

SYNTHÈSE DE L'ACIDE 4-O-MÉTHYL-N-ACÉTYLNEURAMINIQUE. PARTIE I. ACÉTONATION DU 3-ACÉTAMIDO-3-DÉSOXY- D-glycéro-D-galacto-HEPTOSE DIÉTHYLDITHIOACÉTAL*

JEAN-MARIE BEAU† ET PIERRE SINAÿ§

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

(Reçu le 18 mars 1977; accepté le 7 juin 1977)

ABSTRACT

Treatment of 3-acetamido-3-deoxy-D-glycero-D-galacto-heptose diethyl dithioacetal with acetone in the presence of cupric sulfate and traces of sulfuric acid gave 3-acetamido-3-deoxy-6,7-O-isopropylidene-D-glycero-D-galacto-heptose diethyldithioacetal in crystalline form and 85% yield. Its structure was ascertained by the synthesis of various derivatives and a study of the periodate oxidation of 3-acetamido-1,3-dideoxy-6,7-O-isopropylidene-D-glycero-D-galacto-heptitol. 3-Acetamido-3-deoxy-4,5:6,7-di-O-isopropylidene-D-glycero-D-galacto-heptose diethyl dithioacetal was obtained in excellent yield when acetonation was performed in the presence of a high concentration of sulfuric acid (7%). Its structure has been ascertained by periodate oxidation of the derived 3-acetamido-3-deoxy-4,5:6,7-di-O-isopropylidene-D-glycero-D-galacto-heptitol. It was converted by acidic hydrolysis to 3-acetamido-3-deoxy-4,5-di-O-isopropylidene-D-glycero-D-galacto-heptose diethyl dithioacetal.

SOMMAIRE

La réaction du 3-acétamido-3-désoxy-D-glycéro-D-galacto-heptose diéthyl-dithioacétal avec de l'acétone en présence de sulfate cuivrique et de traces d'acide sulfurique donne le 3-acétamido-3-désoxy-6,7-O-isopropylidène-D-glycéro-D-galacto-heptose diéthyl-dithioacétal avec un rendement de 85% en produit cristallin. La structure de cet acétal a été prouvée par la synthèse de plusieurs dérivés et par l'oxydation periodique du 3-acétamido-1,3-didésoxy-6,7-O-isopropylidène-D-glycéro-D-galacto-heptitol. Le 3-acétamido-3-désoxy-4,5:6,7-di-O-isopropylidène-D-glycéro-D-galacto-heptose diéthyl-dithioacétal a été obtenu avec un excellent rendement lorsque l'acétonation est effectuée en présence d'une forte concentration en acide

*Ce travail a bénéficié de subventions du Centre National de la Recherche Scientifique et de la Ligue Nationale contre le Cancer. Une communication préliminaire a été présentée¹.

†Boursier de la Ligue Nationale Française contre le Cancer (1972-1973).

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

sulfurique (7 %). La structure de ce diacétal est prouvée par oxydation periodique du 3-acétamido-3-désoxy-4,5:6,7-di-*O*-isopropylidène-D-*glycéro*-D-*galacto*-heptitol. Il est transformé par hydrolyse acide en 3-acétamido-3-désoxy-4,5-*O*-isopropylidène-D-*glycéro*-D-*galacto*-heptose diéthyl-dithioacétal.

INTRODUCTION

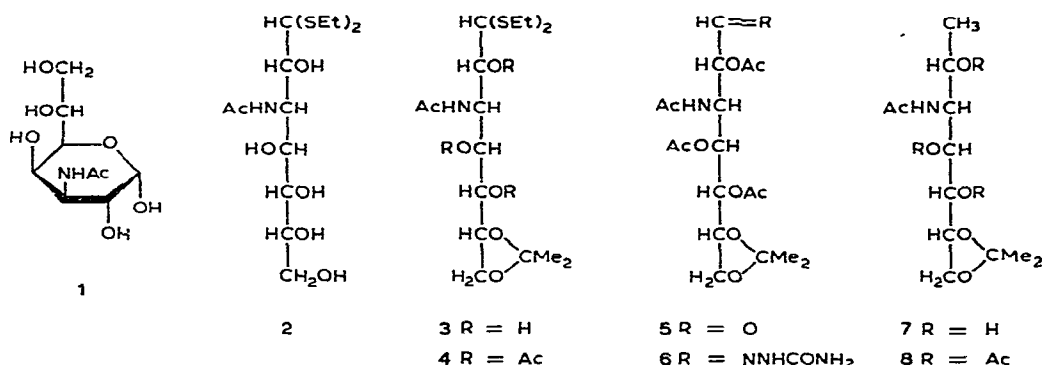
La substitution de OH-4 de l'acide *N*-acétylneuraminique et de certains de ses dérivés entraîne des changements importants dans leurs comportements lors de certaines réactions enzymatiques. C'est ainsi que la neuraminidase de *Vibrio cholerae* ou de *Clostridium perfringens* est sans action sur un α -glycoside de l'acide 4-*O*-acétyl-*N*-acétylneuraminique². De même la *N*-acétylneuramate:pyruvate lyase (EC 4.1.3.3.) n'agit que lentement sur l'acide 4-*O*-acétyl-*N*-acétylneuraminique³. Les groupes acétyles étant relativement peu stables et sujets à des migrations, des dérivés du type acide 4-*O*-méthyl-*N*-acétylneuraminique et de son α -glycoside, composés non naturels, devraient constituer des substrats intéressants pour l'étude du site actif de ces enzymes et de leurs mécanismes d'action.

