

## SYNTHÈSE ET ÉTUDE R M N DE DISACCHARIDES ET TRISACCHARIDES DANS LA SÉRIE DU L-RHAMNOSE\*

COLETTE LAFFITE

*Équipe de recherches associée du C N R S (N° 610)*

ANNE-MARIE NGUYEN PHUOC DU, FRANÇOIS WINTERNITZ, RENÉE WYLDE†

*Équipe de recherches du C N R S (N° 195), École Nationale Supérieure de Chimie, 8 rue de l'École Normale 34075 Montpellier (France)*

ET FLORE PRATVIEL-SOSA

*Laboratoire de Chimie biologique, Faculté de Pharmacie 4, Avenue de l'Observatoire, 75006 Paris (France)*

(Reçu le 18 mai 1977 accepte après modification le 30 novembre 1977)

### ABSTRACT

Various di- and tri-saccharides containing L-rhamnose were synthesized by condensation of 2,3,4-tri-*O*-acetyl- or 2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl bromide with an unblocked glycopyranoside. The determination of the anomeric configuration of L-rhamnose saccharides by n m r is difficult because structure has a greater effect on the spectra than does configuration. The  $\alpha$  and  $\beta$  configurations and the position of the substitution may be assigned from the chemical shifts of H-5 and CH<sub>3</sub>. In all the compounds having a  $\beta$  configuration, a shielding of the methyl group and a deshielding of the H-5 proton have been observed as compared to the compounds having an  $\alpha$  configuration. The H-5 proton and the methyl group of peracetylated, (1 $\rightarrow$ 3)-linked  $\alpha$ -L derivatives always resonate at higher fields than the corresponding protons of (1 $\rightarrow$ 6)-linked  $\alpha$ -L derivatives.

### SOMMAIRE

La synthèse de plusieurs di- et tri-saccharides dans la série du L-rhamnose a été réalisée par condensation du bromure de 2,3,4-tri-*O*-acétyl- ou 2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyle avec un glycopyranoside non bloqué. L'étude en r m n du proton des différents mono-, di- et tri-saccharides obtenus au cours de ces synthèses a permis de confirmer la difficulté d'attribution de la configuration osidique dans cette série par la valeur du proton anomère, celle-ci étant plus sensible à la substitution.

\*Présenté au 6<sup>e</sup> « Symposium of N M R Spectroscopy », Banff, Canada, 20 Mai 1977

†Auteur auquel doit être adressée la correspondance concernant cet article

qu'a la configuration La valeur du déplacement chimique du proton H-5 et du groupement méthyle peut servir à préciser la configuration et la position de la substitution Dans tous les composés de configuration  $\beta$ , on a observé un déblindage du groupement méthyle et un blindage du proton H-5 par rapport aux composés de configuration  $\alpha$  Le proton H-5 et le groupement méthyle dans les dérivés peracétylés des composés  $\alpha$ -L-(1 $\rightarrow$ 3) résonnent toujours à un champ plus fort que les mêmes protons dans les composés  $\alpha$ -L-(1 $\rightarrow$ 6)

## INTRODUCTION

L'identification des rhamnobiases présente un intérêt considerable en raison de la fréquence du 6-déoxy-L-mannose dans de nombreuses familles vegetales et dans les constituants chim.ques des capsules bactériennes gram-negatives C est ainsi qu'ont pu être mises en evidence des unités de rhamnobiase dans la capsule de *Klebs.ella*<sup>1-4</sup> et dans les lipopolysaccharides de diverses *Salmonella*<sup>5-8</sup>, pour lesquelles les sites immunologiques ont pu être definis L obtention d'échantillons de structure precise dans l'enchaînement et la configuration permet de determiner sans ambiguïté la constitution glycosidique des capsules tandis que leurs reactions serologiques de precipitation et d inhibition situent la position du fragment rhamnosidique dans le polysaccharide et son importance immunologique

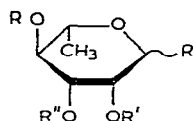
Dans un précédent travail<sup>9</sup>, concernant l'activite  $\beta$ -D-glucosidasique chez certains *Rhammus* et l'isolement d'un trisaccharide nouveau, nous avons note les difficultés rencontrées dans l'attribution de la structure par la r m n dans la serie du L-rhamnose L ensemble des methodes chim. ques et physico-chimiques permettait cependant de l'identifier comme étant le *O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-*O*- $\gamma$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-D-galactopyranose Mais la difference des valeurs des déplacements chimiques des protons des deux unités de rhamnose faisant partie de ce trisaccharide permettait de mettre en doute la configuration  $\alpha$ -L des deux liaisons glycosidiques Pour cette raison il nous a paru essentiel de synthetiser les deux disaccharides le *O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-L-rhamnose et le *O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-D-galactose ainsi que le trisaccharide lui-même

Au cours de ce travail plusieurs monosaccharides de configuration  $\alpha$  et  $\beta$  ont été isolés leur étude r m n comparée avec les di- et tri-saccharides permet de confirmer la nature des liaisons osidiques et leurs configurations

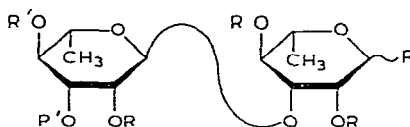
## RESULTATS ET DISCUSSION

*Synthèse* — La synthèse des composés **7** et **13** a été réalisée en mettant a profit la difference de reactivité des groupements hydroxyles d'un glycoside Dans le cas du L-rhamnose il a été montré<sup>10 11</sup> que OH-3 était le plus réactif, alors que dans le cas du D glucose, la vitesse d'etherification de l'alcool primaire est la plus élevée

Ainsi, le *O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-L-rhamnose (**7**) est obtenu par condensation du bromure de 2,3,4-tri-*O*-acetyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyle (**4**) avec le



- 1 R = OH R' = R = H
- 2 R = OAc R' = R = Ac
- 3 R = OMe R' = R = Ac
- 4 R = Br R' = R = Ac
- 5 R = OH, R' = R = Ac
- 6 R = OAc R' = H R = Ac



