

## NOUVEAUX BYSSOMÉRULIOLS DE *BYSSOMERULIUS* *CORIUM*(FR.) PARM.

M.-C. LUNEL, J. FAVRE-BONVIN, J. BERNILLON et N. ARPIN

Département de Biologie Végétale, Service de Mycochimie et Mycophysiologie (Laboratoire associé au CNRS No. 44), Université Claude Bernard, 43 Bd du 11 Novembre 1918, 69622 Villeurbanne Cedex, France

(Received in France 18 September 1981)

**Abstract**—Fruit-bodies and mycelia of *Byssomerulius corium* (Fr.)Parm. contain a large quantity (ca. 18 and 5–12% respectively of dry weight) of byssomeruliols, new phloracetophenone derivatives. Structures were elucidated by spectroscopic methods with emphasis on mass spectrometry. These compounds appear to be restricted so far to this species.

Au cours de nos recherches relatives aux substances photoabsorbantes des champignons, nous avons été conduits à élucider les structures d'une série de molécules abondamment synthétisées par *Byssomerulius corium*(Fr.)Parm., Aphyllophorale lignicole, caractérisées par leur maximum d'absorption à 286 nm et présentant une légère activité antifongique; il s'agit de dérivés à longue chaîne aliphatique mono et dihydroxylée de la phloracétophénone que nous avons nommés byssoméruliols.<sup>1,2</sup> Les règles de fragmentation établies précédemment lors de la détermination structurale du byssoméruliol A 1 nous ont permis d'assurer les structures de sept autres byssoméruliols (Fig. 1).

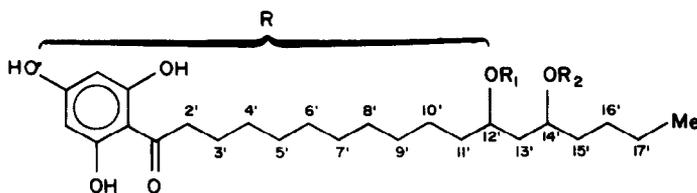
Ces substances, étudiées tout d'abord à partir d'extraits alcooliques des carpophores récoltés *in natura*, se retrouvent également, en teneurs absolue et relative sensiblement différentes, dans les extraits mycéliens de cette même espèce.

### RESULTATS ET DISCUSSION

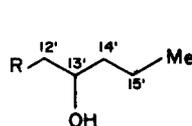
La forte teneur absolue en byssoméruliols par rapport au poids sec que présente *B. corium* constitue un fait remarquable: cette teneur est sensiblement constante pour les carpophores (de 17 à 19% selon les échantillons), moins élevée et plus variable pour les mycéliums (de 5 à 12% selon les conditions de culture).

Les teneurs relatives en chacun des 8 byssoméruliols du carpophore et du mycélium, déterminées par CLHP analytique à partir d'extraits alcooliques, sont consignées dans le Tableau I. On observe l'aptitude du mycélium à fabriquer proportionnellement davantage de byssoméruliols monohydroxylés (3, 4 et 5), de même que des composés dits "P 280" encore non identifiés, mais moins de dérivés glycosylés (6, 7 et 8).

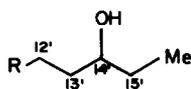
Après extraction exhaustive à froid, dégraissage par l'éther de pétrole, les divers byssoméruliols contenus dans l'extrait brut ont été séparés par CLHP préparative



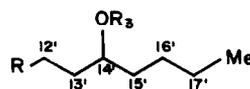
- 1: Byssoméruliol A ( $C_{24}H_{40}O_6$ )  $R_1 = R_2 = H$   
 2: Byssoméruliol B ( $C_{24}H_{40}O_6$ )  $R_1 = R_2 = H$  } Stéréoisomères  
 7: Byssoméruliol G ( $C_{30}H_{50}O_{11}$ )  $R_1 = -Mannosyl$ ;  $R_2 = H$   
 8: Byssoméruliol H ( $C_{30}H_{50}O_{11}$ )  $R_1 = H$ ;  $R_2 = -Mannosyl$



3: Byssoméruliol C  
 ( $C_{22}H_{36}O_5$ )



4: Byssoméruliol D  
 ( $C_{22}H_{36}O_5$ )



5: Byssoméruliol E  
 ( $C_{24}H_{40}O_5$ )  $R_3 = H$

6: Byssoméruliol F  
 ( $C_{30}H_{50}O_{10}$ )  $R_3 = -Mannosyl$

Fig. 1.

