

Note

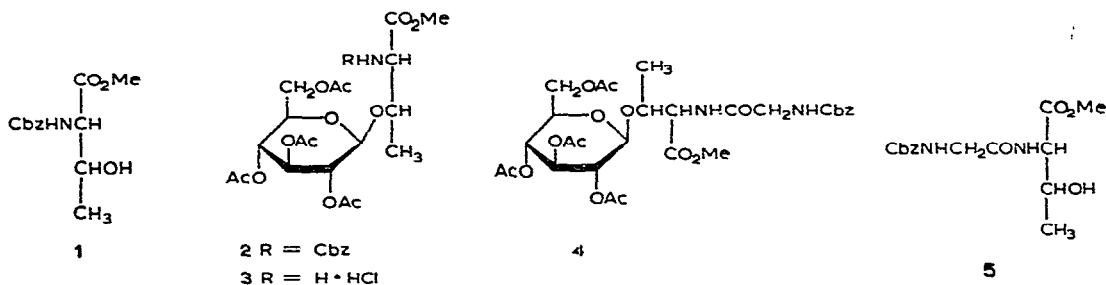
Synthèse d'un O-glycodipeptide par allongement de la chaîne peptidique du côté N-terminal d'un glycosylaminoacide*

JEAN MARTINEZ, ANDRÉ PAVIA** ET FRANÇOIS WINTERNITZ

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

(Reçu le 1^{er} novembre 1975; accepté sous forme revisée le 25 mars 1976)

Wakabayashi et Pigman¹ ont préparé le *N*-(benzyloxycarbonyl)glycyl-*O*-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranosyl)-L-thréoninate de méthyle (**4**) par une réaction de Koenigs-Knorr entre le bromure de 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- α -D-glucopyranosyle et le *N*-(benzyloxycarbonyl)glycyl-L-thréoninate de méthyle (**1**). Dans le présent travail nous montrons la possibilité d'obtenir le glucodipeptide **4** à partir du *N*-(benzyloxycarbonyl)-3-*O*-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranosyl)-L-thréoninate de méthyle (**2**) par allongement de la chaîne peptidique du côté N-terminal. Le composé **2** a été obtenu par une réaction de type Helferich à partir du bromure de 2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- α -D-glucopyranosyle² et du *N*-(benzyloxycarbonyl)-L-thréoninate de méthyle³ (**1**), en présence de cyanure mercurique[†].



*Synthèse et Étude Structurale de O-Glycopeptides. Partie I.

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

†Nous avons également effectué cette glycosylation en présence de carbonate d'argent en appliquant à la synthèse de **2** les conditions expérimentales décrites par Wakabayashi et Pigman¹ pour préparer **4**. Nous avons isolé le composé **2** avec un rendement inférieur. Kochetkov et ses collaborateurs⁴ constatent qu'en utilisant des conditions expérimentales très voisines, le produit de la réaction est l'orthoester correspondant. Cet orthoester n'a été ni isolé ni caractérisé mais traité brut pour conduire à **2** dont les caractéristiques physiques sont très différentes de celles que nous rapportons.

Le composé **2** après chromatographie sur gel de silice a été obtenu sous forme cristalline. La structure et la stéréochimie de **2** sont démontrées sans ambiguïté par les données du spectre de r.m.n. du proton rapportées dans le Tableau I. Notons que les valeurs des constantes de couplage pour H-1, H-2, H-3 dans **2** sont fondamentalement différentes de celles rapportées pour des orthoesters⁵⁻⁷. L'absence de signal du groupe méthyle entre 1,6 et 2,0 p.p.m. confirme la structure *O*- β -D-glycosyle. L'hydrogénolyse de **2**, en présence de palladium sur charbon et d'acide chlorhydrique, conduit au chlorhydrate **3**. Ce dernier a été condensé avec l'ester *o*-nitrophénylique de la *N*-(benzyloxycarbonyl)glycine⁸ dans le tétrahydrofurane et nous avons isolé après filtration sur gel de silice le *O*-(β -D-gluco)dipeptide **4** sous forme cristalline. Dans le spectre de r.m.n. de **4** (voir Tableau I) on retrouve les valeurs caractéristiques de la

