

## ÉTUDE DE LA RÉDUCTION AU BOROHYDRURE DE SODIUM DES BENZYL $\alpha$ - ET $\beta$ -D-GLUCOPYRANOSIDO-(2,3,5',6')-2'-(R)-MÉTHYL- 3'-MORPHOLINONES\*

PIERRE SINAY† ET JEAN-MARIE BEAU

*Laboratoire de Biochimie Structurale, U E R Sciences, 45-Orleans 02 (France)*

(Reçu le 27 mars 1972, accepté pour publication le 22 mai 1972)

### ABSTRACT

Reduction with aqueous sodium borohydride of benzyl  $\beta$ -D-glucopyranosido-(2,3,5',6')-2'-(R)-methyl-3'-morpholinone gave, as main compound, benzyl  $\beta$ -D-glucopyranosido-(2,3,5',6')-2'-(R)-methylmorpholine (4) and, as minor component, benzyl 2-amino-2-deoxy-3-O-[(R)-1-(hydroxymethyl)ethyl]- $\beta$ -D-glucopyranoside. An easy separation of these two products, by use of an acidic ion-exchange resin, was obtained after *N*-acetylation of the later product with acetic anhydride in an aqueous sodium hydrogen carbonate solution. The morpholine derivative was neutralized with hydrochloric acid, and then catalytically hydrogenated, giving the crystalline D-glucopyranosido-(2,3,5',6')-2'-(R)-methylmorpholine hydrochloride. This compound is a useful standard for the identification, in a glycan chain, of muramic acid units having an internal amide group.

The sodium borohydride reduction of benzyl  $\alpha$ -D-glucopyranosido-(2,3,5',6')-2'-(R)-methyl-3'-morpholinone (7) gave, as main compound, benzyl 2-amino-2-deoxy-3-O-[(R)-1-(hydroxymethyl)ethyl]- $\alpha$ -D-glucopyranoside and, as minor one, the corresponding morpholine. Selectivity of the acetylation was not observed in this case.

### SOMMAIRE

La réduction, au moyen de borohydrure de sodium en milieu aqueux, de la benzyl- $\beta$ -D-glucopyranosido-(2,3,5',6')-2'-(R)-methyl-3'-morpholinone a donné, comme composé principal, la benzyl- $\beta$ -D-glucopyranosido-(2,3,5',6')-2'-(R)-methylmorpholine (4), accompagnée d'une petite quantité de benzyl 2-amino-2-désoxy-3-O-[(R)-1-(hydroxyméthyl)éthyl]- $\beta$ -D-glucopyranoside. La *N*-acétylation sélective de ce dernier, au moyen d'anhydride acétique dans une solution aqueuse d'hydrogéné-

\*Ce travail a bénéficié de l'aide d'une subvention de la Fondation pour la Recherche Médicale Française. Une communication préliminaire partielle a été présentée [Abstr. Papers Intern. Symp. Chem. Natural Products, 7th, Riga (1970), D21].

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

carbonate de sodium, permet une séparation facile des deux composés au moyen d'une résine échangeuse d'ions, sous forme acide. Une neutralisation à l'acide chlorhydrique de la morpholine ainsi préparée, suivie d'une hydrogénation catalytique, conduit au chlorhydrate de la D-gluco-(2,3 5',6')-2'-(R)-méthylmorpholine, obtenu sous forme cristalline. Ce composé constitue un standard utile pour l'identification d'unités amide interne de l'acide muramique dans une chaîne glycanique.

La réduction au borohydrure de sodium de la benzyl- $\alpha$ -D-glucopyranosido-(2,3-5',6')-2'-(R)-méthyl-3'-morpholinone (**7**) donne, comme composé principal, le benzyl-2-amino-2-désoxy-3-O-[(R)-1-(hydroxyméthyl)éthyl]- $\alpha$ -D-glucopyranoside et, comme produit secondaire, la morpholine correspondante. La sélectivité de l'acétylation n'a pas été constatée dans ce cas.

