

(Frakt. C). Die Frakt. B und C wurden vereinigt und aus Äther-Methanol, dann aus Aceton-Methanol umkrystallisiert. Es wurden Prismen vom Smp. 157—160° (XVII) erhalten. Die spez. Drehung betrug  $[\alpha]_D^{17} = +69,0^{\circ} \pm 3^{\circ}$  ( $c = 0,653$  in Chloroform).

6,530 mg Subst. zu 1,0006 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{17} = +0,95^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

3,498 mg Subst. gaben 9,56 mg CO<sub>2</sub> und 2,55 mg H<sub>2</sub>O (F.W.)

C <sub>23</sub> H <sub>30</sub> O <sub>4</sub> (370,46)	Ber. C 74,56	H 8,16%
	Gef. „ 74,59	„ 8,16%

Die Tetranitromethanprobe gab eine starke Gelbfärbung.

Aus der Mutterlauge von Frakt. B liess sich durch Umkrystallisieren aus Äther-Methanol noch eine Druse von Prismen vom Smp. 65—70° isolieren. Nach nochmaligem Umkrystallisieren wurden Prismen vom Smp. 75—83° (XV) erhalten. Die geringe Menge reichte nicht für eine Analyse.

Die Mikroanalysen wurden teils im mikroanalytischen Laboratorium der Eidg. Techn. Hochschule, Zürich (Leitung *W. Manser*) (E.T.H.), teils im Laboratorium von *F. Weiser*, Basel (F.W.) ausgeführt.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

## 206. Recherches sur l'amidon XXXIII<sup>1)</sup>.

### Analyse chromatographique de mélanges synthétiques de triméthylglucoses isomères

par **R. A. Boissonnas.**

(16 VIII 47)

Une des méthodes de détermination de la constitution des polysaccharides consiste à méthyler entièrement, puis à hydrolyser le polysaccharide à étudier. L'examen qualitatif et quantitatif des sucres méthylés obtenus par cette hydrolyse permet de tirer des conclusions sur la structure du polysaccharide.

La difficulté principale de cette méthode réside dans la résolution du mélange des sucres méthylés en ses divers constituants.

La cristallisation fractionnée ou la formation de dérivés caractéristiques ne conduisent qu'à des données qualitatives. Du point de vue quantitatif ces deux procédés sont très imprécis malgré les facteurs correctifs empiriques qu'on a essayé d'introduire<sup>2)3)4)</sup>.

La distillation fractionnée provoque la destruction partielle des sucres non entièrement méthylés<sup>5)</sup>. Elle permet uniquement d'isoler et de doser les sucres constituant les groupes terminaux non réduc-

<sup>1)</sup> Communication précédente: *Kurt H. Meyer et P. Gürtler*, *Helv.* **30**, 761 (1947).

<sup>2)</sup> *K. Hess et coll.*, *B.* **70**, 721 (1937); **73**, 499, 505 (1940).

<sup>3)</sup> *K. Freudenberg et H. Boppel*, *B.* **73**, 609 (1940).

<sup>4)</sup> *H. Granichstüden et E. G. V. Percival*, *Soc.* **1943**, 54.

<sup>5)</sup> *D. J. Bell*, *Soc.* **1944**, 473.

teurs des polysaccharides, c'est-à-dire les sucres entièrement méthylés<sup>1-10</sup>).

Le dosage au moyen de tests quantitatifs, spécifiques d'un groupement donné, permet d'obtenir des résultats utiles dans les cas simples<sup>11-14</sup>). Par contre l'interprétation de ces résultats devient difficile, voire impossible, dès que l'on a affaire à des polysaccharides plus compliqués.

C'est pourquoi l'on a essayé depuis quelques années de réaliser la séparation des sucres méthylés au moyen de la chromatographie. La chromatographie s'effectue, soit directement sur le mélange des sucres méthylés obtenus par l'hydrolyse du polysaccharide méthylé, soit sur des dérivés obtenus quantitativement à partir de ces sucres.

L'avantage de la chromatographie est que l'on obtient simultanément, par une même méthode, les données qualitatives et quantitatives, ce qui évite les erreurs pouvant provenir de l'emploi d'une méthode qualitative non quantitative en corrélation avec une méthode quantitative non qualitative.

