

SYNTÈSE DU MÉTHYL-2-ACÉTAMIDO-2-DÉSOXY- β -D-GLUCOFURANOSIDE ET DE DÉRIVÉS*

JEAN-CLAUDE JACQUINET ET PIERRE SINAY†

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

(Reçu le 15 février 1973; accepté après modification, le 16 juillet 1973)

ABSTRACT

Methyl 2-acetamido-2-deoxy-5,6-*O*-isopropylidene- β -D-glucofuranoside was prepared in excellent yield from methyl 2-benzamido-2-deoxy-5,6-*O*-isopropylidene- β -D-glucofuranoside by alkaline hydrolysis, followed by selective *N*-acetylation. Treatment with 60% acetic acid at room temperature gave syrupy methyl 2-acetamido-2-deoxy- β -D-glucofuranoside, characterized by a crystalline tri-*O*-*p*-nitrobenzoyl derivative. The same treatment, at 100° gave methyl 2-acetamido-2-deoxy- β -D-glucopyranoside. In an alternative procedure, the selective *N*-acetylation was performed after acetic acid hydrolysis of methyl 2-amino-2-deoxy-5,6-*O*-isopropylidene- β -D-glucofuranoside. Several derivatives of methyl 2-acetamido-2-deoxy- β -D-glucofuranoside were prepared and compared with the corresponding pyranosides. The furanoside structure was clearly demonstrated by mass spectrometry and periodate oxidation.

SOMMAIRE

Par hydrolyse alcaline, suivie d'une *N*-acétylation sélective, le méthyl-2-benzamido-2-désoxy-5,6-*O*-isopropylidène- β -D-glucofuranoside est transformé, avec un excellent rendement, en méthyl-2-acétamido-2-désoxy-5,6-*O*-isopropylidène- β -D-glucofuranoside. Un traitement à l'acide acétique à 60%, à température ordinaire, conduit au méthyl-2-acétamido-2-désoxy- β -D-glucofuranoside, composé sirupeux caractérisé par un tri-*p*-nitrobenzoate cristallin. Le même traitement, effectué à 100°, conduit au méthyl-2-acétamido-2-désoxy- β -D-glucopyranoside. La *N*-acétylation sélective peut également être effectuée après l'hydrolyse acétique du méthyl-2-amino-2-désoxy-5,6-*O*-isopropylidène- β -D-glucofuranoside. Différents dérivés du méthyl-2-acétamido-2-désoxy- β -D-glucofuranoside ont été préparés et comparés aux dérivés pyranosiques correspondants. La structure furanoside a été clairement prouvée par l'emploi de la spectrométrie de masse et de l'oxydation périodique.

*Ce travail a bénéficié de l'aide de subventions de la Fondation pour la Recherche Médicale Française et du Centre National de la Recherche Scientifique.

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

INTRODUCTION

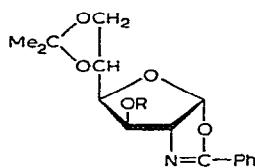
La D-glucosamine (2-amino-2-désoxy-D-glucose) est largement distribuée parmi les composés naturels. La fonction amine y est très souvent acétylée; de plus, il est généralement considéré, en se basant principalement sur la vitesse d'hydrolyse de la liaison glycosidique, que la forme cyclique présente est une forme pyranosique^{1,2}. Afin de comparer avec précision la stabilité en milieu acide des glycosides pyranniques et furanniques du 2-acétamido-2-désoxy-D-glucose, Whitehouse et Kent³ ont décrit, pour la première fois, une synthèse du méthyl-2-acétamido-2-désoxy-β-D-glucofuranoside. D'autres préparations furent ensuite publiées⁴⁻⁶. Dans le cadre d'un programme de synthèse de dérivés furanosides de l'acide N-acétylmuramique [2-amino-3-O-(D-1-carboxyéthyl)-2-désoxy-D-glucose]⁷, il nous a été nécessaire de préparer le méthyl-2-acétamido-2-désoxy-β-D-glucofuranoside. Nos données physiques sur ce composé étant différentes de celles déjà décrites, nous avons été amené à réétudier certaines synthèses déjà publiées^{3,4} pour mettre en évidence des conclusions erronées. Étant donné le peu de publications consacrées aux composés furanosides du 2-acétamido-2-désoxy-D-glucose, plusieurs dérivés ont été synthétisés et comparés aux pyranosides correspondants*.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

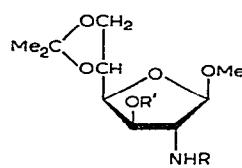
La phényloxazoline⁹⁻¹¹ **1** est un composé de départ attractif pour les synthèses en série 2-amino-2-désoxy-furanoside¹². Nous l'utilisons ici pour la préparation du méthyl-2-acétamido-2-désoxy-β-D-glucofuranoside (**9**), au moyen de quatre étapes qui sont pratiquement quantitatives. La conversion de l'oxazoline **1** en glycoside **3** au moyen d'une solution 0,5MM de gaz chlorhydrique dans le méthanol absolu a été décrite⁹. La réaction est plus contrôlable en utilisant une quantité catalytique du monohydrate de l'acide *p*-toluènesulfonique¹³. Par le même procédé, le dérivé acétylé⁹ de l'oxazoline **2** est transformé en glycoside **4**, avec un rendement de 94%. Une hydrolyse alcaline de **3** ou de **4** conduit au méthyl-2-amino-2-désoxy-5,6-O-isopropylidène-β-D-glucofuranoside (**5**). Une N-acétylation sélective de **5** donne sans difficulté le méthyl-2-acétamido-2-désoxy-5,6-O-isopropylidène-β-D-glucofuranoside (**6**), composé sirupeux caractérisé par son *p*-nitrobenzoate cristallin. Après Konstas *et al.*⁹, de nombreux auteurs^{10,11,13} ont souligné la facilité avec laquelle, en milieu acide dilué, les méthyl-β-D-furanosides se réarrangeaient en méthyl-β-D-pyranosides. Ceci rend difficile l'hydrolyse sélective du groupement isopropylidène. L'acide acétique à 60%, à température ambiante, permet cette hydrolyse, livrant le méthyl-2-acétamido-2-désoxy-β-D-glucofuranoside (**9**) avec un rendement quantitatif. Il est important de suivre le cours de la réaction au moyen de chromatographies sur couche mince de gel de silice et de l'arrêter dès la disparition totale du produit de départ **6**. De plus, l'acide acétique doit être éliminé à température aussi basse que possible.

*Après que ce travail ait été soumis pour publication, une nouvelle contribution est parue²⁷.