## INTRODUCTION

Par incubation de spores autoclavées de *Bacillus subtilis* en présence de lysozyme, puis de muramyl-L-alanine amidase de *Streptomyces*, Warth<sup>1</sup> a pu isoler une quantité importante d'un tétrasaccharide. Ce composé, qui n'est plus sensible à l'action du lysozyme, fournit, par hydrolyse acide totale, de la glucosamine et de l'acide muramique. Par réduction au moyen de borohydrure de sodium, suivie d'une hydrolyse acide

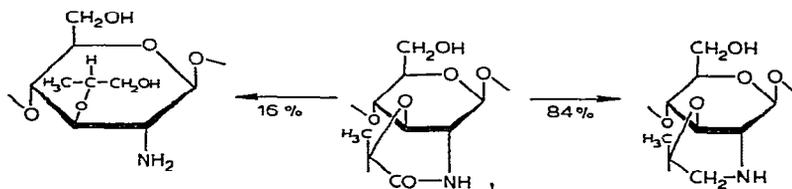


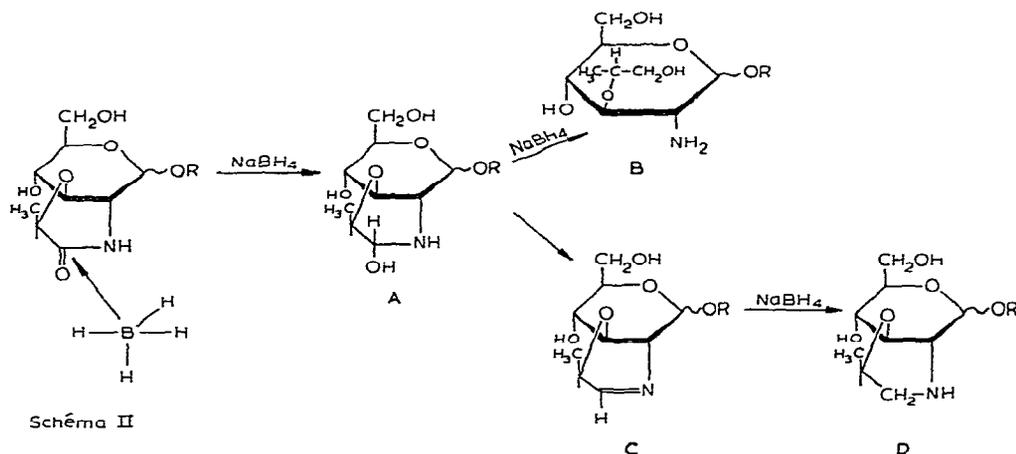
Schéma I

prolongée, aucune trace d'acide muramique n'a pu être mise en évidence. Il en résulte que l'unité acide muramique interne de ce tétrasaccharide doit être totalement transformée dans ces conditions. Warth et Strominger<sup>2</sup> ont montré qu'elle se trouvait sous la forme de son amide interne et que sa réduction s'opérait selon le Schéma I. La présence d'une unité amide interne dans une structure glycanique peut donc être mise en évidence par isolement, après hydrolyse chlorhydrique, des deux produits de réduction au borohydrure de sodium, le chlorhydrate de la D-gluco-(2,3 5',6')-2'-(R)-méthylmorpholine (**15**) et le chlorhydrate du 2-amino-2-désoxy-3-O-[(R)-1-(hydroxyméthyl)éthyl]- $\alpha$ -D-glucopyranose **13**. Dans le cas du tétrasaccharide étudié, les deux produits sont accompagnés de chlorhydrate de D-glucosamine et de muramicitol, ce dernier provenant de l'extrémité réductrice, constituée d'acide N-acétylmuramique. Afin de vérifier cette réduction et de disposer d'un échantillon synthétique de la morpholine **15**, les benzyl- $\alpha$ - et  $\beta$ -D-glycosides **1** et **7** de l'amide interne de l'acide muramique<sup>3</sup> ont été soumis à l'action du borohydrure de sodium en milieu aqueux.