Par ailleurs, il a été récemment montré⁴ qu'un acide 3-désoxy-4-*O*-méthyl-aldulosonique donnait lieu à une réaction de Warren⁵ positive, alors que l'on attendrait, *a priori*, une réponse négative. Le comportement de l'acide 4-*O*-méthyl-*N*-acétylneuraminique dans ce dosage présente alors de l'intérêt pour la théorie de cette réaction classiquement employée pour le dosage des acides sialiques. Enfin, pour les études structurales de certains glucides, il est important de disposer des différents composés de référence *O*-méthylés de l'acide *N*-acétylneuraminique. C'est le cas en particulier de polysaccharides bactériens capsulaires qui sont des homobiopolymères à acide sialique⁶, ainsi que de certains gangliosides possédant des résidus acide sialique situés à l'intérieur de la chaîne glucidique^{7,8}. À notre connaissance, seul l'acide 8-*O*-méthyl-*N*-acétylneuraminique⁹ et des dérivés perméthylés⁶ ont été obtenus par synthèse. Des dérivés partiellement *O*-méthylés ont été préparés à partir de polysaccharides capsulaires⁶. Pour toutes ces raisons, nous avons entrepris la synthèse de l'acide 4-*O*-méthyl-*N*-acétylneuraminique. Plutôt que de partir de l'acide *N*-acétylneuraminique et d'envisager ensuite une série de réactions de substitutions sélectives, nous avons adapté à notre cas particulier une synthèse de l'acide *N*-acétylneuraminique décrite par Mirzayanova *et al.*¹⁰. La première partie de cette approche, décrite ici, consiste en la préparation du 3-acétamido-3-désoxy-4,5:6,7-di-*O*-isopropylidène-D-*glycéro*-D-*galacto*-heptose diéthyl-dithioacétal. Cet heptose qui possède la configuration appropriée, pourra ensuite être sélectivement alkylé, puis subir une élongation de chaîne, opérations qui sont décrites dans l'article suivant.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

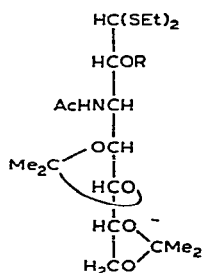
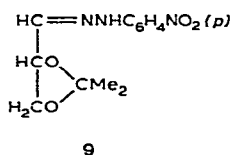
Le point de départ de notre synthèse est le 3-acétamido-3-désoxy-D-*glycéro*-D-*galacto*-heptose (1) qui a été préparé selon la méthode de Kuhn et Baschang¹¹,

reprise ensuite par Mirzayanova *et al.*¹⁰. Après action de l'éthanethiol en présence d'acide chlorhydrique concentré, le 3-acétamido-3-désoxy-D-glycero-D-galacto-heptose diéthyl-dithioacétal (**2**) est isolé à l'état cristallin. Les propriétés physiques obtenues (point de fusion et pouvoir rotatoire) sont différentes de celles décrites par Mirzayanova *et al.*¹⁰. La synthèse de l'acide 4-O-méthyl-N-acétylneuraminique nécessite l'élaboration d'un dérivé du dithioacétal **2** dont OH-2 puisse être méthylé sélectivement. L'acétonation d'un polyol à groupes hydroxyles vicinaux donne habituellement des cycles à cinq éléments (type 1,3-dioxolanne), la formation de cycles à six ou sept éléments étant rares¹². Nous pouvions donc prévoir qu'une acétonation de **2** isolerait OH-2.

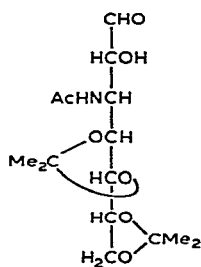


Nous avons précédemment montré¹³ que la réaction du 2-acétamido-2-désoxy-D-mannose diéthyl-dithioacétal avec l'acétone anhydre contenant 4 % (v/v) d'acide sulfurique concentré conduisait, en présence de tamis moléculaire 4 Å et au bout de 4 h, à la formation du 2-acétamido-2-désoxy-3,4:5,6-di-O-isopropylidène-D-mannose diéthyl-dithioacétal avec un rendement presque quantitatif. De façon inattendue, **2**, placé dans les mêmes conditions, donne un mélange complexe difficilement analysable. Il a cependant été possible d'isoler, après chromatographie sur une colonne de gel de silice et cristallisation, une très faible quantité d'un produit qui fut identifié au 3-acétamido-3-désoxy-6,7-O-isopropylidène-D-glycero-D-galacto-heptose diéthyl-dithioacétal (**3**). Cette différence de comportement est remarquable et s'explique probablement par une conformation différente des deux composés en solution. Nous avons alors entrepris une série d'essais pour essayer de réaliser la réaction de diacétalation : soit avec l'acétone et d'autres catalyseurs acides (chlorure de zinc, résine acide, anhydride phosphorique), soit avec le 2,2-diméthoxypropane et l'acide *p*-toluènesulfonique, avec ou sans *N,N*-diméthylformamide. Dans tous les cas, un examen par c.c.m. de la réaction montre l'apparition rapide (15 à 30 min) d'un dérivé unique, le 3-acétamido-3-désoxy-6,7-O-isopropylidène-D-glycero-D-galacto-heptose diéthyl-dithioacétal (**3**), puis la formation ultérieure de nombreux dérivés, au détriment de **3**. Le monoacétal **3 a**, par exemple, été obtenu à l'état cristallin avec un rendement de 85 % par réaction, pendant 20 min, de **2** avec de l'acétone contenant environ 1 %