TABLEAU I

DONNÉES DE ¹H-R.M.N. POUR LES COMPOSÉS 1-5^a

Protons	Composés				
	1	2	3	4	5
NH (Gly)				5,70 t <i>J</i> 5,5	6,17 t <i>J</i> 5,5
NH (Thr)	5,95 d <i>J</i> 8,5	5,60 d <i>J</i> 8,5		6,76 d <i>J</i> 8,5	7,35 d <i>J</i> 8,5
C ^α -H	4,28 d	4,36 dd	~4,5 m	4,65 q <i>J</i> 8,5, <i>J</i> 2,7	4,54 q <i>J</i> 8,5, <i>J</i> 2,5
C ^β -H	~4,25 m	~4,30	~4,5 m	4,37 m <i>J</i> 6,2, <i>J</i> 2,7	4,26 m
CH ₂ (Gly)				3,97 d <i>J</i> 5,5	3,92 d <i>J</i> 5,5
CH ₃	1,17 d <i>J</i> 6,2	1,19 d <i>J</i> 6,2	1,46 d <i>J</i> 6,2	1,15 d <i>J</i> 6,2	1,12 d <i>J</i> 6,2
H-1		4,52 d <i>J</i> 7,5	4,62 d <i>J</i> 7,5	4,48 d <i>J</i> 7,8	
H-2		4,87 q <i>J</i> 7,5, <i>J</i> 9,0	4,90 q <i>J</i> 7,5, <i>J</i> 9,0	4,88 q <i>J</i> 7,8, <i>J</i> 9,0	
H-3		5,20 t <i>J</i> = <i>J</i> = 9,0	5,20 t <i>J</i> = <i>J</i> = 9,0	5,21 t <i>J</i> = <i>J</i> = 9,0	
H-4		5,02 t <i>J</i> = <i>J</i> = 9,0	5,04 t <i>J</i> = <i>J</i> = 9,0	5,12 t <i>J</i> = <i>J</i> = 9,0	
H-5		3,65 m	3,75 m	3,62 m	
H-6		4,26 q <i>J</i> 4,5, <i>J</i> 12,0	4,28 m	4,25	
H-6'		4,06 q <i>J</i> 2,5, <i>J</i> 12,0	4,20 m	4,15	

^aLes spectres de résonance magnétique nucléaire sont enregistrés à l'aide du spectromètre Varian HA-100. Les déplacements chimiques (δ) sont donnés par rapport au signal du tétraméthylsilane; *J* en Hz. Abréviations: d = doublet; dd = double doublet; t = triplet; q = quartet; m = multiplet.

structure d'un β -D-glycoside. La structure peptidique est confirmée par la présence de deux signaux NH distincts: 6,76 p.p.m. pour le NH peptidique de la thréonine et 5,70 p.p.m. pour le NH uréthane de la glycine.

Comme on peut le voir à partir des valeurs du tableau: (a) les déplacements chimiques des protons de la molécule de D-glucose ne dépendent pas de la nature de l'aglycone. L'inverse est également vrai. (b) La différence de déplacement chimique $\Delta\delta$ entre les signaux H- α et H- β de la thréonine est également caractéristique de la structure peptidique, $\Delta\delta$ 0,28 p.p.m. dans **4** et CbzGly-Thr-OMe (**5**) contre 0,03 et 0,06 p.p.m. dans **1** et **2**. (c) La valeur du couplage H- α -H- β montre que la configuration *thréo* est conservée et que la conformation privilégiée en solution de **2** et **4** est celle dans laquelle H- α et H- β sont en position décalée. (d) La configuration en C-1 du résidu de D-glucose est conservée lors du passage de **2** à **4**. Il est donc préférable d'effectuer la glycosylation dès la première étape de la synthèse où le contrôle de la configuration est facile.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

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 Roussel-Jouan. L'homogénéité des composés préparés est contrôlée par chromatographie sur des plaques de verre recouvertes de gel de silice G Merck (Darmstadt, Allemagne) et révélation par vaporisation d'acide sulfurique 10% et chauffage à 110°. Les chromatographies ont été réalisées avec du gel de silice 60 (Merck). Les solvants d'élution sont: (A) acétate d'éthyle-benzène 2:3 (v/v), (B) acétate d'éthyle-chloroforme 1:1 (v/v).

