

Note

Une synthèse du 2-acétamido-2-désoxy-4-O- β -D-galactopyranosyl- α -D-glucopyranose (*N*-acétyllactosamine)*

JEAN-CLAUDE JACQUINET ET PIERRE SINAÏ†

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

(Reçu le 7 juillet 1975; accepté le 9 septembre 1975)

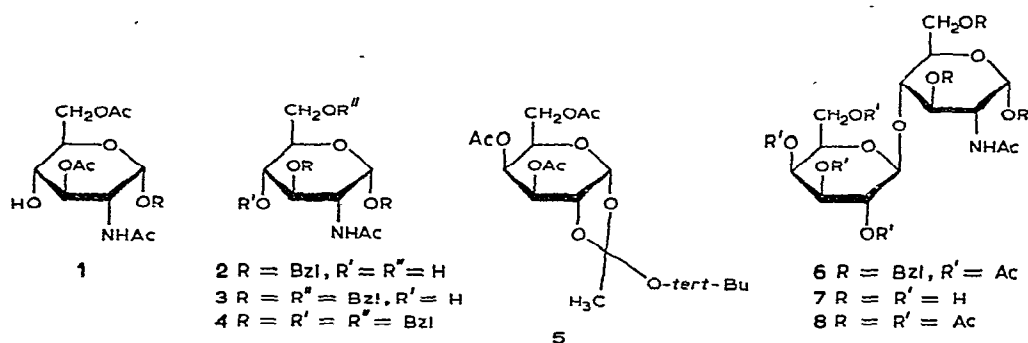
La *N*-acétyllactosamine est un disaccharide qui entre dans la constitution de nombreux glycoconjugués²⁻⁴. Signalons en particulier qu'elle constitue⁵ la structure de base des substances de groupes sanguins de spécificités A, B et H. Dans le cadre d'un programme général de synthèse d'oligosaccharides complexes d'intérêt biologique, nos efforts se sont notamment portés⁶⁻⁸ vers l'établissement, avec un bon rendement, d'une liaison (1→4). Nous proposons ici un accès commode à la *N*-acétyllactosamine. Les synthèses publiées sont de deux natures: synthèse par modification de disaccharides neutres^{9,10} ou couplage osidique de dérivés monosaccharidiques. La première synthèse totale est due à Okuyama¹¹; elle conduit au peracétate avec un rendement de 4%. La méthode a ensuite été améliorée par Khorlin et assoc.^{12,13}, qui ont porté le rendement de la condensation à 19, puis à 35%. Dans tous ces travaux l'aglycone utilisé est du type 1.

Rabinsohn *et al.*¹⁴ ont montré que le 2-acétamido-3-O-acétyl-1,6-anhydro-2-désoxy- β -D-glucopyranose est un excellent aglycone pour une synthèse du peracétate de la lactosamine. Cette dernière méthode présente néanmoins deux inconvénients: difficulté d'accès à l'aglycone et nécessité d'une acétolyse sélective assez délicate.

L'aglycone utilisé ici est le benzyl-2-acétamido-3,6-di-O-benzyl-2-désoxy- α -D-glucopyranoside (3), dont nous avons modifié la synthèse originale¹⁵. Le benzyl-2-acétamido-3-O-benzyl-2-désoxy- α -D-glucopyranoside¹⁵ (2) est benzylé sélectivement, conduisant directement au benzyl-2-acétamido-3,6-di-O-benzyl-2-désoxy- α -D-glucopyranoside (3) (rendement 61%), qui est séparé par simple cristallisation du benzyl-2-acétamido-3,4,6-tri-O-benzyl-2-désoxy- α -D-glucopyranoside (4) (rendement 26%). L'alcool 3 est glycosylé au moyen du 3,4,6-tri-O-acétyl- α -D-galactopyranose 1,2-(*tert*-butyl orthoacétate) (5) dans le chlorobenzène, en présence de

*Ce travail a bénéficié de subventions du Centre National de la Recherche Scientifique, de la Délégation Générale à la Recherche Scientifique et Technique (Comité ASCO, Contrat N° 74 7 0973) et de la Caisse Régionale d'Assurance Maladie des Travailleurs Salariés du Centre. Une communication préliminaire a été présentée¹.

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



R = Ac ou Bzl

perchlorate de 2,6-diméthylpyridinium¹⁶. L'orthoacétate 5 est préparé à partir du 1,2,3,4,6-penta-*O*-acétyl- β -D-galactopyranose¹⁷, en employant la méthode décrite par Kochetkov *et al.*¹⁶ pour l'analogue *gluco*. Le disaccharide 6 est obtenu à l'état cristallin avec un rendement de 75 %. Une désacétylation par le méthylate de sodium, puis une hydrogénation catalytique conduisent alors à la *N*-acétyllactosamine (7), avec un rendement de 88 % en produit cristallin. Ce produit, ainsi que son peracétate (8), possèdent les caractéristiques décrites dans la littérature.