La séparation chromatographique des esters azoïques<sup>15</sup>) des sucres méthylés<sup>16-19</sup>) fut d'abord effectuée par *Mertzweiller*, *Carney* et *Farley*<sup>18</sup>) qui réussirent la séparation du mélange des esters azoïques du 2,3-diméthylglucose, du 2,3,6-triméthylglucose et du 2,3,4,6-tétraméthylglucose. Les formes  $\alpha$  et  $\beta$  des esters azoïques du 2,3-diméthylglucose étaient également séparables par cette méthode.

Puis *Coleman*, *Rees*, *Sundberg* et *McCloskey*<sup>19</sup>) séparèrent par chromatographie les esters azoïques des sucres méthylés obtenus par hydrolyse ou méthanolyse de différents disaccharides méthylés. Ils

1) *K. Freudenberg et E. Braun*, A. **460**, 288 (1928).

2) *W. N. Haworth et H. Machemer*, Soc. **1932**, 2270.

3) *D. J. Bell*, Biochem. J. **31**, 1683 (1937).

4) *F. J. Averill et S. Peat*, Soc. **1938**, 1244.

5) *E. L. Hirst et G. T. Young*, Soc. **1938**, 1247; **1939**, 1481.

6) *S. Peat et J. Whetstone*, Soc. **1940**, 276.

7) *K. H. Meyer, M. Wertheim et P. Bernfeld*, Helv. **23**, 865 (1940); **24**, 212, 378 (1941).

8) *K. H. Meyer et M. Fuld*, Helv. **24**, 375 (1941).

9) *I. Levi, W. L. Hawkins et H. Hibbert*, Am. Soc. **64**, 1957 (1942).

10) *J. S. D. Bacon, E. Baldwin et D. J. Bell*, Biochem. J. **38**, 198 (1944).

11) *W. N. Haworth, E. L. Hirst et F. A. Isherwood*, Soc. **1937**, 577.

12) *R. E. Reeves*, Am. Soc. **63**, 1476 (1941).

13) *R. Jeanloz*, Helv. **27**, 1509 (1944).

14) *K. H. Meyer et P. Gürtler*, Helv. **30**, 751 (1947).

15) Nous désignons par *acide azoïque* l'acide p-phényl-azobenzène-carboxylique, et par *azoyle* le groupement p-phényl-azobenzoylé.

16) *K. Freudenberg et H. Boppel*, B. **73**, 609, 621 (1940).

17) *K. Myrbäck et C. O. Tamm*, Svensk. Kem. Tidskr. **53**, 441 (1941).

18) *J. K. Mertzweiller, D. M. Carney et F. F. Farley*, Am. Soc. **65**, 2367 (1943).

19) *G. H. Coleman, D. E. Rees, R. L. Sundberg et C. M. McCloskey*, Am. Soc. **67**, 381 (1945).

séparèrent ainsi les dérivés tétraméthylés du glucose ou du galactose de dérivés triméthylés du glucose; ils séparèrent de même les formes  $\alpha$  et  $\beta$  de ces divers esters. Par contre la séparation d'un mélange de triméthylglucoses isomères (esters azoïques du 2,3,4-triméthylglucose et du 2,3,6-triméthylglucose) ne fut qu'incomplète.

*Jones*<sup>1)</sup> sépara par chromatographie un mélange de 2,3,4,6-tétraméthyl-méthylglucoside et de 2,3,6-triméthyl-méthylglucoside; il sépara partiellement par la même méthode un mélange de 2,3,4-triméthyl-méthyl-*d*-xylopyranoside et de 2,3,5-triméthyl-méthyl-*l*-arabofuranoside.

*Bell*<sup>2)</sup> réalisa par chromatographie de partition la séparation quantitative d'un mélange de 2,3,4,6-tétraméthylglucose, 2,3,6-triméthylglucose et 2,3-diméthylglucose.

*Norberg*, *Auerbach* et *Hizon*<sup>3)</sup>, puis *Georges*, *Bower* et *Wolfrom*<sup>4)</sup> effectuèrent la séparation du même mélange par chromatographie ordinaire.

