

## STRUCTURE CRISTALLINE DE LA 2-ACÉTAMIDO-1-*N*-(L-ASPART-4-OYL)-2-DÉSOXY- $\beta$ -D-GLUCOPYRANOSYLAMINE

JACQUELINE OHANESSIAN, DANIELLE AVENEL, ALAIN NEUMAN ET HÉLÈNE GILLIER-PANDRAUD\*

*Laboratoire de Chimie Structurale Biomoléculaire, U.E.R. Santé, Médecine et Biologie Humaine, 74, rue Marcel Cachin, 93000 Bobigny (France)*

(Reçu le 6 mars 1979; accepté sous forme modifiée, le 29 mai 1979)

### ABSTRACT

The crystal data of 2-acetamido-1-*N*-(L-aspart-4-oyl)-2-deoxy- $\beta$ -D-glucopyranosylamine are  $a$  4.932 (2),  $b$  24.218 (8),  $c$  7.788 (3) Å, and  $\beta$  97.718° (5), space group  $P2_1$ ,  $Z$  2. The structure was solved by direct methods and refined to an  $R$  value of 0.06 for 1679 independent reflexions. The pyranose form adopts the  $^4C_1(D)$  conformation and the asparagine residue has an extended conformation. The *N*-glycosyl bond was compared with the corresponding bond of the acetamido group and the  $\beta$ -D-(1 $\rightarrow$ x)-glycoside linkages in oligosaccharides. The acetamido group, the asparagine residue, and some hydrogen intermolecular-bonds determine channels parallel to the crystallographic axis,  $\bar{a}$ , which accept water molecules partially disordered, as in some inclusion compounds.

### SOMMAIRE

Les données cristallographiques de la 2-acétamido-1-*N*-(L-aspart-4-oyl)-2-désoxy- $\beta$ -D-glucopyranosylamine sont les suivantes:  $a$  4,932 (2),  $b$  24,218 (8),  $c$  7,788 (3) Å,  $\beta$  97,718° (5), groupe spatial  $P2_1$ ,  $Z$  2. La structure a été résolue à partir de 1679 réflexions indépendantes par les méthodes directes et affinée jusqu'à une valeur de  $R$  de 0,06. La forme pyranique adopte la conformation  $^4C_1(D)$ . Le résidu d'asparagine a une extension spatiale maximale. La liaison *N*-osyle est comparée à la liaison correspondante dans le groupe acétamide et aux liaisons  $\beta$ -D-(1 $\rightarrow$ x)-glycosidiques des oligosaccharides. Le groupe acétamide, le résidu d'asparagine et quelques liaisons hydrogène intermoléculaires déterminent des canaux parallèles à l'axe cristallographique  $\bar{a}$ , qui acceptent des molécules d'eau partiellement désordonnées, comme dans certains composés en insertion.

### INTRODUCTION

La dégradation enzymatique de glycoprotéines purifiées, ainsi que les analyses

---

\*À laquelle doit être adressée la correspondance concernant cet article.

chimiques et biochimiques consécutives, ont permis de mettre en évidence des associations par liaisons de covalence entre certains monosaccharides et un nombre limité d'acides aminés de chaînes peptidiques. La liaison *O*-glycosyle<sup>1</sup> caractérise les glycopeptides  $\alpha$ -D-GalNAcp-(1→3)-Ser (ou -Thr),  $\alpha$ -D-Galp-(1→3)-Ser (ou -Thr),  $\beta$ -D-Galp-(1→5)-OHLys,  $\beta$ -D-Xylp-(1→3)-Ser,  $\beta$ -D-Arap-(1→4)-OHPro tandis que la liaison *N*-glycosyle<sup>1</sup> n'a été signalée que dans la 2-acétamido-1-*N*-(L-aspart-4-oyl)-2-désoxy- $\beta$ -D-glucopyranosylamine (1). Compte tenu de l'importance biologique des glycoprotéines, nous avons envisagé l'étude conformationnelle et structurale de 1, depuis peu commercialement disponible, par diffraction des rayons X, en prolongement des recherches effectuées dans notre laboratoire sur le 2-acétamido-2-désoxy-D-galactose<sup>2,3</sup>, le  $\beta$ -D-galactose et l' $\alpha$ -L-fucose<sup>4</sup>, l' $\alpha$ -D-mannose<sup>5</sup> et l' $\alpha$ -D-galactose<sup>6</sup>, monosaccharides intervenant au niveau des jonctions glycopeptidiques ou présents en proportion variable dans les chaînes glucidiques de glycoprotéines.

## PARTIE EXPÉRIMENTALE ET RÉSULTATS

Les plaquettes de 1 ont été obtenues à partir du produit commercial microcristallisé (Koch-Light, Colnbrook, SL3OBZ Buckinghamshire, Angleterre). Le produit en poudre (quelques mg) a été dissous dans butanol-méthanol, en présence d'un volume minimal d'eau permettant la dissolution. Les cristaux se sont développés, à température ambiante, par évaporation lente.