Cette synthèse commode et à haut rendement souligne une nouvelle fois l'intérêt du benzyl-2-acétamido-3,6-di-*O*-benzyl-2-désoxy- α -D-glucopyranoside (3) pour l'obtention de disaccharides à liaison (1 $\rightarrow$ 4) portant le 2-acétamido-2-désoxy-D-glucopyranose à l'extrémité réductrice. D'autres disaccharides de ce type seront décrits dans une prochaine publication.

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 spectres de résonance magnétique nucléaire à l'aide du spectromètre Perkin-Elmer R-32 (90 MHz). Les déplacements chimiques (δ) sont indiqués par rapport au pic du tétraméthylsilane (s = singulet, d = doublet, m = multiplet). Les protons du résidu D-galactopyranose sont affectés d'un indice prime. Les chromatographies en phase gazeuse sont effectuées au moyen d'un chromatographe Girdel (Modèle 3000) muni d'un détecteur à ionisation de flamme, en utilisant une colonne en verre Pyrex de 3,40 m contenant 4 % de OV-17 sur Gas-Chrom Q (80-100 mesh), avec un programme de 10° par min de 150° à 300°. 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 analyses élémentaires ont été effectuées par le Service Central de Micro-analyse du Centre National de la Recherche Scientifique (Thiais).

Benzyl-2-acétamido-3,6-di-O-benzyl-2-désoxy- α -D-glucopyranoside (3). — Le benzyl-2-acétamido-3-*O*-benzyl-2-désoxy- α -D-glucopyranoside¹⁵ (2, 3,5 g) est dissous dans du *N,N*-diméthylformamide anhydre (30 ml), la solution étant agitée durant 4,5 h à la température ambiante en présence de baryte (5 g), d'hydroxyde de baryum octahydraté (1,2 g) et de bromure de benzyle (2 ml). Le milieu réactionnel est dilué avec du chloroforme (200 ml), puis lavé avec de l'acide acétique à 60 %, avec une solution aqueuse saturée d'hydrogénocarbonate de sodium, avec de l'eau, séché (chlorure de calcium) et évaporé. Le résidu est dissous dans de l'éther; les cristaux obtenus sont essorés et recristallisés dans le méthanol-chloroforme donnant le benzyl-2-acétamido-3,4,6-tri-*O*-benzyl-2-désoxy- α -D-glucopyranoside (4, 1,305 g, 26 %), p.f. 175–176°; $[\alpha]_D^{20} +111^\circ$ (*c* 1,1, chloroforme); spectre i.r.: $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$ 3340 (NH), 1650 (Amide I), 1550 (Amide II), 750, 725 et 690 cm^{-1} (Ph); données de r.m.n. (chloroforme-*d*): δ 7,30–7,35 (20 H, m, 5 Ph), 5,32 (1 H, d, $J_{\text{NH,H-2}}$ 9 Hz, NH), 4,95 (1 H, d, $J_{1,2}$ 4 Hz, H-1), 4,32 (1 H, m, H-2), 1,80 (3 H, s, Ac). Le reste du spectre n'a pas été analysé.

Anal. Calc. pour $\text{C}_{36}\text{H}_{39}\text{NO}_6$: C, 74,33; H, 6,76; N, 2,41; O, 16,50. Trouvé: C, 73,93; H, 6,63; N, 2,63; O, 16,43.

Le filtrat étheré est évaporé et le résidu est cristallisé dans de l'acétate d'éthyle, donnant le composé 3 (2,59 g, 61 %), p.f. 144,5–145,5°, identique au dérivé préparé selon Jacquinet *et al.*¹⁵.

3,4,6-Tri-O-acétyl- α -D-galactopyranose 1,2-(tert-butyl orthoacétate) (5). — Une solution de 1,2,3,4,6-penta-*O*-acétyl- β -D-galactopyranose¹⁷ (3 g) dans du chloroforme anhydre et exempt d'alcool (25 ml) est agitée pendant 2,5 h en présence de chlorure d'aluminium anhydre et finement pulvérisé (1,02 g) à la température ambiante et à l'abri de la lumière. De la 2,6-diméthylpyridine (4,65 ml) et de l'alcool *tert*-butylique anhydre (24 ml) sont ensuite ajoutés, l'agitation étant poursuivie pendant 24 h. Le milieu réactionnel est alors concentré à mi-volume, puis versé dans de l'eau glacée (100 ml). La phase obtenue est extraite à l'éther (90 ml), les extraits sont lavés avec de l'eau glacée, avec une solution aqueuse *M* de nitrate d'argent (30 ml), de nouveau avec de l'eau, séchés (sulfate de sodium) et évaporés. Le résidu jaune clair (2,95 g, 93 %) est débarrassé des dernières traces de 2,6-diméthylpyridine par chromatographie sur une colonne de gel de silice (25 g) [éther-hexane 7:3 (v/v) contenant 0,1 % (v/v) de triéthylamine]. Le résidu ainsi obtenu (2,60 g, 80 %), cristallisé dans l'éther-hexane, donne 5 (2,25 g, 71 %), p.f. 90–91,5°; $[\alpha]_D^{20} +80^\circ$ (*c* 1,25, chloroforme); litt.^{12,18}: p.f. 89–90°; $[\alpha]_D^{20} +80^\circ$ (*c* 1, chloroforme).