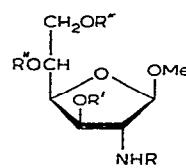
En effet, lorsque **6** est traité par une solution d'acide acétique à 60% à 100°, il est transformé quantitativement, en une dizaine de minutes, en méthyl-2-acétamido-2-désoxy- β -D-glucopyranoside (**15**). Une telle observation a été échappée à Roth et Pigman⁴ et il est vraisemblable que le méthyl-2-acétamido-2-désoxy- β -D-glucofuranoside (**9**) qu'ils décrivent, obtenu par traitement à l'acide acétique à 60%, à 100° pendant 10 min, du méthyl-2-acétamido-2-désoxy-5,6-O-benzylidène- β -D-glucofuranoside est en réalité le méthyl-2-acétamido-2-désoxy- β -D-glucopyranoside (**15**).



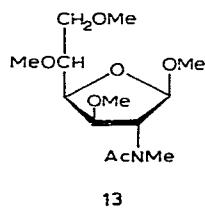
1 R = H
2 R = Ac



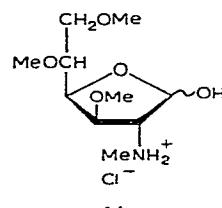
3 R = Bz, R' = H
4 R = Bz, R' = Ac
5 R = R' = H
6 R = Ac, R' = H
7 R = Ac, R' = COC6H4NO2 (p)



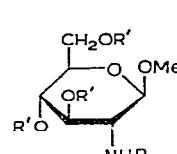
8 R = R' = R'' = H
9 R = Ac, R' = R'' = H
10 R = Ac, R' = R'' = COC6H4NO2 (p)
11 R = Ac, R' = R'' = CH2Ph
12 R = R' = R'' = Ac



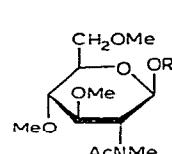
13



14



15 R = Ac, R' = H
16 R = Ac, R' = COC6H4NO2 (p)
17 R = Ac, R' = CH2Ph
18 R = R' = Ac



19 R = CH2Ph
20 R = Me

Étant donné que les constantes physiques du glycoside **6** publiées par Roth et Pigman⁴ étaient en bon accord avec celles indiquées par Whitehouse et Kent³, nous avons réexaminié la réaction décrite par ces derniers auteurs. L'action du diéthyldithioacétal du 2-acétamido-2-désoxy-D-glucose^{14,15}, dans le méthanol, sur le mélange oxyde jaune de mercure-chlorure mercurique conduit, après un traitement au mercure métallique dont le but est de transformer le chlorure mercurique en chlorure mercureux insoluble, à un mélange de produit de départ, de méthyl-2-acétamido-2-désoxy- β -D-glucofuranoside (**9**) et de méthyl-2-acétamido-2-désoxy- β -D-glucopyranoside (**15**). Les proportions respectives de ces trois composés sont d'ailleurs peu reproductibles d'une expérience à l'autre et il a parfois été possible de cristalliser directement le méthyl-2-acétamido-2-désoxy- β -D-glucopyranoside (**15**) à partir du résidu. Un examen du cours de la réaction par chromatographie sur couche mince de gel de silice montre que le méthyl-2-acétamido-2-désoxy- β -D-glucofuranoside (**9**) se forme bien, mais se réarrange en méthyl- β -D-glucopyranoside lors du traite-

ment au mercure métallique. L'emploi de la pyridine, afin d'éliminer les sels de mercure sous la forme d'un complexe insoluble, conduit au même résultat. Il apparaît que le réarrangement a lieu principalement lors de l'élimination finale de l'alcool sous pression réduite. Il semble donc que le composé décrit par Whitehouse et Kent soit, en fait, aussi le méthyl-2-acétamido-2-désoxy- β -D-glucopyranoside et que la méthode de Green et Pacsu¹⁶ ne fournit pas sélectivement le méthyl-2-acétamido-2-désoxy- β -D-glucopyranoside (**9**). Étant donné la fragilité du composé **6** lors de l'hydrolyse acide, cette dernière a été effectuée sur **5**. Dans ce cas, la fonction amine libre rend la liaison glycosidique plus résistante à l'hydrolyse; de même le réarrangement en hexopyranoside est plus difficile et l'hydrolyse du groupement isopropylidène peut alors se faire au moyen de l'acide acétique à 60 % à 50°, de façon presque quantitative et sans précautions particulières. Une *N*-acétylation sélective du méthyl-2-amino-2-désoxy- β -D-glucopyranoside (**8**) conduit alors facilement au méthyl-2-acétamido-2-désoxy- β -D-glucopyranoside (**9**). Le passage de **1** à **9** via **3**, **5** et **8** constitue une excellente méthode préparative. De même que le composé **6**, le composé **9** est transformé quantitativement en méthyl-2-acétamido-2-désoxy- β -D-glucopyranoside (**15**) par un bref chauffage à 100° dans l'acide acétique à 60 %.

TABLEAU I

PROPRIÉTÉS PHYSIQUES DE DIFFÉRENTS TRISUBSTITUÉS DES MÉTHYL-2-ACÉTAMIDO-2-DÉSOXY- β -D-GLUCOFURANOSIDE ET PYRANOSIDE

Substituants en positions 3, 4, 6 ou 3, 5, 6	Méthyl-2-acétamido-2-désoxy- β -D-			
	glucofuranoside		glucopyranoside	
	p.f. (degrés)	[α] _D (degrés)	p.f. (degrés)	[α] _D (degrés)
H (9 et 15)	Sirop	−56 (H ₂ O)	196 ^a	−43 (H ₂ O)
Acétyle (12 et 18)	Sirop	−46 (MeOH)	163 ^b	−22 (MeOH)
<i>p</i> -Nitrobenzoyle (10 et 16)	115–116	−142,5 (CHCl ₃)	126–127	−19 (CHCl ₃)
Benzyle (11 et 17)	Sirop	−37,5 (CHCl ₃)	158–159	+17,5 (CHCl ₃)

^aD'après Réf. 24. ^bD'après Réf. 25.