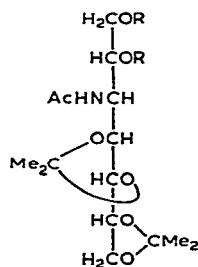
(v/v) d'acide sulfurique concentré, en présence de sulfate cuivrique anhydre. Sa structure a été déterminée par une étude chimique. L'acétate **4**, soumis aux conditions classiques de désulfuration (chlorure mercurique et oxyde jaune de mercure dans le mélange méthanol-eau) donne l'aldéhyde **5**, caractérisé par une semi-carbazone cristalline (**6**). Le monoacétal **3**, placé dans les conditions de tritylation pendant un temps prolongé, ne réagit pas, ce qui indique que la fonction hydroxyle primaire est probablement engagée dans la formation de l'acétal. Dans des conditions identiques, **2** se trityle rapidement. La dimension du cycle acétalique a ensuite été établie sans ambiguïté par l'oxydation periodique. Afin d'éviter une oxydation des atomes de soufre¹⁴, le diéthyl-dithioacétal **3** a été préalablement réduit en 3-acétamido-1,3-didésoxy-6,7-*O*-isopropylidène-D-*glycero*-D-*galacto*-heptitol (**7**) par un excès de nickel de Raney fraîchement préparé et enrichi en hydrogène. Ce composé est transformé en tri-acétate **8**, dont les données spectrales (i.r. et r.m.n.) sont en accord avec la structure proposée. Dans les conditions habituelles, le polyol **7** consomme un équivalent de periodate de sodium en quelques minutes et livre deux aldéhydes, isolés sous la forme de leurs *p*-nitrophénylhydrazones cristallines. Un de ces aldéhydes est le 2,3-*O*-isopropylidène-D-glyceraldéhyde dont la *p*-nitrophénylhydrazone **9** est identique à un échantillon¹⁵ préparé à partir du 1,2:5,6-di-*O*-isopropylidène-D-mannitol¹⁶ par oxydation periodique, puis traitement à la *p*-nitrophénylhydrazine. L'autre dérivé présente des données analytiques et spectrales en accord avec la *p*-nitrophénylhydrazone d'un aminodésoxytétrose. En supposant qu'aucune inversion totale de configuration ne soit intervenue durant la coupure periodique de **7**, **17** est la *p*-nitrophénylhydrazone du 2-acétamido-2,4-didésoxy-L-thréose, tétrorse qui, à notre



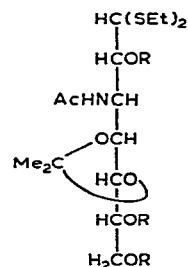
10 R = H
11 R = Ac



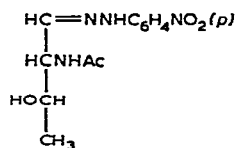
12



13 R = H
14 R = Ac



15 R = H
16 R = Ac



17

connaissance, n'a encore jamais été préparé. Toutes ces données confirment la structure proposée pour le monoacétal 7.

Le diacétal 10 attendu se forme rapidement (20 min) et avec un excellent rendement (86%) lorsque l'acétonation de 2 est effectuée en présence d'une concentration inhabituellement élevée en acide sulfurique concentré (7%, v/v). Le monoacétal 7 est également transformé en diacétal 10 dans ces conditions. Il faut donc souligner l'influence décisive de la concentration en acide sulfurique sur le résultat de l'acétonation de 2. La structure du diacétal 10, caractérisé par le mono-acétate 11, a été de nouveau établie par une oxydation periodique. Après désulfuration (oxyde mercurique-chlorure mercurique) et réduction par le borohydrure de sodium, l'heptitol 13 formé (caractérisé par le di-acétate 14 cristallin) réduit très rapidement un équivalent de periodate de sodium, en libérant un équivalent de formaldéhyde et de 2-acétamido-2-désoxy-3,4:5,6-di-*O*-isopropylidène-aldéhyde-D-mannose, identique à un dérivé déjà préparé¹³. Ces résultats prouvent que OH-2 est libre. Comme le monoacétal 3 fournit par acétonation le diacétal 10, la structure proposée pour ce dernier est très probable. Il suffit d'admettre que le passage de 3 à 10 ne s'accompagne pas d'un réarrangement de cycles cétaliques. En tout état de cause, un tel réarrangement ne mettrait en cause que la taille des cycles cétaliques, les positions globalement protégées restant les mêmes.