- 7 R = OH R' = R = H
- 8 R = OAc R' = R = Ac
- 9 R = OMe R' = R = Ac
- 10 R = Br R' = R = Ac
- 11 P = OH R' = R = Ac
- 12 R = OAc R' = H R = Ac

méthyl- $\gamma$ -L-rhamnopyranoside, méthode développée avec succès par King et Bishop<sup>12 13</sup> pour la synthèse du *O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl- et *O*- $\beta$ -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-L-rhamnose. La condensation est réalisée dans l'acétonitrile en présence de cyanure mercurique. Après acétylation du mélange réactionnel, on isole, à côté du 1,2,3,4-tetra-*O*-acétyl- $\gamma$ -L-rhamnopyranose, les trois disaccharides suivants :

(a) Le dérivé peracétyle du méthyl-*O*- $\gamma$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside (9) largement majoritaire et bien différent des deux autres disaccharides : le rendement et les conditions de la réaction montrent qu'il s'agit bien du disaccharide  $\alpha$ -L-(1 $\rightarrow$ 3). Il est bien connu<sup>14 15</sup>, en effet, que les réactions du type Koenigs-Knorr avec le bromure de 2,3,4-tri-*O*-acétyl- ou -tri-*O*-benzoyl- $\gamma$ -L-rhamnopyranosyle ou mannopyranosyle conduisent uniquement à des composés de configuration  $\gamma$ . Son pouvoir rotatoire fortement négatif, son spectre r m n ainsi que celui de ses dérivés, comme son spectre <sup>13</sup>C confirment, sans ambiguïté la position de la liaison et sa configuration. L'hydrolyse et l'acétylation de 9 conduisent à l'hexa-acétate 8.

(b) Le second composé isolé par chromatographie est le dérivé peracétyle du méthyl-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside : il est très difficilement séparable de la fraction suivante : il a été identifié par ses propriétés spectrales et synthétisé par ailleurs<sup>16 17</sup>.

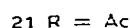
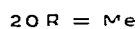
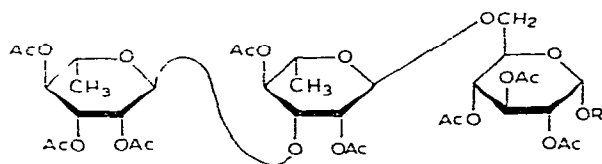
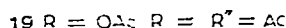
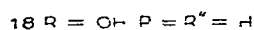
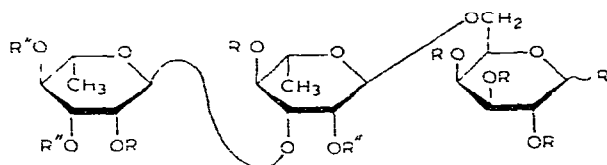
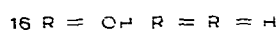
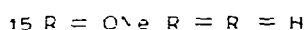
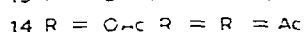
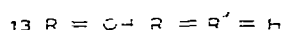
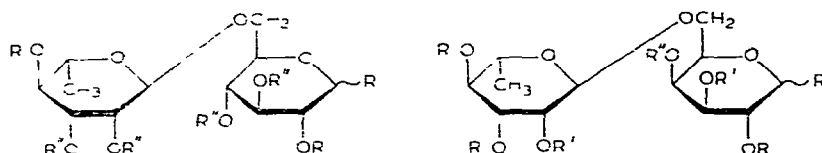
(c) Le dernier composé élué est le dérivé peracétyle du méthyl-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside : par hydrolyse et acétylation il conduit au disaccharide hexa-acétyle déjà décrit<sup>3</sup>.

La synthèse du *O*- $\gamma$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-D-glucose (13) (rutinose) a été réalisée par condensation du bromure de 2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyle avec le méthyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside. Après débenzoylation et hydrolyse, le disaccharide obtenu en majorité est identique au produit naturel provenant de l'hydrolyse ménagée de la rutine<sup>18 19</sup>. La configuration osidique  $\beta$ -L proposée par Zemplen et Gerecs<sup>18,19</sup> a été infirmée plus tard par Gorin<sup>20</sup> par analogie avec divers mannosides. Ici encore, la prépondérance de ce composé et les conditions de la réaction montrent qu'il s'agit bien du composé  $\alpha$ -L-(1 $\rightarrow$ 6).

Le robinobiose ou *O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-D-galactose (16) a été obtenu par condensation du bromure de 2,3,4-tri-*O*-acétyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyle

avec le 1,2,3,4-di-*O*-isopropylidène- $\alpha$ -D-galactopyranose. Le disaccharide isolé après le traitement habituel est identique au robinobiose provenant de l'hydrolyse de la robinine<sup>21-24</sup>

La condensation du bromure de 2,4-di-*O*-acétyl-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-acétyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl)- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyle (10) avec le méthyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside ou le 1,2,3,4-di-*O*-isopropylidène- $\alpha$ -D-galactopyranose conduit, après le même traitement que celui utilisé pour les disaccharides, aux deux composés 18 et 20, le premier étant identique au produit naturel décrit antérieurement<sup>5</sup>. La synthèse totale du trisaccharide 18 confirme donc la structure proposée.



*Étude i m n* — *Saccharides libres* L'examen du Tableau I permet de constater une différence dans la valeur du proton anomère H-1' dans les composés 1, 7, 13 et 16 et celle de H-1'' et H-1' dans 18, bien que tous de configuration  $\alpha$ . En effet cette