## RÉSULTATS ET DISCUSSION

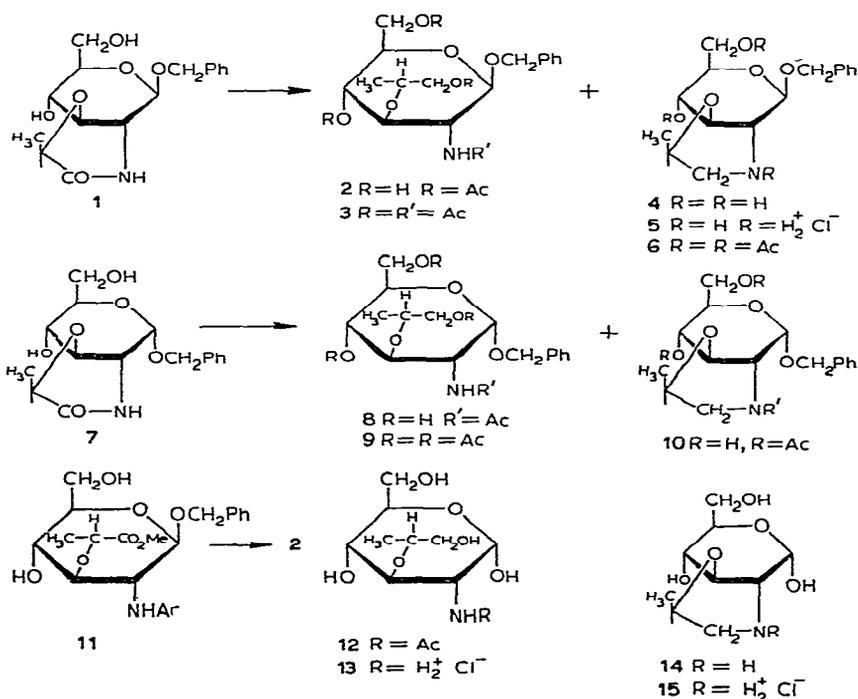
Les amides et les lactames ne sont pas habituellement réduites par le borohydrure de sodium en solution aqueuse<sup>4</sup>; cependant, de telles réductions ont été décrites dans le cas de la dihydrouridine<sup>5</sup>, de la dihydrothymine<sup>6</sup> et de la dihydrothymidine<sup>7</sup>, donnant lieu principalement à un amino-alcool acyclique. La réduction d'une lactame en amino-alcool acyclique et en amine cyclique se fait habituellement au moyen de l'hydrure de lithium et d'aluminium, l'encombrement stérique de l'atome d'azote favorisant d'ailleurs la formation de l' amino-alcool<sup>4</sup>

Par réduction de **1** au moyen d'un excès de borohydrure de sodium en solution aqueuse, à température ambiante, on observe la formation d'un produit principal, la morpholine **4** (74 %) et d'un produit secondaire, l' amino-alcool acyclique correspondant (7,3 %) La réaction décrite par Warth et Strominger<sup>2</sup> sur des oligosaccharides naturels se produit donc également sur le composé modèle **1**. Elle commence vraisemblablement par l'addition d'un ion hydrure sur le groupement carbonyle amidique,



selon le Schéma II. On peut raisonnablement admettre que la carbinolamine intermédiaire A est ensuite soit hydrogénéolysée, conduisant directement à l' amino-alcool acyclique B, soit transformée en base de Schiff C, immédiatement réduite en amine secondaire D. Dans le cas de bases pyrimidiques du type uracile ou thymine, Ballé *et al*<sup>6</sup> admettent que la carbinolamine s'ouvre en aldéhyde, laquelle peut donner lieu à une épimérisation de l'atome de carbone asymétrique voisin, par l'intermédiaire d'un énol. Une telle épimérisation de l'atome C-2' ne se produit pas dans le cas de A. En effet, le composé **2** a été préparé<sup>8</sup> de façon indépendante par une réduction du benzyl-2-acétamido-2-désoxy-3-O-[(R)-1-(méthoxycarbonyl)éthyl]-β-D-glucopyranoside (**11**), au moyen de borohydrure de lithium. Cette réduction, qui n'affecte vraisemblablement pas la configuration (R) de la chaîne latérale d'ester lactique, livre un composé identique en tous points à **2** (même point de fusion de mélange, même pouvoir rotatoire, spectres IR superposables). La N-acétylation de **4**, au moyen d'anhydride