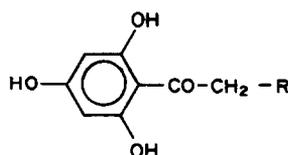
Tableau 1. Teneurs relatives en byssoméruliols du mycélium et du carpophore de *B. corium*(Fr.)Parm.

Nature des Byssoméruliols	% dans carpophores	% dans mycéliums
A(2)	37	11
B(2)	6	--
C+D(3+4)	29	39
E(5)	7	10
F(6)	2	1
G+H(7+8)	14	1
P 280	5	38

avec recyclage; grâce à cette technique il a été possible d'obtenir isolément les byssoméruliols A(1) et B(2) non séparables par ailleurs (Tableau II). Pour les byssoméruliols C et D (3 et 4) il a été nécessaire de pratiquer un couplage CPG/SM afin d'assurer leur identification structurale. Le Tableau 2 récapitule l'ensemble des données chromatographiques obtenues.

Les spectres UV des 7 nouveaux byssoméruliols sont parfaitement superposables à celui du byssoméruliol A(1); ceci indique un même chromophore pour tous les composés de la série, fait confirmé par l'analyse des spectres de masse où l'on retrouve les ions à  $m/z$  153, 168 et 181 pour les produits naturels, à  $m/z$  369, 384 et 397 pour les dérivés TMSi, à  $m/z$  195, 210 et 223 pour les dérivés perméthylés des byssoméruliols A, B et E (1, 2 et 5): tous les byssoméruliols isolés possèdent la structure de base

suivante:



et se différencient donc au niveau de leur chaîne latérale R.

L'absence de  $\text{CH}_2\text{OH}$  en RMN  $^1\text{H}$ , confirmée chaque fois que possible par RMN  $^{13}\text{C}$ , et la multiplicité du seul  $\text{CH}_3$  (triplet ou massif dans le cas du mélange des byssoméruliols C et D) démontrent l'existence générale d'une chaîne linéaire non ramifiée (Tableau 3).

La principale difficulté a donc consisté à situer le(s) OH libre(s) ou glycosylé(s) sur cette chaîne latérale; l'étude précise des fragmentations obtenues en SM des dérivés TMSi et selon les cas, des produits naturels et (ou) de leurs dérivés perméthylés a permis de résoudre les problèmes posés en appliquant les règles de fragmentation établies pour 1 et déjà connues par ailleurs<sup>1,3</sup> (Fig. 2 et Tableau 4).

#### Byssoméruliol B(2)

Les caractéristiques physico-chimiques du byssoméruliol B sont pratiquement identiques, pour le produit naturel comme pour ses dérivés (PM, TMSi, acétonides) à celles obtenues pour le byssoméruliol A, à l'exception toutefois du temps de rétention en CLHP

Tableau 2. Caractéristiques chromatographiques des Byssomeruliols

byssoméruliols	A	B	C	D	E	F	G + H
	1	2	3	4	5	6	7 8
Ordre d'élu-tion sur colonne de polyamide acétylé(1)	3	3	2	2	1	4	4
CLHP des byssoméruliols TR(mn) (2)	13,08	10,92	16,68	16,68	28,57	20,20	10,08
CCM des byssoméruliols; Rf(3) (fluorescence bleue)	0,40	0,41	0,46	0,46	0,60	0,1 traînée	0,1 traînée
CPG des byssoméruliols perméthylés TR(mn)(4)	10,40	10,40	6,35	6,35	7,45	-	-
CPG des byssoméruliols silylés TR(mn)(4)	13,10	13,10	6,25	5,50	9,30	9,30 (6)	13,10 (6)
CPG des byssoméruliols silylés TR(mn)(5)	22,40	22,40	12,10	11,00	17,40	-	-

(1) Colonne de polyamide MNSC 6 Ac; élu-tion par l'acétate d'éthyle contenant des concentrations croissantes de  $\text{MeOH}$  (0 à 10%).

