

MERCAPTOLYSE DU 2-ACÉTAMIDO-3-*O*-(D-1-CARBOXYÉTHYL)-2-DÉSOXY-D-GLUCOSE (ACIDE *N*-ACÉTYLMURAMIQUE)*

ALAIN VEYRIERES

*Laboratoire de Chimie des Composés Biologiques, Bât 420, Université de Paris-Sud,
91405-Orsay (France)*

(Reçu le 4 octobre 1973, accepté le 31 octobre 1973)

ABSTRACT

Treatment of 2-acetamido-3-*O*-(D-1-carboxyethyl)-2-deoxy-D-glucose (*N*-acetyl-muramic acid) with ethanethiol and hydrochloric acid gave a mixture of the acyclic dithioacetal (2) and the corresponding internal ester After substitution of the hydroxyl and carboxyl groups, the dithioacetal was transformed into the dimethyl acetal (5) by treatment with mercuric oxide and boron trifluoride etherate in anhydrous methanol Removal of the *O*-acetyl group with sodium methoxide afforded 2-acetamido-2-deoxy-5,6-*O*-isopropylidene-3-*O*-[D-1-(methoxycarbonyl)-ethyl]-D-glucose dimethyl acetal (6), but the reaction was very slow and led to partial decomposition

SOMMAIRE

Le traitement du 2-acétamido-3-*O*-(D-1-carboxyéthyl)-2-désoxy-D-glucose (acide *N*-acétylmuramique) par l'éthanethiol et l'acide chlorhydrique conduit à un mélange du dithio-acétal acyclique (2) et de l'ester interne correspondant Après protection des fonctions hydroxyliques et carboxylique, le passage au diméthyl acétal (5) est effectué à l'aide d'oxyde mercurique et d'éthérate de trifluorure de bore dans le méthanol anhydre L'enlèvement du groupement *O*-acétyle par le méthylate de sodium conduit au 2-acétamido-2-désoxy-5,6-*O*-isopropylidène-3-*O*-[D-1-(méthoxycarbonyl)éthyl]-D-glucose diméthyl acétal (6), mais la réaction se révèle très lente et s'accompagne d'une décomposition partielle

INTRODUCTION

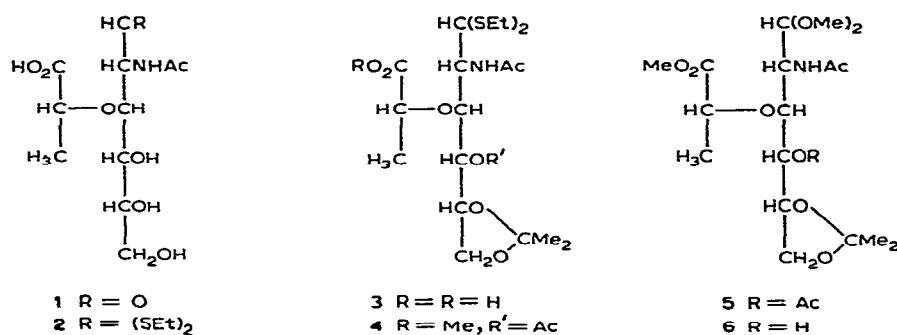
La synthèse de disaccharides à liaison (1→4) s'est souvent révélée difficile, par suite du manque de réactivité du groupe hydroxyle secondaire en C-4 de l'unité

*Synthèse de dérivés acycliques du 2-acétamido-3-*O*-(D-1-carboxyéthyl)-2-désoxy-D-glucose (acide *N*-acétylmuramique) Partie II, pour la partie I, voir Réf 2 Une communication préliminaire a été présentée¹

réductrice, lorsque celle-ci se trouve être un hexopyranose de conformation chaise 4C_1 , dont le groupe hydroxyle primaire a été préalablement acylé. Ce dernier fait a été interprété³ comme résultant d'une gène stérique par le groupement acyloxyméthyle en C-6. Dans le but de l'éliminer, ou au moins de la diminuer, et, par suite, d'accroître le rendement d'une condensation de type Koenigs-Knorr sur la position 4, des dérivés 1,6-anhydro à conformation chaise 1C_4 (Réf 4-6) ou des dérivés acycliques⁷⁻¹⁰ ont été utilisés avec un certain succès.

