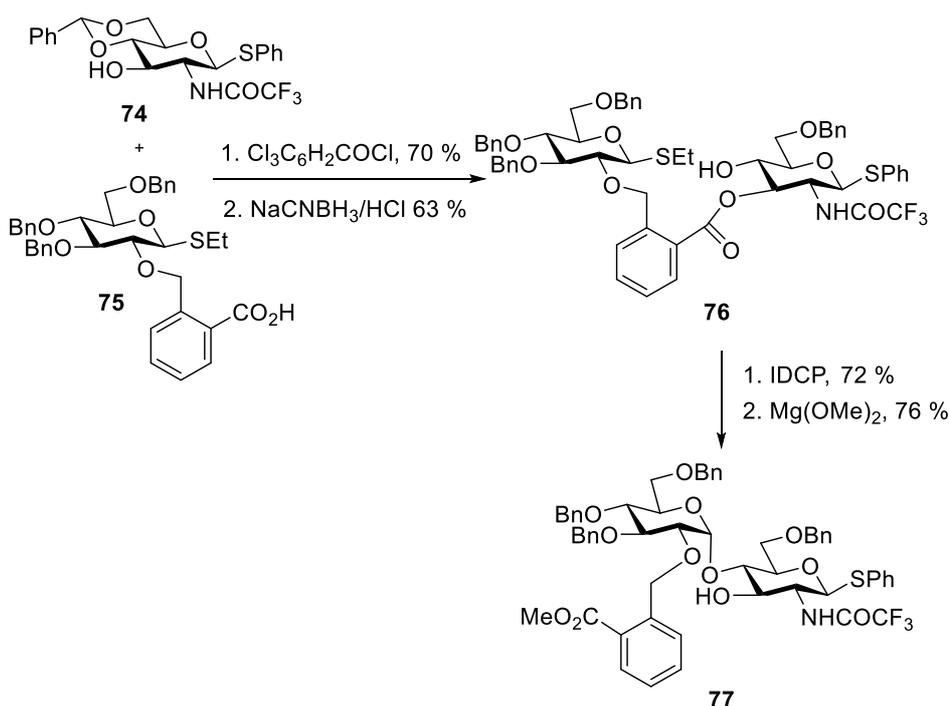


Schéma III.8 : Application de la glycosylation intramoléculaire à la synthèse d'un antigène bactérien

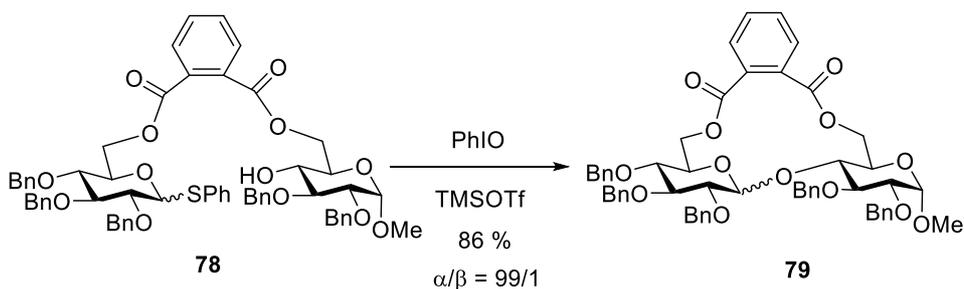


Schéma III.9 : Glycosylation α -1,4 intramoléculaire utilisant une accroche entre les positions O-6

A part la glycosylation intramoléculaire, une stratégie originale a été récemment mise au point pour favoriser la formation d'une liaison 1,2-*cis* en série *D-gluco*. L'équipe de Boons a développé un nouveau type de groupement participant en O-2 : le (*1S*)-phényl-2-(phénylsulfanyl)éthyle.⁷⁵ Ce nouveau groupement permet de former un intermédiaire réactionnel cyclique à 6 atomes et de bloquer la face β (Schéma III.10). Il s'agit donc d'un groupement participant permettant la formation du glucoside 1,2-*cis*.

Avec ce groupement participant en O-2 des donneurs **80** ou **81**, les auteurs ont réussi à obtenir les glucosides désirés **82** et **83** avec un bon rendement et une sélectivité α totale (Schéma III.11).

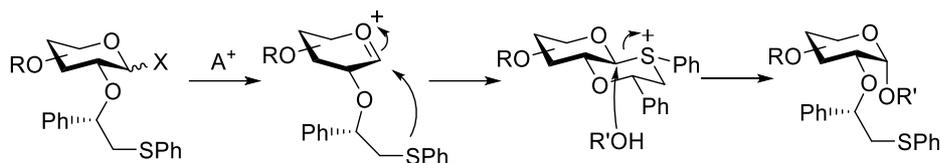


Schéma III.10 : Groupement participant de type S-auxiliaire en O-2

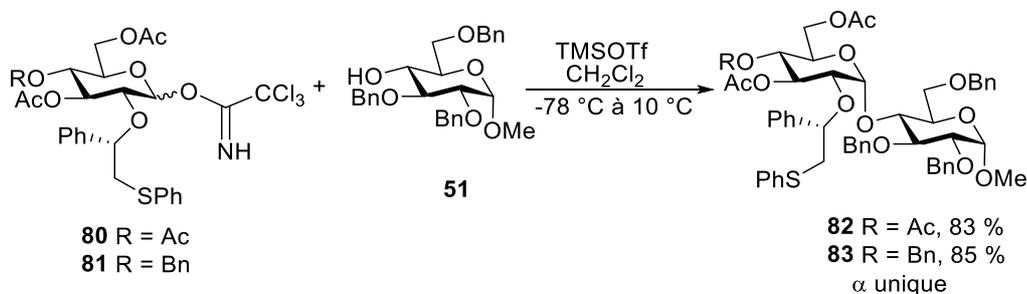


Schéma III.11 : Une application du groupement S-auxiliaire

III.1.6. Conclusion

Dans la littérature, il existe plusieurs méthodes principales pour bien contrôler la stéréosélectivité $\alpha(1\rightarrow4)$ de réactions de glycosylation en série *D-gluco*. Mais certaines méthodes (par exemple : glycosylation intramoléculaire, groupement *O*-(*1S*)-phényl-2-(phénylsulfanyl)éthyle en C-2) compliquent la synthèse. Afin de pouvoir simplifier la synthèse de l'oligomaltoside **P** au maximum, nous avons décidé de choisir le groupement encombré TBDPS en O-6 du donneur pour favoriser la formation du glucoside α .

III.2. Glycosylations des donneurs en présence d'un groupement encombré TBDPS en O-6^I et O-6^{II}

Nous avons déjà décrit dans le Chapitre II la synthèse de la brique maltotriosique fonctionnalisée, qui possède un groupement encombré TBDPS en position O-6^I et O-6^{II}. Elle nous a donc servi de base pour tester l'effet stéréodirecteur, d'un groupement silyle encombré en position O-6^I du donneur, sur la réaction de glycosylation. Comme nous avons déjà utilisé une activation du donneur **84** sous forme de TCA dans la préparation d'HS12 **86** au laboratoire par le passé (voir Schéma III.12), nous avons décidé d'utiliser, dans un premier temps, ce type d'activation pour la synthèse des oligomaltosides **P** à partir

de la brique maltotriosique acétylé **5**.

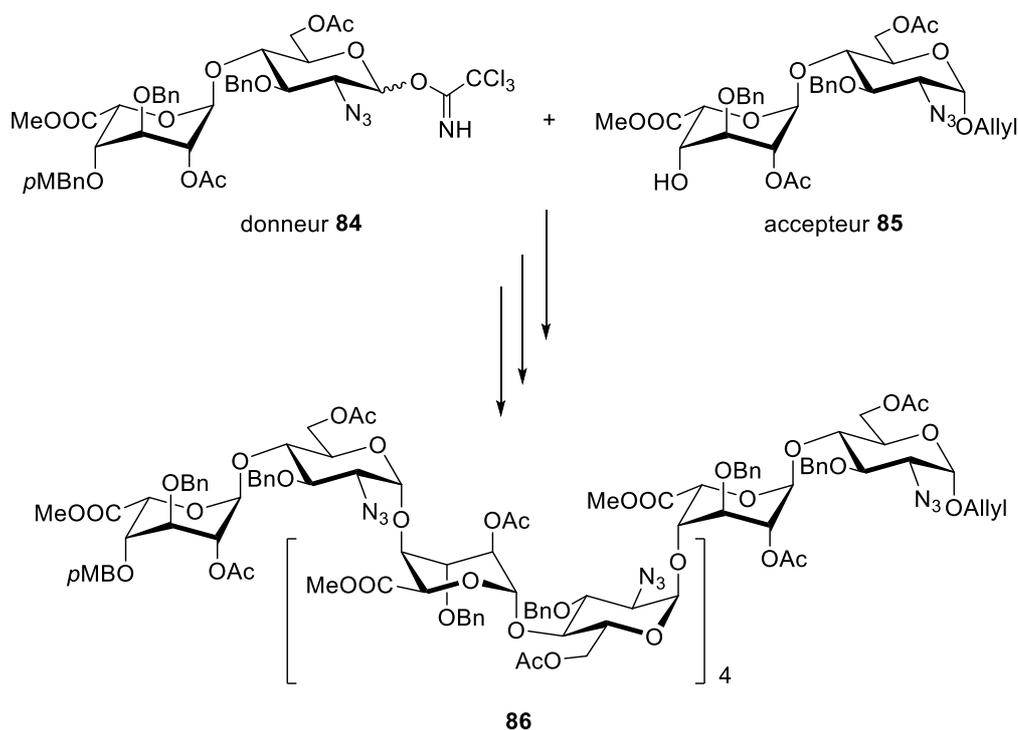


Schéma III.12 : Glycosylation en activant le donneur **84** sous forme de TCA

III.2.1. Glycosylation en activant le donneur sous forme de TCA

III.2.1.1. Synthèse de l'accepteur acétylé et du donneur TCA

La déprotection de groupement protecteur paraméthoxybenzyle de la brique trisaccharidique acétylée **5** peut se faire en présence d'acide trifluoroacétique (TFA). Nous avons ainsi pu isoler l'accepteur désiré **87** avec un rendement de 75 %, accompagné d'un produit secondaire dans lequel le groupement acétate en position O-6^{III} a aussi été déprotégé (Schéma III.13).

En parallèle, nous avons déprotégé le groupement allyle du trisaccharide **5** en l'isomérisant en prop-1-ènyle à l'aide du catalyseur de Crabtree, puis en hydrolysant l'éther d'énol formé à l'aide de sels de mercure. L'hémiacétal **88** a ainsi été obtenu avec un rendement de 87 % sur les 2 étapes. Ensuite, pour l'introduction du groupement TCA sur la position anomérique, nous avons utilisé le trichloroacétonitrile en présence de carbonate de potassium. Nous avons constaté qu'avec cette base, la réaction n'était pas complète.

L'utilisation d'une base plus forte, NaH, nous a permis de consommer tout le produit de départ. Mais, cette fois, une partie du produit a perdu son groupement acétate en milieu basique fort. Après la chromatographie flash, nous avons isolé le donneur **89** avec un rendement de 76 %.

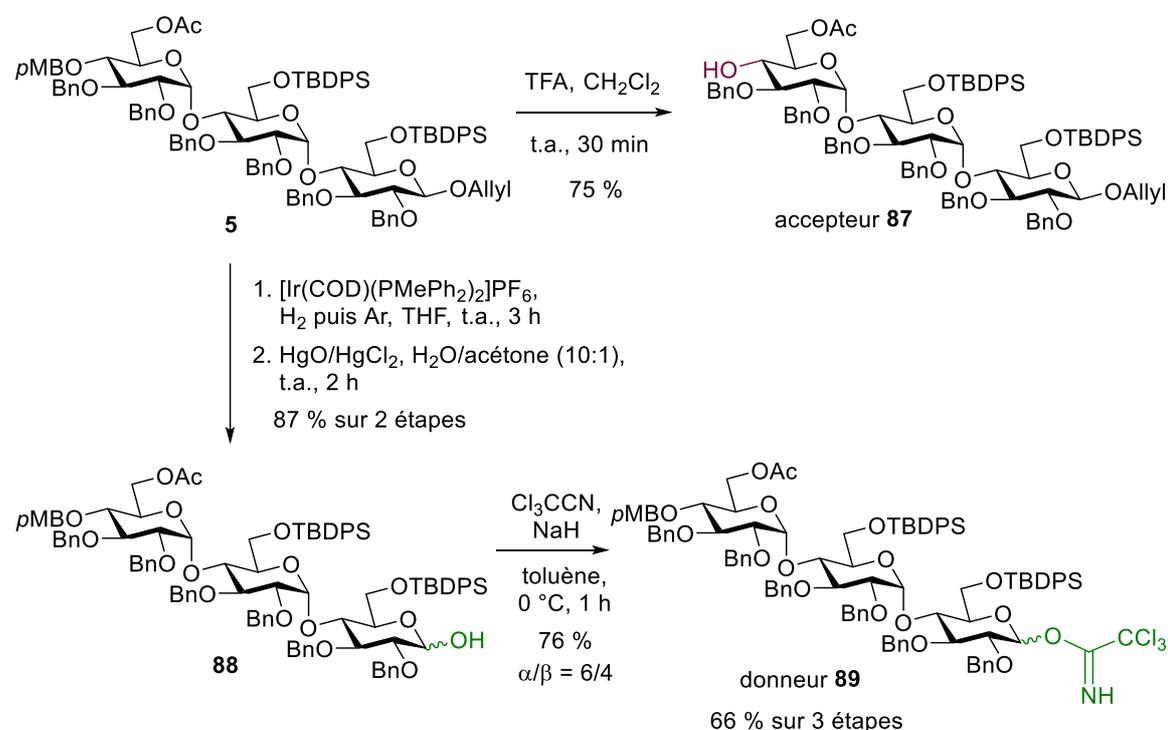


Schéma III.13 : Préparation de l'accepteur **87** et du donneur **89**

III.2.1.2. Glycosylation

En suivant le protocole de glycosylation habituellement utilisé au laboratoire,⁸⁹ nous avons fait réagir l'accepteur **87** avec 1,3 équivalents du donneur **89** en présence de 0,2 équivalent de TBDMSOTf dans le CH₂Cl₂ (0,1 M) à -40 °C (Schéma III.14 et Tableau III.1, entrée 1). Malheureusement, même après une nuit à -40 °C, nous avons eu l'impression que tout l'accepteur n'était pas consommé. Nous avons donc neutralisé le milieu réactionnel Et₃N et l'avons purifié, après filtration pour éliminer le tamis, par une chromatographie d'exclusion stérique (Sephadex LH-20). Après Sephadex LH-20, nous avons constaté que la fraction de tête contenait un mélange de produits de haute masse que nous avons pu

[89] A. Lubineau, H. Lortat-Jacob, O. Gavard, S. Sarrazin, D. Bonnaffé, *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 4265-4282.

séparer par chromatographie flash. Un hexasaccharide, dont le spectre de masse haute résolution correspond à celui attendu pour le produit désiré **90**, a été isolé avec un rendement de 15 %. Les spectres RMN ^1H et HSQC effectués sur ce produit nous ont confirmé qu'il s'agit bien du produit **90** dans lequel la liaison glycosidique nouvellement formée est bien de stéréochimie α . De plus, nous n'avons pas trouvé trace de l'anomère β dans le spectre HSQC. Comme ce dernier a été effectué en fixant la constante $^1J_{\text{H-X}}$ pour la valeur de $J = 160$ Hz, correspondant à la constante de couplage moyenne $^1J_{\text{C-H}}$ attendue pour une anomérie β , nous en concluons que la stéréosélectivité de cette réaction de glycosylation est très majoritairement α . Malheureusement le rendement de cette réaction est très faible.

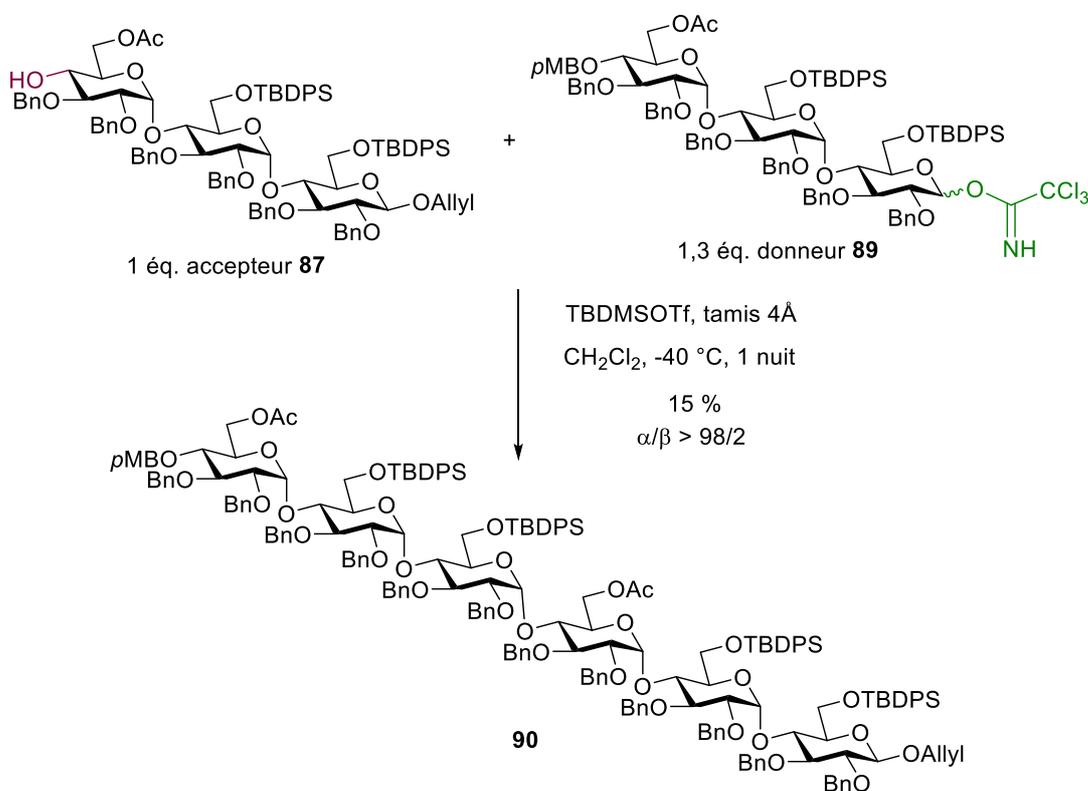


Schéma III.14 : Glycosylation de l'accepteur **87** par le donneur **89**

L'analyse du mélange de trisaccharides récupérés dans la fraction de queue de la Sephadex LH-20, nous a permis de comprendre que ce que nous avons pris pour du donneur **89** n'ayant pas réagi était en fait des produits de réarrangement **91** (Figure III.1). C'est une réaction parasite bien connue lorsque l'on emploie des donneurs activés sous forme de trichloroacétimidate.

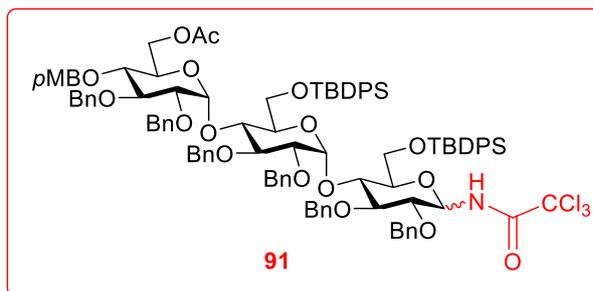


Figure III.1 : Produit secondaire **91** obtenu par réarrangement du donneur TCA

Par le passé, au laboratoire, nous avons montré qu'un changement de solvant pouvait améliorer le rendement de glycosylation avec certains donneurs TCA⁸⁴. Nous avons donc choisi le mélange Et₂O/THF (1/9, v/v), qui nous avait donné par le passé les meilleurs rendements et stéréosélectivité. Malheureusement, avec le donneur **89**, nous avons seulement observé la polymérisation du THF au lieu de la glycosylation (Tableau III.1, entrée 2). L'utilisation du THF comme additif (2 équivalents) dans CH₂Cl₂, décrit dans une thèse de notre laboratoire,⁹⁰ a été proposé pour éviter la polymérisation du THF tout en gardant un fort impact sur la stéréosélectivité de la réaction. Mais, dans le cas du donneur **89**, nous avons obtenu les mêmes résultats que dans CH₂Cl₂ seul (15%, Tableau III.1, entrée 3).

Entrée	Solvant	Rendement	Rapport α/β
1	CH ₂ Cl ₂	15 %	>98/2
2	Et ₂ O/THF (1/9, v/v)	0	—
3	2 éq. THF dans CH ₂ Cl ₂	15 %	>98/2

Tableau III.1 : Glycosylation de l'accepteur **87** par le donneur **89** dans différents solvants

III.2.1.1.3. Conclusion

Nous avons réussi à synthétiser le donneur **89** et l'accepteur **87**. La glycosylation dans le

[90] S. Deydier, Glycosylation 1,2-cis : nouveaux intermédiaires réactionnels pour moduler la stéréosélectivité, thèse, Université Paris-Sud, 2008.

CH₂Cl₂ nous a donné une très bonne sélectivité α , mais malheureusement le rendement n'a été que de 15 %. Le rendement faible est dû au réarrangement du donneur, mais nous n'avons pas réussi à augmenter le rendement en effectuant la glycosylation dans Et₂O/THF (1/9, v/v) ou dans CH₂Cl₂ avec 2 équivalents de THF. Pour résoudre ce problème, nous avons décidé d'activer le donneur sous forme de *N*-phényltrifluoroacétimide (PTFA) (Figure III.2). En effet, ce nouveau type d'imidate, introduit par le Pr. Biao Yu en 2001, est connu pour résoudre le problème du réarrangement d'imidate.^{91,92,93} Nous avons aussi décidé de changer le groupement acétyle (Ac) en position O-6^{III} du donneur par un groupement benzoyle (Bz), qui est plus stable dans les conditions acides et basiques, afin d'éviter les réactions de désacétylations observées lorsque nous avons préparé le donneur **89** et l'accepteur **87**. Il nous a donc fallu préparer le donneur **92**.

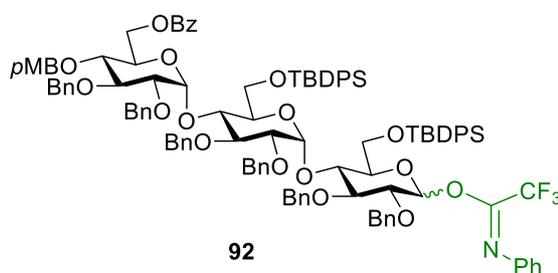


Figure III.2 : Nouveau donneur PTFA **92**

III.2.2. Glycosylation en activant le donneur sous forme de PTFA

III.2.2.1. Synthèse de l'accepteur benzoylé et du donneur PTFA

Tout d'abord, nous avons déprotégé par action du TFA le groupement *p*MB présent dans la brique trisaccharidique benzoylé **6**. Cette fois-ci, nous n'avons pas observé de réaction secondaire d'hydrolyse de l'ester et l'accepteur **93** a été isolé avec un excellent rendement de 93 % à l'échelle de 1,5 g (Schéma III.15).

En parallèle, l'hémiacétal **94** ainsi préparé en l'isomérisant en prop-1-ényle à l'aide du

[91] B. Yu, H. Tao, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 2405-2407.

[92] M. Vasan, J. Rauvolfova, M. A. Wolfert, C. Leoff, E. L. Kannenberg, C. P. Quinn, R. W. Carlson, G.-J. Boons, *ChemBioChem* **2008**, *9*, 1716-1720.

[93] S. Serna, B. Kardak, N.-C. Reichardt, M. Martin-Lomas, *Tetrahedron: Asymmetry* **2009**, *20*, 851-856.

catalyseur de Crabtree, puis en hydrolysant l'éther d'énol à l'aide de sels de mercure avec un rendement de 95 % sur 2 étapes, a été traité par le chlorure de N-phényltrifluoroacétimide **95** en présence de K_2CO_3 pour conduire au donneur PTFA **92** avec un rendement de 99 %. Comme nous l'avions prévu, le groupement benzoate en position O-6^{III} a été parfaitement stable dans ces conditions de réaction, il faut cependant noter que l'installation d'un groupement PTFA en position anomérique ne demande pas d'utiliser du NaH, mais simplement du K_2CO_3 . Mais quelle qu'en soit la raison, le rendement de la préparation de ce nouveau donneur a été augmenté par rapport à celui de la préparation du donneur **89** (voir Schéma III.13). Cette méthode a été testée à des échelles allant jusqu'à 2.5 g avec un rendement de 94 % sur 3 étapes.

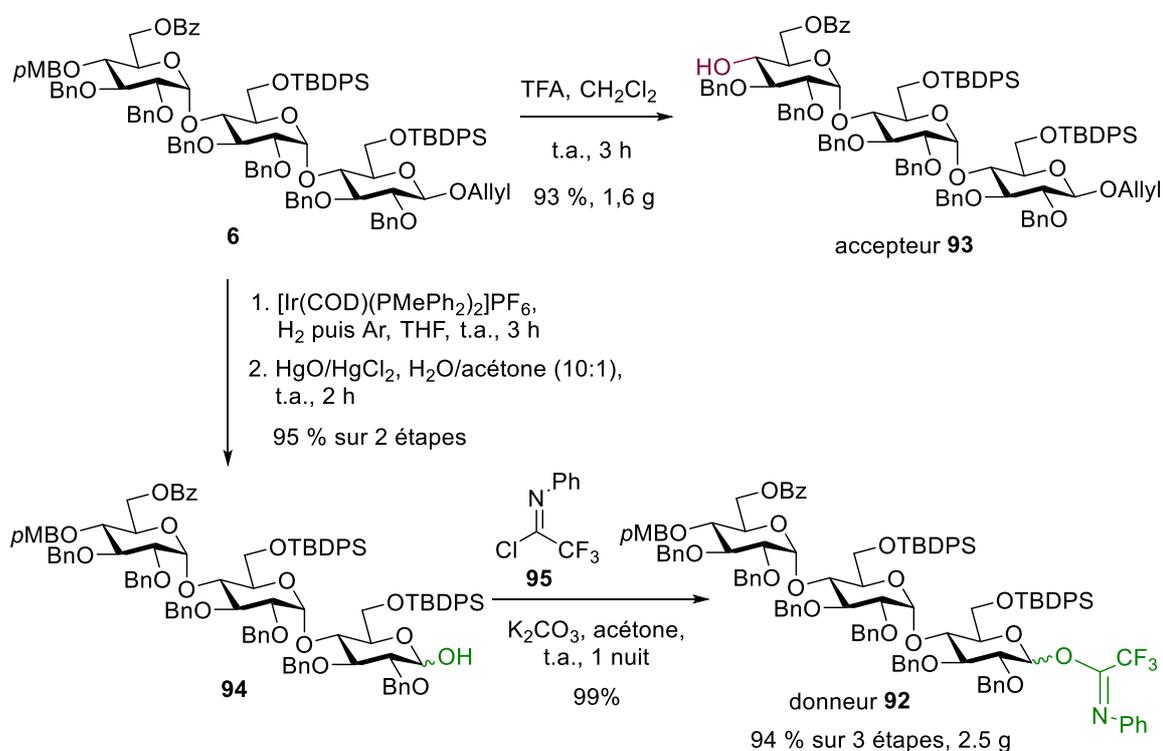


Schéma III.15 : Préparation de l'accepteur **93** et du donneur **92**

III.2.2.2. Premier essai de la glycosylation

Une fois le donneur **92** et l'accepteur **93** préparés, nous les avons fait réagir en présence de TBDMSOTf à $-40\text{ }^\circ\text{C}$ dans le CH_2Cl_2 (0.1 M, Schéma III.16 et Tableau III.1, entrée 1). Nous avons donc appliqué les mêmes conditions que celles utilisées pour la préparation d'HS12 **86** (Schéma III.12). Après une nuit à $-40\text{ }^\circ\text{C}$, le suivi par CCM nous a indiqué qu'il

n'y avait que peu de produit formé et que la réaction n'évoluait plus. Nous nous sommes demandés si TMSOTf pourrait être un meilleur acide de Lewis et en avons ajouté 0,1 équivalent. Mais aucun changement n'a été observé après 6 h supplémentaires de réaction. Après neutralisation et chromatographie sur colonne Sephadex LH-20, nous avons récupéré 22 % d'un mélange d'hexasaccharides. Ce mélange a été purifié par chromatographie flash et nous avons isolé l'hexasaccharide **96** avec un rendement de 15 %.

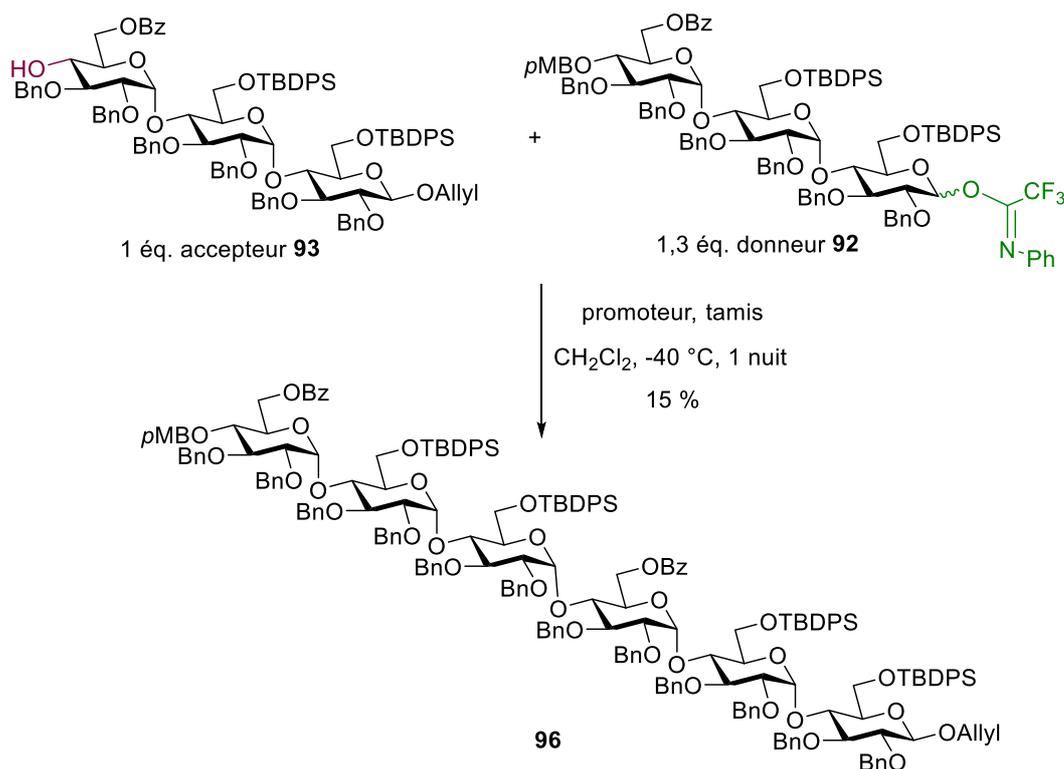


Schéma III.16 : Glycosylation de l'accepteur **93** par le donneur **92**

Nous avons fait les spectres RMN ^1H et HSQC pour ce produit qui nous ont confirmés qu'il s'agissait bien du produit **96**. Encore une fois, par RMN ^1H et HSQC, dont les paramètres ont été optimisés pour avoir une sensibilité maximum avec les protons/carbones anomériques β , nous n'avons pas trouvé trace de l'anomère β . Nous en concluons que la stéréosélectivité de cette réaction de glycosylation est très majoritairement α . Donc nous avons toujours une très bonne stéréosélectivité avec le donneur PTFA **92**, mais le rendement reste faible. En revanche, par rapport à la glycosylation avec le donneur TCA **97**, nous n'avons pas observé le produit secondaire résultant du réarrangement du donneur.

Nous avons donc réussi à éviter la formation de ce dernier, mais des optimisations sont nécessaires pour augmenter le rendement. Pour ce faire, nous avons donc décidé de modifier plusieurs paramètres comme : le promoteur, la température, l'ordre d'addition des

réactifs, et le type de tamis moléculaire (Tableau III.2).

Entrée	Tamis	Conc.	Promoteur	Température	Rendement	Rapport α/β
1	tamis 4Å	0,1 M	0,2 éq. TMSOTf	-40 °C	16 %	>98/2
2	tamis 4Å	0,05 M	0,2 éq. TMSOTf	-40 °C	15 %	>98/2
3	tamis AW300	0,05 M	0,1 éq. Yb(OTf) ₃	-78 °C à 0 °C	0	—
4	tamis AW300	0,05 M	0,1 éq. Bi(OTf) ₃	-78 °C à -10 °C	0	—
5 ^a	tamis 4Å	0,05 M	0,2 éq. TMSOTf	-40 °C	5 %	—
6	tamis AW300	0,05 M	0,2 éq. TMSOTf	-40 °C	14 %	—
7 ^a	tamis AW300	0,05 M	0,2 éq. TMSOTf	-40 °C	15 %	—

a. Procédure inverse

Tableau III.2 : Glycosylations de l'accepteur **93** par 1.3 éq. de donneur **92** dans CH₂Cl₂

III.2.2.3. Essais avec différents promoteurs

Dans un premier temps, nous avons choisi de tester différents promoteurs. Nous avons essayé d'abord de refaire cette réaction en présence de TMSOTf dès le départ. Avec les mêmes conditions, nous avons obtenu exactement les mêmes résultats (16 %, Tableau III.2, entrée 1). En raison de la viscosité du milieu réactionnel et donc du risque d'une mauvaise agitation, nous avons aussi refait une glycosylation en présence de TMSOTf, mais à une concentration plus faible (0.05 M). Nous avons toujours obtenu les mêmes résultats (15 %, Tableau III.2, entrée 2). Le donneur **93** que nous avons utilisé est très armé.⁹⁴ Or, l'autre partenaire de la réaction est un accepteur avec un hydroxyle secondaire potentiellement caché par les autres groupements et sans doute trop peu réactif. Il est donc probable que le donneur une fois activé se décompose avant de réagir avec l'accepteur, entraînant de mauvais rendement. Pour résoudre ce genre de problème, nous avons testé le promoteur Yb(OTf)₃ et Bi(OTf)₃ utilisés par l'équipe d'Iadonisi pour activer des donneurs armés et

[94] D. R. Mootoo, P. Konradsson, U. Udodong, B. Fraser-Reid, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 5583-5584.

les faire réagir avec des accepteurs peu réactifs.^{95,96,97} Malheureusement, dans notre cas, nous n'avons pas observé de réaction à basse température avec ces promoteurs et le donneur a commencé à se décomposer à plus haute température (Tableau III.2, entrée 3 et 4).

III.2.2.4. Etude de la température

Nous avons ensuite décidé de chercher la meilleure température pour cette réaction. Nous avons donc lancé une réaction à $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ en présence de TMSOTf et nous avons augmenté la température de 10 degrés chaque heure. Nous avons suivi la réaction par CCM et avons observé que le produit de glycosylation commençait à se former à partir de $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ et que la majorité était formée à $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$. Entre -40 et $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$, la CCM évolue peu et, à partir de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, nous avons observé la formation de produits secondaires, dont l'un pourrait être l'hexasaccharide dont le *p*MB est parti. Cette étude nous a donc montré que la meilleure température pour cette réaction est entre $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ et $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$.

III.2.2.5. Essai de procédure inverse

Dans la littérature, pour éviter qu'un imidate se décompose avant de réagir avec l'accepteur, on recommande d'utiliser la procédure inverse.⁹⁸ Normalement, nous ajoutons d'abord le donneur, l'accepteur, le tamis moléculaire 4Å et le solvant, puis nous amenons le milieu réactionnel à la température souhaitée. Dans la procédure inverse, nous ajoutons d'abord l'accepteur, le tamis moléculaire 4Å et le solvant, puis nous amenons le milieu réactionnel à la température souhaitée, et enfin le donneur est ajouté lentement. Avec la méthode inverse, après une nuit, nous avons isolé seulement 5 % d'hexasaccharide **96** (Tableau III.2, entrée 5).

[95] M. Adinolfi, G. Barone, A. Iadonisi, M. Schiattarella, *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 5573-5577.

[96] M. Adinolfi, P. Galletti, D. Giacomini, A. Iadonisi, A. Quintavalla, A. Ravidà, *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 2006, 69-73.

[97] M. Adinolfi, D. Giacomini, A. Iadonisi, A. Quintavalla, S. Valerio, *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 2008, 2895-2899.

[98] R. R. Schmidt, A. Toepfer, *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 3353-3356.

III.2.2.6. Glycosylations en présence de tamis acide

Comme nous avons observé la formation d'une quantité non négligeable d'accepteur silylé en position O-4^{III}, nous avons pensé que le rendement faible pouvait être dû à la formation de cet intermédiaire suivi du piégeage du TfOH formé par le tamis moléculaire 4Å qui est légèrement basique. Dans ces conditions, le cycle catalytique ne peut être efficace. Nous avons donc décidé de changer le tamis moléculaire 4Å par du tamis ayant subi un lavage acide, le tamis moléculaire AW300 (Sigma-Aldrich). Nous avons tout d'abord essayé le tamis moléculaire AW300 avec la méthode directe. Nous avons obtenu les mêmes résultats qu'avec le tamis moléculaire 4Å (Tableau III.2, entrée 6). Cela a confirmé que le tamis moléculaire AW300 ne nous pose pas de problème particulier dans cette réaction. Ensuite, nous avons appliqué la méthode inverse avec le tamis moléculaire AW300. Et nous avons obtenu le même rendement (Tableau III.2, entrée 7). C'est-à-dire que, le tamis acide ne consomme plus TMSOTf, mais la méthode inverse n'a pas amélioré le rendement, qui reste faible.

III.2.2.7. Produits secondaires des glycosylations et problèmes liés aux groupements silyles

Nous avons ensuite décidé d'analyser tous les produits secondaires de la glycosylation entre le donneur **92** et l'accepteur **93** en présence de TMSOTf (Tableau III.2, entrée 2) et élués en fin de Sephadex LH-20, donc de poids moléculaire plus faible que l'hexasaccharide **96**. Après purification par chromatographie flash, nous avons isolé 50 % d'un produit secondaire dont la masse correspond à celle du composé 1,6-anhydro **97** et 15 % du glycal **98** (Figure III.3).

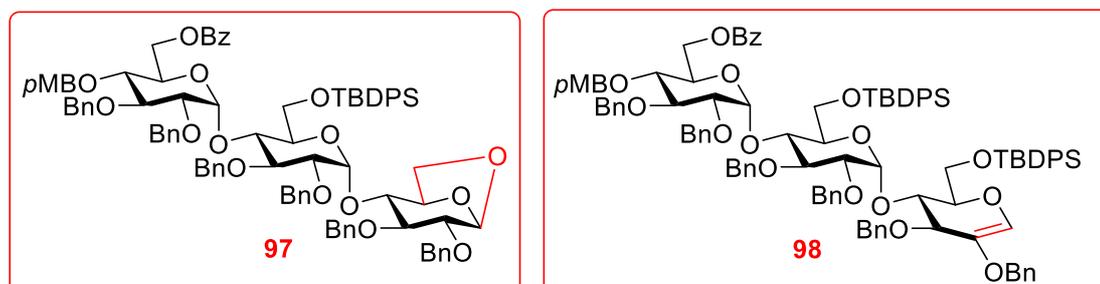


Figure III.3 : Produits secondaires de la glycosylation de l'accepteur **93** par le donneur **92**

Cela a montré que la formation de dérivés 1,6-anhydro est une réaction parasite très importante dans cette glycosylation. Il est probable que le substituent silyle augmente la nucléophilie de l'oxygène en position O-6 de l'accepteur, favorisant ainsi la formation du dérivé 1,6-anhydro **97**. Ces deux réactions parasite sont une signature claire d'une trop grande réactivité du donneur **92** par rapport à l'accepteur **93**.

III.2.2.8. Conclusion

Comme décrit ci-dessus, pour tenter d'améliorer le rendement de la glycosylation avec le donneur sous forme de PTFA, nous avons essayé de changer plusieurs paramètres comme : le promoteur, la température, l'ordre d'addition des réactifs, et le type de tamis moléculaire. Mais aucun changement n'a amélioré les choses. Un changement de groupement protecteur en position O-6 du donneur semble donc nécessaire.

III.3. Glycosylations des différents donneurs avec différents groupements protecteurs

III.3.1. Choix des différents groupements protecteurs

Nous avons donc décidé d'utiliser différents donneurs pour comparer les différents groupements protecteurs en position O-6. Nous avons d'abord proposé d'utiliser un autre groupement silyle TBDMS pour remplacer le TBDPS. Puis, afin de diminuer, par la même occasion, la réactivité du donneur pour accorder sa réactivité à celle de l'accepteur, nous avons décidé d'explorer l'utilisation de groupements plus désarmants et potentiellement stéréodirecteurs en position O-6¹ comme des groupements esters. En effet, avec un ester, nous pouvons espérer bénéficier d'une participation à longue distance devant favoriser la formation du glucoside α (voir Schéma III.2). Nous avons choisi les esters suivants comme groupements protecteurs de la position O-6 du donneur : Bz, *p*NO₂Bz, Ac, et Piv. De plus, nous avons décidé d'introduire aussi un Bn pour pouvoir bien définir l'origine de l'effet des groupements protecteurs sur l'issue de la réaction de glycosylation. L'ensemble de ces groupements devrait nous permettre d'étudier les effets de l'encombrement stérique du groupement en position O-6 (Bz, Ac, et Piv), de son potentiel effet participant à longue distance (Bn et esters) et de sa nature plus ou moins désarmante (Bz, *p*NO₂Bz, et Bn).

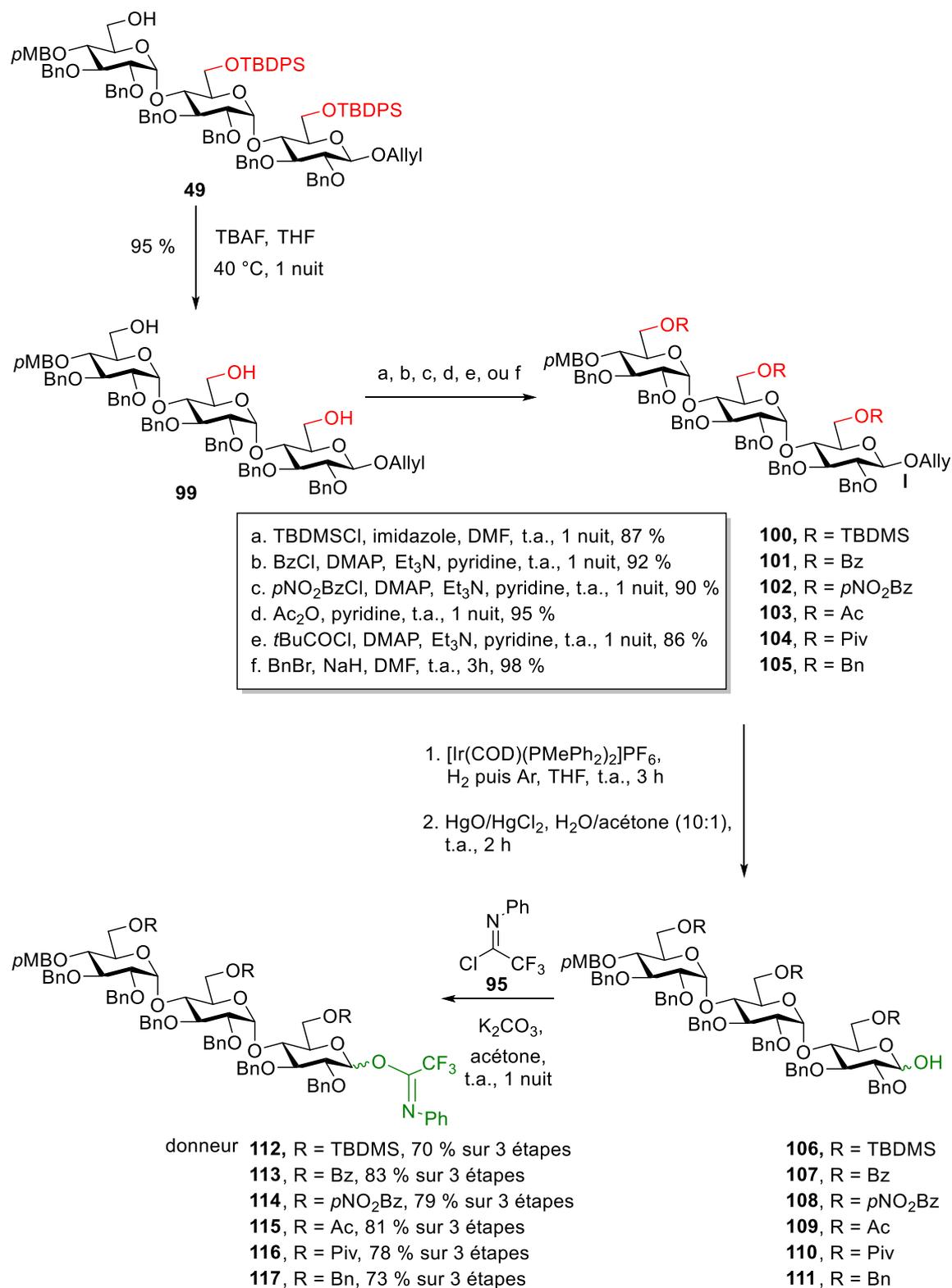


Schéma III.17 : Préparation du donneur en présence de différents groupements en position O-6

III.3.2. Préparation des différents donneurs

Pour obtenir le plus rapidement possible les donneurs avec différents groupements protecteurs en position O-6, nous sommes partis du produit **49**. D'abord nous avons déprotégé avec 95 % de rendement les TBDPS par l'action du TBAF dans le THF (Schéma III.17). Puis nous avons installé des TBDMS, Bz, *p*NO₂Bz, Ac, Piv, ou Bn sur tous les hydroxyles primaires pour obtenir les produits **100-105** avec des rendements isolés compris entre 86 et 98 %. Ensuite, nous avons fait réagir les produits en suivant le mode opératoire générale que nous avons utilisé pour la synthèse du donneur PTFA **92** décrit ci-dessus. Nous avons obtenu les donneurs **112-117** avec des rendements variant de 70 à 83 % sur trois étapes.

III.3.3. Glycosylations avec les différents donneurs

Tous les donneurs possédant différents groupements protecteurs en position O-6 ont ensuite été testés dans les réactions de glycosylation sur le même accepteur **93** (Schéma III.18). Les résultats sont compilés dans le Tableau III.3, qui est commenté par la suite dans les paragraphes III.3.3.1. à III.3.3.4.

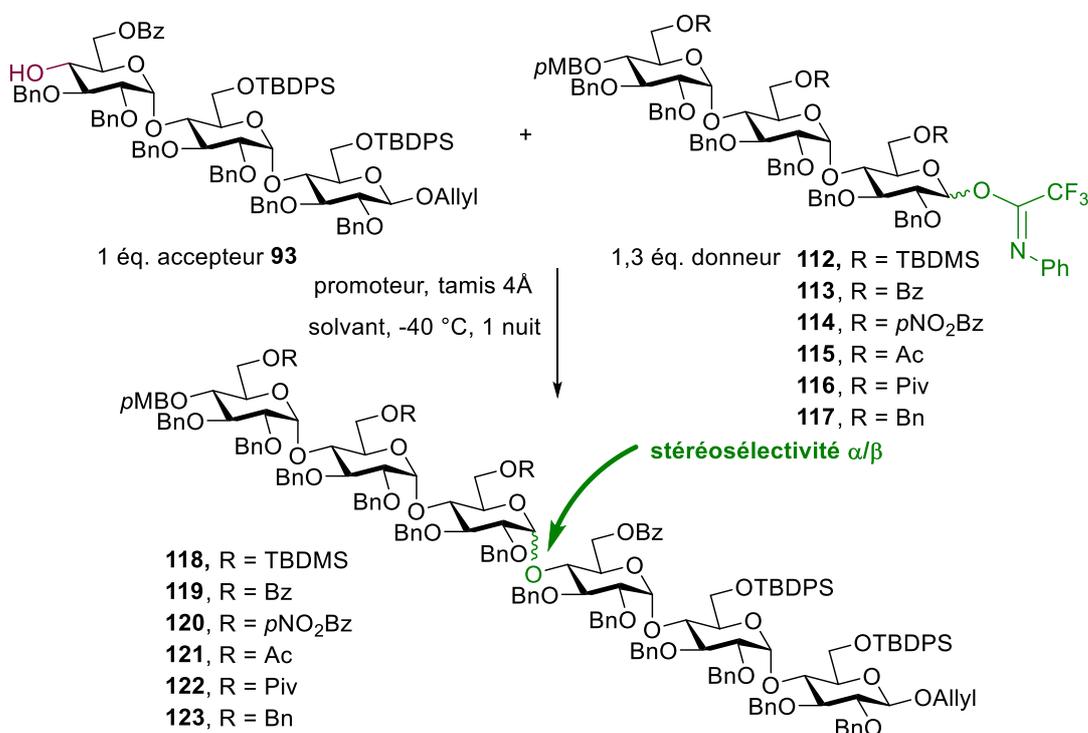


Schéma III.18 : Glycosylations de l'accepteur **93** par les donneurs **112-117**

III.3.3.1. Glycosylation avec le donneur possédant un TBDMS en position O-6

Dans un premier temps, nous avons testé la glycosylation du donneur en présence d'un groupement TBDMS en position O-6 (Schéma III.18 et Tableau III.3, entrée 1).

Entrée	Solvant	Donneur	Produit	Rendement	Rapport α/β
1	CH ₂ Cl ₂	112 (TBDMS)	118 (TBDMS)	0	—
2 ^a	CH ₂ Cl ₂	92 (TBDPS)	96 (TBDPS)	15 %	>98/2
3	Et ₂ O	92 (TBDPS)	96 (TBDPS)	46 %	>98/2
4	toluène	92 (TBDPS)	96 (TBDPS)	53 %	>98/2
5	1,4-dioxane	92 (TBDPS)	96 (TBDPS)	—	—
6	toluène/1,4-dioxane (1/1, v/v)	92 (TBDPS)	96 (TBDPS)	—	—
7	toluène/1,4-dioxane (9/1, v/v)	92 (TBDPS)	96 (TBDPS)	—	—
8	CH ₂ Cl ₂	113 (Bz)	119 (Bz)	27 %	>98/2
9	Et ₂ O	113 (Bz)	119 (Bz)	46 %	80/20
10	toluène	113 (Bz)	119 (Bz)	47 %	80/20
11	Et ₂ O	114 (<i>p</i> NO ₂ Bz)	120 (<i>p</i> NO ₂ Bz)	56 %	>98/2
12	Et ₂ O	115 (Ac)	121 (Ac)	46 %	90/10
13	toluène	115 (Ac)	121 (Ac)	70 %	89/11
14	Et ₂ O	116 (Piv)	122 (Piv)	35 %	>98/2
15	Et ₂ O	117 (Bn)	123 (Bn)	53 %	85/15
16	toluène	117 (Bn)	123 (Bn)	76 %	70/30

a. la même réaction que Tableau III.2, entrée 3

Tableau III.3 : Glycosylations de l'accepteur 93 par les donneurs 92 et 112-117

Nous avons fait réagir le donneur **112** avec l'accepteur **93** dans les conditions standard précédentes (0.05 M ; -40 °C ; 0,2 équivalent de TMSOTf ; une nuit). A notre grande surprise, nous n'avons observé aucun produit de glycosylation **118**, mais seulement la formation du dérivé 1,6-anhydro **124** (Figure III.4). Le groupement TBDMS, favorise donc plus la formation du dérivé 1,6-anhydro que le TBDPS, ce qui est logique au vu de sa plus faible stabilité en milieu acide. Nous avons donc abandonné le groupement TBDMS.

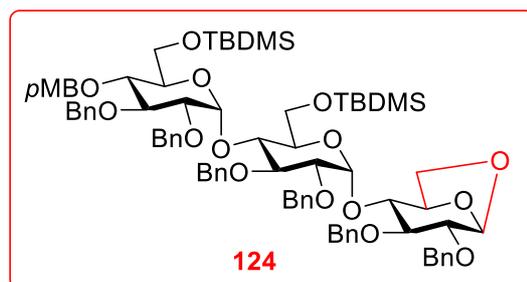


Figure III.4 : La glycosylation de l'accepteur **93** par le donneur **112** conduit au produit 1,6-anhydro **124**

III.3.3.2. Effet de solvant sur les glycosylations en présence de TBDPS ou Bz en position O-6

Nous avons ensuite testé la glycosylation de l'accepteur **93** par le donneur **113** (Bz en position O-6) dans les conditions précédentes (CH₂Cl₂ ; 0.05 M ; -40 °C ; 0,2 équivalent de TMSOTf ; une nuit ; Schéma III.18 et Tableau III.3, entrée 8). Le rendement de 27 % reste faible, bien que meilleur que celui de 15 % obtenu, dans les mêmes conditions, avec le donneur **92** (Tableau III.3, entrée 2). Nous nous sommes donc intéressés à caractériser, par spectrométrie de masse, les différents produits présents dans la fraction de queue de la chromatographie sur Sephadex LH-20. Comme nous l'anticipions, nous n'avons pas observé le produit secondaire de type 1,6-anhydro, mais nous avons pu identifier le glycal **125** provenant du donneur **113** (Figure III.5).

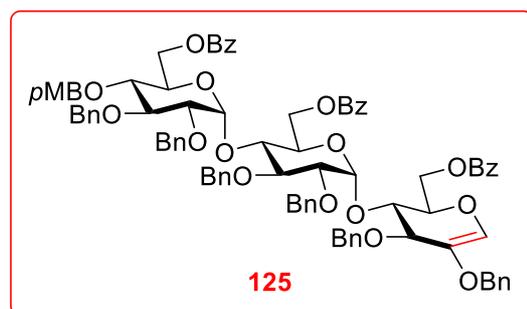


Figure III.5 : La glycosylation de l'accepteur **93** par le donneur **113** conduit au produit glycal **125**

Nous avons utilisé d'abord le donneur **113**. Dans l'Et₂O, nous avons obtenu l'hexasaccharide **119** avec un rendement isolé de 46 % (Tableau III.3, entrée 9). Dans le toluène, nous avons obtenu 47 % du produit désiré **119** (Tableau III.3, entrée 10). Les résultats sont donc similaires dans les deux cas.

Avec le donneur **92**, nous avons isolé 46 % du bon produit **96** dans l'Et₂O (Tableau III.3, entrée 3) et un peu plus élevé de 53 % dans le toluène (Tableau III.3, entrée 4). Nous avons ensuite testé le solvant 1,4-dioxane, malheureusement, le milieu réactionnel était trop épais et l'agitation est devenue impossible (Tableau III.3, entrée 5). Nous avons eu le même problème avec le mélange toluène/1,4-dioxane 1/1 (v/v, Tableau III.3, entrée 6). Dans le cas de toluène/1,4-dioxane 9/1 (v/v), le taux de conversion de l'accepteur était très faible bien qu'une meilleure agitation a été possible (Tableau III.3, entrée 7).

Il est très intéressant de noter que les glycosylations par les donneurs **92** et **113** ont conduit à des rendements de 46 à 53 % lorsqu'elles sont menées dans l'Et₂O (Tableau III.3, entrée 3 et 9) et le toluène (Tableau III.3, entrée 4 et 10), alors qu'il était seulement de 15 % ou 27 % dans le CH₂Cl₂ (Tableau III.3, entrée 2 et 8). De plus, l'analyse de la fraction de queue de la Sephadex LH-20 par spectrométrie de masse a montré que nous n'avons plus formé le produit secondaire 1,6-anhydro **97**. Cela peut s'expliquer par le fait que comme l'Et₂O (peut-être aussi le toluène) est un solvant moins polaire qui préfère solvater la face β de l'intermédiaire oxocarbénium⁹⁹, l'attaque de l'oxygène en position O-6 est gênée par ce solvant.

Comme le toluène donne des rendements un peu plus élevé et que l'Et₂O est un solvant qui favorise potentiellement la sélectivité α, nous avons décidé de continuer d'effectuer les glycosylations avec les différents donneurs **114-117** dans les deux solvants.

III.3.3.3. Rendements des glycosylations dans l'Et₂O et le toluène avec les différents donneurs 114-117

Nous avons d'abord fait réagir, à -40 °C et en présence de 0,2 équivalent de TMSOTf, les

[99] H. Satoh, H. S. Hansen, S. Manabe, W. F. van Gunsteren, P. H. Hünenberger, *J. Chem. Theory Comput.* **2010**, *6*, 1783-1797.

donneurs **114-117** (1.3 équivalents) sur l'accepteur **93** à une concentration de 0.05 M dans l'Et₂O (Schéma III.18 et Tableau III.3, entrée 11, 12, 14, 15). Après une nuit, nous avons neutralisé les milieux réactionnels en ajoutant du Et₃N et nous avons récupéré les fractions de tête des chromatographies sur Sephadex LH-20, puis purifié les produits désirés par chromatographie flash pour calculer les rendements. Ces réactions ont été menées deux fois pour chaque donneur et les résultats sur CCM sont très comparables.

C'est avec le donneur **114**, dont toutes les positions primaires des unités glucosidiques sont protégées par des groupements *p*NO₂Bz que nous avons obtenu le meilleur rendement (56 % ; Tableau III.3, entrée 11). Ce rendement est cohérent avec notre hypothèse : comme le groupement *p*NO₂Bz est très désarmant, le donneur **114** s'active moins vite et sa réactivité est plus en accord (*match*) avec celle de l'accepteur **93** que les autres donneurs. C'est avec le donneur **116**, dont les positions primaires du maltotriose sont protégées par des groupements pivaloates que le rendement le plus faible a été obtenu (35 % ; Tableau III.3, entrée 14). Nous pensons que l'encombrement stérique du groupement pivaloate est trop important et qu'il gêne l'attaque de l'accepteur. Le donneur **115**, qui comporte un groupement Ac en position O-6, a conduit à un rendement similaire à ceux obtenus avec le TBDPS et le Bz (46 % ; Tableau III.3, entrée 12, 3 et 9). De manière intéressante, le donneur comportant un groupement benzyle en position O-6 **117**, conduit lui aussi à un bon rendement (53 % ; Tableau III.3, entrée 15).

Nous avons aussi testé les glycosylations dans le toluène seulement avec les donneurs **115** et **117**. Nous avons pu observer des rendements plus élevés (70 % pour **115** et 76 % pour **117** ; Tableau III.3, entrée 13 et 16) que dans l'Et₂O (46 % pour **115** et 53 % pour **117** ; Tableau III.3, entrée 12 et 15). Il semblerait donc, qu'à part l'effet extrêmement désarmant exercé par un groupement *p*NO₂Bz ou extrêmement encombrant du Piv, les améliorations apportées aux rendements des réactions présentées dans le Tableau III.3 sont surtout dues au changement de solvant. Et le toluène nous semblerait un meilleur choix que l'Et₂O.

III.3.3.4. Stéréosélectivités des glycosylations avec les différents donneurs 92 et 113-117

Dans un premier temps, afin de faciliter les analyses des stéréosélectivités de toutes les réactions de glycosylation présentées dans le Tableau III.3, nous pensions recourir à la

HPLC sur colonne C-18, et qu'il serait possible de quantifier le rapport α/β sur le mélange d'anomères **126**. Une telle stratégie d'analyse aurait été très intéressante, puisque tous les mélanges α/β des hexasaccharides **119-122** issus des donneurs **113-116** qui ont des groupements esters en position O-6 peuvent tous conduire, après traitement dans les conditions de Zemplén, au même mélange α/β d'hexasaccharides **126** (Schéma III.19). Malheureusement, il ne nous a pas été possible de trouver des conditions HPLC permettant de séparer les deux anomères de l'hexasaccharide **126**. Nous n'avons donc pas pu poursuivre cette stratégie d'analyse.

