

SYNTHÈSE DES 2-ACÉTAMIDO-2-DÉSOXY-6-*O*- α - ET β -D-XYLOPYRANOSYL- α -D-GLUCOPYRANOSE*

JEAN-RENÉ PUGNY ET PIERRE SINAÏ†

Laboratoire de Biochimie Structurale, U.E.R. de Sciences Fondamentales et Appliquées,
45045 Orléans (France)

(Reçu le 21 mai 1974; accepté le 25 juin 1974)

ABSTRACT

2-Acetamido-2-deoxy-6-*O*- β -D-xylopyranosyl- α -D-glucopyranose has been synthesized in crystalline form by condensation of 2,3,4-tri-*O*-acetyl- α -D-xylopyranosyl chloride (1) with benzyl 2-acetamido-3,4-di-*O*-acetyl-2-deoxy- β -D-glucopyranoside (2), followed by *O*-deacetylation and catalytic hydrogenation. Condensation of 2 with 2,3,4-tri-*O*-chlorosulfonyl- β -D-xylopyranosyl chloride, followed by dechlorosulfonylation and acetylation, gave benzyl 2-acetamido-3,4-di-*O*-acetyl-2-deoxy-6-*O*-(2,3,4-tri-*O*-acetyl- α -D-xylopyranosyl)- β -D-glucopyranoside in crystalline form. *O*-Deacetylation, followed by catalytic hydrogenation, gave 2-acetamido-2-deoxy-6-*O*- α -D-xylopyranosyl- α -D-glucopyranose in crystalline form.

SOMMAIRE

Le 2-acétamido-2-désoxy-6-*O*- β -D-xylopyranosyl- α -D-glucopyranose a été synthétisé sous forme cristalline par condensation du chlorure de 2,3,4-tri-*O*-acétyl- α -D-xylopyranosyle (1) avec le benzyl-2-acétamido-3,4-di-*O*-acétyl-2-désoxy- β -D-glucopyranoside (2), suivie d'une *O*-désacétylation et d'une hydrogénation catalytique. La condensation de 2 avec le chlorure de 2,3,4-tri-*O*-chlorosulfonyl- β -D-xylopyranosyle, suivie d'une déchlorosulfonylation et d'une acétylation, donne le benzyl-2-acétamido-3,4-di-*O*-acétyl-2-désoxy-6-*O*-(2,3,4-tri-*O*-acétyl- α -D-xylopyranosyl)- β -D-glucopyranoside sous forme cristalline. Une *O*-désacétylation, suivie d'une hydrogénation catalytique, donne le 2-acétamido-2-désoxy-6-*O*- α -D-xylopyranosyl- α -D-glucopyranose sous forme cristalline.

INTRODUCTION

Le D-xylose est un élément constitutif d'un petit nombre de glycoprotéines. C'est ainsi que Fukuda *et al.*¹ ont observé une libération de D-xylose par traitement

*Ce travail a bénéficié d'une subvention du Centre National de la Recherche Scientifique.

†Auquel doivent être adressées les demandes de tirés-à-part.

de la bromélaïne d'ananas avec une β -D-xylosidase. Selon Yasuda *et al.*², le D-xylose serait lié à un résidu de 2-acétamido-2-désoxy-D-glucose, en une position qui reste à préciser. Dans le cadre d'un programme général de synthèse d'oligosides naturels à base de 2-acétamido-2-désoxy-D-glucose, nous décrivons ici les synthèses non équivoques des 2-acétamido-2-désoxy-6-O- α - et β -D-xylopyranosyl- α -D-glucopyranose.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