Les paramètres de la maille cristalline ont été calculés et affinés sur diffractomètre automatique quatre cercles "Philips". Les principales données cristallographiques sont résumées dans le Tableau I. Un total de 1679 réflexions indépendantes ont été mesurées avec le rayonnement CuK $\alpha$ . L'exploitation du programme MULTAN<sup>7-9</sup>, après introduction de 223 facteurs de structure normalisés ( $E \geq 1,39$ ),

TABLEAU I

### DONNÉES CRISTALLOGRAPHIQUES

Formule moléculaire	C <sub>12</sub> H <sub>21</sub> N <sub>3</sub> O <sub>8</sub> ·(H <sub>2</sub> O) <sub>x</sub>
Système cristallin	monoclinique
Groupe spatial	P2 <sub>1</sub>
Dimensions de la maille	
<i>a</i>	4,932 (2) Å
<i>b</i>	24,218 (8) Å
<i>c</i>	7,788 (3) Å
$\beta$	97,718 (5)°
Volume de la maille (Å <sup>3</sup> )	922,85
<i>Z</i>	2
Densité (g·cm <sup>-3</sup> ) calculée dans l'hypothèse de 6 molécules d'eau par maille <sup>a</sup>	1,400

<sup>a</sup>La densité n'a pas été mesurée en raison de la faible quantité de produit et de la très petite taille des cristaux.

a permis de localiser 21 des 23 atomes de carbone, d'oxygène et d'azote de la molécule de **1**. Un premier affinement sur les facteurs de structure, suivant la procédure X-ray<sup>10</sup>, et une série de Fourier consécutive ont mis en évidence les deux atomes manquants de la molécule et les atomes d'oxygène de deux molécules d'eau. Un nouvel affinement suivi d'une série différence, a fait apparaître deux pics d'intensité trop forte pour être associés à des atomes d'hydrogène. Nous avons alors envisagé la présence de deux autres molécules d'eau avec une probabilité inférieure à l'unité. La justification de cette hypothèse apparaîtra ultérieurement dans la description de la structure. Les paramètres structuraux de position et d'agitation thermique étant bloqués, les probabilités de présence des quatre molécules d'eau ont été affinées et ont convergé jusqu'à 1 pour les deux premières et 0,5 pour les deux autres. La valeur du coefficient de reliabilité *R* était alors de 0,08. Tous les atomes d'hydrogène ont été trouvés sur une série différence, à l'exclusion d'un atome d'hydrogène du groupe méthyle, de l'atome

TABLEAU II

COORDONNÉES RÉDUITES ( $\times 10^4$ ) ET PROBABILITÉ DE PRÉSENCE DES ATOMES DE CARBONE, D'OXYGÈNE ET D'AZOTE<sup>a</sup>

Atome	<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>	<i>p</i>
N-1	752(12)	−3944(3)	2854(8)	1
N-2	7(12)	−3333(3)	−401(7)	1
N-3	4497(15)	−5549(3)	2471(11)	1
C-1	1793(15)	−3391(3)	2699(9)	1
C-2	28(15)	−3069(3)	1272(8)	1
C-3	1130(17)	−2480(3)	1201(9)	1
C-4	1281(16)	−2208(3)	3009(9)	1
C-5	2908(16)	−2582(3)	4389(3)	1
C-6	2817(17)	−2368(3)	6232(9)	1
C-7	−2230(16)	−3558(4)	−1246(9)	1
C-8	−1948(21)	−3778(4)	−3041(11)	1
C-9	2428(15)	−4384(3)	3169(9)	1
C-10	867(16)	−4924(3)	3279(12)	1
C-11	2760(16)	−5399(3)	3874(11)	1
C-12	1198(18)	−5929(4)	4331(12)	1
O-1	4925(10)	4361 <sup>b</sup>	3282(8)	1
O-2	−4408(12)	−3592(3)	−652(8)	1
O-3	−638(13)	−2163(2)	13(7)	1
O-4	2661(14)	−1692(2)	2923(7)	1
O-5	1724(11)	−3126(22)	4329(6)	1
O-6	119(12)	−2337(2)	6643(7)	1
O-7	−898(13)	−5869(3)	4990(9)	1
O-8	2276(16)	−6374(3)	3400(14)	1
O-E1	4364(22)	−4780(4)	9402(13)	1
O-E2	1008(24)	−194(5)	2045(15)	1
O-E3	880(45)	−983(6)	9407(18)	0,5
O-E4	6427(50)	−1218(7)	641(26)	0,5

<sup>a</sup>Les écarts-types sont donnés entre parenthèses. <sup>b</sup>La coordonnée *y* de l'atome O-1 a été maintenue constante afin de déterminer l'origine sur l'axe *b*.

TABLEAU III

COORDONNÉES RÉDUITES ( $\times 10^3$ ) DES ATOMES D'HYDROGÈNE

Atome	x	y	z
H(N-1)	-130	-395	273
H(N-2)	174	-335	-75
H(N-3-1)	635	-569	280
H(N-3-2)	394	-592	162
H(N-3-3)	516	-528	200
H(C-1)	386	-342	235
H(C-2)	-189	-303	153
H(C-3)	309	-245	73
H(C-4)	-87	-217	302
H(C-5)	491	-266	430
H(C-6-1)	370	-206	640
H(C-6-2)	387	-260	714
H(C-8-1)	-347	-398	-353
H(C-8-2)	-46	-402	-314
H(C-10-1)	-66	-492	377
H(C-10-2)	33	-500	230
H(C-11)	400	-530	499
H(O-3)	-44	-226	-102
H(O-6)	-34	-204	636
H(O-E1)	435	-445	888
H(O-E2-1)	-87	-38	235

d'hydrogène de OH-4 et de certains atomes d'hydrogène de molécules d'eau. Le facteur  $R$  a pris comme valeur finale 0,06, après nouvel affinement sur les paramètres structuraux des atomes de carbone, d'oxygène et d'azote, considérés comme ayant une agitation thermique anisotrope. Le coefficient d'agitation thermique des atomes d'hydrogène a été pris égal au facteur de température global. Des pics résiduels, situés dans la même zone du cristal que les molécules d'eau précédemment localisées et de valeur comprise entre 0,59 et 0,35e  $\text{\AA}^{-3}$  ont subsisté sur la série différence, alors que les pics correspondant aux atomes d'hydrogène étaient d'environ 0,30e  $\text{\AA}^{-3}$ . Le mode d'édification des cristaux, présenté dans la dernière partie de ce mémoire, nous a amenés à avancer qu'il s'agit de molécules d'eau présentes avec une probabilité très inférieure à celle des autres molécules. A ce stade, la poursuite des affinements dans le but de confirmer ces vues nous a paru dénuée de sens physique, car nous jugions atteinte la limite de précision de la technique utilisée.