Benzyl-2-acétamido-3,6-di-O-benzyl-2-désoxy-4-O-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl- β -D-galactopyranosyl)- α -D-glucopyranoside (6). — Le composé 5 (404 mg) et 3 (246 mg) sont dissous dans du chlorobenzène anhydre et fraîchement distillé (3 ml), qui est ensuite porté à 130°, à l'abri de l'humidité et sous une atmosphère d'azote sec. Après

avoir lentement distillé une partie du chlorobenzène (environ 1 ml), une solution 0,2M de perchlorate de 2,6-diméthylpyridinium dans le 1,2-dichloroéthane¹⁶ (1 ml) est ajoutée sous forte agitation. La lente distillation du chlorobenzène est maintenue pendant toute la durée de la réaction (8 h à 130°), le volume réactionnel étant maintenu constant (3 ml) par addition de chlorobenzène anhydre. Après refroidissement, la solution est évaporée et le résidu est désacétylé par une solution M de méthylate de sodium dans le méthanol (1 ml). Cette désacétylation a pour but de permettre une meilleure séparation chromatographique du disaccharide formé et du produit de départ 3. Après neutralisation par l'acide acétique à 60 % (pH 7) et évaporation, le résidu obtenu est chromatographié sur une colonne de gel de silice (50 g) (chloroforme-méthanol, 9:1, v/v); les fractions de tête permettent de récupérer le composé 3 de départ (35 mg, 14 % après cristallisation); les fractions pures suivantes sont jointes et évaporées. Le résidu sirupeux obtenu (250 g, 76 % par rapport à 3), qui n'a pu être cristallisé est acétylé (anhydride acétique-pyridine) à la température ambiante pendant une nuit. Le traitement habituel conduit à un résidu qui, après cristallisation dans l'éther-hexane, donne le disaccharide 6 (308 mg, 75 % par rapport à 3), p.f. 110–111°; $[\alpha]_D^{20} + 66^\circ$ (c 1, chloroforme); spectre i.r.: $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$ 3300 (NH), 1755 (OAc), 1650 (Amide I), 1555 (Amide II), 730 et 690 cm^{-1} (Ph); données de r.m.n. (chloroforme-*d*): δ 7,42 et 7,35 (15 H, 2 s, 3 Ph), 5,30 (2 H, m, NH et un autre proton), 4,98 (1 H, d, $J_{1,2}$ 4 Hz, H-1), 4,42 (1 H, m, H-2), 2,10, 2,00 et 1,98 (9 H, 3 s, 3 OAc), 1,79 (3 H, s, NHAc). Le reste du spectre n'a pas été analysé.

Anal. Calc. pour $\text{C}_{43}\text{H}_{51}\text{NO}_{15}$: C, 62,83; H, 6,25; N, 1,70; O, 29,19. Trouvé: C, 63,01; H, 6,38; N, 1,73; O, 29,21.

2-Acétamido-2-désoxy-4-O-β-D-galactopyranosyl-α-D-glucopyranose (N-acétyllactosamine) (7). — Le composé 6 (1 g) est désacétylé, durant 15 min à la température ambiante, dans une solution 0,05M de méthylate de sodium dans le méthanol (20 ml). La solution est ensuite neutralisée (pH 6) à l'aide de résine acide Dowex 50 (H^+), filtrée et évaporée. Le résidu obtenu (718 mg, 91 %) est hydrogénéolysé à la température ambiante dans de l'acide acétique glacial (15 ml) en présence de palladium sur charbon à 10 % (100 mg). Lorsque la réaction est totale (contrôle c.c.m., durée variable selon les essais), le catalyseur est essoré et le filtrat est évaporé. Le résidu, cristallisé dans le 2-propanol, donne la *N*-acétyllactosamine (7, 404 mg, 88 %), p.f. 170–171°; $[\alpha]_D^{20} + 50^\circ \rightarrow +28,5^\circ$ (au bout de 12 h, c 0,6, eau-méthanol, 9:1, v/v); litt.⁹: p.f. 168–170°; $[\alpha]_D^{23} + 51,5^\circ \rightarrow +28,5^\circ$ (c 0,98, eau). Après réduction au borohydrure de sodium et per(triméthylsilyl)ation, le produit est homogène en chromatographie en phase gazeuse; t_R par rapport au *myo*-inositol pertriméthylsilylé: 1,90.