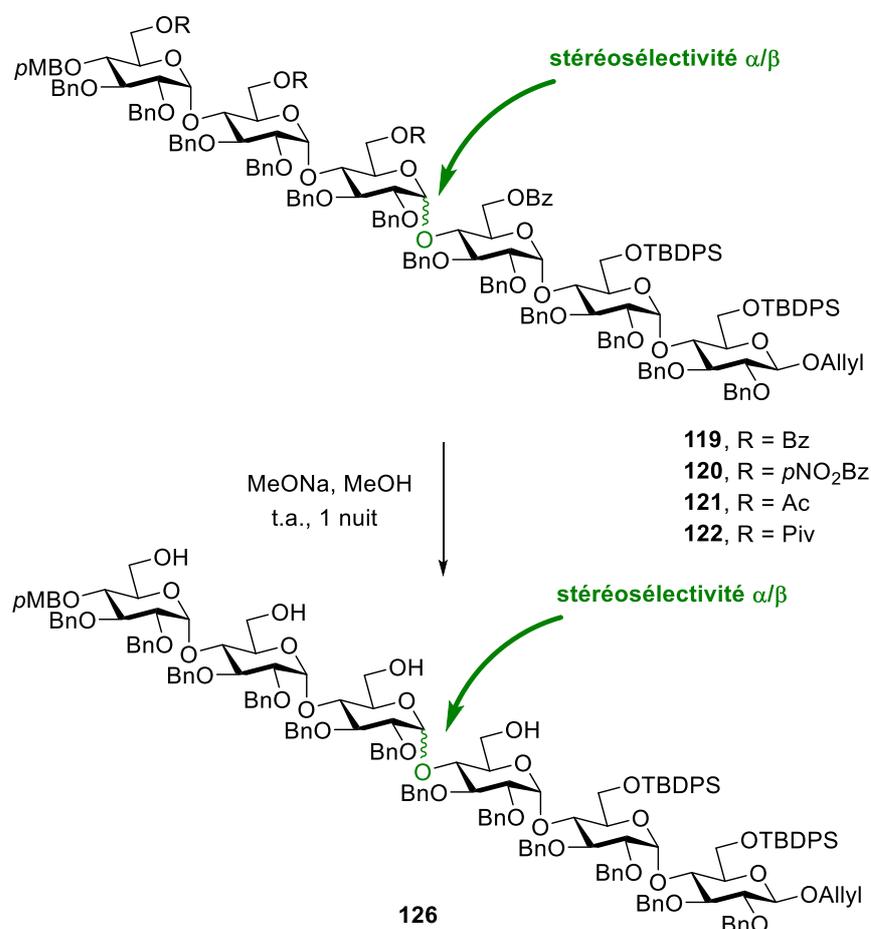


Schéma III.19 : Zemplén déacétylation de l'hexasaccharide **119-122** en vue d'analyses HPLC

Les mélanges α/β d'hexasaccharides **96** (Schéma III.16) et **123** (Schéma III.18), obtenus respectivement avec les donneurs **92** (TBDPS) et **117** (Bn), ont pu être analysés directement par HPLC sur colonne RP-C18. Ci-dessous (Figure III.6), est représenté à titre d'exemple le chromatogramme du mélange α/β d'hexasaccharides **123** (Bn) dans les conditions d'élution (CH₃CN/THF 80/20 à 70/30, v/v) permettant de séparer les deux anomères. Un

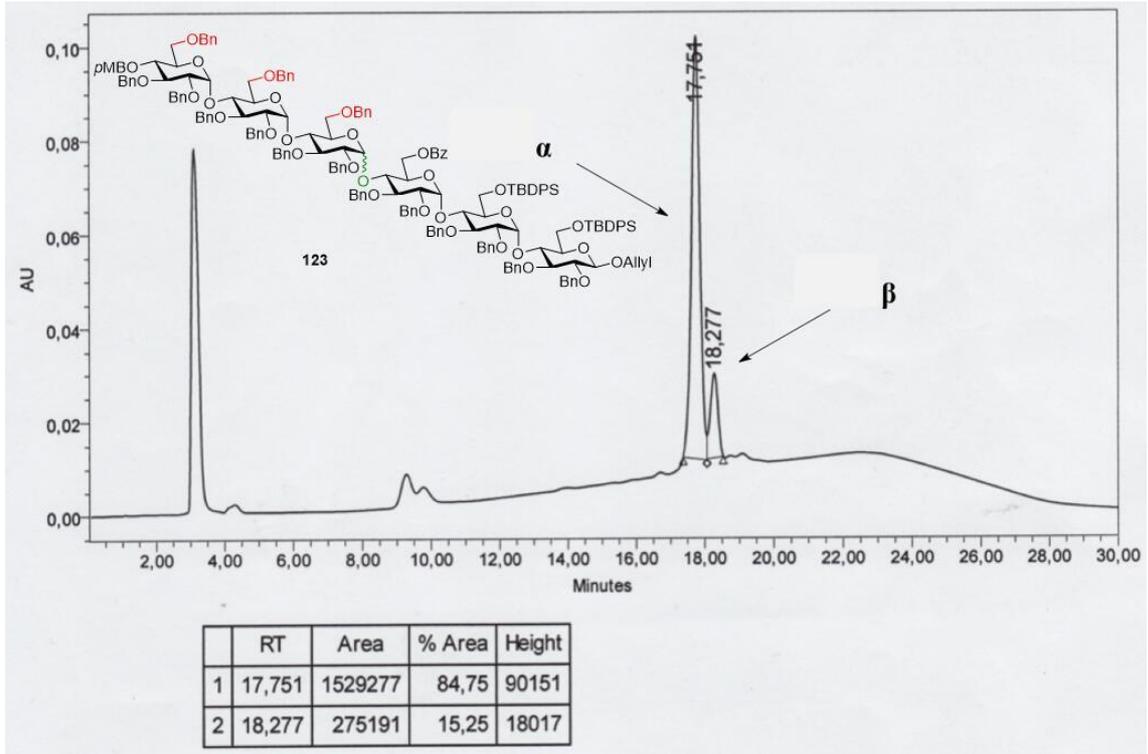


Figure III.6 : Chromatogramme HPLC pour le mélange d'hexasaccharide 123

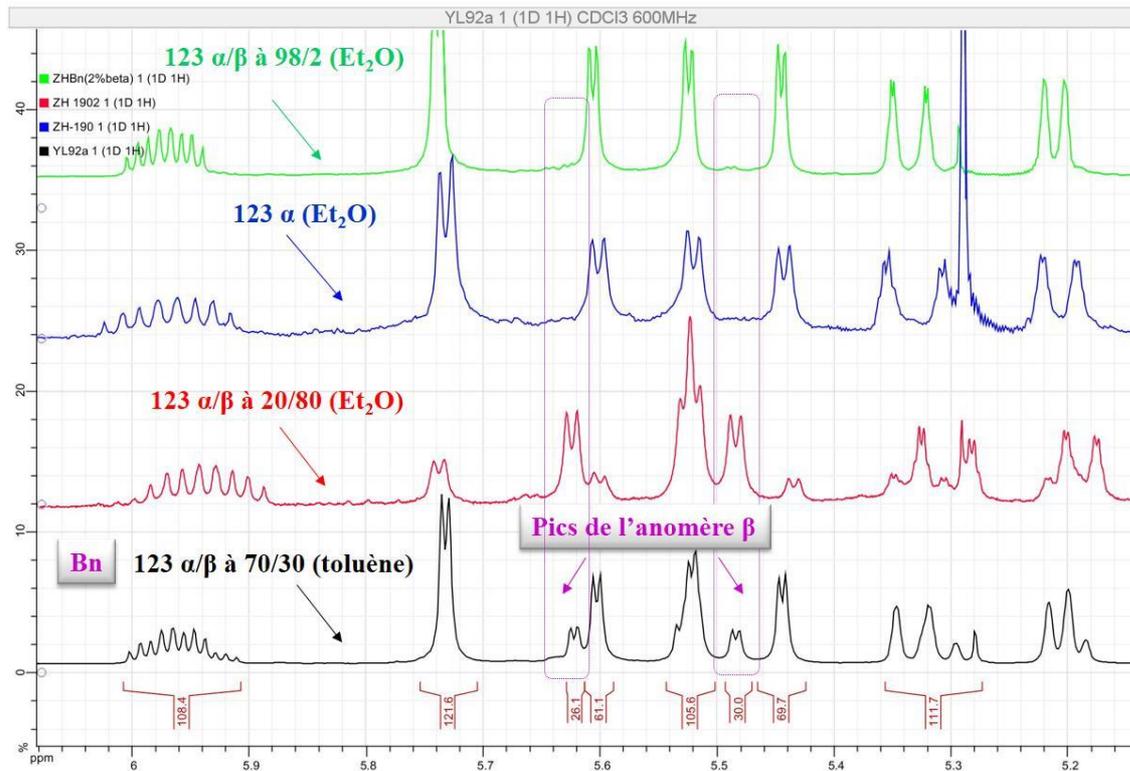


Figure III.7 : Spectres RMN ¹H des mélanges des anomères 123

rapport α/β de 85/15 a ainsi pu être déterminé pour la formation de l'hexasaccharide **123** à partir du donneur trisaccharidique benzylé **117** lorsque Et_2O a été utilisé comme solvant et un rapport 70/30 (à vérifier rapport obtenu par HPLC) lorsque la réaction a été effectuée dans le toluène.

Pour être certain de notre attribution des pics sur le chromatogramme HPLC, nous avons séparé partiellement par chromatographie flash les deux anomères de l'hexasaccharide **123**, ce qui nous a permis d'obtenir 15 mg d'anomère α pur et 3 mg de mélange α/β 20/80. Puis nous avons étudié séparément ces deux fractions par RMN ^1H (Figure III.7) et corrélation HSQC ^1H - ^{13}C , cette dernière montrant clairement l'apparition d'une tache de corrélation bien distincte et caractéristique dans la zone des centres anomères β (Figure III.8 et 9) pour les mélanges où cet anomère est présent. Cette analyse nous a permis de confirmer que le stéréoisomère majoritaire formé dans la réaction de glycosylation avec le donneur **117** dans Et_2O était bien l'anomère α . De plus, dans le spectre ^1H du mélange α/β 20/80 (Figure III.7, spectre rouge), nous avons pu observer que l'introduction d'une liaison β au centre de l'hexasaccharide changeait très fortement les déplacements chimiques des protons des autres liaisons glycosidiques α . En intégrant les signaux des protons anomères α des mélanges α/β de l'hexasaccharide **123** obtenus dans Et_2O ou le toluène, nous avons pu retrouver les rapport α/β de 85/15 (à vérifier rapport obtenu par HPLC) et 70/30 (Figure III.7, spectre noir) que nous avons déterminés par HPLC. Pour déterminer la limite de détection de l'anomère β de **123**, nous avons préparé, à partir de l'anomère α pur et du mélange α/β 20/80, des mélanges de compositions définies. L'analyse de leurs spectres ^1H , dans la zone des protons anomères α , nous a permis d'estimer la limite de détection de l'anomère β à 2 % (Figure III.7, spectres vert).

Pour l'hexasaccharide **96** (TBDPS), nous avons observé qu'un seul pic en HPLC, ce qui n'est pas une preuve en soi de totale stéréosélectivité de la réaction de glycosylation. La RMN ^1H de la fraction de tête de colonne Sephadex LH-20 a été utilisée comme méthode complémentaire, car la présence de stéréoisomère β dans le mélange devrait entraîner un dédoublement des protons anomères α . Comme on peut le constater sur la Figure III.10, nous n'avons observé aucun dédoublement dans la région des protons anomères α des hexasaccharides **96** et **122** formés dans la réaction du donneur **92** (TBDPS) dans le toluène (spectre noir) et **116** (Piv) dans Et_2O (spectre vert). Pour les réactions avec **92** (TBDPS) ou

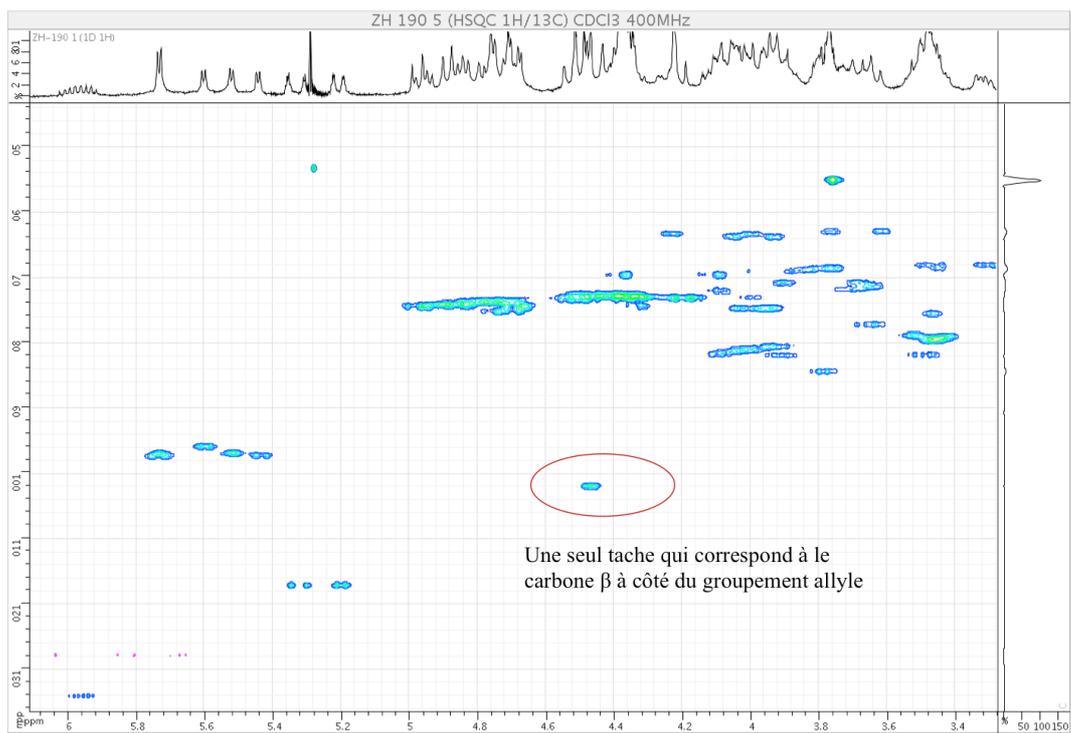


Figure III.8 : Spectre HSQC de l'hexasaccharide 123α

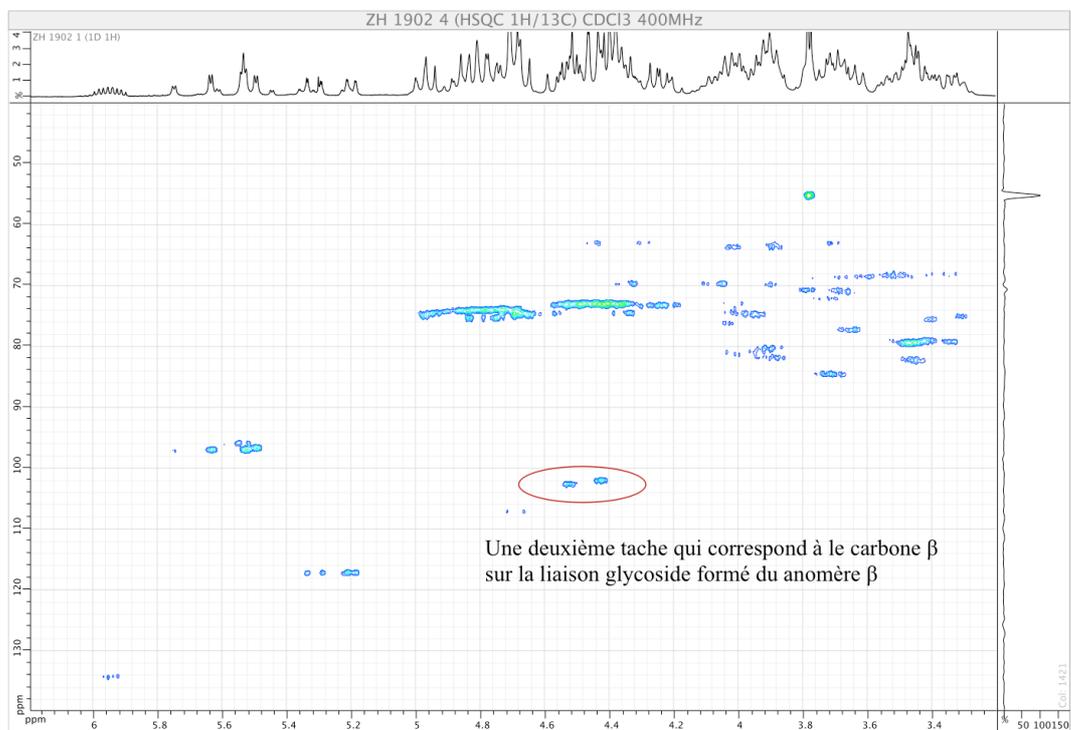


Figure III.9 : Spectre HSQC d'un mélange de l'anomère $123 \alpha/\beta$ 20/80

114 (*p*NO₂Bz) dans Et₂O (respectivement spectres rouge et bleu), des épaulements pourraient indiquer la présence de très légères traces de stéréoisomère β, mais dans des proportions trop faibles pour être quantifiées. Il est donc raisonnable de conclure que les réactions de glycosylation impliquant les donneurs **92**, **114** et **116** ont une très forte stéréosélectivité α.

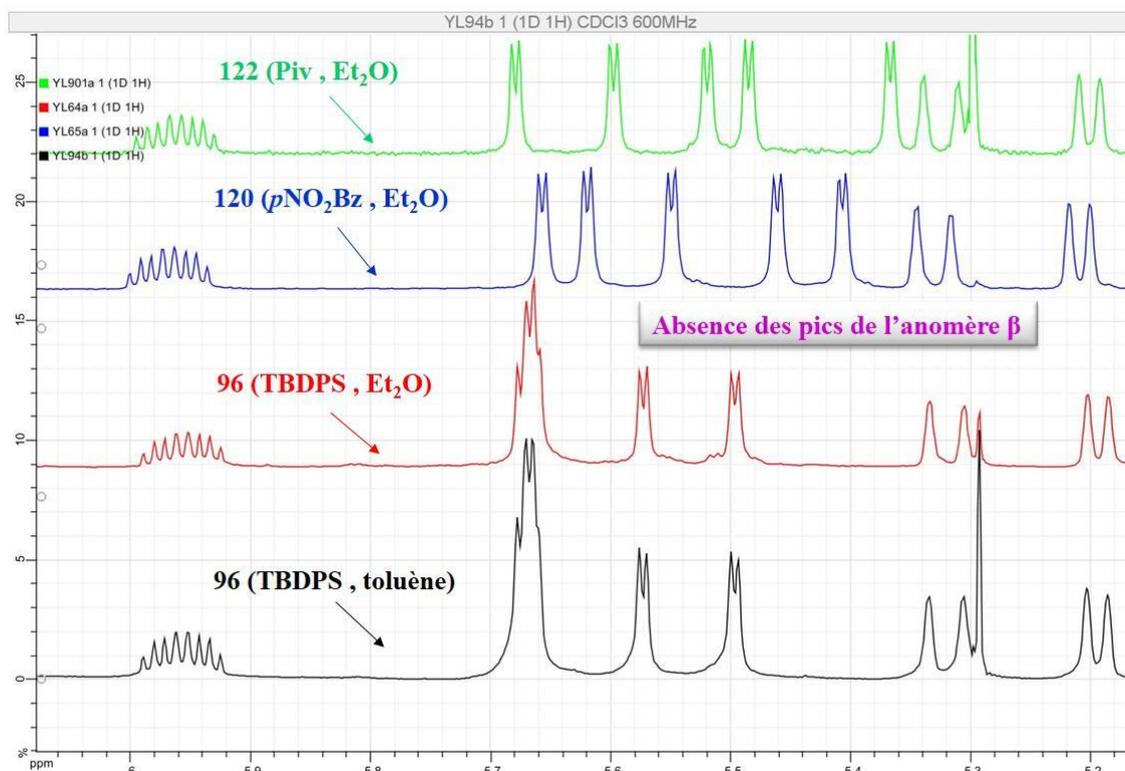


Figure III.10 : Spectres RMN ¹H des hexasaccharides **96**, **120** et **122**

Pour l'hexasaccharide **121**, comportant le groupement Ac en position O-6^{IV,V,VI}, nous avons pu déterminer un rapport α/β de 90/10 pour le mélange d'anomères obtenu par réaction dans Et₂O (Figure III.11, spectre noir). Nous avons séparé les anomères par chromatographie flash et les avons caractérisés par RMN. La Figure III.12 montre la région des protons anomères α du spectre ¹H (spectre rouge pour l'anomère **121** α et bleu pour **121** β). L'acquisition de spectres RMN ¹H sur des échantillons de composition définie nous a permis de vérifier que, comme pour l'hexasaccharide **96**, la limite de détection de l'anomère β était de 2 % (Figure III.11, spectre rouge). Lorsque le toluène est utilisé pour la glycosylation avec le donneur **115**, un rapport α/β similaire (89/11) a été obtenu (Figure III.12, spectre noir).

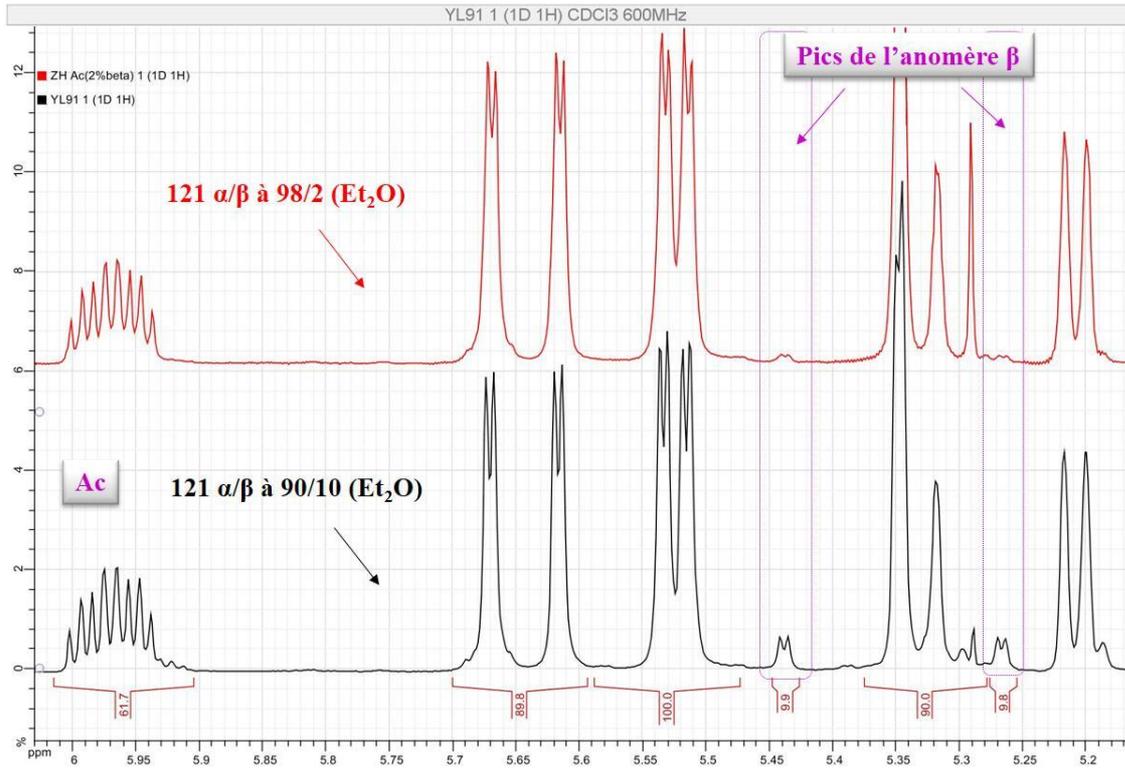


Figure III.11 : Spectres RMN ^1H des mélanges des anomères **121** dans le cas de l' Et_2O

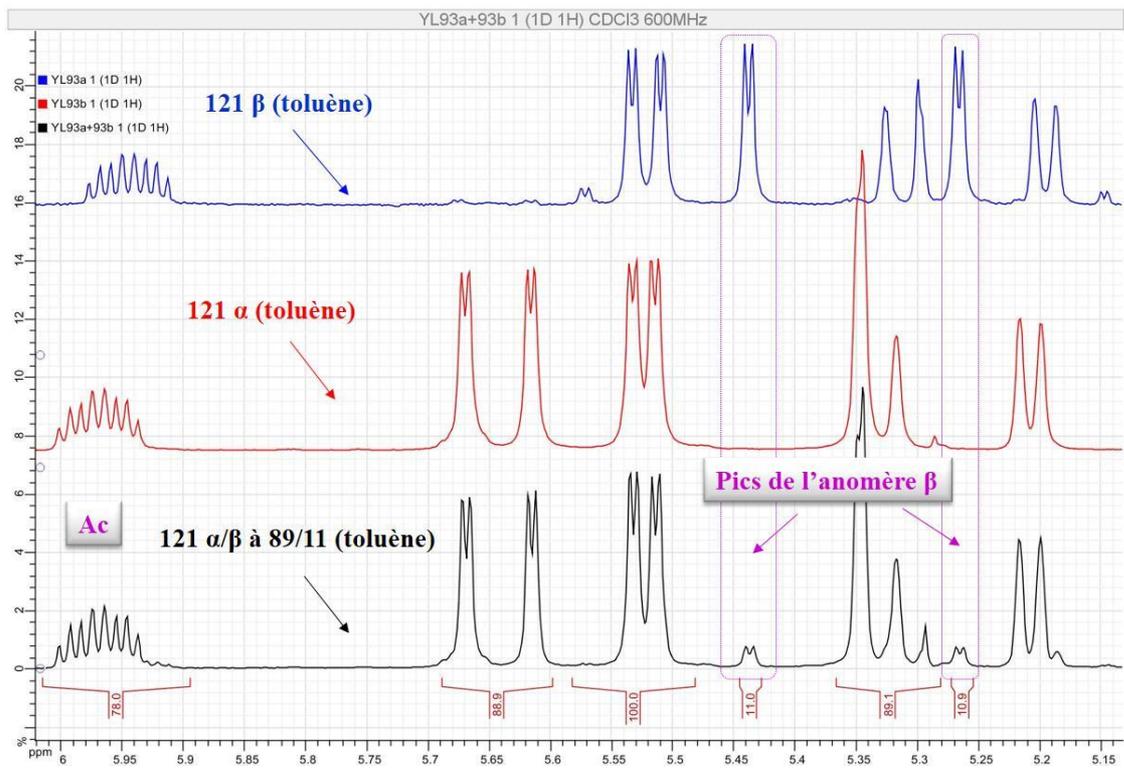


Figure III.12 : Spectres RMN ^1H des mélanges des anomères **121** dans le cas du toluène

Pour finir cette étude, nous avons enregistré les spectres de RMN ^1H pour les mélanges d'anomères d'hexasaccharides **119**, qui comporte un groupement Bz en position O-6^{IV,V,VI}. L'analyse de la région des protons anomères α dans le spectre ^1H , nous a permis de déterminer qu'une même stéréosélectivité α/β de 80/20 avait été obtenue en utilisant l' Et_2O (Figure III.13, spectre noir) ou le toluène (non montré) comme solvants. Là encore, une chromatographie flash, nous a permis d'obtenir l'anomère **119** α pur et un mélange α/β (6/4) (Figure III.13, spectres rouge et bleu). Encore une fois, la limite de détection d'un anomère β n'est pas supérieure à 2 % (Figure III.13, spectre vert).

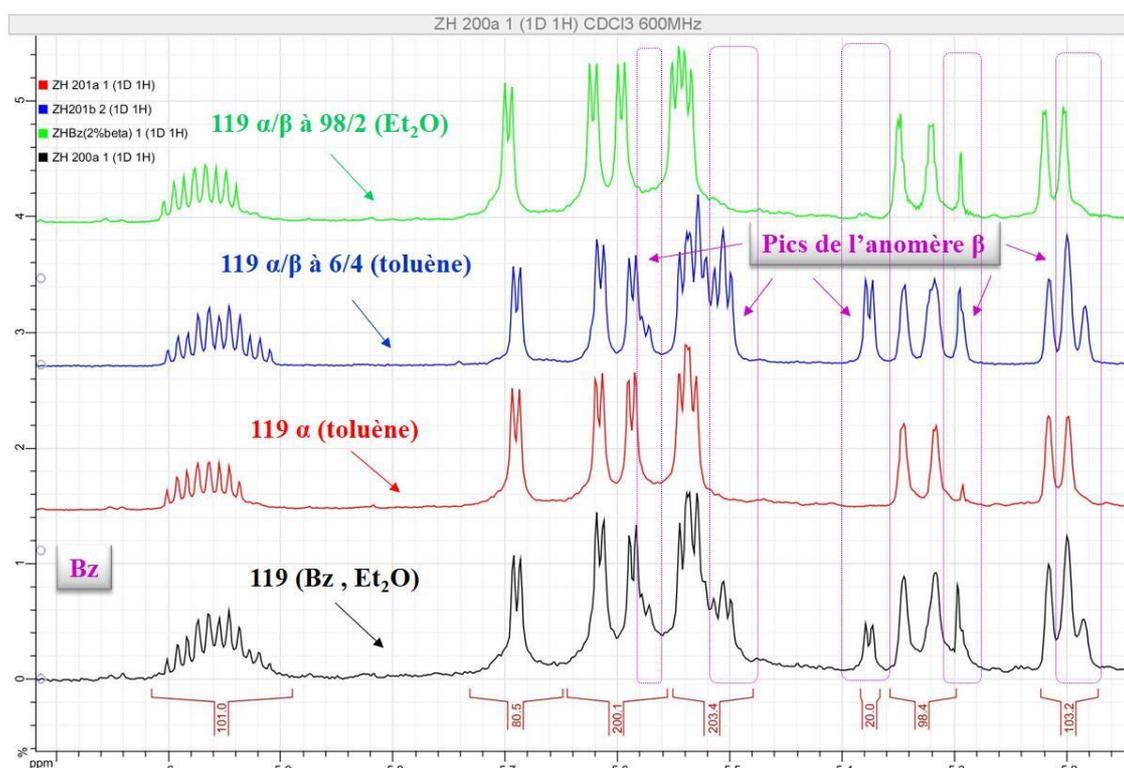


Figure III.13 : Spectres RMN ^1H des mélanges des anomères **119**

III.3.3.5. Conclusion

Pour conclure, nous avons comparé les rendements et les stéréosélectivités des réactions de la glycosylation des différents donneurs (TBDPS, Bn, $p\text{NO}_2\text{Bz}$, Piv, Ac et Bz) dans différents solvants (CH_2Cl_2 , Et_2O et toluène). Le solvant est un facteur important qui a principalement une influence sur le rendement. L' Et_2O et le toluène donnent des rendements beaucoup plus élevés que le CH_2Cl_2 , et le toluène donne des rendements un peu plus élevés que l' Et_2O . Nous avons donc choisi le toluène comme solvant. Quant à la

stéréosélectivité, les groupements protecteurs TBDPS, *p*NO₂Bz et Piv en position O-6^l du donneur favorisent une stéréosélectivité α totale. Dans les cas de donneurs avec des groupements Bn, Ac ou Bz pour protéger la position O-6^l, nous avons obtenu des mélanges α/β d'anomères allant de 90/10 à 70/30. Au vu du rendement dans l'Et₂O, le TBDPS (46 %) est mieux que le Piv (35 %), mais moins bon que le *p*NO₂Bz (56 %). Cependant, le TBDPS est définitivement un meilleur choix que le *p*NO₂Bz pour continuer la synthèse, obtenir les oligomères, et les diversifier dans les sulfoformes. Nous avons donc décidé d'optimiser les conditions de la réaction de glycosylation avec le donneur **92**.

III.4. Mise au point et scale-up de la glycosylation avec le donneur **92**

III.4.1. Faire varier le rapport donneur/accepteur

Comme décrit ci-dessus, nous avons décidé de mettre au point la glycosylation en utilisant le donneur **92** et réaliser une montée d'échelle. Comme indiqué sur le Schéma III.20 et le Tableau III.4, entrée 1, nous avons déjà obtenu l'hexasaccharide **96** avec un rendement de 53 % dans une séquence avec 1,3 équivalents de donneur en présence de 0,2 équivalent de TMSOTf et tamis moléculaire 4Å dans le toluène (0,5 M) à -40 °C. De plus, nous avons pu récupérer la majorité de l'accepteur (45 %) qui n'a pas réagi avec le donneur.

Nous avons ensuite essayé à faire varier le rapport donneur/accepteur. Avec 1,0 équivalent de donneur, nous avons obtenu un rendement de 36 % qui n'était pas très satisfaisant (Tableau III.4, entrée 2). En présence de 2,0 équivalents de donneur, le rendement a été augmenté à 72 %, mais cela signifie aussi qu'il y avait 1,28 équivalents de donneur qui s'est décomposé au milieu réactionnel (Tableau III.4, entrée 3). Nous avons aussi testé 0,5 équivalent de donneur, autrement dit, 2,0 équivalents d'accepteur, et obtenu un rendement de 52 % par rapport au donneur (en quantité limitante) ou 26 % par rapport à l'accepteur (Tableau III.4, entrée 3). Comme pour préparer les nona et dodecasaccharide nous couplerons le même donneur trisaccharidique **92** sur les accepteurs hexa ou nonasaccharidique, ce sont ces derniers qui seront plus précieux. Nous avons donc privilégié de poursuivre l'optimisation de conditions où le donneur est en excès par rapport à l'accepteur (par exemple 2,0 équivalents de donneur utilisé dans le cas de la préparation du dodecasaccharide **130**, voir la section III.5).

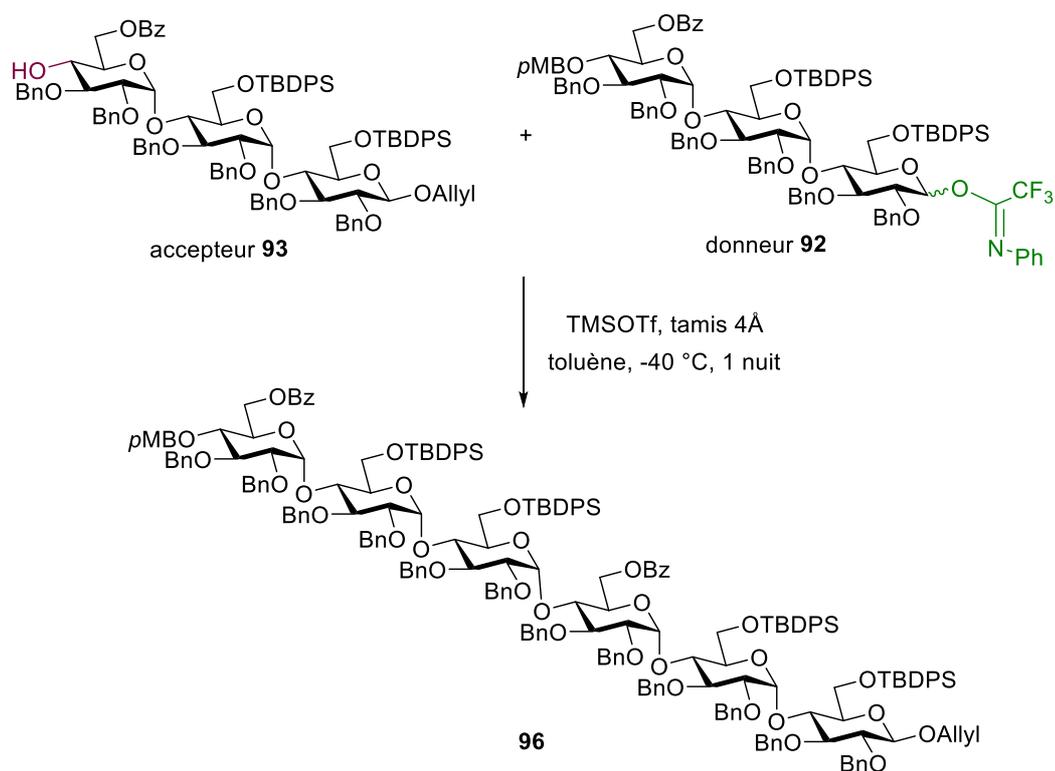


Schéma III.20 : Mise au point de la glycosylation du donneur **92**

Entrée	Accepteur	Concentration	Donneur	Rendement	Accepteur récupéré
1 ^a	12 μ mol, 20 mg	0,05 M	1,3 eq.	53 %	45 %
2	12 μ mol, 20 mg	0,05 M	1,0 eq.	36 %	51 %
3	12 μ mol, 20 mg	0,05 M	2,0 eq.	72 %	25 %
4 ^b	24 μ mol, 40 mg	0,05 M	0,5 eq.	26 %	61 %
5	60 μ mol, 100 mg	0,05 M	1,3 eq.	70 %	22 %
6	120 μ mol, 200 mg	0,1 M	1,3 eq.	86 %	13 %
7	300 μ mol, 500 mg	0,1 M	1,3 eq.	84 %	15 %

a. la même réaction que Tableau III.3, entrée 4

b. calculer sur le donneur : 2 eq. d'accepteur, 52 % de rendement, 1,22 eq. d'accepteur récupéré

Tableau III.4 : Glycosylations de l'accepteur **93** par le donneur **92** dans le toluène

III.4.2. Scale-up deux fois plus concentré

Nous avons donc décidé de garder le protocole avec 1,3 équivalents de donneur et effectuer la réaction à plus grande échelle. A notre grande surprise, le rendement a été amélioré largement de 53 % à 70 % lorsque nous avons augmenté la quantité de donneur de 12 μmol , 20 mg à 60 μmol , 100 mg (Tableau III.4, entrée 5). Ensuite, nous avons effectué la glycosylation à une concentration deux fois plus élevée d'accepteur (passage de 0,05 M à 0,1 M), tout en gardant la même concentration en promoteur TMSOTf (donc passage de 0,2 équivalent à 0,1 équivalent). Dans ces conditions, le rendement a encore augmenté pour atteindre 86 % (Tableau III.4, entrée 6). Enfin, nous avons pu réaliser cette réaction à l'échelle de 300 μmol (500 mg de **92**) en conservant un très bon rendement de 84 % (Tableau III.4, entrée 7). Dans tous les cas, la majorité de l'accepteur qui n'a pas réagi avec le donneur a été récupéré.

III.5. Accès aux nona et dodecasaccharide protégés

Après avoir optimisé la condition réactionnelle de l'accepteur **93** et du donneur **92**, nous avons voulu étendre notre synthèse aux nona et dodecasaccharide. Nous avons commencé par la déprotection du groupement *p*MB de l'hexasaccharide **96**. En utilisant le TFA, l'accepteur **127** a été obtenu avec un rendement de 82 %. Puis en appliquant la condition optimisée décrit dans le Tableau III.4, entrée 6 (toluène comme solvant ; 0.1 M ; -40 °C ; 0,1 équivalent de TMSOTf ; une nuit), la glycosylation de l'accepteur hexasaccharidique **127** par le donneur trisaccharidique **112** a bien été effectué conduisant au nonasaccharide désiré **128** avec un rendement de 64 % sur une échelle de 660 mg (Schéma III.21). De plus, 29 % de l'accepteur a été récupéré.

De la même façon, nous avons préparé l'accepteur nonasaccharidique **129** avec un rendement de 72 % à partir du nonasaccharide **128**. Comme l'accepteur **129** est beaucoup plus précieux que le donneur **112** et qu'une concentration de 0,1 M en accepteur hexasaccharidique **127** conduisait déjà à un milieu réactionnel de viscosité élevée, nous avons décidé de choisir les conditions de l'entrée 3 du Tableau III.4 (2 équivalents de donneur ; 0.05 M ; 0,2 équivalent de TMSOTf) pour préparer le dodécasaccharide **130**. Dans ces conditions, nous avons obtenu 43 mg de dodecasaccharide **130** avec 66 % de rendement et récupéré 30 % d'accepteur **129** (Schéma III.21).

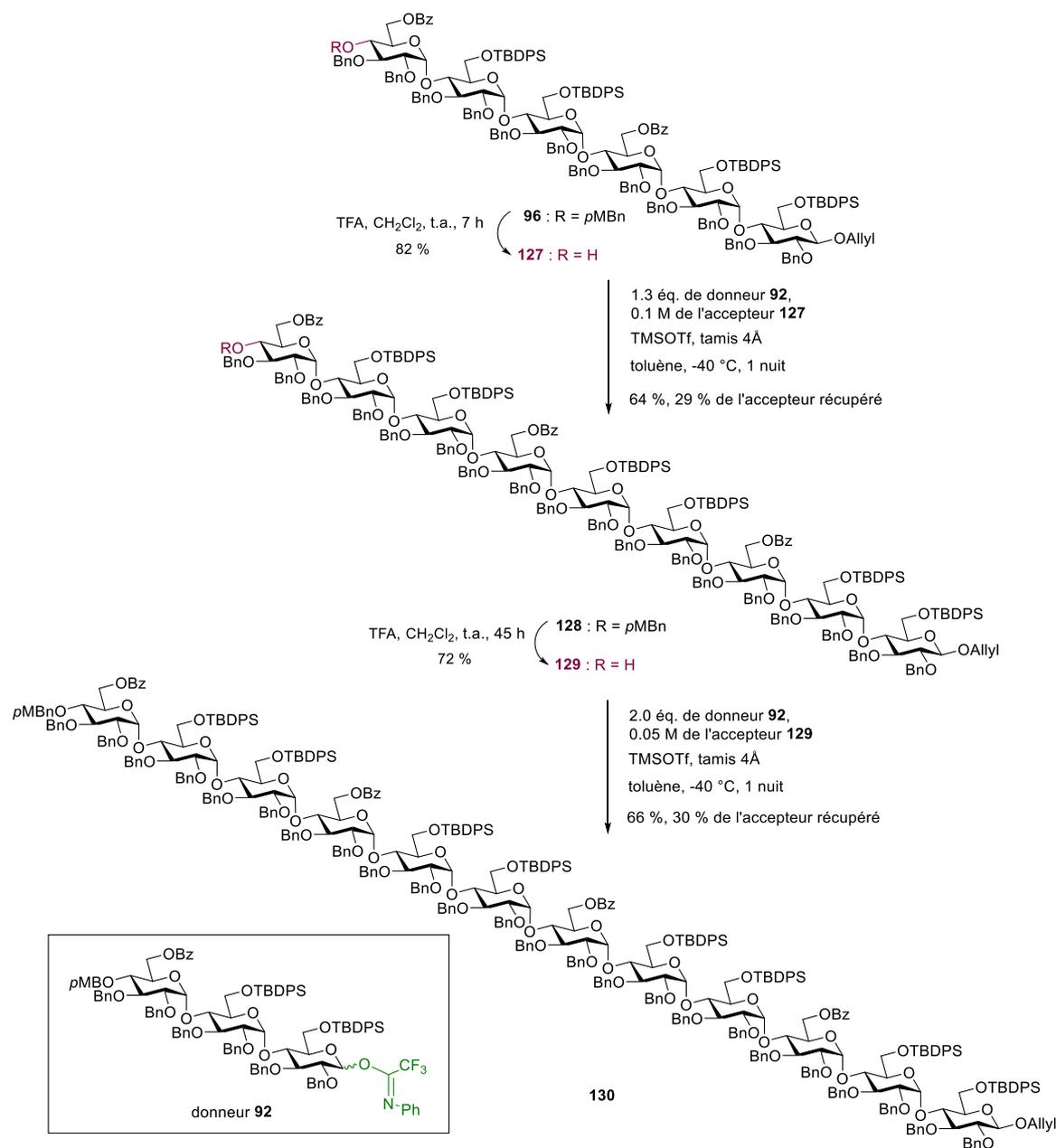


Schéma III.21 : Accès aux nona et dodecasaccharide protégés

III.6. Conclusion

Dans ce chapitre, à partir de la brique maltotrioside fonctionnalisée 7 dont la préparation est décrite dans le Chapitre II, nous avons réalisé les études méthodologiques sur la glycosylation $\alpha(1\rightarrow4)$ qui nous donnera à terme la chimiothèque d'oligomaltosides sulfatés.

Dans un premier temps, nous avons constaté que le donneur sous forme de *N*-phényltrifluoroacétimide (PTFA) est un meilleur choix que cela de trichloroacétimide

(TCA) qui subit une réaction parasite du réarrangement d'imidate. Nous avons aussi observé qu'un benzoate (Bz) en position O-6^{III} du donneur est préférable à un acétate (Ac), car ce dernier est moins stable dans les conditions acides et basiques des réactions de dérivation en donneur et accepteur.

Deuxièmement, les études méthodologiques des glycosylations des différents donneurs possédant différents groupements protecteurs en position O-6^I (TBDPS, Bn, *p*NO₂Bz, Piv, Ac et Bz) ont été testés pour bien comparer leurs influences sur le rendement et l'effet stéréodirecteur.

Finalement, l'optimisation des conditions de la glycosylation $\alpha(1\rightarrow4)$ en changeant plusieurs paramètres comme : le promoteur, la température, l'ordre d'addition des réactifs, le type de tamis moléculaire, l'effet de solvant, le rapport donneur/accepteur, la concentration de l'accepteur, et l'échelle de la réaction nous a permis d'accéder efficacement et rapidement aux hexa, nona et dodecasaccharide protégés **96**, **128** et **130** avec des bons rendements et une stéréosélectivité α totale (Schéma III.22).

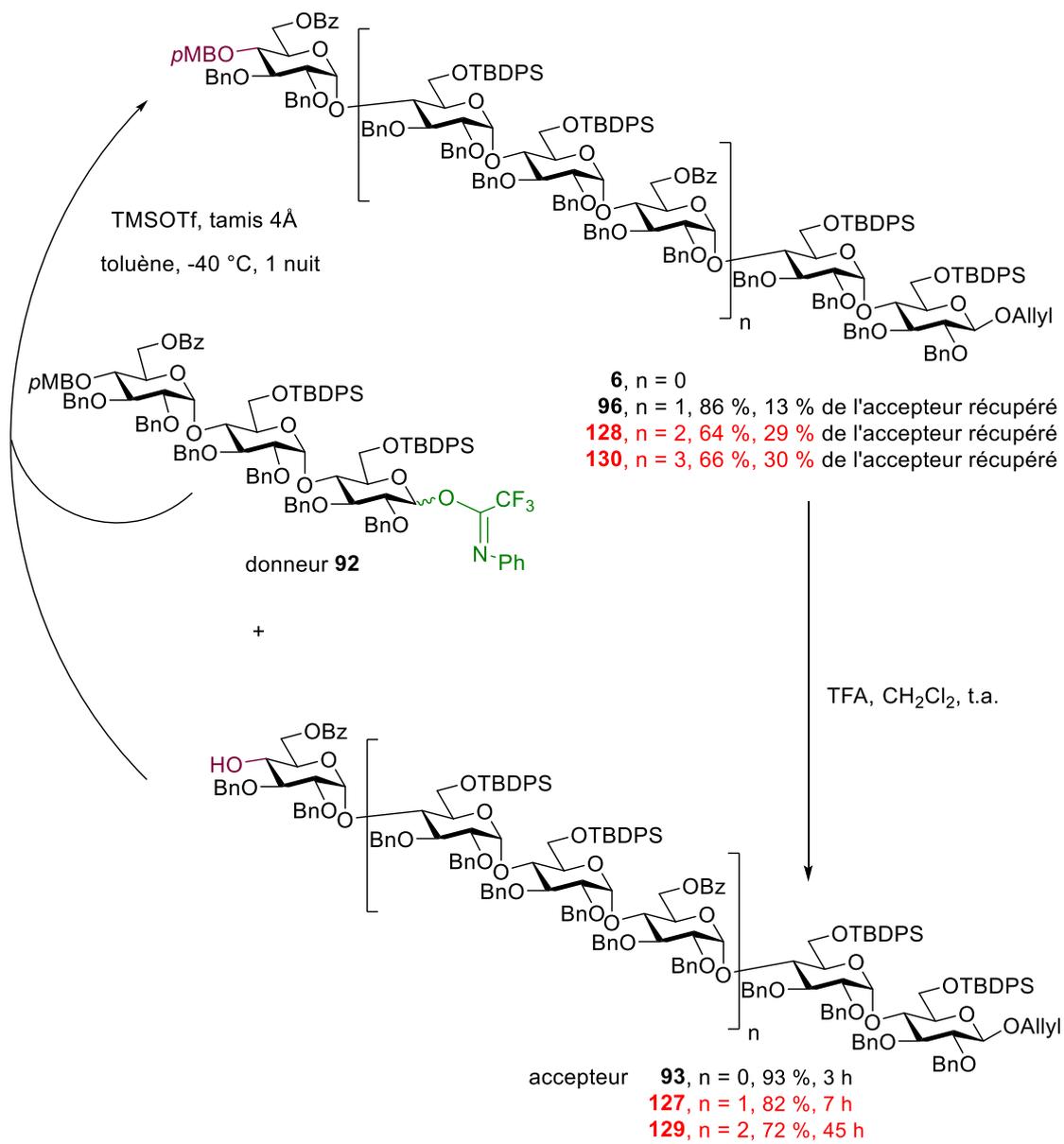


Schéma III.22 : Accès aux hexa, nona et dodecasaccharide protégés

CHAPITRE IV : DÉPROTECTIONS CHIMIOSÉLECTIVES ET DIVERSIFICATION EN SULFOFORMES

IV.1. Stratégie générale

Notre objectif final est de préparer une chimiothèque d'oligomaltosides sulfatés de tailles différentes présentant divers taux de sulfatation (Schéma I.1). A cet effet, une stratégie de déprotection chimiosélective des oligomaltosides protégés doit être développée pour générer différents motifs de sulfatation. Dans ce but, nous avons décidé de mener des études sur les déprotections chimiosélectives des groupements Bz lié en position O-6^{III,VI,(IX)} et TBDPS en O-6^{I,IV,(VII)} et O-6^{II,V,(VIII)} des hexa et nonasaccharide protégés **96** et **128**, les sulfatations ultérieures et, par la suite, les déprotections des groupements protecteurs restants sur les positions primaires. Ces études devraient nous permettre d'accéder, après hydrogénéolyse finale, aux sulfoformes des oligomaltosides **T**, **U** et **V** (Schéma IV.1).

IV.2. Débenzoylation chimiosélective

Les premières conditions que nous avons testé pour la réaction de la débenzoylation chimiosélective de l'hexasaccharide **96** et du nonasaccharide **128** a été d'utiliser le MeONa comme base dans un mélange MeOH/THF (1/1, v/v) pour avoir une solubilité suffisante des oligomaltosides protégés (Schéma IV.2). Les résultats sont présentés dans le Tableau IV.1 et montrent que l'un des facteurs que nous avons dû optimiser est la concentration de la base. En effet, en présence de MeONa 0,025 M (1 équivalent) à 35 °C, le bon produit

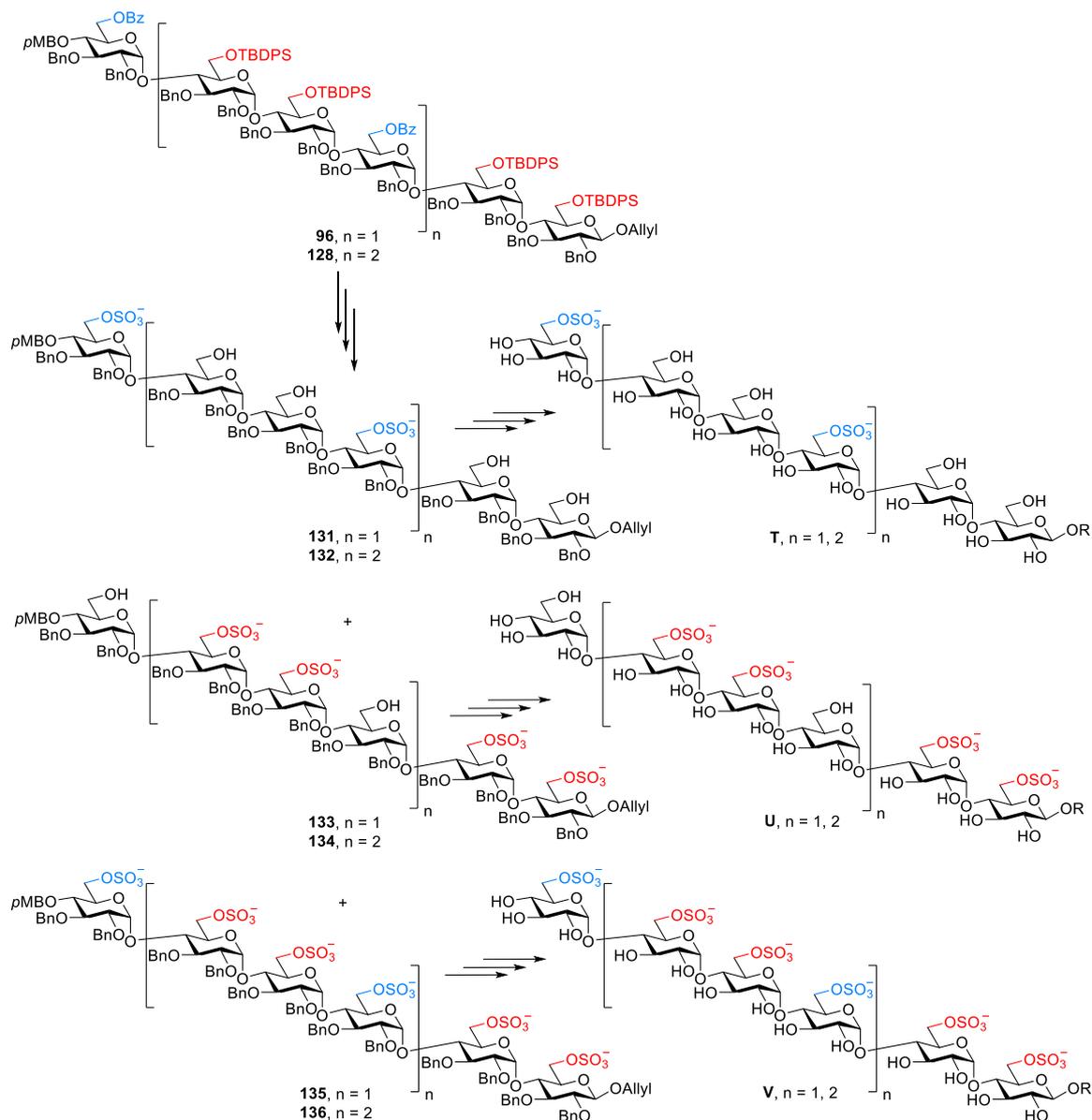


Schéma IV.1 : Vers la préparation d'une chimiothèque de sulfoformes d'oligomaltosides

hexasaccharidique **137** est bien obtenu après trois jours de réaction, mais seulement avec un rendement de 30 %. Un produit secondaire a aussi été isolé avec un rendement de 65 %, et les études RMN ont permis de montrer qu'il s'agissait d'un hexasaccharide comportant un Bz en position O-6^{III} (Tableau IV.1, entrée 1). Nous avons alors augmenté la concentration de MeONa à 0,1 M (4 équivalents), ce qui nous a permis d'obtenir, après deux jours de réaction, le produit débenzoylé **137** avec un rendement triplé de 92 % (Tableau IV.1, entrée 2). En effectuant la réaction deux fois plus concentrée en produit de départ **96** de (0,05 M) et en gardant 4 équivalents de MeONa de (0,2 M), nous avons pu réduire la durée de réaction à 20 heures, tout en gardant un très bon rendement de 95 % (Tableau IV.1,

entrée 3).

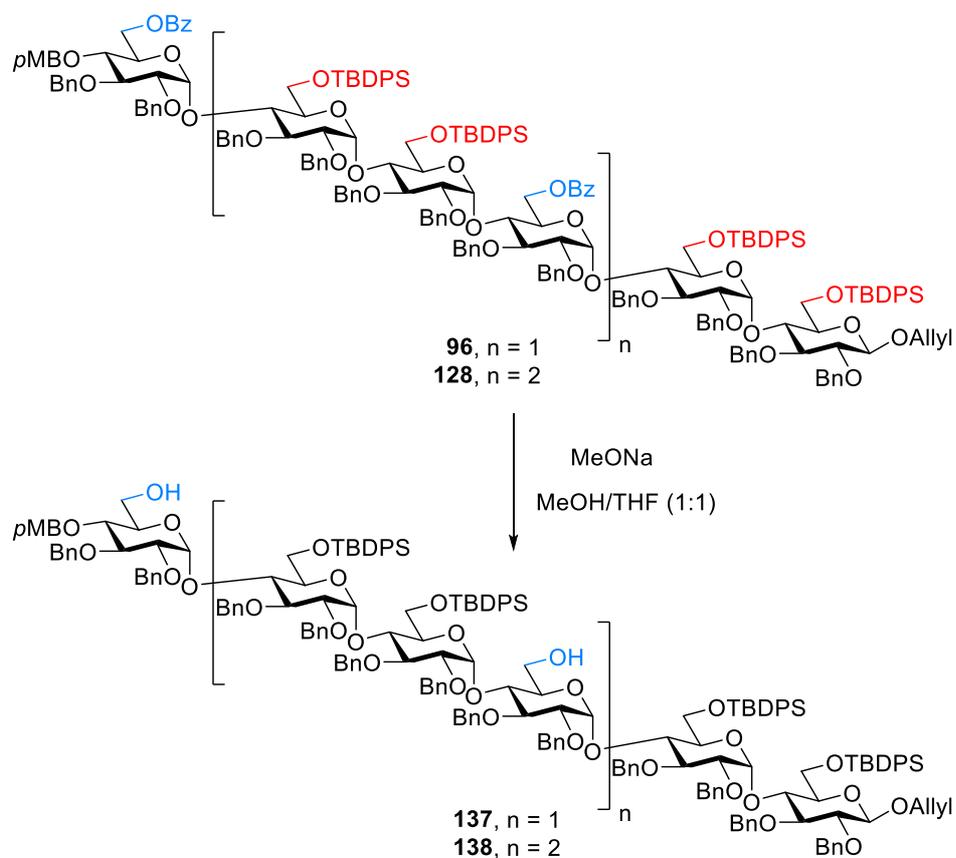


Schéma IV.2 : Débenzoylation chimiosélective à l'aide de MeONa

Entrée	n	Substrat	Concentration	MeONa	Température	Temps	Rendement
1	1	96	0,025 M	0,025 M	35 °C	67 h	30 %
2	1	96	0,025 M	0,1 M	35 °C	48 h	92 %
3	1	96	0,05 M	0,2 M	35 °C	20 h	95 %
4	2	128	0,025 M	0,1 M	35 °C	24 h	74 %
5	2	128	0,025 M	0,1 M	35 °C	43 h	81 %
6	2	128	0,05 M	0,2 M	35 °C	40 h	82 %
7	2	128	0,05 M	0,2 M	40 °C	21 h	91 %

Tableau IV.1 : Débenzoylation chimiosélective à l'aide de MeONa

Dans le cas du nonasaccharide protégé **128**, son traitement par 4 équivalents de MeONa (0,1 M) à 35 °C a permis d'obtenir le nonasaccharide déprotégé avec un rendement de 74 % en produit **138** après 24 h de réaction et de 81 % lorsque nous avons prolongé le temps de réaction à 43 heures (Tableau IV.1, entrée 4 et 5). En revanche, augmenter de 0,025 M à 0,05 M la concentration du produit de départ **128** n'a pas permis d'améliorer le rendement (82 % ; Tableau IV.1, entrée 3). Heureusement, un excellent rendement de 91 % a été atteint grâce à une hausse de la température de réaction de 35 °C à 40 °C (Tableau IV.1, entrée 2).