(2) CLHP : appareil analytique Waters; colonne de silice greffée  $\text{C}_{18}$  microbondapak; solvant: méthanol-eau (8-2); débit: 0,9 ml/mn (30x0,39 cm).

(3) CCM : gel de silice  $\text{F}_{254}$ ; solvant: méthanol- $\text{CHCl}_3$  (1-9).

(4) CPG : appareil GIRDFL; colonne en pyrex (1x0,003m) remplie de chromosorb W-HP (100-120 mesh) imprégné d'OV 17 à 0,5%.

température: 260 °C pour les dérivés perméthylés  
240 °C pour les dérivés TMSi

débit d' $\text{N}_2$  : 24 ml/mn

(5) CPG : appareil GIRDFL; colonne en pyrex (2,3x0,003 m) remplie de chromosorb W-AW-TMCS 80-100 mesh imprégné d'OV 17 à 3

température: 270 °C  
débit : 9,3 ml/mn

(6) Après hydrolyse acide

Tableau 3. Spectrométrie de RMN <sup>1</sup>H (250 MHz). Valeurs des déplacements chimiques (ppm/TMS) des Byssoméruliols (C<sub>2</sub>D<sub>3</sub>N)

protons concernés produits	<i>Harom.</i>	<i>CHOH</i>	<i>CO-CH<sub>2</sub></i>	<i>CO-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub></i>	<i>(CHOH)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub></i>	<i>CH<sub>2</sub> aliph. CH<sub>3</sub></i>
byssoméruliol A(1)	6,54 (s;2H)	4,18 (2H,m.)	3,42 (2H,t, J = 7,5 Hz)	1,90 (m)	1 H à 1,90 1 H à 1,68	1,68 (m) 0,89(3H,t, 1,26 (m) J=7,5 Hz)
byssoméruliol B(2)	6,54 (s;2H)	4,44 (2H,m)	3,44 (2H,t, J = 7,5 Hz)	1,92 (m)	1 H à 1,92 1 H à 1,69	1,69 (m) 0,89(3H,m) 1,26 (m)
byssoméruliols C + D (3+4)	6,54 (s; 2H)	4,20 et 4,40 (1H,m)	3,44 (2H,t, J=7,5 Hz)	1,90(2H,q, J=7,5 Hz)		1,66 (m) 0,88(3H,m) 1,24 (m)
byssoméruliol E(5)	6,52 (s,2H)	3,86 (1H,m)	3,44 (2H,t, J = 7,5 Hz)	1,90(2H,q, J = 7,5 Hz)		1,66 (m) 0,89(3H,t, 1,24 (m) J = 7,5 Hz)
byssoméruliol F(6)	6,50 (s,2H)	3,92 → 5*	3,42 (2H,t, J = 7,5 Hz)	1,90(2H,q, J=7,5 Hz)		1,66 (m) 0,90(3H,t, 1,26 (m) J = 7,5 Hz)

\* + H du mannose.

Tableau 4. Spectrométrie de masse (70 eV); principales fragmentations (*m/z*) des byssoméruliols et de leurs dérivés (voir numéros des fragments dans la Fig. 2)

fragments produits		1	2	3	4	5	6	7	8*	M**
Byssoméruliol A (1)	R = H	153	168	181	323		367			424
	R = CH <sub>3</sub>	195	210	223	370	393		101		494
	R = TMSi	369	384	397	611	625	727	159		784
Byssoméruliol B (2)	R = H	153	168	181	323		367			424
	R = CH <sub>3</sub>	195	210	223	370	393		101		494
	R = TMSi	369	384	397	611	625		159		784
Byssoméruliol C (3)	R = TMSi	369	384	397	524*	625				668
Byssoméruliol D (4)	R = TMSi	369	384	397		538*	620	121		668
Byssoméruliol E (5)	R = H	153	168	181			351			409
	R = CH <sub>3</sub>	195	210	223		364*	407			464
	R = TMSi	369	384	397			639	159		696
Byssoméruliol F (6)	R = TMSi	369	384	397					607	1074
Byssoméruliol G (7)	R = TMSi	369	384	397				159	695	1162
Byssoméruliol H (8)	R = TMSi	369	384	397	611				695	1162