Le Tableau II rassemble les coordonnées atomiques et les probabilités de présence des atomes d'oxygène, d'azote et de carbone, alors que le Tableau III regroupe les coordonnées atomiques des atomes d'hydrogène sans indication d'écarts-types, puisqu'il n'y a pas eu d'affinement sur la position de ces derniers atomes\*.

\*Les tableaux des facteurs de structure et de paramètres d'agitation thermique sont déposés chez Elsevier Scientific Publishing Company, BBA Data Deposition, P.O. Box 1527, Amsterdam, Pays-Bas. Pour les obtenir, indiquer la référence No. BBA/DD/135/Carbohydr. Res., 80 (1980) 1-13.

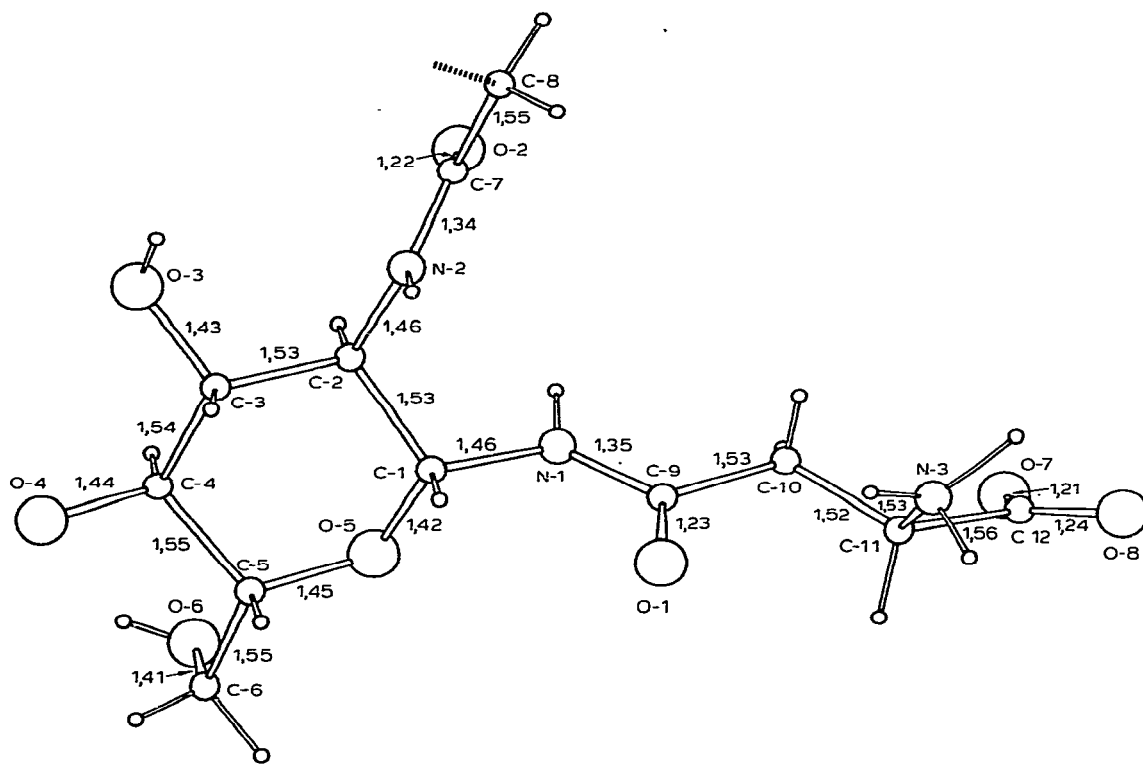


Fig. 1. Numérotage des atomes et distances interatomiques (en Å) de 1. Les atomes d'hydrogène H(C-8-3) et H(O-4) n'ont pas été localisés. Pour le groupement méthyle, l'orientation de l'atome d'hydrogène manquant a été représentée en pointillés. La direction de H(O-4) ne peut pas être déterminée. Moyenne de C-H 0,97, de N-H 0,97 et de O-H 0,82 Å.

Le numérotage des atomes, les distances interatomiques et les angles de valence sont donnés sur une représentation ORTEP<sup>11</sup> de la molécule (Figs. 1 et 2). La valeur moyenne de l'écart-type est de 0,014 Å pour les liaisons entre atomes de carbone, d'oxygène et d'azote. Pour les angles relatifs à ces mêmes atomes, on relève un écart-type de 0,9°. Cette précision, moyenne en comparaison des autres études de notre laboratoire, est attribuable au désordre structural au niveau des molécules d'eau. En outre, les atomes d'oxygène de ces molécules d'eau sont affectés d'importants facteurs d'agitation thermique anisotropes, ce qui nous a empêchés de localiser les atomes d'hydrogène situés à proximité.

## DISCUSSION

*Cycle D-glucopyranosyle. — Distances interatomiques et angles de valence (Figs. 1 et 2).* La longueur moyenne des liaisons C-C est de 1,54 Å et celle des trois liaisons C-O non concernées par l'effet anomérique 1,43 Å. En tenant compte de l'écart-type