TABLEAU I

VALEURS DES DÉPLACEMENTS CHIMIQUES DES PRINCIPAUX PROTONS DE MONO-, DI- ET TRI-SACCHARIDES DU L-RHAMNOSE<sup>a</sup>

Composé	Anomère	Déplacement chimique					
		H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6
1	$\alpha$	5,11 d $J_{1\ 2}\ 1,8$	3,92 q $J_{2\ 3}\ 3,5$	3,80 q $J_{3\ 4}\ 9,6$	3,44 t $J_{4\ 5}\ 9,6$	3,87 m $J_{5\ 6}\ 6,3$	1,28 d
	$\beta$	4,86 d $J_{1\ 2}\ 1,1$	3,94 q $J_{2\ 3}\ 3,5$	3,60 q $J_{3\ 4}\ 9,5$	3,36 t $J_{4\ 5}\ 9,5$	3,40 m $J_{5\ 6}\ 6,2$	1,29 d
Methyl-L-rhamnopyranoside	$\alpha$	4,70 d $J_{1\ 2}\ 1,7$	3,93 q $J_{2\ 3}\ 3,5$	3,71 q $J_{3\ 4}\ 9,6$	3,44 t $J_{4\ 5}\ 9,6$	3,64 m $J_{5\ 6}\ 6,2$	1,30 d
	$\beta$					3,49 m	
7	$\alpha$	5,04 d	4,07 q		3,5 t	3,89 m	1,28 d
	$\alpha$	5,07 d	4,07 q			3,89 m	1,28 d
	$\beta$	4,87 d					
13	$\alpha$	4,96 d					1,38 d
	$\alpha$	5,34 d $J_{1\ 2}\ 3$					
	$\beta$	4,76 $J_{1\ 2}\ 7$					
16	$\alpha$	4,89 d	4,02 q		3,49 t $J_{4\ 5}\ 9$	3,82 m $J_{5\ 6}\ 6$	1,35 d
	$\alpha$	5,3 d $J_{1\ 2}\ 3$	3,82 q	3,88 q	4,02 t		
	$\beta$	4,63 d $J_{1\ 2}\ 7$					
18	$\alpha''$	5,06 d $J_{1\ 2}\ 1,7$	4,10 q		3,48 t $J_{4\ 5}\ 9,5$	3,81 m $J_{5\ 6}\ 6$	1,33 d
	$\alpha$	4,33 d $J_{1\ 2}\ 1,7$	4,10 q				1,33 d
	$\alpha$	5,29 d $J_{1\ 2}\ 2,5$	3,81 q		4,10 t	3,53 m	
	$\beta$	4,61 d $J_{1\ 2}\ 7$					

<sup>a</sup>Les conditions d'enregistrement des spectres sont données dans la partie expérimentale. Dans le cas des disaccharides les déplacements chimiques des protons de l'unité non reductrice sont portés sur la ligne  $\alpha$ . Dans le cas du trisaccharide 18 les déplacements chimiques des protons de l'unité liée à l'extrémité reductrice sont portés sur la ligne  $\alpha$  tandis que ceux des protons de l'unité rhamnosidique en bout de chaîne sont portés sur la ligne  $\alpha'$ . Les valeurs des constantes de couplage ( $J$ ) sont données en Hz.

valeur égale à 5,04 p p m dans 7[ $\alpha$ -L-(1 $\rightarrow$ 3)] passe à 4,96 p p m dans le rutinosé\* (13) et 4,89 p p m dans le robinobiose (16) [ $\alpha$ -L-(1 $\rightarrow$ 6)], tandis que les valeurs respectives des protons anomères de l' $\alpha$ - et du  $\beta$ -L-rhamnose<sup>26</sup> sont de 5,11 et 4,86 p p m. La valeur du déplacement chimique du proton anomère d'un disaccharide  $\alpha$ -L-(1 $\rightarrow$ 6) substituée est donc voisine de celle de ce même proton dans le  $\beta$ -L-rhamnopyranose.

\*Pour ce composé, les auteurs sont en désaccord avec les résultats d'Imperato<sup>25</sup>, qui attribue à H-1' la valeur de 5,09 p p m.

Pour les disaccharides  $\alpha$ -L-(1 $\rightarrow$ 4) ou -(1 $\rightarrow$ 2) substitués, le déplacement chimique de H-1' est voisin<sup>2, 27</sup> de 5 p p m. Dans le trisaccharide **18** on retrouve bien la valeur de 5,06 p p m pour H-1'' de la première unité rhamnosidique (valeur correspondant à celle de **7**) et on observe H-1' à 4,83 p p m pour la seconde unité rhamnosidique (valeur correspondant à celle de **16**). Le déplacement chimique de H-5 des unités rhamnosidiques—toujours voisin de 3,8 p p m—permet cependant de les différencier des composés  $\beta$ , pour lesquels on observe un blindage de H-5 vers 3,4 p p m comme dans le rhamnose. Les valeurs des protons des résidus de D-glucose et de D-galactose sont identiques à celles données par De Bruyn *et al*<sup>28, 29</sup>.

**Saccharides acétylés** L'étude r m n des dérivés acétylés permet une meilleure attribution des signaux que pour les saccharides libres, en effet, le déblindage des protons en configuration  $\alpha$  des groupements acetates facilite l'observation de H-5 et des protons en configuration  $\alpha$  des liaisons osidiques. Le spectre (Tableau II) du bromure de 2,3,4-tri-*O*-acétyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyle (**4**) est un bon exemple : tous les signaux sont analysables et les valeurs des glissements chimiques et des constantes de couplage de chaque proton peuvent être déterminées avec précision. Ainsi on observe, à côté du doublet du proton anomère, le quartet de H-3 ( $J_{2,3}$  3,2 et  $J_{3,4}$  10 Hz), le quartet de H-2 ( $J_{1,2}$  1,7 Hz) et enfin le large triplet de H-4 ( $J_{4,5}$  10 Hz) tandis que le multiplet de H-5 résonne à 4,08 p p m ( $J_{5,6}$  6 Hz).

Dans les spectres de tous les composés décrits ici, on a étudié la variation des déplacements chimiques du proton anomère, du proton en configuration  $\alpha$  de la liaison osidique, celle de H-5 ainsi que les groupements méthyles du rhamnose.