\* avec transfert d'hydrogène

\* Fragment 8 : M\*\* - OMannose (TMSi)<sub>4</sub>

(Tableau 2), ce qui a permis de les séparer nettement. Par ailleurs, on observe pour 1 comme pour 2 de faibles pouvoirs rotatoires mais de signes opposés (positif pour 2 négatif pour 1): 2 est donc un stéréoisomère de 1. Nous n'avons pas été en mesure de déterminer la configuration relative de 1 et de 2.

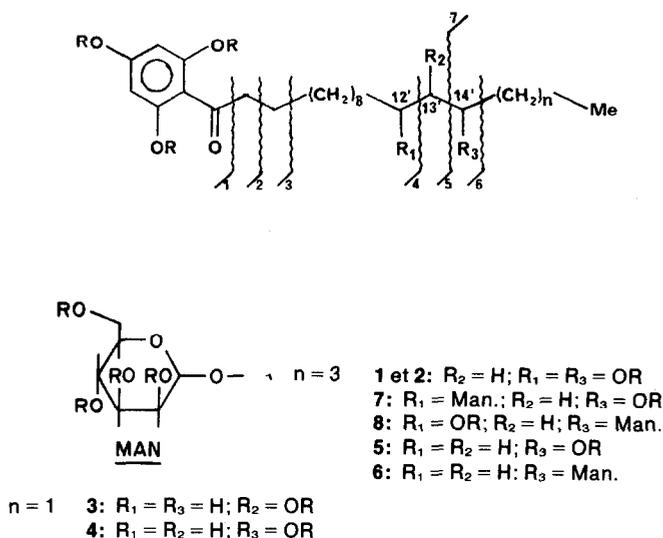
#### Byssoméruliols C et D (3 et 4)

Le spectre de masse des cristaux obtenus à partir de la fraction présentant un temps de rétention de 16,68 min en CLHP (Tableau 2) montre une fragmentation difficilement explicable pour un produit pur. Le spectre de RMN <sup>1</sup>H confirme par ailleurs l'existence d'un mélange:

présence d'un massif complexe pour le CH<sub>3</sub> et de deux massifs principaux, de surface égale, pour le CHOH, à 4,40 et 4,20 ppm. Après triméthylsilylation de cette fraction nous avons obtenu plusieurs pics en CPG et, par couplage CPG-SM, nous avons identifié deux composés majeurs, en quantités sensiblement égales, à côté de sous-produits de réaction ou de désilylation.

Ces composés possèdent un seul OH sur la chaîne latérale, par ailleurs plus courte de deux carbones que celle des autres byssoméruliols (C<sub>22</sub>H<sub>36</sub>O<sub>5</sub>; byssoméruliol A: C<sub>24</sub>H<sub>40</sub>O<sub>6</sub>).

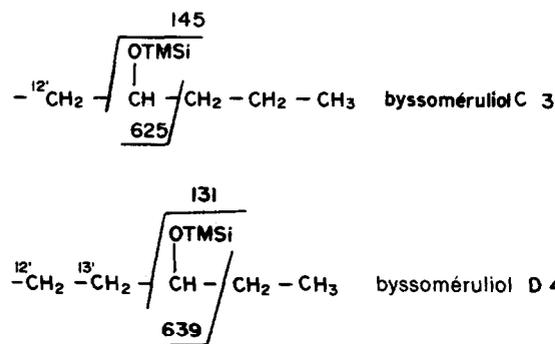
Dans les spectres de masse correspondant aux deux produits principaux, nous avons pu noter, à côté des



R = H, CH<sub>3</sub> ou TMSi (Voir Tableau 4).