Lorsque le diacétal 10 est hydrolysé à l'aide de résine échangeuse d'ions, il est quantitativement transformé en un monoacétal différent de 3. La structure 15 lui a été attribuée, et corrélativement la structure 16 pour son tri-acétate.

Cette étude permet donc d'accéder avec un excellent rendement aux trois acétals possibles de type 1,3-dioxolanne du diéthyl-dithioacétal 2. La transformation du diacétal 10 en acide 4-*O*-méthyl-*N*-acétylneuraminique est décrite dans l'article suivant.

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 sont déterminés au moyen d'un polarimètre Perkin-Elmer (Modèle 141). Les spectres infra-rouge (i.r.) sont enregistrés sur un spectrophotomètre Jouan-Jasco IRA-1, les spectres de résonance magnétique nucléaire (r.m.n.) à l'aide d'un spectromètre Perkin-Elmer R-32 (90 MHz). Les déplacements chimiques (δ) sont indiqués par rapport au tétraméthylsilane interne (s = singulet, d = doublet, m = multiplet). L'homogénéité des composés préparés est contrôlée par chromatographie (c.c.m) 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).

3-Acétamido-3-désoxy-D-glycéro-D-galacto-heptose diéthyl-dithioacétal (2). — Le 3-acétamido-3-désoxy-D-glycéro-D-galacto-heptose (1, 2 g) est vigoureusement agité, pendant 24 h et à 0°, avec de l'acide chlorhydrique concentré (8 ml) et de l'éthanethiol (8 ml). Après évaporation de l'excès de thiol, le milieu réactionnel est neutralisé par passage sur une colonne de résine Dowex 1-X2 (OH⁻, 50–100 mesh) et évaporé. Le résidu blanc cristallise dans l'éthanol aqueux, donnant le thioacétal 2 (2,14 g, 75 %), p.f. 158–159°, $[\alpha]_D^{20} - 29^\circ$ (c 0,63, eau); litt.¹⁰: p.f. 150–152°, $[\alpha]_D^{20} + 5,3^\circ$ (c 1, eau).

Anal. Calc. pour C₁₃H₂₇NO₆S₂: C, 43,67; H, 7,61; N, 3,92; O, 26,85; S, 17,94. Trouvé: C, 43,38; H, 7,73; N, 3,62; O, 26,75; S, 18,06.

3-Acétamido-3-désoxy-6,7-O-isopropylidène-D-glycéro-D-galacto-heptose diéthyl-dithioacétal (3). — Le thioacétal 2 (1 g) est agité pendant 20 h à température ambiante dans de l'acétone anhydre (40 ml) en présence de sulfate cuivrique anhydre (1 g). De l'acide sulfurique concentré (0,05 ml) est alors ajouté, l'agitation étant poursuivie pendant 20 min. Le mélange réactionnel est ensuite neutralisé, à 0°, avec une solution saturée d'hydrogénocarbonate de sodium; les sels formés sont essorés et lavés avec de l'acétone. Le filtrat est évaporé, et le résidu est dissous dans du chloroforme (100 ml). La solution obtenue est lavée avec de l'eau (30 ml), séchée (sulfate de magnésium) et le solvant évaporé. Le résidu solide est cristallisé dans un mélange acétate d'éthyle–benzène, donnant l'acétal 3 (0,94 g, 85 %), p.f. 150,5–151,5°, $[\alpha]_D^{20} - 18,6^\circ$ (c 0,96, méthanol); $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$ 3420 (OH), 3340 (NH), 1640 (Amide I), 1542 cm⁻¹ (Amide II); r.m.n. (diméthyl sulfoxyde-*d*₆): δ 1,18–1,40 (12 H, m, 4 Me), 2,08 (3 H, s, Ac), 2,66–2,73 (4 H, m, 2 SCH₂–CH₃), 6,32 (1 H, d, $J_{\text{NH,H-3}}$ 8,5 Hz, NH). Le reste du spectre n'a pas été analysé.

Anal. Calc. pour C₁₆H₃₁NO₆S₂: C, 48,34; H, 7,86; N, 3,52. Trouvé: C, 48,52; H, 7,96; N, 3,90.

3-Acétamido-2,4,5-tri-O-acétyl-3-désoxy-6,7-O-isopropylidène-D-glycéro-D-galacto-heptose diéthyl-dithioacétal (4). — L'acétal 3 est acétylé pendant 30 h à température ambiante au moyen d'anhydride acétique (0,8 ml) dans de la pyridine anhydre (4 ml). L'excès d'anhydride acétique est détruit par addition de méthanol (5 ml), les solvants étant ensuite évaporés. Le résidu (343 mg, 100 %) est cristallisé dans le mélange éther diisopropylique–éther de pétrole (40–60°), donnant 4 (320 mg, 93,5 %), p.f. 155–156°, $[\alpha]_D^{20} - 10^\circ$ (c 0,56, chloroforme); $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$ 3300 (NH), 1770–1750 (OAc), 1650 (Amide I), 1560 cm⁻¹ (Amide II); r.m.n. (chloroforme-*d*): δ 1,13–1,33 (12 H, m, Me), 2,00 (3 H, s, NHAc), 2,09 et 2,12 (9 H, 2 s, OAc), 2,56–2,72 (4 H, m, SCH₂CH₃), 5,64 (1 H, d, $J_{\text{NH,H-3}}$ 10 Hz, NH). Le reste du spectre n'a pas été analysé.