La condensation du chlorure de 2,3,4-tri-O-acétyl- α -D-xylopyranosyle³ (**1**) avec le benzyl-2-acétamido-3,4-di-O-acétyl-2-désoxy- β -D-glucopyranoside⁴ (**2**) est effectuée dans le chloroforme en présence de carbonate d'argent, de sulfate de calcium anhydre et d'une quantité catalytique de perchlorate d'argent, dont le but est d'augmenter la vitesse de la réaction⁵. Dans ces conditions, le benzyl-2-acétamido-3,4-di-O-acétyl-2-désoxy-6-O-(2,3,4-tri-O-acétyl- β -D-xylopyranosyl)- β -D-glucopyranoside (**3**) est obtenu à l'état cristallin avec un rendement de l'ordre de 75 %. La O-désacétylation de ce composé est effectuée dans un mélange méthanol aqueux-triéthylamine. Le spectre de r.m.n. du produit de condensation **3** ne permet pas la localisation évidente du proton anomère interglycosidique. Les valeurs des pouvoirs rotatoires molaires de **3** et de son dérivé désacétylé **4** sont en faveur d'une anomérie β de la liaison interglycosidique (Tableau I). Le dioside 2-acétamido-2-désoxy-6-O- β -D-xylopyranosyl- α -D-glucopyranose (**5**) est obtenu à l'état cristallin après une hydrogénation catalytique de son benzyl-glycoside (**4**). Le sens de la mutarotation suggère, à l'état cristallin, une configuration α au niveau du centre réducteur.

Afin d'établir sans aucune ambiguïté la configuration au niveau de la liaison interglycosidique, la synthèse du 2-acétamido-2-désoxy-6-O- α -xylopyranosyl- α -D-

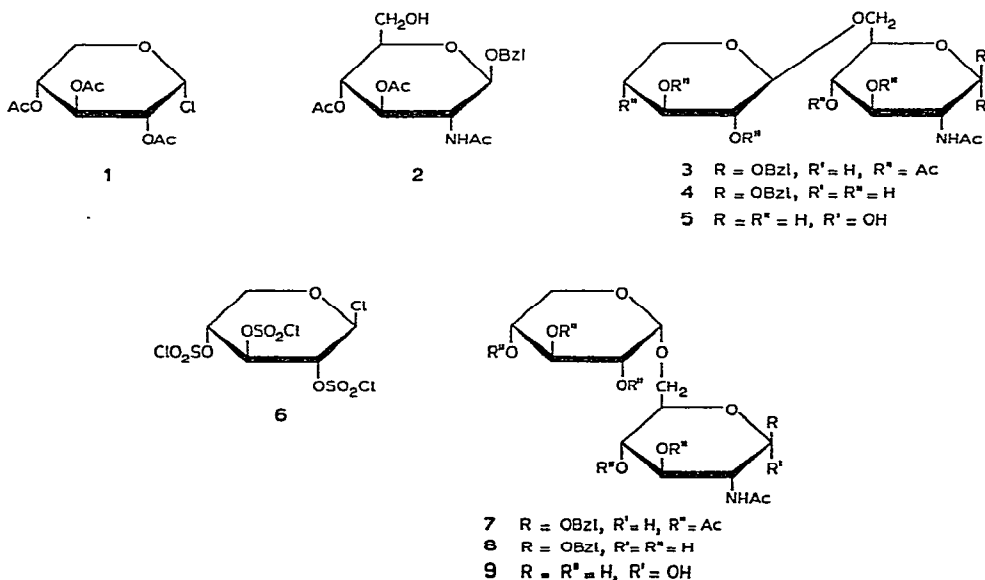


TABLEAU I

POUVOIRS ROTATOIRES MOLAIRES DES COMPOSÉS PRÉPARÉS, COMPARÉS À LA SOMME DES
POUVOIRS ROTATOIRES MOLAIRES DE LEURS CONSTITUANTS

Composés	$[M]_D$ (degrés) $\times 10^{-2}$
Méthyl-2,3,4-tri- <i>O</i> -acétyl- β -D-xylopyranoside ^a (Réf. 14) + composé 2 ^b (Réf. 4)	-228
Méthyl-2,3,4-tri- <i>O</i> -acétyl- α -D-xylopyranoside ^a (Réf. 14) + composé 2 ^b	+238
Composé 3 ^a	-470
Composé 7 ^a	+222
Méthyl- β -D-xylopyranoside ^c (Réf. 15) + benzyl-2-acétamido- 2-désoxy- β -D-glucopyranoside ^c (Réf. 16)	-257
Méthyl- α -D-xylopyranoside ^c (Réf. 15) + benzyl-2-acétamido- 2-désoxy- β -D-glucopyranoside ^c	+103
Composé 4 ^d	-319
Composé 8 ^e	+67

^aPouvoir rotatoire mesuré dans le chloroforme; ^bdans l'éthanol; ^cdans l'eau; ^ddans un mélange méthanol-eau, 1:4, v/v; ^edans un mélange éthanol-eau, 1:4, v/v.