La synthèse du disaccharide 2-acétamido-4-*O*-(2-acétamido-2-désoxy- β -D-glucopyranosyl)-3-*O*-(D-1-carboxyéthyl)-2-désoxy-D-glucopyranose, dont la répétition régulière constitue la fraction glycannique du peptidoglycanne des parois bactériennes¹¹, nécessite en particulier le choix d'un dérivé convenable de l'acide *N*-acétylmuramique où seul le groupe hydroxyle en C-4 doit être libre. Merser et Sinay¹² ont récemment effectué la condensation d'un halogénure du 2-acétamido-2-désoxy-D-glucose avec le groupe hydroxyle en C-4 d'un dérivé 1,6-anhydro convenablement protégé de l'acide *N*-acétylmuramique, et ont pu ainsi obtenir, pour la première fois, un dérivé synthétique cristallin du disaccharide de base des parois bactériennes, identique au dérivé préparé à partir du disaccharide naturel¹³. La méthode à l'oxazoline¹⁴ conduit au même dérivé de façon plus rapide¹⁵.

Parallèlement à ce travail, l'emploi de dérivés acycliques, convenablement protégés, de l'acide *N*-acétylmuramique (**1**) a été logiquement envisagé. Une première série de tels dérivés a été récemment obtenue², par fixation d'une chaîne D-lactyle sur un dérivé acyclique connu du 2-acétamido-2-désoxy-D-glucose. L'obtention difficile de ces composés et leur manipulation délicate ne contribuent guère à en faire les précurseurs désignés pour la synthèse du disaccharide de base de la paroi bactérienne. Le présent travail envisage donc une autre approche, à partir de l'acide *N*-acétylmuramique (**1**) synthétique, conduisant finalement au diméthyl acétal du 2-acétamido-2-désoxy-5,6-*O*-isopropylidène-3-*O*-[D-1-(méthoxycarbonyléthyl)]-D-glucose (**6**).



RÉSULTATS ET DISCUSSION

La mercaptolyse directe des acides uroniques¹⁶ ou de l'acide *N*-acétyl-neuraminiq¹⁷ conduit à des mélanges d'acide et de lactone qu'il est souvent

difficile de séparer Le traitement de l'acide *N*-acétylmuramique par un excès d'éthane-thiol dans l'acide chlorhydrique concentré a effectivement conduit à un mélange de l'acide 2 et d'un ester interne, donnant lieu à un équilibre dans un solvant aqueux, après isolement, ce mélange s'est révélé instable en milieu acide, conduisant à un produit non identifié Un tel comportement a déjà été rapporté pour les dithio-acétals de l'acide D-glucuronique¹⁸ L'acide contenu dans le mélange a pu être caractérisé par son sel de potassium cristallin qui s'est révélé identique au dérivé préparé par Jacquinet et Sinay¹⁹

Lorsque le mélange d'acide 2 et d'ester interne est traité par l'acétone anhydre, en présence de quantités catalytiques d'acide sulfurique concentré, il y a fixation d'un groupement isopropylidène sur les positions 5 et 6 Bien que la teneur du mélange en ester interne soit augmentée, il est néanmoins possible d'isoler l'ester de l'acide 3 avec un rendement global de 48 % a partir de l'acide *N*-acétylmuramique (1), 3 a été caractérisé par le monohydrate cristallin de son sel de potassium

L'acide 3, obtenu par hydrolyse de son sel de potassium par une quantité stoechiométrique d'acide, est transformé en ester méthylique à l'aide de diazométhane Il a tendance, lui aussi, à redonner, par élimination de méthanol, l'ester interne Pour le stabiliser, le groupe hydroxyle en C-4 a dû être rapidement acétylé Le dérivé acétylé 4, obtenu sous forme d'un sirop distillable, est stable et a pu être obtenu analytiquement pur