acétique dans une solution aqueuse d'hydrogénocarbonate de sodium, n'a pas lieu, confirmant ainsi l'observation de Warth *et al*<sup>2</sup> sur le produit naturel. Le chlorhydrate de la D-gluco-(2,3,5',6')-2'-(R)-méthylmorpholine (15), a été obtenu, sous forme cristalline, par hydrolyse chlorhydrique du benzyl-β-D-glycoside 4, ou par hydrogénation catalytique du chlorhydrate cristallin 5. La réduction, dans les mêmes conditions que 1, du benzyl-α-D-glycoside 7, a également livré les deux composés attendus, mais dans des proportions très différentes. Le produit principal est cette fois l'amino-alcool acyclique. De plus, l'amine secondaire s'acétyle facilement au moyen d'anhydride acétique dans une solution aqueuse d'hydrogénocarbonate de sodium. Cette double différence de comportement, vis-à-vis de la réduction et de l'acétylation, suggère l'existence dans le peptidoglycane des spores bactériennes d'une liaison β-D-glycosidique entre les résidus d'amide interne et de N-acétyl-D-glucosamine. Il serait intéressant d'effectuer la réaction d'acétylation en milieu aqueux sur divers α- et β-glycosides ayant des aglycones d'encombrements variés, afin de se rendre compte du rôle exact des facteurs stériques dans cette remarquable différence de comportement et d'envisager l'extension possible à des systèmes décahydroquinoliniques.



Par hydrogénation catalytique 8 a livré le dérivé 12 qui n'a pu être cristallisé, mais qui est s'est révélé homogène en chromatographie sur papier. Son hydrolyse chlorhydrique livre le chlorhydrate du 2-amino-2-désoxy-3-O-[(R)-1-(hydroxyméthyl)-éthyl]-α-D-glucopyranose (13) obtenu sous forme cristalline et de même pouvoir rotatoire que le composé décrit par Jeanloz et Walker<sup>9</sup>.

Les deux composés **13** et **15**, standards pour la détection d'une unité amide interne dans un glycanne bactérien, ont un comportement chromatographique sur papier qui permet de les mettre aisément en évidence, en présence de chlorhydrate de glucosamine et de muramicitol (Tableau I)

TABLEAU I

MIGRATIONS DE DIFFÉRENTS DÉRIVÉS DE L'ACIDE MURAMIQUE EN CHROMATOGRAPHIE SUR PAPIER<sup>a</sup>

Composés	R <sub>chlorhydrate de glucosamine</sub>			
	Solvant		Détection	
	A <sup>b</sup>	B <sup>c</sup>	Nitrate d'argent <sup>1,3</sup>	Ninhydrine
Acide Muramique	2,20	1,00	+	+
Muramicitol	1,91	0,43	légèrement +	+
<b>15</b>	2,60	5,60	+	-
<b>13</b>	2,68	3,95	+	+
<b>12</b>	3,24	7,15	+	-

<sup>a</sup>Papier Whatman N° 1, irrigation descendante <sup>b</sup>Alcool butylique-acide acétique-eau (5 2 2, v/v)

<sup>c</sup>Acétate d'éthyle-pyridine-eau (44 14 19, v/v)

Dans la structure proposée pour le peptidoglycane des parois bactériennes, certains résidus d'acide *N*-acétylmuramique ont un groupement carboxylique libre. Afin de déterminer le nombre de ces groupements, Salton<sup>11</sup> a proposé de réduire, après estérification, le groupe carboxylique au moyen d'hydrure de lithium et d'aluminium et d'isoler l'acide muramique à chaîne réduite **13**. Dans ces conditions, il est vraisemblable qu'une unité d'amide interne donne, comme dans le cas de la réduction au borohydrure de sodium, une certaine quantité d'acide muramique à chaîne réduite et perturbe ainsi le dosage.

La confirmation de la présence d'une unité d'amide interne dans un tétrasaccharide isolé par Warth et Strominger des spores bactériennes<sup>2</sup>, ainsi que dans un tétrasaccharide isolé par Hoshino *et al*<sup>12</sup> des parois de *Micrococcus lysodeikticus* est maintenant possible, par la comparaison des produits de réduction au borohydrure de sodium avec l'échantillon synthétique de la morpholine **15**. Ce travail sera décrit dans une future publication.