IV.3. Désilylation chimiosélective

IV.3.1. Désilylation en présence de TBAF

Nous avons entrepris en parallèle l'étude de la désilylation chimiosélective de l'hexasaccharide **96** par le TBAF dans le THF (Schéma IV.3, Tableau IV.2). En utilisant 4 équivalents de fluorure et en travaillant à une concentration de 0,05 M dans le THF, nous avons obtenu, après 20 à 25 heures à 35 à 40 °C, le produit souhaité **139** avec des rendements moyens de 53 à 64 % accompagné de beaucoup de produits secondaires partiellement déprotégés et, malheureusement débenzoylés (Tableau IV.2, entrée 1). Etant donné que les ions fluorure sont une base non négligeable et que l'on forme de manière transitoire des alcoolates dans la réaction, le risque d'éliminer un groupement Bz n'était pas négligeable. Cela avait représenté un argument supplémentaire pour le choix des benzoates par rapport aux acétates pour protéger la position primaire libérée lors de l'ouverture réductrice du groupement paraméthoxybenzylidène. Pour tamponner le milieu, nous avons ajouté 0,5 ou 1 équivalent d'acide acétique par rapport au TBAF (Tableau IV.2, entrées 2 et 3).¹⁰⁰ Dans ces deux conditions, le produit **139** a été obtenu avec de bien meilleurs rendements de respectivement 80 % (0,5 eq. AcOH) et 81 % (1 eq. AcOH). Nous avons aussi tamponné le milieu en utilisant un tampon phosphate pH 7.1 et nous avons obtenu l'hexasaccharide **139** avec des rendements de 80 %, similaires à ceux obtenus avec l'ajout d'AcOH (Tableau IV.2, entrée 4 et 5).¹⁰¹

[100] A. Lubineau, D. Bonnaffé, *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 1999, 2523-2532.

[101] A. M. DiLauro, W. Seo, S. T. Phillips, *J. Org. Chem.* **2011**, 76, 7352-7358.

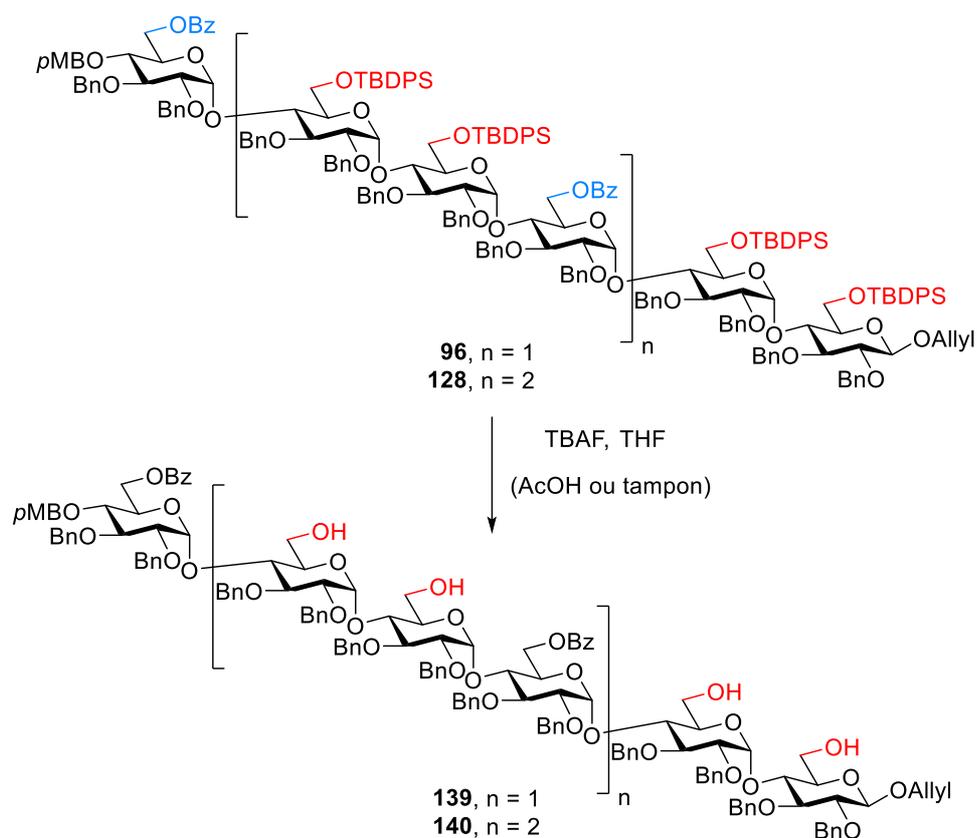


Schéma IV.3 : Désilylation chimiosélective en présence de TBAF

Entrée	n	Substrat	TBAF	AcOH	THF/Tampon	Température	Temps	Rendement
1	1	96	4 éq.	—	—	35 à 40 °C	20 à 25 h	53 à 64 %
2	1	96	4 éq.	2 éq.	—	35 °C	47 h	80 %
3	1	96	4 éq.	4 éq.	—	40 °C	48 h	81 %
4	1	96	2 éq.	—	100/1 (pH 7.1)	40 °C	74 h	80 %
5	1	96	4 éq.	—	100/1 (pH 7.1)	35 °C	47 h	80 %
6	2	128	6 éq.	3 éq.	—	35 °C	47 h	48 %
7	2	128	6 éq.	6 éq.	—	40 à 60 °C	68 h	45 %
8	2	128	6 éq.	—	100/1 (pH 7.1)	35 °C	95 h	45 %

Tableau IV.2 : Désilylation chimiosélective en présence de TBAF

Malheureusement, quand nous avons appliqué ces conditions optimisées au nonasaccharide **128**, nous n'avons pas réussi à obtenir un résultat satisfaisant. En effet, les conditions reposant sur l'utilisation du couple TBAF/AcOH n'ont permis d'isoler le composé **140** qu'avec 45 à 48 % de rendement (Tableau IV.2, entrée 6 et 7) et celles utilisant du tampon phosphate seulement 45 % de rendement (Tableau IV.2, entrée 8). Beaucoup de produits secondaires partiellement désilylé, ainsi que débenzoyle ont été générés dans le milieu réactionnel. Il faut donc trouver une autre méthode de désilylation chimiosélective du nonasaccharide **128**.

IV.3.2. Essais d'une séquence débenzylation-benzylation-désilylation

Les difficultés rencontrées dans la désilylation du nonasaccharide **128**, nous ont poussé à envisager une séquence impliquant une benzylation du nonasaccharide débenzoyle **138** avant désilylation. Cette alternative semblait très facile à mettre en œuvre, puisque nous avons obtenu le produit nonasaccharidique débenzoyle **138** avec 91 % de rendement. Comme décrit dans le Schéma IV.4, cette stratégie devait nous permettre d'obtenir le produit final **U**, après l'hydrogénolyse du produit désilylé **142**, avec le même nombre d'étapes que la stratégie initiale.

Pour ce faire, nous avons fait réagir le nonasaccharide débenzoyle **138** avec le bromure de benzyle et l'hydrure de sodium comme base dans le DMF à 0 à 40 °C. Fâcheusement, nous avons obtenu un mélange du produit **141** attendu et de produits secondaires présentant le même R_f sur plaque CCM, impossible donc à séparer par chromatographie sur gel de silice. L'ajout d'une quantité catalytique de TBAI pour accélérer la réaction n'a pas permis de diminuer la quantité de produits secondaires dans des mélanges. Par conséquent, nous avons abandonné cette voie alternative.

IV.3.3. Désilylation en présence d'HF-pyridine

Heureusement, l'utilisation d'un excès d'HF-pyridine (70 % d'HF) sur l'hexasaccharide **96**, en solution dans un mélange THF/pyridine (2/1, v/v), nous a permis d'obtenir le produit désilylé hexasaccharidique **139** avec un rendement presque quantitative de 98 % après une

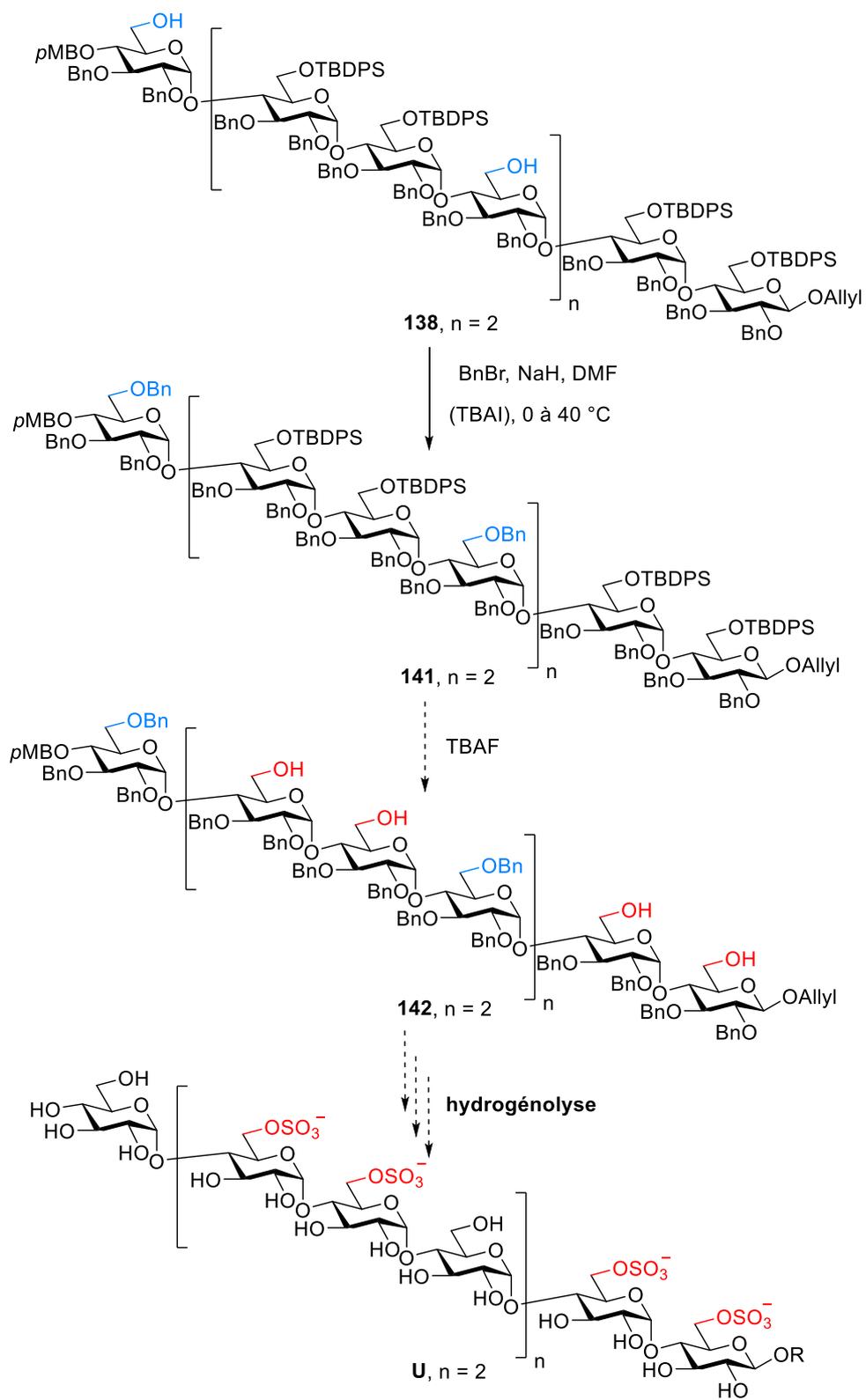


Schéma IV.4 : Essais d'une séquence débenzylation-benzoylation-désilylation

nuit à TA (Schéma IV.5).¹⁰²¹⁰³ Ces mêmes conditions ont parfaitement fonctionné sur le nonasaccharide **128** pour conduire au nonasaccharide désilylé **140** avec 98 % de rendement isolé.

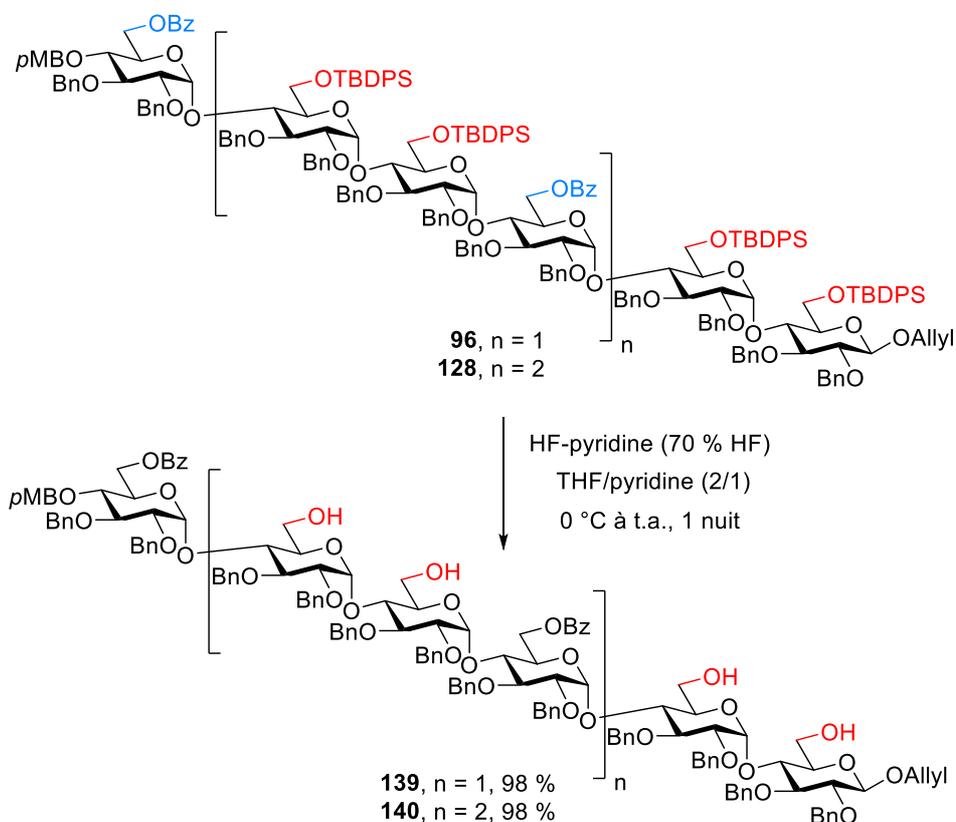


Schéma IV.5 : Désilylation par méthode de HF-pyridine

IV.4. Désilylation-débenzoylation "one-pot"

Ensuite, nous avons réussi à préparer l'hexasaccharide **143** et le nonasaccharide **144** avec d'excellents rendements de 98 % en combinant "one-pot" les conditions de désilylation par TBAF et débenzoylation par MeONa (Schéma IV.6). De plus, nous avons pu transformer en hexasaccharide **143** et nonasaccharide **144** tous les produits secondaires obtenus lors de l'optimisation des réactions de désilylation et débenzoylation.

[102] D. Dailler, G. Danoun, O. Baudoin, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 4919-4922.

[103] X. Zhang, Y. Zhou, J. Zuo, B. Yu, *Nat. Commun.* **2015**, *6*, 5879-5888.

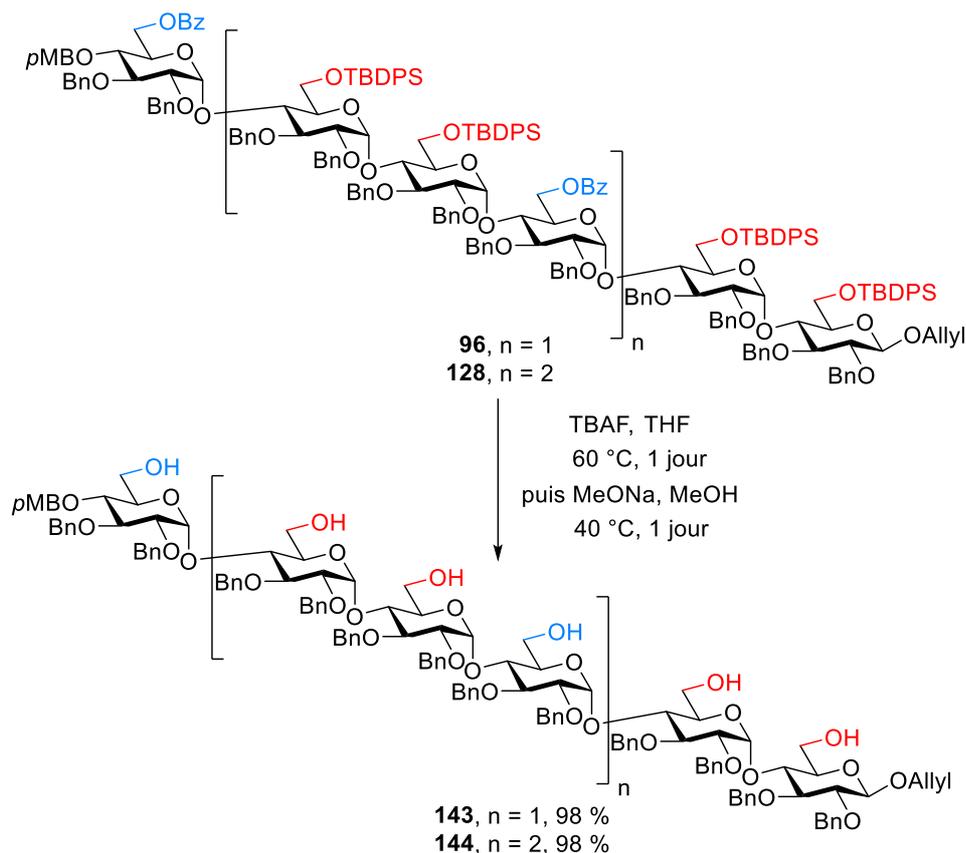


Schéma IV.6 : Désilylation-débenzoylation "one-pot"

IV.5. Sulfatation des oligomaltosides sélectivement déprotégés

Avec les oligomaltosides **137-140**, **143** et **144** sélectivement déprotégés en mains, nous avons pu avancer à l'étape de sulfatation. Nous avons fait réagir les oligomaltosides déprotégés avec le complexe trioxyde de soufre-pyridine dans la pyridine à 55 °C pendant 24 h à l'abri de la lumière. Après une chromatographie d'exclusion stérique (Sephadex LH-20) et passage sur une résine échangeuse d'ions sous forme sodium ou tetrabutylammonium, nous avons obtenu les produits sulfatés attendus de manière quasi-quantitative (Schéma IV.7, respectivement 94 % pour **146**, 99 % pour **148**, et quantitative pour **145**, **147**, **135** et **136**). Il est à noter que nous n'avons pas réussi à trouver une combinaison de contre-cation/solvant ou mélange de solvant permettant d'obtenir des spectres RMN de qualité de ces composés. Comme nous avons décidé de ne caractériser complètement que les différents composés avant l'étape de débenzoylation, nous avons engagé les étapes ultérieures de désilylation ou de débenzoylation sans purifier ni caractériser totalement les

produits après l'étape de sulfatation.

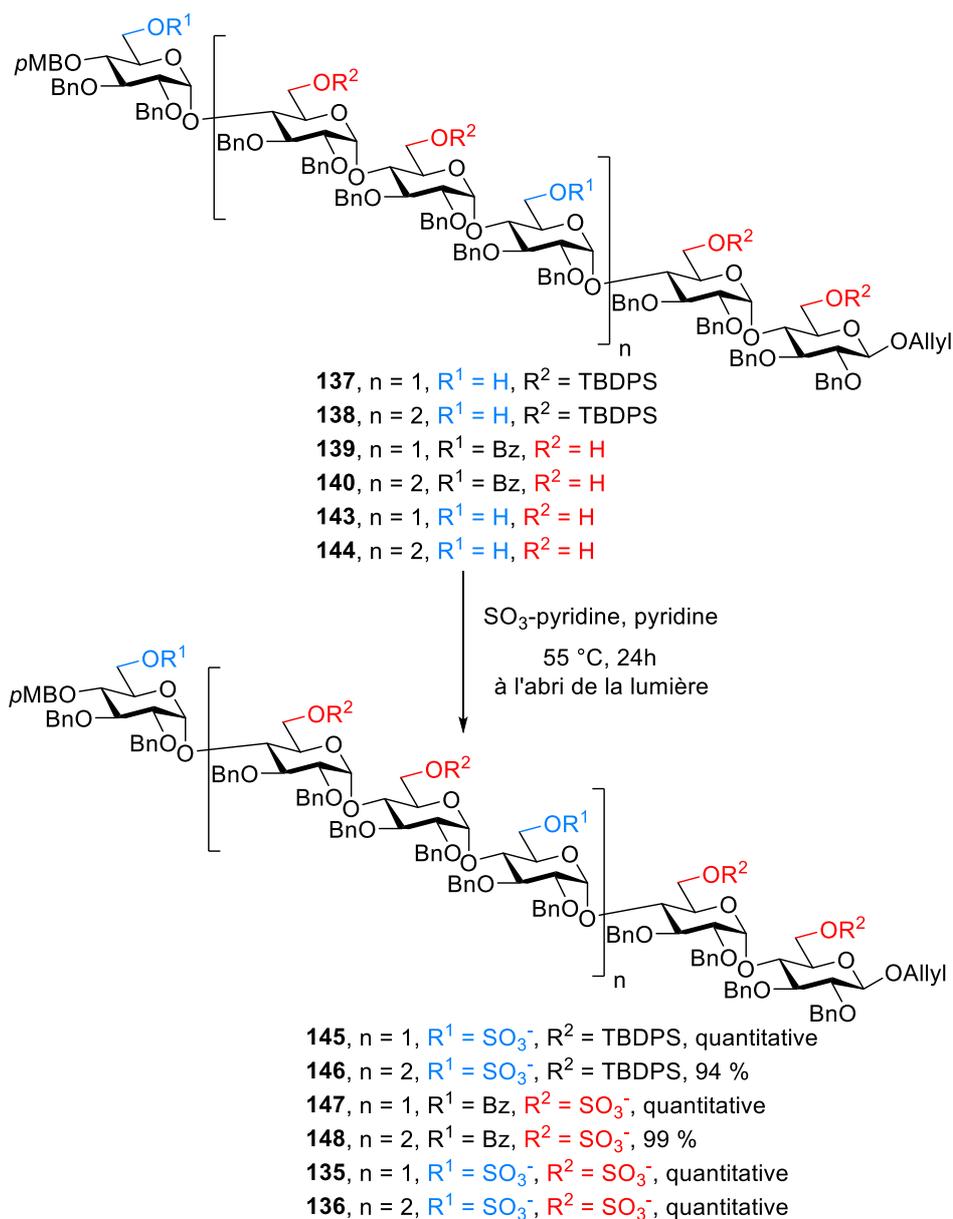


Schéma IV.7 : Sulfatation des oligomaltosides sélectivement déprotégés

IV.6. Déprotection du groupement protecteur des positions primaires restants

Par la suite, nous avons testé la déprotection du groupement protecteur restant sur les positions primaires non sulfatées des hexasaccharides sulfatés **145** et **147**. Par manque de temps, nous n'avons pu appliquer les conditions mises au point aux nonasaccharides **146** et **148**. Nous avons constaté que les réactions fonctionnaient mieux en conditionnant les

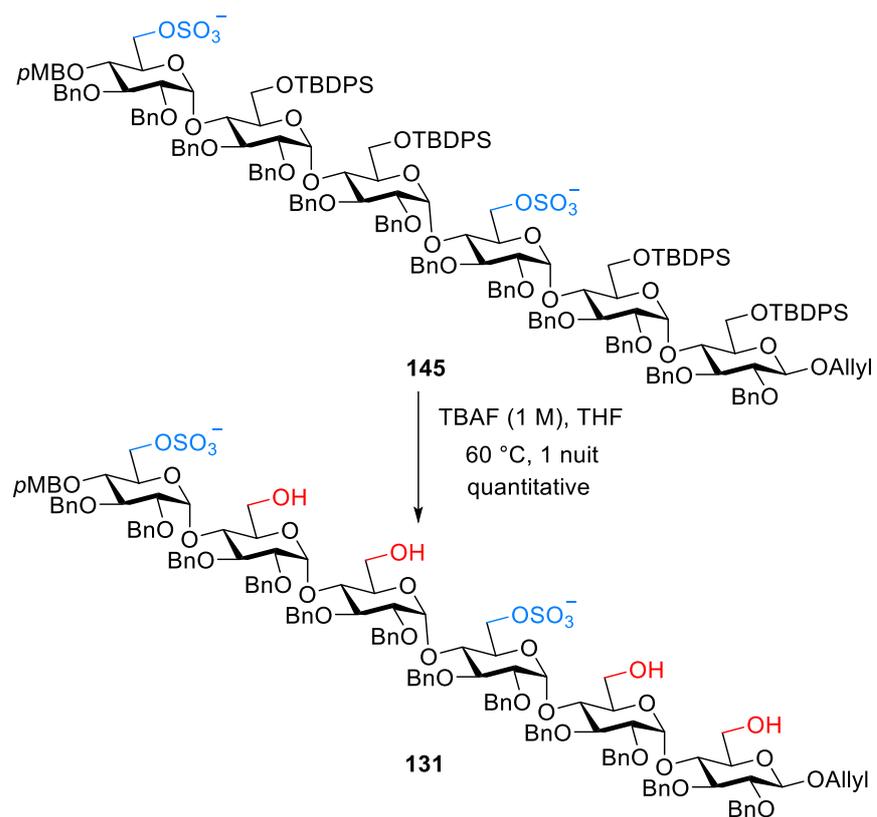


Schéma IV.8 : Désilylation de l'hexasaccharide sulfaté 145

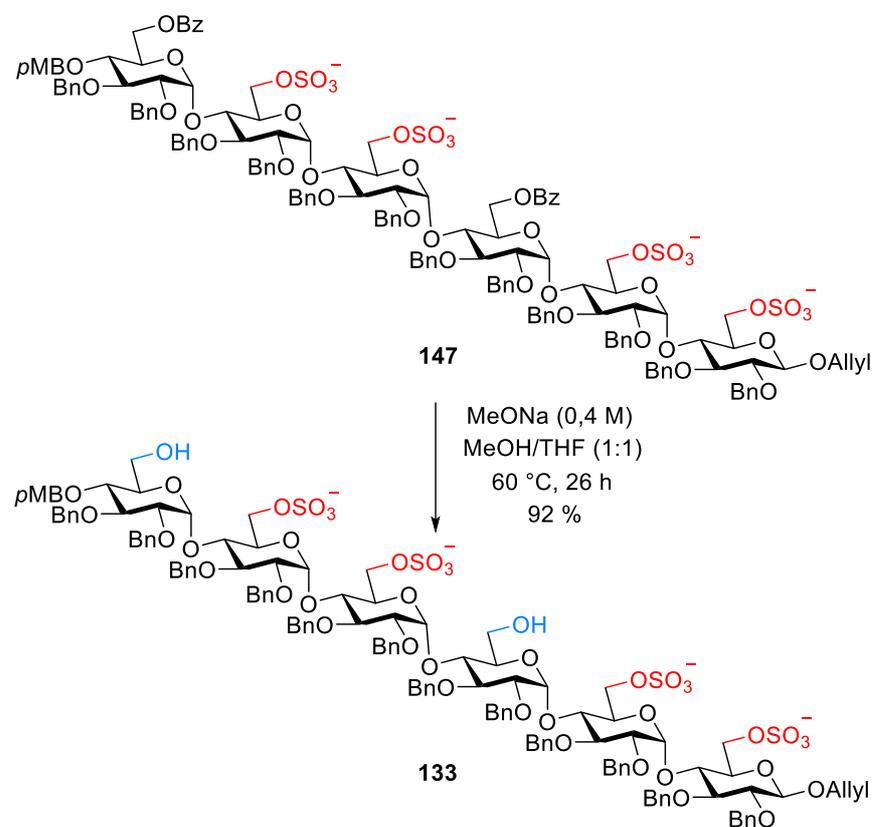


Schéma IV.9 : Débenzoylation de l'hexasaccharide sulfaté 147

sulfates sous forme tertabutylammonium et en utilisant des conditions plus concentrées que celles utilisées sur les intermédiaires non sulfatés : 1 M de TBAF pour la désilylation de l'hexasaccharide sulfaté **145** (Schéma IV.8) et 0,4 M de MeONa pour la débenzylation de l'hexasaccharide sulfaté **147** (Schéma IV.9). Après chromatographie d'exclusion stérique (Sephadex LH-20) conditionnement sous forme sodium par passage sur résine échangeuse de cations, nous avons obtenu les produits déprotégés **131** et **133** avec de bons rendements (respectivement quantitative et 92 %) et une bonne pureté HPLC.

IV.7. Caractérisation préliminaire par spectrométrie de masse des composés 131,133, 135, 136, 146 et 148.

Comme indiqué ci-dessus, des contraintes de temps ne nous ont pas permis de continuer les déprotections des nonasaccharides sulfatés **146** (trisulfaté) et **148** (hexasulfaté), ni de réaliser les débenzylation finales sur les hexasaccharides **131** (disulfaté), **133** (tetrasulfaté) et **135** (hexasulfaté), ni sur le nonasaccharide **136** (nonasulfaté). Nous avons privilégié la démonstration de la faisabilité de toutes les étapes précédant la débenzylation et nous limiter pour le moment à une purification par exclusion stérique (LH20) et un conditionnement des "bruts" obtenus sous forme sodium, l'acidité des contre-cations tetrabutylammonium pouvant conduire à des réactions de désulfations lors d'un stockage à -20 °C. Avant debenzylolation, il sera nécessaire de purifier tous les produits, jusqu'à homogénéité par analyse HPLC, comme cela est réalisé au laboratoire dans les synthèses de fragments d'HS. Avant de stocker les produits, nous avons tenu à nous assurer par spectrométrie de masse que les "bruts" obtenus contenaient bien les hexasaccharides **131**, **133** et **135**, ainsi que les nonasaccharides **146**, **148** et **136** attendus. A notre grande satisfaction, la totalité des ions majoritaires apparaissant dans les spectres de masse de ces composés sont attribuables aux produits obtenus (Figure **IV.1** à **IV.6**). Nous pouvons donc être certains que les produits attendus ont bien été obtenus et, bien que la spectrométrie de masse ne soit pas une technique quantitative, nous pouvons être confiant sur les rendements "bruts" annoncés ci-dessus et la bonne pureté des produits finaux préparés.

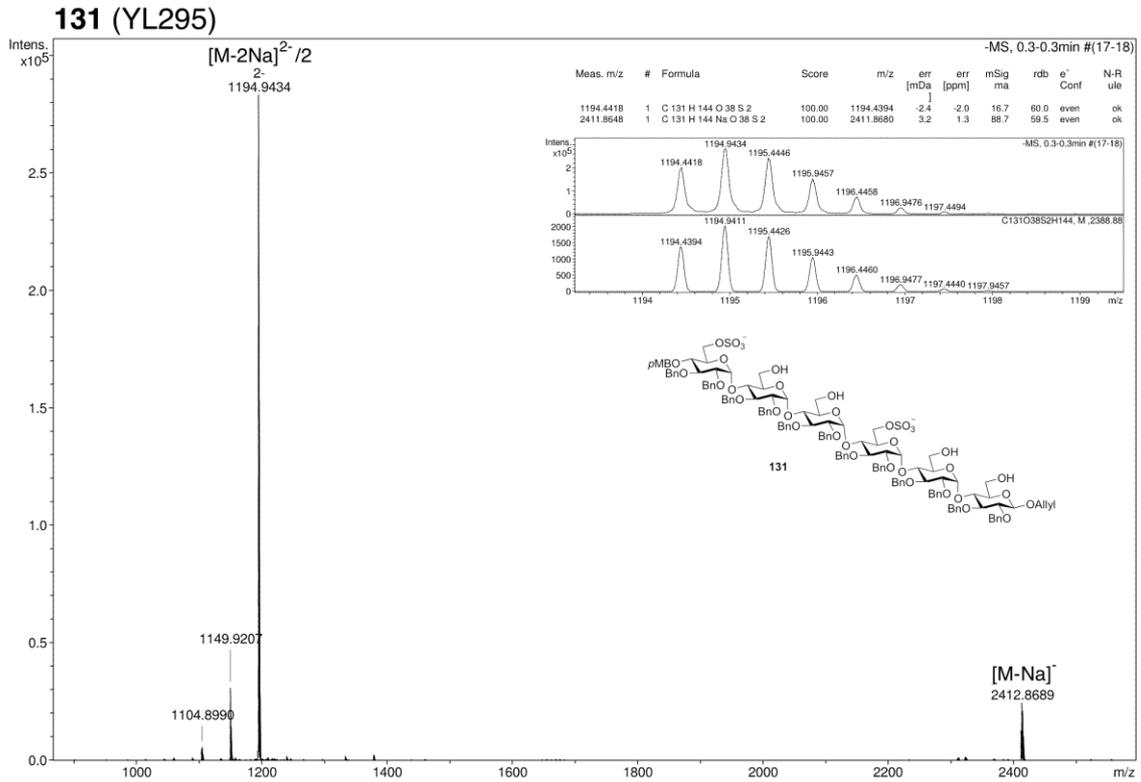


Figure IV.1 : Spectres de masse (ESI-TOF, mode négatif) de l'hexasaccharide disulfaté **131**

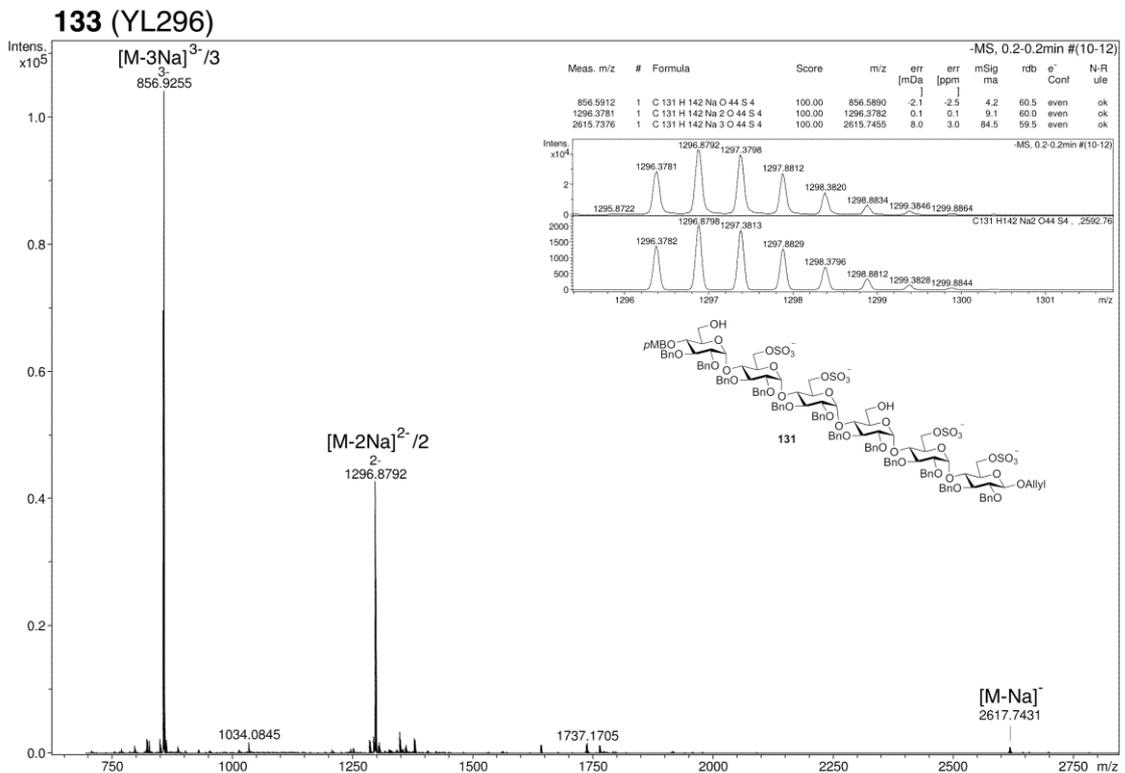


Figure IV.2 : Spectres de masse (ESI-TOF, mode négatif) de l'hexasaccharide tetrasulfaté **133**

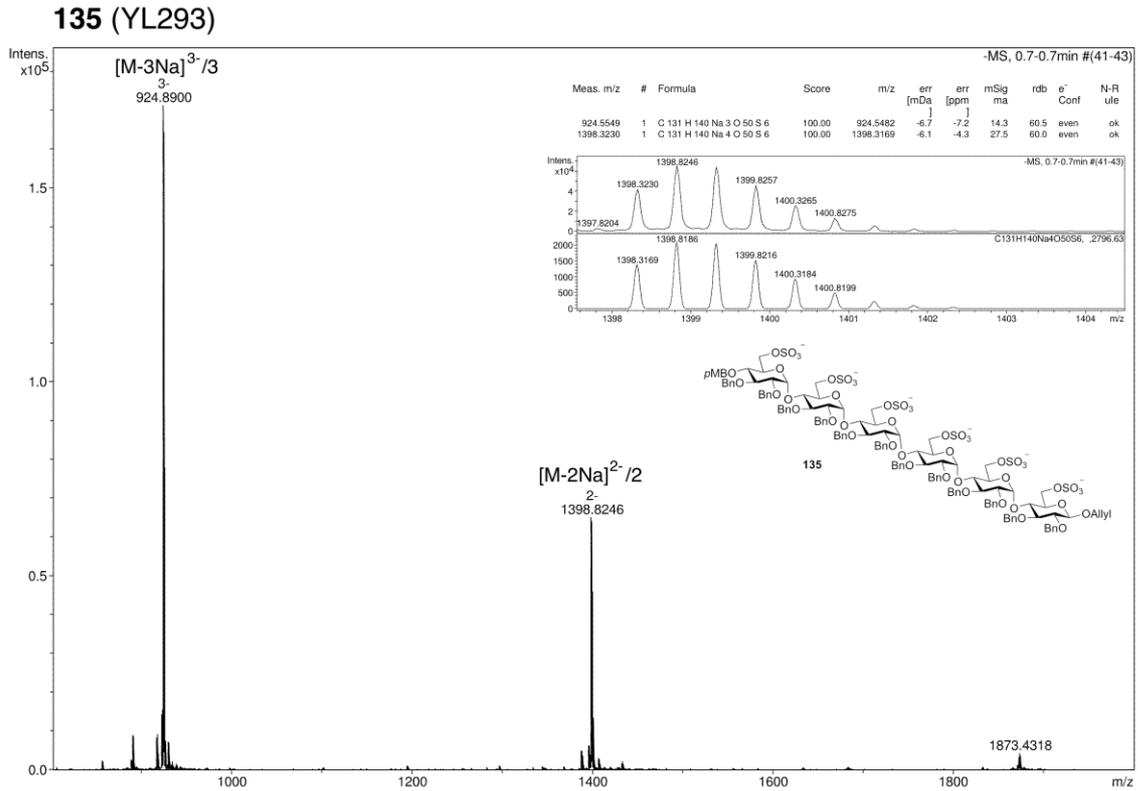


Figure IV.3 : Spectres de masse (ESI-TOF, mode négatif) de l'hexasaccharide hexasulfaté **135**

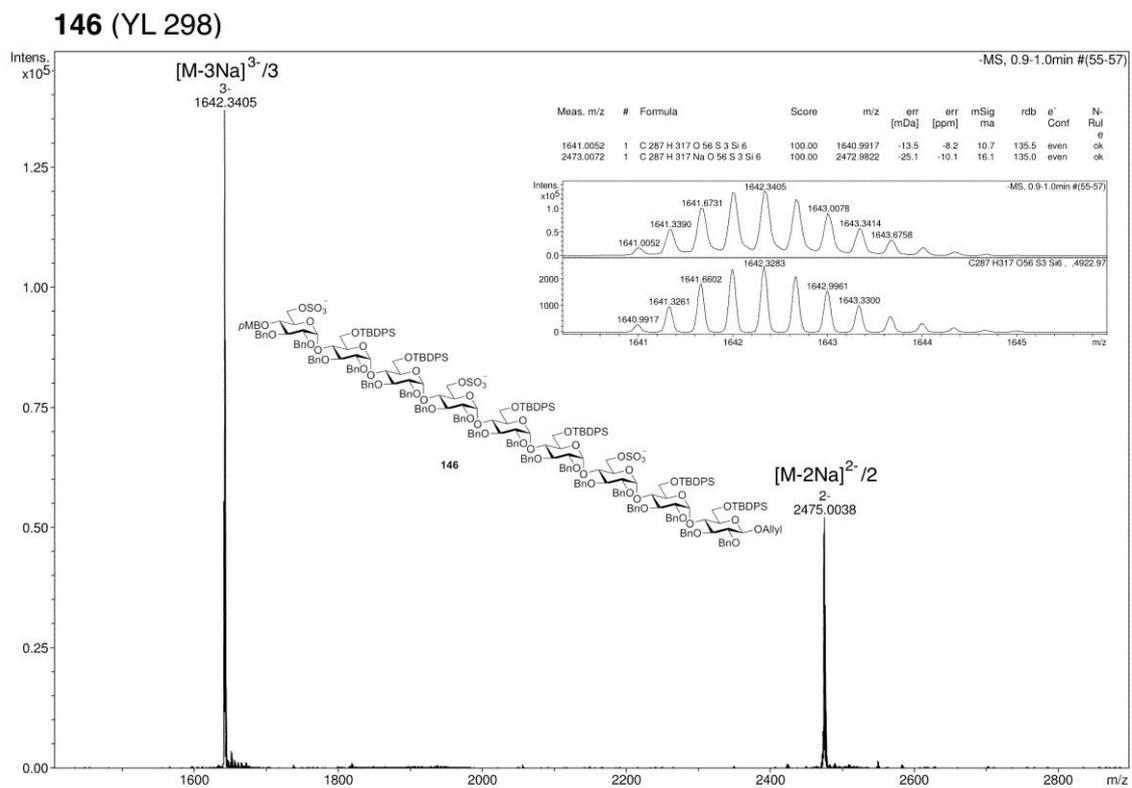


Figure IV.4 : Spectres de masse (ESI-TOF, mode négatif) du nonasaccharide trisulfaté **146**

148 (YL299)

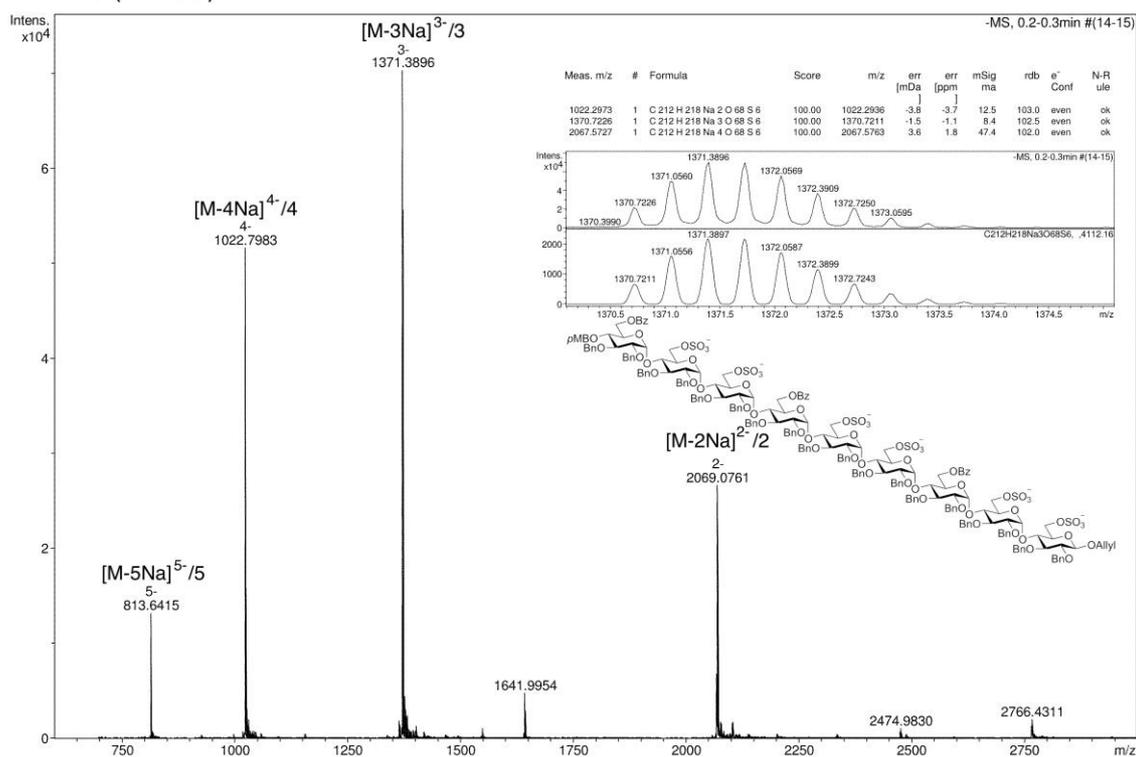


Figure IV.5 : Spectres de masse (ESI-TOF, mode négatif) du nonasaccharide hexasulfaté 148

136 (YL294)

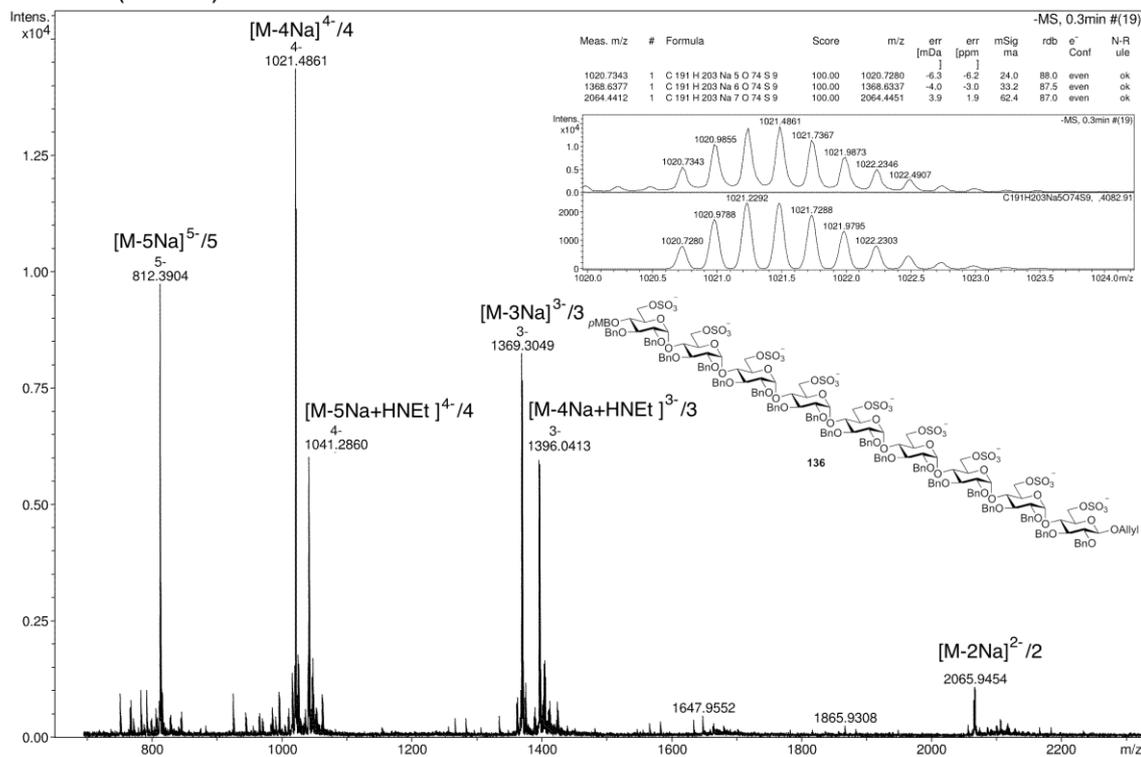


Figure IV.6 : Spectres de masse (ESI-TOF, mode négatif) du nonasaccharide nonasulfaté 136

IV.8. Conclusion

Dans ce chapitre, comme présentée dans le Schéma IV.10, nous avons mené des études sur la débenzoylation et la désilylation chimiosélective, les sulfatations ultérieures des hexa et nonasaccharide protégés **96** et **128**, et par la suite les déprotections des groupements protecteurs des positions primaires restants pour obtenir les hexasaccharides **131** et **133** avec d'excellents rendements.

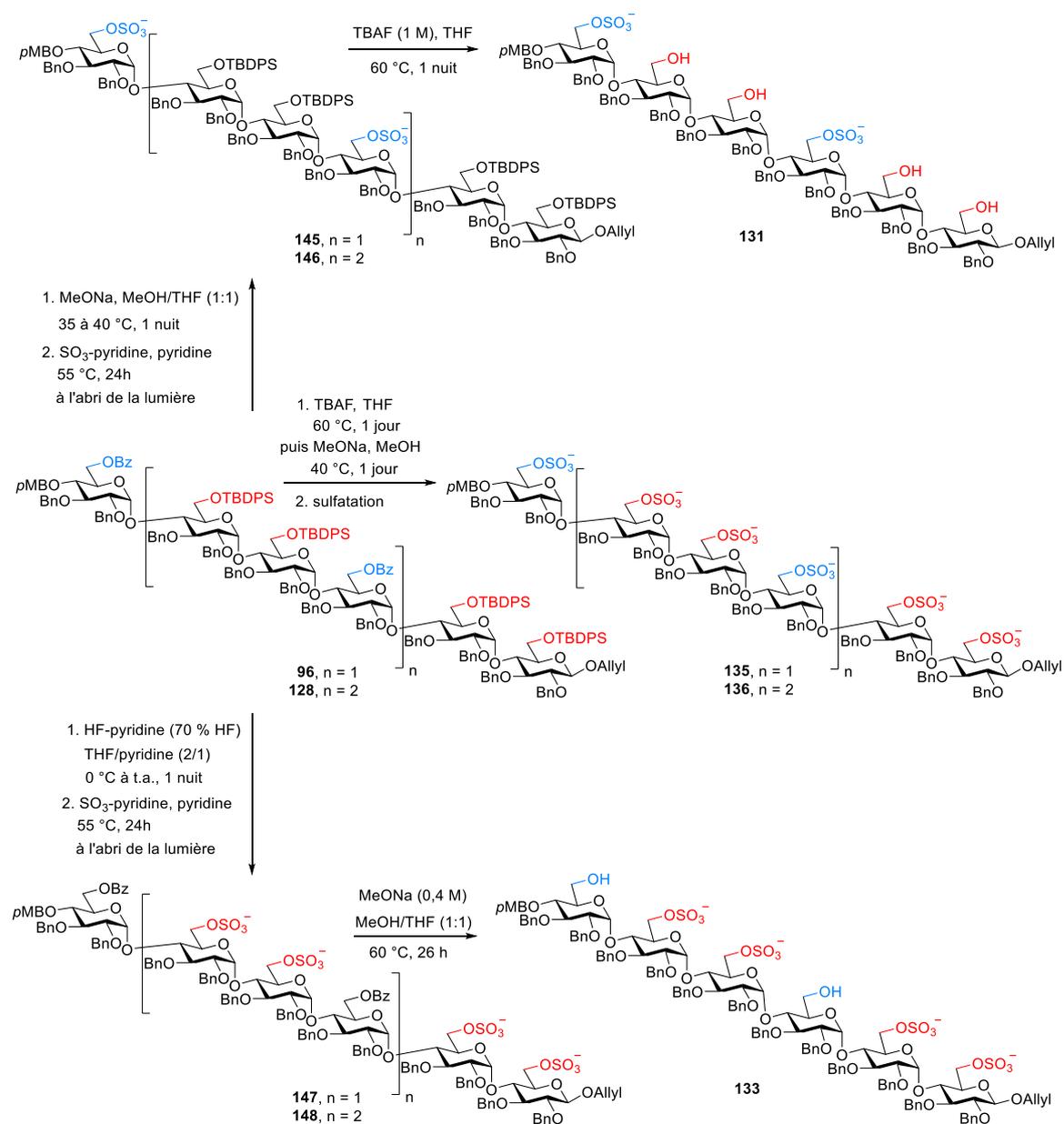


Schéma IV.10 : Préparation des oligomaltosides sulfatés

CHAPITRE V : CONCLUSION ET PERSPECTIVES

V.1. Conclusion

Dans un premier temps, nous avons mis au point la synthèse, à partir de maltotriose, d'un précurseur trisaccharidique oligomérisable **47**. Nous avons eu trois points bloquants dans la synthèse : (1). L'allylation de la position anomérique ; (2) L'installation d'un groupement paraméthoxybenzylidène en position O-4^{III} et O-6^{III} ; (3) La protection sélective des positions O-6^{II} et O-6^{III} par un groupement TBDPS. Après des optimisations, nous avons réussi à synthétiser le produit **47** en 8 étapes à partir du maltotriose commercial avec un bon rendement global de 44 % à des échelles allant jusqu'à 10 g.

Dans un deuxième temps, nous avons étudié les réactions de glycosylation $\alpha(1\rightarrow4)$ visant à oligomériser la brique maltotrioside **47** : nous avons constaté que le donneur sous forme de *N*-phényltrifluoroacétimide (PTFA) est un meilleur choix que celui du trichloroacétimide (TCA) qui subit une réaction parasite du réarrangement d'imide. Nous avons aussi observé que le groupement benzoyle (Bz) en position O-6^{III} du donneur est préférable à un acétyle (Ac) qui est moins stable dans les conditions acides et basiques. Ensuite, Nous avons synthétisé différents donneurs PTFA possédant différents groupements protecteurs en position O-6^I (TBDPS, Bn, *p*NO₂Bz, Piv, Ac et Bz) pour bien comparer l'effet de la nature du groupement protecteur en position O-6^I sur le rendement et la stéréosélectivité de la réaction de glycosylation. Puis, ayant choisi une protection de la position O-6^I par un TBDPS, nous avons optimisé différents paramètres de la réaction de glycosylation comme : le promoteur, la température, l'ordre d'addition des réactifs, le type

de tamis moléculaire, l'effet de solvant, le rapport donneur/accepteur, la concentration de l'accepteur et l'échelle de la réaction. Ceci nous a permis d'accéder aux hexa, nona et dodecasaccharide protégés **96**, **128** et **130** efficacement et rapidement avec des bons rendements et une stéréosélectivité α totale.

Dans un troisième temps, nous avons réussi à réaliser la débenzoylation et la désilylation chimiosélective, les sulfatations ultérieures de l'hexa et nonasaccharide protégés **96** et **128** et, par la suite, les déprotections des groupements protecteurs des positions primaires restants sur les hexasaccharides **145** et **147** avec d'excellents rendements.

V.2. Perspectives

Comme décrits ci-dessus, nous souhaitons pouvoir préparer une chimiothèque d'oligomaltosides sulfatés de tailles différentes présentant divers taux de sulfatation (Schéma V.1).

Le travail restant est, tout d'abord, les déprotections sur les nonasaccharides des groupements protecteurs des alcools primaires restants pour obtenir **132** et **134**, puis l'installation un bras fonctionnalisé sur les composés **131-136** et l'hydrogénolyse.

Nous les enverrons à F. Baleux pour être couplés au mCD4, puis à H. Lortat-Jacob pour faire les tests biologiques. Les résultats nous montreront si les nonasaccharides jouent bien le rôle de mimes d'HS.

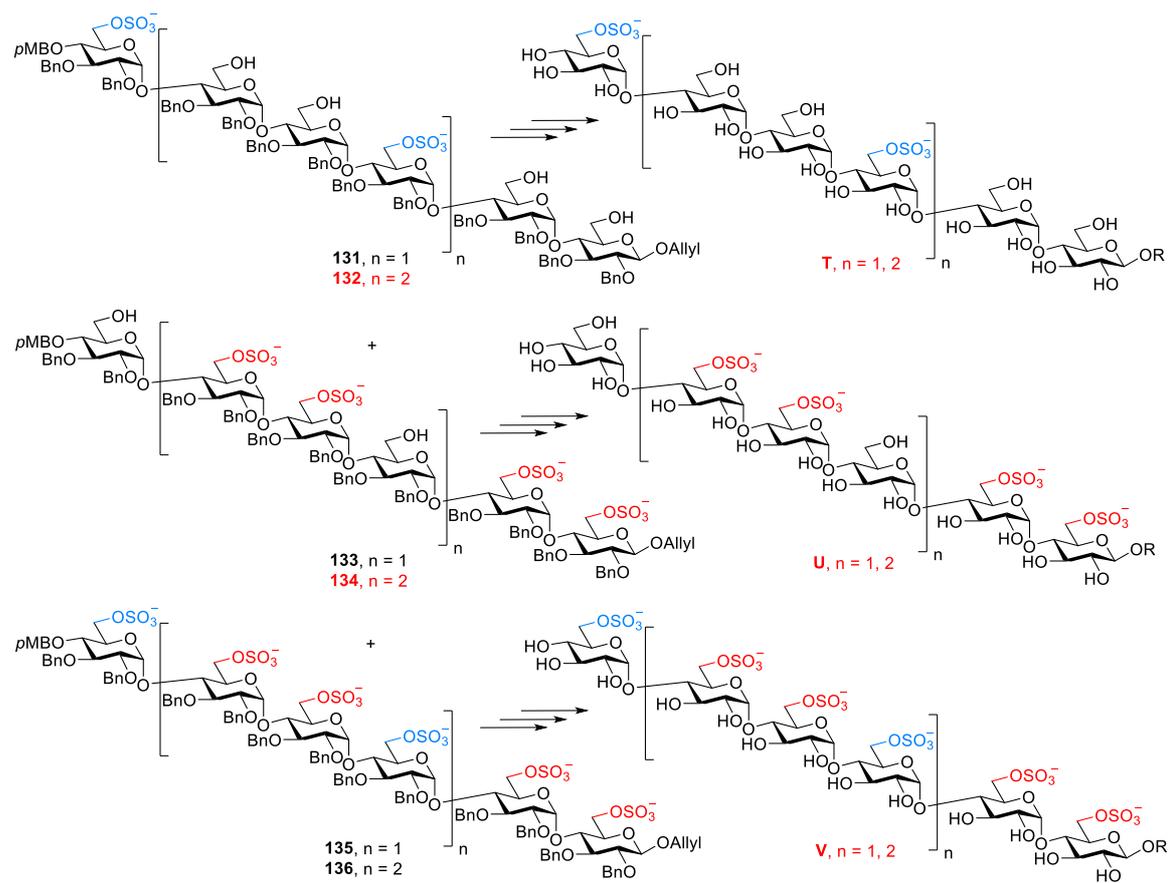


Schéma V.1 : Vers une chimiothèque de sulfoformes des oligomaltosides

PARTIE EXPÉRIMENTALE

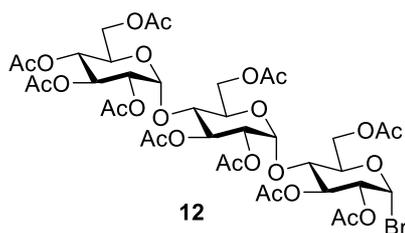
Material and methods:

All moisture-sensitive reactions were performed under an argon atmosphere using oven-dried glassware. Evaporations were performed under reduced pressure. All solvents were dried by filtration on alumine columns or over standard drying agents and freshly distilled prior to use. Flash column chromatography was performed on Silica Gel 60 A.C.C. (6 – 35 μm). Reactions were monitored by TLC on Silica Gel 60 F₂₅₄ plates with detection by UV light at 254 nm and by charring with 5 % ethanolic H₂SO₄. Size-exclusion chromatography was performed on Sephadex LH-20 (Pharmacia), using CH₂Cl₂/MeOH (1/1, v/v) as eluant. ¹³C and ¹H NMR spectra were recorded at room temperature in CDCl₃ on a Bruker Avance 250 (¹H: 250.13 MHz, ¹³C: 62.89 MHz), 300 (¹H: 300.13 MHz, ¹³C: 75.47 MHz), 360 (¹H: 360.13 MHz, ¹³C: 90.55 MHz) or 400 (¹H: 400.13 MHz, ¹³C: 100.61 MHz) or a Bruker Avance II 400 (¹H: 400.13 MHz, ¹³C: 100.61 MHz). Chemical shifts (δ) are given in parts per million relative to Me₄Si for ¹H NMR (δ = 0.00 ppm) and to the residual solvent peak used as an internal standard for ¹³C NMR (δ = 77.0 ppm). The following abbreviations were used to describe the multiplicities: s (singlet), d (doublet), t (triplet), q (quadruplet), quint (quintet), m (multiplet), br (broad). All multiplicities were approximated to the first order; coupling constants, J, are reported in Hz and with an accuracy of +/- 0.2 unit on the last digit. ¹³C NMR spectra were run using a proton-decoupled pulse sequence. HRMS analyses were recorded in positive mode on a Bruker Micro Tof Q spectrometer using electrospray

ionization. Elemental analyses were performed at the CNRS (Gif sur Yvette, France).