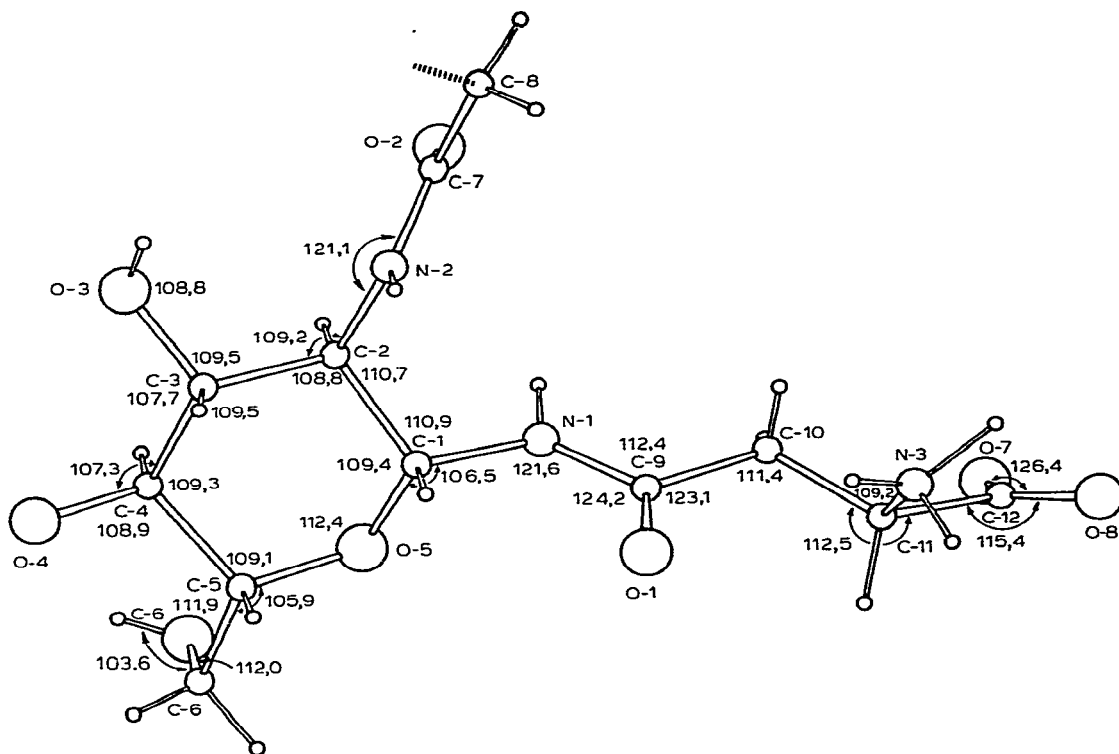


Fig. 2. Angles de valence (en degrés) de 1. Voir la légende de la Fig. 1 en ce qui concerne H(C-8-3) et H(O-4). Moyenne de l'angle C-C-H, 111,1°(9) et C-O-H 106,2°(9). Angles N-2-C-7-C-8 114,5°, N-2-C-7-O-2 123,5°, C-8-C-7-O-2 121,9°, N-3-C-11-C-12 108,3°, C-11-C-12-O-7 118,0°.

moyen sur les distances interatomiques, les valeurs obtenues sont en bon accord avec celles calculées sur 57 résidus pyraniques dans le sophorose<sup>12</sup> (1,522 Å et 1,426 Å).

La valeur moyenne des angles intracycliques de sommet C est de 109,2°, concordant avec l'état d'hybridation  $sp^3$  des atomes de carbone. L'angle de sommet O-5 a une valeur de 112,4°, en accord avec celle observée pour les cycles  $\beta$ -pyraniques. Nous remarquons que l'angle O-5-C-1-N-1 est inférieur à l'angle N-1-C-1-C-2 (106,5 et 109,4°); la même tendance, mais beaucoup moins marquée, s'observe avec les résidus  $\beta$ -D-galacto- et  $\beta$ -D-glucopyranosyles (moyennes respectives sur 16 cas: 107,6 et 108,3°). Nous retrouvons l'écart de 6° entre les valeurs des angles extracycliques C-4-C-5-C-6 et C-6-C-5-O-5 (111,9 et 105,9°), distorsion permettant au substituant porté par C-5 de s'éloigner de celui porté par C-4.

**Angles dièdres de conformation.** Le cycle pyranique de 1 adopte la conformation  ${}^4C_1$ (D) usuellement rencontrée pour les oligosaccharides. La première partie du Tableau IV présente les valeurs des angles dièdres intra- et extra-cycliques pour le résidu  $\beta$ -D-glucopyranosyle dans la convention de signe de l'IUPAC<sup>13</sup>. La valeur absolue moyenne des angles dièdres intracycliques est de 59,2° (valeurs extrêmes: 54,9 et 64,6°). La fluctuation au niveau de ces angles dièdres (9,7°) est supérieure à

TABLEAU IV

ANGLES DIÈDRES<sup>a</sup> DE CONFORMATION DE 1

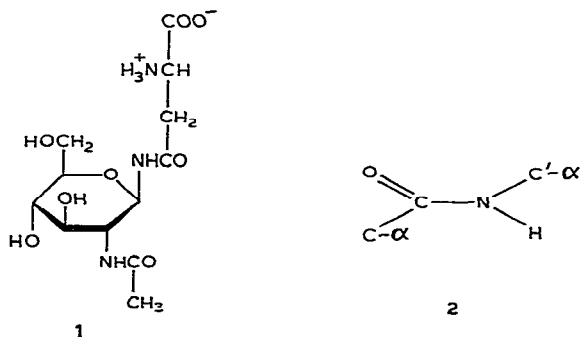
Résidu 2-acétamido-2-désoxy-β-D-glucopyranosyle					
Intracycliques		Extracycliques			
O-5-C-1-C-2-C-3	60,6	N-1-C-1-C-2-N-2	-62,3	O-4-C-4-C-5-O-5	-173,1
C-1-C-2-C-3-C-4	-56,6	N-1-C-1-C-2-C-3	177,8	O-4-C-4-C-5-C-6	69,9
C-2-C-3-C-4-C-5	54,9	N-2-C-2-C-3-O-3	64,6	C-6-C-5-O-5-C-1	-177,0
C-3-C-4-C-5-O-5	-56,2	N-2-C-2-C-3-C-4	-177,5	O-6-C-6-C-5-O-5	-59,8
C-4-C-5-O-5-C-1	62,4	O-3-C-3-C-4-O-4	-68,1	O-6-C-6-C-5-C-4	59,0
C-5-O-5-C-1-C-2	-64,6	O-3-C-3-C-4-C-5	174,1	C-5-O-5-C-1-N-1	175,4
		C-2-C-3-C-4-O-4	172,7		
Résidu L-asparagine					
C-10-C-9-N-1-C-1	178,1				
C-11-C-10-C-9-N-1	-171,8				
C-11-C-10-C-9-O-1	13,9				
C-12-C-11-C-10-C-9	-168,3				
N-3-C-11-C-10-C-9	71,4				
N-3-C-11-C-12-O-7	-157,8				
N-3-C-11-C-12-O-8	26,7				