Le furanoside **9** a été caractérisé par un tri-*p*-nitrobenzoate cristallin (**10**), différent du dérivé pyranoside correspondant (**16**). De même le méthyl-2-acétamido-3,5,6-tri-*O*-benzyl-2-désoxy- β -D-glucofuranoside (**11**) a été préparé selon la méthode de Kuhn *et al.*¹⁷ et comparé au dérivé pyranoside correspondant (**17**) (Tableau I). Signalons qu'il ne nous a pas été possible de cristalliser le dérivé *N*-dinitrophénylé du β -D-furanoside **8**, ce qui aurait permis la comparaison avec un dérivé analogue préparé^{5,19} à partir de l'anomère α . En une seule occasion de belles aiguilles sont apparues au réfrigérateur à partir d'éthanol, mais il n'a pas été possible de les essorer, peut-être par suite de leur point de fusion trop bas. Les vitesses relatives d'hydrolyse acide des glycosides acétylés **9** et **15** ont été mesurées en suivant la variation du

pouvoir rotatoire (Fig. 1). A l'issu des hydrolyses, le 2-acétamido-2-désoxy-D-glucose a été isolé du milieu réactionnel sous forme cristalline. Étant donné que nos caractéristiques de **9** sont en désaccord avec celles de la littérature³⁻⁵, sa structure

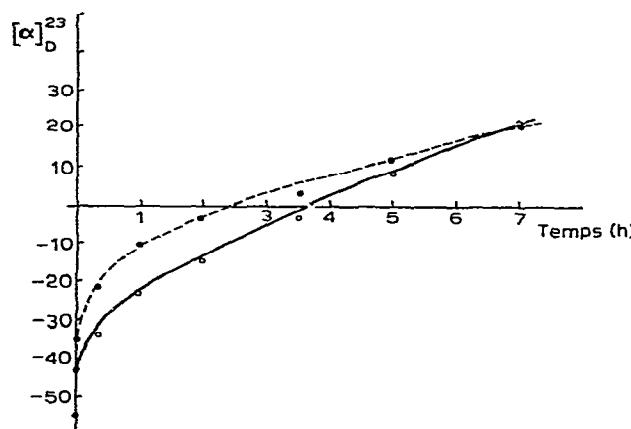


Fig. 1. Variations en fonction du temps du pouvoir rotatoire spécifique (à 23°) lors de l'hydrolyse (acide sulfurique 0,04M à 100°) du méthyl-2-acétamido-2-désoxy- β -D-glucopyranoside (○—○) et du méthyl-2-acétamido-2-désoxy- β -D-glucofuranoside (●—●).

furanoside a été soigneusement vérifiée. Par acétylation, le glycoside **9** est transformé en dérivé 3,5,6-tri-*O*-acétyle **12**, analytiquement pur, qu'il n'a pas été possible de cristalliser. Son spectre de masse ($M = 361$) montre trois fragments à m/e 330 ($M^+ - \cdot OMe$), m/e 302 ($M^+ - \cdot OAc$) et m/e 242 (302-AcOH), ainsi qu'un fort pic à m/e 216 correspondant à $M^+ - CH_2OAc - CHOAc$, caractéristique d'un cycle furanosique. Le spectre de masse du méthyl-2-acétamido-3,4,6-tri-*O*-acétyl-2-désoxy- β -D-glucopyranoside²⁵ (**18**), enregistré dans les mêmes conditions, montre trois fragments à 330, 302, 242, mais aucun fragment à 216. De même, le spectre de masse du dérivé perméthylé furanoside **13** ($M = 291$) montre un fort pic à m/e 202 correspondant à $M^+ - CH_2OMe - CHOME$. Ce pic est absent du spectre du dérivé perméthylé pyranoside **20**. D'autre part, le furanoside **9** a été soumis à une oxydation périodique pendant 15 minutes, avec dosage pondéral du formaldéhyde à la dimédone, selon Reeves¹⁸. Une mole de **9** donne ainsi lieu à la formation de 0,96 mole de formaldéhyde. Dans les mêmes conditions, le pyranoside **15** ne donne pas lieu à la formation de formaldéhyde. Une cinétique comparée d'oxydation périodique de **9** et de **15**, ne considérant que les trente premières minutes de réaction, montre clairement la structure furanoside du composé **9**.

Afin d'identifier éventuellement une unité non-réductrice terminale furanosique du 2-acétamido-2-désoxy-D-glucose, il est intéressant de disposer du standard méthylé correspondant. Le méthyl-2-acétamido-2-désoxy- β -D-glucofuranoside (**9**) a donc été *O*- et *N*-méthylé selon Coggins et Benoiton^{20,21}, donnant le dérivé perméthylé **13** qui, après hydrolyse chlorhydrique, conduit au chlorhydrate de 2-désoxy-

3,5,6-tri-*O*-méthyl-2-méthylamino- α -D-glucose (**14**), isolé sous forme cristalline, et dont le spectre de résonance magnétique nucléaire a permis de déterminer la forme anomère. Le comportement chromatographique sur papier de **14** est nettement différent de celui du chlorhydrate de 2-désoxy-3,4,6-tri-*O*-méthyl-2-méthylamino- α -D-glucose²². Nous avons préparé facilement ce dernier par *O*- et *N*-méthylation²⁰ du benzyl-2-acétamido-2-désoxy- β -D-glucopyranoside²³, ce qui a conduit au dérivé cristallin **19** qui a ensuite été hydrolysé au moyen d'acide chlorhydrique.

De plus, le composé perméthylé **20** a été préparé par perméthylation du glycoside **15** selon Coggins et Benoiton²⁰. En chromatographie en phase gazeuse, les temps de rétention des dérivés perméthylés furanoside et pyranoside **13** et **20** sont différents. De même, après triméthysilylation, les glycosides **9** et **15** se séparent nettement.

De nombreux autres dérivés du méthyl-2-acétamido-2-désoxy- β -D-glucofuranoside seront décrits dans une prochaine publication⁷.

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 rotations optiques sont déterminées au moyen d'un polarimètre Perkin-Elmer, Modèle 141. Les spectres infra-rouge sont enregistrés sur un spectrophotomètre Perkin-Elmer, Modèle 457, les spectres de r.m.n. sur spectrographe Jeol PS-100, les spectres de masse sur spectromètre AEI MS 9, la température de la chambre d'ionisation étant d'environ 170° (Institut de Chimie des Substances Naturelles, 91190 Gif-sur-Yvette). Les chromatographies en phase gazeuse sont effectuées sur un appareil Girdel 3000 muni d'un détecteur à ionisation de flamme et équipé d'une colonne en pyrex de 3 m (4% OV 17 sur Chromosorb Q 80/100). L'homogénéité des composés préparés est contrôlée de façon routinière 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. Lorsqu'un R_F est indiqué, il a été mesuré sur feuilles plastique CCM Merck (Art. 5735/0025), de dimension 5 × 20 cm, la migration ayant lieu sur toute la hauteur de la feuille. Les chromatographies sur colonne sont effectuées au moyen de gel de silice Merck (0,05–0,2 mm). Les analyses élémentaires ont été effectuées par Madame Delbove (U.E.R. de Sciences Fondamentales et Appliquées, Orléans), ainsi que par le Service Central de Microanalyse du Centre National de la Recherche Scientifique.