Dans l'étude du proton anomère on a observé, comme pour les saccharides libres, une différence de la valeur du déplacement chimique en fonction de la substitution, plus importante que celle entre les 1,2,3,4-tetra-*O*-acétyl- $\alpha$ -L- et  $\beta$ -L-rhamnopyranoses. Ainsi, dans le méthyl-2,3,4-tri-*O*-acétyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside (**3**), H-1 résonne à 4,63 p p m tandis que dans le 2,3,4-tri-*O*-acétyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranose H-1 se situe à 5,03 p p m. Quand on passe aux disaccharides, H-1' de **9** résonne à 4,89 p p m : les deux protons H-1 résonnant, comme pour **3**, à 4,61 p p m pour l'anomère  $\alpha$  et 4,56 p p m pour l'anomère  $\beta$ . Il y a peu de modification de la valeur de H-1' dans le dérivé peracétyle **8**, son signal étant situé à 4,96 p p m ; dans le dérivé bromé **10** de ce disaccharide, H-1' est toujours à 4,92 p p m, tandis que H-1 en configuration  $\alpha$  de l'atome de brome est déblindé à 6,32 p p m. Dans le cas des disaccharides liés en  $\alpha$ -L-(1 $\rightarrow$ 6), les protons anomères sont blindés par rapport à ceux des  $\alpha$ -L-(1 $\rightarrow$ 3), ainsi, dans **14**, H-1' résonne à 4,75 p p m. La valeur de H-1' dans les disaccharides  $\alpha$ -L-(1 $\rightarrow$ 3) est donc voisine de celle de H-1 dans le 2,3,4-tri-*O*-acétyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranose, tandis que dans le disaccharide  $\alpha$ -L-(1 $\rightarrow$ 6) cette valeur est plus proche de celle de H-1 du méthyl-2,3,4-tri-*O*-acétyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside. Dans les trisaccharides, par ex. **19**, on retrouve les valeurs des protons anomères des deux unités rhamnosidiques liées en, l'une  $\alpha$ -L-(1 $\rightarrow$ 3) et l'autre  $\alpha$ -L-(1 $\rightarrow$ 6) : 4,91 p p m pour H-1'' et 4,71 p p m pour H-1'. Les composés **6** et **12**, qui possèdent un OH-2, comme le 1,3,4-tri-*O*-acétyl- $\beta$ -L-rhamnopyranose et le 1,4-di-*O*-acétyl-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-acétyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl)- $\beta$ -L-rhamnopyranose, obtenus au cours des réactions

TABLEAU II

VALEURS DES DEPLACEMENTS CHIMIQUES DES PRINCIPAUX PROTONS DANS LES DERIVES ACETYLES DE MONO- DI- ET TRI-SACCHARIDES DU L-RHAMNOSE\*

Com- pose	Ano- mere	Déplacement chimique						
		H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6	OMe
2	$\alpha$	6 01 d (0 55)	5 20	5 33	5 03	3,94 m (6,0)	1 20 d	
	$\beta$	5 93 d (0 50)			4 99	3,60 m (6,0)	1 26 d	
3	$\alpha$	4 63 d (1 0)	5,22	5 40	5 03	3 86 m (6 0)	1 21 d	3,36
	$\beta$	4 51 d (1 0)	5 46	5 10	5,0	3,50 m (6,0)	1,30 d	3 53
4	$\alpha$	6 25 d (1 7)	5 41 q (3,2)	5,66 q (10)	5 12 t (10)	4 08 m (6,0)	1 26 d	
5	$\alpha$	5 03 d (1 2)	5 23 q (3 0)	5 36 q (10)	5 05 t (9 0)	4 13 m (6,2)	1,21 d	
	$\beta$	4 99 d (1 0)				3 49 m (6,5)	1 24 d	
6	$\beta$	5 72 d (0 9)	4 18 q (3 0)	5 00	5 15	3 5 m (6 5)	1,28 d	
8	$\gamma$	4 96 d (1 0)	5 25	5 05	5 14 t (10)	3 78 m (6,0)	1,18 d	
	$\alpha$	6 02 d (1 8)	5 25 (3 5)	4 16 q (10)	5 14	3,92 m (6 0)	1,20 d	
9	$\alpha$	4 89 d (1 5)			5 12 t (10)	3,74 m (6 0)	1,18 d	
	$\alpha$	4 61 d (1 8)	5 26 (3 5)	4 07 q (10)	5 07 (10)	3,92 m (6 0)	1 22 d	
	$\beta$	4 56 d (1 8)					1 37 d	
10	$\gamma$	4 92 d (1 5)				3 90 m (6,0)	1,18 d	
	$\alpha$	6 32 d (1 5)		4 52 q (10)		4,1 m (6,0)	1,21 d	
11	$\alpha$	4 90 d	5 25	5 05	5 14	3,9 m	1 17 d	
	$\gamma$	5 01 d	5 25	4 20	5 14	4 0 m	1 19 d	
12	$\gamma$	4 89 d (1 7)				3 6 m (6 0)	1 19 d	
	$\beta$	5 72 d (1 2)	4 10 (3 0)	3 68 q (10)	5 10 t (10)	3 43 m (6 0)	1 27 d	
14	$\alpha$	4 75 d (1 5)	5 2		5 09 t (9 6)	3,89 m (6 0)	1 2 d	
	$\gamma$	6 02 d						
	$\beta$	5 74 d (7 5)				3 9 m	3 7	
19	$\gamma$	4 91 d (1 0)		5 10 q (10)	5 09 t (9 5)	3 6 m (6,0)	1 17 d	
	$\gamma$	4 71 d (1 5)	5 15 q (2 5)	4 0 q (10)	5 05 t (10)	3 90 m (6 0)	1 20 d	
	$\gamma$	6 35 d (2 0)	5 35	5 35	5 55	4 3 t (6 5)	3 53	
	$\beta$	5 70 d (8 0)						

\*Les conditions d'enregistrement des spectres sont données dans la partie expérimentale. Dans le cas des disaccharides les déplacements chimiques des protons de l'unité non reductrice sont portés sur la ligne  $\gamma$ . Dans le cas du trisaccharide **19** les déplacements chimiques de l'unité terminale acétylée en C-1 sont portés sur la ligne  $\alpha$  ou  $\beta$ . Les déplacements chimiques des protons des deux résidus rhamnosidiques sont portés respectivement sur la ligne  $\alpha'$  pour le résidu de L-rhamnose lié en C-1, sur la ligne  $\alpha$  pour le résidu de L-rhamnose lié en C-3 et en C-1. Les valeurs des constantes de couplage de chacun des protons avec le proton voisin sont exprimées entre parenthèses, en Hz.

de couplage<sup>16 17</sup>, présentent H-1 à 5,72 p p m blindé par la configuration  $\beta$  et par le voisinage de OH-2. Dans **12**, H-1' résonne normalement à 4,89 p p m.