#### PARTIE EXPÉRIMENTALE

*Conditions générales* — Les points de fusion sont mesurés dans un tube capillaire au moyen d'un appareil Büchi et ne sont pas corrigés. Les pouvoirs rotatoires sont déterminés au moyen d'un polarimètre Perkin-Elmer (Modèle 141). Les spectres IR sont enregistrés sur un spectrophotomètre Perkin-Elmer (Modèle 457). L'homogénéité des composés préparés est contrôlée 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 con-

centré et chauffage au moyen d'un épiradiateur 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 Sciences d'Orléans) et par le Service Central de Microanalyse du C N R S

*Benzyl-2-acétamido-2-désoxy-3-O-[(R)-1-(hydroxyméthyl)éthyl]-β-D-glucopyranoside (2)* — A Par réduction de **1** La benzyl-β-D-glucopyranosido-(2,3 5',6')-2'-(R)-méthyl-3'-morpholinone<sup>3</sup> (**1**, 300 mg) est mise en suspension dans de l'eau (15 ml) L'ensemble est soumis à une agitation magnétique et du borohydrure de sodium (365 mg) est ajouté par portions de 50 mg, durant 75 h et à température ambiante Après 90 h, une c c m (chloroforme-méthanol, 85 15, v/v) montre la présence de deux produits principaux et de traces de produit de départ

Le pH de la solution est ajusté à 6 au moyen d'acide acétique 2M, puis on ajoute de l'hydrogénocarbonate de sodium (2,85 g) et de l'anhydride acétique (environ 1 ml) et laisse pendant 48 h à température ambiante et sous agitation magnétique On ajoute alors un excès de résine Dowex 50 W-X 4 (H<sup>+</sup>, 60 ml) et maintient l'agitation jusqu'à l'arrêt total du dégagement de gaz carbonique La résine est alors essorée et lavée soigneusement à l'eau Le filtrat et les eaux de lavage sont évaporés à sec Le résidu, contenant encore des traces de produit de départ, est chromatographié sur une colonne de gel de silice (10 g) dans le mélange chloroforme-méthanol (4 1, v/v), donnant **2** pur (25 mg, 7,3%), cristallisé sous forme d'aiguilles dans un mélange méthanol-acétate d'éthyle, p f 212,5–213°;  $[\alpha]_D^{20} - 59,2^\circ$  (c 0,87, méthanol), spectre i r .  $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$  3 450 (OH), 3 280 (NH), 1 625 (Amide I), 1 550 (Amide II) et 730 cm<sup>-1</sup> (Ph)

*Anal* Calc pour C<sub>18</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>7</sub> · C, 58,52, H, 7,37, N, 3,79 Trouvé . C, 58,52, H, 7,34; N, 3,71

*B. Par réduction de 11* — À une solution de benzyl-2-acétamido-2-désoxy-3-O-[(R)-1-(méthoxycarbonyl)éthyl]-β-D-glucopyranoside **11** (100 mg) dans le tétrahydrofurane sec (2 ml) est ajouté de l'hydrure de lithium et de bore (21 mg) Après 12 h d'agitation magnétique à température ordinaire, l'excès d'hydrure est décomposé par addition, à froid, d'acide acétique à 5% (10 ml) La solution est passée sur une colonne contenant un excès de résine Dowex 50 W-X4 (H<sup>+</sup>, 50–100 mesh), l'éluat et les eaux de lavage étant ensuite évaporés à sec Le résidu est cristallisé sous forme d'aiguilles dans un mélange méthanol-acétate d'éthyle (70 mg, 75%), p f 212,5–213°,  $[\alpha]_D^{20} - 60,6^\circ$  (c 1,70, méthanol) identique au produit précédent (même point de fusion de mélange, spectres i r superposables)

*Benzyl-2-acétamido-3-O-[(R)-1-(acétoxyméthyl)éthyl]-4,6-di-O-acétyl-2-désoxy-β-D-glucopyranoside (3)* — L'acetylation de **2** (20 mg) est effectuée dans la pyridine anhydre (1,5 ml) et l'anhydride acétique (0,6 ml) pendant 20 h à température ambiante La solution est versée dans un mélange eau-glace, le précipité obtenu étant essoré Le filtrat est extrait au chloroforme, les extraits étant lavés à l'eau, séchés sur sulfate de sodium et évaporés Le résidu, joint au précipité précédent, donne **3**, cristallisé sous forme de fines aiguilles dans un mélange acétate d'éthyle-éther (18 mg, 68%), p f 180–181°,  $[\alpha]_D^{20} - 25^\circ$  (c 0,72, chloroforme); spectre i r .  $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$  3 300 (NH), 1 735 (OAc), 1 650 (Amide I), 1 520 (Amide II), 720 et 700 cm<sup>-1</sup> (Ph)

*Anal Calc* pour  $C_{24}H_{33}NO_{10}$  · C, 58,17; H, 6,71, N, 2,83. Trouvé : C, 57,93; H, 6,70, N, 2,71.