La préparation d'un dérivé acyclique convenant à une condensation de Koenigs-Knorr, nécessite la transformation du groupement dithio-acétal en diacétal, car l'emploi de sels mercuriques, tels que le cyanure, comme catalyseur de la condensation, risque d'entraîner une rupture des liaisons carbone-soufre²⁰. Afin d'éviter une réaction de transestérification au niveau de l'ester méthylique, le choix s'est porté sur un diméthyl acétal.

Vedejs et Fuchs²¹ ont montré que les dithio-acétals peuvent être hydrolysés avec un bon rendement en aldéhydes correspondants à l'aide d'oxyde mercurique et d'éthérate de trifluorure de bore dans le tétrahydrofurane aqueux En utilisant les mêmes réactifs dans le méthanol anhydre, le diméthyl acétal 5 a été obtenu facilement à température ambiante avec un rendement de 85 % et sous forme cristalline

La O-desacétylation, catalysée par le méthylate de sodium, s'est révélée difficile et est accompagnée d'une décomposition partielle Toutefois, le dérivé 6 a été obtenu sous forme d'un sirop par chromatographie sur colonne de gel de silice, sa tendance à donner un ester interne par chauffage a empêché d'obtenir un échantillon analytiquement pur, mais l'analyse des spectres 1 r et de r m n prouve bien que la structure proposée est exacte Il est possible d'obtenir 6 avec un rendement comparable par hydrolyse alcaline suivie d'une réestérification de la fonction carboxylique par le diazométhane

Comme dans le cas des dérivés préparés par Coat *et al*², les composés obtenus ici sont d'accès difficile et ne possèdent qu'une stabilité assez faible Ils manifestent toujours une tendance à former en milieu acide un ester interne, ce qui semble les rendre peu désignés pour une synthèse de disaccharides à liaison (1→4)

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Méthodes générales — Les évaporations s'effectuent sous pression réduite, la température du bain-marie étant maintenue au-dessous de 45°. Les chromatographies sur couche mince (*c c m*) sont faites sur plaques recouvertes de gel de silice Merck (épaisseur 0,25 mm), les taches sont révélées par vaporisation d'une solution alcoolique d'anisaldehyde et d'acide sulfurique concentré et chauffage. Le gel de silice Merck (70–230 mesh) est utilisé pour les chromatographies sur colonne. Les points de fusion sont mesurés à l'aide d'un appareil Büchi. Les pouvoirs rotatoires sont déterminés au moyen d'un polarimètre digital Roussel et Jouan. Les spectres infrarouge (*i r*) sont enregistrés sur un spectrophotomètre Perkin-Elmer 257. Les spectres de résonance magnétique nucléaire (*r m n*) sont obtenus à l'aide d'un spectromètre Jeol C-60-H à 60 MHz, les déplacements chimiques τ étant exprimés en *p p m*, avec le tétraméthylsilane en référence interne (abréviations : *p*, proton, *s*, singulet, *d*, doublet, *q*, quadruplet). Les analyses élémentaires sont effectuées par le Laboratoire Central de Microanalyse du C N R S (Thiais, France).

2-Acétamido-3-O-(D-1-carboxyéthyl)-2-désoxy-D-glucose diéthyl dithio-acétal (2)