glucopyranose (9) a été entreprise. Jennings⁶ a souligné l'intérêt du chlorure de 2,3,4-tri-*O*-chlorosulfonyl- β -D-xylopyranosyle (6) pour la synthèse d'un dioside à configuration α -D. Les groupements protecteurs temporaires chlorosulfonyles sont de nature non-participante⁷ et la réaction de glycosylation s'effectue avec inversion de configuration. Des résultats similaires ont été obtenus tout récemment avec le L-fucose^{8,9}. La condensation du chlorure 6 avec le benzyl-2-acétamido-3,4-di-*O*-acétyl-2-désoxy- β -D-glucopyranoside (2) est effectuée dans le chloroforme, en présence de carbonate d'argent, de sulfate de calcium anhydre et de perchlorate d'argent. Il est nécessaire d'utiliser un excès de chlorure 6 pour obtenir un rendement satisfaisant. Le produit de la condensation est, sans isolement, déchlorosulfonylé dans le méthanol à l'aide d'une quantité catalytique d'iodure de sodium et de carbonate de baryum¹⁰. Après acétylation, le benzyl-2-acétamido-3,4-di-*O*-acétyl-2-désoxy-6-*O*-(2,3,4-tri-*O*-acétyl- α -D-xylopyranosyl)- β -D-glucopyranoside (7) est obtenu à l'état pur avec un rendement de l'ordre de 50 %. La *O*-désacétylation de ce composé est effectuée dans un mélange méthanol aqueux-triéthylamine. La comparaison des pouvoirs rotatoires molaires des dérivés 3 et 7 d'une part, 4 et 8 d'autre part, confirme sans ambiguïté les anoméries assignées d'après le procédé de synthèse (Tableau I). Le dioside 2-acétamido-2-désoxy-6-*O*- α -D-xylopyranosyl- α -D-glucopyranose (9) est obtenu à l'état cristallin après une hydrogénation catalytique de son benzyl-glycoside (8). Le sens de la mutarotation suggère, à l'état cristallin et comme pour le dioside 5, une configuration α -D au niveau du centre réducteur. Les deux diosides 5 et 9 se séparent nettement lors de chromatographies sur papier, après révélation selon Trevelyan *et al.*¹¹, ainsi qu'en chromatographie en phase gazeuse, après réduction au borohydrure de sodium et per(triméthylsilyl)ation. La nature (1 \rightarrow 6) de la liaison interglycosidique est assurée par le choix du composé 2 dans le procédé de synthèse. En effet une éventuelle

migration du groupement 4-*O*-acétyle du composé **2** vers la fonction alcool primaire conduirait à un dérivé ne réagissant pratiquement pas^{1,2} avec les halogénures, dans les conditions employées. Il a d'ailleurs été montré⁴ que la protection temporaire de la position 4 n'était pas nécessaire pour la synthèse de diosides (1→6).

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Conditions générales. — Les points de fusion sont mesurés dans un tube capillaire au moyen d'un appareil Büchi et ne sont pas corrigés. Les pouvoirs rotatoires optiques sont déterminés au moyen d'un polarimètre Perkin-Elmer (Modèle 141), les spectres infra-rouge sont enregistrés sur un spectrophotomètre Jouan-Jasco IRA-1. Les chromatographies en phase gazeuse sont effectuées au moyen d'un appareil Girdel (Modèle 3000), muni d'un détecteur à ionisation de flamme, en utilisant une colonne en pyrex de 3 m remplie au moyen de 4% de OV-17 sur Gas-Chrom Q 80-100, la température du four étant programmée de 180 à 300° à raison de 5° par min. L'homogénéité des composés préparés est contrôlée par chromatographie sur des plaques de verre recouvertes de gel de silice Merck HF 254 (épaisseur 0,25 mm) et révélées par vaporisation d'une solution alcoolique à 50% d'acide sulfurique concentré et chauffage au moyen d'un épiradiateur. Les chromatographies sur colonne sont effectuées au moyen de gel de silice Merck (0,063–0,200 mm), les chromatographies sur papier au moyen de papier Whatman n° 1, en utilisant : acétate d'éthyle-pyridine-eau (8:2:1, v/v, mélange A); 1-propanol-acétate d'éthyle-eau (7:1:2, v/v, mélange B). Le chloroforme utilisé est exempt d'alcool et anhydre. Les analyses élémentaires ont été effectuées par le Service Central de Micro-Analyse du Centre National de la Recherche Scientifique (Thiais).