Dans l'étude du proton en  $\alpha$  des liaisons osidiques, on observe, dans les disaccharides liés en  $\gamma$ -L-(1 $\rightarrow$ 3), H-3 vers 4 p p m sous la forme d'un quartet habituel. La valeur de H-3 varie avec la substitution en position 1 : elle est de 4,07 p p m dans **9**, 4,16 p p m dans le dérivé peracétyle **8**, dans le dérivé bromé **10** ce même proton est déblindé à 4,52 p p m alors qu'il est blindé à 3,68 p p m dans **12** qui est de con-

figuration  $\beta$  Quand on passe au trisaccharide **19**, on retrouve H-3 à 4,0 p p m permettant ainsi d'identifier ce type de liaison dans le trisaccharide Dans les disaccharides liés en  $\alpha$ -L-(1 $\rightarrow$ 4) et  $\gamma$ -L-(1 $\rightarrow$ 2), H-4 et H-2 résonnent sous la forme de leurs signaux habituels à des valeurs inférieures à 4 p p m Dans les disaccharides liés en  $\gamma$ -L-(1 $\rightarrow$ 6), on observe les deux protons du groupement méthylénique des résidus de D-glucose ou de D-galactose à 3,60 p p m<sup>30 31</sup>, ces mêmes protons résonnant au même champ dans les trisaccharides

Pour les protons H-5 et CH<sub>3</sub>, on observe dans les composés  $\alpha$ -L-(1 $\rightarrow$ 3), comme **8**, **9** et **10**, H-5' aux environs de 3,75 p p m Cette valeur peut être déterminée avec précision par irradiation du groupement méthyle en 6', pour ces mêmes dérivés, CH<sub>3</sub>-6' résonne entre 1,17 et 1,18 p p m Dans les disaccharides liés en  $\alpha$ -L-(1 $\rightarrow$ 6), comme **14** et **17**, H-5' est toujours plus déblindé et résonne vers 3,9 p p m tandis que le groupement méthyle subit également cette influence, résonnant vers 1,20-1,25 p p m Cette différenciation est bien observée dans le trisaccharide **19** où l'on a les deux types de liaisons on observe H-5 de la première unité rhamnosidique à 3,60 p p m et son groupement méthyle à 1,17 p p m Le proton H-5 du deuxième résidu de L-rhamnose est situé à 3,90 et son groupement méthyle à 1,20 p p m Dans tous les composés  $\beta$ , on a observé un déblindage du groupement méthyle qui résonne toujours entre 1,25 et 1,30 p p m, alors que l'on a un blindage du H-5 vers 3,45 p p m L'ensemble des valeurs de tous les protons observés pour le robinobiose et son dérivé acétylé montre qu'il s'agit bien du *O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-D-galactopyranose, en accord avec les résultats de Vermes *et al*<sup>23</sup> et que le trisaccharide **18** comporte deux liaisons glycosidiques de configuration  $\alpha$

En conclusion il faut retenir de ces résultats les observations suivantes (a) l'utilisation de glycosides non bloqués pour la synthèse de di- et tri-saccharides est une méthode particulièrement intéressante conduisant à un composé majoritaire, évitant ainsi la préparation, quelques fois difficile, d'intermédiaires convenablement bloqués (b) L'étude r m n du proton des saccharides dans la série du L-rhamnose a permis de proposer quelques règles d'attribution quant à la substitution et à la configuration Les valeurs des déplacements chimiques des protons anomères permettent difficilement de renseigner sur la configuration, par contre, elles donnent des informations sur la substitution Cependant les valeurs des protons H-5 et des groupements méthyles des unités L-rhamnosidiques précisent à la fois la configuration et la substitution

## PARTIE EXPÉRIMENTALE

Les spectres de r m n ont été enregistrés sur un appareil Varian HA-100 (sauf mention contraire) en solution dans l'oxyde de deutérium pour les oligosaccharides et chloroforme-*d* pour les dérivés acétylés Les déplacements chimiques sont donnés en valeur de  $\delta \cdot 10^{-6}$  par rapport au tétraméthylsilane comme référence interne Les pouvoirs rotatoires ont été mesurés avec un micropolarimètre Roussel-Jouan Les points de fusion (non corrigés) ont été déterminés avec un appareil Tottoli Les



analyses ont été effectuées par le Service Central de Microanalyses du C N R S (division de Montpellier). Les chromatographies ont été faites avec du gel de silice Merck, avec comme éluant le mélange benzène-éther 1/1 (v/v) (solv. A). Les chromatographies sur papier (desc.) Whatman n° 1 (analytique) et 3MM (préparatif) ont été réalisées selon la technique de Pratviel-Sosa *et al.*<sup>9</sup> avec des éluants précisés chaque fois. Les chromatoplaques (gel de silice Merck) sont révélées par pulvérisation avec de l'acide sulfurique éthanolique à 5% et chauffage à 120° pendant 5 min. Les chromatographies sur papier ont été visualisées après séchage à la température ambiante, pulvérisation d'une solution aqueuse de metaperiodate de sodium (0,02%), séchage et nouvelle pulvérisation par une solution de nitrate d'argent à 5% dans l'ammoniaque (ce procédé convient également pour les sucres réducteurs).

*Methyl-2,4-di-O-acetyl-3-O-(2,3,4-tri-O-acetyl- $\gamma$ -L-rhamnopyranosyl)- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside (9)* — Un mélange de méthyl- $\gamma$ -L-rhamnopyranoside<sup>3,2</sup> (1,8 g, 10,1 mmol) et de cyanure mercurique (2,5 g) dans 5 ml d'acetonitrile anhydre sont agités sous courant d'azote à la température ambiante. On ajoute ensuite 15 ml d'une solution de 4 g (11,3 mmol) de bromure de 2,3,4-tri-O-acetyl- $\gamma$ -L-rhamnopyranosyle<sup>3</sup> (4). Le mélange est maintenu dans les mêmes conditions pendant 48 h à l'obscurité. Après filtration puis évaporation du solvant, le résidu sirupeux repris par 200 ml de chloroforme est lavé par une solution glacée de bromure de potassium (2  $\times$  100 ml), ensuite par une solution froide d'hydrogencarbonate de sodium et enfin à l'eau. Après séchage et évaporation du solvant, le résidu nuileux (5 g) est directement acétylé par le mélange anhydride acétique-acétate de sodium. Le résidu de l'acétylation (4 g) présente quatre taches en c.c.m. (solvant A). Il est chromatographié sur colonne de gel de silice (200 g). Les premières fractions éluées avec du benzène-éther 4/1 (v/v) (solvant B) contiennent du 1,2,3,4-tetra-O-acetyl- $\gamma$ -L-rhamnopyranose (2). Les fractions suivantes conduisent à une poudre blanche (9), p.f. 125°,  $[\alpha]_D^{25} -48^\circ$  (c 0,5, chloroforme),  $R_f$  0,55(A).