For the determination of the α/β ratio for hexasaccharides, HPLC analyses of the Sephadex LH-20 purified hexasaccharides were performed using a Venusil XBP C18 (5 μ . 100 Å, 4.6 \times 250 mm) column (Hypersil). Products were detected using a diode-array detector and UV detection at 254 nm. The elution was performed at 1 mL/min with a 20 mn linear (CH₃CN/THF 4/1 to 7/3, v/v) gradient.

2,2',2'',3,3',3'',4'',6,6',6''-Deca-*O*-acetyl- α -maltotriosyl bromide (**12**)

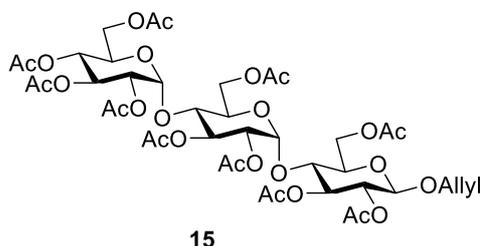


Acetic anhydride (76 mL) was added to a solution of maltotriose **4** (93 % purity, 10.0 g, 18.4 mmol) in pyridine (118 mL). After stirring overnight at 50 °C, the solution was evaporated and the residue was diluted in EtOAc (500 mL), and washed with 1 M aq. HCl (300 mL), 10 % aq. CuSO₄ (300 mL), saturated aq. NaHCO₃ solution (300 mL) and brine (300 mL). The organic layers were dried over MgSO₄, filtered, and concentrated to give **11** as a white solid (19.1 g, 19.8 mmol, 107 % crude). TLC: R_f = 0.44 (PE/EtOAc 2/3, v/v).

The crude product **11** (19.1 g, 18.4 mmol) was then dissolved in CH₂Cl₂ (36.8 mL, 0.5 M) and then HBr (33 % in acetic acid, 36.8 mL) was added at 0 °C. The solution was stirred at room temperature for 3 h and concentrated *in vacuo*. A recrystallisation in Et₂O (300 mL) gave **12** as a white crystal (16.8 g, 17.0 mmol, 93 % for two steps). TLC: R_f = 0.52 (PE/EtOAc 2/3, v/v).

¹H NMR and ¹³C NMR spectra were in accordance with literature.⁴⁹

Allyl *O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-glucopyranosyl)-(1→4)-*O*-(2,3,6-tri-*O*-acetyl- α -D-glucopyranosyl)-(1→4)-2,3,6-tri-*O*-acetyl- β -D-glucopyranoside (**15**)

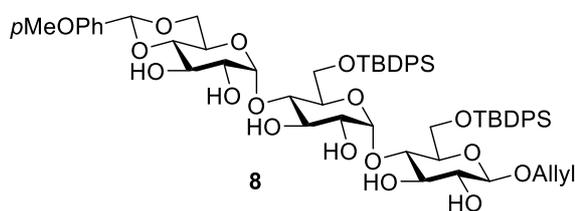


Dry allyl alcohol (60 mL, 889.0 mmol, 52.0 equiv) was added at room temperature to a suspension of **12** (16.8 g, 17.0 mmol), MS 4Å (17.0 g) in dry CH₂Cl₂ (60 mL, 0.28 M) under atmosphere of argon. After 15 min, the mixture was cooled to -20 °C and then AgOTf (4.8 g, 18.8 mmol, 1.1 equiv) was added. After 1 h stirring, the temperature was raised

slowly to 0 °C for 1 h, the solution became dark green. Then the mixture was filtrated through a pad of celite 545. After concentration of the filtrate under reduced pressure, flash chromatography (silica gel, PE/EtOAc 3/2 to 2/3, v/v) gave **15** as a white solid (14.5 g, 15.0 mmol, 88 %). TLC: Rf = 0.35 (PE/EtOAc 1/1, v/v).

¹H NMR and ¹³C NMR spectra were in accordance with literature.⁵⁷

Allyl O-[4,6-O-(4-methoxybenzylidene)- α -D-glucopyranosyl]-(1 \rightarrow 4)-O-(6-O-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-6-O-*tert*-butyldiphenylsilyl- β -D-glucopyranoside (8**)**



A solution of MeONa in dry MeOH (0.1 M, 15 mL, 1.50 mmol, 0.1 equiv) was added to a solution of **15** (14.20 g, 14.70 mmol) in dry MeOH (150 mL, 0.1 M) at room temperature under atmosphere of argon. After stirring overnight, the solution was neutralized with ion-exchange resin (Dowex 50WX8-400 H⁺), filtered, concentrated and then lyophilized to give **10** as a white solid (7.70 g, 14.14 mmol, 96 % crude). TLC: Rf = 0.28 (CH₃CN/EtOAc/H₂O 3/1/1, v/v).

The crude product **10** (2.00 g, 3.67 mmol) was then suspended in dry anisaldehyde (37 mL, 0.1 M) and sonicated with ultrasound for 15 min under Ar atmosphere. Then Nd(OTf)₃ (217 mg, 0.37 mmol, 10 mol %) was added and the resulting mixture was stirred at 45 °C *in vacuo* (0.39 kPa). After 6 to 10 h, the solution became pale yellow and limpid and 2D-TLC (1st dimension: CH₂Cl₂; 2nd dimension: CH₃CN/EtOAc/H₂O 3/1/1, v/v) confirmed that only traces of compound **9** remained. The reaction mixture was neutralized using Et₃N (510 μ L, 3.67 mmol, 1.0 equiv) and diluted with H₂O (1 L). The resulting mixture was washed with CH₂Cl₂/Et₂O (4/1, v/v, 700 mL \times 2) and the aqueous phase was concentrated to give **9** (2.49 g, 3.76 mmol, 102 % crude). TLC: Rf = 0.52 (CH₃CN/EtOAc/H₂O 3/1/1, v/v).

To a solution of crude **9** (2.49 g, 3.76 mmol) in dry pyridine (24.50 mL, 0.1 M), dry Et₃N (6.14 mL, 44.04 mmol, 12.0 equiv) were added under atmosphere of argon. The mixture was heated to 60 °C and DMAP (897 mg, 7.34 mmol, 2.0 equiv) and TBDPSCl (3.82 mL,

14.68 mmol, 4.0 equiv) was added. After stirring for 3 h, MeOH (600 μ L, 14.68 mmol, 4.0 equiv) was added to quench to reaction since TLC analysis ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9/1, v/v) revealed that compound **9** was totally consumed and that only trace of over-silylated products were formed. After concentration and co-evaporation with MeOH, the residue was dissolved in EtOAc (300 mL), and washed with 0.1 M aq. H_2SO_4 (200 mL), 10 % aq. CuSO_4 (200 mL), saturated aq. NaHCO_3 solution (200 mL) and brine (200 mL). The organic layer was dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated *in vacuo*. Flash chromatography of the residue ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 95/5 to 92/8 with 1 % Et_3N , v/v) gave **8** as a white solid (2.46 g, 2.16 mmol, 62 % for three steps). TLC: $R_f = 0.56$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9/1, v/v).

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz, H-H COSY, HSQC, HMBC): $\delta = 7.60$ (t, $J = 7.0$ Hz, 4H, H_{arom}); 7.54 (d, $J = 7.0$ Hz, 2H, H_{arom}); 7.51 (d, $J = 7.0$ Hz, 2H, H_{arom}); 7.45-7.31 (m, 5H, H_{arom}); 7.29-7.19 (m, 5H, H_{arom}); 7.15 (t, $J = 7.0$ Hz, 4H, H_{arom}); 6.85 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, PhOCH_3); 5.95 (dddd, $J = 17.0, 10.5, 6.0, 5.0$ Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 5.46 (s, 1H, CHPhOCH_3); 5.28 (ddd, $J = 17.0, 3.0, 1.5$ Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CHH}$); 5.17 (ddd, $J = 10.5, 3.0, 1.5$ Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CHH}$); 5.11 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, H-1^{III}); 5.03 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, H-1^{II}); 4.34 (br. dd, $J = 13.0, 5.0$ Hz, 1H, $\text{CHH-CH}=\text{CH}_2$); 4.31 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, H-1^{I}); 4.10 (br. dd, $J = 13.0, 6.0$ Hz, 1H, $\text{CHH-CH}=\text{CH}_2$); 3.95 (t, $J = 9.5$ Hz, 1H, H-3^{III}); 3.91 (t, $J = 9.5$ Hz, 1H, H-3^{II}); 3.91 (dd, $J = 12.0, 3.5$ Hz, 1H, $\text{H-6}_a^{\text{III}}$); 3.85-3.75 (m, 4H, H-6_a^{I} (3.81), H-5^{III} (3.81), H-6_b^{I} (3.80), H-4^{II} (3.78)); 3.75 (s, 3H, CH_3OPh); 3.69 (t, $J = 9.0$ Hz, 1H, H-3^{I}); 3.66-3.50 (m, 4H, H-2^{III} (3.64), $\text{H-6}_b^{\text{III}}$ (3.63), H-6_a^{II} (3.53), H-2^{II} (3.34)); 3.49-3.31 (m, 5H, H-2^{I} (3.47), H-4^{III} (3.44), H-5^{I} (3.42), H-5^{II} (3.35), H-4^{I} (3.34)); 3.23 (br, $J = 11.0$ Hz, 1H, H-6_b^{II}); 0.93 (s, 9H, $t\text{BuSi}$); 0.92 (s, 9H, $t\text{BuSi}$).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 90 MHz, HSQC, HMBC): $\delta = 160.4$ (PhOCH_3); 136.0, 135.8, 135.6, 134.1 (C_{arom}); 134.0 ($\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 133.4, 133.4, 133.1, 130.0, 129.9, 129.8, 129.8, 128.0, 127.8, 127.7, 127.6 (C_{arom}); 118.3 ($\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 113.9 (PhOCH_3); 102.7 (C-1^{III}); 102.2 (CHPhOCH_3); 102.1 (C-1^{II}); 101.4 (C-1^{I}); 82.0 (C-4^{I}); 81.0 (C-4^{III}); 80.7 (C-4^{II}); 76.7 (C-3^{I}); 75.9 (C-5^{I}); 74.3 (C-2^{III}); 73.7 (C-2^{I}); 73.6 (C-3^{II}); 73.0 (C-2^{II}); 72.3 (C-5^{II}); 71.3 (C-3^{III}); 70.2 ($\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 69.0 (C-6^{III}); 63.8 (C-6^{I}); 63.6 (C-5^{III}); 61.8 (C-6^{II}); 55.5 (CH_3OPh); 27.0, 26.9 ($2\times(\text{CH}_3)_3\text{C}$); 19.5, 19.3 ($2\times(\text{CH}_3)_3\text{C}$).

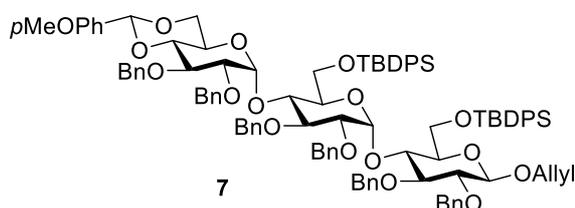
IR: $\nu = 3332.06$ ($\nu_{\text{O-H}}$), 2930.65, 2856.73 ($\nu_{\text{C-Haliph}}$), 2162.67 ($\nu_{\text{C=C OAl}}$), 1980.45, 1615.55, 1589.59, 1518.41, 1462.77 ($\nu_{\text{Carom}=\text{Carom}}$), 1427.71, 1388.64, 1249.39, 1111.31, 1072.98,

1028.92, 824.27, 786.52, 740.43, 00.59, 611.84.

ESI-HRMS: m/z calculated for $C_{61}H_{78}NaO_{17}Si_2 [M+Na]^+$: 1161.4670; found: 1161.4666.

Elemental Analysis: calculated for $C_{61}H_{78}O_{17}Si_2 + 1 H_2O$: C 63.30, H 6.97; found: C 63.44, H 7.03.

Allyl *O*-[2,3-di-*O*-benzyl-4,6-*O*-(4-methoxybenzylidene)- α -D-glucopyranosyl]-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl)- α -D-glucopyranosyl]-(1 \rightarrow 4)-2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- β -D-glucopyranoside (7)



Benzyl bromide (8.08 mL, 66.70 mmol, 10 equiv) was added slowly to a cooled solution (0 °C) of **8** (7.60 g, 6.67 mmol) and NaH (60 % in oil, 2.90 g, 73.40 mmol, 11 equiv) in dry DMF (66.70 mL, 0.1 M) under atmosphere of argon. After 3 h at room temperature, the solution was diluted with EtOAc (500 mL) and washed with ice-cold water (500 mL). The organic layer was dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated. Flash chromatography of the residue (PE/ CH_2Cl_2 /EtOAc 70/30/3.6 with 1 % Et_3N , v/v) afforded **7** as colorless oil (9.60 g, 5.71 mmol, 86 %). TLC: R_f = 0.59 (PE/ CH_2Cl_2 /EtOAc 70/30/6, v/v).

1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz, H-H COSY, HSQC, HMBC): δ = 7.73-7.02 (m, 52H, H_{arom}); 6.91 (d, J = 8.5 Hz, 2H, $PhOCH_3$); 5.96 (dddd, J = 17.0, 10.5, 6.0, 5.0 Hz, 1H, $CH_2-CH=CH_2$); 5.61 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1^{III}); 5.54 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1^{II}); 5.47 (s, 1H, $CHPhOCH_3$); 5.32 (ddd, J = 17.0, 3.0, 1.5 Hz, 1H, $CH_2-CH=CHH$); 5.20 (ddd, J = 10.5, 3.0, 1.5 Hz, 1H, $CH_2-CH=CHH$); 4.97 (d, J = 11.0 Hz, 1H, $OCHHPh$); 4.90 (d, J = 11.0 Hz, 1H, $OCHHPh$); 4.88 (d, J = 10.5 Hz, 1H, $OCHHPh$); 4.76 (d, J = 11.0 Hz, 1H, $OCHHPh$); 4.75 (d, J = 11.0 Hz, 1H, $OCHHPh$); 4.73 (d, J = 11.0 Hz, 1H, $OCHHPh$); 4.71 (d, J = 11.0 Hz, 1H, $OCHHPh$); 4.70 (d, J = 10.5 Hz, 1H, $OCHHPh$); 4.66 (d, J = 11.0 Hz, 1H, $OCHHPh$); 4.47 (d, J = 11.0 Hz, 1H, $OCHHPh$); 4.46 (d, J = 7.5 Hz, 1H, H-1^I); 4.44 (d, J = 12.0 Hz, 1H, $OCHHPh$); 4.41 (d, J = 12.0 Hz, 2H, $OCHHPh$); 4.38 (dddd, J = 13.0, 5.0, 1.5, 1.5 Hz, 1H, $CHH-CH=CH_2$); 4.11 (dddd, J = 13.0, 6.0, 1.5, 1.5 Hz, 1H, $CHH-CH=CH_2$); 4.01 (dd, J = 9.5, 8.0 Hz, 1H, H-4^{II}); 4.00-3.49 (m, 3H, H-6^a^{III} (4.00), H-6^a^I

(3.86), H-6_b^I (3.85), H-3^I (3.76), H-5^{III} (3.76), H-6_b^{II} (3.54), H-6_b^{III} (3.53), H-4^{III} (3.49)); 3.96 (t, $J = 9.5$ Hz, 1H, H-3^{III}); 3.91 (dd, $J = 9.0, 8.0$ Hz, 1H, H-3^{II}); 3.82 (s, 3H, $\underline{CH}_3\text{OPh}$); 3.78 (t, $J = 9.5$ Hz, 1H, H-4^I); 3.66 (dd, $J = 11.5, 3.0$ Hz, 1H, H-6_a^{II}); 3.61 (ddd, $J = 9.5, 3.0, 3.0$ Hz, 1H, H-5^{II}); 3.48 (dd, $J = 9.0, 7.5$ Hz, 1H, H-2^I); 3.48 (dd, $J = 9.5, 3.5$ Hz, 1H, H-2^{III}); 3.44 (ddd, $J = 9.5, 3.0, 3.0$ Hz, 1H, H-5^I); 3.40 (dd, $J = 9.0, 3.5$ Hz, 1H, H-2^{II}); 1.00 (s, 9H, \underline{tBuSi}); 0.99 (s, 9H, \underline{tBuSi}).

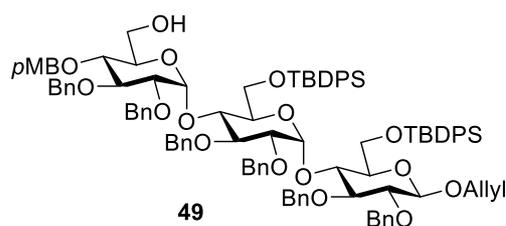
¹³C NMR (CDCl₃, 90 MHz, HSQC, HMBC): $\delta = 159.9$ (\underline{PhOCH}_3); 139.0, 138.9, 138.7, 138.5, 138.1, 137.8, 136.0, 135.8, 135.7, 135.5, 135.2 (C_{arom}); 134.8 (CH₂- $\underline{CH}=\text{CH}_2$); 134.2, 133.7, 133.3, 133.3, 130.3, 129.7, 129.6, 129.5, 129.4, 128.3, 128.2, 128.2, 128.1, 128.1, 127.9, 127.7, 127.7, 127.6, 127.6, 127.6, 127.5, 127.5, 127.5, 127.4, 127.4, 127.4, 127.1, 127.0, 126.7, 126.6 (C_{arom}); 117.2 (CH₂-CH= \underline{CH}_2); 113.4 (\underline{PhOCH}_3); 102.0 (C-1^I); 101.1 ($\underline{CHPhOCH}_3$); 98.2 (C-1^{III}); 95.9 (C-1^{II}); 84.7 (C-3^I); 82.5 (C-2^I); 82.1 (C-4^{III}); 80.9 (C-3^{II}); 79.2 (C-2^{II}); 78.9 (C-2^{III}); 78.6 (C-3^{III}); 75.5 (C-5^I); 75.0, 74.5 (2xO $\underline{CH}_2\text{Ph}$); 74.3 (C-4^I); 73.9, 73.6, 73.6 3x(O $\underline{CH}_2\text{Ph}$); 73.6 (C-4^{II}); 72.8 (O $\underline{CH}_2\text{Ph}$); 71.8 (C-5^{II}); 69.8 ($\underline{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 68.8 (C-6^{III}); 63.8 (C-6^I); 63.4 (C-5^{III}); 62.8 (C-6^{II}); 55.3 ($\underline{CH}_3\text{OPh}$); 27.0, 26.9, 26.6 (2x(\underline{CH}_3)₃C); 19.4, 19.3 (2x(\underline{CH}_3)₃C).

IR: $\nu = 1111.69, 1089.22, 1052.85, 1029.51, 998.57$ ($\delta_{\text{Csp}^2\text{-H OAlI}}$), 904.43, 824.04, 726.53 ($\delta_{\text{Csp}^2\text{-H OAlI}}$), 649.38, 620.88.

ESI-HRMS: m/z calculated for C₁₀₃H₁₁₄NaO₁₇Si₂ [M+Na]⁺: 1701.7487; found: 1701.7492.

Elemental Analysis: calculated for C₁₀₃H₁₁₄O₁₇Si₂: C 73.63, H 6.84; found: C 73.49, H 6.95.

Allyl O-[2,3-di-O-benzyl-4-O-(4-methoxybenzyl)- α -D-glucopyranosyl]-(1 \rightarrow 4)-O-(2,3-di-O-benzyl-6-O-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2,3-di-O-benzyl-6-O-*tert*-butyldiphenylsilyl- β -D-glucopyranoside (49)



Et₃SiH (2.09 mL, 13.06 mmol, 5.0 equiv) was added to a suspension of **7** (4.39 g, 2.61 mmol) and MS 4Å (1.46 g) in dry Et₂O (37 mL, 0.07 M) at room temperature under atmosphere of argon. After 15 min stirring, the mixture was cooled down to -78 °C and PhBCl₂ (1.37 mL, 8.88 mmol, 3.4 equiv) was added. Then the reaction mixture was warmed up to -40 °C and stirred at this temperature for 36 h. The reaction was then quenched at -40 °C by addition of Et₃N (2 mL, 14.36 mmol, 5.5 equiv) and MeOH (2 mL). The mixture was diluted with Et₂O (300 mL) and the organic layer was washed with water (200 mL), dried over MgSO₄, filtered and concentrated. Flash chromatography (CH₂Cl₂/Et₂O 98.5/1.5, v/v) of the residue gave **49** as colorless oil (4.26 g, 2.53 mmol, 97 %). TLC: R_f = 0.32 (CH₂Cl₂/Et₂O 9/1, v/v).

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz, H-H COSY, HSQC, HMBC): δ = 7.74-7.03 (m, 52H, H_{arom}); 6.86 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, PhOCH₃); 5.96 (dddd, *J* = 17.0, 10.5, 6.0, 5.0 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 5.60 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H, H-1^{III}); 5.59 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H, H-1^{II}); 5.32 (ddd, *J* = 17.0, 3.0, 1.5 Hz, 1H, CH₂-CH=CHH); 5.20 (ddd, *J* = 10.5, 3.0, 1.5 Hz, 1H, CH₂-CH=CHH); 4.97 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H, OCHHPh); 4.91 (d, *J* = 10.5 Hz, 1H, OCHHPh); 4.87 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H, OCHHPh); 4.81 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H, OCHHPhOCH₃); 4.80 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H, OCHHPh); 4.79 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H, OCHHPh); 4.78 (d, *J* = 10.5 Hz, 1H, OCHHPh); 4.67 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H, OCHHPh); 4.66 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H, OCHHPh); 4.55 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H, OCHHPhOCH₃); 4.55 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H, OCHHPh); 4.46 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H, OCHHPh); 4.46 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, H-1^I); 4.43 (d, *J* = 10.5 Hz, 1H, OCHHPh); 4.37 (d, *J* = 10.5 Hz, 1H, OCHHPh); 4.37 (dddd, *J* = 13.0, 5.0, 1.5, 1.5 Hz, 1H, CHH-CH=CH₂); 4.09 (dddd, *J* = 13.0, 6.0, 1.5, 1.5 Hz, 1H, CHH-CH=CH₂); 3.95 (dd, *J* = 9.5, 8.5 Hz, 1H, H-4^{II}); 3.92-3.88 (m, 4H, H-3^{II} (3.92), H-3^{III} (3.92), H-6^a^I (3.89), H-6^b^I (3.88)); 3.86 (dd, *J* = 9.5, 8.5 Hz, 1H, H-4^I); 3.80 (s, 3H, CH₃OPh); 3.78 (t, *J* = 8.5 Hz, 1H, H-3^I); 3.65 (dt, *J* = 9.5, 3.5 Hz, 1H, H-5^{II}); 3.69 (dd, *J* = 12.2, 3.5 Hz, 1H, H-6^a^{II}), 3.55-3.39 (m, 8H, H-4^{III} (3.55), H-6^b^{II} (3.55), H-5^{III} (3.55), H-2^I (3.50), H-5^I (3.46), H-6^a^{III} (3.41), H-6^b^{III} (3.39), H-2^{II} (3.39)); 3.37 (dd, *J* = 9.0, 3.5 Hz, 1H, H-2^{III}); 1.00 (s, 9H, tBuSi); 0.97 (9H, s, tBuSi).

¹³C NMR (CDCl₃, 90 MHz, HSQC, HMBC): δ = 159.7 (PhOCH₃); 139.3, 139.2, 138.9, 138.5, 138.2, 136.4, 136.2, 136.0, 135.9, 135.2 (C_{arom}); 134.6 (CH₂-CH=CH₂); 134.2, 133.7, 133.6, 131.2, 130.1, 129.9, 128.7, 128.7, 128.6, 128.6, 128.6, 128.5, 128.1, 128.1, 128.0, 127.9, 127.9, 127.8, 127.5, 127.4, 127.2, 127.0 (C_{arom}); 117.6 (CH₂-CH=CH₂); 114.1

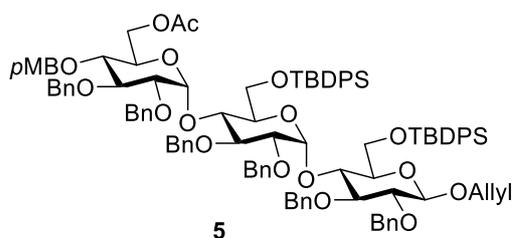
(*Ph*OCH₃); 102.4 (C-1^I); 97.4 (C-1^{III}); 96.2 (C-1^{II}); 85.1 (C-3^I); 82.4 (C-2^I); 82.1 (C-3^{III}); 81.6 (C-3^{II}); 80.0 (C-2^{II}); 79.8 (C-2^{III}); 77.3 (C-4^{III}), 75.9 (C-5^I); 75.8 (OCH₂Ph); 75.1 (OCH₂PhOCH₃); 74.9 (OCH₂Ph); 74.7 (C-4^I); 74.3, 74.3; 73.6, 73.5 (4xOCH₂Ph); 73.3 (C-4^{II}); 72.3 (C-5^{II}); 72.1 (C-5^{III}), 70.2 (CH₂-CH=CH₂); 64.4 (C-6^I); 63.2 (C-6^{II}); 61.8 (C-6^{III}); 55.7 (CH₃OPh); 27.5, 27.4, 27.0 (2x(CH₃)₃C); 19.8, 19.8 (2x(CH₃)₃C).

IR: ν = 3576.22 ($\nu_{\text{O-H}}$), 3066.13 ($\nu_{\text{sp}^2\text{-H}}$ or $\nu_{\text{sp}^2\text{-Harom}}$), 3030.65 ($\nu_{\text{sp}^2\text{-H}}$ or $\nu_{\text{sp}^2\text{-Harom}}$), 2929.22, 2856.43 ($\nu_{\text{C-Haliph}}$), 2362.05, 2362.02, 2159.44, 2159.27 ($\nu_{\text{C=C}}$ OAll), 2029.96, 2029.83, 1611.60, 1587.47, 1513.79, 1454.22, 1453.87, 1427.54, 1427.52, 1390.59, 1360.01, 1359.72, 1248.30, 1054.09, 1049.74, 1026.86, 933.85, 822.34, 734.91, 734.38, 696.57, 696.81, 610.03

ESI-HRMS: m/z calculated for C₁₀₃H₁₁₆NaO₁₇Si₂ [M+Na]⁺: 1703.7643; found: 1703.7698.

Elemental Analysis: calculated for C₁₀₃H₁₁₆O₁₇Si₂: C 73.54, H 6.95; found: C 73.33, H 6.95.

Allyl O-[6-O-acetyl-2,3-di-O-benzyl-4-O-(4-methoxybenzyl)- α -D-glucopyranosyl]-(1 \rightarrow 4)-O-(2,3-di-O-benzyl-6-O-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2,3-di-O-benzyl-6-O-*tert*-butyldiphenylsilyl- β -D-glucopyranoside (5)



Acetic anhydride (900 μ L, 9.50 mmol, 15.8 equiv) was added to a solution of product **49** (1.00 g, 0.60 mmol) in pyridine (11.90 mL, 0.05 M). After stirring overnight at room temperature, the solution was concentrated. The residue was dissolved in EtOAc (150 mL), and washed with 0.1 M aq. H₂SO₄ (100 mL), 10 % aq. CuSO₄ (100 mL), saturated aq. NaHCO₃ solution (100 mL) and water (100 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered, and concentrated. Flash chromatography (PE/EtOAc 4/1 to 3/2, v/v) of the residue gave **5** as white solid (980 mg, 0.57 mmol, 96 %). TLC: R_f = 0.31 (PE/EtOAc 7/3, v/v).

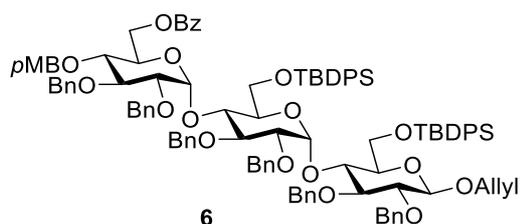
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz, H-H COSY, HSQC, HMBC): δ = 7.72-7.04 (m, 52H, H_{arom});

6.90 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, $\underline{Ph}OCH_3$); 6.00 (dddd, $J = 17.0, 10.5, 6.0, 5.0$ Hz, 1H, $\underline{CH}=\underline{CH}_2$); 5.68 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, H-1^{III}); 5.67 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, H-1^{II}); 5.36 (ddd, $J = 17.0, 3.0, 1.5$ Hz, 1H, $\underline{CH}_2-\underline{CH}=\underline{CH}$); 5.24 (ddd, $J = 10.5, 3.0, 1.5$ Hz, 1H, $\underline{CH}_2-\underline{CH}=\underline{CH}$); 5.01-4.42 (m, 12H, $\underline{OCH}HPh$); 4.82 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H, $\underline{OCH}HPhOCH_3$); 4.50 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, H-1^I); 4.47 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H, $\underline{OCH}HPhOCH_3$); 4.37 (dddd, $J = 13.0, 5.0, 1.5, 1.5$ Hz, 1H, $\underline{CH}H-\underline{CH}=\underline{CH}_2$); 4.13 (dddd, $J = 13.0, 6.0, 1.5, 1.5$ Hz, 1H, $\underline{CH}H-\underline{CH}=\underline{CH}_2$); 4.01-3.91 (m, 8H, H-6^a^{III} (4.01), H-6^a^I (3.97), H-6^b^I (3.96), H-4^{II} (3.96), H-3^{II} (3.96), H-4^I (3.94), H-3^{III} (3.93), H-6^a^{III} (3.91)); 3.84 (s, 3H, \underline{CH}_3OPh); 3.82 (t, $J = 9.0$ Hz, 1H, H-3^I); 3.75-3.43 (m, 9H, H-5^{II} (3.75), H-6^a^{II} (3.76), H-5^{III} (3.69), H-6^b^{II} (3.67), H-5^I (3.54), H-2^I (3.53), H-2^{II} (3.48), H-2^{III} (3.44), H-4^{III} (3.43)); 1.89 (s, 3H, $\underline{CH}_3C=O$); 1.01 (s, 9H, \underline{tBuSi}); 0.95 (9H, \underline{tBuSi}).

¹³C NMR (CDCl₃, 90 MHz, HSQC, HMBC): $\delta = 170.7$ ($\underline{CH}_3C=O$); 159.5 ($\underline{Ph}OCH_3$); 139.2, 138.8, 138.7, 138.3, 137.9, 136.1, 136.0, 135.7 (C_{arom}); 134.4 ($\underline{CH}_2-\underline{CH}=\underline{CH}_2$); 134.1, 133.5, 133.3, 130.6, 130.0, 129.9, 129.8, 129.7, 129.7, 128.6, 128.5, 128.4, 128.4, 128.3, 128.3, 128.0, 127.9, 127.8, 127.8, 127.7, 127.6, 127.5, 127.3, 127.1, 126.6 (C_{arom}); 117.4 ($\underline{CH}_2-\underline{CH}=\underline{CH}_2$); 113.9 ($\underline{Ph}OCH_3$); 102.3 (C-1^I); 97.2 (C-1^{III}); 95.9 (C-1^{II}); 84.9 (C-3^I); 82.2 (C-2^I); 82.1 (C-3^{III}); 81.3 (C-3^{II}); 79.7 (C-2^{II}); 79.6 (C-2^{III}); 77.4 (C-4^{III}); 75.8 (C-5^I); 75.7 (\underline{OCH}_2Ph); 74.8 (\underline{OCH}_2PhOCH_3); 74.8 (C-4^I); 74.5, 74.2, 73.9, 73.5 (4x \underline{OCH}_2Ph); 73.2 (C-4^{II}); 73.0 (\underline{OCH}_2Ph); 72.1 (C-5^{II}); 70.0 ($\underline{CH}_2-\underline{CH}=\underline{CH}_2$); 69.8 (C-5^{III}); 64.3 (C-6^I); 63.3 (C-6^{II}); 63.3 (C-6^{III}); 55.5 (\underline{CH}_3OPh); 27.2, 27.2 (2x(\underline{CH}_3)₃C); 20.9 ($\underline{CH}_3C=O$); 19.6, 19.5 (2x(\underline{CH}_3)₃C).

ESI-HRMS: m/z calculated for C₁₀₅H₁₁₈NaO₁₈Si₂ [M+Na]⁺: 1745.7749; found: 1745.7804.

Allyl O-[6-O-benzoyl-2,3-di-O-benzyl-4-O-(4-methoxybenzyl)- α -D-glucopyranosyl]-(1 \rightarrow 4)-O-(2,3-di-O-benzyl-6-O-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2,3-di-O-benzyl-6-O-*tert*-butyldiphenylsilyl- β -D-glucopyranoside (6)



Benzoyl chloride (1.06 mL, 9.12 mmol, 3 equiv) was added to a solution of product **49** (5.11 g, 3.04 mmol) in dry pyridine (61.00 mL, 0.05 M). After stirring overnight at room temperature, the solution became yellow and was concentrated and co-evaporated with MeOH. The residue was dissolved in EtOAc (300 mL), and washed with 0.1 M aq. H₂SO₄ (200 mL), 10 % aq. CuSO₄ (200 mL), saturated aq. NaHCO₃ solution (200 mL) and brine (200 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered, and concentrated. Then the residue was purified by flash chromatography (PE/EtOAc 9/1 to 4/1, v/v) to yield **6** as white solid (5.03 g, 2.82 mmol, 93 %). TLC: R_f = 0.55 (PE/EtOAc 4/1, v/v).

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz, H-H COSY, HSQC, HMBC): δ = 7.92 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, *Ph*C=O); 7.70-7.03 (m, 55H, H_{arom}); 6.79 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, *Ph*OCH₃); 5.96 (dddd, *J* = 17.0, 10.5, 6.0, 5.0 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 5.64 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H, H-1^{III}); 5.63 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H, H-1^{II}); 5.32 (ddd, *J* = 17.0, 3.0, 1.5 Hz, 1H, CH₂-CH=CH_H); 5.20 (ddd, *J* = 10.5, 3.0, 1.5 Hz, 1H, CH₂-CH=CH_H); 4.97 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H, OCH_HPh); 4.92 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H, OCH_HPh); 4.88 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H, OCH_HPh); 4.81 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H, OCH_HPh); 4.81 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H, OCH_HPhOCH₃); 4.80 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H, OCH_HPh); 4.78 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H, OCH_HPh); 4.71 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H, OCH_HPh); 4.68 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H, OCH_HPh); 4.54 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H, OCH_HPhOCH₃); 4.50 (d, *J* = 10.5 Hz, 1H, OCH_HPhOCH₃); 4.48 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H, OCH_HPh); 4.47 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, H-1^I); 4.47 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H, OCH_HPh); 4.39 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H, OCH_HPh); 4.38 (dddd, *J* = 13.0, 5.0, 1.5, 1.5 Hz, 1H, CH_H-CH=CH₂); 4.19 (dd, *J* = 12.65, 4.0 Hz, 1H, H-6^a^{III}); 4.17 (dd, *J* = 12.5, 2.5 Hz, 1H, H-6^b^{III}); 4.10 (dddd, *J* = 13.0, 6.0, 1.5, 1.5 Hz, 1H, CH_H-CH=CH₂); 4.03-3.87 (m, 6H, H-6^a^I (4.00), H-4^{II} (3.96), H-3^{III} (3.94), H-3^{II} (3.93), H-6^b^I (3.92), H-4^I (3.91)); 3.83-3.72 (m, 3H, H-5^{III} (3.79), H-3^I (3.78), H-6^a^{II} (3.76)); 3.72 (s, 3H, CH₃O_{Ph}); 3.72 (m, 1H, H-5^{II}); 3.64 (dd, *J* = 11.5, 2.5 Hz, 1H, H-6^b^{II}); 3.57 (t, *J* = 9.5 Hz, 1H, H-4^{III}); 3.50 (dd, *J* = 9.0, 8.0 Hz, 1H, H-2^I), 3.47 (dt, *J* = 9.0, 3.5 Hz, 1H, H-5^I); 3.44 (dd, *J* = 10.0, 3.5 Hz, 1H, H-2^{III}); 3.43 (dd, *J* = 9.0, 3.5 Hz, 1H, H-2^{II}); 1.02 (s, 9H, *t*BuSi); 0.97 (s, 9H, *t*BuSi).

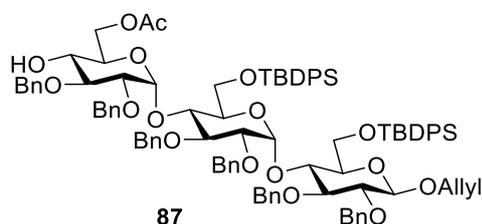
¹³C NMR (CDCl₃, 90 MHz, HSQC, HMBC): δ = 166.0 (*Ph*C=O); 159.3 (*Ph*OCH₃); 138.9, 138.9, 138.6, 138.5, 138.1, 137.7, 135.9, 135.8, 135.5, 135.5 (C_{arom}); 134.2 (CH₂-CH=CH₂); 133.9, 133.8, 133.3, 133.0, 132.8, 130.3, 130.0, 129.7, 129.7, 129.6, 129.6, 129.5, 129.5, 128.4, 128.3, 128.3, 128.2, 128.2, 128.1, 128.1, 127.9, 127.8, 127.6, 127.6, 127.5, 127.3, 127.1, 126.9, 126.4 (C_{arom}); 117.2 (CH₂-CH=CH₂); 113.7 (*Ph*OCH₃); 102.1 (C₁^I); 96.7

(C₁^{III}); 95.8 (C₁^{II}); 84.7 (C₃^I); 82.0 (C₂^I); 81.9 (C₃^{III}); 81.1 (C₃^{II}); 79.8 (C₂^{III}); 79.4 (C₂^{II}); 77.1 (C₄^{III}); 75.7 (C₅^I); 75.6 (OCH₂Ph); 74.7 (OCH₂PhOCH₃); 74.6 (OCH₂Ph); 74.4 (C₄^I); 74.0, 73.7 (2xOCH₂Ph); 73.0 (C₄^{II}); 72.8, 72.8 (2xOCH₂Ph); 72.0 (C-5^{II}); 69.8 (CH₂-CH=CH₂); 69.7 (C-5^{III}); 64.0 (C-6^I); 63.3 (C-6^{III}); 63.1 (C-6^{II}); 55.2 (CH₃OPH); 27.0, 27.0 (2x(CH₃)₃C); 19.4, 19.3 (2x(CH₃)₃C).

IR: ν = 3088.30, 3056.70 ($\nu_{\text{sp}2\text{-H}}$ or $\nu_{\text{sp}2\text{-Harom}}$), 3030.75 ($\nu_{\text{sp}2\text{-H}}$ or $\nu_{\text{sp}2\text{-Harom}}$), 2929.33 ($\nu_{\text{sp}3\text{-H}}$), 2856.64, 2246.02 ($\nu_{\text{C}=\text{C}}$ OAlI), 1963.11, 1888.69, 1820.04, 1721.01 ($\nu_{\text{C}=\text{O}}$ OBz), 1652.59, 1611.17, 1513.64, 1496.71, 1453.16, 1427.55, 1390.46, 1359.66, 1313.56, 1273.54, 1249.44, 1209.45, 1135.75, 1090.66, 1026.91, 1006.74, 908.79, 822.34, 732.03, 697.15, 648.73, 610.89.

ESI-HRMS: m/z calculated for C₁₁₀H₁₂₀NaO₁₈Si₂ [M+Na]⁺: 1807.7911; found: 1807.7905.

Allyl O-(6-O-acetyl-2,3-di-O-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1→4)-O-(2,3-di-O-benzyl-6-O-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1→4)-2,3-di-O-benzyl-6-O-*tert*-butyldiphenylsilyl- β -D-glucopyranoside (87)



CF₃COOH (67 μ L, 880 μ mol, 11 equiv) was added to a solution of **5** (140 mg, 80 μ mol) in CH₂Cl₂ (752 μ L, 0.1 M) at room temperature. After stirring for 30 min, the reaction mixture, which had become purple, was neutralized with Et₃N (130 μ L, 960 μ mol, 12 equiv) and concentrated. Then, the residue was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂/Et₂O 98.5/1.5, v/v) to yield **87** as white solid (96 mg, 60 μ mol, 75 %).

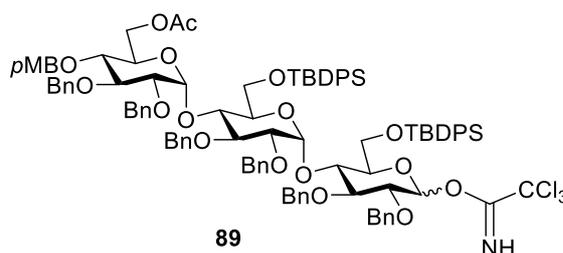
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz, H-H COSY, HSQC, HMBC): δ = 7.72-7.02 (m, 50 H, H_{arom}); 5.96 (dddd, J = 17.0, 10.5, 6.0, 5.0 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 5.65 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1^{III}); 5.63 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1^{II}); 5.32 (ddd, J = 17.0, 3.0, 1.5 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 5.20 (ddd, J = 10.5, 3.0, 1.5 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 4.97 (d, J = 11.0 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.92 (d, J = 12.0 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.84 (d, J = 11.5 Hz, 2H, CH₂Ph); 4.81 (d, J = 12.0 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.70 (d, J = 11.5 Hz, 2H, CH₂Ph); 4.68 (d, J = 11.0 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.51 (d, J =

12.0 Hz, 1H, $\underline{\text{CH}}_2\text{Ph}$); 4.49 (d, $J = 11.5$ Hz, 1H, $\underline{\text{CH}}_2\text{Ph}$); 4.47 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H, H_1^{I}); 4.45 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H, $\underline{\text{CH}}_2\text{Ph}$); 4.40 (d, $J = 11.5$ Hz, 1H, $\underline{\text{CH}}_2\text{Ph}$); 4.37 (dddd, $J = 13.0, 5.0, 1.5, 1.5$ Hz, 1H, $\underline{\text{CH}}_2\text{-CH=CH}_2$); 4.16 (dd, $J = 12.0, 3.0$ Hz, 1H, $\text{H-6}_a^{\text{III}}$); 4.10 (dddd, $J = 13.0, 6.0, 1.5, 1.5$ Hz, 1H, $\underline{\text{CH}}_2\text{-CH=CH}_2$); 4.03 (dd, $J = 11.5, 5.5$ Hz, 1H, H-6_a^{I}); 3.97-3.89 (m, 4H, $\text{H-6}_b^{\text{I}}, \text{H-4}^{\text{II}}, \text{H-3}^{\text{II}}, \text{H-4}^{\text{I}}$); 3.82-3.63 (m, 6H, $\text{H-6}_b^{\text{III}}, \text{H-3}^{\text{I}}, \text{H-5}^{\text{II}}, \text{H-3}^{\text{III}}, \text{H-6}_a^{\text{II}}, \text{H-6}_b^{\text{II}}$); 3.59 (dt, $J = 9.5, 3.0$ Hz, 1H, H-5^{III}); 3.51 (dd, $J = 9.0, 7.5$ Hz, 1H, H-2^{I}); 3.48 (dt, $J = 9.5, 5.5$ Hz, 1H, H-5^{I}); 3.45 (dd, $J = 9.0, 3.5$ Hz, 1H, H-2^{II}); 3.37 (dd, $J = 9.5, 3.5$ Hz, 1H, H-2^{III}); 3.33 (t, $J = 9.5$ Hz, 1H, H-4^{III}); 2.46 (br. s, 1H OH); 1.90 (s, 3H, OAc); 1.02 (s, 9H, *t*BuSi); 0.97 (9H, *t*BuSi).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 90 MHz, HSQC, HMBC): $\delta = 171.8$ (C=O); 139.3-135.9 (C_{arom}); 134.5 ($\text{CH}_2\text{-}\underline{\text{C}}\text{H=CH}_2$); 134.3-126.8 (C_{arom}); 117.5 ($\text{CH}_2\text{-CH=}\underline{\text{C}}\text{H}_2$); 102.4 (C_1^{I}); 97.5 (C_1^{III}); 96.1 (C_1^{II}); 85.0 (C_3^{I}); 82.4 (C_2^{I}); 81.4 (C_3^{II}); 81.3 (C_3^{III}); 79.8 (C_2^{II}); 79.3 (C_2^{III}); 76.0 (C_5^{I}); 75.8, 74.9 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ph}$); 74.8 (C_4^{I}); 74.4, 74.1 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ph}$); 73.6 (C_4^{II}); 73.3, 73.1 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ph}$); 72.3 (C_5^{II}); 70.9 (C_5^{III}); 70.3 (C_4^{III}); 70.1 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CH=CH}_2$); 64.4 (C_6^{I}); 63.6 (C_6^{II}); 63.5 (C_6^{III}); 55.6 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{OPH}$); 27.3 ($(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3\text{C}$); 21.1 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{C=O}$); 19.8, 19.7 ($(\text{CH}_3)_3\text{C}$).

ESI-HRMS: m/z calculated for $\text{C}_{97}\text{H}_{110}\text{NaO}_{17}\text{Si}_2$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 1625.7174; found: 1625.7084.

***O*-[6-*O*-Acetyl-2,3-di-*O*-benzyl-4-*O*-(4-methoxybenzyl)- α -D-glucopyranosyl]-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- α,β -D-glucopyranosyl trichloroacetimidate (89)**



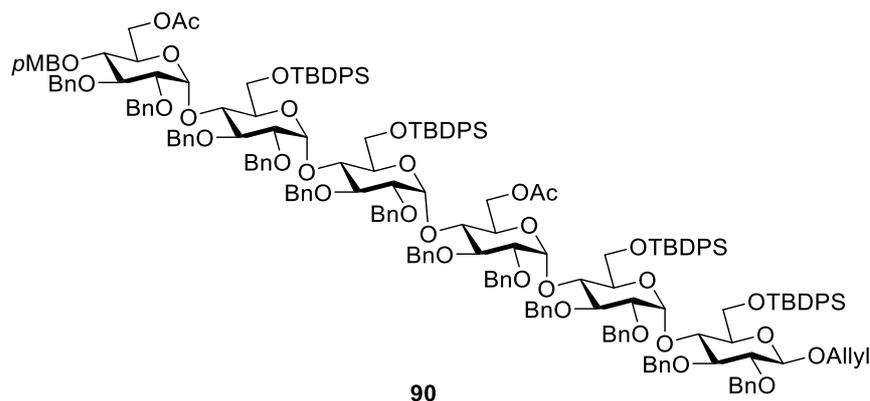
A solution of **5** (220 mg, 130 μmol) in THF (1.7 mL, 0.08 M) was degassed under vacuum and (1,5-cyclooctadiene)bis(methyldiphenylphosphane)iridium(I) hexafluorophosphate catalyst was added (6 mg, 6 μmol , 5 mol %), followed by further degassing of the mixture. The suspension was stirred for 15 min at 0 $^\circ\text{C}$. The catalyst was then activated with hydrogen, and the solution became nearly colorless. The reaction mixture was degassed and stirred for 3 h at room temperature under atmosphere of argon.

The solvent was then evaporated and the residue was dissolved in acetone/water (10/1, v/v, 2.5 mL, 0.05 M), then HgO (36 mg, 169 μ mol, 1.3 equiv) and HgCl₂ (42 mg, 156 μ mol, 1.2 equiv) were added. After stirring for 30 min at room temperature, the mixture was diluted with Et₂O (20 mL), washed with 10 % aq. KI (15 mL \times 2), saturated aq. Na₂SO₃ (15 mL \times 2) and water (15 mL \times 2). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered, and concentrated. Flash chromatography (CH₂Cl₂/Et₂O 98.5/1.5, v/v) of the residue gave **88** (186 mg, 110 μ mol, 87 % for two steps).

Compound **88** (186 mg, 110 μ mol) was then dissolved in toluene (638 μ L, 0.17 M). NaH (60% in mineral oil, 9 mg, 225 μ mol, 2.0 equiv) and CCl₃CN (66 μ L, 658 μ mol, 6.0 equiv) was added to this solution at 0 °C. After 1 h stirring, the solution was diluted with EtOAc (20 mL), and the organic phase was washed with ice cold water (20 mL), dried and concentrated. Flash chromatography (PE/EtOAc 4/1 to 3/2 with 1 % Et₃N, v/v) gave **89** as a α/β (3/2) mixture (154 mg, 84 μ mol, 76 %, 66 % for two steps).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 8.70 (s, 0.4H, C=NH); 8.58 (s, 0.6H, C=NH); 7.64-7.02 (m, 52H, H_{arom}); 6.89 (m, 2H, PhOCH₃); 6.50 (d, J = 3.5 Hz, 0.6H, H-1^I α); 5.87 (d, J = 8.0 Hz, 0.4H, H-1^I β); 5.63 (d, J = 3.5 Hz, 0.6H, H-1^{III} α); 5.61 (d, J = 3.5 Hz, 0.4H, H-1^{III} β); 5.60 (d, J = 3.5 Hz, 0.6H, H-1^{II} α); 5.57 (d, J = 3.5 Hz, 0.4H, H-1^{II} β); 4.96-4.34 (m, 14H, CH₂Ph); 4.18-3.80 (m, 9H, H-6^a^{III}, H-6^a^I, H-6^b^I, H-4^{II}, H-3^{II}, H-6^b^{III}, H-4^I, H-3^{III}, H-3^I); 3.80 (s, 3H, CH₃O-Ph); 3.80-3.34 (m, 9H, H-5^{II}, H-6^a^{II}, H-5^{III}, H-6^b^{II}, H-2^I, H-5^I, H-2^{II}, H-4^{III}, H-2^{III}); 1.85 (s, 1.2H, OAc); 1.82 (s, 1.8H, OAc); 0.99 (s, 9H, tBuSi); 0.96 (3.6H, tBuSi); 0.93 (5.4H, tBuSi).

Allyl O-[6-O-acetyl-2,3-di-O-benzyl-4-O-(4-methoxybenzyl)- α -D-glucopyranosyl]-(1 \rightarrow 4)-O-(2,3-di-O-benzyl-6-O-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-O-(2,3-di-O-benzyl-6-O-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-O-(6-O-acetyl-2,3-di-O-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-O-(2,3-di-O-benzyl-6-O-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2,3-di-O-benzyl-6-O-*tert*-butyldiphenylsilyl- β -D-glucopyranoside (90**)**

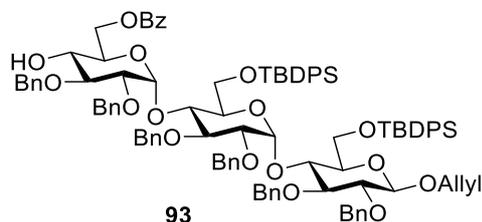


Molecular sieve 4Å (59 mg) was added to a solution of acceptor **87** (34 mg, 20.0 μmol) and donor **89** (50 mg, 30.0 μmol , 1.5 equiv) in CH_2Cl_2 (222 μL , 0.1 M) at room temperature under atmosphere of argon. After stirring for 15 min, the mixture was cooled to $-40\text{ }^\circ\text{C}$ and then a solution of TBDMSOTf in CH_2Cl_2 (0.2 M, 20 μL , 4.0 μmol , 20 mol %) was added. After overnight stirring, the reaction was quenched using a solution of Et_3N in CH_2Cl_2 (0.1 M, 200 μl , 20.0 μmol , 1.0 equiv) and concentrated. The residue was purified by gel-filtration chromatography (Sephadex LH-20), eluting with $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (1/1, v/v), and the fractions containing the highest molecular weight materials were pooled and concentrated. Flash chromatography (PE/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ 70/30/5, v/v) of the residue gave **90** as white solid (10 mg, 3.1 μmol , 15 %).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 7.71-6.97 (m, 102H, H_{arom}); 6.84 (d, J = 8.5 Hz, 2H, PhOCH_3); 5.95 (dddd, J = 17.0, 10.5, 6.0, 5.0 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 5.67 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1^{VI}); 5.66 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1^{III}); 5.64 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1^{II}); 5.60 (d, J = 3.5 Hz, 1H, $\text{H-1}^{\text{V(IV)}}$); 5.49 (d, J = 3.5 Hz, 1H, $\text{H-1}^{\text{IV(V)}}$); 5.32 (ddd, J = 17.0, 3.0, 1.5 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 5.19 (ddd, J = 10.5, 3.0, 1.5 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 4.99-4.32 (m, 28H, CH_2Ph , H-1^{I} , $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 4.11 (dddd, J = 13.0, 6.0, 1.5, 1.5 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 4.11-3.46 (m, 31H, $\text{CH}_3\text{O-Ph}$, H-6_a^{VI} , H-6_b^{VI} , H-6_a^{V} , H-6_b^{V} , H-6_a^{IV} , H-6_b^{IV} , $\text{H-6}_a^{\text{III}}$, $\text{H-6}_b^{\text{III}}$, H-6_a^{II} , H-6_b^{II} , H-6_a^{I} , H-6_b^{I} , H-5^{VI} , H-5^{V} , H-5^{IV} , H-5^{III} , H-5^{II} , H-4^{I} , H-4^{VI} , H-4^{V} , H-4^{IV} , H-4^{III} , H-4^{II} , H-4^{I} , H-3^{VI} , H-3^{V} , H-3^{IV} , H-3^{III} , H-3^{II} , H-3^{I} , H-2^{VI} , $\text{H-2}^{\text{V(IV)}}$, H-2^{III} , H-2^{II} , H-2^{I}); 3.45-3.30 (m, 7H, H-2^{I} , H-2^{II} , H-2^{III} , $\text{H-2}^{\text{IV(V)}}$, H-2^{VI} , H-4^{VI} , H-5^{I}); (3.34 (dd, J = 10.1, 3.5 Hz, 1H, $\text{H-2}^{\text{V(IV)}}$); 1.85 (s, 3H, OAc); 1.46 (s, 3H, OAc); 1.02 (s, 9H, $t\text{BuSi}$); 0.98 (s, 9H, $t\text{BuSi}$); 0.96 (s, 9H, $t\text{BuSi}$); 0.92 (s, 9H, $t\text{BuSi}$).

ESI-HRMS: m/z calculated for $\text{C}_{199}\text{H}_{222}\text{NaO}_{34}\text{Si}_4$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$: 3290.4612; found: 3290.4484.

Allyl *O*-(6-*O*-benzoyl-2,3-di-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- β -D-glucopyranoside (93**)**



CF₃COOH (840 μ L, 11.00 mmol, 11 equiv) was added to a solution of **6** (1.79 g, 1.00 mmol) in CH₂Cl₂ (20 mL, 0.05 M) at room temperature. After stirring for 3 h, the reaction mixture, which had become purple, was neutralized with Et₃N (2 mL, 14.00 mmol, 14 equiv) and concentrated. Then the residue was purified by flash chromatography (PE/EtOAc 9/1 to 7/3, v/v) to yield **93** as white solid (1.55 g, 0.93 mmol, 93 %). TLC: R_f = 0.21 (PE/EtOAc 9/1, v/v).

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz, H-H COSY, HSQC, HMBC): δ = 7.95 (d, J = 7.5 Hz, 2H, *PhC=O*); 7.70-7.04 (m, 53H, H_{arom}); 5.96 (dddd, J = 17.0, 10.5, 6.0, 5.0 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 5.65 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1^{III}); 5.64 (d, J = 4.0 Hz, 1H, H-1^{II}); 5.32 (ddd, J = 17.0, 3.0, 1.5 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 5.20 (ddd, J = 10.5, 3.0, 1.5 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 4.98 (d, J = 11.0 Hz, 1H, OCH₂HPh); 4.93 (d, J = 11.5 Hz, 1H, OCH₂HPh); 4.85 (d, J = 11.0 Hz, 1H, OCH₂HPh); 4.83 (d, J = 12.0 Hz, 1H, OCH₂HPh); 4.83 (d, J = 11.5 Hz, 1H, OCH₂HPh); 4.71 (d, J = 11.0 Hz, 1H, OCH₂HPh); 4.70 (d, J = 12.0 Hz, 1H, OCH₂HPh); 4.68 (d, J = 11.0 Hz, 1H, OCH₂HPh); 4.51 (d, J = 12.0 Hz, 1H, OCH₂HPh); 4.49 (d, J = 12.0 Hz, 1H, OCH₂HPh); 4.47 (d, J = 12.0 Hz, 1H, OCH₂HPh); 4.47 (d, J = 7.5 Hz, 1H, H-1^I); 4.41 (d, J = 12.0 Hz, 1H, OCH₂HPh); 4.40 (m, 1H, H-6^aIII); 4.38 (dddd, J = 13.0, 5.0, 1.5, 1.5 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 4.11 (dddd, J = 13.0, 6.0, 1.5, 1.5 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 4.07-3.94 (m, 6H, H-6^bIII (4.07), H-6^aI (4.05), H-4^{II} (3.97), H-3^{II} (3.95), H-4^I (3.94), H-6^bI (3.94)); 3.79 (dd, J = 8.5, 8.0 Hz, 1H, H-3^I); 3.77-3.68 (m, 5H, H-6^aII (3.77), H-5^{II} (3.76), H-3^{III} (3.73), H-5^{III} (3.72), H-6^bII (3.68)); 3.51 (dd, J = 8.0, 7.5 Hz, 1H, H-2^I); 3.51-3.42 (m, 3H, H-5^I (3.48), H-4^{III} (3.44), H-2^{II} (3.42)); 3.38 (dd, J = 9.0, 3.5 Hz, 1H, H-2^{III}); 2.57 (s, 1H, OH); 1.03 (s, 9H, *t*BuSi); 0.97 (9H, *t*BuSi).