Méthyl-2-benzamido-2-désoxy-5,6-O-isopropylidène- β -D-glucofuranoside (3). — La 2-phényl-[4,5:2',1'](1',2'-didésoxy-5',6'-*O*-isopropylidène- β -D-glucofuranosido)-2-oxazoline⁹ (**1**, 5 g) est soigneusement séchée et dissoute dans du méthanol anhydre (200 ml) 2M en acide *p*-toluènesulfonique (le monohydrate a été utilisé, il donne sensiblement les mêmes résultats qu'un acide desséché par distillation azéotropique au moyen de benzène). La solution est laissée à la température ambiante jusqu'à ce qu'un examen chromatographique sur couche mince de gel de silice (chloroforme-

méthanol 19:1, v/v) montre la disparition du produit de départ au profit de 3, dont la migration est plus forte (24 h environ). Après neutralisation au carbonate de baryum (1 g) et filtration, la solution obtenue est évaporée à sec. La résidu sirupeux est cristallisé dans un mélange acétate d'éthyle-éther de pétrole, donnant 3 sous la forme de longues aiguilles (5,05 g, 92%), p.f. 134–135°, $[\alpha]_D^{20} - 7,5^\circ$ (*c* 1, méthanol); lit.⁹ : p.f. 133–134°, $[\alpha]_D - 7,3^\circ$ (méthanol).

Méthyl-3-O-acétyl-2-benzamido-2-désoxy-5,6-O-isopropylidène- β -D-glucofuranoside (4). — Le composé⁹ 2 (2 g) est dissous dans du méthanol anhydre (80 ml) 2MM en acide *p*-toluènesulfonique (le monohydrate a été utilisé). Au bout de 6 h, le milieu réactionnel est neutralisé à l'aide de carbonate de baryum (500 mg), filtré et évaporé. Le résidu obtenu est cristallisé dans le mélange acétate d'éthyle-éther de pétrole, donnant 4 sous la forme de prismes (2,1 g, 96%), p.f. 134°, $[\alpha]_D^{20} + 5,5^\circ$ (*c* 1, méthanol); spectre i.r. : $\nu_{\text{max}}^{\text{Nujol}}$ 3320 (NH), 1740 (OAc), 1650 (Amide I), 1605 (Ph), 1535 (Amide II), 700 (Ph).

Anal. Calc. pour C₁₉H₂₅NO₇ : C, 60,14; H, 6,64; N, 3,69. Trouvé : C, 60,09; H, 6,63; N, 3,37.

Méthyl-2-amino-2-désoxy-5,6-O-isopropylidène- β -D-glucofuranoside (5). — *A partir de 3.* Le composé 3 (2 g) est dissous dans une solution éthanolique 4M d'hydroxyde de potassium (100 ml) qui est ensuite portée à 100° pendant 48 h. Après refroidissement, la solution est diluée avec de l'eau (200 ml) et extraite au chloroforme. Les extraits chloroformiques sont lavés, séchés sur carbonate de potassium et évaporés. Le résidu obtenu est cristallisé dans l'éther, donnant 5 sous forme de petites aiguilles prismatiques (1,12 g, 86%), p.f. 61–62°, $[\alpha]_D^{20} - 60,5^\circ$ (*c* 1, méthanol); spectre i.r. : $\nu_{\text{max}}^{\text{Nujol}}$ 3350 (OH), 3280, 3180, 1610 (NH₂).

Anal. Calc. pour C₁₀H₁₉NO₅ : C, 51,49; H, 8,21; N, 6,01. Trouvé : C, 51,54; H, 8,21; N, 6,02.

B. À partir de 4. Le composé 4 (28 g) est chauffé pendant 12 h à 120° dans une solution éthanolique 4M d'hydroxyde de potassium (300 ml). Un traitement analogue au précédent donne après cristallisation le composé 5 (15,65 g, 90%).

Par benzoylation totale dans un mélange pyridine-chlorure de benzoyle, suivie d'une *O*-débenzoylation au moyen de méthanolate de sodium, 5 donne un composé identique à 3.

Méthyl-2-acétamido-2-désoxy-5,6-O-isopropylidène- β -D-glucofuranoside (6). — Le composé 5 (300 mg) est dissous dans du méthanol anhydre (25 ml) et de l'anhydride acétique (0,16 ml) est ajouté. Après 1 h à température ambiante, la solution est évaporée, plusieurs additions successives de méthanol étant suivies d'évaporation. Le résidu vitreux jaune clair obtenu (6, 340 mg, 96%), chromatographiquement pur (couche mince de gel de silice), n'a pu être cristallisé, $[\alpha]_D^{20} - 39,5^\circ$ (*c* 1, méthanol); spectre i.r. : $\nu_{\text{max}}^{\text{film}}$ 3480 (OH), 3290 (NH), 1635 (Amide I), 1540 (Amide II).

Ce composé a été caractérisé par son *p*-nitrobenzoate cristallin (7) préparé de façon habituelle (90 % après cristallisation dans l'acétate d'éthyle), p.f. 148–148,5°, $[\alpha]_D^{20} - 46,5^\circ$ (*c* 1, méthanol); spectre i.r. : $\nu_{\text{max}}^{\text{Nujol}}$ 3275 (NH), 1730 (ester), 1650 (Amide I), 1545, 1520 (Amide II, NO₂).

Anal. Calc. pour $C_{19}H_{24}N_2O_9$: C, 53,77; H, 5,70; N, 6,60. Trouvé : C, 53,62; H, 5,72; N, 6,69.

Méthyl-2-amino-2-désoxy- β -D-glucofuranoside (8). — Le composé 5 (1 g) est dissous dans de l'acide acétique à 60% (30 ml), la solution étant ensuite portée à 50°. Au bout de 4 h, l'acide acétique est évaporé sous pression réduite vers 40° (des précautions particulières pour maintenir la température aussi basse que possible sont inutiles), les dernières traces d'acide étant éliminées par des additions d'eau suivies d'évaporations; le résidu est ensuite séché par des additions successives de toluène anhydre suivies d'évaporations. Une cristallisation dans le mélange acétate d'éthyle-éthanol donne 8 (770 mg, 92%), p.f. 125-127°, $[\alpha]_D^{20} -65^\circ$ (*c* 1, méthanol); spectre i.r. : $\nu_{\text{max}}^{\text{NuJol}}$ 3260, 3210, 3160 (OH, NH), 1560, 1590, 1630 (NH_3^+ et CH_3CO_2^-); spectre de r.m.n. (diméthylsulfoxyde-*d*₆; le pic des protons du tétraméthylsilane est pris comme référence) : τ 8,1 (un pic de 3 protons, Ac). Ces spectres indiquent la rétention d'une molécule d'acide acétique.