Anal. Calc. pour C₂₂H₃₇NO₉S₂: C, 50,47; H, 7,12; N, 2,68. Trouvé: C, 50,59; H, 7,12; N, 2,87.

Semicarbazone du 3-acétamido-2,4,5-tri-O-acétyl-3-désoxy-6,7-O-isopropylidène-aldéhydo-D-glycéro-D-galacto-heptose (6). — Une solution de l'acétal 4 (90 mg) dans le mélange acétone–eau (40:3, v/v, 3,44 ml) est agitée vigoureusement pendant 40 min en présence d'oxyde mercurique jaune (280 mg) et de chlorure mercurique (280 mg). Les sels sont essorés, lavés avec de l'acétone et le filtrat amené à sec. Le résidu est dissous dans du chloroforme; la solution obtenue est lavée avec une solution aqueuse

m d'iodure de potassium, avec de l'eau, séchée (sulfate de magnésium) et évaporée. On obtient ainsi l'aldéhyde **5** (50 mg, 69 %) sous forme d'un sirop incolore, $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$ 1760 (OAc), 1705 (C=O), 1670 (Amide I), 1540 cm^{-1} (Amide II).

Une solution de cet aldéhyde (30 mg) dans de l'éthanol (0,5 ml) contenant une goutte de pyridine et quelques gouttes d'eau est chauffée à 50° pendant 15 min en présence de chlorhydrate de semicarbazide (12 mg). Le milieu réactionnel est chromatographié, après réduction du volume, sur une colonne de gel de silice (4 g) à l'aide de chloroforme-méthanol (9:1, v/v); on obtient **6** (30 mg, 88 %), qui est cristallisé dans le mélange éthanol-benzène (16,6 mg, 48 %), p.f. 195–200°, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 32^\circ$ (c 0,25, éthanol); $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$ 3560 (NH₂), 3380–3340 (NH), 1760–1745 (OAc), 1710 (C=N), 1680–1640 (Amide I), 1580 (CONH₂), 1540 cm^{-1} (Amide II, NHAc).

Anal. Calc. pour C₁₉H₃₀N₄O₁₀: C, 48,09; H, 6,37; N, 11,81. Trouvé: C, 48,25; H, 6,29; N, 11,65.

3-Acétamido-1,3-didésoxy-6,7-O-isopropylidène-D-glycéro-D-galacto-heptitol (7).

— Une suspension de nickel de Raney fraîchement préparé (6 g) dans de l'éthanol à 95 % (50 ml) est soumise durant 1 h à un barbotage d'hydrogène. Après addition du thioacétal **3** (468 mg), le mélange est chauffé à reflux sous agitation pendant 30 min. Le nickel est essoré et lavé abondamment avec de l'éthanol à 95 %. On chasse le solvant et le résidu est cristallisé dans un mélange acétate d'éthyle-éthanol. On obtient **7** (291 mg, 89 %), p.f. 200–201°, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} - 17,8^\circ$ (c 0,50, méthanol); $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$ 3320–3200 (OH, NH), 1635 (Amide I), 1550 cm^{-1} (Amide II).

Anal. Calc. pour C₁₂H₂₃NO₆: C, 51,97; H, 8,36; N, 5,05. Trouvé: C, 51,79; H, 8,39; N, 4,65.

3-Acétamido-2,4,5-tri-O-acétyl-1,3-didésoxy-6,7-O-isopropylidène-D-glycéro-D-galacto-heptitol (8). — Le dérivé **7** (52 mg) est acétylé comme cela est décrit pour la préparation de **4**. Le résidu (77 mg, 100 %) cristallise dans le mélange éther-éther de pétrole (40–60°), donnant **8** (71 mg, 93 %), p.f. 175,5°–176,5°, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} 0^\circ$ (c 0,60, chloroforme); $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$ 3375 (NH), 1750 (OAc), 1660 (Amide I), 1545 cm^{-1} (Amide II); r.m.n. (chloroforme-*d*): δ 1,16 (3 H, d, Me), 1,30 et 1,37 (6 H, 2 s, isopropylidène), 2,03, 2,05, 2,09 et 2,11 (12 H, 4 s, Ac).

Anal. Calc. pour C₁₈H₂₉NO₉: C, 53,58; H, 7,25; N, 3,47. Trouvé: C, 53,55; H, 7,24; N, 3,09.