Fig. 2.

autres ions fragments classiques dans cette série<sup>1</sup> la fragmentation suivante qui a permis d'assurer les enchaînements terminaux pour 3 et 4:



#### Byssoméruliol E (5)

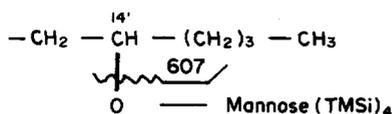
Par SM on constate que ce constituant mineur (7 à 10% du total des byssoméruliols) possède une chaîne aliphatique de même longueur que 1 (en C<sub>24</sub>), substituée par un seul OH; la fragmentation permet de situer cet OH comme indiqué dans la Fig. 1. Contrairement à ce qui se passe pour la fraction contenant les byssoméruliols C et D, on n'observe ici qu'un seul composé, ce qui est confirmé par chromatographie (CLHP, CPG) et spectrométrie (RMN et SM, Tableau 3 et 4).

#### Byssoméruliol F (6): mannoside du Byssoméruliol E

Le comportement en CCM de la fraction ayant un temps de rétention de 20,20 mn en (CLHP (Tableau 2) indique une polarité bien supérieure à celle des byssoméruliols préalablement étudiés, faisant penser à un glycoside. Cette hypothèse est confirmée par l'obtention d'un ion moléculaire à  $m/z$ : 1074 pour le dérivé TMSi; l'hydrolyse acide de ce composé libère un aglycone identifié au byssoméruliol E et un sucre, le mannose.

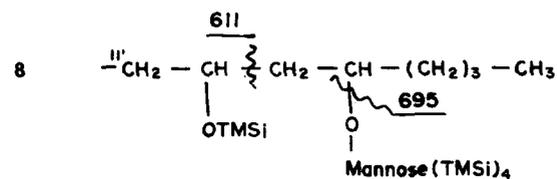
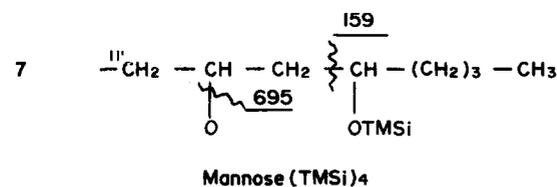
La présence des fragments caractéristiques 1, 2, 3 (Fig. 2)

de la partie phloracétophénone, à côté d'un ion important à  $m/z$  607 conduit à situer le mannose sur l'OH alcoolique:



#### Byssoméruliols G et H (7 et 8)

Repérés comme précédemment par CCM et SM (Tableau 2), ces composés n'ont pu être isolés à l'état pur. C'est seulement après étude de la fragmentation des dérivés TMSi que nous avons mis en évidence un mélange de mono-*O*-mannosides distal et proximal sur la chaîne aliphatique. L'hydrolyse conduit en effet à du mannose comme seul sucre et à du byssoméruliol A comme seul aglycone.



*Byssomerulius corium* est très certainement remarquable par sa capacité de fabriquer en abondance des dérivés de la phloracétophénone à longue chaîne hydrocarbonée car nous n'avons pas rencontré de cas semblables lors de nos "screenings" qui portent sur environ 300 espèces de champignons, lignicoles ou non.

Si nous avons repéré une discrète absorption à 286 nm chez la pézize *Plectania coccinea* (Scop. ex Fr.)Fuck,<sup>1</sup> il s'est avéré qu'il s'agissait de composés de structure différente.

A la suite d'Ericksson et Ryvarden<sup>4</sup> nous avons noté que certaines hyphes du mycélium et de la partie non hyméniale du carpophore sont couvertes de fins cristaux. Une étude histo-chimique est entreprise pour déterminer si ces incrustations correspondent aux byssomérioliols. Par ailleurs les propriétés mécaniques manifestées par *B. corium*, à savoir la persistance d'une certaine plasticité au dessèchement, ne seraient-elles pas liées à l'accumulation de ces substances?

#### PARTIE EXPERIMENTALE

Les champignons ont été recueillis à l'état frais sur branches pourrissantes de feuillus, notamment de charme (*Carpinus betulus*) dans la région lyonnaise. Ils sont conservés dans MeOH à froid et à l'obscurité dès la récolte.

A partir d'une sporée aseptique de *B. corium*, nous avons cultivé cette espèce sur milieu gélosé contenant de l'extrait de malt, du glucose et de l'hydrolysate de caséine. Les mycéliums agés de 1 et de 2 mois sont extraits et analysés selon le même protocole que celui décrit pour les carpophores.