*Anal. Calc.* pour  $C_{23}H_{34}O_{14}$  (534) C, 51,68, H, 6,36. Trouvé C, 51,50, H, 6,41.

Les fractions éluées par le solvant B sont difficilement séparables. Elles sont constituées de méthyl-3,4-di-O-acetyl-2-O-(2,3,4-tri-O-acetyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl)- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside et de méthyl-2,3-di-O-acetyl-4-O-(2,3,4-tri-O-acetyl- $\gamma$ -L-rhamnopyranosyl)- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside.

*1,2,4-Tri-O-acetyl-3-O-(2,3,4-tri-O-acetyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl)- $\alpha$ -L-rhamnopyranose (8)* — Une solution de 9 dans 7 ml d'anhydride acétique est traitée par 14 ml d'un mélange d'acide sulfurique-anhydride acétique (1%, v/v) pendant 5 h à la température ambiante. La solution est ensuite diluée par 100 ml de chloroforme et lavée à l'eau, à l'hydrogencarbonate de sodium (2  $\times$  100 ml) et à l'eau. Les traces d'acide et d'anhydride acétique sont éliminées par évaporations successives dans l'éthanol. Le résidu jaune sirupeux est l'hexa-acétate attendu 8. Son spectre de r.m.n. montre qu'il s'agit essentiellement de l'anomère  $\alpha$  (95%)  $[\alpha]_D^{25} -32^\circ$  (c 4,5, chloroforme),  $R_f$  0,75(A).

*Anal Calc* pour  $C_{24}H_{34}O_{15}$  (562) C, 51,25, H, 6,05 Trouvé C, 51,40, H, 6,10

Les deux dernières fractions de la chromatographie précédente ont été hydrolysées et acétylées comme décrit plus haut, elles conduisent après chromatographie au 1,3,4-tri-*O*-acétyl-2-*O*-(2,3,4-tri-*O*-acétyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl)- $\alpha$ -L-rhamnopyranose, synthétisé par ailleurs<sup>16 17</sup>, *r m n* 1,2 (CH<sub>3</sub>), 1,25 (CH<sub>3</sub>'), 3,9 (H-2 et H-5'), 4,98 (H-1'), 5,2 (H-2'), 6,04 (H-1) et au 1,2,3-tri-*O*-acétyl-4-*O*-(2,3,4-tri-*O*-acétyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl)- $\alpha$ -L-rhamnopyranose, *p f* 158° (litt<sup>3</sup> 163°)  $[\alpha]_D^{25}$  -63,5° (*c* 2,1, chloroforme), *r m n* 1,2 (CH<sub>3</sub>), 1,25 (CH<sub>3</sub>'), 3,7 (H-4), 3,8 (H-5') 4,84 (H-1'), 4,9 (H-4'), 6,0 (H-1)

*3-O- $\alpha$ -L-Rhamnopyranosyl-L-rhamnose* — Le disaccharide acétylé **8** (0,500 g) est traité par 10 ml d'une solution de méthylate de sodium 0,2*M* pendant 1 h à 25°, puis neutralisé par de la résine Amberlite IR-120(H<sup>+</sup>) Après filtration et lyophilisation on obtient le disaccharide sous forme d'une mousse blanche,  $[\alpha]_D^{25}$  -21° (*c* 3,2, eau)

*Méthyl-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1→6)- $\alpha$ -D-glucopyranoside (15)* — Le méthyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside<sup>33</sup> (1,5 g 8,25 mmol) est mis en suspension dans le dichlorométhane (5 ml) et agité sous courant d'azote pendant 20 h en présence de Drierite et de carbonate d'argent (2,5 g) Une solution de bromure de 2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyle<sup>34</sup> (2,3 g, 4,23 mmol) dans le dichlorométhane (10 ml) est alors ajoutée, goutte à goutte, pendant 1 h La réaction est maintenue dans les mêmes conditions pendant 20 h Le résidu brut (3,8 g), obtenu après filtration et évaporation du solvant est chromatographié une première fois sur gel de silice La fraction correspondant au produit de condensation est éluée avec le solvant A (*R<sub>f</sub>* 0,40) Le disaccharide est purifié par chromatographie préparative sur couche mince de gel de silice. *R<sub>F</sub>* 0,5 (chloroforme-méthanol 9/1, v/v) La bande correspondante est éluée avec 50 ml de méthanol on obtient 0,800 g de méthyl-6-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl)- $\alpha$ -D-glucopyranoside, *r m n* (CDCl<sub>3</sub>) 1,30 (*J*<sub>5,6</sub> 6 Hz, CH<sub>3</sub>), 3,9 (s, OCH<sub>3</sub>) 5,2 (*J*<sub>1,2</sub> 2 Hz, H-1 $\alpha$ ), 5,45 (*J*<sub>1,2</sub> 2 Hz, H-1') 5,65 (H-2'), 5,68 (*J*<sub>4,5</sub> 10 Hz, H-4'), 5,90 (*J*<sub>2,3</sub> 4 Hz et *J*<sub>3,4</sub> 10 Hz, H-3') Ce composé (0,800 g) est dissous dans 40 ml d'une solution méthanolique de méthylate de sodium 0,2*M* après 18 h le mélange est neutralisé par 2 g de résine Amberlite IR-120(H<sup>+</sup>) et le résidu obtenu après filtration et évaporation est repris par l'eau et extrait au benzène, la phase aqueuse est lyophilisée et purifiée par chromatographie préparative sur papier Whatman 3MM (acétate d'éthyle-eau-pyridine, 4/1/1, v/v),  $[\alpha]_D^{25}$  +110° (*c* 1, eau)