Oxydation périodique de 7. — L'heptitol **7** (38,3 mg, 0,138 mmol) est dissous dans de l'eau (5 ml) et une solution de periodate de sodium (35,3 mg, 0,155 mmol) dans de l'eau (1 ml) est ajoutée. Après 30 min, une solution d'acétate de plomb (62,5 mg) dans de l'éthanol à 95 % est ajoutée au milieu réactionnel qui est alors agité pendant 1 h à température ambiante. On filtre et ajoute une solution de *p*-nitrophénylhydrazine (40,2 mg, 0,262 mmol) dans de l'éthanol (1,5 ml) au filtrat. Après 2,5 h à température ambiante, on chasse le solvant et extrait le résidu plusieurs fois avec un mélange chloroforme-acétate d'éthyle (1:1, v/v). L'évaporation des extraits donne une mousse orange (80 mg) qui est chromatographiée sur une colonne de gel de silice (5 g) à l'aide de chloroforme-méthanol (12:1, v/v, contenant 0,1 % de triéthylamine). Deux produits purs sont obtenus:

La *p*-nitrophénylhydrazone du 2,3-O-isopropylidène-D-glycéraldéhyde (**9**, 33,8 mg, 92,4%), cristallisée dans le mélange acétate d'éthyle-éther de pétrole (40–60°) (15,4 mg, 40%), p.f. 120–122°, $[\alpha]_D^{20} + 4,1^\circ$ (c 0,75, méthanol); $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$ 3300 (NH), 1595 (Ph), 1530 et 1345 (NO₂), 840 cm⁻¹ (Ph); p.f. de mélange (avec un échantillon préparé selon Akiya *et al.*¹⁵) 120–122°.

La *p*-nitrophénylhydrazone du 2-acétamido-2,4-didésoxy-L-thréose (**17**, 33,7 mg, 87%), cristallisée dans le mélange acétate d'éthyle-éther de pétrole (40–60°) (20 mg, 52%), p.f. 143–144°, $[\alpha]_D^{20} + 73^\circ$ (c 0,29, méthanol); $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$ 3310 (OH, NH), 1650 (Amide I), 1605 et 1595 (Ph), 1560 (Amide II), 1530 (NO₂), 840 cm⁻¹ (Ph).

Anal. Calc. pour C₁₂H₁₅N₃O₄: C, 51,42; H, 5,75; N, 19,99. Trouvé: C, 51,52; H, 5,92; N, 19,62.

Une expérience préliminaire a montré que l'heptitol **7** est oxydé par 1 équiv. de periodate de sodium en ~1 min.

3-Acétamido-3-désoxy-4,5:6,7-di-O-isopropylidène-D-glycéro-D-galacto-heptose diéthyl-dithioacétal (**10**). — (a) À partir de **3**. L'acétal **3** (23 mg) est agité pendant 2 h à température ambiante dans de l'acétone anhydre (1,2 ml) en présence de tamis moléculaire 4 Å. Après refroidissement à -15°, de l'acide sulfurique concentré est ajouté (0,08 ml), l'agitation étant ensuite poursuivie pendant 15 min à température ambiante. Après neutralisation à l'aide de carbonate de potassium sec en poudre, les sels formés sont essorés et lavés avec de l'acétone. On chasse les solvants et chromatographie le résidu sur une colonne de gel de silice (3 g) à l'aide d'éther diisopropyl-méthanol (13:1, v/v, contenant 0,1% de triéthylamine). On isole **10** homogène en c.c.m. (solvant de la chromatographie sur colonne) (19 mg, 75%). Cet acétal est cristallisé dans le mélange éther-éther de pétrole (40–60°), p.f. 74–75°, $[\alpha]_D^{20} + 61,7^\circ$ (c 1,53, chloroforme); $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$ 3360 (NH), 1650 (Amide I), 1520 cm⁻¹ (Amide II); r.m.n. (chloroforme-*d*): δ 1,17–1,45 (18 H, m, 6 Me), 2,01 (3 H, s, Ac), 2,56–2,81 (4 H, m, 2 SCH₂CH₃), 6,22 (1 H, d, $J_{\text{NH,H-3}}$ 10 Hz, NH). Le reste du spectre n'a pas été analysé.

Anal. Calc. pour C₁₉H₃₅NO₆S₂: C, 52,15; H, 8,07; N, 3,20; O, 21,93; S, 14,65. Trouvé: C, 52,14; H, 8,05; N, 3,19; O, 22,03; S, 14,65.

(b) À partir du thioacétal **2**. Le thioacétal **2** (0,95 g) est agité pendant 2 h à température ambiante dans de l'acétone anhydre (28 ml) en présence de tamis moléculaire 4 Å. Après refroidissement à -15°, de l'acide sulfurique concentré (2 ml) est ajouté, l'agitation étant ensuite poursuivie pendant 20 min à température ambiante. Un traitement identique au précédent donne l'acétal **10** (1,03 g, 86%) ayant les mêmes caractéristiques que le dérivé préparé par la méthode (a).