— L'acide *N*-acétylmuramique (**1**, 3,25 g, 10 mmoles) est ajouté en une seule fois à un mélange d'éthanethiol (40 ml) et d'acide chlorhydrique (dens 1,19, 25 ml) refroidi à 0°. Le mélange est agité à 0° pendant 48 h, puis dilué avec de l'eau (100 ml) et amené à pH 4 par addition de carbonate de plomb. Le précipité de sels de plomb est essoré et lavé plusieurs fois avec de l'éthanol bouillant (1000 ml au total). Le filtrat et les eaux de lavage sont évaporés à sec. Le résidu est repris par un peu d'éthanol absolu, les sels de plomb insolubles sont éliminés par filtration. Le filtrat, évaporé à sec conduit à une mousse blanche (3,5 g) qui est soigneusement séchée pendant plusieurs heures sous vide poussé. Une *c c m* dans le mélange chloroforme–éthanol (1:1, v/v) indique la présence d'un produit principal de R_F élevé et d'un produit de R_F très faible, qui n'ont pu être séparés par chromatographie sur colonne de gel de silice, car, en solution ils donnent lieu à un équilibre du type acide \rightleftharpoons lactone. Spectre *i r*: $\nu_{\text{max}}^{\text{Nujol}}$ 3280 (OH et NH), 1735 (C=O, acide et lactone), 1650 (amide I) et 1540 cm^{-1} (amide II).

Une portion (0,38 g) du mélange ci-dessus est traitée pendant une nuit à température ambiante par une solution d'hydroxyde de potassium 0,1M dans le méthanol (10 ml). Après passage d'un courant de gaz carbonique pendant 30 min, la solution est filtrée, puis évaporée à sec sous pression réduite à 25°. Le résidu solide est dissous par un peu d'éthanol absolu. Par addition d'acétate d'éthyle anhydre, le sel de potassium de l'acide **2** précipite. Il est recristallisé plusieurs fois dans un mélange de 2-propanol et d'eau, *p. f.* 177–179°, $[\alpha]_D^{20} -40,1^\circ$ (*c* 0,9, eau).

Anal. Calc pour $\text{C}_{15}\text{H}_{28}\text{KNO}_7\text{S}_2$: C, 41,17, H, 6,45, K, 8,94, N, 3,20, S, 14,65. Trouvé: C, 41,38; H, 6,52, K, 8,85, N, 3,29, S, 14,48.

2-Acétamido-3-O-(D-1-carboxyéthyl)-2-désoxy-5,6-O-isopropylidène-D-glucose diéthyl dithio-acétal (3) — Le mélange d'acide **2** et de son ester interne (6,2 g) est dissous dans l'acétone anhydre (100 ml) contenant de l'acide sulfurique (dens 1,83,

0,3 ml) La solution obtenue est agitée pendant 24 h à température ambiante en présence de tamis moléculaire 4 Å (10 g), puis neutralisée par addition de carbonate de potassium anhydre Les sels de potassium sont éliminés par filtration sur un lit de Célite et laves à l'acétone anhydre L'évaporation du filtrat et des eaux de lavage donne un sirop jaune pâle (6 g) qui est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice et élut par de l'acétate d'éthyle pur L'huile obtenue est distillée à 200° sous 0,05 mmHg pour donner un sirop jaune pâle très visqueux (4 g, 48% à partir de 1), encore légèrement contaminé par une impureté de R_F supérieur, spectre $\nu_{\text{max}}^{\text{film}}$ 3280 (NH), 1750 (C=O, lactone), 1660 (amide I) et 1520 cm^{-1} (amide II)

Cet ester interne est traité par l'hydroxyde de potassium 0,1M dans le méthanol Le sel de potassium de l'acide 3 ainsi obtenu est recristallisé dans un mélange d'éthanol et d'acétone, puis séché à 95° sous 0,1 mmHg Il contient une molécule d'eau de cristallisation, p_f 260–261° (dec), $[\alpha]_D^{20} -39,1^\circ$ (c 1,12, eau)

Anal Calc pour $\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{KNO}_7\text{S}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ C, 43,61, H, 6,91, K, 7,89, N, 2,83, S, 12,94 Trouvé C, 43,91, H, 6,88, K, 7,83, N, 3,25, S, 12,92