Il était donc possible par différentes méthodes chromatographiques de séparer des sucres méthylés non isomères. La séparation des formes  $\alpha$  et  $\beta$  des sucres méthylés était également possible; mais elle ne présente pas d'intérêt pour l'étude des polysaccharides, car il y a mutarotation pendant l'hydrolyse et lors de la formation de dérivés. Par contre la séparation chromatographique de sucres méthylés isomères (par la nature du sucre de base ou par la position des groupes méthoxyles), qui est d'un grand intérêt pour l'étude des polysaccharides, n'avait pas été essayée ou ne réussissait que partiellement.

Nous avons étudié la séparation chromatographique quantitative des mélanges binaires des quatre triméthyl-glucopyranoses isomères: 2,3,4-triméthylglucose, 2,3,6-triméthylglucose, 2,4,6-triméthylglucose, et 3,4,6-triméthylglucose. Ces triméthylglucoses ont déjà été identifiés dans les hydrolysats d'un grand nombre de gluco-polysaccharides naturels soumis à la méthylation.

Après méthylation et hydrolyse, les maillons non terminaux d'une chaîne de restes de glucose donnent en effet naissance à des triméthylglucoses dont le type dépend du genre de liaison existant dans la chaîne. Il est donc important de savoir si ces maillons sont tous du même type (comme dans la cellulose), ou bien de types différents (comme dans la lichénine), et dans ce dernier cas, de pouvoir doser la proportion relative des maillons des différents types.

Avant de passer à la séparation chromatographique de mélanges naturels<sup>5)</sup>, nous avons étudié des mélanges synthétiques.

1) *J. K. N. Jones*, Soc. **1944**, 333.

2) *D. J. Bell*, Soc. **1944**, 473.

3) *E. J. Norberg*, *I. Auerbach* et *R. M. Hizon*, Am. Soc. **67**, 342 (1945).

4) *L. W. Georges*, *R. S. Bower* et *M. L. Wolfrom*, Am. Soc. **68**, 2169 (1946).

5) *R. A. Boissonnas*, Helv. **30**, 1703 (1947).

Nous avons effectué les séparations non sur les méthylglucoses eux-mêmes, mais sur les azoyl-méthyl-glucitols<sup>1)</sup> correspondants. Ces nouveaux dérivés s'obtiennent quantitativement à partir des méthylglucoses par hydrogénation catalytique, suivie d'azoylation.

La réduction du groupe aldéhydique en un groupe alcoolique primaire supprime l'isomérisme des formes  $\alpha$  et  $\beta$  qui complique la séparation chromatographique et l'identification en doublant le nombre d'isomères présents<sup>2)</sup>. L'azoylation fournit des dérivés cristallins et colorés, facilement identifiables et pouvant être dosés par photométrie, ce qui permet de travailler sur quelques milligrammes seulement d'azoyl-méthyl-glucitols.

Afin d'étudier la séparation des dérivés triméthylés entre eux, et leur séparation d'avec des dérivés tétra- ou diméthylés, nous avons préparés les azoyl-méthyl-glucitols correspondant aux six sucres suivants: 2,3,4,6-tétraméthylglucose, 2,3,4-triméthylglucose, 2,3,6-triméthylglucose, 2,4,6-triméthylglucose, 3,4,6-triméthylglucose et 2,3-diméthylglucose. Les meilleures conditions dans lesquelles des mélanges synthétiques de ces azoyl-méthyl-glucitols peuvent être séparés par chromatographie ont été établies.

Les six mélanges binaires des quatre triazoyl-triméthyl-glucitols ont été séparés avec des erreurs inférieures à 15%. Les dérivés triméthylés ont été séparés des dérivés tétra- et diméthylés avec des erreurs inférieures à 5% (cf. tableau).

#### *Préparation des azoyl-méthyl-glucitols.*

En règle générale la préparation des méthylglucoses de référence a été effectuée selon les données de la littérature; cependant quelques stades de ces synthèses ont été améliorés (cf. partie expérimentale).