Anal. Calc. pour $C_7H_{15}NO_5 \cdot CH_3CO_2H$: C, 42,68; H, 7,50; N, 5,52. Trouvé : C, 42,68; H, 7,50; N, 5,29.

Méthyl-2-acétamido-2-désoxy- β -D-glucofuranoside (9). — *A. À partir de 6.* Le composé 6 (10 g) est dissous dans l'acide acétique à 60% (150 ml) en chauffant légèrement pendant 3 min, la solution étant ensuite laissée à la température ambiante. L'évolution de la réaction est suivie avec soin sur couche mince de gel de silice (chloroforme-méthanol 4:1, v/v). Au bout de 2,5 h environ, alors qu'il reste encore des traces de 6, on commence à noter l'apparition de méthyl-2-acétamido-2-désoxy- β -D-glucopyranoside (15), dont la migration est moindre que celle du furanoside 9. La solution est alors évaporée à sec, sous pression réduite et à température aussi basse que possible. Il ne nous a pas été possible de cristalliser le résidu sirupeux obtenu (9, 8,35 g, 97%), $[\alpha]_D^{20} -56^\circ$ (*c* 1, méthanol), -52° (*c* 1, eau); spectre i.r. : $\nu_{\text{max}}^{\text{film}}$ 3410-3260 (OH, NH, large bande), 1640 (Amide I), 1545 (Amide II). Ce composé est chromatographiquement pur sur couche mince de gel de silice, avec un R_F égal à 0,55 dans le mélange chloroforme-méthanol 3:2 (v/v); le méthyl-2-acétamido-2-désoxy- β -D-glucopyranoside (15) présente un R_F de 0,40 dans ce même mélange. Lit. : p.f. 193°, $[\alpha]_D^{18} -20^\circ$ (eau) (Réf. 3); p.f. 198-199°, $[\alpha]_D^{20} -27,4^\circ$ (eau) (Réf. 4); $[\alpha]_D^{30} -20,9^\circ$ (eau) (Réf. 5).

Anal. Calc. pour $C_9H_{17}NO_6$: C, 45,95; H, 7,28; N, 5,96. Trouvé : C, 46,14; H, 7,54; N, 5,75.

B. À partir de 8. Le composé 8 (200 mg) est dissous dans du méthanol anhydre (15 ml), l'anhydride acétique (0,12 ml) étant ensuite ajouté. Au bout de 10 min à température ambiante, la solution est évaporée à sec, le résidu sirupeux obtenu (243 mg, 100%) étant chromatographiquement pur et identique au composé préparé par la méthode A.

Méthyl-2-acétamido-2-désoxy-3,5,6-tri-O-p-nitrobenzoyl- β -D-glucofuranoside (10). — Le composé 9 (100 mg) est dissous dans de la pyridine anhydre (5 ml) et du chlorure de *p*-nitrobenzoyle (470 mg) est ajouté. Après 3 h à température ambiante et à l'abri de l'humidité, le mélange réactionnel est versé dans de l'eau glacée (100 ml),

l'ensemble étant extrait au chloroforme. Les extraits chloroformiques sont lavés à l'aide d'une solution aqueuse à 5% d'hydrogénocarbonate de sodium, puis d'une solution à 10% d'hydrogénosulfate de potassium, puis à l'eau, séchés sur carbonate de potassium et évaporés. Le résidu est cristallisé dans un mélange éthanol-éther, donnant **10** sous la forme de fins prismes (250 mg, 86%), p.f. 115–116°, $[\alpha]_D^{20} -142,5^\circ$ (*c* 1, chloroforme); spectre i.r. : $\nu_{\text{max}}^{\text{NuJol}}$ 3560, 3380, 3300 (OH, NH), 1725 (ester), 1650 (Amide I), 1600 (Ph), 1520 (Amide II, NO₂), 720 (Ph).

Anal. Calc. pour C₃₀H₂₆N₄O₁₅ : C, 52,79; H, 3,84; N, 8,20. Trouvé : C, 52,43; H, 3,93; N, 8,00.

Il a été difficile d'obtenir une analyse correcte de ce composé. L'examen du spectre de r.m.n. montre la présence d'une quantité assez faible d'éthanol de cristallisation (de l'ordre de 0,2 équivalent). De plus le spectre i.r. montre la présence de groupements hydroxyles. Une légère débenzoylation lors de la recristallisation n'est pas à exclure, bien que le spectre de r.m.n. montre la présence d'environ douze protons aromatiques. Il faut noter à cet égard que le point de fusion reste très constant lors de recristallisations successives.

Oxydation périodique du méthyl-2-acétamido-2-désoxy- β -D-glucofuranoside (9).

— A. *Estimation du formaldéhyde formé.* Le composé **9** (70,6 mg) est dissous dans l'eau (8 ml), puis on ajoute successivement sous agitation une solution normale d'hydrogénocarbonate de sodium (8 ml) et une solution 0,3M de periodate de sodium (1,5 ml). Au bout de 15 min, on ajoute sous agitation une solution M d'acide chlorhydrique (6 ml) ainsi qu'une solution 1,2M d'arsénite de sodium. Lorsque l'ensemble est devenu limpide, une solution M d'acétate de sodium (6 ml) est ajoutée puis de la dimédone (320 mg) dissoute dans de l'éthanol à 95° (4 ml). Après 10 min à 100°, la solution est maintenue pendant 1 h à température ambiante, le précipité formé (84 mg, 96%) étant essoré, p.f. 190,5–191,5°.

B. *Cinétique de l'oxydation.* Le composé **9** (47 mg) est dissous dans l'eau (20 ml), une solution 0,12M de periodate de sodium (5 ml) étant ensuite ajoutée, à l'abri de la lumière (le pH initial est de l'ordre de 4,5). La consommation de periodate est estimée à température ambiante (25°) pendant les trente premières minutes sur des prises d'essais (3 ml), par la méthode classique de dosage à l'iode de potassium-thiosulfate de sodium. La même expérience est effectuée en parallèle, dans les mêmes conditions, sur le composé **15**. Signalons qu'une cinétique détaillée d'oxydation périodique a été effectuée sur le méthyl-2-acétamido-2-désoxy- α -D-glucopyranoside par Jeanloz et Forchielli²⁶.