*N-(Benzylloxycarbonyl)-3-O-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl- β -D-glucopyranosyl)-L-thréoninate de méthyle (**2**).* — Une solution de **1** (1,23 g) dans l'acétonitrile anhydre (5 ml) est agitée en présence de Hg(CN₂) sec (1 g), à la température ambiante. Le bromure de 2,3,4,6-tétra-O-acétyl- α -D-glucopyranosyle (2 g) est ajouté par petites fractions pendant ~2-3 h. Après 48 h la solution est concentrée sous vide à basse température, et l'huile résiduelle reprise par le chloroforme (200 ml). La phase organique est lavée avec une solution M de KBr (2 × 100 ml), à l'eau (2 × 100 ml), séchée (MgSO₄) et concentrée sous vide. Le résidu obtenu (5,67 g) est chromatographié sur gel de silice (200 g, fractions de 15 ml, solvant *B*). Le composé **2** est obtenu et cristallisé dans un mélange éther-éther de pétrole (820 mg, 29%), p.f. 102-104°, $[\alpha]_D^{20} - 14,9^\circ$ (c 4,5, chloroforme); litt.⁴: p.f. 55-56°, $[\alpha]_D^{20} - 7,0^\circ$ (c 1,15, chloroforme).

Anal. Calc. pour C₂₇H₃₅NO₁₄ (597): C, 54,27; H, 5,86; N, 2,35. Trouvé: C, 54,29; H, 5,90; N, 2,30.

*Chlorhydrate de 3-O-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl- β -D-glucopyranosyl)-L-thréoninate de méthyle (**3**).* — Le composé **2** (0,8 g) dissous dans méthanol-eau (9:1, v/v) contenant un équivalent de HCl est hydrogéné en présence de palladium sur charbon 10% (50 mg). Après 5 h le catalyseur est filtré et le filtrat concentré sous vide. Le

résidu, tritiqué à l'éther cristallise (85%). Il est recristallisé dans méthanol-éther, p.f. 193–195° (décomp.), $[\alpha]_D^{20} -34,3^\circ$ (*c* 3, chloroforme).

Anal. Calc. pour $C_{19}H_{29}NO_{12} \cdot HCl$ (499,5): C, 45,64; H, 6,01; N, 2,80. Trouvé: C, 45,45; H, 5,97; N, 2,81.

N-(Benzylloxycarbonyl)glycyl-[O-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl- β -D-glucopyranosyl)-L-thréoninate de méthyle] (4). — Une solution de l'ester *o*-nitrophénylique de la *N*-(benzylloxycarbonyl)glycine⁸ (0,33 g) dans le tétrahydrofurane (10 ml) est refroidie au bain de glace et agitée. On ajoute une solution froide contenant 3 (0,60 g) et la triéthylamine (0,15 ml) dans le tétrahydrofurane (20 ml). Après 24 h la solution est concentrée sous vide. Le résidu est repris par le chloroforme (100 ml), lavé à l'eau (2 × 50 ml). La phase organique est séchée ($MgSO_4$) puis concentrée. L'huile résiduelle est chromatographiée sur gel de silice (50 g, fractions de 15 ml, solvant B). On isole le produit 4 pur, cristallisé. Il est recristallisé dans éther-éther de pétrole (0,502 g), p.f. 114–117°, $[\alpha]_D^{20} +3,0^\circ$ (*c* 1, chloroforme); litt.¹: p.f. 63–65°.

Anal. Calc. pour $C_{29}H_{38}N_2O_{15}$ (654): C, 53,21; H, 5,81; N, 4,28. Trouvé: C, 53,11; H, 5,79; N, 4,17.

RÉFÉRENCES

- 1 K. WAKABAYASHI ET W. PIGMAN, *Carbohydr. Res.*, 35 (1974) 3–14.
- 2 R. U. LEMIEUX, *Methods Carbohydr. Chem.*, 2 (1962) 221–22.
- 3 J. K. JONES, J. P. MILLINGTON ET M. B. PERRY, *Can. J. Chem.*, 40 (1962) 2229–2233.
- 4 V. A. DEREVITSKAYA, E. M. KLIMOV ET N. K. KOCHETKOV, *Carbohydr. Res.*, 7 (1968) 7–11.
- 5 A. S. PERLIN, *Can. J. Chem.*, 41 (1963) 399–406.
- 6 R. U. LEMIEUX ET A. R. MORGAN, *Can. J. Chem.*, 43 (1965) 2199–2204.
- 7 W. E. DICK, D. WEISLEDER ET J. E. HODGE, *Carbohydr. Res.*, 23 (1972) 229–242.
- 8 M. BODANSKY, M. KONDO, C. Y. LIN ET G. F. SIGLER, *J. Org. Chem.*, 39 (1974) 444–447.