Benzyl-2-acétamido-3,4-di-O-acétyl-2-désoxy-6-O-(2,3,4-tri-O-acétyl-β-D-xylopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (3). — Une solution de benzyl-2-acétamido-3,4-di-O-acétyl-2-désoxy-β-D-glucopyranoside⁴ (**2**, 203 mg) dans le chloroforme (20 ml) est agitée, pendant une nuit, à l'abri de la lumière et à la température ambiante, en présence de carbonate d'argent (1,34 g), de perchlorate d'argent (12,5 mg) et de sulfate de calcium anhydre (250 mg). Ce traitement a pour but de bien éliminer les traces d'eau qui pourraient être présentes dans le milieu. Le chlorure de 2,3,4-tri-O-acétyl-α-D-xylopyranosyle³ (**1**, 734 mg) est ajouté en trois fois : à l'instant initial, au bout de 6 h et au bout de 12 h. Ce mode opératoire est dicté par la relative instabilité du chlorure dans les conditions de la réaction. 19 h après la première addition, le mélange est débarrassé des sels d'argent insolubles à l'aide d'une filtration. La phase chloroformique est alors lavée avec une solution aqueuse à 20% de cyanure de potassium, avec de l'eau, séchée sur sulfate de sodium et évaporée. Le résidu (518 mg) est chromatographié sur une colonne de gel de silice (25 g; chloroforme-méthanol, 24:1, v/v) et les fractions pures sont jointes et évaporées sous vide. Le résidu, cristallisé dans l'éthanol, donne **3** (251 mg, 73%), p.f. 192–195°; $[\alpha]_D^{20} - 72^\circ$ (c 1,22, chloroforme); spectre i.r. : $\nu_{\text{max}}^{\text{Nujol}}$ 3300 (NH), 1745 (OAc), 1660 (Amide I), 1530 (Amide II), 740 et 700 cm⁻¹ (Ph).

Anal. Calc. pour $C_{30}H_{39}NO_{15}$: C, 55,13; H, 6,01; N, 2,14. Trouvé : C, 54,94; H, 6,06; N, 1,87.

Benzyl-2-acétamido-2-désoxy-6-O- β -D-xylopyranosyl- β -D-glucopyranoside (4). — Le composé 3 (304 mg) est dissous dans un mélange de méthanol (5 ml), d'eau (2 ml) et de triéthylamine (3 ml). Après une nuit à la température ambiante, les cristaux du composé 4 (202 mg, 97 %) sont essorés et lavés avec de l'éther, p.f. 226–226,5°; $[\alpha]_D^{20}$ –67° (c 0,63, méthanol-eau, 1:4, v/v); ce composé retient avec ténacité deux molécules d'eau; spectre i.r. : $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$ 3620, 3600–3400 (OH), 3360 (NH), 1650 (Amide I), 1550 (Amide II), 720 et 695 cm^{-1} (Ph).

Anal. Calc. pour $C_{20}H_{29}NO_{10} \cdot 2H_2O$: C, 50,10; H, 6,94; N, 2,92. Trouvé : C, 50,21; H, 6,85; N, 3,39.

2-Acétamido-2-désoxy-6-O- β -D-xylopyranosyl- α -D-glucopyranose (5). — Le composé 4 (136 mg) est hydrogéné catalytiquement dans de l'éthanol à 95 % (10 ml) contenant quelques gouttes d'acide acétique glacial, en présence de palladium sur charbon à 10 % (50 mg). Au bout de 24 h, le catalyseur est essoré et le filtrat est évaporé sous vide. Le résidu (112 mg, 100 %), cristallisé dans l'éthanol à 95 %, donne 5 (60 mg, 54 %), p.f. 167–168°; $[\alpha]_D^{20} +20^\circ$ (2 min) $\rightarrow -2^\circ$ (24 h) (c, 1,07, eau); spectre i.r. : $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$ 3600–3350 (OH, NH), 1630 (Amide I) et 1550 (Amide II). Ce produit est homogène lors de chromatographies descendantes sur papier (A : R_{xyt} 0,25; B : R_{xyt} 0,62). Après réduction au borohydrure de sodium et triméthylsilylation, la chromatographie en phase gazeuse présente un seul pic, dont le temps de rétention par rapport au sucrose per(triméthylsilyl)é est de 1,31. Enfin, un examen par chromatographie en phase gazeuse d'un méthanolysat¹³ de 5 montre la présence, en quantités équimoléculaires, de méthyl- α,β -D-xylopyranoside et de méthyl-2-acétamido-2-désoxy- α,β -D-glucopyranoside.