<sup>a</sup>En degrés.

celle trouvée pour le 2-acétamido-2-désoxy-D-glucose<sup>14</sup> (53,7–62,5°, moyenne: 57,6°) et pour le 2-acétamido-2-désoxy-D-galactose<sup>2,3</sup> (54,9–59,0°, moyenne: 56,5°). Par contre, pour 2-acétamido-2-désoxy-D-mannose<sup>15</sup>, l'écart angulaire étant plus important (51,3–67,7° moyenne: 58,7°), le cycle pyranique est plus déformé.

La conformation relative à la liaison extracyclique C-5–C-6 met O-6 en position gauche par rapport à C-4 et par rapport à O-5. Pour les cycles glucopyraniques, cette conformation "gauche-gauche" est aussi fréquente que la conformation "trans-gauche".

**Groupes acétamides.** — Les valeurs des distances interatomiques et des angles de valence des groupements acétamides (2) libres et substitué présents dans 1 et dans d'autres composés d'intérêt biochimique (2-acétamido-2-désoxy-α-D-galactopyra-



nose<sup>2,3</sup>,  $\alpha$ -D-glucopyranose<sup>14</sup>,  $\beta$ -D-mannopyranose<sup>15</sup>, dérivé du chromogène I<sup>16</sup>, *N*-acétyl- $\beta$ -neuraminic acid dihydrate<sup>17</sup>, *N*-acétylneuraminic acid méthyl ester monohydrate<sup>18</sup>, *N*-acétyl- $\alpha$ -D-muramic acid<sup>19</sup>) peuvent être comparées. Le seul écart à noter concerne les longueurs de liaisons C-C- $\alpha$  de **1** qui semblent supérieure à celles des autres composés (valeur moyenne 1,50 Å, valeur théorique<sup>21</sup> C<sub>sp3</sub>-C<sub>sp2</sub>: 1,50 Å). La valeur moyenne associée à la liaison N-C'- $\alpha$  (1,46 Å) est proche de la valeur théorique de 1,470 Å. Nous remarquons un net raccourcissement de la liaison C-N (valeur moyenne 1,33 Å) et un léger allongement de la liaison C=O (valeur moyenne 1,24 Å, valeur théorique 1,20 Å). On vérifie donc la délocalisation électronique sur les atomes d'azote, de carbone et d'oxygène.

Il existe un bon accord entre les valeurs angulaires données dans la littérature et celles qui ont été trouvées pour les résidus acétamides (libre et substitué) de **1**. Les moyennes angulaires obtenues pour les angles de sommet N vérifient la délocalisation électronique mentionnée plus haut.

Pour **1**, nous pouvons signaler un écart angulaire important (13° et 14°) d'une part, entre les angles C-7-N-2-H(N-2) (126°) et C-2-N-2-H(N-2) (113°), et, d'autre part, entre C-9-N-1-H(N-1) (126°) et C-1-N-1-H(N-1) (112°). Le même phénomène se retrouve, plus ou moins accentué, dans les composés suivants: 2-acétamido-2-désoxy- $\alpha$ -D-galactose<sup>2,3</sup> (120° et 116°) et  $\beta$ -D-mannose<sup>15</sup> (124° et 111°) et dérivé du

#### TABLEAU V

PLANS DU GROUPEMENT ACÉTAMIDE, DU RÉSIDU L-ASPARAGINE ET DE LA LIAISON *N*-OSYLE, ET DISTANCES (Å) DES ATOMES CONCERNÉS À CES DIFFÉRENTS PLANS

##### *Groupelement acétamide*

Plan défini par C-2, N-2, C-7, O-2, C-8

C-2	0,025
N-2	-0,036
C-7	0,003
O-2	-0,008
C-8	0,016

##### *Résidu L-asparagine*

Plan défini par C-1, N-1, C-9, C-10, C-11, C-12

C-1	0,092
N-1	0,014
C-9	-0,045
C-10	-0,169
C-11	-0,031
C-12	0,139

##### *Liaison N-osyle*

Plan défini par C-1, N-1, C-9, O-1, C-10

C-1	-0,007
N-1	-0,000
C-9	0,032
O-1	-0,011
C-10	-0,014



chromogène I<sup>16</sup> (120° et 112°). Ceci peut être dû à une répulsion entre l'atome d'hydrogène lié à N et les atomes d'hydrogène liés à C- $\alpha$ .

L'effet de délocalisation électronique cité antérieurement assure la planéité des groupes acétamides (Tableau V). Les angles entre le plan moyen du cycle D-glucosyle et les plans des deux groupes acétamides (libre et substitué) sont respectivement de 80,3° et 70,8°. Ces deux derniers plans forment entre eux un angle de 74,0°.

La conformation *trans* au niveau de la liaison C-N, habituellement rencontrée<sup>20</sup>, est à nouveau vérifiée.

*Résidu asparagine.* — Le résidu acide aminé se présente sous forme dipolaire, forme usuelle des acides aminés dans l'état solide. De ce fait, les deux distances C-O du groupement carboxylique ionisé sont équivalentes, compte tenu des écarts-types (1,21 et 1,24 Å).