Les méthylglucoses sont quantitativement réduits en méthyl-glucitols par l'hydrogène sous pression en présence de nickel *Raney* comme catalyseur. La réduction procède néanmoins plus lentement que celle du glucose<sup>3)</sup>. Parmi les six méthylglucitols que nous avons préparés (2,3,4,6-tétraméthylglucitol, 2,3,4-triméthylglucitol, 2,3,6-triméthylglucitol, 2,4,6-triméthylglucitol, 3,4,6-triméthylglucitol, 2,3-diméthylglucitol), seul le 2,3,4,6-tétraméthylglucitol est déjà mentionné dans la littérature<sup>4)</sup>.

<sup>1)</sup> De même que *Georges, Bower* et *Wolfrom* (loc. cit.), nous désignons par *d*-glucitol l'hexitol nommé jusqu'ici *d*-sorbitol ou *d*-sorbite, et obtenu par réduction du *d*-glucose.

<sup>2)</sup> Théoriquement cet isomérisme aurait également pu être supprimé par oxydation en acide ou par formation de mercaptal. Mais la formation de mercaptal n'est pas quantitative, et les acides sont difficiles à isoler et donnent souvent naissance à des lactones.

<sup>3)</sup> Cf. *Borisoglebskii*, *Ž. prikl. Chim.* **13**, 571 (1940); *C. A.* **31**, 1032/1 (1941).

<sup>4)</sup> *J. C. Irvine, A. W. Fyfe* et *T. P. Hogg*, *Soc.* **1915**, 539. Le pouvoir rotatoire indiqué par ces auteurs diffère légèrement de celui que nous trouvons. Cette différence peut être expliquée par une épimérisation provenant de la méthode de préparation qu'ils ont employée.

Après de nombreux essais, nous avons établi des conditions standard d'azoylation et de purification qui sont valables pour l'ensemble des méthylglucitols étudiés. La purification est très importante car la présence de certaines impuretés peut gêner les séparations chromatographiques. Le rendement en azoyl-méthyl-glucitols purifiés et prêts à être chromatographiés est de 90—93 % à partir des méthylglucoses.

Il n'est encore fait mention dans la littérature d'aucun des azoyl-méthyl-glucitols préparés (1,5-diazoyl-2,3,4,6-tétraméthyl-glucitol, 1,5,6-triazoyl-2,3,4-triméthyl-glucitol, 1,4,5-triazoyl-2,3,6-triméthyl-glucitol, 1,3,5-triazoyl-2,4,6-triméthyl-glucitol, 1,2,5-triazoyl-3,4,6-triméthyl-glucitol, 1,4,5,6-tétraazoyl-2,3-diméthyl-glucitol).

L'absence d'isomérisme  $\alpha$ — $\beta$  permet d'obtenir une cristallisation facile, ainsi que des points de fusion et pouvoir rotatoires fixes et caractéristiques, ce qui n'est pas le cas avec les dérivés azoylés des méthylglucoses<sup>1</sup>).

#### *Séparations chromatographiques (cf. tableau).*

Il importait de trouver les conditions les meilleures pour la séparation chromatographique des azoyl-méthyl-glucitols isomères et non isomères.

Nous avons entrepris une étude systématique des chromatographies<sup>2</sup>) de ces corps sur l'oxyde d'aluminium<sup>3</sup>), le silicagel<sup>4</sup>) et la floridine<sup>5</sup>) dans un grand nombre de solvants ou de mélanges de solvants.

Les adsorbants ont été préparés, purifiés et neutralisés de différentes manières. Ils ont été désactivés par adjonction de quantités variables d'eau et agitation prolongée, ce qui a permis d'obtenir des degrés d'activité de I à V, selon l'échelle *Brockmann-Schodder*<sup>6</sup>). Le dosage d'activité selon cette échelle a été étendu sans modification à la floridine et au silicagel.

Les solvants suivants ont été essayés seuls ou mélangés entre eux : éther de pétrole, benzène, chlorobenzène, nitrobenzène, chloroforme, acétone, acétate d'éthyle, éther éthylique, éther butylique normal, éthanol.

<sup>1</sup>) Cf. références <sup>16</sup>)—<sup>19</sup>) page 1690.