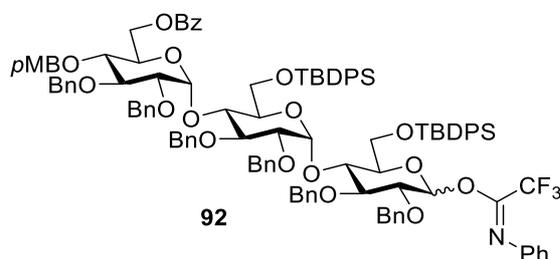
¹³C NMR (CDCl₃, 90 MHz, HSQC, HMBC): δ = 166.9 ((PhC=O)); 138.9, 138.9, 138.6, 138.5, 138.0, 137.7, 136.0, 135.8, 135.5 (C_{arom}); 134.2 (CH₂-CH=CH₂); 133.9, 133.8, 133.6,

133.1, 129.8, 129.7, 129.6, 129.6, 129.5, 128.5, 128.3, 128.3, 128.2, 128.2, 128.1, 128.1, 127.8, 127.8, 127.7, 127.6, 127.6, 127.6, 127.5, 127.4, 127.4, 127.1, 126.9, 126.9, 126.5 (C_{arom}); 117.2 (CH₂-CH=C_H); 102.1 (C-1^I); 96.9 (C-1^{III}); 95.8 (C-1^{II}); 84.7 (C-3^I); 82.0 (C-2^I); 81.1 (C-3^{II}); 81.0 (C-3^{III}); 79.5 (C-2^{II}); 79.2 (C-2^{III}); 75.6 (C-5^I); 75.5, 74.6 (2xOCH₂Ph); 74.6 (C-4^I); 74.1, 73.7 (2xOCH₂Ph); 73.0 (C-4^{II}); 72.9, 72.8 (2xOCH₂Ph); 72.0 (C-5^{II}); 70.7 (C-5^{III}); 70.1 (C-4^{III}); 69.8 (CH₂-CH=CH₂); 64.0 (C-6^I); 63.4 (C-6^{III}); 63.2 (C-6^{II}); 27.0, 27.0 (2x(CH₃)₃C); 19.4, 19.3 (2x(CH₃)₃C).

IR: ν = 3579.20 ($\nu_{\text{O-H}}$), 3067.88, 3032.69 ($\nu_{\text{sp}^2\text{-H}}$ or $\nu_{\text{sp}^2\text{-Harom}}$), 2930.36 ($\nu_{\text{sp}^2\text{-H}}$ or $\nu_{\text{sp}^2\text{-Harom}}$), 2858.45, 2249.68 ($\nu_{\text{C=C}}$ OAlI), 1715.67 ($\nu_{\text{C=O}}$ OBz), 1496.87, 1453.50, 1427.96, 1361.46, 1275.51, 1111.02, 1055.19, 904.75, 823.35, 726.02, 700.09, 648.86.

ESI-HRMS: m/z calculated for C₁₀₂H₁₁₂NaO₁₇Si₂ [M+Na]⁺: 1687.7330; found: 1687.7300.

***O*-[6-*O*-Benzoyl-2,3-di-*O*-benzyl-4-*O*-(4-methoxybenzyl)- α -D-glucopyranosyl]-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl)- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl)- α,β -D-glucopyranosyl *N*-phenyl trifluoroacetimidate (**92**)**



A solution of **6** (2.47 g, 1.38 mmol) in dry THF (11.70 mL, 0.12 M) was degassed under vacuum and (1,5-cyclooctadiene)bis(methyldiphenylphosphane)iridium(I) hexafluorophosphate catalyst was added (58 mg, 0.07 mmol, 5 mol %), followed by further degassing of the mixture. The suspension was stirred for 15 min at 0 °C. The catalyst was then activated with hydrogen for 4 min, and the solution became nearly colorless. The reaction mixture was degassed and stirred for 3 h at room temperature under atmosphere of argon. TLC: R_f = 0.65 (PE/EtOAc 4/1, v/v).

The solvent was then evaporated and the residue was dissolved in acetone/water (10/1, v/v, 27.50 mL, 0.05 M), then HgO (389 mg, 1.80 mmol, 1.3 equiv) and HgCl₂ (450 mg, 1.66 mmol, 1.2 equiv) were added. After stirring for 30 min at room temperature, the mixture

was diluted with Et₂O (200 mL), washed with 10 % aq. KI (100 mL × 2), saturated aq. Na₂SO₃ (100 mL × 2) and water (100 mL × 2). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered, and concentrated. The residue was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂/Et₂O 99/1 to 98/2, v/v) to yield **94** (2.28 g, 1.31 mmol, 95 %, α/β mixture) as white solid. TLC: R_f = 0.30-0.35 (PE/EtOAc 4/1, v/v).

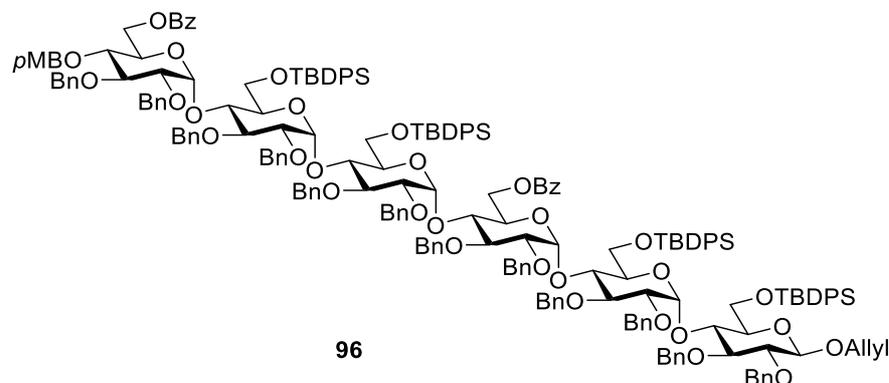
Compound **94** (2.25 g, 1.29 mmol) was then dissolved in acetone (8.60 mL, 0.15 M). Then K₂CO₃ (533 mg, 3.86 mmol, 3.0 equiv) and *N*-phenyl trifluoroacetimidoyl chloride **95** (533 mg, 2.57 mmol, 2.0 equiv) were added to this solution at room temperature. After stirring overnight, the mixture was concentrated. Then the residue was purified by flash chromatography (PE/EtOAc 18/2 to 18/3 with 1 ‰ Et₃N, v/v) to yield **92** as a α/β (3/2) mixture (2.45 g, 1.28 mmol, 99 %, 94 % for three steps). TLC: R_f = 0.40-0.45 (PE/EtOAc 9/1, v/v).

¹H NMR (360 MHz, CDCl₃): δ = 7.92 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, PhC=O); 7.70-7.03 (m, 59.6H, H_{arom}, H-1^Iα); 6.80 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, PhOCH₃); 6.70 (d, *J* = 8.5 Hz, 1.2H, PhN); 6.66 (d, *J* = 8.0 Hz, 0.8H, PhN); 6.40 (br.s, 0.4H, H-1^Iβ); 5.67 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H, H-1^{III}α, H-1^{III}β); 5.63 (d, *J* = 3.5 Hz, 0.6H, H-1^{II}α); 5.58 (d, *J* = 3.5 Hz, 0.4H, H-1^{III}β); 5.02-4.35 (m, 14H, OCH₂HPh); 4.92 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H, OCH₂HPh); 4.88 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H, OCH₂HPh); 4.84-4.75 (m, 4H, OCH₂HPh); 4.71 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H, OCH₂HPh); 4.68 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H, OCH₂HPh); 4.54 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H, OCH₂HPh); 4.50 (d, *J* = 10.5 Hz, 1H, OCH₂HPh); 4.48 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H, OCH₂HPh); 4.47 (d, *J* = 8.0 Hz, 0.4H, H-1^Iβ); 4.47 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H, OCH₂HPh); 4.39 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H, OCH₂HPh); 4.20 (dd, *J* = 12.5, 3.5 Hz, 1H, H-6^{III}); 4.16 (dd, *J* = 12.5, 2.5 Hz, 1H, H-6^{III}); 4.03-3.87 (m, 6H, H-6^a^I, H-4^{II}, H-3^{III}, H-3^{II}, H-6^b^I, H-4^I); 3.83-3.72 (m, 3H, H-5^{III}, H-3^I, H-6^a^{II}); 3.72-3.65 (m, 4H, CH₃OPh, H-5^{II}); 3.64 (dd, *J* = 11.5, 2.5 Hz, 1H, H-6^b^{II}); 3.57 (t, *J* = 9.3 Hz, 1H, H-4^{III}); 3.50 (dd, *J* = 9.0, 8.0 Hz, 1H, H-2^I); 3.47 (dt, *J* = 9.0, 3.5 Hz, 1H, H-5^I); 3.44 (dd, *J* = 10.0, 3.4 Hz, 1H, H-2^{III}); 3.43 (dd, *J* = 9.0, 3.5 Hz, 1H, H-2^{II}); 1.01 (s, 9H, tBuSi); 0.95 (s, 9H, tBuSi).

ESI-HRMS: *m/z* calculated for C₁₁₅H₁₂₀F₃NNaO₁₈Si₂ [M+Na]⁺: 1938.7888; found: 1938.7917.

**Allyl *O*-[6-*O*-benzoyl-2,3-di-*O*-benzyl-4-*O*-(4-methoxybenzyl)-α-D-glucopyranosyl]-
(1→4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl)-α-D-glucopyranosyl)-(1→4)-*O*-**

(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(6-*O*-benzoyl-2,3-di-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- β -D-glucopyranoside (96**)**



MS 4Å (425 mg) was added to a solution of acceptor **93** (500 mg, 0.30 mmol) and donor **92** (750 mg, 0.39 mmol, 1.3 equiv) in toluene (2.70 mL, 0.1 M) at room temperature under atmosphere of argon. After stirring for 15 min, the mixture was cooled to -78 °C and then a solution of TMSOTf in toluene (0.1 M, 0.30 mL, 0.03 mmol, 10 mol %) was added. After stirring overnight at -40 °C, the mixture was neutralized with Et₃N (42 μ L, 0.30 mmol, 1.0 equiv) and the solvent was evaporated. A flash chromatography (PE/EtOAc 19/1 to 4/1, v/v) of the residue gave **96** as white solid (858 mg, 0.25 mmol, 84 %). TLC: R_f = 0.42 (PE/EtOAc 4/1, v/v).

¹H NMR (CDCl₃, 700 MHz, H-H COSY, H-H TOCSY, HSQC, HMBC): δ = 7.94 (d, J = 8.0 Hz, 2H, PhC=O); 7.72-7.67 (m, 6H, PhC=O (7.70), H_{arom}); 7.60-7.49 (m, 12H, H_{arom}); 7.41-7.21 (m, 26H, H_{arom}); 7.20-6.93 (m, 66H, H_{arom}); 6.78 (d, J = 8.9 Hz, 2H, PhOCH₃); 5.96 (dddd, J = 17.0, 10.5, 6.0, 5.0 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 5.68 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1^{III(V)}); 5.68 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1^{VI}); 5.67 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1^{IV}); 5.58 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1^{V(II)}); 5.50 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1^{III}); 5.33 (ddd, J = 17.0, 3.0, 1.5 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 5.20 (ddd, J = 10.5, 3.0, 1.5 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 4.98 (d, J = 11.0 Hz, 1H, OCH₂HPh); 4.97 (d, J = 11.0 Hz, 1H, OCH₂HPh); 4.95 (d, J = 11.5 Hz, 1H, OCH₂HPh); 4.92 (d, J = 11.0 Hz, 1H, OCH₂HPh); 4.91 (d, J = 11.0 Hz, 1H, OCH₂HPh); 4.87 (d, J = 10.5 Hz, 1H, OCH₂HPh); 4.84 (d, J = 11.5 Hz, 1H, OCH₂HPh); 4.83 (d, J = 11.0 Hz, 1H, OCH₂HPh); 4.81 (d, J = 12.0 Hz, 1H, OCH₂HPhOCH₃); 4.80 (d, J = 12.0 Hz, 1H, OCH₂HPh); 4.78 (d, J = 11.5 Hz, 1H, OCH₂HPh); 4.77 (d, J = 10.5 Hz, 1H, OCH₂HPh); 4.73 (d, J = 12.0 Hz, 1H, OCH₂HPh); 4.71 (d, J = 11.0 Hz, 1H, OCH₂HPh); 4.66 (d, J = 11.5 Hz, 1H, OCH₂HPh); 4.56

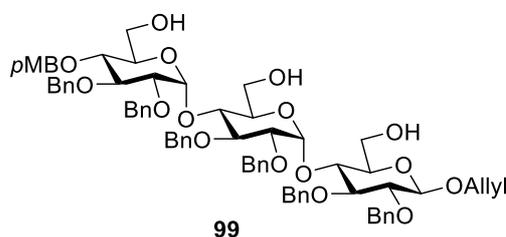
(d, $J = 10.5$ Hz, 1H, OCHHPPh); 4.52 (d, $J = 12.5$ Hz, 1H, OCHHPPh); 4.51 (d, $J = 10.5$ Hz, 1H, OCHHPPh); 4.51 (d, $J = 12.5$ Hz, 1H, OCHHPPh); 4.50 (d, $J = 12.0$ Hz, OCHHPPhOCH_3); 4.46 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H, OCHHPPh); 4.46 (d, $J = 10.5$ Hz, 1H, OCHHPPh); 4.45 (d, $J = 10.5$ Hz, 1H, OCHHPPh); 4.45 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, H-1^{I}); 4.44 (d, $J = 12.5$ Hz, 1H, OCHHPPh); 4.42 (d, $J = 12.5$ Hz, 1H, OCHHPPh); 4.37 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H, OCHHPPh); 4.37 (dddd, $J = 13.0, 5.0, 1.5, 1.5$ Hz, 1H, CHH-CH=CH_2); 4.35 (br, 1H, $\text{H-6}_a^{\text{III}}$); 4.15-4.03 (m, 11H, $\text{H-4}^{\text{II(V)}}$ (4.15), H-6_a^{VI} (4.15), H-6_b^{VI} (4.15), H-6_a^{I} (4.12), $\text{H-6}_b^{\text{III}}$ (4.12), CHH-CH=CH_2 (4.10), H-3^{IV} (4.06), $\text{H-3}^{\text{II(V)}}$ (4.05), H-4^{I} (4.03), H-3^{III} (4.03), H-3^{VI} (4.03)); 3.98-3.94 (m, 5H, H-5^{III} (3.98), $\text{H-6}_a^{\text{V(II)}}$ (3.98), $\text{H-3}^{\text{V(II)}}$ (3.96), $\text{H-4}^{\text{V(II)}}$ (3.96), H-4^{IV} (3.94)); 3.89-3.85 (m, 4H, H-6_b^{I} (3.89), H-5^{VI} (3.88), H-6_a^{IV} (3.87), $\text{H-6}_a^{\text{II(V)}}$ (3.87)); 3.79-3.73 (m, 5H, H-3^{I} (3.79), H-4^{III} (3.79), $\text{H-5}^{\text{V(II)}}$ (3.77), H-6_b^{IV} (3.75), $\text{H-5}^{\text{V(II)}}$ (3.73)); 3.71 (s, 3H, CH_3OPh); 3.68-3.64 (m, 4H, $\text{H-6}_b^{\text{II(V)}}$ (3.68), H-5^{IV} (3.65), H-4^{VI} (3.64), $\text{H-6}_b^{\text{V(II)}}$ (3.64)); 3.49 (dd, $J = 9.5, 8.0$ Hz, 1H, H-2^{I}), 3.45-3.43 (m, 4H, H-2^{III} (3.45), H-2^{VI} (3.44), $\text{H-4}^{\text{V(II)}}$ (3.44), $\text{H-2}^{\text{II(V)}}$ (3.43)); 3.36 (dd, $J = 9.5, 3.5$ Hz, 1H, H-5^{I}); 3.31 (dd, $J = 9.5, 3.5$ Hz, 1H, H-2^{IV}); 1.03 (s, 9H, tBuSi); 0.98 (s, 9H, tBuSi); 0.94 (s, 9H, tBuSi); 0.89 (s, 9H, tBuSi).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 176 MHz, HSQC, HMBC): $\delta = 165.9, 165.5$ ($2 \times \text{PhC=O}$); 159.2 (PhOCH_3); 139.1, 139.1, 139.0, 138.9, 138.8, 138.7, 138.6, 138.2, 138.0, 137.9, 137.7, 137.7, 136.1, 135.9, 135.9, 135.7, 135.6, 135.5, 135.5, 135.5 (C_{arom}); 134.3 ($\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$); 134.2, 134.1, 133.9, 133.6, 133.3, 133.2, 133.2, 132.8, 132.5, 130.4, 130.1, 129.9, 129.8, 129.8, 129.7, 129.6, 129.6, 129.5, 129.5, 129.4, 129.4, 129.4, 129.3, 128.4, 128.3, 128.2, 128.2, 128.2, 128.2, 128.1, 128.1, 128.1, 128.0, 128.0, 128.0, 127.8, 127.8, 127.7, 127.6, 127.6, 127.6, 127.5, 127.5, 127.5, 127.5, 127.4, 127.4, 127.3, 127.3, 127.2, 127.1, 127.1, 126.9, 126.9, 126.8, 126.7, 126.5, 126.5, 126.3 (C_{arom}); 117.1 ($\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$); 113.7 (PhOCH_3); 102.1 (C-1^{I}); 96.8 (C-1^{IV}); 96.8 (C-1^{VI}); 96.2 ($\text{C-1}^{\text{II(V)}}$); 96.1 ($\text{C-1}^{\text{V(II)}}$); 95.7 (C-1^{III}); 84.5 (C-3^{I}); 82.0 (C-2^{I}); 81.9 (C-3^{VI}); 81.4 (C-3^{III}); 81.1 ($\text{C-3}^{\text{II(V)}}$); 80.8 (C-3^{IV}); 80.7 ($\text{C-3}^{\text{V(II)}}$); 79.9 (C-2^{VI}); 79.4 (C-2^{III}); 79.3 ($\text{C-2}^{\text{V(II)}}$); 79.2 ($\text{C-2}^{\text{II(V)}}$); 78.9 (C-2^{IV}); 76.9 (C-4^{VI}); 76.0 ($\text{C-4}^{\text{V(II)}}$); 75.8 (C-5^{I}); 75.8 (C-4^{I}); 75.7, 74.8 ($2 \times \text{OCH}_2\text{Ph}$); 74.6 ($\text{CH}_2\text{PhOCH}_3$); 74.6, 74.3, 74.1, 73.7, 73.5 ($5 \times \text{OCH}_2\text{Ph}$); 72.9 ($\text{C-4}^{\text{II(V)}}$); 72.9 (C-4^{IV}); 72.9, 72.8, 72.8, 72.7 ($4 \times \text{OCH}_2\text{Ph}$); 72.5 (C-5^{IV}); 72.4 (OCH_2Ph); 72.4 ($\text{C-5}^{\text{V(II)}}$); 72.1 ($\text{C-5}^{\text{II(V)}}$); 71.9 (C-4^{III}); 69.7 ($\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$); 69.6 (C-5^{VI}); 69.4 (C-5^{III}); 63.9 (C-6^{III}); 63.8 (C-6^{I}); 63.5 ($\text{C-6}^{\text{V(II)}}$); 63.2 (C-6^{VI}); 63.1 (C-6^{IV}); 62.9 ($\text{C-6}^{\text{II(V)}}$); 55.2 (CH_3OPh); 27.0, 27.0, 26.9, 26.9 ($4 \times (\text{CH}_3)_3\text{C}$); 19.5, 19.4, 19.4, 19.3 ($4 \times (\text{CH}_3)_3\text{C}$).

IR: $\nu = 3065.04$ ($\nu_{\text{sp}2\text{-H}}$ OR $\nu_{\text{sp}2\text{-Harom}}$), 3030.73 ($\nu_{\text{sp}2\text{-H}}$ OR $\nu_{\text{sp}2\text{-Harom}}$), 2928.82 ($\nu_{\text{sp}3\text{-H}}$), 2856.44 , 2337.95 , 2187.37 , 1979.41 , 1721.10 ($\nu_{\text{C=O}}$ OBz), 1604.94 , 1587.26 , 1513.74 , 1496.57 , 1453.14 , 1427.57 , 1390.04 , 1360.28 , 1313.56 , 1272.40 , 1250.28 , 1208.86 , 1093.06 , 1026.67 , 822.52 , 734.80 , 696.36 , 610.72 .

ESI-HRMS: m/z calculated for $\text{C}_{209}\text{H}_{226}\text{NaO}_{34}\text{Si}_4$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 3414.4925; found: 3414.4971.

Allyl O-[2,3-di-O-benzyl-4-O-(4-methoxybenzyl)- α -D-glucopyranosyl]-(1 \rightarrow 4)-O-(2,3-di-O-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2,3-di-O-benzyl- β -D-glucopyranoside (99)



TBAF (1.18 g, 3.68 mmol, 3 equiv) was added to a solution of product **49** (2.10 g, 1.25 mmol) in THF (12.50 mL, 0.1 M). After overnight stirring at 40 °C, the solution was concentrated. The residue was dissolved in EtOAc (150 mL), and washed with saturated aq. NaHCO_3 solution (100 mL) and water (100 mL). The organic layer was dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated. Flash chromatography (PE/EtOAc 2/3, v/v) of the residue afforded **99** as white solid (1.42 g, 1.18 mmol, 95 %).

^1H NMR (CDCl_3 , 700 MHz, H-H COSY, H-H TOCSY, HSQC, HMBC): $\delta = 7.30\text{-}6.97$ (m, 32H, H_{arom}); 6.83 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, PhOCH_3); 5.95 (dddd, $J = 17.0, 10.5, 6.0, 5.0$ Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 5.64 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, H-1^{II}); 5.60 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H, H-1^{III}); 5.34 (ddd, $J = 17.0, 3.0, 1.5$ Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 5.22 (ddd, $J = 10.5, 3.0, 1.5$ Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 4.98 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H, CH_2Ph); 4.91 (d, $J = 11.0$ Hz, 1H, CH_2Ph); 4.89 (d, $J = 11.0$ Hz, 1H, CH_2Ph); 4.86 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H, CH_2Ph); 4.81 (d, $J = 11.0$ Hz, 1H, CH_2Ph); 4.75 (d, $J = 11.0$ Hz, 1H, CH_2Ph); 4.74 (d, $J = 12.0$ Hz, 2H, CH_2Ph); 4.62 (d, $J = 11.0$ Hz, 1H, CH_2Ph); 4.54 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H, CH_2Ph); 4.53 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, H-1^I); 4.51 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H, CH_2Ph); 4.43 (d, $J = 12.0$ Hz, 3H, CH_2Ph); 4.41 (dddd, $J = 13.0, 5.0, 1.5, 1.5$ Hz, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 4.16 (dddd, $J = 13.0, 6.0, 1.5, 1.5$ Hz, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 4.05 (t, $J = 9.5$ Hz, 1H, H-4^I); 3.99 (dd, $J = 9.0, 8.0$ Hz, 1H, H-3^{II}); 3.93 (t, $J = 9.5$ Hz, 1H, H-3^{III}); 3.92 (dd, $J = 12.0, 3.5$ Hz, 1H, H-6^a); 3.90 (dd, $J = 9.0, 8.5$ Hz, 1H, H-4^{II}); 3.89-3.77 (m, 5H,

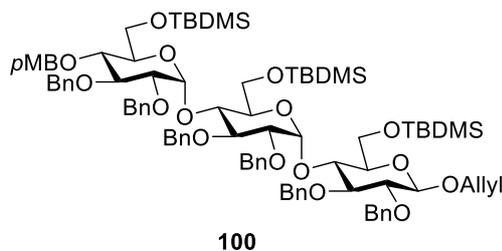
H-6_b^I, H-6_a^{II}, H-6_a^{III}, H-5^{II}, H-3^I); 3.77-3.70 (m, 5H, CH₃O-Ph, H-5^{III}, H-6_b^{II}); 3.57 (dd, *J* = 11.5, 6.0 Hz, 1H, H-6_b^{III}); 3.50 (dd, *J* = 9.0, 8.0 Hz, 1H, H-2^I); 3.49 (dd, *J* = 9.0, 3.5 Hz, 1H, H-2^{II}); 3.48 (dt, *J* = 9.0, 3.5 Hz, 1H, H-5^I); 3.43 (dd, *J* = 9.5, 4.0 Hz, 1H, H-2^{III}); 3.35 (dd, *J* = 9.5, 9.0 Hz, 1H, H-4^{III}).

¹³C NMR (CDCl₃, 176 MHz, HSQC, HMBC): δ = 159.7 (PhOCH₃); 139.1, 139.0, 138.4, 138.3, 137.9 (C_{arom}); 134.2 (CH₂-CH=CH₂); 130.4-126.6 (C_{arom}); 117.8 (CH₂-CH=CH₂); 114.2 (PhOCH₃); 102.9 (C-1^I); 97.4 (C-1^{III}); 96.9 (C-1^{II}); 84.9 (C-3^I); 82.5 (C-2^I); 82.1 (C-3^{III}); 81.6 (C-3^{II}); 79.7 (C-2^{III}); 79.3 (C-2^{II}); 78.1 (C-4^{III}); 75.8, 75.0 (CH₂Ph); 75.0 (C-4^I); 74.3, 74.2, 73.5, 73.4 (CH₂Ph); 73.2 (C-4^{II}); 72.6 (C-5^I); 72.5 (C-5^{III}); 72.0 (C-5^{II}); 70.8 (CH₂-CH=CH₂); 62.5 (C-6^{II}); 62.0 (C-6^I); 61.9 (C-6^{III}); 55.6 (CH₃OPh).

IR: ν = 3426.89(ν_{O-H}), 3030.41, 2923.77(ν_{sp3-H}), 2871.97, 1980.00, 1611.36, 1513.53, 1496.82, 1453.49, 1358.23, 1247.98, 1209.60, 1026.01, 821.30, 733.20, 695.85, 620.04.

ESI-HRMS: *m/z* calculated for C₇₁H₈₀NaO₁₇ [M+Na]⁺: 1227.5288; found: 1227.5298.

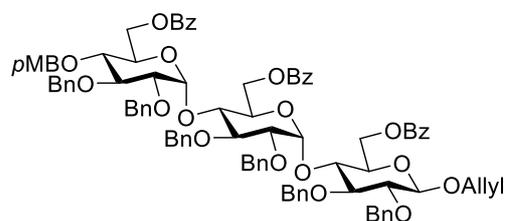
Allyl O-[2,3-di-O-Benzyl-6-O-*tert*-butyldimethylsilyl-4-O-(4-methoxybenzyl)-α-D-glucopyranosyl]-(1→4)-O-(2,3-di-O-benzyl-6-O-*tert*-butyldimethylsilyl-α-D-glucopyranosyl)-(1→4)-2,3-di-O-benzyl-6-O-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-glucopyranoside (100)



TBDMSCl (115 μL, 664 μmol, 4.0 equiv) and imidazole (90 mg, 1328 μmol, 8.0 equiv) were added to a solution of product **99** (200 mg, 166 μmol) in DMF (166 μL, 0.1 M). After overnight stirring, the solution was concentrated, and the residue was dissolved in EtOAc (150 mL), and washed with water (100 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered, and concentrated. A flash chromatography gel (PE/EtOAc 3/2, v/v) of the residue gave **100** as white solid (225 mg, 145 μmol, 87 %).

Allyl O-[6-O-benzoyl-2,3-di-O-benzyl-4-O-(4-methoxybenzyl)-α-D-glucopyranosyl]-

(1→4)-O-(6-O-benzoyl-2,3-di-O-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1→4)-6-O-benzoyl-2,3-di-O-benzyl- β -D-glucopyranoside (101)



101

Benzoyl chloride (116 μ L, 996 μ mol, 6.0 equiv), Et₃N (280 μ L, 1992 μ mol, 12.0 equiv) and DMAP (12 mg, 100 μ mol, 0.6 equiv) were added to a solution of product **99** (200 mg, 166 μ mol) in pyridine (1660 μ L, 0.1 M). After stirring overnight at room temperature, the solution was concentrated. The residue was dissolved in EtOAc (30 mL), and washed with 0.1 M aq. H₂SO₄ (20 mL), 10 % aq. CuSO₄ (20 mL), saturated aq. NaHCO₃ solution (20 mL) and water (20 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered, and concentrated. Flash chromatography (PE/EtOAc 7/3 to 3/2) of the residue gave **101** as white solid (231 mg, 15.2 μ mol, 92 %).

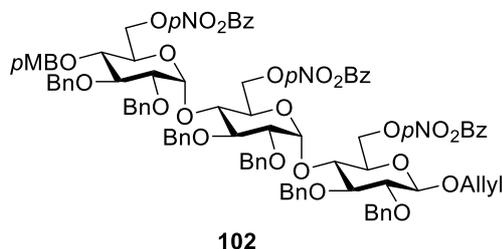
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz, H-H COSY, HSQC, HMBC): δ = 8.07 (d, J = 7.5 Hz, 2H, PhC=O); 8.02 (d, J = 7.5 Hz, 2H, PhC=O); 7.94 (d, J = 7.5 Hz, 2H, PhC=O); 7.56-7.03 (m, 41H, H_{arom}); 6.74 (d, J = 8.5 Hz, 2H, PhOCH₃); 5.93 (dddd, J = 17.0, 10.5, 6.0, 5.0 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 5.54 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1^{III}); 5.49 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1^{II}); 5.29 (ddd, J = 17.0, 3.0, 1.5 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 5.18 (ddd, J = 10.5, 3.0, 1.5 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 4.92 (d, J = 11.0 Hz, 2H, CH₂Ph); 4.91 (d, J = 10.5 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.84 (dd, J = 12.0, 3.0 Hz, 1H, H-6^{aI}); 4.82 (d, J = 10.5 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.79 (d, J = 11.0 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.78 (d, J = 11.0 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.76 (d, J = 11.0 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.75 (d, J = 11.5 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.64 (d, J = 12.0 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.62 (d, J = 11.0 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.60 (dd, J = 12.0, 2.5 Hz, 1H, H-6^{aII}); 4.53 (d, J = 8.0 Hz, 1H, H-1^I); 4.51 (dd, J = 12.0, 3.0 Hz, 1H, H-6^{bI}); 4.50 (d, J = 11.5 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.50 (d, J = 10.5 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.47-4.30 (m, 6H, CH₂Ph, CH₂-CH=CH₂, H-6^{bII}, H-6^{aIII}, H-6^{bIII}); 4.17-4.09 (m, 2H, CH₂-CH=CH₂, H-5^{II}); 4.06 (t, J = 9.5 Hz, 1H, H-3^{III}); 4.05 (t, J = 9.5, 8.0 Hz, 1H, H-3^{II}); 4.02 (t, J = 9.0 Hz, 1H, H-4^I); 3.95 (dd, J = 9.5, 8.0 Hz, 1H, H-4^{II}); 3.95 (dt, J = 9.5, 3.5 Hz, 1H, H-5^{III}); 3.81 (t, J = 8.5, 1H, H-3^I); 3.78 (dt, J = 9.0, 3.0 Hz, 1H, H-5^I); 3.69 (s, 3H, CH₃O-Ph); 3.60 (t, J = 9.5 Hz, 1H, H-4^{III}); 3.54 (dd, J = 9.0, 8.0 Hz, 1H, H-2^I); 3.44 (dd, J = 9.5, 3.5 Hz, 1H, H-2^{III}); 3.47 (dd, J = 9.5, 3.5 Hz, 1H, H-2^{II}).

^{13}C DEPT NMR (CDCl_3 , 90 MHz, HSQC, HMBC): δ = 134.5 ($\text{CH}_2\text{-}\underline{\text{C}}\text{H}=\text{CH}_2$); 133.4-126.7 (C_{arom}); 117.9 ($\text{CH}_2\text{-CH}=\underline{\text{C}}\text{H}_2$); 114.0 (PhOCH_3); 102.5 (C-1^{I}); 97.8 (C-1^{III}); 97.0 (C-1^{II}); 84.4 (C-3^{I}); 82.1 (C-2^{I}); 82.0 (C-3^{III}); 80.9 (C-3^{II}); 79.7 (C-2^{III}); 79.3 (C-2^{II}); 77.2 (C-4^{III}); 76.0 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ph}$); 75.1 (C-4^{II}); 74.9, 74.8 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ph}$); 74.8 (C-4^{I}); 74.2, 73.6, 73.4 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ph}$); 73.0 (C-5^{I}); 70.5 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 70.3 (C-5^{II}); 70.0 (C-5^{III}); 64.0 (C-6^{I}); 63.9 (C-6^{II}); 63.4 (C-6^{III}); 55.4 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{OPh}$).

IR: ν = 3088.02, 3062.92($\nu_{\text{sp}2\text{-H}}$ or $\nu_{\text{sp}2\text{-Harom}}$), 3030.87($\nu_{\text{sp}2\text{-H}}$ or $\nu_{\text{sp}2\text{-Harom}}$), 2920.29($\nu_{\text{sp}3\text{-H}}$), 1719.93($\nu_{\text{C=O}}$ OBz), 1602.67, 1584.98, 1513.63, 1496.57, 1453.16, 1359.90, 1314.18, 1270.52, 1091.72, 1064.17, 1042.33, 1025.68, 932.35, 848.07, 821.52, 734.65, 709.94, 696.86, 618.07.

ESI-HRMS: m/z calculated for $\text{C}_{92}\text{H}_{92}\text{NaO}_{20}$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$: 1539.6074; found: 1539.6108.

Allyl *O*-[2,3-di-*O*-benzyl-4-*O*-(4-methoxybenzyl)-6-*O*-(4-nitrobenzoyl)- α -D-glucopyranosyl]-(1 \rightarrow 4)-*O*-[2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-(4-nitrobenzoyl)- α -D-glucopyranosyl]-(1 \rightarrow 4)-2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-(4-nitrobenzoyl)- β -D-glucopyranoside (102**)**



4-Nitrobenzoyl chloride (185 mg, 996 μmol , 6.0 equiv), Et_3N (280 μL , 1992 μmol , 12.0 equiv) and DMAP (12 mg, 100 μmol , 0.6 equiv) were added to a solution of product **99** (200 mg, 166 μmol) in pyridine (1660 μL , 0.1 M). After stirring overnight at room temperature, the solution was concentrated. The residue was dissolved in EtOAc (30 mL), and washed with 0.1 M aq. H_2SO_4 (20 mL), 10 % aq. CuSO_4 (20 mL), saturated aq. NaHCO_3 solution (20 mL) and water (20 mL). The organic layer was dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated. Flash chromatography (PE/EtOAc 7/3 to 3/2, v/v) of the residue gave **102** as white solid (246 mg, 14.9 μmol , 90 %).

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz, H-H COSY, HSQC, HMBC): δ = 8.24-8.02 (m, 12H, $p\text{NO}_2\text{PhC=O}$); 7.32-7.05 (m, 32H, H_{arom}); 6.73 (d, J = 8.5 Hz, 2H, PhOCH_3); 5.93 (dddd, J = 17.0, 10.5, 6.0, 5.0 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-}\underline{\text{C}}\text{H}=\text{CH}_2$); 5.48 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1^{II}); 5.43 (d, J

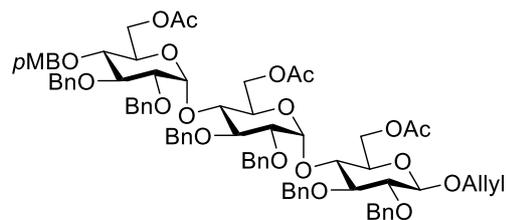
= 3.5 Hz, 1H, H-1^{III}); 5.29 (m, 1H, CH₂-CH=CH₂); 5.19 (m, 1H, CH₂-CH=CH₂); 4.95 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.92 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.91 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.83 (dd, *J* = 12.0, 2.0 Hz, 1H, H-6_a^I); 4.82 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.79 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.77 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.73 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.70 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.64 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.63 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.59 (dd, *J* = 12.0, 2.5 Hz, 1H, H-6_a^{II}); 4.55 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H, H-1^I); 4.55-4.53 (m, 2H, H-6_b^I, CH₂Ph); 4.48 (d, *J* = 12.9 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.46 (d, *J* = 10.5 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.45 (dd, *J* = 12.0, 3.5 Hz, 1H, H-6_b^{II}); 4.43 (d, *J* = 12.5 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.42 (dd, *J* = 12.0, 2.5 Hz, 1H, H-6_a^{III}); 4.37 (dd, *J* = 12.0, 3.5 Hz, 1H, H-6_b^{III}); 4.37 (dddd, *J* = 13.0, 5.0, 1.5, 1.5 Hz, CH₂-CH=CH₂); 4.18-4.10 (m, 2H, CH₂-CH=CH₂, H-5^{II}); 4.03 (dd, *J* = 10.0, 9.0 Hz, 1H, H-3^{III}); 4.03 (dd, *J* = 9.0, 7.4 Hz, 1H, H-3^{II}); 3.94 (dd, *J* = 9.5, 3.5, 2.5 Hz, 1H, H-5^{III}); 3.92 (dd, *J* = 9.3, 8.4 Hz, 1H, H-4^I); 3.86 (dd, *J* = 9.5, 7.5 Hz, 1H, H-4^{II}); 3.81 (m, 1H, H-5^I); 3.80 (t, *J* = 8.4 Hz, 1H, H-3^I); 3.69 (s, 3H, CH₃O-Ph); 3.54 (dd, *J* = 9.5, 9.0 Hz, 1H, H-4^{III}); 3.52 (dd, *J* = 8.5, 7.5 Hz, 1H, H-2^I); 3.51 (dd, *J* = 9.0, 3.5 Hz, 1H, H-2^{II}); 3.48 (dd, *J* = 10.0, 3.5 Hz, 1H, H-2^{III}).

¹³C NMR (CDCl₃, 90 MHz, HSQC, HMBC): δ = 164.6, 164.5, 164.4 (C=O); 159.8 (PhOCH₃); 151.0, 150.9, 150.8 (PhNO₂); 138.8, 138.7, 138.5, 138.3, 138.2, 137.9 (C_{arom}); 135.4, 135.3 (PhNO₂); 134.0 (CH₂-CH=CH₂); 131.1-126.7 (C_{arom}); 124.0, 123.9, 123.8 (PhNO₂); 118.1 (CH₂-CH=CH₂); 114.2 (PhOCH₃); 102.7 (C-1^I); 98.2 (C-1^{III}); 97.3 (C-1^{II}); 84.4 (C-3^I); 82.2 (C-2^I); 82.1 (C-3^{III}); 80.4 (C-3^{II}); 79.7 (C-2^{III}); 78.7 (C-2^{II}); 76.9 (C-4^{III}); 76.0 (C-4^I); 75.9 (CH₂Ph); 75.2 (C-4^I); 75.0, 74.9, 74.5, 74.1, 73.9, 73.5 (CH₂Ph); 72.9 (C-5^I); 70.7 (CH₂-CH=CH₂); 70.2 (C-5^{III}); 70.0 (C-5^{II}); 65.2 (C-6^I); 65.2 (C-6^{II}); 64.3 (C-6^{III}); 55.4 (CH₃O-Ph).

IR: ν = 2873.17(*v*_{sp³-H}), 2253.04(*v*_{C=C} OAll), 1728.32(*v*_{C=O} OpNO₂Bz), 1529.16(*v*_{N=O} OpNO₂Bz), 1275.15, 1096.86(*v*_{C=O} OpNO₂Bz), 904.66, 725.29, 649.05.

ESI-HRMS: *m/z* calculated for C₉₂H₈₉N₃NaO₂₆ [M+Na]⁺: 1674.5627; found: 1674.5629.

Allyl O-[6-O-acetyl-2,3-di-O-benzyl-4-O-(4-methoxybenzyl)-α-D-glucopyranosyl]-(1→4)-O-(6-O-acetyl-2,3-di-O-benzyl-α-D-glucopyranosyl)-(1→4)-6-O-acetyl-2,3-di-O-benzyl-β-D-glucopyranoside (103)



103

Acetic anhydride (630 μL , 6640 μmol , 40 equiv) was added to a solution of product **99** (200 mg, 166 μmol) in pyridine (1100 μL , 0.15 M). After overnight stirring at room temperature, the solution was concentrated. The residue was dissolved in EtOAc (30 mL), and washed with 0.1 M aq. H_2SO_4 (20 mL), 10 % aq. CuSO_4 (20 mL), saturated aq. NaHCO_3 solution (20 mL) and water (20 mL). The organic layer was dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated. Flash chromatography (PE/EtOAc 7/3 to 1/1, v/v) of the residue afforded **103** as white solid (210 mg, 15.8 μmol , 95 %).

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz, H-H COSY, HSQC, HMBC): δ = 7.29-7.04 (m, 32H, H_{arom}); 6.83 (d, J = 8.3 Hz, 2H, PhOCH_3); 5.95 (dddd, J = 17.0, 10.5, 6.0, 5.0 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 5.43 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1^{III}); 5.37 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1^{II}); 5.34 (ddd, J = 17.0, 3.0, 1.5 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 5.22 (ddd, J = 10.5, 3.0, 1.5 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 4.93 (d, J = 11.0 Hz, 1H, CH_2Ph); 4.92 (d, J = 11.0 Hz, 1H, CH_2Ph); 4.89 (d, J = 10.5 Hz, 1H, CH_2Ph); 4.81 (d, J = 11.0 Hz, 2H, CH_2Ph); 4.77 (d, J = 11.0 Hz, 2H, CH_2Ph); 4.76 (d, J = 10.5 Hz, 1H, CH_2Ph); 4.63 (d, J = 10.5 Hz, 1H, CH_2Ph); 4.58 (d, J = 11.5 Hz, 1H, CH_2Ph); 4.52 (dd, J = 12.5, 3.0 Hz, 1H, H-6^{aI}); 4.50 (d, J = 8.0 Hz, 1H, H-1^I); 4.47 (d, J = 10.5 Hz, 1H, CH_2Ph); 4.43 (d, J = 11.0 Hz, 1H, CH_2Ph); 4.39 (dddd, J = 13.0, 5.0, 1.5, 1.5 Hz, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 4.38-4.36 (m, 3H, CH_2Ph , H-6^{bI}); 4.30 (dd, J = 12.0, 5.0 Hz, 1H, H-6^{aII}); 4.25 (dd, J = 12.0, 4.5 Hz, 1H, H-6^{bII}); 4.23 (dd, J = 12.0, 3.0 Hz, 1H, H-6^{aIII}); 4.17 (dd, J = 12.0, 3.0 Hz, 1H, H-6^{bIII}); 4.13 (dddd, J = 13.0, 6.0, 1.5, 1.5 Hz, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 4.06 (t, J = 9.5 Hz, 1H, H-3^{III}); 3.96 (t, J = 9.0 Hz, 1H, H-3^{II}); 3.86 (t, J = 9.0 Hz, 1H, H-4^I); 3.84-3.79 (m, 1H, H-5^{III}); 3.78 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{O-Ph}$); 3.77 (t, J = 8.5 Hz, 1H, H-4^{II}); 3.76 (dd, J = 9.0, 8.5 Hz, 1H, H-3^I); 3.62 (ddd, J = 9.0, 5.0, 3.0 Hz, 1H, H-5^I); 3.52 (dd, J = 8.5, 8.0 Hz, 1H, H-2^I); 3.45 (dd, J = 9.0, 3.5 Hz, 1H, H-2^{II}); 3.44 (t, J = 9.5 Hz, 1H, H-4^{III}); 3.43 (dd, J = 9.5, 3.5 Hz, 1H, H-2^{III}); 2.09 (s, 3H, OAc); 2.07 (s, 3H, OAc); 2.02 (s, 3H, OAc).

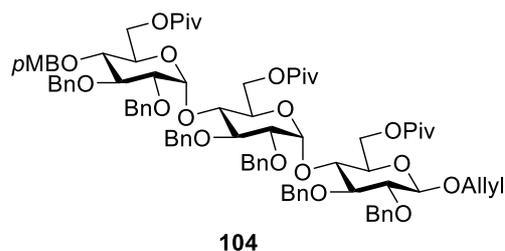
$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 90 MHz, HSQC, HMBC): δ = 171.0, 170.8 (C=O); 159.7 (PhOCH_3); 139.1, 139.0, 138.8, 138.5, 138.4, 138.0 (C_{arom}); 134.2 ($\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 130.2-126.7 (C_{arom}); 117.9 ($\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 114.2 (PhOCH_3); 102.6 (C-1^I); 98.1 (C-1^{III}); 97.5 (C-1^{II}); 84.4 (C-

3^I); 82.2 (C-2^I); 82.1 (C-3^{III}); 81.0 (C-3^{II}); 79.7 (C-2^{III}); 79.2 (C-2^{II}); 77.3 (C-4^{III}); 75.9 (CH₂Ph); 75.8 (C₄^I); 75.5 (C-4^{II}); 74.9, 74.4, 74.3, 73.7, 73.5 (CH₂Ph); 73.0 (C₅^I); 70.6 (CH₂-CH=CH₂); 70.1 (C-5^{III}); 69.7 (C-5^{II}); 63.9 (C-6^{II}); 63.8 (C-6^I); 63.3 (C-6^{III}); 55.6 (CH₃OPh) 21.3, 21.2, 21.1 (CH₃C=O).

IR: ν = 3088.31, 3063.53($\nu_{\text{sp}^2\text{-H}}$ or $\nu_{\text{sp}^2\text{-Harom}}$), 3030.29($\nu_{\text{sp}^2\text{-H}}$ or $\nu_{\text{sp}^2\text{-Harom}}$), 2909.63($\nu_{\text{sp}^3\text{-H}}$), 2870.71, 2250.63, 1740.31($\nu_{\text{C=O}}$ OAc), 1611.38, 1513.62, 1496.87, 1453.64, 1363.46, 1303.23, 1234.48, 1027.01, 909.36, 848.80, 831.76, 730.51, 696.74, 647.65.

ESI-HRMS: m/z calculated for C₇₇H₈₆NaO₂₀ [M+Na]⁺: 1353.5605; found: 1353.5628.

**Allyl *O*-[2,3-di-*O*-benzyl-4-*O*-(4-methoxybenzyl)-6-*O*-pivaloyl- α -D-glucopyranosyl]-
(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-pivaloyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2,3-di-*O*-benzyl-
6-*O*-pivaloyl- β -D-glucopyranoside (**104**)**



Pivaloyl chloride (123 μ L, 996 μ mol, 6.0 equiv), Et₃N (280 μ L, 1992 μ mol, 12.0 equiv) and DMAP (12 mg, 100 μ mol, 0.6 equiv) were added to a solution of product **99** (200 mg, 166 μ mol) in pyridine (1660 μ L, 0.1 M). After stirring overnight at room temperature, the solution was concentrated. The residue was dissolved in EtOAc (30 mL), and washed with 0.1 M aq. H₂SO₄ (20 mL), 10 % aq. CuSO₄ (20 mL), saturated aq. NaHCO₃ solution (20 mL) and water (20 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered, and concentrated. Flash chromatography (PE/EtOAc 7/3 to 1/1, v/v) of the residue gave **104** as white solid (208 mg, 143 μ mol, 86 %).

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz, H-H COSY, HSQC, HMBC): δ = 7.28-7.04 (m, 32H, H_{arom}); 6.83 (d, J = 8.5 Hz, 2H, PhOCH₃); 5.95 (dddd, J = 17.0, 10.5, 6.0, 5.0 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 5.44 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1^{III}); 5.40 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1^{II}); 5.32 (ddd, J = 17.0, 3.0, 1.5 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 5.22 (ddd, J = 10.5, 3.0, 1.5 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 4.92 (d, J = 11.0 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.91 (d, J = 12.0 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.88 (d, J = 11.0 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.81 (d, J = 11.0 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.79 (d, J = 12.0 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.78 (d,

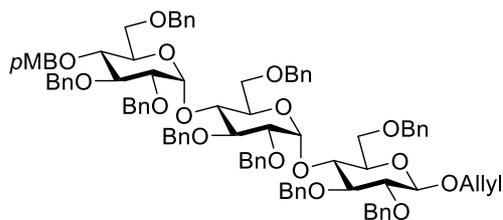
$J = 11.0$ Hz, 1H, $\underline{CH_2Ph}$); 4.74 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H, $\underline{CH_2Ph}$); 4.73 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H, $\underline{CH_2Ph}$); 4.66 (dd, $J = 12.0, 2.6$ Hz, 1H, H-6^{aI}); 4.62 (d, $J = 11.0$ Hz, 1H, $\underline{CH_2Ph}$); 4.61 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H, $\underline{CH_2Ph}$); 4.48 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H, H-1^I); 4.47 (dd, $J = 12.0, 3.0$ Hz, 1H, H-6^{aII}); 4.47-4.41 (m, 4H, $\underline{CH_2Ph}$); 4.38 (dddd, $J = 13.0, 5.0, 1.5, 1.5$ Hz, $\underline{CH_2-CH=CH_2}$); 4.31 (dd, $J = 12.0, 2.5$ Hz, 1H, H-6^{aIII}); 4.25 (dd, $J = 12.0, 2.5$ Hz, 1H, H-6^{aIII}); 4.31 (dd, $J = 12.0, 2.5$ Hz, 1H, H-6^{bIII}); 4.24 (dd, $J = 12.0, 3.0$ Hz, 1H, H-6^{bII}); 4.18 (dd, $J = 12.0, 6.0$ Hz, 1H, H-6^{bI}); 4.13 (dddd, $J = 13.0, 6.0, 1.5, 1.5$ Hz, $\underline{CH_2-CH=CH_2}$); 4.02-3.94 (m, 3H, H-3^{II}, H-3^{III}, H-5^{II}); 3.87 (ddd, $J = 9.5, 3.0, 2.5$ Hz, 1H, H-5^{II}); 3.80 (t, $J = 8.5$ Hz, 2H, H-4^I, H-4^{II}); 3.78 (s, 3H, $\underline{CH_3O-Ph}$); 3.75 (t, $J = 8.5$ Hz, 1H, H-3^I); 3.64 (m, 1H, H-5^I); 3.49 (t, $J = 9.5$ Hz, 1H, H-4^{III}); 3.48 (dd, $J = 8.5, 7.5$ Hz, 1H, H-2^I); 3.41 (dd, $J = 9.5, 3.5$ Hz, 1H, H-2^{III}); 3.40 (dd, $J = 9.5, 3.5$ Hz, 1H, H-2^{II}); 1.22 (s, 9H, $\underline{tBuC=O}$); 1.20 (18H, $\underline{tBuC=O}$).

¹³C NMR (CDCl₃, 90 MHz, HSQC, HMBC): $\delta = 178.3, 178.1, 178.0$ (C=O); 159.7 ($\underline{PhOCH_3}$); 139.1, 139.0, 138.8, 138.6, 138.4, 138.0 (C_{arom}); 134.2 (CH₂-CH=CH₂); 130.4-126.8 (C_{arom}); 117.9 (CH₂-CH=CH₂); 114.2 ($\underline{PhOCH_3}$); 102.5 (C-1^I); 97.7 (C-1^{III}); 96.8 (C-1^{II}); 84.5 (C-3^I); 82.3 (C-2^I); 81.9 (C-3^{III}); 80.8 (C-3^{II}); 80.0 (C-2^{III}); 79.3 (C-2^{II}); 77.9 (C-4^{III}); 76.0 ($\underline{CH_2Ph}$); 75.5 (C-4^I); 75.3, 75.1, 74.3, 73.6, 73.4 ($\underline{CH_2Ph}$); 73.3 (C-5^I); 70.4 ($\underline{CH_2-CH=CH_2}$); 70.4 (C-5^{III}); 70.2 (C-5^{II}); 63.8 (C-6^I); 63.5 (C-6^{II}); 63.0 (C-6^{III}); 55.6 ($\underline{CH_3OPh}$) 39.2, 39.1 ($\underline{(CH_3)_3C}$); 27.6 ($\underline{(CH_3)_3C}$).

IR: $\nu = 3088.68, 3064.36$ (ν_{sp^2-H} or $\nu_{sp^2-Harom}$), 3030.99(ν_{sp^2-H} or $\nu_{sp^2-Harom}$), 2971.01(ν_{sp^3-H}), 2932.31, 2908.04, 2871.52, 2337.94, 2248.08($\nu_{C=C}$ OAll), 1729.32($\nu_{C=O}$ OPiv), 1612.20, 1514.11, 1496.98, 1454.19, 1396.67, 1362.43, 1282.51, 1249.35, 1208.65, 1150.66, 1090.02, 1029.15, 1006.45, 908.34, 849.78, 821.96, 728.95, 696.63, 647.53.

ESI-HRMS: m/z calculated for C₈₆H₁₀₄NaO₂₀ [M+Na]⁺: 1479.7013; found: 1479.7078.

Allyl *O*-[2,3,6-tri-*O*-benzyl-4-*O*-(4-methoxybenzyl)- α -D-glucopyranosyl]-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3,6-tri-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-tri-*O*-benzyl- β -D-glucopyranoside (105)



105

NaH (60 % in oil, 73 mg, 1826 μmol , 11 equiv) and BnBr (200 μL , 1660 μmol , 10 equiv) were added to a solution of **99** (200 mg, 166 μmol) in DMF (1660 μL , 0.1 M) at 0 °C. The solution was warmed to room temperature. After 3 h stirring, the mixture was diluted with EtOAc (50 mL), washed with water (50 mL) and concentrated. Flash chromatography (PE/EtOAc 7/3 to 3/2, v/v) of the residue gave **105** as white solid (240 mg, 163 μmol , 98 %).

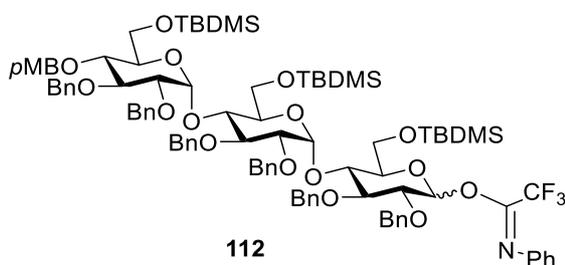
^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz, H-H COSY, HSQC, HMBC): δ = 7.32-7.04 (m, 45H, H_{arom}); 7.01 (d, J = 8.5 Hz, 2H, PhOCH_3); 6.78 (d, J = 8.5 Hz, 2H, PhOCH_3); 5.96 (dddd, J = 17.0, 10.5, 6.0, 5.0 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 5.64 (d, J = 3.6 Hz, 1H, H-1^{III}); 5.57 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1^{II}); 5.34 (ddd, J = 17.0, 3.0, 1.5 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 5.20 (ddd, J = 10.5, 3.0, 1.5 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 4.94 (d, J = 12.0 Hz, 1H, CH_2Ph); 4.93 (d, J = 11.0 Hz, 1H, CH_2Ph); 4.89 (d, J = 11.5 Hz, 1H, CH_2Ph); 4.84 (d, J = 11.5 Hz, 1H, CH_2Ph); 4.81 (d, J = 11.0 Hz, 1H, CH_2Ph); 4.78 (d, J = 11.5 Hz, 1H, CH_2Ph); 4.76 (d, J = 11.0 Hz, 1H, CH_2Ph); 4.71 (d, J = 11.0 Hz, 1H, CH_2Ph); 4.63 (d, J = 11.0 Hz, 1H, CH_2Ph); 4.56 (d, J = 12.0 Hz, 1H, CH_2Ph); 4.54 (d, J = 11.5 Hz, 1H, CH_2Ph); 4.51 (d, J = 11.5 Hz, 2H, CH_2Ph); 4.50 (d, J = 7.5 Hz, 1H, H-1^I); 4.48-4.35 (m, 7H, CH_2Ph , $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 4.28 (d, J = 12.5 Hz, 1H, CH_2Ph); 4.14 (dddd, J = 13.0, 6.0, 1.5, 1.5 Hz, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 4.04 (t, J = 8.5 Hz, 2H, H-4^I, H-4^{II}); 4.00 (t, J = 8.5 Hz, 1H, H-3^{II}); 3.94-3.86 (m, 2H, H-3^{III}, H-5^{II}); 3.84 (dd, J = 12.0, 4.5 Hz, 1H, H-6^{aI}); 3.84-3.76 (m, 2H, H-6^{bI}, H-3^I); 3.76 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{O-Ph}$); 3.75-3.70 (m, 2H, H-5^{III}, H-6^{aII}); 3.64 (dd, J = 9.5, 9.0 Hz, 1H, H-4^{III}); 3.58-3.51 (m, 3H, H-2^I, H-6^{aIII}, H-6^{bII}); 3.51 (dd, J = 8.5, 3.5 Hz, 1H, H-2^{II}); 3.48 (dd, J = 9.5, 3.5 Hz, 1H, H-2^{III}); 3.40 (dd, J = 11.0, 2.5 Hz, 1H, H-6^{bIII}).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 90 MHz, HSQC, HMBC): δ = 159.5 (PhOCH_3); 139.2, 138.7, 138.5, 138.3, 138.1 (C_{arom}); 134.4 ($\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 131.0-126.9 (C_{arom}); 117.6 ($\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 114.0 (PhOCH_3); 102.9 (C-1^I); 97.2 (C-1^{III}); 96.7 (C-1^{II}); 85.0 (C-3^I); 82.4 (C-2^I); 82.4 (C-3^{III}); 81.9 (C-3^{II}); 79.9 (C-2^{III}); 79.7 (C-2^{II}); 77.6 (C-4^{III}); 75.7 (CH_2Ph); 75.0 (C-5^I); 75.0, 74.9, 74.3, 74.2, 73.8 (CH_2Ph); 73.7 (C-4^I); 73.6, 73.3 (CH_2Ph); 73.3 (C-4^{II}); 71.3 (C-5^{III}); 71.2 (C-5^{II}); 70.5 ($\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 69.3 (C-6^I); 69.2 (C-6^{II}); 68.5 (C-6^{III}); 55.6 (CH_3OPh).

IR: $\nu = 3088.64, 3064.53(\nu_{\text{sp}2\text{-H}} \text{ or } \nu_{\text{sp}2\text{-Harom}}), 3030.91(\nu_{\text{sp}2\text{-H}} \text{ or } \nu_{\text{sp}2\text{-Harom}}), 2908.26(\nu_{\text{sp}3\text{-H}}), 2866.81, 2337.96, 2245.77(\nu_{\text{C}=\text{C}} \text{ OAll}), 1611.63, 1586.13, 1513.77, 1496.59, 1453.44, 1397.29, 1360.76, 1303.53, 1248.85, 1208.43, 1090.35, 1037.60, 1027.47, 906.56, 851.02, 822.09, 726.83, 969.37, 647.56.$

ESI-HRMS: m/z calculated for $\text{C}_{92}\text{H}_{98}\text{NaO}_{17}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 1497.6696; found: 1497.6718.

***O*-[2,3-di-*O*-Benzyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-4-*O*-(4-methoxybenzyl)- α -D-glucopyranosyl]-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- α,β -D-glucopyranosyl *N*-phenyl trifluoroacetimidate (**112**)**



Compound **100** (225 mg, 145 μmol) was dissolved in THF (1940 μL , 0.075 M). This solution was degassed under vacuum and (1,5-cyclooctadiene)bis(methyldiphenylphosphane)iridium(I) hexafluorophosphate catalyst was added (12 mg, 15 μmol , 10 mol %), followed by further degassing of the mixture. The suspension was stirred for 15 min at 0 $^{\circ}\text{C}$. The catalyst was then activated with hydrogen, and the solution became nearly colorless. The reaction mixture was degassed and stirred for 3 h at room temperature under atmosphere of argon.