*Chlorhydrate du 2-amino-2-désoxy-3-O-[(R)-1-(hydroxyméthyl)éthyl]- $\alpha$ -D-glucopyranose 13* — Le composé **2** (30 mg) est chauffé pendant une nuit à 105–110° dans de l'acide chlorhydrique 3M (1,5 ml) L'évaporation à sec, accompagnée de plusieurs additions d'eau suivies d'évaporations, donne un résidu (24 mg, 100 %) qui est cristallisé dans le mélange méthanol-acétone, donnant **13** (5,2 mg, 24 %), qui commence à jaunir à 165° et noircit progressivement,  $[\alpha]_D^{20} + 70,2^\circ$  (5 min)  $\rightarrow + 59^\circ$  (2 h, *c* 0,23, eau), lit.<sup>9</sup>  $[\alpha]_D^{20} + 68^\circ$  (4 min) Le sens de la mutarotation suggère que ce composé cristallise sous la forme  $\alpha$

*Benzyl- $\beta$ -D-glucopyranosido-(2,3 5',6')-2-(R)-méthylmorpholine (4) et chlorhydrate (5)* — La résine ayant servi à la préparation de **2** est introduite dans une colonne et lavée au moyen de pyridine 2M dans l'eau (150 ml), puis 3M dans l'éthanol à 60 % (150 ml) Les deux éluats sont réunis et évaporés à sec, donnant un résidu sirupeux (233 mg), très légèrement contaminé par **2** Une chromatographie sur une colonne de gel de silice (6 g) dans le mélange chloroforme-méthanol (2:3, v/v) donne le composé **4** pur (211 mg, 74 %) sous forme d'un verre incolore qui n'a pu être cristallisé; il est caractérisé sous forme de son chlorhydrate **5**

Une solution de **4** (161 mg) dans l'éthanol aqueux est acidifiée jusqu'à un pH de 4 au moyen d'acide chlorhydrique 0,1M La solution est évaporée, de l'eau étant ajoutée et évaporée à plusieurs reprises, afin d'éliminer les dernières traces d'acide Le résidu (165 mg) est cristallisé dans de l'éthanol aqueux donnant 122 mg (65,6 %) de **5**, charbonnant à partir de 230°,  $[\alpha]_D^{20} - 92,3^\circ$  (*c* 0,39, eau-éthanol, 4 l, v/v); spectre i r  $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$  3 550, 3 400 (OH), plusieurs pics entre 2 800 et 2 000 ( $\text{NH}_2^+ \text{Cl}^-$ ), 750  $\text{cm}^{-1}$  (Ph)

*Anal Calc* pour  $C_{16}H_{24}ClNO_5$  · C, 55,57, H, 7,00; Cl, 10,24, N, 4,05, O, 23,13 Trouvé · C, 55,37, H, 6,92, Cl, 10,40, N, 3,89, O, 23,39

*Benzyl-4,6-di-O-acétyl-4'-N-acétyl- $\beta$ -D-glucopyranosido-(2,3 5',6')-2'-(R)-méthylmorpholine (6)* — Le composé **4** (29 mg) est acétylé pendant 3 jours, à température ambiante, au moyen d'anhydride acétique (quelques gouttes) dans la pyridine anhydre (15 ml) Le traitement habituel conduit à un résidu (33 mg, 81 %) qui, par cristallisation dans le mélange acétate d'éthyle-éther-hexane, donne **6** (22 mg, 55 %), sous forme d'aiguilles, p f 117–117,5°;  $[\alpha]_D^{20} + 18^\circ$  (*c* 0,56, chloroforme), spectre i r  $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$  3 225 (NH), 1 735 (OAc), 1 650 (Amide I), 760 et 700  $\text{cm}^{-1}$  (Ph)

*Anal Calc* pour  $C_{22}H_{29}NO_8$  · C, 60,68; H, 6,71; N, 3,22 Trouvé · C, 60,63; H, 6,72, N, 3,02