2-Acétamido-4-O-acetyl-2-désoxy-5,6-O-isopropylidene-3-O-[D-1-(methoxycarbonyl)éthyl]-D-glucose diéthyl dithio-acetal (4) — Le sel de potassium de 3 (0,50 g, 1 mmole) dans l'eau (10 ml) est traité à 0° par l'acide sulfurique 0,5M (1 ml), la solution est immédiatement extraite par l'éther (4 × 10 ml) L'extrait éthétré est lavé avec un peu d'eau, traité par un léger excès de diazométhane dans l'éther, et maintenu à 0° pendant quelques heures La solution est ensuite évaporée à sec, le sirop incolore obtenu (0,40 g) est chromatographiquement pur R_F 0,43 (acétate d'éthyle) Il est séché sous vide à température ambiante pendant quelques heures, puis traité pendant 24 h à température ambiante par un mélange de pyridine anhydre (2 ml) et d'anhydride acétique (2 ml) La solution est évaporée à sec plusieurs fois après addition de toluene Le sirop obtenu (0,45 g, 90% à partir du sel de potassium de 3) est chromatographiquement pur, R_F 0,60 (acétate d'éthyle) Il est distillé à 220° sous 0,1 mmHg, $[\alpha]_D^{20} -15,2^\circ$ (c , 1,15, chloroforme), spectre $\nu_{\text{max}}^{\text{film}}$ 3340 (NH), 1740 (C=O, ester), 1678 (amide I) et 1520 cm^{-1} (amide II), spectre de ν_{max} (chloroformé-*d*) τ 2,87 (1 p, NH), 4,95 (q, 1 p, $-\text{CHCO}_2\text{Me}$), 6,25 (s, 3 p, CO_2CH_3), 7,32 (4 p, $-\text{OCH}_2-$), 7,95 (6 p, Ac), 8,3–9,0 (15 p, CH_3)

Anal Calc pour $\text{C}_{21}\text{H}_{37}\text{NO}_8\text{S}_2$ C, 50,89, H, 7,52, N, 2,83, S, 12,94 Trouvé C, 50,36, H, 7,44, N, 2,75, S, 13,30

2-Acétamido-4-O-acetyl-2-désoxy-5,6-O-isopropylidène-3-O-[D-1-(méthoxycarbonyl)éthyl]-D-glucose diméthyl acétal (5) — Le dithio-acétal (4, 0,215 g) en solution dans le méthanol anhydre (5 ml) est traité à température ambiante par une solution d'éthérate de trifluorure de bore (0,123 g) dans le méthanol anhydre (5 ml) en présence d'oxyde mercurique jaune (0,188 g) Le produit de départ disparaît complètement au bout de 30 min, la réaction est suivie par ν_{max} dans l'acétate d'éthyle R_F 0,44 pour le composé 4, R_F 0,23 pour 5 Le mélange réactionnel est alors versé dans une solution aqueuse saturée d'hydrogénocarbonate de potassium sous agitation rapide, puis extrait plusieurs fois à l'éther L'extrait éthétré est séché, puis évaporé à sec Le sirop obtenu (0,189 g, 85%), distillé à environ 200° sous 0,01 mmHg, cristallisé

rapidement, p f 99–100°, $[\alpha]_D^{25} - 10,4^\circ$ (*c* 0,965, chloroforme), spectre I r ν_{\max}^{KBr} 3380 (NH), 1745 (C=O, ester), 1670 (amide I) et 1525 cm^{-1} (amide II), spectre de r m n (chloroforme-*d*) τ 2,55 (1 p, NH), 5,00 (q, 1 p, $-\text{CHCO}_2\text{Me}$), 6,22 (s, 3 p, CO_2CH_3), 6,62 (d, 6 p, $-\text{OCH}_3$), 7,92 (6 p, Ac), 8,5–8,7 (9 p, CH_3).