Les distances interatomiques C-C, C-N, C-O et les angles de valence du groupement acide  $\alpha$ -aminé sont en bon accord avec les valeurs correspondantes de l'acide DL-aspartique<sup>21</sup>, de l'L-asparagine<sup>22,23</sup>, de l'acide L-aspartique<sup>24</sup>, du complexe moléculaire L-lysine-L-aspartate<sup>25</sup>. Les effets de délocalisation électronique concernant le groupe amide, déjà mentionnés pour **1**, se retrouvent dans l'asparagine<sup>22,23</sup>.

Les angles dièdres de conformation pour le résidu L-asparagine de **1** sont rassemblés dans la deuxième partie du Tableau IV. Ces angles ont même ordre de grandeur et même signe que ceux de la L-asparagine<sup>22,23</sup>, à l'exception de l'angle dièdre C-12-C-11-C-10-C-9 de **1**. La valeur de cet angle (−168,3°) assure dans ce composé la position *trans* de C-12 par rapport à C-9 et il en résulte pour la chaîne extracyclique (N-1, C-9, C-10, C-11, C-12) branchée en C-1 sur le résidu D-glucosyle une conformation *quasi*-plane (Tableau V) en "zig-zag". Par contre, dans la L-asparagine libre<sup>22</sup>, la valeur de ce même angle (−74,3°) correspond à une position *gauche* de C-1 par rapport à C-4.

Pour **1**, le plan défini par la chaîne d'atomes de carbone de l'asparagine et les atomes C-1 et N-1, fait un angle de 69,7° avec le plan moyen du cycle et un angle de 4,2° avec le plan de la liaison *N*-osyle C-1-N-1-C-9. Le groupement ammonium quaternaire est proche de la position "*trans*" par rapport à l'un des atomes d'oxygène (O-7) du groupement carboxylique (Tableau IV).

*Liaison N-osyle.* — Les distances interatomiques C-1-N-1 et N-1-C-9 (respectivement 1,46 Å et 1,35 Å) et l'angle de valence C-1-N-1-C-9 (121,6°) ont déjà fait l'objet dans ce mémoire d'une comparaison au niveau des groupes acétamides. L'angle C-N-C'- $\alpha$  des groupements *N*-acétyles (moyenne sur 8 composés: 123,7°) est systématiquement supérieur à l'angle analogue C-O-C'- $\alpha$  des groupes *O*-acétyles dont la moyenne (117,5°) a été basée sur 127 groupes rattachés à 31 mono- et oligosaccharides.

L'angle dièdre C-5-O-5-C-1-N-1 (181,6°) est équivalent à l'angle dièdre C-5-O-5-C-1-O-1 des liaisons *O*-osyles. En effet, les valeurs extrêmes observées dans les disaccharides ayant un type de jonction  $\beta$ -(1→x) sont de 171° et 193° (moyenne 178°).

TABLEAU VI

RÉSEAU DE LIAISONS HYDROGÈNE AUQUEL PARTICIPE I<sup>a</sup>

<i>i</i>	<i>j</i>	<i>k</i>	Opération de symétrie	Distance (Å)			Angle <i>ijk</i> (en degrés)
				<i>ik</i>	<i>jk</i>	<i>ij</i>	
O-3-H(O-3) .....	O-6	(x, y, z - 1)	2,72(1)	1,88	0,85	170	
O-6-H(O-6) .....	O-8	(-x, y + 1/2, 1 - z)	2,65(1)	1,88	0,79	165	
N-1-H(N-1) .....	O-1	(x - 1, y, z)	3,09(1)	2,20	1,00	149	
N-2-H(N-2) .....	O-2	(x + 1, y, z)	2,85(1)	1,98	0,92	156	
N-3-H(N-3-1) .....	O-7	(x + 1, y, z)	2,90(1)	2,08	0,97	140	
N-3-H(N-3-1) .....	O-E3	(1 - x, y - 1/2, 1 - z)	3,05(1)	2,44	0,97	121	
N-3-H(N-3-2) .....	O-E4	(1 - x, y - 1/2, - z)	2,99(1)	1,98	1,14	145	
N-3-H(N-3-2) .....	O-E3	(-x, y - 1/2, 1 - z)	3,05(1)	2,41	1,14	113	
N-3-H(N-3-3) .....	O-E1	(x, y, z - 1)	3,02(1)	2,34	0,83	139	
N-3-H(N-3-3) .....	O-1	(x, y, z)	2,94(1)	2,45	0,83	119	
O-E1-H(O-E1-1) .....	O-2	(x + 1, y, z + 1)	2,95(1)	2,19	0,90	142	
O-E2-H(O-E2-1) .....	O-E4	(x - 1, y, z)	3,28(1)	2,53	1,08	126	

<sup>a</sup>Voir les coordonnées dans les Tableaux II et III.

TABLEAU VII

CONTACTS ENTRE ATOMES ÉLECTRONÉGATIFS<sup>a</sup>

Contact	Opération de symétrie	Distance (Å)
O-1 ..... O-E1	(x, y, z - 1)	3,17(1)
O-3 ..... O-E3	(x, y, z - 1)	3,00(1)
O-3 ..... O-E4	(x - 1, y, z)	2,78(1)
O-4 ..... O-8	(1 - x, 1/2 + y, 1 - z)	3,29(1)
O-4 ..... O-7	(- x, y + 1/2, 1 - z)	2,78(1)
O-4 ..... O-E3	(x, y, z - 1)	3,25(1)
O-7 ..... O-4	(- x, y - 1/2, 1 - z)	2,78(1)
O-8 ..... O-4	(1 - x, y - 1/2, 1 - z)	3,29(1)
O-8 ..... O-E3	(- x, y - 1/2, 1 - z)	3,07(1)
O-E1 ..... O-1	(x, y, z + 1)	3,17(1)
O-E1 ..... O-E2	(1 - x, y - 1/2, 1 - z)	2,86(1)
O-E2 ..... O-E3	(x, y, z - 1)	2,80(1)
O-E2 ..... O-E1	(1 - x, 1/2 + y, 1 - z)	2,86(1)
O-E3 ..... O-3	(x, y, z + 1)	3,00(1)
O-E3 ..... O-E2	(x, y, z + 1)	2,80(1)
O-E3 ..... O-8	(- x, y + 1/2, 1 - z)	3,07(1)
O-E3 ..... O-E4	(x, y, z + 1)	2,98(1)
O-E3 ..... O-4	(x, y, z + 1)	3,25(1)
O-E4 ..... O-3	(x + 1, y, z)	2,78(1)
O-E4 ..... O-E3	(x, y, z - 1)	2,98(1)

<sup>a</sup>Les atomes d'hydrogène susceptibles d'intervenir dans ces contacts ne sont pas localisés.