*Chlorhydrate de la D-glucopyranosido-(2,3 5',6')-2'-(R)-méthylmorpholine (15).* — A. Par hydrogénation catalytique de **4** Le composé **4** (100 mg) est hydrogéné dans l'éthanol abs (20 ml), en présence de palladium-carbone (50 mg) Après deux jours, le catalyseur est essoré et le filtrat, évaporé à sec, donne **14** (69 mg, 97 %) sous la forme d'un verre incolore qui n'a pu être cristallisé Il est dissous dans du méthanol et acidifié au moyen de quelques gouttes d'acide chlorhydrique 0,1M La solution est évaporée, les dernières traces d'acide étant éliminées par de nombreuses additions et

distillations d'eau Le résidu est cristallisé dans le mélange méthanol-acétate d'éthyle-éther, donnant 25 mg de **15** (35 %) qui charbonne à partir de 167°

*B Par hydrolyse chlorhydrique de 4* Le composé **4** (211 mg) est hydrolysé dans l'acide chlorhydrique 6M (15 ml) à 105–110°, pendant 15 h La solution est évaporée, les traces d'acide étant éliminées par plusieurs additions et évaporations d'eau Le résidu est cristallisé dans le mélange éthanol-acétate d'éthyle-éther, donnant 91 mg de **15** (62 %), qui charbonne à partir de 167°;  $[\alpha]_D^{20} + 33^\circ$  (10 min)  $\rightarrow + 21^\circ$  (4 h, c 0,76, eau), spectre i r  $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$  3 410 (OH), 3.260 (NH), 2 675, 2 530 (NH<sub>2</sub><sup>+</sup> Cl<sup>-</sup>), 1 605 cm<sup>-1</sup> (NH)

*Anal Calc* pour C<sub>9</sub>H<sub>18</sub>ClNO<sub>5</sub> : C, 42,28; H, 7,09; N, 5,48, O, 31,28. Trouvé C, 42,00; H, 7,03; N, 5,66, O, 31,43

*Benzyl-4'-N-acétyl- $\alpha$ -D-glucopyranosido-(2,3 5',6')-2'-(R)-méthylmorpholine(10)* — La benzyl- $\alpha$ -D-glucopyranosido-(2,3 5',6')-2'-(R)-méthyl-3'-morpholinone<sup>3</sup> (7,506 mg) est mise en suspension dans de l'eau (25 ml) On ajoute du borohydrure de sodium (216 mg) et agite magnétiquement Après 44 h à température ambiante, une c c m montre la disparition presque totale du produit de départ et la présence de deux composés

Le pH de la solution est alors ajusté à 6 au moyen d'acide acétique 2M, puis de l'hydrogencarbonate de sodium (3 g) et de l'anhydride acétique (1,25 ml) sont successivement ajoutés L'ensemble est laissé durant 48 h à température ambiante et sous agitation magnétique Un excès de résine Dowex 50 W-X 4 (H<sup>+</sup>, 21 ml) est ajouté; après cessation totale du dégagement gazeux, elle est essorée et soigneusement lavée à l'eau La solution obtenue est évaporée à sec, le résidu étant débarrassé de l'acide borique par des additions de méthanol suivies d'évaporations Le résidu (284 mg) est chromatographié sur une colonne de gel de silice (28 g) dans le mélange chloroforme-méthanol (97 3, v/v) Le premier composé élué est **10**, cristallisé dans l'acétate d'éthyle (58,2 mg, 10,6 %) sous forme d'aiguilles, p f 181–182°,  $[\alpha]_D^{20} + 231^\circ$  (c 0,91, méthanol); spectre i r  $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$  3 580, 3 550 (OH), 3 280 (NH), 1 640 (N-Ac), 745, 700 cm<sup>-1</sup> (Ph)

*Anal Calc* pour C<sub>18</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>6</sub> · C, 61,52; H, 7,17; N, 3,99 Trouvé C, 61,51, H, 7,21, N, 3,77

*Benzyl-2-acétamido-2-désoxy-3-O-[(R)-1-(hydroxyméthyl)éthyl]- $\alpha$ -D-glucopyranoside (8)* — Le deuxième produit élué de la colonne de gel de silice décrite dans le paragraphe précédent est **8**, cristallisé dans l'acétate d'éthyle (121 mg, 21 %), p f 170,5–171°;  $[\alpha]_D^{20} + 152^\circ$  (c 1,10, méthanol); spectre i r  $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$  3 350 (OH), 3,290 (NH), 1 640 (Amide I), 1 550 (Amide II), 750, 690 cm<sup>-1</sup> (Ph)