Anal Calc pour $\text{C}_{19}\text{H}_{33}\text{NO}_{10}$ C, 52,40, H, 7,64, N, 3,22 Trouvé C, 52,40, H, 7,52; N, 3,40

2-Acétamido-2-désoxy-5,6-O-isopropylidene-3-O-[D-1-(méthoxycarbonyl)ethyl]-D-glucose diméthyl acétal (6) — L'acétate 5 (0,4 g), en solution dans le méthanol anhydre (10 ml), est traité à température ambiante par une solution de méthylate de sodium M dans le méthanol (1 ml). Au bout de deux jours, la réaction atteint un équilibre (c c m dans chloroforme-éthanol, 9 1, v/v). Le mélange réactionnel est neutralisé par un courant de gaz carbonique, puis évaporé à sec et chromatographié sur colonne de gel de silice dans l'éluant chloroforme-éthanol, 9 1, v/v. Le composé 6 est obtenu sous forme de sirop (0,15 g, 42 %), $[\alpha]_D^{25} - 8,3^\circ$ (*c* 1,2, chloroforme), spectre I r ν_{\max}^{film} 3340 (NH, OH), 1740 (C=O, ester), 1660 (amide I) et 1530 cm^{-1} (amide II), spectre de r m n (chloroforme-*d*) τ 2,58 (1 p, NH), 6,18 (s, 3 p, CO_2CH_3), 6,55 (d, 6 p, $-\text{OCH}_3$), 6,80 (1 p, OH, disparaît en présence de D_2O), 7,90 (3 p, Ac), 8,5–8,6 (9 p, CH_3)

REMERCIEMENTS

L'auteur remercie vivement le Professeur R W Jeanloz, Boston, pour les discussions et suggestions fructueuses concernant ce travail, et le Professeur S David, Orsay, pour son aide matérielle.

REFÉRENCES

- 1 J C JACQUINET, P SINAY ET A VEYRIERES, *Abstr Papers Amer Chem Soc Meet*, New-York 164 (1972) Carb 29
- 2 J P COAT, J M PETIT ET P SINAY, *C R Acad Sci, Paris Ser C* 272 (1971) 1582
- 3 J M WILLIAMS ET A C RICHARDSON, *Tetrahedron*, 23 (1967) 1369
- 4 W T HASKINS, R M HANN ET C S HUDSON, *J Amer Chem Soc*, 64 (1942) 1852
- 5 Y RABINSOHN, A JACHER ET D SHAPIRO, *J Org Chem*, 38 (1973) 202
- 6 F SCHMITT ET P SINAY, *Carbohydr Res*, 29 (1973) 99
- 7 E J C CURTIS ET J K N JONES, *Can J Chem*, 37 (1959) 358
- 8 K HEYNES, K PROPP, R HARRISON ET H PAULSEN, *Chem Ber*, 100 (1967) 2655
- 9 M A E SHABAN ET R W JEANLOZ, *Carbohydr Res*, 20 (1971) 399
- 10 A KLEMER ET U KRASKA, *Tetrahedron Lett*, (1972) 431
- 11 M J R SALTON, *The Bacterial Cell Wall*, Elsevier, Amsterdam, 1964, p 137
- 12 C MERSER ET P SINAY, *Tetrahedron Lett*, (1973) 1029
- 13 N SHARON, T OSAWA, H M FLOWERS ET R W JEANLOZ, *J Biol Chem*, 241 (1966) 223
- 14 S E ZURABYAN, T S ANTONENKO ET A YA KHORLIN, *Carbohydr Res*, 15 (1970) 21
- 15 C MERSER ET P SINAY, résultats non publiés
- 16 H ZINNER ET W THIELEBEULE, *Chem Ber*, 93 (1960) 2791
- 17 R KUHN ET R BROSSMER, *Ann*, 624 (1959) 137
- 18 M L WOLFROM ET K ONODERA, *J Amer Chem Soc*, 79 (1957) 4737
- 19 J C JACQUINET ET P SINAY, *Carbohydr Res*, 34 (1974) sous presse
- 20 F MICHEEL, E VELKER ET E A WITTE, *Tetrahedron Lett*, 5 (1971) 451
- 21 E VEDEJS ET P L FUCHS, *J Org Chem*, 36 (1971) 366