On notera l'analogie entre l'angle dièdre O-5-C-1-N-1-C-9 ( $-98.7^\circ$ ) avec l'angle O-5-C-1-O-1-C-x' d'oligosaccharides  $\beta$ -O-acétylés ( $-91.5^\circ$ , moyenne calculée à partir de 4 composés). L'angle dièdre correspondant O-1-C-1-O-6-C-6 de la  $\beta$ -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-L-sérine<sup>26</sup> adopte la valeur de  $-95.2^\circ$ . À partir de 14 exemples de liaisons osidiques de type  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ x) entre deux cycles pyraniques, la valeur moyenne de l'angle dièdre O-5-C-1-O<sub>pontal</sub>-C-x' ( $-84.9^\circ$ ; valeurs extrêmes  $-70.9^\circ$  et  $-104.7^\circ$ ) est du même ordre de grandeur que les précédents. Pour **1**, comme pour tous ces autres composés, l'effet "exo-anomérique"<sup>27</sup> favorise donc la position *gauche* de C-9 par rapport à O-5.

**Réseau de liaisons hydrogène.** — Le réseau de liaisons hydrogène auquel participe la molécule de **1** est signalé dans le Tableau VI. Comme nous l'avons remarqué plus haut, la présence avec une probabilité inférieure à 1, de molécules d'eau, et la forte agitation thermique anisotrope des atomes d'oxygène des molécules d'eau localisées n'ont pas permis le positionnement de H(O-4), H(O-E2-2) et des atomes d'hydrogène des molécules d'eau O-E3 et O-E4. De ce fait, nous mentionnons

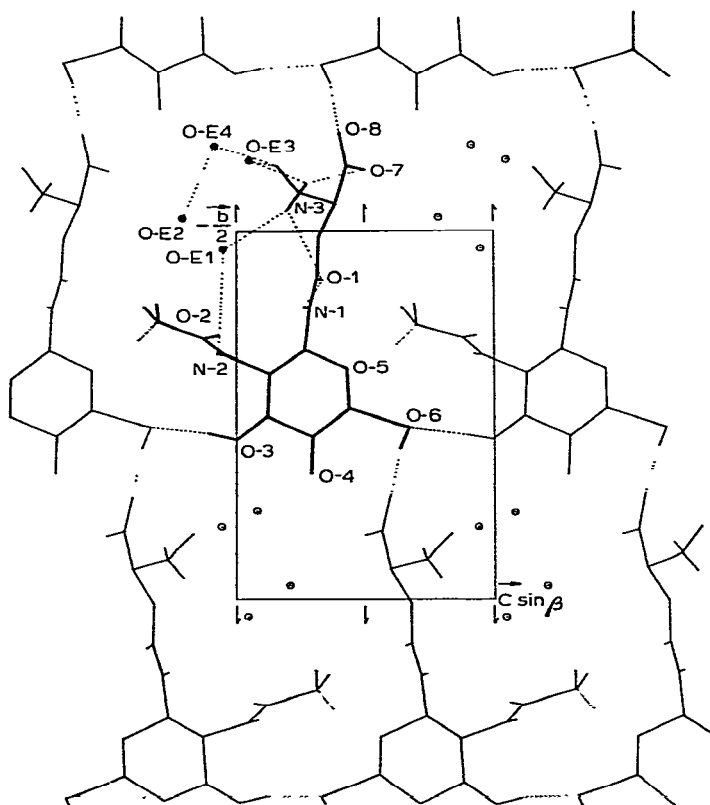


Fig. 3. Structure de **1** représentée en projection sur un plan perpendiculaire à l'axe  $z$ . Seuls, figurent les atomes d'hydrogène de la molécule, liés aux atomes d'oxygène et d'azote et ceux du groupe méthyle. Voir la légende de la Fig. 1 en ce qui concerne H(C-8-3) et H(O-4).

en outre dans le Tableau VII, les contacts entre certains atomes d'oxygène pouvant correspondre à des liaisons hydrogène.

Chaque molécule de **1** est associée à sept molécules voisines par 11 ponts hydrogène, y compris le contact O-4 . . . O-8.

Comme il apparaît clairement sur la Fig. 3, les chaînes extracycliques L-asparagine, groupe acétamide, groupe C-5-C-6-O-6 de molécules voisines et un certain nombre de liaisons hydrogène délimitent dans le cristal des canaux parallèles à l'axe cristallographique  $\tilde{a}$ , dans lesquels les molécules d'eau s'insèrent de manière plus ou moins ordonnée.