*Anal Calc* pour C<sub>18</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>6</sub> C, 61,52, H, 7,17, N, 3,99 Trouvé C, 61,51, H, 7,21, N, 3,77

*2-Acétamido-2-désoxy-3-O-[(R)-1-(hydroxyméthyl)éthyl]-D-glucopyranose(12).* — Le composé **8** (72 mg) est hydrogéné catalytiquement dans l'éthanol absolu (10 ml) en présence de palladium-carbone à 10% (30 mg), pendant une semaine Après essorage du catalyseur et évaporation, le résidu est chromatographié sur une colonne de gel de silice (4 g) dans le mélange chloroforme-méthanol (3 1, v/v), donnant le composé **12** (49,7 mg, 91 %) sous forme d'un verre incolore, homogène

en c c m Les essais de cristallisation furent négatifs Une hydrolyse chlorhydrique de **12**, dans des conditions analogues à celles utilisées pour **2**, livre le chlorhydrate **13**, identique au produit préparé à partir de **2**

*Benzyl-2-acétamido-3-O-[(R)-1-(acétoxyméthyl)éthyl]-4,6-di-O-acétyl-2-désoxy- $\alpha$ -D-glucopyranoside (9)* — Le composé **8** (14 mg) est acétylé pendant 22 h dans un mélange pyridine anhydre (1,5 ml) et anhydride acétique (0,4 ml), à température ambiante La solution est versée dans un mélange eau-glace, l'ensemble étant extrait au chloroforme La phase organique est lavée à l'eau, séchée sur sulfate de sodium et évaporée, donnant **9** (20,6 mg, 100%), cristallisé sous forme de grandes aiguilles (17,8 mg, 96%) dans un mélange acétate d'éthyle-éther, p.f. 146,5–147°,  $[\alpha]_D^{20} + 79,5^\circ$  (c 0,71, chloroforme), spectre i r  $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$  3 300 (NH), 1 735 (OAc), 1.650 (Amide I), 1 540 (Amide II), 750 et 700  $\text{cm}^{-1}$  (Ph)

*Anal Calc pour C<sub>24</sub>H<sub>33</sub>NO<sub>10</sub>* C, 58,17, H, 6,71; N, 2,83. Trouvé C, 58,18; H, 6,71, N, 2,63

#### RÉFÉRENCES

- 1 A D WARTH, *Ph D Thesis*, University of Wisconsin, (1969) 15
- 2 A D WARTH ET J L STROMINGER, *Proc Nat Acad Sci U S*, 64 (1969) 528
- 3 P SINAÏ, J M PETIT, C MERSER ET R W JEANLOZ, *Carbohydr Res*, 21 (1972) 339
- 4 N G GAYLORD, *Reduction with Complex Metal Hydrides*, Interscience, New-York, 1956
- 5 P CERUTTI, Y KONDO, W LANDIS ET B WITKOP, *J Amer Chem Soc*, 90 (1968) 771
- 6 G BALLE, P CERUTTI ET B WITKOP, *J Amer Chem Soc*, 88 (1966) 3 946
- 7 Y KONDO ET B WITKOP, *J Amer Chem Soc*, 90 (1968) 764
- 8 R W JEANLOZ, E WALKER ET P SINAÏ, *Carbohydr Res*, 6 (1968) 184
- 9 R W JEANLOZ ET E WALKER, *Carbohydr Res*, 4 (1967) 504
- 10 M R J SALTON ET J M GHUYSEN, *Biochim Biophys Acta*, 45 (1960) 355
- 11 M R J SALTON, *The Bacterial Cell Wall*, Elsevier, Amsterdam, 1964
- 12 O HOSHINO ET R W JEANLOZ, *Abstr Papers Intern Congr Biochem*, (1967) D-54, O HOSHINO, U ZEHAVI, P SINAÏ ET R W JEANLOZ, *J Biol Chem*, 247 (1972) 381
- 13 W E TREVELYAN, D P PROCTER ET J S HARRISON, *Nature*, 166 (1950) 444