<sup>2</sup>) La terminologie employée dans les descriptions de séparations chromatographiques est celle proposée par *T. I. Williams*, *An Introduction to Chromatography*, *Blackie & Son*, London and Glasgow (1946).

<sup>3</sup>) Oxyde d'aluminium *Merck*, standardisé, selon *Brockmann*.

<sup>4</sup>) Silicagel de *Schneider et Co.*, Winterthur, broyé et tamisé, et silicagel préparé selon *J. K. Mertzweiler*, *D. M. Carney* et *F. F. Farley*, *Am. Soc.* **65**, 2367 (1943).

<sup>5</sup>) Floridine XXF extra de *H. Bensmann* (Brème) employée en mélange 5:1 en poids avec céélite 535 de *Johns-Manville* (USA.).

<sup>6</sup>) *H. Brockmann* et *H. Schodder*, *B.* **74**, 73 (1941).

Nous avons fait varier la vitesse linéaire d'écoulement  $V_c$  du liquide<sup>1)</sup> dans la colonne d'adsorbant de 1,7 à 30 mm. par minute.

L'adsorbant donnant les meilleurs résultats est l'alumine *Merck* (standardisée selon *Brockmann*), neutralisée par de l'acide dilué, lavée, séchée, calcinée, désactivée, réactivée et éventuellement désactivée à nouveau.

La raison de cette suite de traitements est la suivante. L'alumine non neutralisée saponifie les esters azoïques par l'alcali qu'elle contient. La calcination décompose et oxyde les impuretés organiques qui peuvent se trouver à sa surface et qui modifient ses propriétés. Mais l'alumine calcinée est trop active et adsorbe parfois irréversiblement les azoïl-méthyl-glucitols. L'adjonction d'eau suivie d'une réactivation par séchage à 120° permet d'obtenir une alumine d'activité bien déterminée (activité I), dont les azoïl-méthyl-glucitols sont élués quantitativement.

L'alumine d'activité III est obtenue par adjonction de 3,3% d'eau en poids à l'alumine d'activité I, et agitation à la secoueuse. Cette méthode<sup>2)</sup> évite les longs tâtonnements nécessités par la désactivation selon *Brockmann* et *Schodder* (loc. cit.) et donne une alumine d'activité homogène et reproductible.

On utilise l'alumine III comme adsorbant et le benzène comme solvant et développant pour les séparations chromatographiques du 1,5-diazoïl-2,3,4,6-tétraméthyl-glucitol d'avec les autres azoïl-méthyl-glucitols. Les mélanges binaires de ceux-ci sont séparés chromatographiquement sur l'alumine I avec le chloroforme comme solvant et développant (cf. tableau).

Les meilleures dimensions de la colonne par rapport à la quantité de substance à chromatographier ont été établies.

Pour réaliser une séparation quantitative, il est indispensable d'obtenir une colonne parfaitement homogène, de façon que la vitesse d'écoulement du solvant (et par conséquent la vitesse de migration des bandes) soit la même à la périphérie et au centre de la colonne. Si la colonne est établie par le procédé dit « sec », elle est plus compacte au centre, et la vitesse d'écoulement est plus grande à la périphérie, ce qui donne des bandes convexes. Si la colonne est établie par le procédé dit « humide », le phénomène inverse se produit, et l'on obtient des bandes concaves.

Nous avons trouvé que si l'on remplit par contre la colonne par le procédé dit « humide », mais en martelant fortement et rapidement les parois du tube de chromatographie pendant la sédimentation de l'adsorbant, la colonne est alors parfaitement homogène. On obtient des bandes planes permettant une séparation mécanique facile après le développement du chromatogramme.

<sup>1)</sup> *A. Le Rosen*, Am. Soc. **64**, 1905 (1942); **67**, 1683 (1945); Ind. Eng. Chem. Anal. **19**, 189 (1947).

<sup>2)</sup> *P. B. Müller*, Helv. **26**, 1945 (1943); **27**, 404 (1944).

Tableau.