<i>Composé</i>	<i>Moles de periodate consommé par mole de composé</i>						
	<i>1^a</i>	4	8	12	15	22	30
9	0,85	1,02		1,02		1,14	1,14
15	0,1		0,63		1,05		1,14

^aTemps dans min.

Chlorhydrate de 2-désoxy-3,5,6-tri-O-méthyl-2-méthylamino- α -D-glucofuranose (14). — Le composé 9 (42 mg), séché sous vide poussé, est dissous dans un mélange tétrahydrofurane-*N,N*-diméthylformamide (10:1, v/v, 3 ml), puis sont successivement ajoutés de l'iodure de méthyle (1 ml) et de l'hydrure de sodium (200 mg de suspension à 50% dans de l'huile). Après 24 h à 80° et à l'abri de l'humidité, le mélange est refroidi et évaporé à sec. Une solution aqueuse à 2% de thiosulfate de sodium (5 ml) est ajoutée et l'huile introduite avec l'hydrure de sodium est éliminée par extraction de la phase aqueuse à l'éther. Une extraction au chloroforme de cette phase donne, après évaporation et purification du résidu au moyen d'une chromatographie sur colonne de gel de silice (4 g), le méthyl-2-désoxy-3,5,6-tri-*O*-méthyl-2-(*N*-méthylacétamido)- β -D-glucofuranoside (13, 42 mg, 81%), p.éb._{0,1} 130°, $[\alpha]_D^{20} -75^\circ$ (*c* 1, chloroforme); spectre i.r. : $\nu_{\text{max}}^{\text{film}}$ 1640 (Amide I), plus de bande NH et Amide II.

Anal. Calc. pour C₁₃H₂₅NO₆ : C, 53,59; H, 8,65; N, 4,81. Trouvé : C, 53,60; H, 8,66; N, 4,80.

Le composé 13 (250 mg) est hydrolysé pendant 1 h au moyen d'acide chlorhydrique 2M (10 ml). La solution est ensuite évaporée, de nombreuses additions successives d'eau étant suivies d'évaporations. Finalement le résidu est dissous dans de l'éthanol aqueux et décoloré à l'aide de charbon actif. Après filtration et évaporation, le résidu (180 mg, 78%) est cristallisé dans un mélange acétate d'éthyle-méthanol, donnant 14 sous la forme de petits prismes (80 mg, 35%), p.f. 142–143° (déc.), $[\alpha]_D^{20} +57^\circ \rightarrow +52^\circ$ (au bout de 3 h, *c* 0,4, eau); spectre i.r. : $\nu_{\text{max}}^{\text{Nujol}}$ 3460, 3390 (OH), 3200, 2470, 1580, 1560 (NH); spectre de r.m.n. (D₂O) : τ 4,33 (H-1, *J*_{1,2} 5 Hz); 6,48, 6,53, 6,59 (OMe); 7,14 (NMe); la valeur de la constante de couplage *J*_{1,2} montre que le composé 14 est l'anomère α . Ce produit est homogène lors d'une chromatographie descendante sur papier dans le mélange butanol-éthanol-pyridine-eau (40:11:2:19, v/v) : *R*_{L-Rhamnose} 1,86. Dans ce même mélange de solvants, le chlorhydrate de 2-désoxy-3,4,6-tri-*O*-méthyl-2-méthylamino- α -D-glucopyranose, préparé par hydrolyse chlorhydrique de 19, donne *R*_{L-Rhamnose} 1,24; lit.²² : 1,23.

Anal. Calc. pour C₁₀H₂₂CINO₅ : C, 44,21; H, 7,78; N, 5,16; Cl, 13,07. Trouvé : C, 43,83; H, 7,87; N, 5,14; Cl, 12,95.

Benzyl-2-désoxy-3,4,6-tri-O-méthyl-2-N-méthylacétamido- β -D-glucopyranoside (19).* — Le benzyl-2-acétamido-2-désoxy- β -D-glucopyranoside²³ (5 g) est mis en suspension dans un mélange tétrahydrofurane-*N,N*-diméthylformamide (10:1, v/v, 125 ml), puis sont successivement ajoutés de l'iodure de méthyle (16 ml) et une suspension d'hydrure de sodium à 50% dans l'huile (4,6 g). Un traitement analogue au précédent donne un résidu (9 g) qui est chromatographié sur une colonne de gel de silice (200 g) à l'aide du mélange de solvants chloroforme-méthanol (39:1, v/v). Une cristallisation des fractions pures dans le mélange acétate d'éthyle-éther de pétrole donne 19 sous la forme de prismes (4,69 g, 79%), p.f. 81–82°, $[\alpha]_D^{20} -51^\circ$ (*c* 1,1, chloroforme); spectre i.r. : $\nu_{\text{max}}^{\text{Nujol}}$ 1620 (Amide I), 740 (Ph).

*Cette préparation a été effectuée par C. Merser.

Anal. Calc. pour C₁₉H₂₉NO₆ : C, 62,10; H, 7,96; N, 3,81. Trouvé : C, 61,99; H, 7,96; N, 4,04.

Une hydrolyse de **19** à l'acide chlorhydrique 4M (44 h à 100°) donne, après traitement et cristallisation, le chlorhydrate de 2-désoxy-3,4,6-tri-O-méthyl-2-méthylamino- α -D-glucopyranose (53 %), p.f. 202–204°, [α]_D²⁰ +122,5° → +115,5° (équil., c 1, eau); lit.²² : p.f. 202°, [α]_D²⁵ +122° → +113° (équil., eau).

*Transformation du méthyl-2-acétamido-2-désoxy- β -D-glucofuranoside (**9**) en méthyl-2-acétamido-2-désoxy- β -D-glucopyranoside (**15**). — A. Par action du méthanol en milieu acide.* Le composé **9** (300 mg) est dissous dans une solution 0,02M d'acide *p*-toluènesulfonique dans le méthanol (10 ml). Après 48 h à température ambiante, le milieu réactionnel est neutralisé au moyen de carbonate de baryum, filtré et évaporé. Le résidu (285 mg, 95%), chromatographiquement pur, est cristallisé dans un mélange méthanol-acétate d'éthyle-hexane, donnant **15** sous la forme d'aiguilles, p.f. 195–196°, [α]_D²⁰ –42° (c 1, eau); lit.²⁴ : p.f. 196°, [α]_D –43° (eau).