3-Acétamido-2-O-acétyl-3-désoxy-4,5:6,7-di-O-isopropylidène-D-glycéro-D-galacto-heptose diéthyl-dithioacétal (**11**). — Le diacétal **10** (470 mg) est acétylé comme décrit pour la préparation de **4**. Le résidu (512 mg, 100%) cristallise dans le mélange éther-pentane, donnant **12** (452 mg, 87,5%), p.f. 86,5–87°, $[\alpha]_D^{20} + 3^\circ$ (c 1,83, méthanol); $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$ 3280 (NH), 1770 (OAc), 1650 (Amide I), 1550 cm⁻¹ (Amide II); r.m.n. (chloroforme-*d*): δ 1,15–1,46 (18 H, Me), 2,01 (3 H, s, NHAc), 2,52–2,77 (4 H, m, SCH₂CH₃), 5,75 (1 H, d, $J_{\text{NH,H-3}}$ 10 Hz, NH). Le reste du spectre n'a pas été analysé.

Anal. Calc. pour $C_{21}H_{37}NO_7S_2$: C, 52,58; H, 7,78; N, 2,95; S, 13,59. Trouvé: C, 52,83; H, 7,81; N, 2,95; S, 13,59.

3-Acétamido-1,2-di-O-acétyl-3-désoxy-4,5:6,7-di-O-isopropylidène-D-glycéro-D-galacto-heptitol (14). — Une solution du diacétal **10** (327 mg) dans le mélange acétone-eau (135:13, v/v, 14,8 ml) est vigoureusement agitée pendant 45 min à température ambiante en présence d'oxyde mercurique jaune (1,15 g) et de chlorure mercurique (1,15 g). Les sels sont essorés, lavés avec de l'acétone et on chasse le solvant. Le résidu est dissous dans du chloroforme et la solution obtenue est lavée avec une solution aqueuse *M* d'iodure de potassium, avec de l'eau, séchée (sulfate de magnésium) puis le solvant évaporé. Le résidu est chromatographié sur une colonne de gel de silice (10 g) à l'aide de chloroforme-méthanol (13:1, v/v, contenant 0,1 % de triéthylamine), donnant l'aldéhyde **12** (213 mg, 86 %) sous forme d'un verre incolore, $[\alpha]_D^{20} -12^\circ$ (*c* 0,61, chloroforme); $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$ 3340 (NH), 1740 (C=O), 1660 (Amide I), 1540 cm^{-1} (Amide II). Une analyse élémentaire satisfaisante n'a pu être obtenue pour cet aldéhyde hygroscopique.

Une solution glacée de ce dernier (210 mg) dans du méthanol aqueux à 50 % (20 ml) est réduite par du borohydrure de sodium (210 mg). Après 2 h à 0°, l'excès de borohydrure est détruit par addition d'acide acétique à 2 % jusqu'à pH 7. Après évaporation des solvants, le résidu est séché sous vide pendant 12 h sur pentaoxyde de phosphore puis est extrait par de l'acétate d'éthyle bouillant (50 ml). Après filtration, on chasse le solvant et chromatographie le résidu sur une colonne de gel de silice (15 g) à l'aide de chloroforme-méthanol (12:1, v/v, contenant 0,1 % de triéthylamine). On isole l'heptitol **13** à l'état pur (165 mg, 78 %), $[\alpha]_D^{20} +29^\circ$ (*c* 1,19, méthanol); $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$ 3390 (OH, NH), 1650 (Amide I), 1540 (Amide II). Cet alcool hygroscopique (14 mg) est acétylé au moyen d'anhydride acétique (1 goutte) dans de la pyridine anhydre (0,5 ml). Après 12 h à température ambiante, l'excès d'anhydride acétique est détruit par addition de méthanol (0,2 ml), le solvant étant ensuite évaporé. Le résidu est cristallisé dans le mélange toluène-éther-éther de pétrole (40–60°), donnant **14** (11 mg, 63 %), p.f. 121–121,5°, $[\alpha]_D^{20} -11,5^\circ$ (*c* 0,30, chloroforme); $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$ 3270 (NH), 1755 (OAc), 1645 (Amide I), 1550 cm^{-1} (Amide II).

Anal. Calc. pour $C_{19}H_{31}NO_9$: C, 54,66; H, 7,49; N, 3,36. Trouvé: C, 54,45; H, 7,49; N, 3,54.

Oxydation périodique du 3-acétamido-3-désoxy-4,5:6,7-di-O-isopropylidène-D-glycéro-D-galacto-heptitol (13). — Une solution aqueuse 0,1M de periodate de sodium (4 ml) est ajoutée, sous agitation et à l'obscurité, à une solution de l'heptitol **13** (50,9 mg) dans de l'eau (16 ml). On constate la consommation très rapide d'un équiv. de periodate et la formation d'un composé qui a été identifié au 2-acétamido-2-désoxy-3,4:5,6-di-*O*-isopropylidène-aldéhyde-D-mannose.

La formation d'environ 1 équiv. de formaldéhyde a été mise en évidence par un dosage au Dimédon. Une solution aqueuse *M* d'hydrogénocarbonate de sodium (3 ml) et une solution aqueuse 0,1M de periodate de sodium (6 ml) sont successivement ajoutées à une solution aqueuse (3 ml) de l'heptitol **13** (52,7 mg). Le mode opératoire décrit par Reeves¹⁷ permet d'isoler un dérivé caractéristique du formal-

déhyde (41 mg, 89 % sur la base d'un équiv. de formaldéhyde par mol d'heptitol de départ), p.f. 189,5–191,5°; litt.¹⁷ p.f. 188–190°.