Sur la base d'un E 1% moyen de 400, la teneur en byssomérioliols par rapport au poids sec correspond à une valeur moyenne de 18% pour les carpophores et varie de 5 à 12% selon l'état jeune ou agé du mycélium.

Les champignons sont épuisés par MeOH jusqu'à disparition de l'absorption à 286 nm (90% dès la première extraction). La solution obtenue après concentration est extraite par l'éther de pétrole (élimination des stérols) puis par l'éther éthylique après acidification. La chromatographie sur colonne de polyamide acétylé MNSC6-Ac de la phase étherée permet de séparer deux fractions majeures: une, éluee par AcOEt, et l'autre par un gradient de MeOH (jusqu'à 10%) qui contient l'ensemble des substances absorbant à 286 nm. Les constituants de cette dernière ont été séparés par CLHP, sur colonne de silice greffée soit RP8 Lichroprep, 25-40  $\mu$ m Merck, avec MeOH à 22% d'eau comme solvant, soit C18 Microbondapak, 10  $\mu$ m Waters avec MeOH contenant 15 à 22% d'eau selon les cas.

Les dérivés TMSi ont été préparés classiquement à l'aide du mélange BSTFA-1% TMCS et les dérivés perméthylés ont été obtenus selon la méthode de Brimacombe.<sup>5</sup>

Les byssomérioliols F, G, H (mannosides) ont été soumis à hydrolyse acide (HCl, N), à 100° pendant 30 mn. La nature des aglycones libérés a été déterminée par comparaisons chromatographiques (CLHP et CPG) avec les byssomérioliols de référence; le sucre obtenu a été identifié à du mannose par CPG.

#### Byssomérioliol B (2)

UV,  $\lambda_{max}$  MeOH (log  $\epsilon$ ): 227(4.17); 286(4.23); 330 nm  $\epsilon$ p(3.45). IR,  $\nu_{max}$  KBr: 3350, 2900, 1625, 1530, 1470, 1375, 1340, 1290, 1180, 1110, 1075, 1020, 965, 825, 725  $cm^{-1}$ .

RMN <sup>1</sup>H: Tableau 3. SM: 424 (M<sup>+</sup>, 4%, 424.283; C<sub>24</sub>H<sub>40</sub>O<sub>6</sub> = 424,2825); 406 (M-H<sub>2</sub>O; 2%); 388 (M-2H<sub>2</sub>O; 3%); 367 (2%); 361(3%); 347(2%); 323(3%); 205(13%); 192(10%); 181(22%); 168(36); 153(100%); 139(10%); 126(10%); 124(15%).

Dérivé PM. SM: *m/z* 494 (M<sup>+</sup>, 3%); 479(1%); 462(1%); 405(3%); 393(9%); 379(16%); 223(5%); 210(30%); 195(100%); 181(5%); 168(10%); 101(15%).

Dérivé TMSi SM: *m/z* 784(M<sup>+</sup>, 2%); 769(32%); 625(1%); 611(8%); 605(4%); 597(4%); 582(3%); 523(3%); 521(3%); 397(2%); 384(3%); 381(6%); 369(100%); 159(30%).

Acétonide. SM: *m/z* 464 (M<sup>+</sup>, 1%); 449(5%); 420(5%); 405(25%); 381(100%); 362(10%); 339(16%); 321(25%); 281(10%); 263(25%); 255(10%); 209(10%); 171(10%); 149(20%); 126(3%); 124(90%); 100(70%).

#### Byssomérioliol C (3)

Dérivé TMSi SM: *m/z* 668 (M<sup>+</sup>, 1%; 668,416; C<sub>22</sub>H<sub>36</sub>O<sub>5</sub>-4 TMSi: 668,4144); 653 (M-15, 36%); 625(9%); 611(3%); 596(3%); 563(3%); 537(2%); 535(3%); 524(1%); 397(4%); 384(2%); 381(5%); 369(100%); 145(23%).

#### Byssomérioliol D (4)

Dérivé TMSi SM: *m/z* 668 (M<sup>+</sup>, 1%; 668,416; C<sub>22</sub>H<sub>36</sub>O<sub>5</sub>-4 TMSi: 668,4144); 653 (M-15, 30%); 639(6%); 581(3%); 563(3%); 551(3%); 549(3%); 538(1%); 397(3%); 384(2%); 381(6%); 369(100%); 131(30%).