Anal. Calc. pour $\text{C}_{14}\text{H}_{25}\text{NO}_{11}$: C, 43,86; H, 6,57; N, 3,65; O, 45,91. Trouvé: C, 43,99; H, 6,75; N, 3,50; O, 46,18.

2-Acétamido-1,3,6-tri-O-acétyl-2-désoxy-4-O-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl-β-D-galactopyranosyl)-α-D-glucopyranose (8). — La *N*-acétyllactosamine (7, 100 mg) est acétylée pendant 24 h à la température ambiante à l'aide d'anhydride acétique (1 ml) dans de la pyridine anhydre (3 ml). Le traitement habituel donne un résidu (175 mg, 100 %) qui, après cristallisation dans le 2-propanol, conduit au peracétate 8 (110 mg,

62 %), p.f. 224–225°; $[\alpha]_D^{20} + 58^\circ$ (c 1, chloroforme); données de r.m.n. (chloroforme-*d*): δ 6,12 (1 H, d, $J_{1,2}$ 4,5 Hz, H-1), 5,95 (1 H, d, $J_{NH,H-2}$ 9 Hz, NH), 5,15 (1 H, m, H'-2), 4,60 (1 H, d, $J_{1',2'}$ 8 Hz, H'-1), 2,20, 2,17, 2,12, 2,00, 1,98 et 1,94 (24 H, 6 s, Ac); litt.¹⁴: p.f. 223–225°, $[\alpha]_D^{25} + 57,9^\circ$ (c 1, chloroforme).

RÉFÉRENCES

- 1 J.-C. JACQUINET ET P. SINAÏ, *Réunion Sect. Locale Orléans Soc. Chim. Fr.*, Avril 1975; *Actual. Chim.*, sous presse.
- 2 R. D. MARSHALL, *Annu. Rev. Biochem.*, 41 (1972) 673–702.
- 3 K. STELLNER, K. WATANABE ET S. HAKOMORI, *Biochemistry*, 12 (1973) 656–660.
- 4 R. W. BAILEY, *Oligosaccharides*, Pergamon, Oxford, 1965, p. 122.
- 5 E. A. KABAT, dans D. AMINOFF (Ed.), *Blood and Tissue Antigens*, Academic, New York, 1970, p. 188.
- 6 C. MERSER ET P. SINAÏ, *Tetrahedron Lett.*, (1973) 1029–1032.
- 7 F. SCHMITT ET P. SINAÏ, *Carbohydr. Res.*, 29 (1972) 99–111.
- 8 J.-C. JACQUINET ET P. SINAÏ, *Carbohydr. Res.*, 42 (1975) 251–258.
- 9 R. KUHN ET W. KIRSCHENLOHR, *Chem. Ber.*, 87 (1954) 1547–1552.
- 10 Z. YOSIZAWA, *Tohoku J. Exp. Med.*, 52 (1950) 145–150; B. A. DMITRIEV, YU. A. KNIREL ET N. K. KOCHETKOV, *Izv. Akad. Nauk S.S.S.R., Ser. Khim.*, (1973) 2365–2366; G. JOHNSON, R. T. LEE ET Y. C. LEE, *Carbohydr. Res.*, 39 (1975) 271–281.
- 11 T. OKUYAMA, *Tohoku J. Exp. Med.*, 68 (1958) 313–317.
- 12 S. E. ZURABYAN, E. N. LOPANTSEVA ET A. YA. KHORLIN, *Dokl. Akad. Nauk S.S.S.R.*, 210 (1973) 1216–1219.
- 13 A. YA. KHORLIN, V. A. NESMEYANOV ET S. E. ZURABYAN, *Carbohydr. Res.*, 33 (1974) C1–C3.
- 14 Y. RABINSOHN, A. J. ACHER ET D. SHAPIRO, *J. Org. Chem.*, 38 (1973) 202–204.
- 15 J.-C. JACQUINET, J. M. PETIT ET P. SINAÏ, *Carbohydr. Res.*, 38 (1974) 305–311.
- 16 N. K. KOCHETKOV, A. F. BOCHKOV, T. A. SOKOLOVSKAYA ET V. J. SNYATKOVA, *Carbohydr. Res.*, 16 (1971) 17–27.
- 17 F. J. BATES AND ASSOCIATES, *Polarimetry, Saccharimetry and the Sugars*, National Bureau of Standards, Circular C440, 1942, p. 488.
- 18 S. E. ZURABYAN, M. M. TIKHOMIROV, V. A. NESMEYANOV ET A. YA. KHORLIN, *Carbohydr. Res.*, 26 (1973) 117–123.