The solvent was then evaporated and the residue was dissolved in acetone/water (10/1, v/v, 1450 μL , 0.1 M), then HgO (41 mg, 189 μmol , 1.3 equiv) and HgCl₂ (47 mg, 174 μmol , 1.2 equiv) were added. After stirring for 30 min at room temperature, the mixture was diluted with Et₂O (30 mL), washed with 10 % aq. KI (15 mL \times 2), saturated aq. Na₂SO₃ (15 mL \times 2) and water (15 mL \times 2). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered, and concentrated. The residue was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂/Et₂O 100/0 to 98/3, v/v) to yield **106** (164 mg, 109 μmol , 75 %).

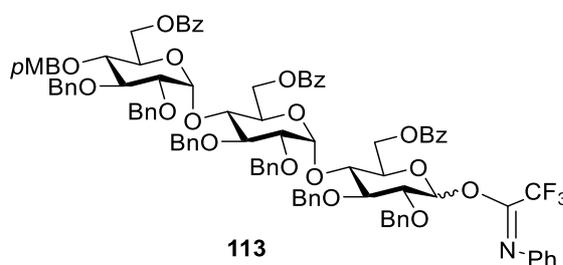
Compound **106** (164 mg, 109 μmol) was then dissolved in acetone (725 μL , 0.15 M). Then K₂CO₃ (45 mg, 327 μmol , 3.0 equiv) and *N*-phenyl trifluoroacetimidoyl chloride (45 mg,

218 μmol , 2.0 equiv) were added to this solution at room temperature. After overnight stirring, the mixture was concentrated. A flash chromatography (PE/EtOAc 19/1 to 7/3 with 1 % Et_3N , v/v) of the residue gave **112** as white solid (170 mg, 101 μmol , 93 %, 70 % for three steps).

$^1\text{H NMR}$ (250 MHz, CDCl_3): δ = 7.88 (br.s, 0.6H, H-1 $^{\text{I}}\alpha$); 7.65-7.04 (m, 36.2H, H_{arom} , PhN); 6.84 (d, J = 8.5 Hz, 2H, PhOCH_3) 6.74 (d, J = 8.0 Hz, 0.8H, PhN); 6.50 (br.s, 0.4H, H-1 $^{\text{I}}\beta$); 5.62 (d, J = 3.5 Hz, 0.6H, H-1 $^{\text{III}}\alpha$); 5.61 (d, J = 3.5 Hz, 0.4H, H-1 $^{\text{III}}\beta$); 5.56 (d, J = 3.5 Hz, 0.6H, H-1 $^{\text{II}}\alpha$); 5.48 (d, J = 3.5 Hz, 0.4H, H-1 $^{\text{III}}\beta$); 5.05-4.61 (m, 9H, CH_2Ph); 5.06-4.33 (m, 14H, CH_2Ph); 4.27-3.54 (m, 19H, H-2 $^{\text{I}}$, H-2 $^{\text{II}}$, H-3 $^{\text{I}}$, H-3 $^{\text{II}}$, H-3 $^{\text{III}}$, H-4 $^{\text{I}}$, H-4 $^{\text{II}}$, H-5 $^{\text{I}}$, H-5 $^{\text{II}}$, H-5 $^{\text{III}}$, H-6 $^{\text{I}}$, H-6 $^{\text{II}}$, H-6 $^{\text{III}}$, $\text{CH}_3\text{O-Ph}$); 3.44 (d, J = 11.0, 3.5 Hz, 1H, H-6 $^{\text{III}}$); 3.39 (d, J = 11.0, 3.5 Hz, 1H, H-6 $^{\text{III}}$).

ESI-HRMS: m/z calculated for $\text{C}_{94}\text{H}_{122}\text{F}_3\text{NNaO}_{17}\text{Si}_3$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 1700.7865; found: 1700.7806.

***O*-[6-*O*-Benzoyl-2,3-di-*O*-benzyl-4-*O*-(4-methoxybenzyl)- α -D-glucopyranosyl]-(1 \rightarrow 4)-*O*-(6-*O*-benzoyl-2,3-di-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-6-*O*-benzoyl-2,3-di-*O*-benzyl- α,β -D-glucopyranosyl *N*-phenyl trifluoroacetimidate (**113**)**



Compound **101** (231 mg, 152 μmol) was dissolved in THF (2027 μL , 0.075 M). This solution was degassed under vacuum and (1,5-cyclooctadiene)bis(methyldiphenylphosphane)iridium(I) hexafluorophosphate catalyst was added (12 mg, 15 μmol , 10 mol %), followed by further degassing of the mixture. The suspension was stirred for 15 min at 0 $^{\circ}\text{C}$. The catalyst was then activated with hydrogen, and the solution became nearly colorless. The reaction mixture was degassed and stirred for 3 h at room temperature under atmosphere of argon.

The solvent was then evaporated and the residue was dissolved in acetone/water (10/1, v/v, 1520 μL , 0.1 M), then HgO (43 mg, 198 μmol , 1.3 equiv) and HgCl_2 (49 mg, 182 μmol ,

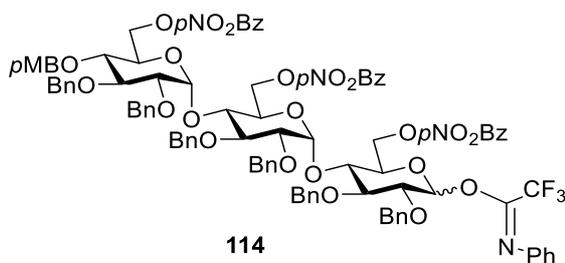
1.2 equiv) were added. After stirring for 30 min at room temperature, the mixture was diluted with Et₂O (30 mL), washed with 10 % aq. KI (15 mL × 2), saturated aq. Na₂SO₃ (15 mL × 2) and water (15 mL × 2). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered, and concentrated. The residue was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂/Et₂O 100/0 to 98/3, v/v) to yield crude **107**.

Compound **107** was then dissolved in acetone (1013 μL, 0.15 M). Then K₂CO₃ (63 mg, 456 μmol, 3.0 equiv) and *N*-phenyl trifluoroacetimidoyl chloride (63 mg, 304 μmol, 2.0 equiv) were added to this solution at room temperature. After overnight stirring, the mixture was concentrated. A flash chromatography (PE/EtOAc 7/3 to 3/2 with 1 % Et₃N, v/v) of the residue gave **113** as a α/β (3/2) mixture (208 mg, 12.6 μmol, 83 % for three steps).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 8.11-7.97 (m, 4H, *Ph*C=O); 7.94 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H, *Ph*C=O); 7.58-7.04 (m, 44H, H_{arom}); 6.74 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, *Ph*OCH₃); 6.74 (d, *J* = 8.5 Hz, 0.8H, *Ph*N); 6.66 (d, *J* = 8.0 Hz, 1.2H, *Ph*N); 6.42 (br.s, 0.6H, H-1^Iα); 5.77 (br.s, 0.4H, H-1^Iβ); 5.55 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H, H-1^{III}α, H-1^{III}β); 5.52 (d, *J* = 3.5 Hz, 0.6H, H-1^{II}α); 5.40 (d, *J* = 3.5 Hz, 0.4H, H-1^{III}β); 5.03-4.71 (m, 8H, *CH*₂Ph); 4.70-4.19 (m, 12H, *CH*₂Ph, H-6^a^I, H-6^b^I, H-6^a^{II}, H-6^b^{II}, H-6^a^{III}, H-6^b^{III}); 4.18-3.70 (m, 9H, H-2^I, H-3^I, H-3^{II}, H-3^{III}, H-4^I, H-4^{II}, H-5^I, H-5^{II}, H-5^{III}); 3.69 (s, 3H, *CH*₃O-Ph); 3.60 (t, *J* = 9.5 Hz, 1H, H-4^{III}); 3.50 (dd, *J* = 9.5, 3.5 Hz, 1H, H-2^{II}); 3.48 (dd, *J* = 9.5, 3.5 Hz, 1H, H-2^{III}).

ESI-HRMS: *m/z* calculated for C₉₇H₉₂F₃NNaO₂₀ [M+Na]⁺: 1670.6057; found: 1670.6051.

***O*-[2,3-di-*O*-Benzyl-4-*O*-(4-methoxybenzyl)-6-*O*-(4-nitrobenzoyl)-α-D-glucopyranosyl-1]-(1→4)-*O*-[2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-(4-nitrobenzoyl)-α-D-glucopyranosyl]-(1→4)-2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-(4-nitrobenzoyl)-α,β-D-glucopyranosyl *N*-phenyl trifluoroacetimidate (114)**



Compound **102** (138 mg, 84 μmol) was dissolved in THF (1680 μL, 0.05 M). This solution was degassed under vacuum and (1,5-

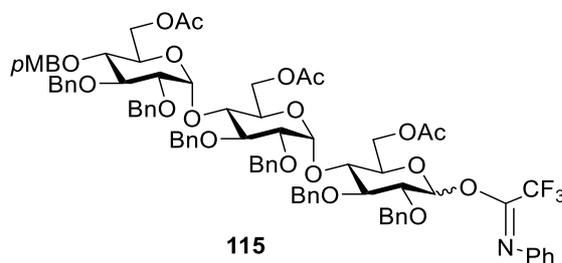
cyclooctadiene)bis(methyldiphenylphosphane)iridium(I) hexafluorophosphate catalyst was added (7 mg, 8 μ mol, 10 mol %), followed by further degassing of the mixture. The suspension was stirred for 15 min at 0 °C. The catalyst was then activated with hydrogen, and the solution became nearly colorless. The reaction mixture was degassed and stirred for 3 h at room temperature under atmosphere of argon.

The solvent was then evaporated and the residue was dissolved in acetone/water (10/1, v/v, 1680 μ L, 0.05 M), then HgO (24 mg, 109 μ mol, 1.3 equiv) and HgCl₂ (27 mg, 101 μ mol, 1.2 equiv) were added. After stirring for 30 min at room temperature, the mixture was diluted with Et₂O (30 mL), washed with 10 % aq. KI (15 mL \times 2), saturated aq. Na₂SO₃ (15 mL \times 2) and water (15 mL \times 2). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered, and concentrated. The residue was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂/Et₂O 100/0 to 98/3, v/v) to yield crude **108**.

Compound **108** was then dissolved in acetone (840 μ L, 0.1 M). Then K₂CO₃ (35 mg, 252 μ mol, 3.0 equiv) and *N*-phenyl trifluoroacetimidoyl chloride (35 mg, 168 μ mol, 2.0 equiv) were added to this solution at room temperature. After overnight stirring, the mixture was concentrated. A flash chromatography (PE/EtOAc 7/3 to 3/2 with 1 % Et₃N, v/v) of the residue gave **114** as a α/β (1/1) mixture (118 mg, 66 μ mol, 79 % for three steps).

ESI-HRMS: m/z calculated for C₉₇H₈₉F₃N₄NaO₂₆ [M+Na]⁺: 1805.5615; found: 1805.5587.

***O*-[6-*O*-Acetyl-2,3-di-*O*-benzyl-4-*O*-(4-methoxybenzyl)- α -D-glucopyranosyl]-(1 \rightarrow 4)-*O*-(6-*O*-acetyl-2,3-di-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-6-*O*-acetyl-2,3-di-*O*-benzyl- α,β -D-glucopyranosyl *N*-phenyl trifluoroacetimidate (**115**)**



Compound **103** (160 mg, 120 μ mol) was dissolved in THF (1600 μ L, 0.075 M). This solution was degassed under vacuum and (1,5-cyclooctadiene)bis(methyldiphenylphosphane)iridium(I) hexafluorophosphate catalyst was added (10 mg, 12 μ mol, 10 mol %), followed by further degassing of the mixture. The

suspension was stirred for 15 min at 0 °C. The catalyst was then activated with hydrogen, and the solution became nearly colorless. The reaction mixture was degassed and stirred for 3 h at room temperature under atmosphere of argon.

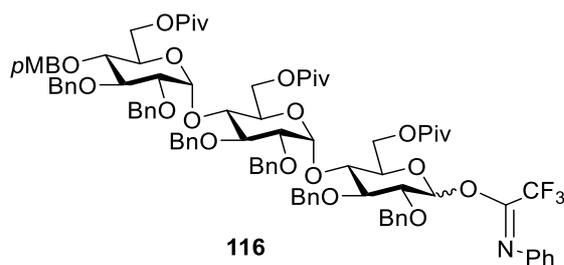
The solvent was then evaporated and the residue was dissolved in acetone/water (10/1, v/v, 1200 μ L, 0.1 M), then HgO (34 mg, 156 μ mol, 1.3 equiv) and HgCl₂ (39 mg, 144 μ mol, 1.2 equiv) were added. After stirring for 30 min at room temperature, the mixture was diluted with Et₂O (30 mL), washed with 10 % aq. KI (15 mL \times 2), saturated aq. Na₂SO₃ (15 mL \times 2) and water (15 mL \times 2). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered, and concentrated. The residue was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂/Et₂O 100/0 to 98/3, v/v) to yield crude **109**.

Compound **109** was then dissolved in acetone (800 μ L, 0.15 M). Then K₂CO₃ (50 mg, 360 μ mol, 3.0 equiv) and *N*-phenyl trifluoroacetimidoyl chloride (50 mg, 240 μ mol, 2.0 equiv) were added to this solution at room temperature. After overnight stirring, the mixture was concentrated. A flash chromatography (PE/EtOAc 7/3 to 1/1 with 1 % Et₃N, v/v) of the residue gave **115** as a α/β (3/2) mixture (142 mg, 97 μ mol, 81 % for three steps).

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃): δ = 7.36-7.03 (m, 35H, H_{arom}); 6.83 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, *Ph*OCH₃); 6.83 (d, *J* = 8.5 Hz, 0.8H, *Ph*N); 6.74 (d, *J* = 7.5 Hz, 1.2H, *Ph*N); 6.44 (br.s, 0.6H, H-1^I α); 5.72 (br.s, 0.4H, H-1^I β); 5.47 (d, *J* = 3.5 Hz, 0.6H, H-1^{III} α); 5.46 (d, *J* = 3.0 Hz, 0.4H, H-1^{III} β); 5.44 (d, *J* = 3.5 Hz, 0.6H, H-1^{II} α); 5.27 (d, *J* = 3.5 Hz, 0.4H, H-1^{II} β); 5.06-3.69 (m, 32H, *CH*₂Ph, H-2^I, H-3^I, H-3^{II}, H-3^{III}, H-4^I, H-4^{II}, H-5^I, H-5^{II}, H-5^{III}, H-6^a^I, H-6^b^I, H-6^a^{II}, H-6^b^{II}, H-6^a^{III}, H-6^b^{III}, *CH*₃O-Ph); 3.55-3.36 (m, 3H, H-4^{III}, H-2^{II}, H-2^{III}); 2.10 (s, 1.8H, OAc); 2.07 (s, 4.2H, OAc); 2.02 (s, 3H, OAc).

ESI-HRMS: *m/z* calculated for C₈₂H₈₆F₃NNaO₂₀ [M+Na]⁺: 1484.5587; found: 1484.5380.

***O*-[2,3-di-*O*-Benzyl-4-*O*-(4-methoxybenzyl)-6-*O*-pivaloyl- α -D-glucopyranosyl]-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-pivaloyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-pivaloyl- α,β -D-glucopyranosyl *N*-phenyl trifluoroacetimidate (116)**



Compound **104** (104 mg, 71 μmol) was dissolved in THF (1420 μL , 0.05 M). This solution was degassed under vacuum and (1,5-cyclooctadiene)bis(methyldiphenylphosphane)iridium(I) hexafluorophosphate catalyst was added (6 mg, 7 μmol , 10 mol %), followed by further degassing of the mixture. The suspension was stirred for 15 min at 0 °C. The catalyst was then activated with hydrogen, and the solution became nearly colorless. The reaction mixture was degassed and stirred for 3 h at room temperature under atmosphere of argon.

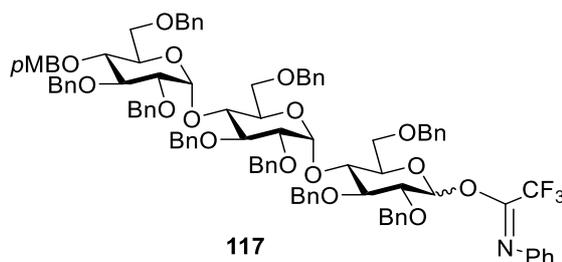
The solvent was then evaporated and the residue was dissolved in acetone/water (10/1, v/v, 1420 μL , 0.05 M), then HgO (20 mg, 92 μmol , 1.3 equiv) and HgCl₂ (23 mg, 85 μmol , 1.2 equiv) were added. After stirring for 30 min at room temperature, the mixture was diluted with Et₂O (30 mL), washed with 10 % aq. KI (15 mL \times 2), saturated aq. Na₂SO₃ (15 mL \times 2) and water (15 mL \times 2). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered, and concentrated. The residue was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂/Et₂O 100/0 to 98/3, v/v) to yield crude **110**.

Compound **110** was then dissolved in acetone (947 μL , 0.075 M). Then K₂CO₃ (30 mg, 213 μmol , 3.0 equiv) and *N*-phenyl trifluoroacetimidoyl chloride (30 mg, 142 μmol , 2.0 equiv) were added to this solution at room temperature. After overnight stirring, the mixture was concentrated. A flash chromatography (PE/EtOAc 7/3 to 1/1 with 1 % Et₃N, v/v) of the residue gave **116** as a α/β (3/2) mixture (87 mg, 55 μmol , 78 % for three steps).

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃): δ = 7.36-7.03 (m, 35H, H_{arom}); 6.84 (d, J = 8.5 Hz, 2H, *Ph*OCH₃); 6.83 (d, J = 8.5 Hz, 0.8H, *Ph*N); 6.74 (d, J = 8.0 Hz, 1.2H, *Ph*N); 6.49 (br.s, 0.6H, H-1^I α); 5.74 (br.s, 0.4H, H-1^I β); 5.49 (d, J = 3.5 Hz, 0.6H, H-1^{III} α); 5.44 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1^{III} β , H-1^{II} α); 5.30 (d, J = 3.5 Hz, 0.4H, H-1^{III} β); 5.02-4.55 (m, 11H, *CH*₂Ph, H-6^a_I); 4.53-4.37 (m, 5H, *CH*₂Ph, H-6^b_I); 4.37-3.63 (m, 16H, H-2^I, H-3^I, H-3^{II}, H-3^{III}, H-4^I, H-4^{II}, H-5^I, H-5^{II}, H-5^{III}, H-6^a_I, H-6^b_I, H-6^a_{II}, H-6^b_{II}, *CH*₃O-Ph); 3.50 (t, J = 9.5 Hz, 1H, H-4^{III}); 3.47-3.35 (m, 2H, H-2^{II}, H-2^{III}); 1.22-1.14 (m, 27H, *tBu*C=O).

ESI-HRMS: m/z calculated for $C_{91}H_{104}F_3NNaO_{20}$ $[M+Na]^+$: 1610.6996; found: 1610.6991.

***O*-[2,3,6-tri-*O*-Benzyl-4-*O*-(4-methoxybenzyl)- α -D-glucopyranosyl]-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3,6-tri-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-tri-*O*-benzyl- α,β -D-glucopyranosyl *N*-phenyl trifluoroacetimidate (**117**)**



Compound **105** (116 mg, 78 μ mol) was dissolved in THF (1560 μ L, 0.05 M). This solution was degassed under vacuum and (1,5-cyclooctadiene)bis(methyldiphenylphosphane)iridium(I) hexafluorophosphate catalyst was added (6 mg, 8 μ mol, 10 mol %), followed by further degassing of the mixture. The suspension was stirred for 15 min at 0 $^{\circ}$ C. The catalyst was then activated with hydrogen, and the solution became nearly colorless. The reaction mixture was degassed and stirred for 3 h at room temperature under atmosphere of argon.

The solvent was then evaporated and the residue was dissolved in acetone/water (10/1, v/v, 1560 μ L, 0.05 M), then HgO (22 mg, 101 μ mol, 1.3 equiv) and HgCl₂ (25 mg, 94 μ mol, 1.2 equiv) were added. After stirring for 30 min at room temperature, the mixture was diluted with Et₂O (30 mL), washed with 10 % aq. KI (15 mL \times 2), saturated aq. Na₂SO₃ (15 mL \times 2) and water (15 mL \times 2). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered, and concentrated. The residue was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂/Et₂O 100/0 to 98/3, v/v) to yield crude **111**.

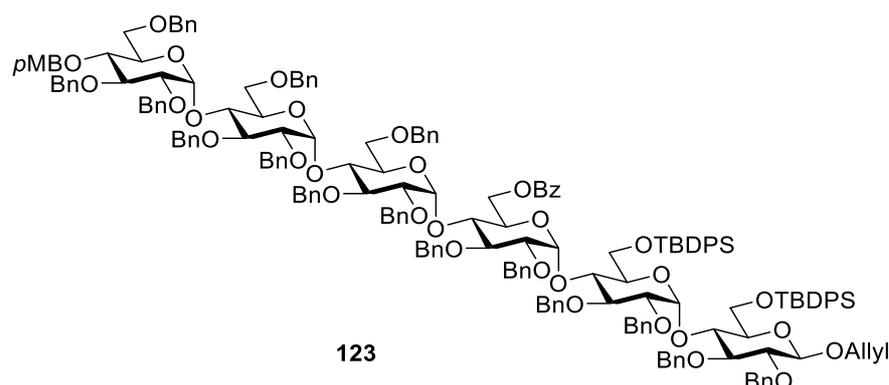
Compound **111** was then dissolved in acetone (1040 μ L, 0.075 M). Then K₂CO₃ (33 mg, 234 μ mol, 3.0 equiv) and *N*-phenyl trifluoroacetimidoyl chloride (33 mg, 156 μ mol, 2.0 equiv) were added to this solution at room temperature. After overnight stirring, the mixture was concentrated. A flash chromatography (PE/EtOAc 7/3 to 3/2 with 1 % Et₃N, v/v) of the residue gave **117** as a α/β (1/1) mixture (92 mg, 57 μ mol, 73 % for three steps).

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃): δ = 7.33-7.03 (m, 48H, H_{arom}, H-1^{III} α); 6.99 (d, J = 8.5 Hz, 2H, *Ph*OCH₃); 6.78 (d, J = 8.5 Hz, 2H, *Ph*OCH₃); 6.76 (d, J = 8.0 Hz, 0.8H, *Ph*N); 6.71 (d,

$J = 7.5$ Hz, 1.2H, \underline{PhN}); 6.51 (br.s, 0.4H, H-1^I β); 5.69 (d, $J = 3.5$ Hz, 0.6H, H-1^{III} α); 5.64 (d, $J = 3.0$ Hz, 0.4H, H-1^{III} β); 5.59 (d, $J = 3.5$ Hz, 0.6H, H-1^{II} α); 5.46 (d, $J = 3.5$ Hz, 0.4H, H-1^{III} β); 5.05-4.61 (m, 9H, $\underline{CH_2Ph}$); 5.05-4.61 (m, 9H, $\underline{CH_2Ph}$); 4.60-4.39 (m, 9H, $\underline{CH_2Ph}$); 4.35 (d, $J = 11.0$ Hz, 1H, $\underline{CH_2Ph}$); 4.27 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H, $\underline{CH_2Ph}$); 4.20-3.44 (m, 20H, H-2^I, H-2^{II}, H-2^{III}, H-3^I, H-3^{II}, H-3^{III}, H-4^I, H-4^{II}, H-4^{III}, H-5^I, H-5^{II}, H-5^{III}, H-6^a^I, H-6^b^I, H-6^a^{II}, H-6^b^{II}, H-6^a^{III}, H-6^b^{III}, $\underline{CH_3O-Ph}$); 3.40 (br. d, $J = 11.0$ Hz, 1H, H-6^b^{III}).

ESI-HRMS: m/z calculated for $C_{97}H_{98}F_3NNaO_{17}$ [$M+Na$]⁺: 1628.6679; found: 1628.6434.

Allyl *O*-[2,3,6-tri-*O*-benzyl-4-*O*-(4-methoxybenzyl)- α -D-glucopyranosyl]-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3,6-tri-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3,6-tri-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(6-*O*-benzoyl-2,3-di-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- β -D-glucopyranoside (123)



MS 4 \AA (34 mg) was added to a solution of acceptor **93** (20 mg, 12.0 μ mol) and donor **117** (25 mg, 15.6 μ mol, 1.3 equiv) in Et₂O (216 μ L, 0.05 M) at room temperature. After 15 min stirring, the mixture was cooled to -78 $^{\circ}$ C and a solution of TMSOTf in Et₂O (0.05 M, 24 μ L, 1.2 μ mol, 10 mol %) was added. After stirring overnight at -40 $^{\circ}$ C, the reaction was quenched using a solution of Et₃N in CH₂Cl₂ (0.1 M, 200 μ L, 20 μ mol, 1.7 equiv) and concentrated. The residue was purified by gel-filtration chromatography (Sephadex LH-20), eluting with CH₂Cl₂/MeOH (1/1, v/v), and the fractions containing the highest molecular weight materials were pooled and concentrated. Flash chromatography (PE/CH₂Cl₂/EtOAc 70/30/6 to 70/30/15, v/v) of the residue gave **134** as a α/β (17/3) mixture of anomers (20 mg, 6.4 μ mol, 53 %). A further purification by flash chromatography (PE/CH₂Cl₂/EtOAc 70/30/5 to 70/30/10, v/v) afforded the pure α anomer

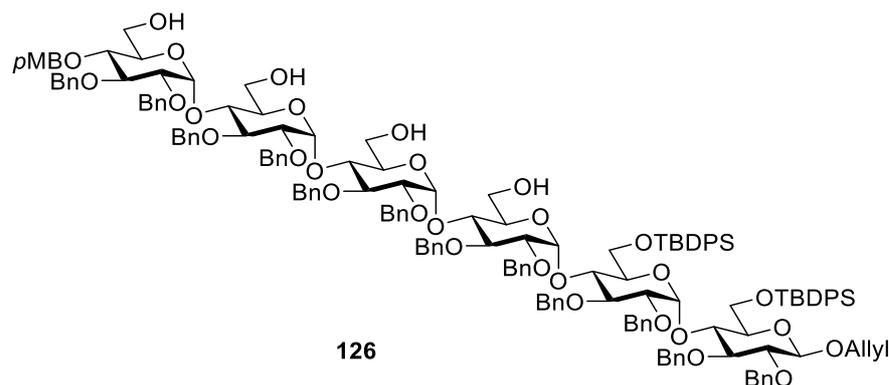
(15 mg, 4.9 μ mol, 40 %).

123 α :

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 7.95 (d, J = 8.0 Hz, 2H, $\text{PhC}=\text{O}$); 7.68 (d, J = 7.0 Hz, 4H, H_{arom}); 7.56 (d, J = 7.5 Hz, 4H, H_{arom}); 7.44-6.90 (m, 92H, H_{arom}); 6.78 (d, J = 8.5 Hz, 2H, PhOCH_3); 5.97 (dddd, J = 17.0, 10.5, 6.0, 5.0 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 5.73 (d, J = 3.5 Hz, 2H, H-1^{III}, H-1^{II}); 5.60 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1^{VI}); 5.52 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1^V); 5.44 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1^{IV}); 5.33 (ddd, J = 17.0, 3.0, 1.5 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 5.21 (ddd, J = 10.5, 3.0, 1.5 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 4.98 (d, J = 11.0 Hz, 1H, CH_2Ph); 4.96 (d, J = 11.5 Hz, 1H, CH_2Ph); 4.92 (d, J = 12.0 Hz, 1H, CH_2Ph); 4.89 (d, J = 10.5 Hz, 1H, CH_2Ph); 4.86 (d, J = 12.0 Hz, 1H, CH_2Ph); 4.84 (d, J = 11.0 Hz, 2H, CH_2Ph); 4.78 (d, J = 12.5 Hz, 1H, CH_2Ph); 4.76 (d, J = 10.5 Hz, 1H, CH_2Ph); 4.74 (d, J = 12.5 Hz, 1H, CH_2Ph); 4.71 (d, J = 11.5 Hz, 1H, CH_2Ph); 4.70 (d, J = 11.0 Hz, 2H, CH_2Ph); 4.69 (d, J = 11.5 Hz, 2H, CH_2Ph); 4.53 (d, J = 11.5 Hz, 1H, CH_2Ph); 4.50 (d, J = 11.5 Hz, 1H, CH_2Ph); 4.50 (d, J = 12.5 Hz, 1H, CH_2Ph); 4.48 (d, J = 7.5 Hz, 1H, H-1^I); 4.45 (d, J = 12.5 Hz, 1H, CH_2Ph); 4.42-4.30 (m, 7H, CH_2Ph , $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 4.25 (dd, J = 11.5, 3.5 Hz, 1H, H-6^a^{III}); 4.21 (d, J = 12.0 Hz, 2H, CH_2Ph); 4.16-3.59 (m, 28H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$, H-6^a^V, H-6^b^V, H-6^a^{IV}, H-6^b^{IV}, H-6^b^{III}, H-6^a^{II}, H-6^b^{II}, H-6^a^I, H-6^b^I, H-5^{VI}, H-5^V, H-5^{IV}, H-5^{III}, H-5^{II}, H-4^{VI}, H-4^V, H-4^{III}, H-4^{II}, H-4^I, H-3^V, H-3^{IV}, H-3^{III}, H-3^{II}, H-3^I, $\text{CH}_3\text{O-Ph}$); 3.58-3.39 (m, 9H, H-6^a^{VI}, H-5^I, H-4^{IV}, H-3^{VI}, H-2^{VI}, H-2^V, H-2^{VI}, H-2^{III}, H-2^{II}, H-2^I); 3.32 (dd, d, J = 11.5, 4.0 Hz, 1H, H-6^b^{VI}); 1.03 (s, 9H, $t\text{BuSi}$); 0.96 (s, 9H, $t\text{BuSi}$).

ESI-HRMS: m/z calculated for $\text{C}_{191}\text{H}_{204}\text{NaO}_{33}\text{Si}_2$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 3104.3716; found: 3104.3721.

Allyl *O*-[2,3-di-*O*-benzyl-4-*O*-(4-methoxybenzyl)- α -D-glucopyranosyl]-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- β -D-glucopyranoside (126)



MS 4Å (34 mg) was added to a solution of acceptor **93** (20 mg, 12.0 μmol) and donor **114** (28 mg, 15.6 μmol , 1.3 equiv) in Et₂O (216 μL , 0.05 M) at room temperature. After 15 min stirring, the mixture was cooled to -78 °C and then a solution of TMSOTf in Et₂O (0.05 M, 24 μL , 1.2 μmol , 10 mol %) was added. After stirring overnight at -40 °C, the reaction was quenched using a solution of Et₃N in CH₂Cl₂ (0.1 M, 200 μl , 20.0 μmol , 1.7 equiv) and concentrated. The residue was purified by gel-filtration chromatography (Sephadex LH-20), eluting with CH₂Cl₂/MeOH (1/1, v/v), and the fractions containing the highest molecular weight materials were pooled and concentrated to give compound **120** (27 mg, 8.3 μmol , 69 % crude).

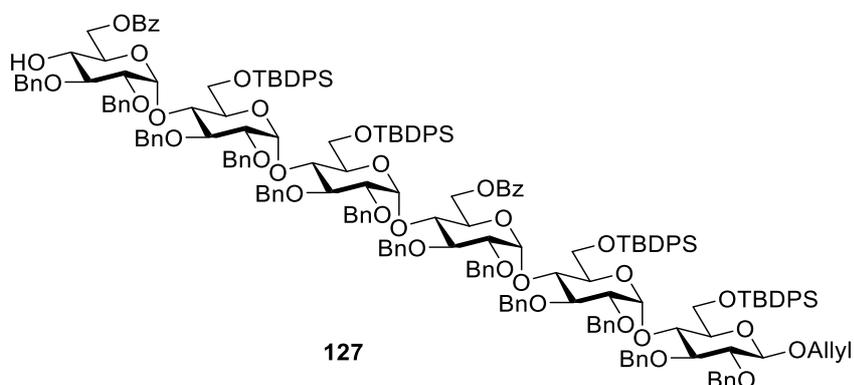
The crude product **120** (27 mg, 8.3 μmol) was then dissolved in THF (83 μL , 0.05 M) and a solution of MeONa in dry MeOH (0.1 M, 83 μL , 8.3 μmol , 1 equiv) was added. After stirring overnight, the reaction was neutralized with ion-exchange resin (Dowex 50WX8-400 H⁺), filtrated and concentrated. The residue was purified by flash chromatography on silica gel (CH₂Cl₂/MeOH 99/1 tp 94/6, v/v) to yield **126** as a white product (18 mg, 6.7 μmol , 56 %).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 7.70-7.63 (m, 4H, H_{arom}); 7.62-7.56 (m, 4H, H_{arom}); 7.45-6.94 (m, 92H, H_{arom}); 6.88 (d, J = 7.5 Hz, 2H, H_{arom}); 6.84 (d, J = 8.5 Hz, 2H, PhOCH₃); 5.97 (dddd, J = 17.0, 10.5, 6.0, 5.0 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 5.76 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1^{IV}); 5.63 (d, J = 4.0 Hz, 1H, H-1^{III}); 5.62 (d, J = 4.0 Hz, 1H, H-1^{II}); 5.60 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1^{VI}); 5.49 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1^V); 5.34 (ddd, J = 17.0, 3.0, 1.5 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 5.22 (ddd, J = 10.5, 3.0, 1.5 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 4.98 (d, J = 11.0 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.93 (d, J = 11.5 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.91 (d, J = 11.0 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.90 (d, J = 11.5 Hz, 2H, CH₂Ph); 4.88 (d, J = 12.5 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.82 (d, J = 11.5 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.82 (d, J = 12.5 Hz, 2H, CH₂Ph); 4.79 (d, J = 10.5 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.77 (d, J = 10.5 Hz, 2H, CH₂Ph); 4.73 (d, J = 12.5 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.68 (d, J = 11.0 Hz, 1H, CH₂Ph); 4.65 (d, J =

12.0 Hz, 1H, $\underline{CH_2Ph}$); 4.56 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H, $\underline{CH_2Ph}$); 4.51 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H, $\underline{CH_2Ph}$); 4.50 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H, $\underline{CH_2Ph}$); 4.49 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, H_{1^I}); 4.48 (d, $J = 10.5$ Hz, 1H, $\underline{CH_2Ph}$); 4.44-4.30 (m, 8H, $\underline{CH_2-CH=CH_2}$, $\underline{CH_2Ph}$); 4.12 (dddd, $J = 13.0, 6.0, 1.5, 1.5$ Hz, 1H, $\underline{CH_2-CH=CH_2}$); 4.05 (t, $J = 9.0$ Hz, 2H, H_{3^V} , $H_{3^{IV}}$); 4.02-3.75 (m, 23H, H_{6a^V} , H_{6b^V} , $H_{6a^{IV}}$, $H_{6a^{III}}$, $H_{6b^{III}}$, $H_{6a^{II}}$, H_{6a^I} , H_{6b^I} , H_{5^V} , $H_{5^{IV}}$, $H_{5^{II}}$, H_{4^V} , $H_{4^{IV}}$, $H_{4^{III}}$, $H_{4^{II}}$, H_{4^I} , $H_{3^{VI}}$, $H_{3^{III}}$, $H_{3^{II}}$, H_{3^I} , $\underline{CH_3O-Ph}$); 3.72 (dd, d, $J = 11.0, 4.0$ Hz, 1H, $H_{6a^{II}}$); 3.75-3.69 (m, 1H, $H_{5^{VI}}$); 3.68-3.39 (m, 12H, $H_{6a^{VI}}$, $H_{6b^{IV}}$, $H_{6b^{II}}$, $H_{5^{IV}}$, $H_{5^{III}}$, H_{5^I} , $H_{2^{VI}}$, H_{2^V} , $H_{2^{IV}}$, $H_{2^{III}}$, $H_{2^{II}}$, H_{2^I}); 3.36 (m, 1H, $H_{6b^{VI}}$); 3.34 (t, $J = 9.5$ Hz, $H_{4^{VI}}$); 1.03 (s, 9H, $tBuSi$); 0.98 (s, 9H, $tBuSi$).

ESI-HRMS: m/z calculated for $C_{163}H_{182}NaO_{32}Si_2$ $[M+Na]^+$: 2730.2045; found: 2730.2061.

Allyl *O*-(6-*O*-benzoyl-2,3-di-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(6-*O*-benzoyl-2,3-di-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- β -D-glucopyranoside (127)



CF_3COOH (213 μ L, 2.78 mmol, 11 equiv) was added to a solution of **96** (858 mg, 0.25 mmol) in CH_2Cl_2 (5.10 mL, 0.05 M) at room temperature. After stirring for 5 h, the reaction mixture, which had become purple, was neutralized with Et_3N (530 μ L, 3.80 mmol, 15 equiv) and concentrated. Then the residue was purified by flash chromatography (PE/EtOAc 9/1 to 7/3, v/v) to yield **127** as white solid (662 mg, 0.20 mmol, 80 %). TLC: $R_f = 0.39$ (PE/EtOAc 4/1, v/v).

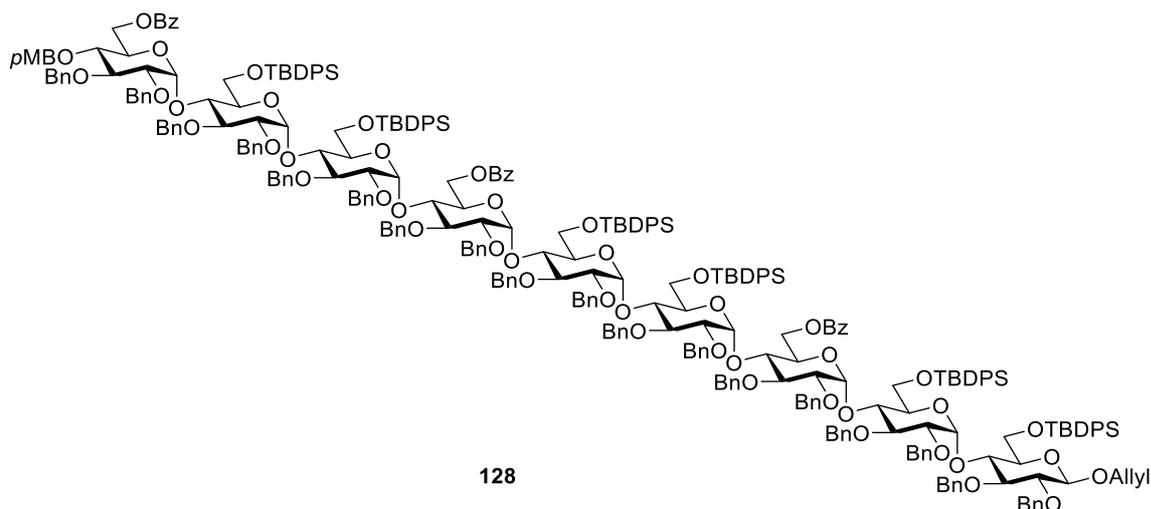
1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz, H-H COSY, HSQC, HMBC): $\delta = 7.97$ (d, $J = 8.0$ Hz, 2H,

$\underline{Ph}C=O$); 7.74-7.65 (m, 6H, $\underline{Ph}C=O$ (7.72), H_{arom}); 7.64-7.52 (m, 12H, H_{arom}); 7.48 (dd, $J = 7.5, 7.5$ Hz, 1H, H_{arom}); 7.40-6.94 (m, 89H, H_{arom}); 5.94 (dddd, $J = 17.0, 10.5, 6.0, 5.0$ Hz, 1H, $CH_2-\underline{CH}=\underline{CH}_2$); 5.65 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, H-1); 5.63 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, H-1); 5.61 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, H-1); 5.55 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, H-1); 5.48 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, H-1); 5.30 (ddd, $J = 17.0, 3.0, 1.5$ Hz, 1H, $CH_2-\underline{CH}=\underline{CH}H$); 5.17 (ddd, $J = 10.5, 3.0, 1.5$ Hz, 1H, $CH_2-\underline{CH}=\underline{CH}H$); 4.97-4.60 (m, 14H, 14x OCH_2Ph); 4.57-4.30 (m, 14H, 10x OCH_2Ph , H-1^I (4.42), $\underline{CH}H-\underline{CH}=\underline{CH}_2$ (4.32), 2xH-6); 4.22-3.65 (m, 27H, $\underline{CH}H-\underline{CH}=\underline{CH}_2$ (4.07), H-4^I (3.97), H-3^I (3.75), 5xH-3, 4xH-4, 5xH-5, 10xH-6); 3.55-3.32 (m, 8H, H-2^I (3.46), H-5^I (3.36), H-4^{VI} (3.35), 5xH-2); 1.04 (s, 9H, \underline{tBuSi}); 0.99 (s, 9H, \underline{tBuSi}); 0.95 (s, 9H, \underline{tBuSi}); 0.93 (s, 9H, \underline{tBuSi}).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz, HSQC, HMBC): $\delta = 166.9, 165.6$ (2x $\underline{Ph}C=O$); 139.2, 139.1, 139.1, 138.9, 138.9, 138.3, 138.2, 138.2, 137.9, 137.9, 136.0, 135.9, 135.9, 135.7, 135.7, 135.6, 135.6, 135.6, 135.5 (C_{arom}); 134.4 ($CH_2-\underline{CH}=\underline{CH}_2$); 134.2, 134.0, 133.9, 133.8, 133.5, 133.5, 133.4, 132.9, 132.5, 130.1, 130.1, 129.8, 129.7, 129.5, 129.5, 129.5, 129.4, 129.4, 128.4, 128.3, 128.2, 128.2, 128.1, 128.0, 128.0, 128.0, 127.8, 127.8, 127.7, 127.6, 127.6, 127.5, 127.4, 127.3, 127.3, 127.2, 127.0, 126.9, 126.9, 126.8, 126.8, 126.5 (C_{arom}); 116.9 ($CH_2-\underline{CH}=\underline{CH}_2$); 102.3 ($C-1^I$); 97.0, 96.8, 96.4, 96.2, 95.8 (5xC-1); 84.5 ($C-3^I$); 82.0 ($C-2^I$); 81.4, 81.1, 81.1, 80.8, 80.7 (5xC-3); 79.9, 79.6, 79.6, 79.4, 79.1 (5xC-2); 76.1 ($C-4^{VI}$); 76.0 ($C-5^I$); 75.9 ($C-4^I$); 75.4, 74.6, 74.5, 74.3, 74.2, 73.7 (6x OCH_2Ph); 73.7 ($C-4$); 73.0, 72.9, 72.9, 72.8, 72.8 (5x OCH_2Ph); 72.8 ($C-4$); 72.6 (OCH_2Ph); 72.6, 72.4, 72.2, 71.8, 70.8, 70.2 (2xC-4, 4xC-5); 69.7 ($\underline{CH}_2-\underline{CH}=\underline{CH}_2$); 69.6 ($C-5$); 64.1, 64.0, 63.7, 63.4, 63.4, 63.2 (6xC-6); 27.1, 27.1, 27.0, 27.0 (4x(\underline{CH}_3)₃C); 19.5, 19.4, 19.4, 19.4 (4x(\underline{CH}_3)₃C).

ESI-HRMS: m/z calculated for $C_{201}H_{218}NaO_{33}Si_4$ [$M+Na$]⁺: 3294.4350; found: 3294.3903.

Allyl *O*-[6-*O*-benzoyl-2,3-di-*O*-benzyl-4-*O*-(4-methoxybenzyl)- α -D-glucopyranosyl]-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(6-*O*-benzoyl-2,3-di-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(6-*O*-benzoyl-2,3-di-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- β -D-glucopyranoside (128)



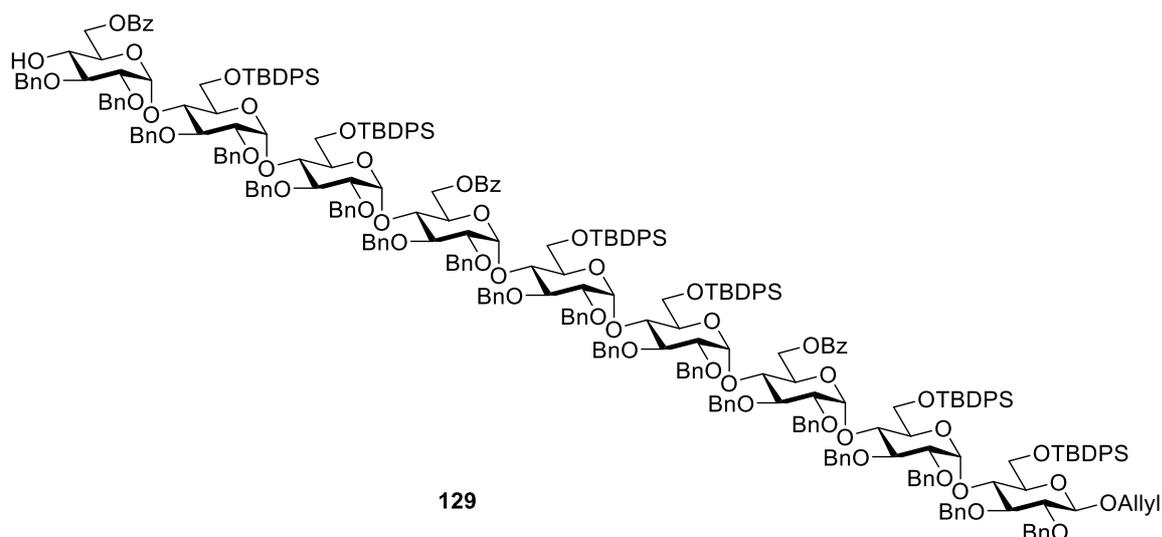
MS 4Å (106 mg) was added to a solution of acceptor **127** (246 mg, 75.0 μmol) and donor **92** (188 mg, 97.5 μmol , 1.3 equiv) in toluene (675 μL , 0.1 M) at room temperature under atmosphere of argon. After stirring for 15 min, the mixture was cooled to $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ and then a solution of TMSOTf in toluene (0.1 M, 75 μL , 7.5 μmol , 10 mol %) was added. After stirring overnight at $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$, the mixture was neutralized with Et_3N (11 μL , 75.0 μmol , 1 equiv) and the solvent was evaporated. A flash chromatography (PE/EtOAc 19/1 to 4/1, v/v) of the residue gave **128** as white solid (240 mg, 48.0 μmol , 64 %). TLC: $R_f = 0.38$ (PE/EtOAc 4/1, v/v).

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 700 MHz, H-H COSY, H-H TOCSY, HSQC, HMBC): $\delta = 7.94$ (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, $\underline{Ph}C=O$); 7.74-7.66 (m, 8H, $\underline{Ph}C=O$ (7.72), $\underline{Ph}C=O$ (7.71), H_{arom}); 7.61-7.44 (m, 22H, H_{arom}); 7.41-6.94 (m, 135H, H_{arom}); 6.78 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, $\underline{Ph}OCH_3$); 5.96 (dddd, $J = 17.0, 10.5, 6.0, 5.0$ Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 5.73 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, H-1); 5.72 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, H-1); 5.72 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, H-1); 5.70 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, H-1); 5.69 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, H-1); 5.57 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, H-1); 5.55 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, H-1); 5.50 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, H-1); 5.33 (ddd, $J = 17.0, 3.0, 1.5$ Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CHH}$); 5.20 (ddd, $J = 10.5, 3.0, 1.5$ Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CHH}$); 5.02-4.33 (m, 41H, 36x OCHHPH , H-6 (4.53), $\text{OCHHPH}OCH_3$ (4.81), H-1 1 (4.44), $\text{OCHHPH}OCH_3$ (4.49), $\text{CHH-CH}=\text{CH}_2$ (4.36)); 4.27-3.54 (m, 44H, $\text{CHH-CH}=\text{CH}_2$ (4.08), H-3 1 (3.78), 8xH-3, 9xH-4, 8xH-5, 17xH-6); 3.71 (s, 3H, CH_3OPh); 3.49 (dd, $J = 9.5, 8.0$ Hz, 1H, H-2 1); 3.48-3.38 (m, 7H, 6xH-2, 1xH-3); 3.34 (dd, $J = 9.5, 3.5$ Hz, 1H, H-2); 3.31 (dd, $J = 9.5, 3.5$ Hz, 1H, H-5 1); 3.26 (dd, $J = 9.5, 3.5$ Hz, 1H, H-2); 1.04 (s, 9H, $t\text{BuSi}$); 0.99 (s, 9H, $t\text{BuSi}$); 0.95 (s, 9H, $t\text{BuSi}$); 0.93 (s, 9H, $t\text{BuSi}$); 0.92 (s, 9H, $t\text{BuSi}$); 0.85 (s, 9H, $t\text{BuSi}$).

¹³C NMR (CDCl₃, 176 MHz, HSQC, HMBC): δ = 165.9, 165.6, 165.5 (3xPhC=O); 159.2 (PhOCH₃); 139.1, 139.1, 139.1, 139.0, 138.9, 138.9, 138.8, 138.7, 138.6, 138.3, 138.1, 138.0, 137.9, 137.8, 137.8, 137.7, 137.7, 136.1, 136.0, 135.9, 135.9, 135.8, 135.7, 135.6, 135.5, 135.5, 135.3 (C_{arom}); 134.4 (CH₂-CH=CH₂); 134.2, 134.2, 133.9, 133.9, 133.7, 133.6, 133.3, 133.2, 133.2, 132.8, 132.5, 130.4, 130.1, 130.0, 129.9, 129.9, 129.8, 129.7, 129.6, 129.6, 129.5, 129.5, 129.4, 129.3, 129.3, 129.1, 129.0, 128.4, 128.3, 128.2, 128.2, 128.2, 128.2, 128.1, 128.1, 128.1, 128.1, 128.1, 128.0, 128.0, 128.0, 128.0, 127.9, 127.8, 127.8, 127.7, 127.6, 127.6, 127.6, 127.6, 127.5, 127.5, 127.5, 127.4, 127.3, 127.3, 127.3, 127.3, 127.2, 127.1, 127.1, 127.1, 127.0, 126.9, 126.9, 126.7, 126.7, 126.6, 126.6, 126.5, 126.5, 126.4, 126.3 (C_{arom}); 117.1 (CH₂-CH=CH₂); 113.7 (PhOCH₃); 102.1 (C-1^h); 96.9, 96.8, 96.4, 96.2, 96.2, 95.9, 95.7, 95.5 (8xC-1); 84.4 (C-3^h); 81.9 (C-2^h); 81.9, 81.5, 81.4, 81.2, 81.1, 80.8, 80.8, 80.2 (8xC-3); 80.0, 79.5, 79.4, 79.4, 79.3, 79.1, 78.9, 78.9 (8xC-2); 76.9, 76.2, 76.0 (3xC-4); 75.8 (C-5^h); 75.7, 74.9, 74.7, 74.7 (4xOCH₂Ph); 74.6 (CH₂PhOCH₃); 74.5 (C-4); 74.0, 74.0, 73.7, 73.6, 73.6, 73.3 (6xOCH₂Ph); 73.0 (C-4); 72.9, 72.9, 72.8, 72.8, 72.7, 72.6 (6xOCH₂Ph); 72.6, 72.4 (1xC-4, 1xC-5); 72.4, 72.4 (2xOCH₂Ph); 72.3, 72.2, 72.2, 72.2, 71.8, 71.5 (2xC-4, 4xC-5); 69.7 (CH₂-CH=CH₂); 69.6, 69.6, 69.3 (3xC-5); 64.1, 63.8, 63.6, 63.6, 63.5, 63.2, 63.1, 63.0, 62.8 (9xC-6); 55.2 (CH₃OPh); 27.1, 27.0, 27.0, 26.9, 26.9, 26.9 (6x(CH₃)₃C); 19.5, 19.4, 19.4, 19.3, 19.3, 19.3 (6x(CH₃)₃C).

ESI-HRMS: *m/z* calculated for C₂₀₉H₂₂₆NaO₃₄Si₄ [M+Na]⁺: 5021.1944; found: 5021.1786.

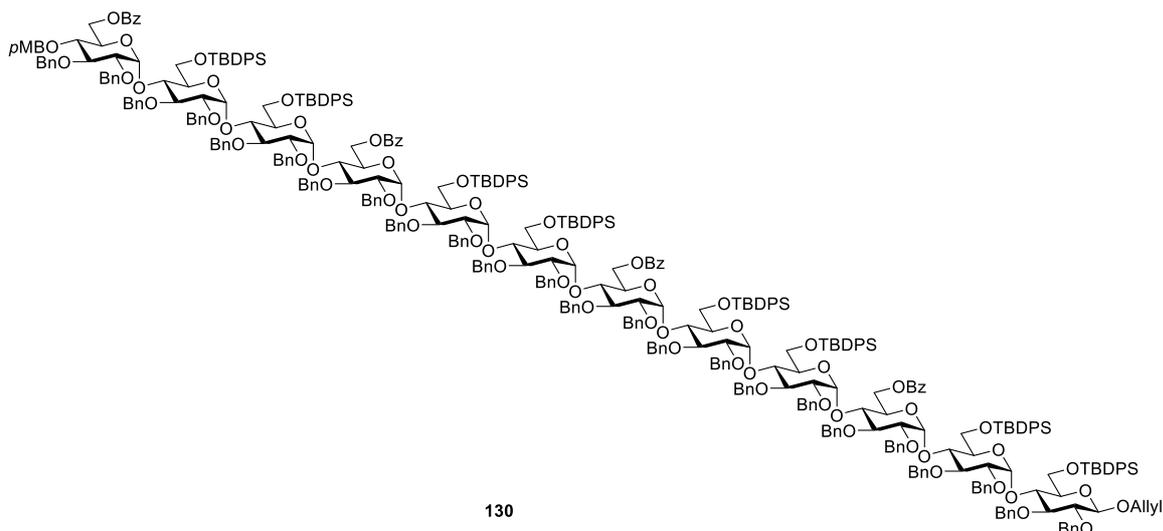
Allyl *O*-(6-*O*-benzoyl-2,3-di-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(6-*O*-benzoyl-2,3-di-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- β -D-glucopyranoside (129)



CF₃COOH (17 μ L, 220.0 μ mol, 11 equiv) was added to a solution of **128** (100 mg, 20.0 μ mol) in CH₂Cl₂ (400 μ L, 0.05 M) at room temperature. After stirring for 45 h, the reaction mixture, which had become purple, was neutralized with Et₃N (42 μ L, 300.0 μ mol, 15 equiv) and concentrated. Then the residue was purified by flash chromatography (PE/EtOAc 9/1 to 7/3, v/v) to yield **129** as white solid (70 mg, 14.3 μ mol, 72 %). TLC: R_f = 0.38 (PE/EtOAc 4/1, v/v).

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz, H-H COSY, HSQC, HMBC): δ = 7.97 (d, J = 8.0 Hz, 2H, PhC=O); 7.73-7.64 (m, 8H, PhC=O (7.72), PhC=O (7.69), H_{arom}); 7.63-7.44 (m, 18H, H_{arom}); 7.40-6.91 (m, 137H, H_{arom}); 5.94 (dddd, J = 17.0, 10.5, 6.0, 5.0 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 5.71 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.70 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.69 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.66 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.65 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.55 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.53 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.48 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.30 (ddd, J = 17.0, 3.0, 1.5 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 5.18 (ddd, J = 10.5, 3.0, 1.5 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 5.00-4.31 (m, 40H, 36xOCH₂Ph, H-1^I (4.43), CH₂-CH=CH₂ (4.34), 2xH-6); 4.22-3.34 (m, 53H, CH₂-CH=CH₂ (4.07), H-4^I (3.99), H-3^I (3.76), H-2^I (3.47), H-4^{VI} (3.31), H-5^I (3.29), 8xH-2, 8xH-3, 7xH-4, 8xH-5, 16xH-6); 1.02 (s, 9H, tBuSi); 0.98 (s, 9H, tBuSi); 0.93 (s, 9H, tBuSi); 0.92 (s, 9H, tBuSi); 0.91 (s, 9H, tBuSi); 0.86 (s, 9H, tBuSi).

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz, HSQC, HMBC): δ = 167.1, 165.7, 165.6 (3xPhC=O); 139.2, 139.2, 139.1, 139.1, 139.0, 138.9, 138.9, 138.8, 138.8, 138.3, 138.2, 138.1, 137.9, 137.9, 137.8, 137.8, 136.1, 136.0, 135.9, 135.9, 135.9, 135.7, 135.7, 135.6, 135.6, 135.6, 135.5, 135.5, 135.5 (C_{arom}); 134.5 (CH₂-CH=CH₂); 134.3, 134.0, 134.0, 133.8, 133.7, 133.4, 133.3, 133.3, 133.1, 132.5, 130.0, 129.9, 129.9, 129.7, 129.6, 129.5, 129.5, 129.4, 129.4, 128.5,



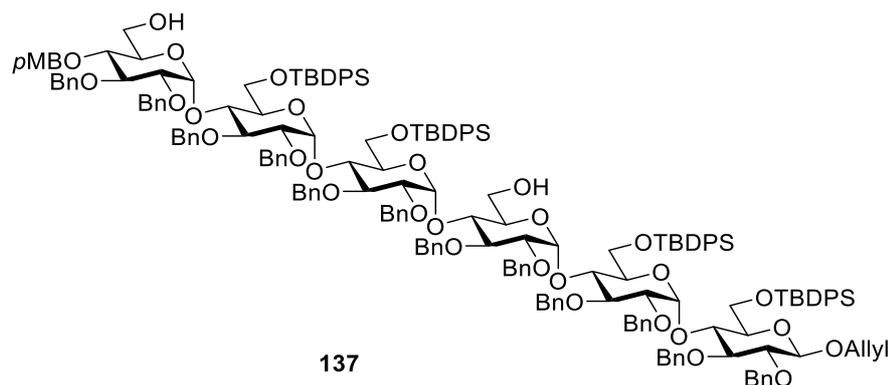
MS 4Å (28 mg) was added to a solution of acceptor **129** (49 mg, 10.0 μmol) and donor **92** (39 mg, 20.0 μmol , 2.0 equiv) in toluene (180 μL , 0.05 M) at room temperature under atmosphere of argon. After stirring for 15 min, the mixture was cooled to $-78\text{ }^\circ\text{C}$ and then a solution of TMSOTf in toluene (0.1 M, 20 μL , 2.0 μmol , 20 mol %) was added. After stirring overnight at $-40\text{ }^\circ\text{C}$, the mixture was neutralized with a solution of Et_3N in toluene (0.1 M, 200 μl , 20 μmol , 2.0 equiv) and the solvent was evaporated. A flash chromatography (PE/EtOAc 19/1 to 4/1, v/v) of the residue gave **130** as white solid (43 mg, 6.6 μmol , 66 %). TLC: $R_f = 0.36$ (PE/EtOAc 4/1, v/v).