Anal. Calc. pour $C_{13}H_{23}NO_{10}$: C, 44,19; H, 6,56; N, 3,96; O, 45,28. Trouvé : C, 43,95; H, 6,45; N, 3,76; O, 45,21.

Benzyl-2-acétamido-3,4-di-O-acétyl-2-désoxy-6-O-(2,3,4-tri-O-acétyl- α -D-xylopyranosyl)- β -D-glucopyranoside (7). — Une solution du composé 2 (655 mg) dans le chloroforme (20 ml) est agitée, pendant une nuit, à l'abri de la lumière et à la température ambiante, en présence de carbonate d'argent (5,65 g), de perchlorate d'argent (104 mg) et de sulfate de calcium anhydre (8 g). Ce traitement a pour but de bien éliminer les traces d'eau qui pourraient être présentes dans le milieu. Le chlorure de 2,3,4-tri-O-chlorosulfonyl- β -D-xylopyranosyle⁶ (6,66 g) est ensuite ajouté en une fois. Au bout de deux jours, le mélange réactionnel est dilué avec du chloroforme, filtré et le filtrat évaporé sous vide. Le résidu obtenu est dissous dans le méthanol anhydre (150 ml), la solution étant agitée pendant 2 h en présence de carbonate de baryum anhydre (15 g) et d'iodure de sodium (158 mg). Le mélange réactionnel est évaporé sous vide, le résidu solide obtenu étant ensuite séché (une nuit dans un dessiccateur sous vide et sur pentaoxyde de phosphore), puis extrait à l'aide d'acétate d'éthyle bouillant (150 ml). Après essorage des sels, le filtrat est évaporé sous vide. Le résidu est alors séché, puis acétylé durant 36 h à la température ambiante, à l'aide d'anhydride acétique (7 ml) dans la pyridine (20 ml). Le milieu réactionnel est ensuite versé avec pré-

caution dans un excès d'eau glacée; l'ensemble est extrait au chloroforme (150 ml), la phase chloroformique est lavée successivement avec une solution aqueuse à 10 % d'hydrogénosulfate de potassium et avec de l'eau, séchée sur sulfate de sodium et évaporée sous vide. Le résidu obtenu (3,1 g) est chromatographié sur une colonne de gel de silice (60 g) (2-isopropoxypropane-méthanol, 6:1, v/v). Les fractions pures sont jointes et évaporées sous vide. Le résidu (540 mg, 50 %), cristallisé dans le mélange 2-butanone-éther de pétrole (fraction 40-60°), donne 7 (397 mg, 37 %), p.f. 172,5-173,5°, $[\alpha]_D^{20} + 34^\circ$ (c 1,48, chloroforme); spectre i.r. : $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$ 3420 (NH), 1760 (OAc), 1690 (Amide I), 1550 (Amide II), 740 et 695 cm^{-1} (Ph).

Anal. Calc. pour $\text{C}_{30}\text{H}_{39}\text{NO}_{15}$: C, 55,13; H, 6,01; N, 2,14. Trouvé : C, 55,30; H, 6,09; N, 2,26.

Benzyl-2-acétamido-2-désoxy-6-O- α -D-xylopyranosyl- β -D-glucopyranoside (8). — Le composé 7 (77 mg) est dissous dans un mélange de méthanol (1,5 ml), d'eau (0,75 ml) et de triéthylamine (1,5 ml). Après une nuit à la température ambiante, le mélange réactionnel est évaporé sous vide. Le résidu, cristallisé dans de l'éthanol, donne 8 (43 mg, 83 %), p.f. 228-228,5°; $[\alpha]_D^{20} + 15^\circ$ (c 1,31, éthanol-eau, 1:4, v/v); spectre i.r. : $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$ 3600-3400 (OH), 3360 (NH), 1640 (Amide I), 1550 (Amide II), 720 et 690 cm^{-1} (Ph).