*Séparations chromatographiques de mélanges synthétiques d'azoyl-méthyl-glucitols*

Nr.	Position des groupes		mgr. mis	mgr. obtenus	% mis	% obtenus	erreur absolue
	méthyl	azoyl					
1	2, 3, 4, 6	1, 5	4,56	4,69	45,3	46,6	+ 1,3
	2, 3, 6	1, 4, 5	5,50	5,35	54,7	53,2	- 1,5
2	2, 3, 4, 6	1, 5	0,95	0,99	4,4	4,6	+ 0,2
	2, 3, 6	1, 4, 5	20,67	19,98	95,6	92,4	- 3,2
3	2, 3, 4, 6	1, 5	1,07	0,74	2,7	1,8	- 0,9
	2, 3, 4	1, 5, 6	39,12	38,7	97,3	96,4	- 0,9
4	2, 3, 6	1, 4, 5	1,84	1,91	71,6	74,3	+ 2,7
	2, 3	1, 4, 5, 6	0,73	0,62	28,4	24,1	- 4,3
5	2, 3, 4	1, 5, 6	2,30	2,34	63,4	64,5	+ 1,1
	2, 3, 6	1, 4, 5	1,33	1,22	36,6	33,6	- 3,0
6	2, 3, 4	1, 5, 6	2,14	2,24	71,4	74,6	+ 3,2
	2, 4, 6	1, 3, 5	0,86	0,62	28,6	20,7	- 7,9
7	2, 3, 4	1, 5, 6	1,91	2,03	55,0	58,5	+ 3,5
	2, 4, 6	1, 3, 5	1,56	1,39	45,0	40,1	- 4,9
8	2, 3, 4	1, 5, 6	2,37	3,06	34,6	44,6	+ 10,0
	3, 4, 6	1, 2, 5	4,49	3,99	65,4	58,2	- 7,2
9	2, 3, 6	1, 4, 5	7,80	7,94	80,6	82,0	+ 1,4
	2, 4, 6	1, 3, 5	1,88	1,84	19,4	19,0	- 0,4
10	3, 4, 6	1, 2, 5	1,96	1,55	28,4	22,4	- 6,0
	2, 3, 6	1, 4, 5	4,95	5,50	71,6	79,6	+ 8,0
11	3, 4, 6	1, 2, 5	1,38	1,84	36,4	48,5	+ 12,1
	2, 4, 6	1, 3, 5	2,41	1,92	63,6	50,7	- 12,9

Les séparations 1 à 3 ont été effectuées dans le benzène sur l'alumine III.

Les séparations 4 à 11 ont été effectuées dans le chloroforme sur l'alumine I.

Pour chaque séparation, le corps mentionné en premier forme la bande supérieure.

Pendant tout le développement, la vitesse d'écoulement  $V_c$  du solvant doit être maintenue entre 2,5 et 4 mm. par minute. Cette faible vitesse d'écoulement est obtenue en remplissant le bas du tube d'un corps à particules très fines. Une vitesse d'écoulement plus élevée ne permet pas à l'équilibre de s'établir dans la colonne, et la séparation ne se fait pas. Une vitesse d'écoulement plus petite n'améliore pas la séparation et allonge inutilement le temps nécessaire à la chromatographie. Il est apparu que la diffusion des molécules d'azoyl-méthyl-glucitols en solution dans la colonne est tout à fait insignifiante, et qu'elle n'affecte nullement la netteté des limites des bandes, même après de nombreuses heures.

Une fois le développement effectué, la bande inférieure est arrivée près de la base de la colonne d'adsorbant. Les différentes

bandes sont alors fixées par passage d'éther de pétrole à travers la colonne, ce qui a pour effet de précipiter sur l'adsorbant les molécules d'azoyl-méthyl-glucitols en solution. Les bandes sont extraites à la spatule du tube de chromatographie. L'extraction est facilitée par l'évaporation de l'éther de pétrole au fur et à mesure de l'opération. Après élution par l'acétone, les azoyl-méthyl-glucitols sont dosés par photométrie, cristallisés, et identifiés par leur point de fusion.

Nous exprimons notre vive reconnaissance au prof. *Kurt H. Meyer* pour ses conseils, et pour l'intérêt qu'il n'a cessé de témoigner à ce travail.

### Partie expérimentale.

Toutes les opérations se font en appareils rodés.