*6-O- $\alpha$ -L-Rhamnopyranosyl-D-glucose (rutinose) (13)* — Une solution de rutine (1,5 g) dans 20 ml d'acide acétique aqueux à 10% est portée à ébullition pendant 6 h, après refroidissement et filtration, elle est extraite à l'éther et lyophilisée donnant 0,5 g de disaccharide,  $[\alpha]_D^{25}$  -3,6° (*cf* litt<sup>18 19</sup>), *R<sub>F</sub>* 0,3 (Whatman n° 1, acétate d'éthyle-pyridine-eau, 4/1/1, v/v), transformé en méthyl- $\alpha$ -D-rutinoside, identique au produit précédent

*1,2,3,4-Tetra-O-acétyl-6-O-(2,3,4-tri-O-acétyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranose (14)* — L'acétylation du rutinose par l'anhydride acétique-acétate de

sodium conduit essentiellement au composé acétylé **8** p f 169–170° (éther–éther de petr) (litt <sup>19</sup> p f 168°)

*Anal Calc* pour C<sub>26</sub>H<sub>36</sub>O<sub>17</sub> (620) C 50,32, H, 5,81 Trouvé C, 50,6, H, 5,95

*1,2,3,4-Tétra-O-acétyl-6-O-(2,3,4-tri-O-acétyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl)- $\beta$ -D-galactopyranose (robinbiose hepta-acétate) (17)* — A 0,6 g (2,3 mmol) de 1,2,3,4-di-O-isopropylidène  $\alpha$ -D-galactopyranose<sup>35</sup> dissous dans 5 ml d'acétonitrile, on ajoute 0,200 g de cyanure mercurique; le mélange est maintenu pendant 5 h sous courant d'azote avec agitation énergique. On ajoute alors, goutte à goutte, une solution de 1 g de bromure de 2,3,4-tri-O-acétyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl (2,8 mmol) dissous dans 5 ml d'acétonitrile et après 3 jours d'agitation on traite de la façon habituelle. Le résidu brut (1,2 g) est mis en contact avec une solution glacée d'acide trifluoroacétique à 90 % durant 10 min à 25°, l'eau et l'acide étant ensuite éliminés par distillation azeotropique avec du benzène, puis avec du toluène. Le résidu, après 24 h de séchage sous vide, devient sirupeux et il est traité par le mélange anhydride acétique-acétate de sodium. La purification du dérivé acétylé par chromatographie sur gel de silice conduit à 0,200 g de **17** pur p f 79–83° (litt <sup>21 22</sup> 83–84°),  $[\alpha]_D^{25} -15^\circ$  (c 0,9 chloroforme) (litt <sup>21 22</sup> -9,9°),  $R_F$  0,25 (73 v/v, benzène-éther)

*Anal Calc* pour C<sub>26</sub>H<sub>36</sub>O<sub>17</sub> (620) C, 50,32, H, 5,81 Trouvé C, 51,00, H, 5,94

*Bromure de 2,4-di-O-acétyl-3-O-(2,3,4-tri-O-acétyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl)- $\gamma$ -L-rhamnopyranosyle (10)* — Le disaccharide **8** (1 g) est dissous dans 100 ml de chloroforme anhydre contenant une goutte d'anhydride acétique. La solution est refroidie à -2° et on ajoute alors une solution saturée d'acide bromhydrique dans l'acide acétique (25 ml), goutte à goutte, pendant 1 h. Après 3 h d'agitation à -2°, on lave jusqu'à neutralité avec de l'hydrogencarbonate de sodium puis à l'eau, après séchage et évaporation du chloroforme le résidu est repris par le même solvant et décolore par filtration sur une colonne de charbon actif après concentration *in vacuo*, on obtient 1 g de dérivé brome, peu stable  $R_F$  0,7(A)

*O-(2,3,4-Tri-O-acétyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 3)-O-(2,4-di-O-acétyl- $\gamma$ -L-rhamnopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 6)-1,2,3,4-tetra-O-acétyl- $\alpha$ -D-galactopyranose (19)* — La condensation est effectuée dans l'acétonitrile en présence de cyanure mercurique comme pour **9**. A partir de 0,400 g (1,54 mmol) de 1,2,3,4-di-O-isopropylidène- $\alpha$ -D-galactopyranose et 1 g (1,71 mmol) de dérivé bromé **10**, on obtient 0,600 g de **22** à côté de 2,4-di-O-acétyl-3-O-(2,3,4-tri-O-acétyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl)-L-rhamnopyranose (**11**) ( $R_F$  0,30, A) et de 1,4-di-O-acétyl-3-O-(2,3,4-tri-O-acétyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl)- $\beta$ -L-rhamnopyranose (**12**) ( $R_F$  0,20, A). La deacétalation et l'acétylation successives du trisaccharide conduisent à **19** (0,500 g), p f 152°,  $R_F$  0,4(A)

*Anal Calc* pour C<sub>36</sub>H<sub>50</sub>O<sub>23</sub> (850) C, 50,82, H 5,88 Trouvé C, 50,60, H, 6,00

La totalité de **19** est traitée par le méthylate de sodium 0,2N dans les mêmes conditions que le dérivé **7**, après lyophilisation, on isole **18** sous forme d'une mousse blanche cristallisant par ensemencement avec le produit naturel (0,220 g), p f 215°,  $[\alpha]_D^{25} -43^\circ$  (c 0,4, eau)

*Anal Calc* pour  $C_{18}H_{32}O_{14} \cdot H_2O$  (490) C, 44,07, H, 6,98. Trouvé. C, 44,10, H, 6,90