3-Acétamido-3-désoxy-4,5-O-isopropylidène-D-glycéro-D-galacto-heptose diéthyl-dithioacétal (15). — Une solution du diacétal **10** (509 mg) dans le mélange (3:2, v/v) méthanol-eau (25 ml) est vigoureusement agitée pendant 55 min à température ambiante en présence de résine Dowex 50 W-X8 (H⁺, 5 g) fraîchement régénérée et lavée avec du méthanol. La résine est essorée et lavée avec du méthanol aqueux. Le filtrat est amené à sec et le résidu (462 mg, 100 %) est chromatographié sur une colonne de gel de silice (20 g) à l'aide de chloroforme-méthanol (11,5:1, v/v, contenant 0,1 % de triéthylamine); il donne l'acétal **15** (448 mg, 97 %) sous forme d'une mousse incolore, $[\alpha]_D^{20} +47,5^\circ$ (c 2,29, tétrachlorure de carbone); ν_{\max}^{film} 3360 (ON, HH), 1640 (Amide I), 1530 cm⁻¹ (Amide II).

Anal. Calc. pour C₁₆H₃₁NO₆S₂: C, 48,34; H, 7,86; N, 3,52; S, 16,13. Trouvé: C, 48,51; H, 8,00; N, 3,29; S, 16,32.

3-Acétamido-2,6,7-tri-O-acétyl-3-désoxy-4,5-di-O-isopropylidène-D-glycéro-D-galacto-heptose diéthyl-dithioacétal (16). — Le monoacétal **15** (60 mg) est acétylé au moyen d'anhydride acétique (0,2 ml) dans de la pyridine anhydre (1 ml). Après 20 h à température ambiante, l'excès d'anhydride acétique est détruit par addition de méthanol, le solvant étant ensuite évaporé. Une chromatographie du résidu (79 mg, 100 %) sur une colonne de gel de silice (5 g) à l'aide du mélange éther diisopropylique-acétone (4:1, v/v) donne **16** à l'état pur (75 mg, 95 %) sous forme d'un verre incolore, $[\alpha]_D^{20} +26,5^\circ$ (c 0,69, chloroforme); ν_{\max}^{film} 3360 (NH), 1740 (OAc), 1660 (Amide I), 1510 cm⁻¹ (Amide II).

Anal. Calc. pour C₂₂H₃₇NO₉S₂: C, 50,47; H, 7,12; N, 2,68. Trouvé: C, 50,58; H, 7,33; N, 2,85.

RÉFÉRENCES

- 1 J.-M. BEAU ET P. SINAÏ, *Actual. Chim.*, (1975) 48.
- 2 R. SCHAUER ET H. FAILLARD, *Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem.*, 349 (1968) 961–968.
- 3 R. SCHAUER, M. WEMBER, F. WIRTZ-PEITZ ET C. FERREIRA DO AMARAL, *Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem.*, 352 (1971) 1073–1080.
- 4 D. CHARON ET L. SZABÓ, *Carbohydr. Res.*, 34 (1974) 271–277.
- 5 L. WARREN, *J. Biol. Chem.*, 234 (1959) 1971–1975.
- 6 A. K. BHATTACHARJEE ET H. R. JENNINGS, *Carbohydr. Res.*, 51 (1976) 253–261 et références citées.
- 7 N. K. KOCHETKOV, I. G. ZHUKOVA, G. P. SMIRNOVA ET I. S. GLUKHOED, *Biochim. Biophys. Acta*, 326 (1973) 74–83.
- 8 M. SUGITA ET T. HORI, *J. Biochem. (Tokyo)*, 80 (1976) 637–640.
- 9 A. YA. KHORLIN ET I. M. PRIVALOVA, *Carbohydr. Res.*, 13 (1970) 373–377.
- 10 M. N. MIRZAYANOVA, L. P. DAVYDOVA ET G. I. SAMOKHVALOV, *J. Gen. Chem. USSR, Engl. Transl.*, 40 (1970) 663–666.
- 11 R. KUHN ET G. BASCHANG, *Justus Liebigs. Ann. Chem.*, 636 (1960) 164–173.
- 12 S. A. BARKER ET E. J. BOURNE, *Adv. Carbohydr. Chem.*, 7 (1952) 181.
- 13 J.-M. BEAU, P. ROLLIN ET P. SINAÏ, *Carbohydr. Res.*, 53 (1977) 187–195.
- 14 G. DRYHURST, *Periodate Oxidation of Diol and Other Functional Groups*, Pergamon Press, Oxford, 1970, pp. 61–64.
- 15 S. AKIYA, S. OKUI ET S. SUZUKI, *Yakugaku Zasshi*, 72 (1962) 785–787.
- 16 E. BAER ET H. O. L. FISCHER, *J. Biol. Chem.*, 128 (1939) 463–473.
- 17 R. E. REEVES, *J. Am. Chem. Soc.*, 63 (1941) 1476–1477.