#### Byssomérioliol E (5)

RNM <sup>1</sup>H: Tableau 3. SM: *m/z* 408 (M<sup>+</sup>, 3%; 408,287; C<sub>24</sub>H<sub>40</sub>O<sub>5</sub>: 408,2876); 390 (M-H<sub>2</sub>O, 10%); 372 (M-2H<sub>2</sub>O, 10%); 351(10%); 205(10%); 192(10%); 181(10%); 168(70%); 153(100%); 139(20%); 126(20%).

Dérivé PM. SM: *m/z* 464 (M<sup>+</sup>, 7%); 446(3%); 421(3%); 407(10%); 393(3%); 364(2%); 223(3%); 210(20%); 209(40%); 195(100%).

Dérivé TMSi SM: *m/z* 696 (M<sup>+</sup>, 1%); 681(38%); 639(10%); 625(4%); 591(3%); 551(2%); 549(3%); 397(3%); 384(3%); 381(6%); 369(100%); 159(22%).

#### Byssomérioliol F (6) (Mannoside du byssomérioliol E)

Dérivé TMSi SM: *m/z* 1074 (M<sup>+</sup>, 0.1%); 1059 (2%; M-15; 1059,595; C<sub>29</sub>H<sub>47</sub>O<sub>10</sub>-7 TMSi: 1059,594); 725(2%); 607(25%); 539(1%); 535(5%); 451(1%); 397(1%); 384(1%); 381(2%); 369(40%); 361(10%); 217(40%); 204(100%).

RMN <sup>1</sup>H: Tableau 3. RMN <sup>13</sup>C (Pyridine D-5.88 MHz,  $\delta$ TMS; Fig. off resonance): 206.4(s); 166.4(s); 166.2(2C, s); 105.6(s); 100.9(d); 96.0 (2C, d); 79.0 (d); 78.5(d); 76.0(d); 72.8(d); 69.6(d); 63.4(t); 44.2(t); 35.6(t); 34.1(t); 30.2(2C, t); 29.9 (6C, t); 27.6(t); 25.7(t); 25.5(t); 23.2(t); 14.2(q).

#### Byssomérioliols G et H (7 et 8) (Mannosides du Byssomérioliol A)

Dérivés TMSi SM: *m/z* 1162 (M<sup>+</sup>, 1%); 1147 (9%, M-15; 1147,623; C<sub>29</sub>H<sub>47</sub>O<sub>11</sub>-8 TMSi: 1147,628); 813(18%); 695(38%); 611(15%); 397(4%); 384(6%); 381(11%); 369(98%); 217(40%); 204(100%); 159(10%).

Les spectres de RMN <sup>1</sup>H ont été enregistrés sur un appareil Cameca à 250 MHz à la Faculté de Pharmacie de Marseille, ceux de RMN <sup>13</sup>C au Service Central d'Analyse du CNRS (Solaize) et ceux de masse au Centre de Spectrométrie de Masse de Lyon.

**Remerciements**—Nous remercions Melle Noailly pour l'enregistrement des spectres de RMN <sup>1</sup>H.

#### BIBLIOGRAPHIE

- <sup>1</sup>M-C. Lunel, J. Favre-Bonvin et N. Arpin, *Phytochemistry* **19**, 1183 (1980).
- <sup>2</sup>M-C. Lunel, Thèse Doct. 3<sup>ème</sup> cycle, No 979, Lyon (1980).
- <sup>3</sup>C. Djerassi, H. Budzikiewicz et D. H. Williams, *Mass Spectrometry of Organic Compounds*, Holden Day Inc., p. 104 (1967).
- <sup>4</sup>J. Eriksson et L. Ryvarden, *The Corticiaceae of North Europe*, Vol. 2, p. 191. Blindernveien, Oslo (1973).
- <sup>5</sup>J. S. Brimacombe, B. D. Jones, M. Stacey et J. J. Willard, *Carbohydr. Res.* **2**, 167 (1966).