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz, H-H COSY, HSQC, HMBC): $\delta = 7.94$ (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, $\text{PhC}=\text{O}$); 7.76-7.66 (m, 10H, $\text{PhC}=\text{O}$ (7.76), $\text{PhC}=\text{O}$ (7.73), $\text{PhC}=\text{O}$ (7.71), H_{arom}); 7.62-7.48 (m, 26H, H_{arom}); 7.46-6.91 (m, 184H, H_{arom}); 6.77 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, PhOCH_3); 5.96 (dddd, $J = 17.0, 10.5, 6.0, 5.0$ Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 5.75 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, H-1); 5.74 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, H-1); 5.72 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, H-1); 5.72 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, H-1); 5.71 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, H-1); 5.71 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, H-1); 5.69 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, H-1); 5.61 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, H-1); 5.57 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, H-1); 5.55 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, H-1); 5.50 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, H-1); 5.32 (ddd, $J = 17.0, 3.0, 1.5$ Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CHH}$); 5.20 (ddd, $J = 10.5, 3.0, 1.5$ Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CHH}$); 5.03-4.31 (m, 54H, 48x OCHHPh , OCHHPhOCH_3 (4.81), H-1 1 (4.44), OCHHPhOCH_3 (4.49), $\text{CHH-CH}=\text{CH}_2$ (4.36), 2xH-6); 4.30-3.22 (m, 68H, $\text{CHH-CH}=\text{CH}_2$ (4.09), H-3 1 (3.78), H-2 1 (3.48), H-5 1 (3.31), 11xH-2, 11xH-3, 11xH-4, 11xH-5, 22xH-6); 3.71 (s, 3H, CH_3OPh); 1.03 (s, 9H, $t\text{BuSi}$); 0.99 (s, 9H, $t\text{BuSi}$); 0.94 (s, 9H, $t\text{BuSi}$); 0.93 (s, 9H, $t\text{BuSi}$); 0.93 (s, 9H, $t\text{BuSi}$); 0.92 (s, 9H, $t\text{BuSi}$); 0.89 (s, 9H, $t\text{BuSi}$); 0.84 (s, 9H, $t\text{BuSi}$).

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz, HSQC, HMBC): δ = 165.9, 165.6, 165.6, 165.5 (4xPhC=O); 159.2 (*Ph*OCH₃); 139.2, 139.2, 139.1, 139.1, 139.1, 139.0, 139.0, 138.9, 138.9, 138.9, 138.9, 138.8, 138.8, 138.7, 138.6, 138.3, 138.1, 138.1, 138.0, 137.9, 137.9, 137.8, 137.8, 137.8, 137.7, 136.1, 136.0, 135.9, 135.9, 135.9, 135.9, 135.8, 135.7, 135.6, 135.5, 135.5, 135.5, 135.5 (C_{arom}); 134.5 (CH₂-C=CH₂); 134.3, 134.2, 134.1, 134.0, 133.9, 133.9, 133.8, 133.7, 133.6, 133.6, 133.4, 133.4, 133.3, 133.2, 133.2, 132.8, 132.5, 132.5, 130.4, 130.2, 130.0, 129.9, 129.8, 129.8, 129.7, 129.7, 129.6, 129.6, 129.6, 129.5, 129.5, 129.5, 129.5, 129.4, 129.1, 129.0, 128.7, 128.6, 128.4, 128.4, 128.3, 128.3, 128.2, 128.2, 128.2, 128.2, 128.2, 128.2, 128.2, 128.2, 128.1, 128.1, 128.1, 128.0, 128.0, 128.0, 128.0, 127.9, 127.9, 127.8, 127.8, 127.7, 127.7, 127.6, 127.6, 127.6, 127.6, 127.6, 127.6, 127.6, 127.5, 127.5, 127.5, 127.5, 127.4, 127.4, 127.3, 127.3, 127.3, 127.2, 127.2, 127.1, 127.1, 127.0, 127.0, 126.9, 126.9, 126.7, 126.6, 126.6, 126.6, 126.5, 126.5, 126.5, 126.4, 126.4, 126.3 (C_{arom}); 117.1 (CH₂-CH=C=CH₂); 113.7 (*Ph*OCH₃); 102.1 (C-1^l); 96.9, 96.9, 96.6, 96.4, 96.3, 96.3, 96.1, 96.0, 95.7, 95.6, 95.5 (11xC-1); 84.5 (C-3^l); 81.9 (C-2^l); 81.9, 81.9, 81.5, 81.5, 81.4, 81.2, 81.2, 81.2, 80.8, 80.8, 80.3 (11xC-3); 80.2, 80.0, 79.5, 79.5, 79.4, 79.4, 79.3, 79.1, 79.0, 78.9, 78.9 (11xC-2); 77.0, 76.3, 76.1 (3xC-4); 75.8 (C-5^l); 75.7, 75.0, 74.7, 74.6 (4xOCH₂Ph); 74.6 (CH₂PhOCH₃); 74.5 (C-4); 74.4, 74.1, 74.1, 73.9, 73.7, 73.6, 73.6, 73.6, 73.4, 73.3 (10xOCH₂Ph); 73.2 (C-4); 73.1, 72.9, 72.9, 72.9, 72.8, 72.8, 72.8, 72.7 (8xOCH₂Ph); 72.7, 72.7, 72.6 (2xC-4, 1xC-5); 72.6, 72.6 (2xOCH₂Ph); 72.4, 72.4, 72.4, 72.4, 72.3, 72.3, 72.3, 72.2, 72.2, 72.2, 72.0, 71.8, 71.4, 71.4 (4xC-4, 10xC-5); 69.7 (CH₂-CH=CH₂); 69.7, 69.4, 69.3 (3xC-5); 64.2, 63.8, 63.8, 63.7, 63.7, 63.4, 63.3, 63.2, 63.2, 63.1, 63.0, 62.8 (12xC-6); 55.2 (CH₃OPh); 27.1, 27.1, 27.1, 27.1, 27.0, 27.0, 27.0, 27.0 (8x(CH₃)₃C); 19.5, 19.5, 19.5, 19.4, 19.4, 19.4, 19.4, 19.4 (8x(CH₃)₃C).

ESI-HRMS: *m/z* calculated for C₂₀₉H₂₂₆NaO₃₄Si₄ [M+Na]⁺: 5021.1944; found: 5021.1786.

Allyl *O*-[2,3-di-*O*-benzyl-4-*O*-(4-methoxybenzyl)- α -D-glucopyranosyl]-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- β -D-glucopyranoside (137)



A solution of MeONa in dry MeOH (1 M, 120 μ L, 120.0 μ mol, 4 equiv) was added to a solution of **96** (102 mg, 30.0 μ mol) in mixed dry solvent MeOH/THF (180 μ L/300 μ L, 0.06 M) at room temperature under atmosphere of argon. After stirring overnight at 35 $^{\circ}$ C, the solution was neutralized with ion-exchange resin (Dowex 50WX8-400 H⁺), filtered, concentrated. A flash chromatography (PE/EtOAc 9/1 to 7/3, v/v) of the residue gave **137** as white solid (91 mg, 28.6 μ mol, 95 %). TLC: R_f = 0.38 (PE/EtOAc 7/3, v/v).

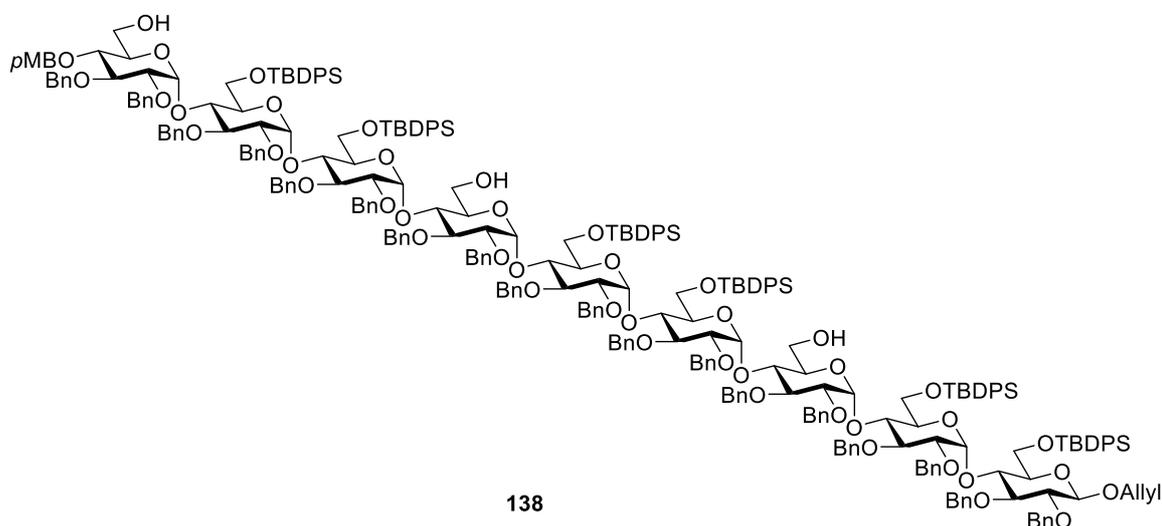
¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz, H-H COSY, HSQC, HMBC): δ = 7.69-7.52 (m, 18H, H_{arom}); 7.39-6.98 (m, 84H, H_{arom}); 6.85 (d, J = 8.9 Hz, 2H, PhOCH₃); 5.95 (dddd, J = 17.0, 10.5, 6.0, 5.0 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 5.60 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.60 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.57 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.53 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.46 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.31 (ddd, J = 17.0, 3.0, 1.5 Hz, 1H, CH₂-CH=CH_H); 5.18 (ddd, J = 10.5, 3.0, 1.5 Hz, 1H, CH₂-CH=CH_H); 4.95 (d, J = 11.0 Hz, 1H, OCH_HPh); 4.90-4.32 (m, 27H, 23xOCH_HPh, OCH_HPhOCH₃ (4.81), OCH_HPhOCH₃ (4.57), H-1¹ (4.46), CH_H-CH=CH₂ (4.34)); 4.13-3.33 (m, 37H, CH_H-CH=CH₂ (4.10), 5xH-3, 4xH-4, 5xH-5, 5xH-2, H-4¹ (3.97), H-6 (3.96), H-6 (3.95), H-6 (3.87), H-6 (3.86), H-6 (3.80), H-6 (3.79), H-3¹ (3.77), H-6 (3.64), H-6 (3.58), H-4^{VI} (3.56), H-6 (3.50), H-6 (3.49), H-5¹ (3.49), H-2¹ (3.47), H-6 (3.46), H-6 (3.44)); 3.79 (s, 3H, CH₃OPh); 1.02 (s, 9H, *t*BuSi); 0.98 (s, 9H, *t*BuSi); 0.98 (s, 9H, *t*BuSi); 0.96 (s, 9H, *t*BuSi).

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz, HSQC, HMBC): δ = 159.4 (PhOCH₃); 139.1, 139.1, 139.0, 139.0, 139.0, 138.9, 138.8, 138.3, 138.1, 138.1, 138.0, 137.9, 136.1, 135.9, 135.9, 135.8, 135.7, 135.6, 135.6 (C_{arom}); 134.4 (CH₂-CH=CH₂); 134.1, 134.0, 134.0, 133.7, 133.5, 133.5, 133.5, 131.0, 129.7, 129.6, 129.5, 129.4, 129.4, 129.4, 128.2, 128.2, 128.1, 128.1, 128.1, 128.0, 127.7, 127.7, 127.6, 127.6, 127.5, 127.5, 127.4, 127.4, 127.1, 127.1, 126.9, 126.8, 126.7, 126.6, 126.4 (C_{arom}); 117.0 (CH₂-CH=CH₂); 113.8 (PhOCH₃); 102.2 (C-1¹); 97.3, 97.0, 96.1, 96.0, 95.9 (5xC-1); 84.6 (C-3¹); 82.1 (C-2¹); 81.8, 81.4, 81.1, 80.8, 80.6 (5xC-

3); 79.9, 79.6, 79.4, 79.2, 79.1 (5xC-2); 77.3 (C-4^{VI}); 75.9 (C-5^I); 75.5 (C-4^I); 75.3 (OCH₂Ph); 75.0 (C-4); 74.7 (CH₂PhOCH₃); 74.5, 74.2, 74.0, 73.8 73.7, 73.5 (6xOCH₂Ph); 73.2, 73.0 (2xC-4); 73.0, 73.0, 72.9, 72.8, 72.8 (5xOCH₂Ph); 72.4, 72.3, 72.1, 71.8, 71.8, 71.6 (1xC-4, 5xC-5); 69.8 (CH₂-CH=CH₂); 64.2, 64.0, 63.2, 62.7, 61.7, 61.6 (6xC-6); 55.3 (CH₃OPh); 27.1, 27.1, 27.1, 27.0 (4x(CH₃)₃C); 19.4, 19.4, 19.4, 19.4 (4x(CH₃)₃C).

ESI-HRMS: *m/z* calculated for C₁₉₅H₂₁₈Na₂O₃₄Si₄ [M+2Na]²⁺/2: 1614.7146; found: 1614.7233.

Allyl O-[2,3-di-O-benzyl-4-O-(4-methoxybenzyl)- α -D-glucopyranosyl]-(1 \rightarrow 4)-O-(2,3-di-O-benzyl-6-O-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-O-(2,3-di-O-benzyl-6-O-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-O-(2,3-di-O-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-O-(2,3-di-O-benzyl-6-O-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-O-(2,3-di-O-benzyl-6-O-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-O-(2,3-di-O-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-O-(2,3-di-O-benzyl-6-O-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2,3-di-O-benzyl-6-O-*tert*-butyldiphenylsilyl- β -D-glucopyranoside (138**)**



A solution of MeONa in dry MeOH (1 M, 60 μ L, 60.0 μ mol, 4 equiv) was added to a solution of **128** (75 mg, 15.0 μ mol) in mixed dry solvent MeOH/THF (90 μ L/150 μ L, 0.06 M) at room temperature under atmosphere of argon. After stirring overnight at 40 $^{\circ}$ C, the solution was neutralized with ion-exchange resin (Dowex 50WX8-400 H⁺), filtered, concentrated. A flash chromatography (PE/EtOAc 9/1 to 7/3, v/v) of the residue gave **138**

as white solid (64 mg, 13.6 μ mol, 91 %). TLC: R_f = 0.56 (PE/EtOAc 7/3, v/v).

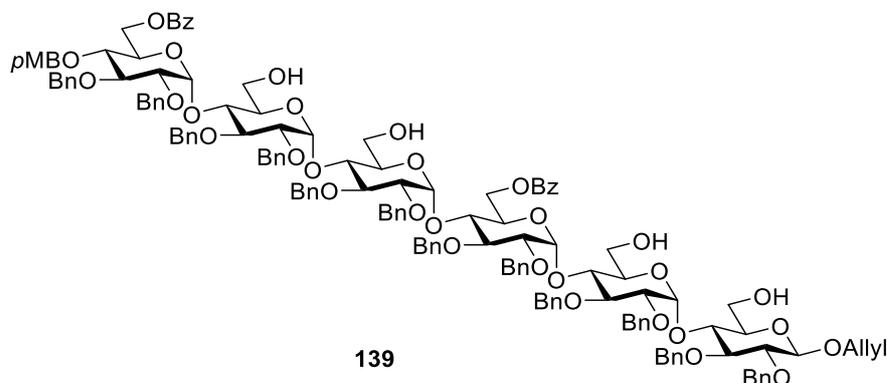
¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz, H-H COSY, HSQC, HMBC): δ = 7.69-7.50 (m, 26H, H_{arom}); 7.41-6.91 (m, 136H, H_{arom}); 6.87 (d, J = 8.9 Hz, 2H, PhOCH₃); 5.97 (dddd, J = 17.0, 10.5, 6.0, 5.0 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 5.66 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.65 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.64 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.63 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.57 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.56 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.54 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.52 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.33 (ddd, J = 17.0, 3.0, 1.5 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 5.21 (ddd, J = 10.5, 3.0, 1.5 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 4.99-4.33 (m, 40H, 36xOCH₂Ph, OCH₂PhOCH₃ (4.85), OCH₂PhOCH₃ (4.59), H-1^I (4.48), CH₂-CH=CH₂ (4.39)); 4.12 (dddd, J = 13.0, 6.0, 1.5, 1.5 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 4.08-3.32 (m, 54H, 8xH-3, 7xH-4, 8xH-5, 8xH-2, 18xH-6, H-4^I (3.99), H-3^I (3.78), H-4^{VI} (3.58), H-5^I (3.49), H-2^I (3.49)); 3.81 (s, 3H, CH₃OPh); 1.02 (s, 9H, tBuSi); 0.98 (s, 9H, tBuSi); 0.98 (s, 9H, tBuSi); 0.98 (s, 9H, tBuSi); 0.96 (s, 9H, tBuSi); 0.95 (s, 9H, tBuSi).

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz, HSQC, HMBC): δ = 159.2 (PhOCH₃); 139.0, 139.0, 139.0, 139.0, 138.9, 138.8, 138.8, 138.8, 138.6, 138.2, 137.9, 137.8, 137.8, 137.7, 136.1, 136.1, 135.9, 135.8, 135.8, 135.7, 135.7, 135.6, 135.6, 135.6 (C_{arom}); 134.4 (CH₂-CH=CH₂); 134.2, 134.0, 133.8, 133.8, 133.6, 133.5, 133.4, 133.4, 133.3, 133.3, 133.2, 130.9, 129.8, 129.7, 129.7, 129.6, 129.5, 129.4, 129.4, 129.3, 129.2, 129.0, 128.6, 128.3, 128.3, 128.2, 128.2, 128.2, 128.1, 127.7, 127.7, 127.7, 127.7, 127.6, 127.6, 127.5, 127.5, 127.4, 127.4, 127.2, 127.0, 127.0, 126.6, 126.6, 126.4, 126.4, 126.2, 126.2 (C_{arom}); 117.3 (CH₂-CH=CH₂); 113.7 (PhOCH₃); 102.1 (C-1^I); 97.3, 97.1, 97.0, 96.1, 96.1, 96.0, 95.9, 95.9 (8xC-1); 84.6 (C-3^I); 82.1 (C-2^I); 81.8, 81.3, 81.2, 81.1, 81.1, 81.0, 80.7, 80.3 (8xC-3); 79.6, 79.4, 79.4, 79.3, 79.1, 78.9, 78.8, 78.8 (8xC-2); 76.9 (C-4^{VI}); 75.7 (C-5^I); 75.4 (OCH₂Ph); 75.4 (C-4^I); 74.7 (C-4); 74.7 (CH₂PhOCH₃); 74.6, 74.2, 74.2 (3xOCH₂Ph); 74.0 (C-4); 73.8, 73.8, 73.7, 73.4, 73.0, 73.0, 73.0, 72.9, 72.9, 72.9, 72.7, 72.7, 72.6, 72.6 (14xOCH₂Ph); 72.6, 72.5, 72.4, 72.3, 72.1, 72.0, 72.0, 72.0, 71.8, 71.7, 71.5, 71.5 (4xC-4, 8xC-5); 69.8 (CH₂-CH=CH₂); 64.2, 64.0, 64.0, 62.9, 62.5, 62.5, 61.4, 61.4, 61.4 (6xC-6); 55.3 (CH₃OPh); 27.1, 27.1, 27.1, 27.1, 27.0, 27.0 (4x(CH₃)₃C); 19.4, 19.4, 19.4, 19.4, 19.4, 19.4 (4x(CH₃)₃C).

ESI-HRMS: m/z calculated for C₂₈₇H₃₂₀NaO₄₇Si₆ [M+Na]⁺: 4709.1158; found: 4709.1535.

Allyl O-[6-O-benzoyl-2,3-di-O-benzyl-4-O-(4-methoxybenzyl)- α -D-glucopyranosyl]-

(1→4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1→4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1→4)-*O*-(6-*O*-benzoyl-2,3-di-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1→4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1→4)-2,3-di-*O*-benzyl- β -D-glucopyranoside (**139**)



HF-pyridine complex (70 % HF in pyridine, 125 μ L) was added to a solution of **96** (34 mg, 10.0 μ mol) in mixed dry solvents of THF/pyridine (500 μ L/250 μ L, 0.013 M) at 0 °C in a plastic tube. After stirring overnight at room temperature, saturated aq. NaHCO₃ solution was added slowly to the mixture. The resulting mixture was diluted with EtOAc (50 mL), and washed with saturated aq. NaHCO₃ solution (50 mL) and brine (50 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered, and concentrated. Then the residue was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂/MeOH 97/3, v/v) to yield **139** as white solid (24 mg, 9.8 μ mol, 98 %). TLC: R_f = 0.46 (CH₂Cl₂/MeOH 97/3, v/v).

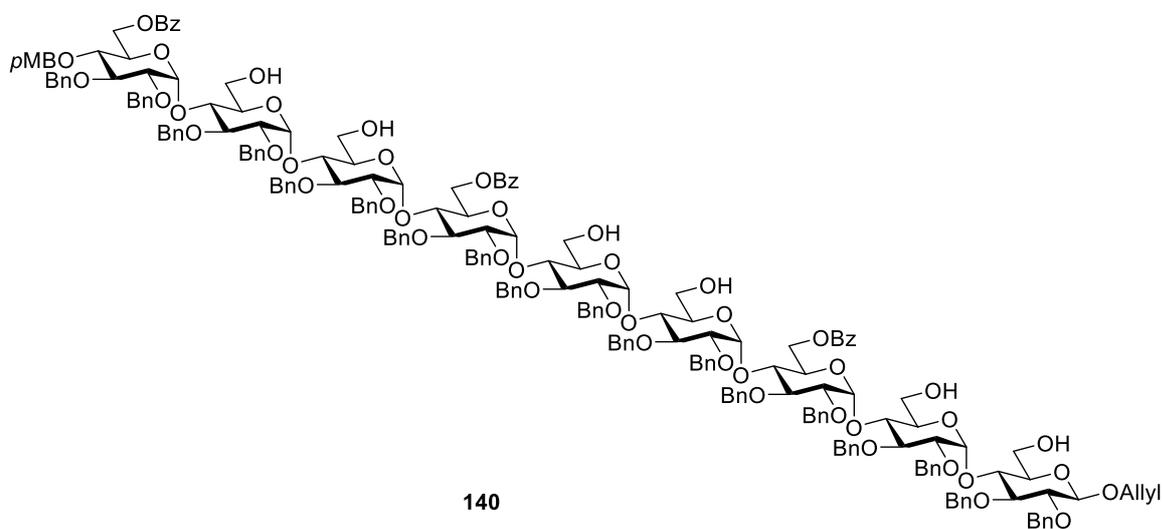
¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz, H-H COSY, HSQC, HMBC): δ = 8.08 (d, J = 8.0 Hz, 2H, PhC=O); 7.99 (d, J = 8.0 Hz, 2H, PhC=O); 7.54-7.49 (m, 2H, H_{arom}); 7.45-7.37 (m, 4H, H_{arom}); 7.32-6.98 (m, 62H, H_{arom}); 6.76 (d, J = 8.9 Hz, 2H, PhOCH₃); 5.95 (dddd, J = 17.0, 10.5, 6.0, 5.0 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 5.70 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.57 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.56 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.56 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.45 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.35 (ddd, J = 17.0, 3.0, 1.5 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 5.22 (ddd, J = 10.5, 3.0, 1.5 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 5.02 (d, J = 12.0 Hz, 1H, OCH₂HPh); 4.95-4.88 (m, 3H, 3xOCH₂HPh); 4.87-4.67 (m, 11H, 9xOCH₂HPh, OCH₂HPhOCH₃ (4.80), H-6 (4.73)); 4.63 (d, J = 11.5 Hz, 1H, OCH₂HPh); 4.59 (dd, J = 12.3, 3.6 Hz, 1H, H-6); 4.56-4.50 (m, 3H, H-1^l (4.54), OCH₂HPh, OCH₂HPhOCH₃ (4.53)); 4.49-4.33 (m, 12H, 9xOCH₂HPh, H-6 (4.46), H-6 (4.46), CH₂H-CH=CH₂ (4.43)); 4.19-4.14 (m, 2H, CH₂H-CH=CH₂ (4.17), H-6 (4.17)); 4.11 (dd, J = 9.4, 9.4 Hz, 1H, H-4); 4.08-3.76 (m, 21H, H-4^l (3.94), H-3^l (3.82), 5xH-3, 3xH-4, 5xH-5, H-6 (3.98), H-6 (3.97), H-6 (3.96), H-6 (3.90), H-6 (3.88), H-6 (3.80)); 3.73

-3.67 (m, 2H, H-6 (3.71), H-6 (3.69)); 3.69 (s, 3H, CH_3OPh); 3.58-3.41 (m, 8H, H-4^{VI} (3.55), H-2^I (3.52), H-5^I (3.50), 5xH-2).

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz, HSQC, HMBC): δ = 166.4, 166.3 (2xPhC=O); 159.3 (PhOCH_3); 138.8, 138.8, 138.7, 138.7, 138.6, 138.1, 137.9, 137.8, 137.7, 137.6 (C_{arom}); 133.9 ($\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$); 133.2, 133.0, 130.0, 130.0, 129.9, 129.8, 129.7, 128.5, 128.4, 128.4, 128.4, 128.3, 128.3, 128.3, 128.2, 128.2, 128.2, 127.9, 127.8, 127.7, 127.7, 127.6, 127.6, 127.6, 127.6, 127.5, 127.5, 127.2, 127.2, 127.1, 127.1, 126.9, 126.6, 126.5, 126.4, 126.3 (C_{arom}); 117.6 ($\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$); 113.9 (PhOCH_3); 102.1 (C-1^I); 97.7, 97.0, 96.9, 96.7, 96.7 (5xC-1); 84.7 (C-3^I); 82.6 (C-2^I); 81.8, 81.1, 81.0, 80.9, 80.6 (5xC-3); 79.5, 79.2, 79.1, 79.0, 78.9 (5xC-2); 77.2 (C-4^{VI}); 75.7 (OCH_2Ph); 75.5 (C-4^I); 74.8 (OCH_2Ph); 74.7 (C-5^I); 74.6 ($\text{CH}_2\text{PhOCH}_3$); 74.2, 74.1, 74.0, 73.8, 73.6 (5x OCH_2Ph); 73.6, 73.4 (2xC-4); 73.2, 73.2, 73.1, 73.1, 73.0 (5x OCH_2Ph); 73.0, 72.0, 71.9, 71.9, 71.9 (2xC-4, 3xC-5); 70.5 ($\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$); 69.8, 69.6 (2xC-5); 64.2, 63.6, 62.6, 62.3, 61.7, 61.2 (6xC-6); 55.2 (CH_3OPh).

ESI-HRMS: m/z calculated for C₁₄₅H₁₅₄NaO₃₄ [M+Na]⁺: 2462.0214; found: 2462.0333.

**Allyl *O*-[6-*O*-benzoyl-2,3-di-*O*-benzyl-4-*O*-(4-methoxybenzyl)- α -D-glucopyranosyl]-
(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl- α -D-gluco
pyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(6-*O*-benzoyl-2,3-di-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,
3-di-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-
(1 \rightarrow 4)-*O*-(6-*O*-benzoyl-2,3-di-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl- α -D-benzyl-
 α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2,3-di-*O*-benzyl- β -D-glucopyranoside (140)**



HF-pyridine complex (70 % HF in pyridine, 50 μ L) was added to a solution of **128** (21 mg, 4.3 μ mol) in mixed dry solvents of THF/pyridine (200 μ L/100 μ L, 0.014 M) at 0 °C in a plastic tube. After stirring overnight at room temperature, saturated aq. NaHCO₃ solution was added slowly to the mixture. The resulting mixture was diluted with EtOAc (50 mL), and washed with saturated aq. NaHCO₃ solution (50 mL) and brine (50 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered, and concentrated. Then the residue was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂/MeOH 97/3, v/v) to yield **140** as white solid (15 mg, 4.2 μ mol, 98 %). TLC: R_f = 0.41 (CH₂Cl₂/MeOH 97/3, v/v).

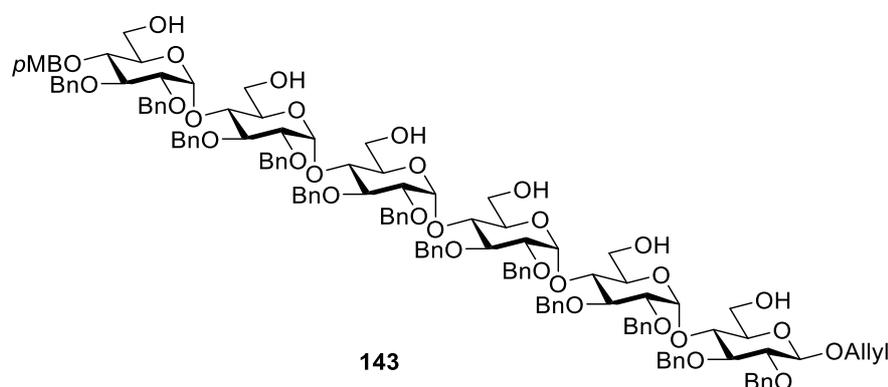
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz, H-H COSY, HSQC, HMBC): δ = 8.09 (d, J = 8.0 Hz, 2H, PhC=O); 8.08 (d, J = 8.0 Hz, 2H, PhC=O); 7.99 (d, J = 8.0 Hz, 2H, PhC=O); 7.54-7.48 (m, 3H, H_{arom}); 7.45-7.37 (m, 6H, H_{arom}); 7.32-6.95 (m, 92H, H_{arom}); 6.76 (d, J = 8.9 Hz, 2H, PhOCH₃); 5.97 (dddd, J = 17.0, 10.5, 6.0, 5.0 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 5.70 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.67 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.59 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.58 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.57 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.56 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.49 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.48 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.36 (ddd, J = 17.0, 3.0, 1.5 Hz, 1H, CH₂-CH=CHH); 5.24 (ddd, J = 10.5, 3.0, 1.5 Hz, 1H, CH₂-CH=CHH); 5.02 (d, J = 12.0 Hz, 1H, OCHHPh); 4.97-4.32 (m, 42H, 32xOCHHPh, OCHHPhOCH₃ (4.80), H-1^I (4.56), OCHHPhOCH₃ (4.54), CHH-CH=CH₂ (4.43), 6xH-6); 4.21-3.63 (m, 38H, CHH-CH=CH₂ (4.18), H-4^I (3.95), H-3^I (3.83), 8xH-3, 7xH-4, 8xH-5, 12xH-6); 3.70 (s, 3H, CH₃OPh); 3.58-3.40 (m, 11H, H-4^{VI} (3.55), H-2^I (3.53), H-5^I (3.52), 8xH-2).

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz, HSQC, HMBC): δ = 166.5, 166.4, 166.3 (3xPhC=O); 159.3 (PhOCH₃); 138.8, 138.8, 138.8, 138.7, 138.7, 138.7, 138.6, 138.6, 138.5, 138.1, 137.9, 137.7, 137.7, 137.6, 137.6 137.5 (C_{arom}); 133.9 (CH₂-CH=CH₂); 133.2, 133.2, 133.0, 130.0, 129.9, 129.9, 129.8, 128.5, 128.4, 128.4, 128.3, 128.3, 128.3, 128.3, 128.2, 128.2, 128.2, 128.2, 128.2, 128.0, 127.8, 127.7, 127.6, 127.6, 127.6, 127.6, 127.5, 127.5, 127.5, 127.3, 127.2, 127.1, 127.1, 127.1, 127.0, 126.9, 126.5, 126.5, 126.4, 126.4, 126.3, 126.3 (C_{arom}); 117.6 (CH₂-CH=CH₂); 113.9 (PhOCH₃); 102.7 (C-1^I); 97.8, 97.6, 96.9, 96.9, 96.9, 96.7, 96.6, 96.4 (8xC-1); 84.7 (C-3^I); 82.2 (C-2^I); 81.8, 81.2, 81.0, 81.0, 80.9, 80.9, 80.7, 80.5 (8xC-3); 79.5, 79.3, 79.1, 79.1, 79.0, 78.9, 78.9, 78.9 (8xC-2); 77.1 (C-4^{VI}); 75.7 (OCH₂Ph); 75.5 (C-4^I); 74.8 (OCH₂Ph); 74.7 (C-5^I); 74.6 (CH₂PhOCH₃); 74.2, 74.1, 74.1, 73.8, 73.6, 73.6 (6xOCH₂Ph); 73.5, 73.3, 73.2 (3xC-4(5)); 73.2, 73.2, 73.2, 73.2, 73.1, 73.1, 73.1, 73.1, 73.0, 73.0 (10xOCH₂Ph); 72.7, 72.1, 72.0, 72.0, 71.8, 71.8, 71.8, 71.8, 71.7

(9xC-4(5)); 70.6 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 69.8, 69.5, 69.4 (2xC-4, 1xC-5); 64.1, 64.1, 63.6, 62.6, 62.5, 62.3, 62.3, 61.6, 61.1 (9xC-6); 55.2 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{OPh}$).

ESI-HRMS: m/z calculated for $\text{C}_{145}\text{H}_{154}\text{NaO}_{34}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 2462.0214; found: 2462.0333.

Allyl O-[2,3-di-O-benzyl-4-O-(4-methoxybenzyl)- α -D-glucopyranosyl]-(1 \rightarrow 4)-O-(2,3-di-O-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-O-(2,3-di-O-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-O-(2,3-di-O-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-O-(2,3-di-O-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2,3-di-O-benzyl- β -D-glucopyranoside (143)



TBAF (1M in THF, 60 μL , 60.0 μmol , 4 equiv) was added to a solution of **96** (51 mg, 15.0 μmol) in dry THF (240 μL , 0.05 M) under atmosphere of argon. After stirring 24 h at 60 $^\circ\text{C}$, dry MeOH (240 μL , 0.025 M) and a solution of MeONa in dry MeOH (1 M, 60 μL , 60.0 μmol , 4 equiv) was added to the mixture. After stirring overnight at 60 $^\circ\text{C}$, the solution was neutralized with ion-exchange resin (Dowex 50WX8-400 H^+), filtered, concentrated. The resulting mixture was diluted with EtOAc (50 mL), and washed with saturated aq. NaHCO_3 solution (50 mL) and brine (50 mL). The organic layer was dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated. Then the residue was purified by flash chromatography ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9/1, v/v) to yield **143** as white solid (33 mg, 14.8 μmol , 98 %). TLC: R_f = 0.48 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9/1, v/v).

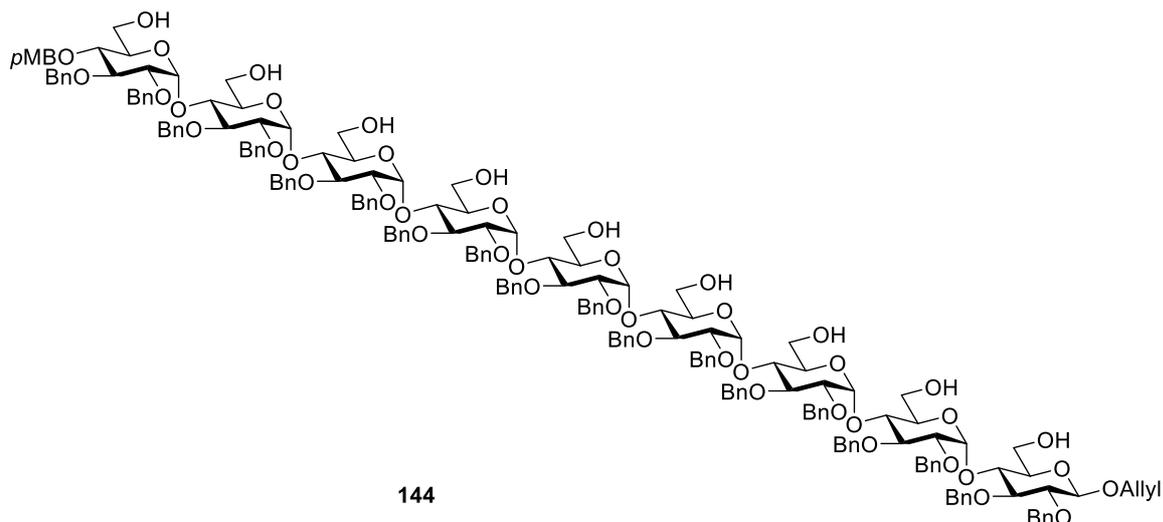
^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz, H-H COSY, HSQC, HMBC): δ = 7.29-6.98 (m, 62H, H_{arom}); 6.83 (d, J = 8.9 Hz, 2H, $\underline{\text{P}}\text{hOCH}_3$); 5.95 (dddd, J = 17.0, 10.5, 6.0, 5.0 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 5.68 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.58 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.56 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.54 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.50 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.34 (ddd, J = 17.0, 3.0, 1.5 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\underline{\text{C}}\text{HH}$); 5.22 (ddd, J = 10.5, 3.0, 1.5 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{C}\underline{\text{H}}\text{H}$); 5.03-4.31 (m, 28H, 24xOCH $\underline{\text{H}}\text{Ph}$, OCH $\underline{\text{H}}\text{PhOCH}_3$ (4.75), H-1 1 (4.54), OCH $\underline{\text{H}}\text{PhOCH}_3$

(4.50), CHH-CH=CH_2 (4.41)); 4.17 (dddd, $J = 13.0, 6.0, 1.5, 1.5$ Hz, 1H, CHH-CH=CH_2); 4.09 (dd, $J = 9.5, 9.2$ Hz, 1H, H-4¹); 4.03-3.68 (m, 25H, 5xH-3, H-3¹ (3.82), 5xH-4, 5xH-5, 9xH-6); 3.76 (s, 3H, CH_3OPh); 3.58-3.39 (m, 9H, 3xH-6, H-2¹ (3.52), H-5¹ (3.51), 4xH-2); 3.33 (dd, $J = 9.4, 9.4$ Hz, 1H, H-2).

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz, HSQC, HMBC): $\delta = 159.4$ (PhOCH_3); 138.9, 138.8, 138.7, 138.7, 138.7, 138.7, 138.1, 137.9, 137.7, 137.7, 137.7, 137.6 (C_{arom}); 133.9 ($\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$); 130.1, 129.8, 128.4, 128.4, 128.3, 128.3, 128.3, 128.2, 128.2, 128.2, 127.8, 127.7, 127.7, 127.6, 127.6, 127.6, 127.2, 127.1, 127.1, 127.1, 127.0, 126.5, 126.4, 126.4, 126.4, 126.4 (C_{arom}); 117.6 ($\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$); 113.9 (PhOCH_3); 102.7 (C-1¹); 97.1, 96.9, 96.9, 96.9, 96.7 (5xC-1); 84.7 (C-3¹); 82.3 (C-2¹); 81.7, 81.2, 81.1, 81.0, 80.9 (5xC-3); 79.4, 79.1, 79.1, 79.0, 77.8 (5xC-2); 75.5, 74.8 (2xOCH₂Ph); 74.7 (C-5¹); 74.7 ($\text{CH}_2\text{PhOCH}_3$); 74.1, 74.0, 74.0, 74.0, (4xOCH₂Ph); 73.7, 73.3, 73.3 (3xC-4(5)); 73.3 (OCH₂Ph); 73.1, 73.1 (2xC-4(5)); 73.1, 73.1, 73.0, 73.0, 73.0 (5xOCH₂Ph); 72.3 (C-5); 72.2 (C-4¹); 71.9, 71.9, 71.8, 71.7 (4xC-5(4)); 70.5 ($\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$); 62.3, 62.0, 61.9, 61.9, 61.9, 61.7 (6xC-6); 55.3 (CH_3OPh).

ESI-HRMS: m/z calculated for C₁₃₁H₁₄₆NaO₃₂ [M+Na]⁺: 2253.9689; found: 2253.9835.

Allyl *O*-[2,3-di-*O*-benzyl-4-*O*-(4-methoxybenzyl)- α -D-glucopyranosyl]-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2,3-di-*O*-benzyl- β -D-glucopyranoside (144)



TBAF (1M in THF, 60 μ L, 60.0 μ mol, 4 equiv) was added to a solution of **128** (75 mg, 15.0 μ mol) in dry THF (240 μ L, 0.05 M) under atmosphere of argon. After stirring 24 h at 60 $^{\circ}$ C, dry MeOH (240 μ L, 0.025 M) and a solution of MeONa in dry MeOH (1 M, 60 μ L, 60.0 μ mol, 4 equiv) was added to the mixture. After stirring overnight at 60 $^{\circ}$ C, the solution was neutralized with ion-exchange resin (Dowex 50WX8-400 H⁺), filtered, concentrated. The resulting mixture was diluted with EtOAc (50 mL), and washed with saturated aq. NaHCO₃ solution (50 mL) and brine (50 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered, and concentrated. Then the residue was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂/MeOH 9/1, v/v) to yield **144** as white solid (48 mg, 14.7 μ mol, 98 %). TLC: R_f = 0.47 (CH₂Cl₂/MeOH 9/1, v/v).

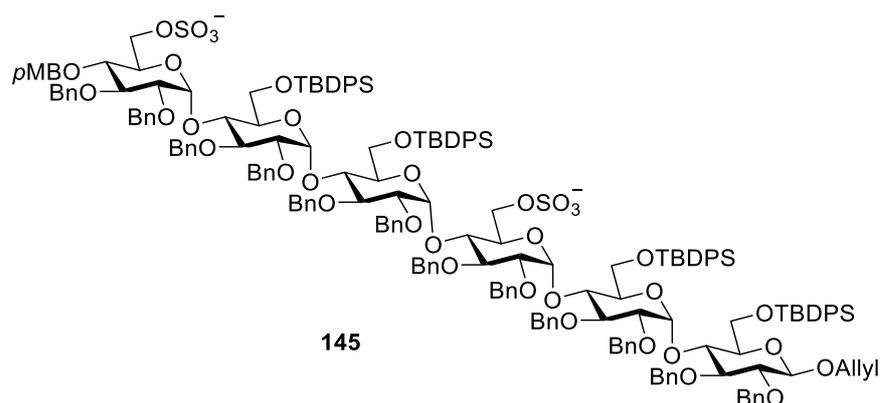
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz, H-H COSY, HSQC, HMBC): δ = 7.29-7.01 (m, 92H, H_{arom}); 6.82 (d, J = 8.9 Hz, 2H, PhOCH₃); 5.95 (dddd, J = 17.0, 10.5, 6.0, 5.0 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 5.62 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.54 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.54 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.53 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.53 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.49 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.48 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.44 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.33 (ddd, J = 17.0, 3.0, 1.5 Hz, 1H, CH₂-CH=CH_H); 5.21 (ddd, J = 10.5, 3.0, 1.5 Hz, 1H, CH₂-CH=CH_H); 4.99-4.36 (m, 40H, 36xOCH_HPh, OCH_HPhOCH₃ (4.75), H-1¹ (4.54), OCH_HPhOCH₃ (4.50), CH_H-CH=CH₂ (4.42)); 4.16 (dddd, J = 13.0, 6.0, 1.5, 1.5 Hz, 1H, CH_H-CH=CH₂); 4.08-3.70 (m, 41H, H-4¹ (4.08), 8xH-3, H-3¹ (3.81), 8xH-4, 8xH-5, 15xH-6); 3.75 (s, 3H, CH₃OPh); 3.59-3.44 (m, 11H, 3xH-6, H-2¹ (3.51), H-5¹ (3.50), 6xH-2); 3.41 (dd, J = 9.5, 3.7 Hz, 1H, H-2); 3.35 (dd, J = 9.4, 9.4 Hz, 1H, H-2).

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz, HSQC, HMBC): δ = 159.4 (PhOCH₃); 138.9, 138.9, 138.8,

138.8, 138.8, 138.8, 138.8, 138.7, 138.3, 138.1, 137.9, 137.9, 137.9, 137.8 (C_{arom}); 134.0 (CH₂-CH=CH₂); 130.4, 129.6, 128.3, 128.2, 128.2, 128.2, 128.2, 128.1, 127.7, 127.6, 127.6, 127.6, 127.5, 127.5, 127.4, 127.2, 127.1, 127.1, 127.1, 127.0, 127.0, 126.6, 126.6, 126.6, 126.6, 126.5 (C_{arom}); 117.4 (CH₂-CH=CH₂); 113.9 (*Ph*OCH₃); 102.8 (C-1^I); 97.1, 96.9, 96.8, 96.8, 96.8, 96.8, 96.7 (8xC-1); 84.6 (C-3^I); 82.3 (C-2^I); 81.7, 81.0, 81.0, 81.0, 80.9, 80.9, 80.9, 80.8 (8xC-3); 79.6, 79.2, 79.2, 79.1, 79.1, 79.1, 79.0, 77.9 (8xC-2); 75.3 (OCH₂Ph); 74.9 (C-5^I); 74.6 (OCH₂Ph); 74.5 (CH₂PhOCH₃); 74.1 (C-4(5)); 74.0, 73.9 (2xOCH₂Ph); 73.9 (C-4(5)); 73.9, 73.9, 73.8, 73.8 (4xOCH₂Ph); 73.7, 73.5, 73.4, 73.4, 73.4, 73.2 (6xC-4(5)); 73.2, 73.1, 73.1, 73.1, 73.1, 73.1, 73.0, 73.0, 73.0, 73.0 (10xOCH₂Ph); 72.8 (C-5(4)); 72.6 (C-4^I); 72.4, 72.1, 72.0, 71.9, 71.9, 71.9, 71.9 (7xC-5(4)); 70.5 (CH₂-CH=CH₂); 62.3, 62.1, 62.1, 62.1, 62.1, 62.1, 61.9 (8xC-6); 55.3 (CH₃O⁻Ph).

ESI-HRMS: *m/z* calculated for C₁₃₁H₁₄₆NaO₃₂ [M+Na]⁺: 2253.9689; found: 2253.9835.

Allyl *O*-[2,3-di-*O*-benzyl-4-*O*-(4-methoxybenzyl)-6-*O*-sulfonato- α -D-glucopyranosyl]-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-sulfonato- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- β -D-glucopyranoside (145)



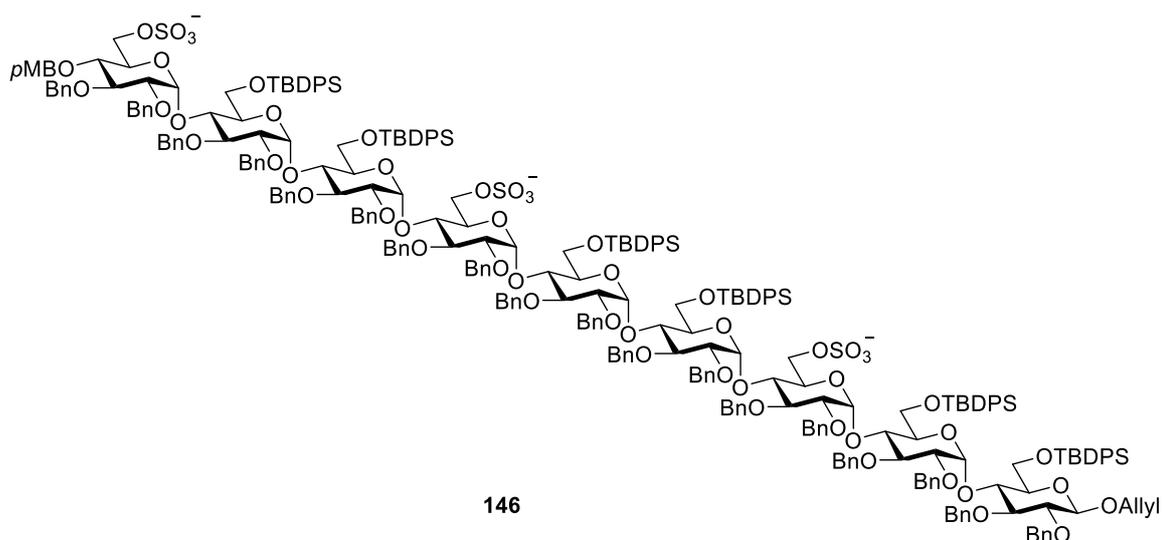
Sulfur trioxide pyridine complex (29 mg, 183.0 μ mol, 10 equiv) was added to a solution of **137** (59 mg, 18.3 μ mol) in pyridine (613 μ L, 0.03 M). The solution was protected from light, and heated at 55 $^{\circ}$ C. After stirring for 16 h, the mixture was cooled to 0 $^{\circ}$ C, MeOH (119 μ L, 2.93 mmol, 160 equiv) and NEt₃ (46 μ L, 0.33 mmol, 18 equiv) were then added

to quench the reaction. The resulting mixture was purified by gel-filtration chromatography (Sephadex LH-20), eluting with CH₂Cl₂/MeOH (1/1, with 1 % Et₃N, v/v) to give crude ditriethylammonium salt **145-NHEt₃⁺** (67 mg, 18.9 μmol, quantitative, HPLC analysis pending). After chromatography on ion exchange resin (BioRad AG50WX8-200 Na⁺, eluting with MeOH), a more stable crude compound **145-Na⁺** (64 mg, 18.9 μmol, quantitative) was thus obtained as a disodium salt.

Ditriethylammonium salt (145-NHEt₃⁺)

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 7.71-7.49 (m, 18H, H_{arom}); 7.41-6.96 (m, 84H, H_{arom}); 6.82 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, PhOCH₃); 5.96 (dddd, *J* = 17.0, 10.5, 6.0, 5.0 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 5.77 (d, 1H, *J* = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.63 (d, 1H, *J* = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.62 (d, 1H, *J* = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.55 (d, 1H, *J* = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.47 (d, 1H, *J* = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.32 (ddd, *J* = 17.0, 3.0, 1.5 Hz, 1H, CH₂-CH=CHH); 5.19 (ddd, *J* = 10.5, 3.0, 1.5 Hz, 1H, CH₂-CH=CHH); 5.02-3.10 (m, 65H, 24xOCHHPh, 2xOCHHPhOCH₃, H-1¹, 2xCHH-CH=CH₂, 6xH-3, 6xH-4, 6xH-5, 12xH-6, 6xH-2); 3.78 (s, 3H, CH₃OPh); 2.78 (q, *J* = 7.2 Hz, 12H, NH(CH₂CH₃)₃); 1.07 (t, *J* = 7.2 Hz, 18H, NH(CH₂CH₃)₃); 1.01 (s, 9H, tBuSi); 0.98 (s, 9H, tBuSi); 0.94 (s, 9H, tBuSi); 0.90 (s, 9H, tBuSi).

Allyl *O*-[2,3-di-*O*-benzyl-4-*O*-(4-methoxybenzyl)-6-*O*-sulfonato- α -D-glucopyranosyl]-(1→4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1→4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1→4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-sulfonato- α -D-glucopyranosyl)-(1→4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1→4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1→4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-sulfonato- α -D-glucopyranosyl)-(1→4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- α -D-glucopyranosyl)-(1→4)-2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- β -D-glucopyranoside (146)



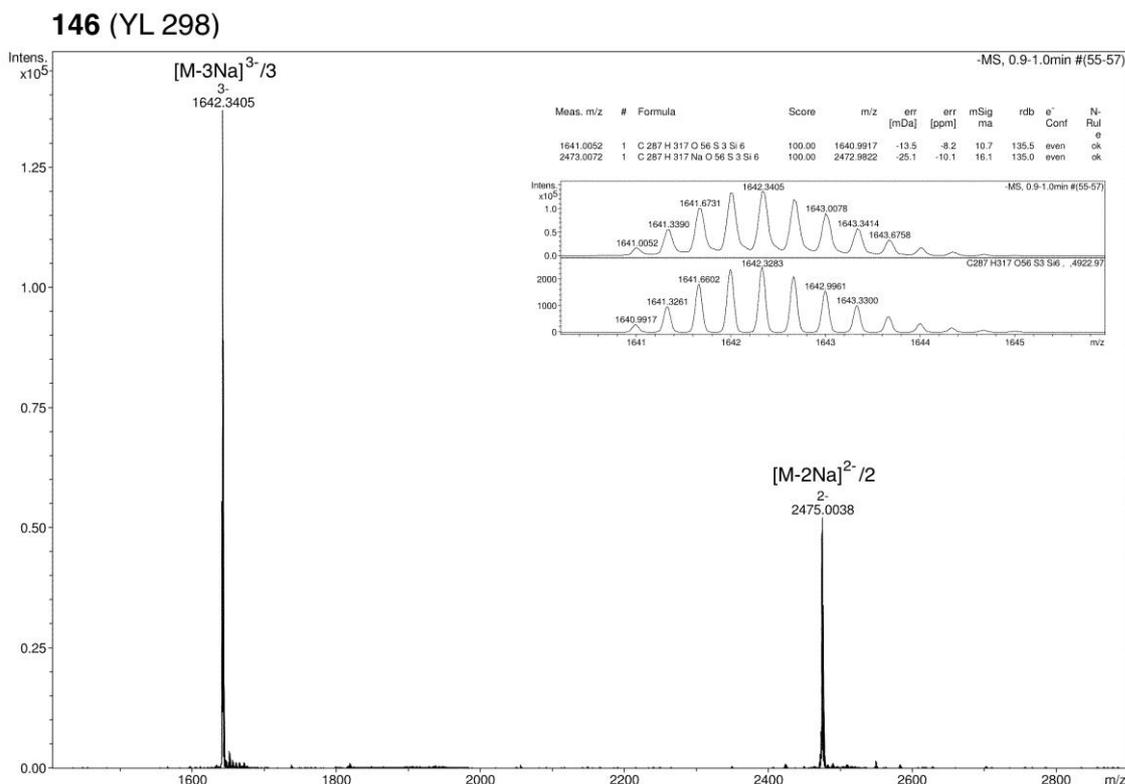
Sulfur trioxide pyridine complex (55 mg, 349.0 μmol , 15 equiv) was added to a solution of **138** (109 mg, 23.2 μmol) in pyridine (1165 μL , 0.02 M). The solution was protected from light, and heated at 55 $^{\circ}\text{C}$. After stirring for 42 h, the mixture was cooled to 0 $^{\circ}\text{C}$, MeOH (226 μL , 5.58 mmol, 240 equiv) and NEt_3 (88 μL , 0.63 mmol, 27 equiv) were then added to quench the reaction. The resulting mixture was purified by gel-filtration chromatography (Sephadex LH-20), eluting with $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (1/1, with 1 % Et_3N , v/v) to give crude tritriethylammonium salt **146-NHEt₃⁺** (114 mg, 21.8 μmol , 94 %, HPLC analysis pending). After chromatography on ion exchange resin (BioRad AG50WX8200 Na^+ , eluting with MeOH), a more stable crude compound **146-Na⁺** (107 mg, 21.4 μmol , 92 %) was thus obtained as a trisodium salt.

Tritriethylammonium salt (**146-NHEt₃⁺**)

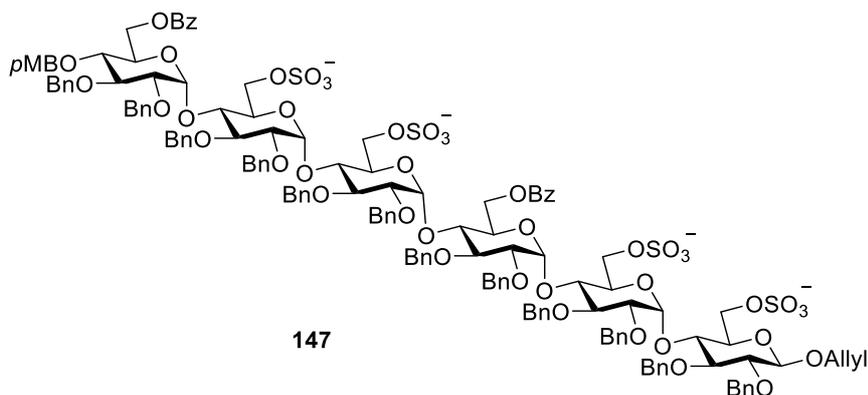
¹H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 7.71-7.48 (m, 26H, H_{arom}); 7.39-6.95 (m, 136H, H_{arom}); 6.82 (d, J = 8.9 Hz, 2H, PhOCH_3); 5.94 (dddd, J = 17.0, 10.5, 6.0, 5.0 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 5.73 (d, 1H, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.68 (d, 1H, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.62 (d, 1H, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.61 (d, 1H, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.60 (d, 1H, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.54 (d, 1H, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.53 (d, 1H, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.51 (d, 1H, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.31 (ddd, J = 17.0, 3.0, 1.5 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CHH}$); 5.18 (ddd, J = 10.5, 3.0, 1.5 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CHH}$); 5.03-3.02 (m, 95H, $36 \times \text{OCH}_2\text{HPh}$, $2 \times \text{OCH}_2\text{HPhOCH}_3$, H-1¹, $2 \times \text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$, 9xH-3, 9xH-4, 9xH-5, 18xH-6, 9xH-2); 3.77 (s, 3H, CH_3OPh); 2.77 (q, J = 7.2 Hz, 18H, $\text{NH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$); 1.04 (t, J = 7.2 Hz, 27H, $\text{NH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$); 1.01 (s, 9H, $t\text{BuSi}$); 0.98 (s, 9H, $t\text{BuSi}$); 0.96 (s, 9H, $t\text{BuSi}$); 0.96 (s, 9H, $t\text{BuSi}$); 0.93 (s, 9H, $t\text{BuSi}$); 0.90 (s, 9H, $t\text{BuSi}$).

Trisodium salt (146-Na⁺)

ESI-HRMS: m/z calculated for C₂₈₇H₃₁₇NaO₅₆S₃Si₆ [M-2Na]²⁻/2: 2472.9822; found: 2473.0072; C₂₈₇H₃₁₇O₅₆S₃Si₆ [M-3Na]³⁻/3: 1640.9917; found: 1641.0052.



Allyl *O*-[6-*O*-benzoyl-2,3-di-*O*-benzyl-4-*O*-(4-methoxybenzyl)- α -D-glucopyranosyl]-
(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-sulfonato- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-
benzyl-6-*O*-sulfonato- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(6-*O*-benzoyl-2,3-di-*O*-benzyl- α -D-
glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-sulfonato- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow
4)-2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-sulfonato- β -D-glucopyranoside (147)

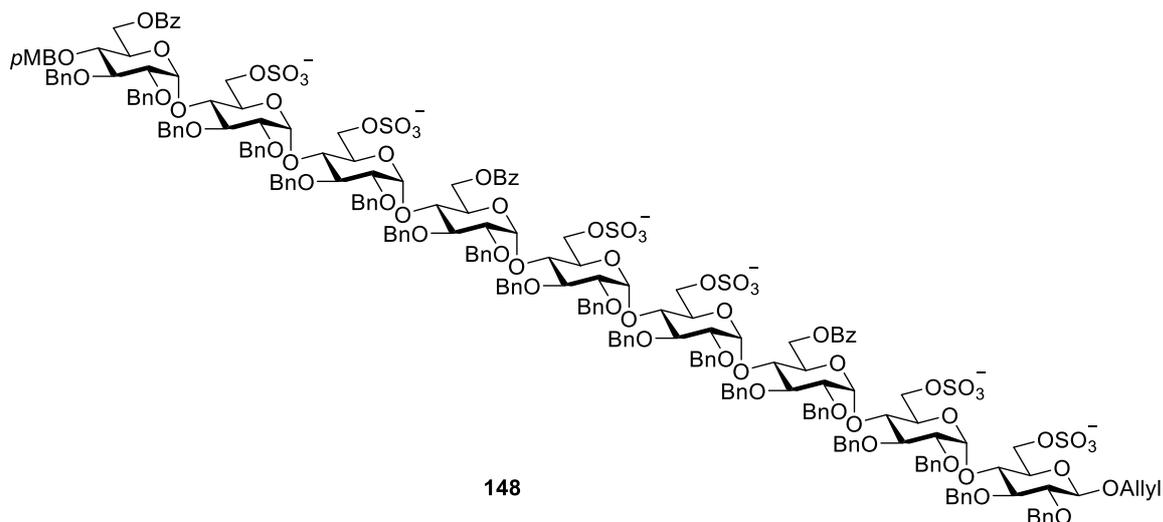


Sulfur trioxide pyridine complex (117 mg, 736.0 μmol , 20 equiv) was added to a solution of **139** (90 mg, 36.8 μmol) in pyridine (2450 μL , 0.015 M). The solution was protected from light, and heated at 55 $^{\circ}\text{C}$. After stirring for 16 h, the mixture was cooled to 0 $^{\circ}\text{C}$, MeOH (478 μL , 11.78 mmol, 320 equiv) and NEt_3 (185 μL , 1.33 mmol, 36 equiv) were then added to quench the reaction. The resulting mixture was purified by gel-filtration chromatography (Sephadex LH-20), eluting with $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (1/1, with 1 % Et_3N , v/v) to give crude tetratriethylammonium salt **147-NHEt₃⁺** (119 mg, 37.6 μmol , quantitative, HPLC analysis pending). After chromatography on ion exchange resin (BioRad AG50WX8-200 Na^+ , eluting with MeOH), a more stable crude compound **147-Na⁺** (106 mg, 37.2 μmol , quantitative) was thus obtained as a tetrasodium salt.