B. Par action de l'acide acétique à 60 %. Le composé **9** (40 mg) est dissous dans de l'acide acétique à 60 % (5 ml), le mélange étant ensuite chauffé au moyen d'un bain-marie bouillant. Au bout de 10 min, une chromatographie sur couche mince de gel de silice (chloroforme-méthanol 3:1, v/v) montre la disparition presque totale de **9** au profit de **15**. Après 15 min de réaction, le milieu réactionnel est évaporé sous vide, le résidu est cristallisé dans le mélange méthanol-éther, donnant **15** sous la forme d'aiguilles, (32 mg, 80 %), p.f. 195–196°, identique au composé obtenu par la méthode *A*.

Action du mélange oxyde mercurique-chlorure mercurique dans le méthanol sur le diéthyl-dithioacétal du 2-acétamido-2-désoxy-D-glucose. — Le diéthyl-dithioacétal du 2-acétamido-2-désoxy-D-glucose^{14,15} (3 g) est dissous dans du méthanol anhydre et agité pendant 6 h à température ambiante en présence d'oxyde mercurique jaune (2,5 g) et de chlorure mercurique (4 g). Une chromatographie sur couche mince de gel de silice (chloroforme-méthanol 3:1, v/v) montre alors une conversion importante du produit de départ (*R*_F 0,7) en **9** (*R*_F 0,6), avec des traces du composé **15** (*R*_F 0,3). Après filtration, la solution obtenue est agitée pendant cinq jours avec du mercure métallique, le précipité de chlorure mercureux étant éliminé par décantation. Une chromatographie sur couche mince montre alors que le traitement a entraîné une importante conversion de **9** en **15**. La solution est alors évaporée, le résidu étant chromatographié sur une colonne de gel de silice (200 g), au moyen du mélange de solvants chloroforme-méthanol (3:1, v/v). Dans l'ordre d'élution, on obtient le diéthyl-dithioacétal de départ (0,5 g), le méthyl 2-acétamido-2-désoxy- β -D-glucofuranoside (**9**, 1,1 g, 51 %) sous la forme d'un sirop incolore, puis le méthyl 2-acétamido-2-désoxy- β -D-glucopyranoside (**15**, 0,4 g, 18,5 %), p.f. 195–196°. Cette expérience est difficilement reproductible. Il nous a parfois été possible d'obtenir directement le composé **15** par cristallisation du résidu.

*Méthyl-2-acétamido-2-désoxy-3,4,6-tri-O-p-nitrobenzoyl- β -D-glucopyranoside (**16**).* — Le composé **15** (100 mg) est dissous dans de la pyridine anhydre (5 ml) et du chlorure de *p*-nitrobenzoyle est ajouté (470 mg). Au bout de 2 h, le mélange réaction-

nel est versé dans une solution glacée d'hydrogénocarbonate de sodium à 5% (100 ml), le précipité formé étant essoré, puis dissous dans du chloroforme (30 ml), qui est ensuite lavé au moyen d'une solution à 5% d'hydrogénocarbonate de sodium, séché sur sulfate de sodium et évaporé. Le résidu est cristallisé dans le méthanol, donnant **16** sous la forme de prismes (245 mg, 83%), p.f. 126–127°, $[\alpha]_D^{20} -19^\circ$ (*c* 1, chloroforme); spectre i.r. : $\nu_{\text{max}}^{\text{Nujol}}$ 3660 (OH), 3440 (NH), 1725 (ester), 1675 (Amide I), 1600 (Ph), 1520 (Amide II, NO₂), 700 (Ph).

Anal. Calc. pour C₃₀H₂₆N₄O₁₅ : C, 52,79; H, 3,84; N, 8,20. Trouvé : C, 52,22; H, 3,76; N, 8,51.

Comme pour le composé **10**, il est difficile d'obtenir une très bonne analyse de ce composé, qui est cependant chromatographiquement pur et dont le point de fusion demeure bien constant lors de cristallisations successives.

Méthyl-2-acétamido-3,5,6-tri-O-benzyl-2-désoxy-β-D-glucofuranoside (11). — Le composé **9** (1 g) est séché sous vide poussé, dissous dans la *N,N*-diméthylformamide anhydre (30 ml), la solution étant agitée durant 36 h à température ambiante en présence d'oxyde de baryum en poudre (3,5 g), d'octohydrate de l'hydroxyde de baryum (0,9 g) et de bromure de benzyle (9 ml). Le mélange réactionnel est ensuite dilué avec du chloroforme (400 ml), porté à l'ébullition, puis filtré sur verre fritté. Le filtrat est lavé avec une solution d'acide chlorhydrique 0,01M, à l'eau, séché sur carbonate de potassium et évaporé, les traces de *N,N*-diméthylformamide étant éliminées par chauffage à 85° sous 0,01 mm Hg. Le résidu est chromatographié sur une colonne de gel de silice (100 g) au moyen du mélange chloroforme-méthanol (97:3, v/v). Les fractions pures sont groupées donnant **11** sous la forme d'un sirop incolore (1,15 g, 59%), qu'il n'a pas été possible de cristalliser, p.é.b._{0,01} 230°, $[\alpha]_D^{20} -37,5^\circ$ (*c* 1, chloroforme); spectre i.r. : $\nu_{\text{max}}^{\text{Nujol}}$ 3270 (NH), 3080, 3060 (Ph), 1645 (Amide I), 1540 (Amide II), 740, 695 (Ph).

Anal. Calc. pour C₃₀H₃₅NO₆ : C, 71,26; H, 6,98; N, 2,77. Trouvé : C, 71,17; H, 7,05; N, 2,40.

Méthyl-2-acétamido-3,4,6-tri-O-benzyl-2-désoxy-β-D-glucopyranoside (17). — Les mêmes conditions que celles décrites ci-dessus sont utilisées pour la benzylation de **15** (0,5 g). Le résidu est cristallisé dans un mélange éther-hexane, donnant **17** sous la forme de fines aiguilles (720 mg, 67%), p.f. 158–159°, $[\alpha]_D^{20} +17,5^\circ$ (*c* 1, chloroforme); spectre i.r. : $\nu_{\text{max}}^{\text{Nujol}}$ 3260 (NH), 1645 (Amide I), 1550 (Amide II), 740, 695 (Ph).

Anal. Calc. pour C₃₀H₃₅NO₆ : C, 71,26; H, 6,98; N, 2,77. Trouvé : C, 71,27; H, 7,13; N, 2,56.