Les atomes d'azote N-1, N-2 et N-3 contribuent au réseau de liaisons hydrogène en tant que donneurs. Chaque atome d'hydrogène H(N-3-1), H(N-3-2) et H(N-3-3) participerait à une liaison bifide. Parmi ces liaisons bifides, les ponts hydrogène N-3-H(N-3-1) . . . O-E3, N-3-H(N-3-2) . . . O-E3 et la chélation N-3-H(N-3-3) . . . O-1 correspondent à la limite de l'interaction H . . . O, et les angles N-H . . . O sont relativement éloignés de la valeur théorique de 180°. L'atome d'oxygène O-2 du groupe carbonyle C-7-O-2 est accepteur de deux liaisons hydrogène, par contre l'atome d'oxygène O-1 du groupe carbonyle C-9-O-1 participe à deux ponts hydrogène dont une chélation et un contact avec la molécule d'eau O-E1. En ce qui concerne le groupement carboxylique ionisé, ses atomes d'oxygène contribuent chacun à une liaison hydrogène et, en outre, un contact pour O-7 et deux contacts pour O-8.

## CONCLUSION

Cette étude a montré plus particulièrement que le résidu asparagine de **1**, impliqué dans la jonction *N*-osyle, se comporte comme un groupe amide substitué. Par ailleurs, l'effet *exo*-anomérique au niveau de la liaison  $\beta$ -*N*-osyle est analogue à celui des jonctions  $\beta$ -*O*-osyles entre cycles pyraniques. L'extension spatiale maximale du résidu asparagine, jointe à l'existence de liaisons hydrogène, permet l'édification dans le cristal de canaux parallèles à l'axe  $\tilde{a}$ . Ceux-ci accueillent des molécules d'eau, donnant à **1** cristallisé le caractère de composé en insertion.

## RÉFÉRENCES

- 1 A. NEUBERGER, A. GOTTSCHALK, R. D. MARSHALL, ET R. G. SPIRO, dans A. GOTTSCHALK (Ed.), *Glycoproteins*, 2nd edn., Elsevier, Amsterdam, 1972, pp. 450-490; U. LINDAHL ET L. RODÉN, *ibid.*, pp. 491-517.
- 2 A. NEUMAN, H. GILLIER-PANDRAUD ET F. LONGCHAMBON, *Acta Crystallogr., Sect. B*, 31 (1975) 474-477.
- 3 A. NEUMAN, H. GILLIER-PANDRAUD ET F. LONGCHAMBON, *C.R. Hebd. Seances Acad. Sci., Ser. C*, 277 (1973) 455-457.
- 4 F. LONGCHAMBON, J. OHANESSIAN, D. AVENEL ET A. NEUMAN, *Acta Crystallogr., Sect. B*, 31 (1975) 2623-2627.
- 5 F. LONGCHAMBON, D. AVENEL ET A. NEUMAN, *Acta Crystallogr., Sect. B*, 32 (1976) 1822-1826.
- 6 J. OHANESSIAN ET H. GILLIER-PANDRAUD, *Acta Crystallogr., Sect. B*, 32 (1976) 2810-2813.
- 7 G. GERMAIN ET M. M. WOOLFSON, *Acta Crystallogr., Sect. B*, 24 (1968) 91-96.
- 8 G. GERMAIN, P. MAIN ET M. M. WOOLFSON, *Acta Crystallogr., Sect. B*, 26 (1970) 274-285.

- 9 G. GERMAIN, P. MAIN ET M. M. WOOLFSON, *Acta Crystallogr., Sect. A*, 27 (1971) 368–376.
- 10 J. M. STEWART, G. J. KRUGER, H. L. AMMON, C. DICKINSON ET S. R. HALL, *The X-Ray System—Version of June 1972, Tech. Rep. TR-192*, Computer Science Center, Univ. Maryland, College Park, MD, 1972.
- 11 C. K. JOHNSON, *ORTEP, Report ORNL-3794*, Oak Ridge National Laboratory, Tennessee, 1965.
- 12 J. OHANESSIAN, F. LONGCHAMON ET F. ARÈNE, *Acta Crystallogr., Sect. B*, 34 (1978) 3666–3677.
- 13 IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature, *Arch. Biochem. Biophys.*, 145 (1971) 405.
- 14 F. MO ET L. H. JENSEN, *Acta Crystallogr., Sect. B*, 31 (1975) 2867–2873.
- 15 A. NEUMAN, H. GILLIER-PANDRAUD ET F. LONGCHAMON, *Acta Crystallogr., Sect. B*, 31 (1975) 2628–2631.
- 16 D. AVENEL, J. OHANESSIAN ET A. NEUMAN, *Acta Crystallogr., Sect. B*, 32 (1976) 21–24.
- 17 J. L. FLIPPEN, *Acta Crystallogr., Sect. B*, 29 (1973) 1881–1886.
- 18 A. M. O'CONNELL, *Acta Crystallogr., Sect. B*, 29 (1973) 2320–2328.
- 19 J. R. KNOX ET N. S. MURTHY, *Acta Crystallogr., Sect. B*, 30 (1974) 365–371.
- 20 R. E. MARSH ET J. DONOHUE, *Adv. Protein Chem.*, 22 (1967) 235–255.
- 21 S. T. RAO, *Acta Crystallogr., Sect. B*, 29 (1973) 1718–1720.
- 22 M. RAMANADHAM, S. K. SIKKA ET R. CHIDAMBARAM, *Acta Crystallogr., Sect. B*, 28 (1972) 3000–3005.
- 23 J. J. VERBIST, M. S. LEHMANN, T. F. KOETZLE ET W. C. HAMILTON, *Acta Crystallogr., Sect. B*, 28 (1972) 3006–3013.
- 24 J. L. DERISSEN, M. J. ENDEMAN ET A. F. PEERDEMAN, *Acta Crystallogr., Sect. B*, 24 (1968) 1349–1354.
- 25 T. N. BHAT ET M. VIJAYAN, *Acta Crystallogr., Sect. B*, 32 (1976) 891–895.
- 26 L. T. J. DELBAERE, B. KAMENAR ET K. PROUT, *Acta Crystallogr., Sect. B*, 31 (1975) 862–865.
- 27 S. PÉREZ ET R. H. MARCHESSAULT, *Carbohydr. Res.*, 65 (1978) 114–120.