Anal. Calc. pour $\text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{NO}_{10}$: C, 54,17; H, 6,59; N, 3,16. Trouvé : C, 54,15; H, 6,74; N, 2,90.

2-Acétamido-2-désoxy-6-O- α -D-xylopyranosyl- α -D-glucopyranose (9). — Le composé 8 (41 mg) est hydrogéné catalytiquement dans de l'éthanol à 95 % (3 ml) contenant quelques gouttes d'acide acétique glacial, en présence de palladium sur charbon à 10 % (20 mg). Au bout de 12 h, le catalyseur est essoré et le filtrat est évaporé sous vide. Le résidu (33 mg, 98 %) est obtenu sous forme d'une poudre blanche amorphe qui, cristallisée dans le mélange éthanol-2-propanol, donne 9 (25 mg, 74 %) sous la forme de microcristaux blancs très hygroscopiques, p.f. peu défini : ramollissement entre 100 et 140°, carbonisation à 159°; $[\alpha]_D^{20} + 105^\circ$ (8 min) $\rightarrow +81,5^\circ$ (24 h) (c 1,52, eau); spectre i.r. : $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$ 3600-3340 (OH, NH), 1635 (Amide I) et 1550 cm^{-1} (Amide II). Ce produit est parfaitement homogène lors de chromatographies descendantes sur papier (A : R_{xy} 0,34; B : R_{xy} 0,72). Après réduction au borohydrure de sodium et triméthylsilylation, la chromatographie en phase gazeuse présente un pic unique, dont le temps de rétention par rapport au sucrose per(triméthylsilyl)é est de 1,38. Enfin, un examen par chromatographie en phase gazeuse d'un méthanolysat¹³ de 9 montre la présence, en quantités équimoléculaires, de méthyl- α,β -D-xylopyranoside et de méthyl-2-acétamido-2-désoxy- α,β -D-glucopyranoside. À cause de l'hygroscopicité de ce composé, une analyse élémentaire satisfaisante n'a pu être obtenue.

RÉFÉRENCES

- 1 M. FUKUDA, T. MURAMATSU, F. EGAMI, N. TAKAHASHI ET Y. YASUDA, *Biochim. Biophys. Acta*, 159 (1968) 215-216.
- 2 Y. YASUDA, N. TAKAHASHI ET T. MURACHI, *Biochemistry*, 9 (1970) 25-32.
- 3 G. L. MATTOCK ET G. O. PHILLIPS, *J. Chem. Soc., C*, (1958) 130-135.
- 4 E. S. RACHAMAN ET R. W. JEANLOZ, *Carbohydr. Res.*, 10 (1969) 435-439.

- 5 M. L. WOLFROM, A. O. PITTET ET I. C. GILLAM, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.*, 47 (1961) 700–705.
- 6 H. J. JENNINGS, *Can. J. Chem.*, 46 (1968) 2799–2805.
- 7 B. COXON, H. J. JENNINGS ET K. A. McLAUCHLAN, *Tetrahedron*, 23 (1967) 2395–2412.
- 8 M.-E. RAFESTIN, D. DELAY ET M. MONSIGNY, *Can. J. Chem.*, 52 (1974) 210–212.
- 9 J.-R. PUGNY, P. SINAÏ ET G. HAJDUKOVIĆ, *Carbohydr. Res.*, 34 (1974) 351–360.
- 10 H. J. JENNINGS ET J. K. N. JONES, *Can. J. Chem.*, 41 (1963) 1151–1159.
- 11 W. E. TREVELYAN, D. P. PROCTER ET J. S. HARRISON, *Nature*, 166 (1950) 444–445.
- 12 F. SCHMITT ET P. SINAÏ, *Carbohydr. Res.*, 29 (1973) 99–111.
- 13 V. N. REINHOLD, *Methods Enzymol.*, 25 (1972) 244–249.
- 14 R. L. WHISTLER, K. A. KIMMELL ET D. F. DURSO, *J. Amer. Chem. Soc.*, 73 (1951) 3530.
- 15 C. S. HUDSON, *J. Amer. Chem. Soc.*, 47 (1925) 265–268.
- 16 P. H. GROSS ET R. W. JEANLOZ, *J. Org. Chem.*, 32 (1967) 2759–2763.