Méthyl-2-acétamido-3,5,6-tri-O-acétyl-2-désoxy-β-D-glucofuranoside (12). — Le composé **9** (200 mg) est dissous dans de la pyridine anhydre (3 ml) et de l'anhydride acétique (0,5 ml) est ajouté. Après disparition complète du produit de départ, le mélange réactionnel est versé dans de l'eau glacée (100 ml), l'ensemble étant extrait au chloroforme. Les extraits chloroformiques sont lavés à l'aide d'une solution aqueuse à 10% d'hydrogénosulfate de potassium, séchés et évaporés. Il n'a pas été possible de cristalliser le résidu obtenu, chromatographiquement pur (270 mg,

88 %), $[\alpha]_D^{20} - 46^\circ$ (*c* 1, méthanol); spectre i.r. : $\nu_{\text{max}}^{\text{film}}$ 3280 (NH), 1740 (ester), 1650 (Amide I), 1540 (Amide II).

Anal. Calc. pour $C_{15}H_{23}NO_9$: C, 49,86; H, 6,42; N, 3,88. Trouvé : C, 50,06; H, 6,57; N, 3,80.

Méthyl-2-désoxy-3,4,6-tri-O-méthyl-2-(N-méthylacétamido)- β -D-glucopyranoside (20). — Le composé 15 (150 mg) est perméthylé d'une façon analogue à celle décrite pour le composé 19. Après purification sur une colonne de gel de silice (35 g) à l'aide du mélange de solvants chloroforme-méthanol (97:3, v/v), le composé 20 a été obtenu à l'état pur (160 mg, 85 %), sous forme d'une huile incolore distillable, p.é.b._{0,1} 190–195°, $[\alpha]_D^{20} + 6^\circ$ (*c* 1, chloroforme); spectre i.r. : $\nu_{\text{max}}^{\text{film}}$ 1645 (Amide I).

Anal. Calc. pour $C_{13}H_{25}NO_6$: C, 53,59; H, 8,65; N, 4,81. Trouvé : C, 53,17; H, 9,00; N, 4,81.

Ce composé se sépare nettement de 13 par chromatographie en phase gazeuse (température de la colonne égale à 180°) : il donne un t_R égal à 27 min, le t_R de 13 étant de 25 min.

Une autre séparation en phase gazeuse a été réalisée sur les dérivés tri-*O*-triméthysilylés de 9 et de 15 (température de la colonne programmée de 80° à 220°, la vitesse de chauffe étant de 5°/min). Les temps de rétention, par rapport au *myo*-inositol pertriméthysilylé, sont : pour 9, 1,15, pour 15, 1,19.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient le Dr P. A. J. Gorin pour l'envoi d'un échantillon de chlorhydrate de 2-désoxy-3,4,6-tri-*O*-méthyl-2-méthylamino- α -D-glucopyranose, le Dr B. C. Das pour l'enregistrement des spectres de masse et la Société Jeol pour l'enregistrement des spectres de résonance magnétique nucléaire.

RÉFÉRENCES

- 1 W. N. HAWORTH, P. W. KENT ET M. STACEY, *J. Chem. Soc.*, (1948) 1211.
- 2 A. B. FOSTER, *J. Chem. Soc.*, (1958) 1817.
- 3 P. W. KENT, *Research* (London), Suppl., 3 (1950) 427; M. W. WHITEHOUSE ET P. W. KENT, *Tetrahedron*, 4 (1958) 425.
- 4 W. ROTH ET W. PIGMAN, *J. Amer. Chem. Soc.*, 82 (1960) 4608.
- 5 Y. MATSUSHIMA ET T. MIYAZAKI, *Bull. Chem. Soc. Japan*, 38 (1965) 1325.
- 6 R. KUHN ET W. BASCHANG-BISTER, *Ann.*, 641 (1961) 160.
- 7 J. C. JACQUINET, *Thèse de 3^{me} Cycle*, Université de Paris-Sud, Centre d'Orsay (1972).
- 8 D. HORTON, dans R. W. JEANLOZ (Ed.), *The Amino Sugars*, Vol. 1A, Academic Press, New-York, 1969, p. 92.
- 9 S. KONSTAS, I. PHOTAKI ET L. ZERVAS, *Ber.*, 92 (1959) 1288.
- 10 W. MEYER ZU RECKENDORF ET W. A. BONNER, *Ber.*, 95 (1962) 996.
- 11 B. LINDBERG ET H. AGBACK, *Acta Chem. Scand.*, 18 (1964) 185.
- 12 Voir par exemple : P. A. GENT, R. GIGG, S. MAY ET R. CONANT, *J. Chem. Soc., Perkin I*, (1972) 2748 et articles antérieurs.
- 13 P. A. GENT, R. GIGG ET R. CONANT, *J. Chem. Soc., Perkin I*, (1972) 248.
- 14 M. L. WOLFROM, R. U. LEMIEUX ET S. M. OLIN, *J. Amer. Chem. Soc.*, 71 (1949) 2870.
- 15 M. N. MIRZAYANOVA, L. P. DAVYDOVA ET G. I. SAMOKHALOV, *Zh. Obshch. Khim.*, 38 (1968) 1954.
- 16 J. W. GREEN ET E. PACSU, *J. Amer. Chem. Soc.*, 59 (1937) 2569.

- 17 R. KUHN ET H. TRISCHMANN, *Ber.*, 96 (1963) 284.
- 18 R. E. REEVES, *J. Amer. Chem. Soc.*, 63 (1941) 1476.
- 19 P. F. LLOYD ET M. STACEY, *Tetrahedron*, 9 (1960) 116.
- 20 J. R. COGGINS ET L. BENOITON, *Can. J. Chem.*, 49 (1971) 1968.
- 21 A. ADAM, J. F. PETIT, J. WETZERBIN-FALSZPAN, P. SINAÝ, D. W. THOMAS ET E. LEDERER, *FEBS (Fed. Eur. Biochem. Soc.) Lett.*, 4 (1969) 87.
- 22 P. A. J. GORIN ET A. J. FINLAYSON, *Carbohydr. Res.*, 18 (1971) 269.
- 23 M. PARQUET ET P. SINAÝ, *Carbohydr. Res.*, 18 (1971) 195.
- 24 A. NEUBERGER ET R. PITTS RIVERS, *J. Chem. Soc.*, (1939) 122.
- 25 J. CONCHIE ET G. A. LEVY, *Methods Carbohydr. Chem.*, 2 (1963) 332.
- 26 R. W. JEANLOZ ET E. FORCHIELLI, *J. Biol. Chem.*, 188 (1951) 361.
- 27 P. A. J. GORIN, *Carbohydr. Res.*, 27 (1973) 309.