Tetratriethylammonium salt (**147-NHEt₃⁺**)

¹H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 8.086(d, J = 8.0 Hz, 2H, PhC=O); 8.00 (d, J = 8.0 Hz, 2H, PhC=O); 7.57-7.45(m, 2H, H_{arom}); 7.45-7.37 (m, 4H, H_{arom}); 7.32-6.96 (m, 62H, H_{arom}); 6.73 (d, J = 8.9 Hz, 2H, PhOCH₃); 5.92 (dddd, J = 17.0, 10.5, 6.0, 5.0 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 5.78 (d, 1H, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.71 (d, 1H, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.63 (d, 1H, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.50 (d, 1H, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.43 (d, 1H, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.32 (ddd, J = 17.0, 3.0, 1.5 Hz, 1H, CH₂-CH=CHH); 5.16 (ddd, J = 10.5, 3.0, 1.5 Hz, 1H, CH₂-CH=CHH); 4.98-3.34 (m, 65H, 24xOCHHPh, 2xOCHHPhOCH₃, H-1¹, 2xCHH-CH=CH₂, 6xH-3, 6xH-4, 6xH-5, 12xH-6, 6xH-2); 3.69 (s, 3H, CH₃OPh); 3.02 (q, J = 7.2 Hz, 24H, NH(CH₂CH₃)₃); 1.21 (t, J = 7.2 Hz, 36H, NH(CH₂CH₃)₃).

Allyl *O*-[6-*O*-benzoyl-2,3-di-*O*-benzyl-4-*O*-(4-methoxybenzyl)- α -D-glucopyranosyl]-*(1\rightarrow4)*-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-sulfonato- α -D-glucopyranosyl)-*(1\rightarrow4)*-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-sulfonato- α -D-glucopyranosyl)-*(1\rightarrow4)*-*O*-(6-*O*-benzoyl-2,3-di-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-*(1\rightarrow4)*-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-sulfonato- α -D-glucopyranosyl)-*(1\rightarrow4)*-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-sulfonato- α -D-glucopyranosyl)-*(1\rightarrow4)*-*O*-(6-*O*-benzoyl-2,3-di-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-*(1\rightarrow4)*-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-sulfonato- α -D-glucopyranosyl)-*(1\rightarrow4)*-2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-sulfonato- β -D-glucopyranoside (**148**)



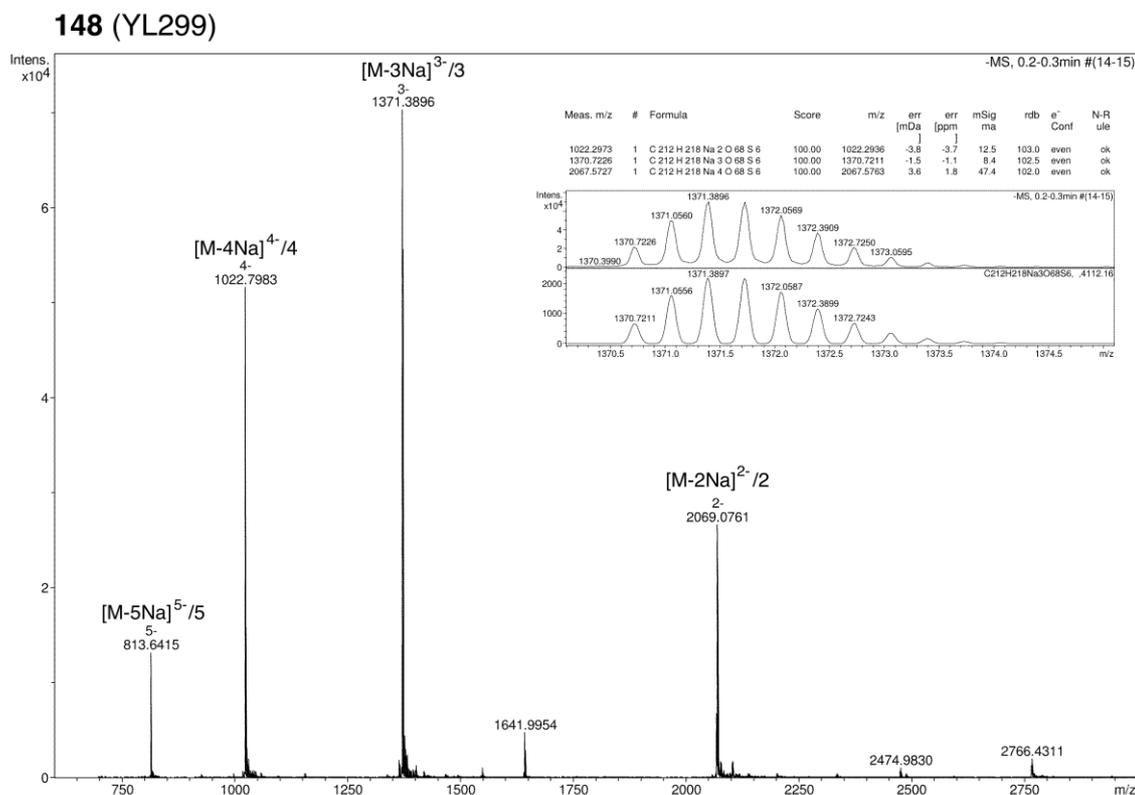
Sulfur trioxide pyridine complex (70 mg, 445.0 μmol , 30 equiv) was added to a solution of **140** (53 mg, 14.8 μmol) in pyridine (1485 μL , 0.01 M). The solution was protected from light, and heated at 55 $^{\circ}\text{C}$. After stirring for 18 h, the mixture was cooled to 0 $^{\circ}\text{C}$, MeOH (289 μL , 7.12 mmol, 480 equiv) and NEt_3 (112 μL , 0.80 mmol, 54 equiv) were then added to quench the reaction. The resulting mixture was purified by gel-filtration chromatography (Sephadex LH-20), eluting with $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (1/1, with 1 % Et_3N , v/v) to give crude hexatriethylammonium salt **148-NHEt₃⁺** (68 mg, 4.6 μmol , 99 %, HPLC analysis pending). After chromatography on ion exchange resin (BioRad AG50WX8-200 Na^+ , eluting with MeOH), a more stable crude compound **148-Na⁺** (61 mg, 14.6 μmol , 99 %) was thus obtained as a hexasodium salt.

Hexatriethylammonium salt (**148-NHEt₃⁺**)

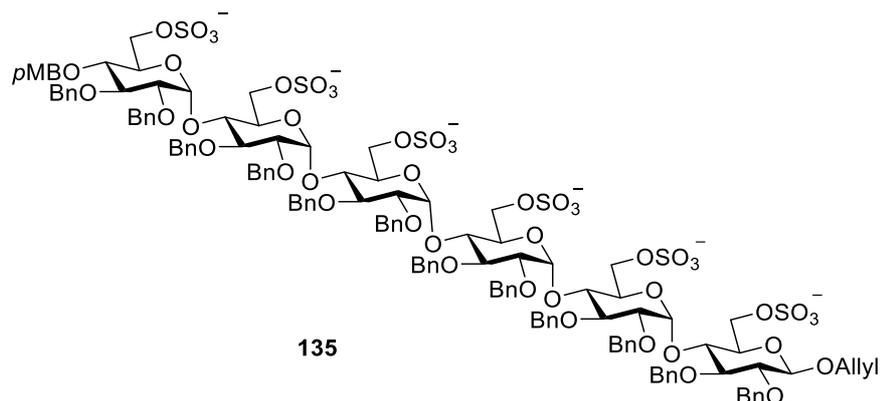
¹H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 8.05 (d, J = 8.0 Hz, 2H, PhC=O); 8.04 (d, J = 8.0 Hz, 2H, PhC=O); 7.99 (d, J = 8.0 Hz, 2H, PhC=O); 7.57-7.45 (m, 3H, H_{arom}); 7.44-7.36 (m, 6H, H_{arom}); 7.29-6.97 (m, 92H, H_{arom}); 6.72 (d, J = 8.9 Hz, 2H, PhOCH₃); 5.93 (dddd, J = 17.0, 10.5, 6.0, 5.0 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 5.77 (d, 1H, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.72 (d, 1H, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.70 (d, 1H, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.66 (d, 1H, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.63 (d, 1H, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.56 (d, 1H, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.49 (d, 1H, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.39 (d, 1H, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.32 (ddd, J = 17.0, 3.0, 1.5 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CHH}$); 5.17 (ddd, J = 10.5, 3.0, 1.5 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CHH}$); 5.01-3.27 (m, 95H, 36xOCH₂HPh, 2xOCH₂HPhOCH₃, H-1¹, 2xCH₂H-CH=CH₂, 9xH-3, 9xH-4, 9xH-5, 18xH-6, 9xH-2); 3.68 (s, 3H, CH₃OPh); 3.00 (q, J = 7.2 Hz, 36H, $\text{NH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$); 1.19 (t, J = 7.2 Hz, 54H, $\text{NH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$).

Hexasodium salt (148-Na⁺)

ESI-HRMS: m/z calculated for C₂₁₂H₂₁₈Na₄O₆₈S₆ [M-2Na]²⁻/2: 2067.5763; found: 2067.5727; C₂₁₂H₂₁₈Na₃O₆₈S₆ [M-3Na]³⁻/3: 1370.7211; found: 1370.7226; C₂₁₂H₂₁₈Na₂O₆₈S₆ [M-4Na]⁴⁻/4: 1022.2936; found: 1022.2973.



Allyl *O*-[2,3-di-*O*-benzyl-4-*O*-(4-methoxybenzyl)-6-*O*-sulfonato- α -D-glucopyranosyl]-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-sulfonato- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-sulfonato- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-sulfonato- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-sulfonato- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-sulfonato- β -D-glucopyranoside (135)



Sulfur trioxide pyridine complex (107 mg, 672.0 μmol , 30 equiv) was added to a solution of **143** (50 mg, 22.4 μmol) in pyridine (2240 μL , 0.01 M). The solution was protected from light, and heated at 55 $^{\circ}\text{C}$. After stirring for 18 h, the mixture was cooled to 0 $^{\circ}\text{C}$, MeOH (436 μL , 10.75 mmol, 480 equiv) and NEt_3 (169 μL , 1.21 mmol, 54 equiv) were then added to quench the reaction. The resulting mixture was purified by gel-filtration chromatography (Sephadex LH-20), eluting with $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (1/1, with 1 % Et_3N , v/v) to give crude hexatriethylammonium salt **135-NHEt₃⁺** (77 mg, 23.2 μmol , quantitative, HPLC analysis pending). After chromatography on ion exchange resin (BioRad AG50WX8-200 Na^+ , eluting with MeOH), a more stable crude compound **135-Na⁺** (67 mg, 23.6 μmol , quantitative) was thus obtained as a hexasodium salt.

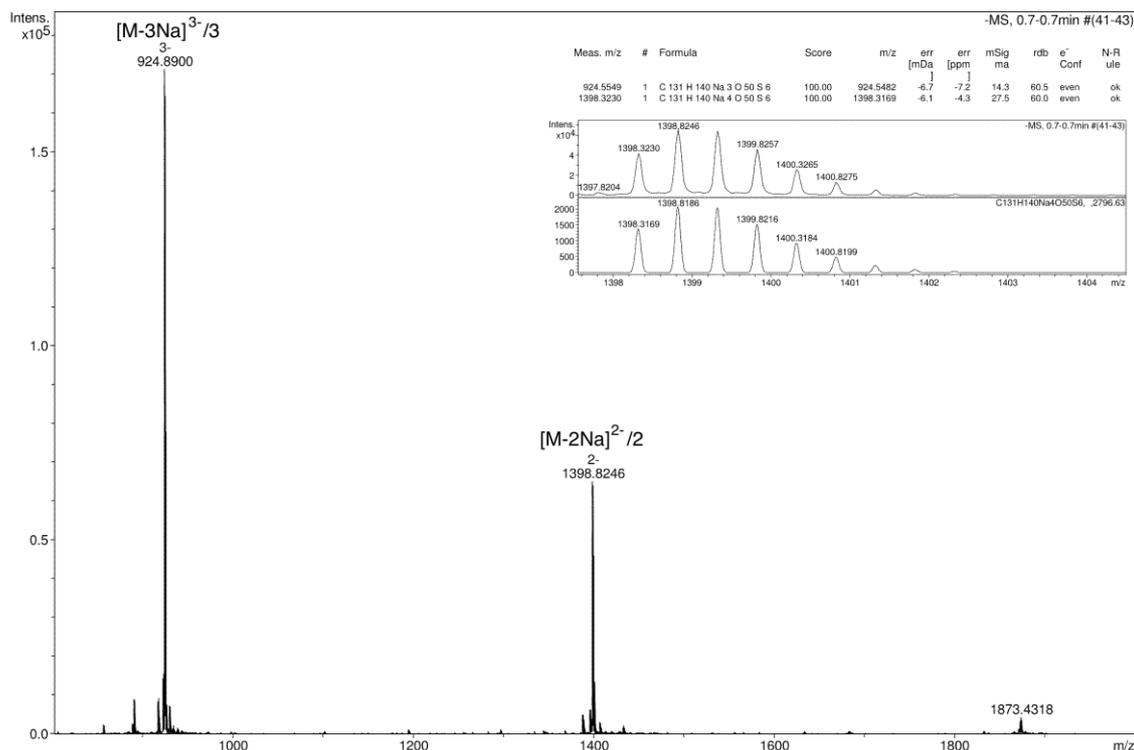
Hexatriethylammonium salt (**135-NHEt₃⁺**)

¹H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 7.32-6.98 (m, 62H, H_{arom}); 6.76 (d, J = 8.9 Hz, 2H, PhOCH_3); 5.91 (dddd, J = 17.0, 10.5, 6.0, 5.0 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 5.67 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.66 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.57 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.52 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.49 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.30 (ddd, J = 17.0, 3.0, 1.5 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CHH}$); 5.16 (ddd, J = 10.5, 3.0, 1.5 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CHH}$); 5.05-3.26 (m, 65H, 24x OCH_2HPh , 2x $\text{OCH}_2\text{HPhOCH}_3$, H-1¹, 2x $\text{CHH-CH}=\text{CH}_2$, 6xH-3, 6xH-4, 6xH-5, 12xH-6, 6xH-2); 3.74 (s, 3H, CH_3OPh); 3.05 (q, J = 7.2 Hz, 36H, $\text{NH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$); 1.22 (t, J = 7.2 Hz, 54H, $\text{NH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$).

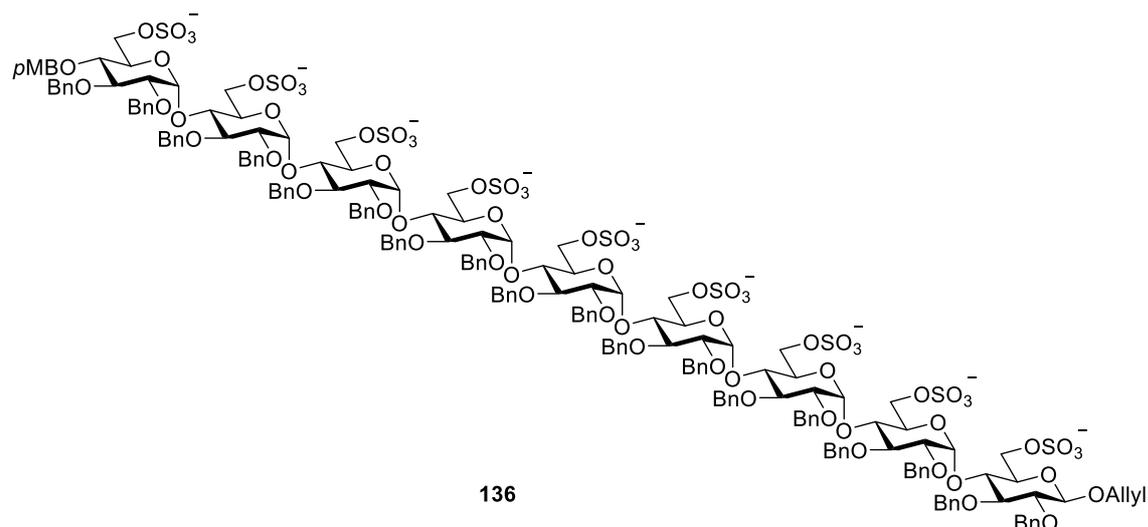
Hexasodium salt (**135-Na⁺**)

ESI-HRMS: m/z calculated for $\text{C}_{131}\text{H}_{140}\text{Na}_4\text{O}_{50}\text{S}_6$ $[\text{M}-2\text{Na}]^{2-}/2$: 1398.3169; found: 1398.3230; for $\text{C}_{131}\text{H}_{140}\text{Na}_3\text{O}_{50}\text{S}_6$ $[\text{M}-3\text{Na}]^{3-}/3$: 924.5492; found: 924.5549.

135 (YL293)



Allyl *O*-[2,3-di-*O*-benzyl-4-*O*-(4-methoxybenzyl)-6-*O*-sulfonato- α -D-glucopyranosyl]-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-sulfonato- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-sulfonato- β -D-glucopyranoside (136)



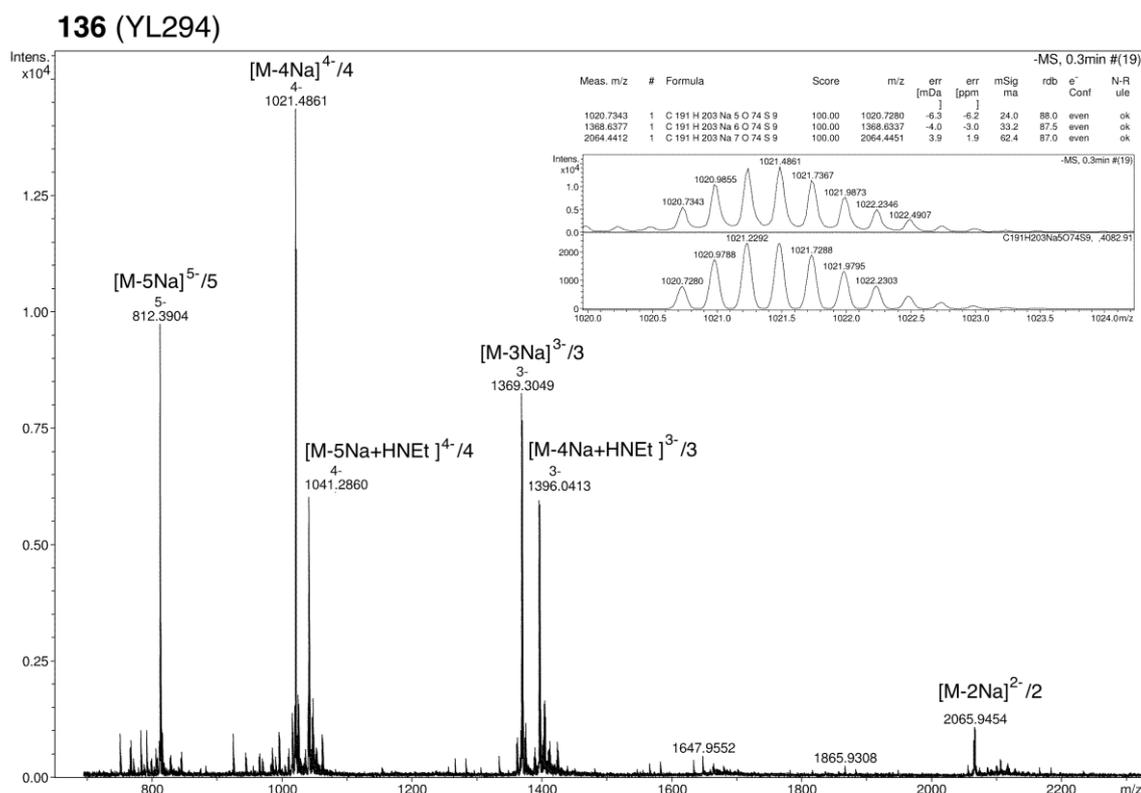
Sulfur trioxide pyridine complex (85 mg, 535.5 μmol , 45 equiv) was added to a solution of **144** (39 mg, 11.9 μmol) in pyridine (1790 μL , 0.0067 M). The solution was protected from light, and heated at 55 $^{\circ}\text{C}$. After stirring for 18 h, the mixture was cooled to 0 $^{\circ}\text{C}$, MeOH (348 μL , 8.57 mmol, 720 equiv) and NEt_3 (135 μL , 0.96 mmol, 81 equiv) were then added to quench the reaction. The resulting mixture was purified by gel-filtration chromatography (Sephadex LH-20), eluting with $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (1/1, with 1 % Et_3N , v/v) to give crude nonatriethylammonium salt **136-NHEt₃⁺** (58 mg, 11.9 μmol , quantitative, HPLC analysis pending). After chromatography on ion exchange resin (BioRad AG50WX8-200 Na^+ , eluting with MeOH), a more stable crude compound **136-Na⁺** (50 mg, 11.9 μmol , quantitative) was thus obtained as a nonasodium salt.

Nonatriethylammonium salt (**136-NHEt₃⁺**)

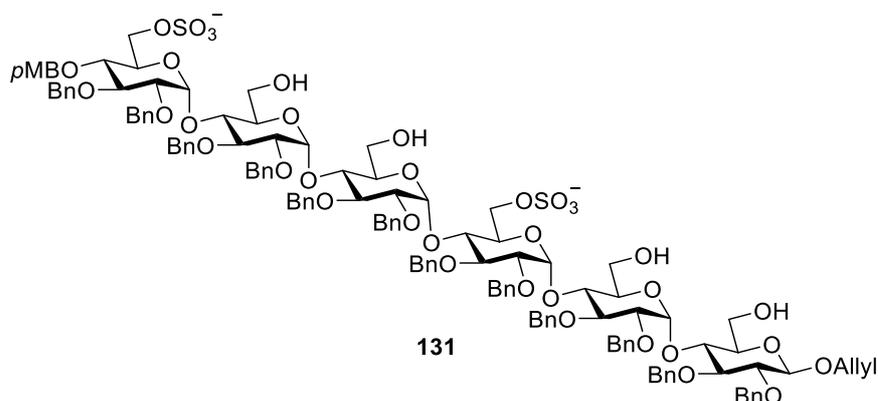
¹H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 7.34-7.00 (m, 92H, H_{arom}); 6.77 (d, J = 8.9 Hz, 2H, PhOCH_3); 5.91 (dddd, J = 17.0, 10.5, 6.0, 5.0 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$); 5.73 (d, 1H, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.70 (d, 1H, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.67 (d, 1H, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.66 (d, 1H, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.65 (d, 1H, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.61 (d, 1H, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.54 (d, 1H, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.50 (d, 1H, J = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.31 (ddd, J = 17.0, 3.0, 1.5 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CHH}$); 5.16 (ddd, J = 10.5, 3.0, 1.5 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CHH}$); 5.03-3.27 (m, 95H, 36x OCH_2HPh , 2x $\text{OCH}_2\text{HPhOCH}_3$, H-1¹, 2x $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$, 9xH-3, 9xH-4, 9xH-5, 18xH-6, 9xH-2); 3.75 (s, 3H, CH_3OPh); 3.05 (q, J = 7.2 Hz, 54H, $\text{NH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$); 1.22 (t, J = 7.2 Hz, 81H, $\text{NH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$).

Nonasodium salt (**136-Na⁺**)

ESI-HRMS: m/z calculated for $C_{191}H_{203}Na_7O_{74}S_9$ $[M-2Na]^{2-}/2$: 2064.4451; found: 2064.4412; $C_{191}H_{203}Na_6O_{74}S_9$ $[M-3Na]^{3-}/3$: 1368.6337; found: 1368.6377; $C_{191}H_{203}Na_5O_{74}S_9$ $[M-4Na]^{4-}/4$: 1020.7280; found: 1020.7343.



Allyl *O*-[2,3-di-*O*-benzyl-4-*O*-(4-methoxybenzyl)-6-*O*-sulfonato- α -D-glucopyranosyl]-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-sulfonato- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2,3-di-*O*-benzyl- β -D-glucopyranoside (131)



The crude ditriethylammonium salt **145-NHEt₃⁺** was treated with self-made ion exchange resin (Dowex 50WX8-400 NBu₄⁺, generated from H⁺ form, eluting with MeOH) to give the ditetrabutylammonium salt **145-NBu₄⁺**. A solution of TBAF in THF (1M, 392 μL, 392 μmol, 40 equiv) was then added to **145-NBu₄⁺** (36 mg, 9.8 μmol) under atmosphere of argon. After stirring 21 h at 60 °C, the resulting mixture was purified by gel-filtration chromatography (Sephadex LH-20), eluting with CH₂Cl₂/MeOH (1/1, v/v) to give crude ditetrabutylammonium salt **131-NBu₄⁺** (28 mg, 10.8 μmol, quantitative, HPLC analysis pending). After chromatography on ion exchange resin (BioRad AG50WX8-200 Na⁺, eluting with MeOH), a more stable crude compound **131-Na⁺** (26 mg, 10.7 μmol, quantitative) was thus obtained as a disodium salt.

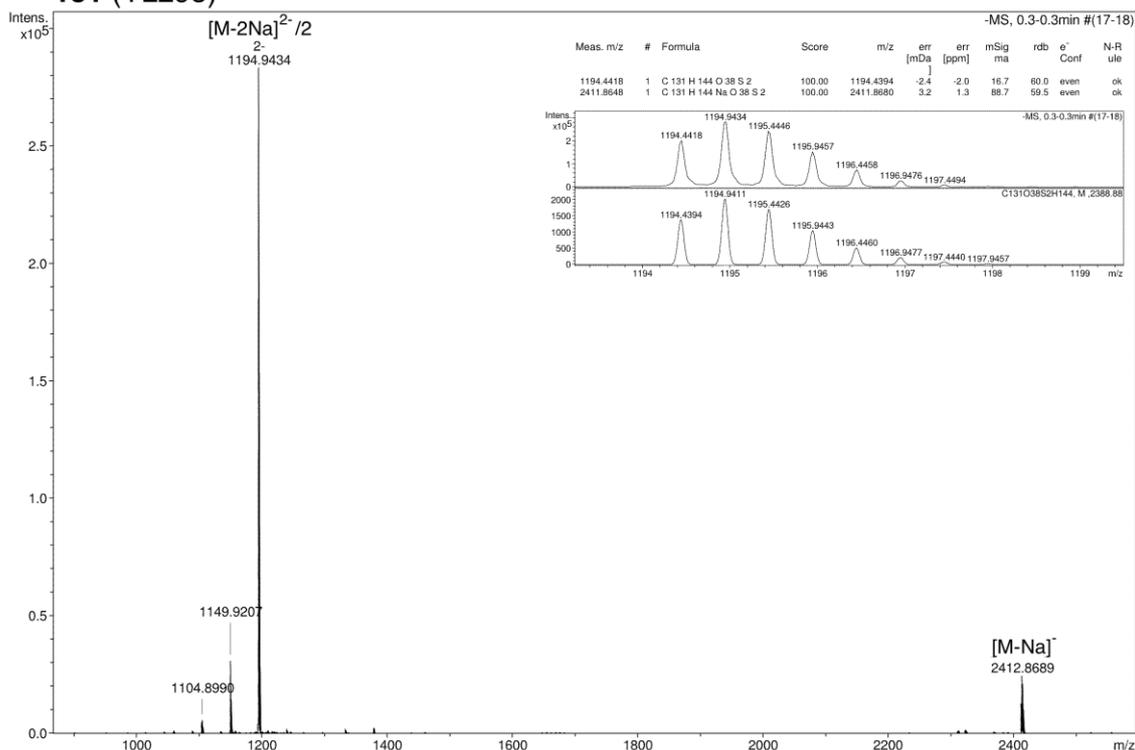
Ditetrabutylammonium salt (131-NBu₄⁺)

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 7.32-6.95 (m, 62H, H_{arom}); 6.80 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, *Ph*OCH₃); 5.91 (dddd, *J* = 17.0, 10.5, 6.0, 5.0 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 5.65 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.53 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.30 (ddd, *J* = 17.0, 3.0, 1.5 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 5.24 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.16 (ddd, *J* = 10.5, 3.0, 1.5 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 5.15 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.09 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H, H-1); 4.99-3.28 (m, 65H, 24xOCH₂Ph, 2xOCH₂PhOCH₃, H-1¹, 2xCH=CH₂, 6xH-3, 6xH-4, 6xH-5, 12xH-6, 6xH-2); 3.76 (s, 3H, CH₃O_{Ph}); 3.17 (m, 16H, N(CH₂CH₂CH₂CH₃)₄); 1.58 (m, 16H, N(CH₂CH₂CH₂CH₃)₄); 1.39 (m, 16H, N(CH₂CH₂CH₂CH₃)₄); 0.97 (t, *J* = 7.2 Hz, 24H, N(CH₂CH₂CH₂CH₃)₄).

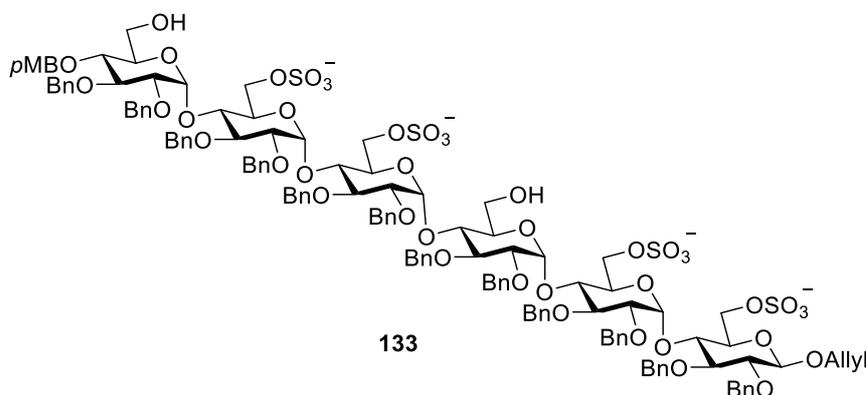
Disodium salt (131-Na⁺)

ESI-HRMS: *m/z* calculated for C₁₃₁H₁₄₄NaO₃₈S₂ [M-Na]⁻: 2411.8680; found: 2411.8648; C₁₃₁H₁₄₄NO₃₈S₂ [M-2Na]²⁻/2: 1194.4394; found: 1194.4418.

131 (YL295)



Allyl *O*-[2,3-di-*O*-benzyl-4-*O*-(4-methoxybenzyl)- α -D-glucopyranosyl]-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-sulfonato- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-sulfonato- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-sulfonato- α -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-sulfonato- β -D-glucopyranoside (133)



A solution of MeONa in dry MeOH (1 M, 263 μ L, 263 μ mol, 8 equiv) was added to a solution of **147** (94 mg, 32.8 μ mol) in mixed dry solvent MeOH/THF (65 μ L/328 μ L, 0.05 M) at room temperature under atmosphere of argon. After stirring for 42 h at 60 $^{\circ}$ C, the

solution was neutralized with ion-exchange resin (Dowex 50WX8-400 H⁺), filtered, concentrated. The residue was purified by gel-filtration chromatography (Sephadex LH-20), eluting with CH₂Cl₂/MeOH (1/1, with 1 % Et₃N, v/v) to give crude tetratriethylammonium salt **133-NHEt₃⁺** (89 mg, 30.1 μmol, 92 %, HPLC analysis pending). After chromatography on ion exchange resin (BioRad AG50WX8-200 Na⁺, eluting with MeOH), a more stable crude compound **133-Na⁺** (79 mg, 30.0 μmol, 91 %) was thus obtained as a tetrasodium salt.

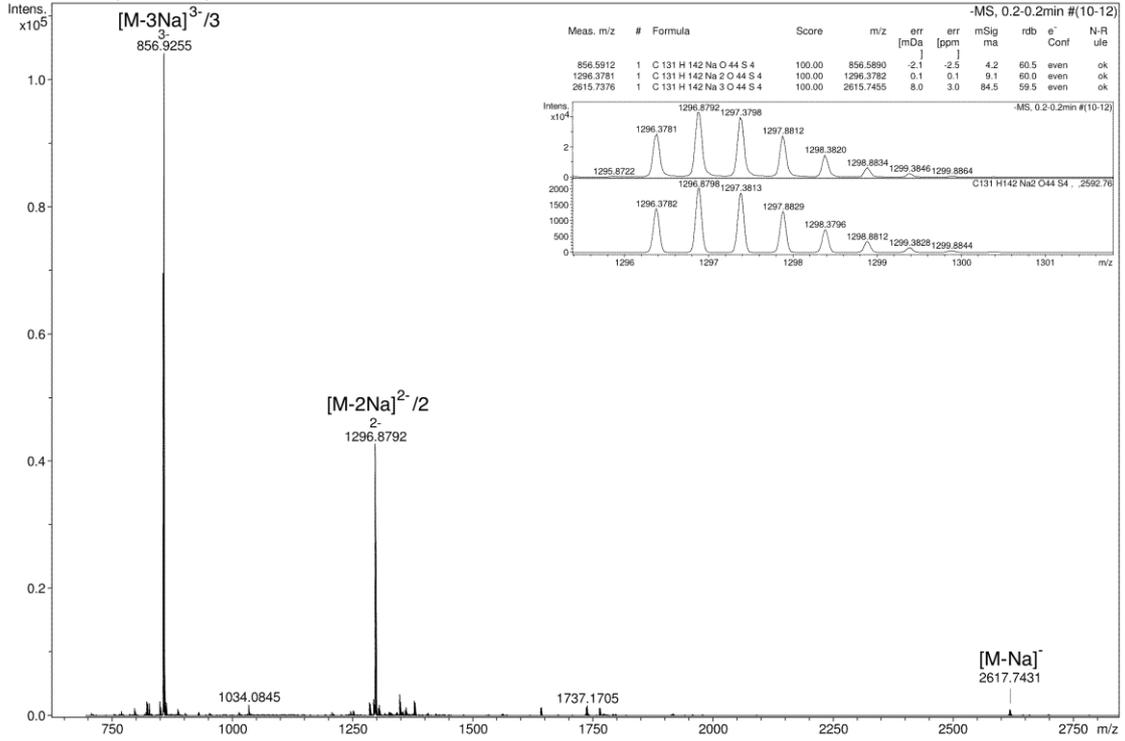
Tetratriethylammonium salt (133-NHEt₃⁺)

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 7.30-7.01 (m, 62H, H_{arom}); 6.80 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, *Ph*OCH₃); 5.91 (dddd, *J* = 17.0, 10.5, 6.0, 5.0 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 5.56 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.55 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.54 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.49 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.42 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H, H-1); 5.30 (ddd, *J* = 17.0, 3.0, 1.5 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 5.16 (ddd, *J* = 10.5, 3.0, 1.5 Hz, 1H, CH₂-CH=CH₂); 5.07-3.20 (m, 65H, 24xOCH₂HPh, 2xOCH₂HPhOCH₃, H-1¹, 2xCH=CH₂, 6xH-3, 6xH-4, 6xH-5, 12xH-6, 6xH-2); 3.76 (s, 3H, CH₃OPh); 3.02 (q, *J* = 7.2 Hz, 24H, NH(CH₂CH₃)₃); 1.21 (t, *J* = 7.2 Hz, 36H, NH(CH₂CH₃)₃).

Tetrasodium salt (133-Na⁺)

ESI-HRMS: *m/z* calculated for: C₁₃₁H₁₄₂Na₃O₄₄S₄ [M-Na]⁻: 2615.7455; found: 2615.7376; C₁₃₁H₁₄₂Na₂O₄₄S₄ [M-2Na]²⁻/2: 1296.3782; found: 1296.3781; C₁₃₁H₁₄₂NaO₄₄S₄ [M-3Na]³⁻/3: 856.5890; found: 856.5912.

133 (YL296)



RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] B. Casu, in *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, Vol. Volume 43 (Eds.: R. S. Tipson, H. Derek), Academic Press, **1985**, pp. 51-134.
- [2] R. Lever, C. P. Page, *Nat. Rev. Drug Discov.* **2002**, *1*, 140-148.
- [3] V. V. Kakkar, S. Kakkar, R. M. Sanderson, C. E. Peers, *Pathophysiol. Haemost. Thromb.* **1986**, *16(suppl 2)*, 19-24.
- [4] J. Fareed, D. A. Hoppensteadt, R. L. Bick, *Semin. Thromb. Hemost.* **2000**, *26*, 5-22.
- [5] H. Liu, Z. Zhang, R. J. Linhardt, *Nat. Prod. Rep.* **2009**, *26*, 313-321.
- [6] P. Sinaÿ, J.-C. Jacquinet, M. Petitou, P. Duchaussoy, I. Lederman, J. Choay, G. Torri, *Carbohydr. Res.* **1984**, *132*, C5-C9.
- [7] M. Petitou, P. Duchaussoy, I. Lederman, J. Choay, P. Sinaÿ, J.-C. Jacquinet, G. Torri, *Carbohydr. Res.* **1986**, *147*, 221-236.
- [8] C. A. A. van Boeckel, M. Petitou, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 1671-1690.
- [9] M. Petitou, C. A. A. van Boeckel, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 3118-3133.
- [10] P. Westerduin, J. E. M. Basten, M. A. Broekhoven, V. de Kimpe, W. H. A. Kuijpers, C. A. A. van Boeckel, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 331-333.
- [11] H. P. Wessel, M. Hosang, T. B. Tschopp, B.-J. Weimann, *Carbohydr. Res.* **1990**, *204*, 131-139.
- [12] H. P. Wessel, R. Minder, G. Englert, *J. Carbohydr. Chem.* **1995**, *14*, 1101-1115.
- [13] H. P. Wessel, J. Niggemann, *J. Carbohydr. Chem.* **1995**, *14*, 1089-1100.
- [14] H. P. Wessel, T. B. Tschopp, M. Hosang, N. Iberg, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 1419-1422.
- [15] T. Moriya, K. Saito, H. Kurita, K. Matsumoto, T. Otake, H. Mori, M. Morimoto,

- N. Ueba, N. Kunita, *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 1674-1677.
- [16] S. Cochran, C. Li, J. K. Fairweather, W. C. Kett, D. R. Coombe, V. Ferro, *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 4601-4608.
- [17] <https://www.evaluatepharma.com/Universal/View.aspx?type=Story&id=248425>.
- [18] V. Ferro, C. Li, K. Fewings, M. C. Palermo, R. J. Linhardt, T. Toida, *Carbohydr. Res.* **2002**, *337*, 139-146.
- [19] J. K. Fairweather, E. Hammond, K. D. Johnstone, V. Ferro, *Biorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 699-709.
- [20] J. Said, E. Trybala, E. Andersson, K. Johnstone, L. Liu, N. Wimmer, V. Ferro, T. Bergström, *Antiviral Res.* **2010**, *86*, 286-295.
- [21] V. Ferro, L. Liu, K. D. Johnstone, N. Wimmer, T. Karoli, P. Handley, J. Rowley, K. Dredge, C. P. Li, E. Hammond, K. Davis, L. Sarimaa, J. Harenberg, I. Bytheway, *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 3804-3813.
- [22] S. Vázquez-Campos, P. M. St. Hilaire, D. Damgaard, M. Meldal, *QSAR Comb. Sci.* **2005**, *24*, 923-942.
- [23] S. H. Kim, K. L. Kiick, *Peptides* **2007**, *28*, 2125-2136.
- [24] A. S. Fauci, *Science* **2006**, *313*, 409-409.
- [25] R. W. Shafer, J. M. Schapiro, *AIDS reviews* **2008**, *10*, 67-84.
- [26] K. H. Roux, K. A. Taylor, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2007**, *17*, 244-252.
- [27] S. C. Harrison, *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2008**, *15*, 690-698.
- [28] M. Caffrey, *Trends Microbiol.* **2011**, *19*, 191-197.
- [29] T. Matthews, M. Salgo, M. Greenberg, J. Chung, R. DeMasi, D. Bolognesi, *Nat. Rev. Drug Discov.* **2004**, *3*, 215-225.
- [30] M. Westby, E. v. d. Ryst, *Antiviral Chem. Chemother.* **2010**, *20*, 179-192.
- [31] D. Klatzmann, E. Champagne, S. Chamaret, J. Gruest, D. Guetard, T. Hercend, J. C. Gluckman, L. Montagnier, *Nature* **1984**, *312*, 767-768.
- [32] P. D. Kwong, R. Wyatt, J. Robinson, R. W. Sweet, J. Sodroski, W. A. Hendrickson, *Nature* **1998**, *393*, 648-659.
- [33] B. Chen, E. M. Vogan, H. Gong, J. J. Skehel, D. C. Wiley, S. C. Harrison, *Nature* **2005**, *433*, 834-841.
- [34] C. D. Rizzuto, R. Wyatt, N. Hernández-Ramos, Y. Sun, P. D. Kwong, W. A. Hendrickson, J. Sodroski, *Science* **1998**, *280*, 1949-1953.
- [35] O. Hartley, P. J. Klasse, Q. J. Sattentau, J. P. Moore, *AIDS Res. Hum. Retroviruses*

- 2005**, *21*, 171-189.
- [36] P.-F. Lin, W. Blair, T. Wang, T. Spicer, Q. Guo, N. Zhou, Y.-F. Gong, H.-G. H. Wang, R. Rose, G. Yamanaka, B. Robinson, C.-B. Li, R. Fridell, C. Deminie, G. Demers, Z. Yang, L. Zadjura, N. Meanwell, R. Colonno, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2003**, *100*, 11013-11018.
- [37] T. Zhou, L. Xu, B. Dey, A. J. Hessell, D. Van Ryk, S.-H. Xiang, X. Yang, M.-Y. Zhang, M. B. Zwick, J. Arthos, D. R. Burton, D. S. Dimitrov, J. Sodroski, R. Wyatt, G. J. Nabel, P. D. Kwong, *Nature* **2007**, *445*, 732-737.
- [38] W. Lai, L. Huang, P. Ho, Z. Li, D. Montefiori, C.-H. Chen, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2008**, *52*, 128-136.
- [39] A. C. Biorn, S. Cocklin, N. Madani, Z. Si, T. Ivanovic, J. Samanen, D. I. Van Ryk, R. Pantophlet, D. R. Burton, E. Freire, J. Sodroski, I. M. Chaiken, *Biochemistry* **2004**, *43*, 1928-1938.
- [40] T. Endreß, M. Lampe, J. A. G. Briggs, H.-G. Kräusslich, C. Bräuchle, B. Müller, D. C. Lamb, *Eur. Biophys. J.* **2008**, *37*, 1291-1301.
- [41] C. C. Rider, D. R. Coombe, H. A. Harrop, E. F. Hounsell, C. Bauer, J. Feeney, B. Mulloy, N. Mahmood, A. Hay, C. R. Parish, *Biochemistry* **1994**, *33*, 6974-6980.
- [42] G. Roderiquez, T. Oravec, M. Yanagishita, D. C. Bou-Habib, H. Mostowski, M. A. Norcross, *J. Virol.* **1995**, *69*, 2233-2239.
- [43] M. Moulard, H. Lortat-Jacob, I. Mondor, G. Roca, R. Wyatt, J. Sodroski, L. Zhao, W. Olson, P. D. Kwong, Q. J. Sattentau, *J. Virol.* **2000**, *74*, 1948-1960.
- [44] E. Crublet, J.-P. Andrieu, R. R. Vivès, H. Lortat-Jacob, *J. Biol. Chem.* **2008**, *283*, 15193-15200.
- [45] F. Baleux, L. Loureiro-Morais, Y. Hersant, P. Clayette, F. Arenzana-Seisdedos, D. Bonnaffe, H. Lortat-Jacob, *Nat. Chem. Biol.* **2009**, *5*, 743-748.
- [46] K. Ikeda, K. Konishi, M. Sato, H. Hoshino, K. Tanaka, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 2607-2609.
- [47] Bridgette J. Connell, F. Baleux, Y.-M. Coic, P. Clayette, D. Bonnaffé, H. Lortat-Jacob, *Chem. Biol.* **2012**, *19*, 131-139.
- [48] N. Sakairi, K. Matsui, H. Kuzuhara, *Carbohydr. Res.* **1995**, *266*, 263-268.
- [49] E. Farkas, L. Jánossy, J. Harangi, L. Kandra, A. Lipták, *Carbohydr. Res.* **1997**, *303*, 407-415.
- [50] D. Lesur, A. Gassama, V. Moreau, S. Pilard, F. Djedäini-Pilard, *Carbohydr. Res.*

- 2005**, *340*, 1225-1231.
- [51] R. Rodebaugh, B. Fraser-Reid, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 7663-7678.
- [52] E. A. Talley, M. D. Vale, E. Yanovsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1945**, *67*, 2037-2039.
- [53] M. Haribal, Z. Yang, A. B. Attygalle, J. A. A. Renwick, J. Meinwald, *J. Nat. Prod.* **2001**, *64*, 440-443.
- [54] E. Rodriguez, R. Stick, *Aust. J. Chem.* **1990**, *43*, 665-679.
- [55] K. i. Takeo, T. Imai, *Carbohydr. Res.* **1987**, *165*, 123-128.
- [56] D. Mukherjee, P. Kumar Ray, U. Sankar Chowdhury, *Tetrahedron* **2001**, *57*, 7701-7704.
- [57] H. P. Wessel, B. Mayer, G. Englert, *Carbohydr. Res.* **1993**, *242*, 141-151.
- [58] K. Shinkiti, H. Hisamitsu, S. Sonoko, H. Motoko, N. Teiko, M. Chika, F. Misuzu, G. Ayano, S. Tomoko, O. Masato, Z. Shonosuke, Y. Kazuo, T. Fumiya, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1995**, *68*, 2331-2348.
- [59] A. Pastore, M. Adinolfi, A. Iadonisi, *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, *2008*, 6206-6212.
- [60] U. Aich, D. Loganathan, *Carbohydr. Res.* **2006**, *341*, 19-28.
- [61] T. K. Lindhorst, C. Braun, S. G. Withers, *Carbohydr. Res.* **1995**, *268*, 93-106.
- [62] J. C. Morales, S. Penadés, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 5011-5014.
- [63] L. Zervas, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1931**, *64*, 2289-2296.
- [64] B. Thollas, J.-C. Jacquinet, *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 434-442.
- [65] C.-T. Chen, S.-S. Weng, J.-Q. Kao, C.-C. Lin, M.-D. Jan, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 3343-3346.
- [66] T. Fyrner, H.-H. Lee, A. Mangone, T. Ekblad, M. E. Pettitt, M. E. Callow, J. A. Callow, S. L. Conlan, R. Mutton, A. S. Clare, P. Konradsson, B. Liedberg, T. Ederth, *Langmuir* **2011**, *27*, 15034-15047.
- [67] P. Fügedi, *Carbohydr. Res.* **1989**, *192*, 366-369.
- [68] K. Takeo, H. Mitoh, K. Uemura, *Carbohydr. Res.* **1989**, *187*, 203-221.
- [69] P. R. Ashton, S. E. Boyd, G. Gattuso, E. Y. Hartwell, R. Koeniger, N. Spencer, J. F. Stoddart, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 3898-3903.
- [70] J. I. Padrón, J. T. Vázquez, *Tetrahedron: Asymmetry* **1998**, *9*, 613-627.
- [71] A. Roën, J. I. Padrón, J. T. Vázquez, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 4615-4630.
- [72] K.-i. Furuhata, K. Koganei, H.-S. Chang, N. Aoki, M. Sakamoto, *Carbohydr. Res.* **1992**, *230*, 165-177.
- [73] O. Gavard, Y. Hersant, J. Alais, V. Duverger, A. Dilhas, A. Bascou, D. Bonnaffé,

- Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 2003, 3603-3620.
- [74] A. V. Demchenko, *Curr. Org. Chem.* **2003**, 7, 35-79.
- [75] J.-H. Kim, H. Yang, J. Park, G.-J. Boons, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 12090-12097.
- [76] M. Teruaki, M. Yoshiyuki, S. Shin-ichiro, *Chem. Lett.* **1981**, 10, 431-432.
- [77] J. R. Pougny, J. C. Jacquinet, M. Nassr, D. Duchet, M. L. Milat, P. Sinay, *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, 99, 6762-6763.
- [78] H. Tokimoto, Y. Fujimoto, K. Fukase, S. Kusumoto, *Tetrahedron: Asymmetry* **2005**, 16, 441-447.
- [79] B. S. Komarova, Y. E. Tsvetkov, Y. A. Knirel, U. Zähringer, G. B. Pier, N. E. Nifantiev, *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 3583-3587.
- [80] G. Wulff, G. Röhle, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1974**, 13, 157-170.
- [81] K. Fukase, A. Hasuoka, I. Kinoshita, Y. Aoki, S. Kusumoto, *Tetrahedron* **1995**, 51, 4923-4932.
- [82] A. Demchenko, T. Stauch, G.-J. Boons, *Synlett* **1997**, 1997, 818-820.
- [83] M. A. Oberli, P. Bindschädler, D. B. Werz, P. H. Seeberger, *Org. Lett.* **2008**, 10, 905-908.
- [84] R. Lucas, D. Hamza, A. Lubineau, D. Bonnaffé, *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 2004, 2107-2117.
- [85] K.-H. Jung, M. Müller, R. R. Schmidt, *Chem. Rev.* **2000**, 100, 4423-4442.
- [86] T. Ziegler, A. Ritter, J. Hürttlen, *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 3715-3718.
- [87] G. Lemanski, T. Ziegler, *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 2006, 2618-2630.
- [88] M. Wakao, K. Fukase, S. Kusumoto, *Synlett* **1999**, 1999, 1911-1914.
- [89] A. Lubineau, H. Lortat-Jacob, O. Gavard, S. Sarrazin, D. Bonnaffé, *Chem. Eur. J.* **2004**, 10, 4265-4282.
- [90] S. Deydier, Glycosylation 1,2-cis : nouveaux intermédiaires réactionnels pour moduler la stéréosélectivité, thesis, Université Paris-Sud, **2008**.
- [91] B. Yu, H. Tao, *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 2405-2407.
- [92] M. Vasan, J. Rauvolfova, M. A. Wolfert, C. Leoff, E. L. Kannenberg, C. P. Quinn, R. W. Carlson, G.-J. Boons, *ChemBioChem* **2008**, 9, 1716-1720.
- [93] S. Serna, B. Kardak, N.-C. Reichardt, M. Martin-Lomas, *Tetrahedron: Asymmetry* **2009**, 20, 851-856.
- [94] D. R. Mootoo, P. Konradsson, U. Udodong, B. Fraser-Reid, *J. Am. Chem. Soc.*

- 1988**, *110*, 5583-5584.
- [95] M. Adinolfi, G. Barone, A. Iadonisi, M. Schiattarella, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 5573-5577.
- [96] M. Adinolfi, P. Galletti, D. Giacomini, A. Iadonisi, A. Quintavalla, A. Ravidà, *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, *2006*, 69-73.
- [97] M. Adinolfi, D. Giacomini, A. Iadonisi, A. Quintavalla, S. Valerio, *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, *2008*, 2895-2899.
- [98] R. R. Schmidt, A. Toepfer, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 3353-3356.
- [99] H. Satoh, H. S. Hansen, S. Manabe, W. F. van Gunsteren, P. H. Hünenberger, *J. Chem. Theory Comput.* **2010**, *6*, 1783-1797.
- [100] A. Lubineau, D. Bonnaffé, *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, *1999*, 2523-2532.
- [101] A. M. DiLauro, W. Seo, S. T. Phillips, *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 7352-7358.
- [102] D. Dailier, G. Danoun, O. Baudoin, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 4919-4922.
- [103] X. Zhang, Y. Zhou, J. Zuo, B. Yu, *Nat. Commun.* **2015**, *6*, 5879-5888.

Titre : Synthèse de Mimes de Fragments d'Héparane Sulfate Pour les Etudes de Relation Structure-Activité Sur un Nouveau Type d'Inhibiteur d'Entrée du VIH

Mots clés : Mimes d'Héparane Sulfate, Glycochimie, Oligomaltosides, Inhibiteur d'Entrée du VIH.

Résumé : Ce travail de thèse a pour objectif la simplification de la préparation d'un nouveau type d'inhibiteur d'entrée du VIH conçu, synthétisé et validé dans le cadre d'une collaboration entre le laboratoire, l'Institut de Biologie Structurale de Grenoble et l'Institut Pasteur de Paris. Ce prototype est constitué d'un mème fonctionnel de CD4 lié de façon covalente à un fragment dodécasaccharidique d'Héparane Sulfate dont la synthèse est complexe. Nous avons donc proposé de préparer des oligomaltosides sulfatés afin de déterminer s'ils pouvaient se comporter comme des mimes d'Héparane Sulfate.

Dans un premier temps, nous avons mis au point la synthèse d'un précurseur trisaccharidique oligomérisable à partir de maltotriose, un trisaccharide biosourcé commercial. Au cours de ce travail, nous avons résolu trois points particulièrement délicats : l'allylation de l'extrémité réductrice du maltotriose, l'installation d'un groupement paraméthoxybenzylidène en position O-4^{III} et O-6^{III} et la protection sélective des positions O-6^I et O-6^{II} par un groupement silylé. Les optimisations menées nous ont permis de limiter la formation des produits secondaires, d'augmenter le rendement de chaque étape. La synthèse définitive du trisaccharide oligomérisable comprend 8 étapes, a un bon rendement global de 44 % et peut être menée à des échelles allant jusqu'à 10 g.

Dans un deuxième temps, nous avons étudié les réactions de glycosylation $\alpha(1\rightarrow4)$ visant à oligomériser la brique maltotrioside : nous avons constaté qu'une activation des donneurs sous forme de N-phényltrifluoroacétimide (PTFA) est un meilleur choix que sous forme de trichloroacétimide (TCA). En effet, ces derniers subissent une réaction parasite du réarrangement de l'imide en trichloroacétamide. Nous avons aussi observé que le groupement benzoylé (Bz) en position O-6^{III} du donneur est préférable à

l'acétylé (Ac) qui est moins stable dans les conditions acides et basiques. Ensuite, nous avons synthétisé différents donneurs PTFA possédant différents groupements protecteurs en position O-6^I (TBDPS, TBDMS, Bn, *p*NO₂Bz, Piv, Ac et Bz). Nos études de glycosylation avec ces différents donneurs nous ont permis de conclure qu'un groupement TBDPS en position O-6^I permet d'obtenir de hauts rendements et une totale stéréosélectivité 1,2-cis dans les réactions de glycosylation et, de plus, est parfaitement indiqué comme groupement protecteur dans les étapes de diversifications ultérieures. Pour finir, nous avons optimisé différents paramètres comme : le promoteur, la température, l'ordre d'addition des réactifs, le type de tamis moléculaire, l'effet de solvant, le rapport donneur/accepteur, la concentration de l'accepteur et l'échelle de la réaction. Les conditions optimisées nous ont permis d'accéder efficacement, avec de bons rendements et une stéréosélectivité α totale, aux hexa, nona et dodécasaccharide protégés ciblés.

Dans un troisième temps, nous avons réussi à réaliser les étapes de déprotection et fonctionnalisation des oligomaltosides synthétisés : débenzoylation et désilylation chimiosélective (hexa et nonasaccharides), sulfatation (hexa et nonasaccharides), puis déprotection des groupements protecteurs résiduels (hexasaccharides).

La finalisation de ce projet impliquera de sulfater les nonasaccharides et de déprotéger les groupements protecteurs résiduels, puis d'introduire un espaceur fonctionnalisé sur tous les membres de la chimiothèque ainsi obtenue (hexa et nonasaccharides) et enfin de réaliser l'hydrogénolyse finale des groupements benzyles pour conduire aux oligomaltosides sulfatés libres dont les activités biologiques seront déterminées en collaboration avec nos partenaires.



Title : Synthesis of Heparan Sulfate Mimetics for Structure-Activity Relationship Studies on a New Type of HIV Entry Inhibitor Able to Target Directly the Virus

Keywords : Heparan Sulfate Mimetics, Glycochemistry, Oligomaltosides, HIV entry inhibitor.

Abstract : This thesis aims to simplify the preparation of a new type of HIV entry inhibitor which is designed, synthesized and would be validated through a collaboration with the laboratories Institute of Structural Biology in Grenoble and Pasteur Institute in Paris. The prototype consists of a functional mimic CD4 covalently bonded to a dodecasaccharide fragment of Heparan Sulfate whose synthesis is complicated. We therefore proposed to prepare sulfated oligomaltosides to determine if they could act as heparan sulfate mimetics.

Firstly, we developed an approach to the synthesis of a oligomerizable trisaccharide precursor starting from the commercially available bio-sourced trisaccharide maltotriose. In this work, we solved three particularly sensitive issues: the allylation of the reducing end of maltotriose, the installation of a paramethoxybenzylidene group at the O-4^{III} and O-6^{III} positions and selective protection of the O-6^I and O-6^{II} positions with a silyl group. The optimizations allowed us to limit the formation of by-products, and to increase the yield of each step. The accomplished synthesis of the oligomerizable trisaccharide includes 8 steps, has a good overall yield of 44% and can be conducted without problems on large scales up to 10 g.

Secondly, we studied the glycosylation reactions $\alpha(1\rightarrow4)$ for the oligomerization of the maltotrioside brick : we found that activation of donors in the form of N-phenyltrifluoroacetimidate (PTFA) is a better choice than the form of trichloroacetimidate (TCA) which undergo a side reaction of the rearrangement of the imidate of trichloroacetamide. We also observed that the benzoyl group (Bz) at the O-6^{III} position is preferable to the acetyl (Ac) which is less

stable in acidic and basic conditions. Then we synthesized various PTFA donors with different protecting groups at the O-6^I position (TBDPS, TBDMS, Bn, *p*NO₂Bz, Piv, Ac and Bz). Our glycosylation studies with these different donors have allowed us to conclude that TBDPS group at the O-6^I position provides high yields and total 1,2-cis stereoselectivity in glycosylation reactions and, furthermore, is perfectly suitable as a protecting group in the subsequent diversification steps. Finally, we optimized various parameters such as: the promoter, the temperature, the order of addition of reagents, the type of molecular sieve, the solvent effect, the donor / acceptor ratio, the concentration of the acceptor as well as the scale of the reaction. The optimized conditions allowed us to effectively access, with good yields and total α stereoselectivity, the desired protected hexa, nona and dodecasaccharide.

Thirdly, we managed to perform the deprotection and functionalization steps of the synthesized oligomaltosides : chemoselective debenzoylation and desilylation (hexa and nonasaccharides), sulfation (hexa and nonasaccharides), then deprotection of the remaining protecting groups (hexasaccharides).

The completion of this project will involve the sulfation of the nonasaccharides and the deprotection of the remaining protecting groups, then the introduction of a functionalized spacer on all members of the obtained combinatorial library (hexa and nonasaccharides), and at last the achievement of the final hydrogenolysis of the benzyl groups to give the free sulfated oligomaltosides whose biological activities will be determined by our collaboration partners.