*Méthyl-O-(2,3,4-tri-O-acétyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 3)-O-(2,4-di-O-acétyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 6)-2,3,4-tri-O-acétyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (20)* — On met en suspension dans 10 ml d'acetonitrile 0,350 g (1,78 mmol) de méthyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside avec 1 g de cyanure mercurique, puis on ajoute 1 g de dérivé bromé **10**. Après le traitement habituel, on obtient 1 g de produit sirupeux qui est directement acétylé par 4 ml d'anhydride acétique dans 10 ml de pyridine, conduisant à 0,950 g de produit brut purifié par chromatographie sur 300 g de gel de silice, le trisaccharide est élué avec 3/2 (v/v) benzène-éther (0,600 g, 0,73 mmol),  $R_F$  0,25(A),  $r_m n$  3,47 ( $OCH_3$ ), 4,75 ( $J_{1-2}$  1,7 Hz, H-1'), 4,80 ( $J_{1-2}$  1,8 Hz, H-1 $\alpha$ ) et 4,99 ( $J_{1-2}$  1 Hz, H-1'')

*Anal Calc* pour  $C_{36}H_{50}O_{23}$  (850) C, 50,82, H, 5,88 Trouvé C, 51,1, H, 6,06  
*O-(2,3,4-Tri-O-acétyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 3)-O-(2,4-di-O-acétyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 6)-1,2,3,4-tétra-O-acétyl- $\alpha$ -D-glucopyranose (21)* — Ce composé a été obtenu selon le même procédé que **8** et purifié par chromatographie sur gel de silice (3/2, v/v, benzène-éther),  $R_F$  0,35(A). On a isolé 0,650 g de dérivé peracétylé à partir de 0,350 g de méthyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside et 1 g de dérivé bromé du disaccharide,  $r_m n$  1,18 ( $CH_3$ ), 1,22 ( $CH_3$ ), 3,7 (H-5''), 3,9 ( $J_{4,5}$  10 Hz et  $J_{5,6}$  6 Hz, H-5'), 4,75 ( $J_{1-2}$  1,5 Hz, H-1'), 4,99 ( $J_{1-2}$  2 Hz, H-1''), 5,75 (H-1 $\beta$ ) et 6,36 (H-1 $\alpha$ )

## RÉFÉRENCES

- 1 B LINDBERG, J LONNGREN, J L THOMPSON ET W NIMMICH, *Carbohydr Res*, 25 (1972) 49-57
- 2 Y M CHOY ET G G S DUTTON, *Can J Chem*, 52 (1974) 684-687
- 3 G M BEBAULT G G S DUTTON ET C K WARFIELD *Carbohydr Res* 34 (1974) 174-179
- 4 D A L DAVIES, *Adv Carbohydr Chem*, 15 (1960) 271-340
- 5 O LUDERITZ, *Angew Chem Int Ed Engl*, 9 (1970) 649-663
- 6 O LUDERITZ O WESTPHAL A M STAUB ET H NIKAIKO, dans G WEINBAUM, S KADIS ET S J AIL *Microbial Toxins* Vol 4 Academic Press New York, 1971, pp 145-233
- 7 N K KOCHETKOV, B A DMITRIEV, N N MAYSHEVA, A YAHERNYAK, S M KLIMOV, N E BAYROVA ET V I TORGON *Carbohydr Res* 45 (1975) 283-290
- 8 G M BEBAULT, J M BERRY ET G G S DUTTON, *Can J Chem*, 52 (1974) 678-683
- 9 F PRATVIEL-SOSA R WYLDE R BOURBOUZE ET F PERCHERON *Carbohydr Res* 28 (1973) 109-113
- 10 J S BRIMACOMBE ET L C N TUCKER *Carbohydr Res*, 5 (1967) 36-44
- 11 J M WILLIAMS ET A C RICHARDSON, *Tetrahedron*, 23 (1967) 1369-1378
- 12 R R KING ET C T BISHOP *Carbohydr Res*, 32 (1974) 239-249
- 13 R R KING ET C T BISHOP *Can J Chem*, 52 (1974) 3913-3919
- 14 L GOODMAN, *Adv Carbohydr Chem*, 22 (1967) 109-175
- 15 E J REIST ET S M CRUSE, *Carbohydr Res*, 10 (1969) 289-294
- 16 A M NGUYEN PHUOC DU, These de Doctorat de Specialite, Universite de Montpellier 1976
- 17 F WINTERNITZ ET R WYLDE, a paraître
- 18 G ZEMPLÉN ET A GERECS, *Ber*, 67 (1934) 2049-2051
- 19 G ZEMPLÉN ET A GERECS, *Ber*, 68 (1935) 1318-1321
- 20 P A J GORIN ET A S PERLIN, *Can J Chem*, 37 (1959) 1930-1933
- 21 G ZEMPLÉN ET A GERECS, *Ber*, 68 (1935) 2054-2059
- 22 G ZEMPLÉN ET A GERECS *Ber*, 71 (1938) 774-776
- 23 B VERMES, L FARKAS, M NOGRADI ET A KALMAN, *The Robin Problem, Conv Int Poliphenoli Univ Milan, Guargano* 1975, p 98
- 24 N D MAKSYUTINA ET V I LITVINENKO, *Dopov Akad Nauk Ukr RSR, Ser B*, 29 (1967) 443-447

- 25 F IMPERATO, *J Org Chem*, 41 (1976) 3478-3479
- 26 A DE BRUYN, E M ANTEUNIS, R DE GUSSEN ET G G S DUTTON, *Carbohydr Res*, 47 (1976) 158-163
- 27 W E DICK, J R HODGE ET G INGLET, *Carbohydr Res*, 36 (1974) 319-329
- 28 A DE BRUYN, E M ANTEUNIS ET G VERHEGEE, *Acta Ciencia Indica* 2 (1975) 83-87
- 29 A DE BRUYN, E M ANTEUNIS ET G VERHEGEE *Bull Soc Chim Belg*, 84 (1975) 721-734
- 30 R U LEMIEUX ET J D STEVENS, *Can J Chem*, 43 (1965) 2059-2070
- 31 D BASSIEUX, D GAGNAIRE ET M VIGNON, *Carbohydr Res*, 56 (1977) 19-33
- 32 P A LEVENE ET T E MUSKAT, *J Biol Chem*, 105 (1934) 431-442
- 33 A THOMPSON, M L WOLFROM ET E PACSU, *Methods Carbohydr Chem*, (1963), 216-220
- 34 R K NESS H G FLETCHER, JR ET C S HUDSON, *J Am Chem Soc*, 72 (1950) 2200-2205
- 36 O T SCHMIDT, *Methods Carbohydr Chem*, 2 (1963) 318-325