Les points de fusion sont corrigés. Précision  $\pm 2^\circ$ .

Pour les analyses et les mesures du pouvoir rotatoire et de l'indice de réfraction, les substances sont séchées au vide poussé sur  $P_2O_5$  une nuit à  $50^\circ$  ou deux jours à température ordinaire selon leur point de fusion. Les analyses marquées F.W. ont été effectuées au laboratoire microanalytique F. Weiser à Bâle; les analyses marquées E.P.F. ont été effectuées au laboratoire microanalytique de l'Ecole polytechnique fédérale à Zurich (direction *W. Manser*).

### Solvants.

Les solvants employés sont soigneusement purifiés. Des traces de caoutchouc ou de graisse font échouer les chromatographies.

*Benzène* anhydre, exempt de thiophène.

*Chloroforme* anhydre, exempt d'éthanol.

*Acétone* anhydre, exempte de méthanol.

*Pyridine*. La pyridine pure commerciale est additionnée du quart de son volume d'une solution aqueuse de  $KMnO_4$  à 6%. On chauffe à reflux en ajoutant de temps en temps du  $KMnO_4$  solide pour maintenir la coloration. Le chauffage est arrêté lorsque la coloration persiste pendant quatre heures sans nouvelle addition de permanganate. Le mélange est distillé rapidement, additionné d'assez de NaOH solide pour saturer la couche aqueuse qui se forme, puis d'un peu d'éther pour faciliter la séparation. On décante la couche supérieure et distille l'éther. La pyridine est séchée par deux chauffages à reflux de six heures chacun sur KOH fondu, puis distillée. La pyridine ainsi préparée est débarrassée de ses homologues supérieurs et ne brunit pas par chauffage.

### Préparation de l'oxyde d'aluminium pour les analyses chromatographiques.

*Neutralisation*. L'oxyde d'aluminium *Merck* (standardisé selon *Brockmann*) est neutralisé par agitation de trois heures sur le bain-marie avec de l'acide nitrique 3 M, et lavage à l'eau chaude, jusqu'à réaction neutre des eaux de lavage. Après séchage à  $120^\circ$  pendant six heures, l'oxyde d'aluminium est chauffé pendant une heure au rouge sombre.

*Dosage de l'activité*. Il est effectué selon *Brockmann* et *Schodder*<sup>1)</sup>. La «Normalbenzin Kahlbaum» est remplacée par de l'éther de pétrole (p. d'éb.  $65-75^\circ$ ) débarrassé des corps sulfurés ou à doubles liaisons qu'il contient par traitement à l'oléum selon *Müller*<sup>2)</sup>.

*Désactivation*. L'alumine d'activité I est obtenue par addition de 5% en poids d'eau distillée à l'alumine calcinée, agitation à la secoueuse pendant 10 heures, et séchage à  $120^\circ$  pendant 6 heures. L'alumine d'activité III est obtenue par addition de 3,3% en poids d'eau distillée à l'alumine d'activité I et agitation de 10 heures à la secoueuse.

<sup>1)</sup> *H. Brockmann* et *H. Schodder*, B. **74**, 73 (1941).

<sup>2)</sup> *P. B. Müller*, Helv. **26**, 1945 (1943); **27**, 404 (1944).

*Récupération de l'oxyde d'aluminium.* L'oxyde d'aluminium déjà employé peut être récupéré par lavage avec de l'alcool méthylique bouillant contenant 2% d'eau. L'oxyde d'aluminium ainsi débarrassé de la majeure partie des substances organiques qu'il avait adsorbées est neutralisé, lavé, séché et calciné comme ci-dessus. Il présente exactement les mêmes propriétés que l'alumine *Merck* originale après neutralisation et calcination.

### *Préparation des méthylglucoses de référence.*

Les détails des préparations ne sont donnés que pour autant qu'ils diffèrent des prescriptions de la littérature.

*2,3-Diméthylglucose.* L' $\alpha$ -méthylglucoside<sup>1)</sup> est transformé en 4,6-benzylidène- $\alpha$ -méthylglucoside selon *Freudenberg, Toepffer et Andersen*<sup>2)</sup> mais en agitant le mélange pendant une nuit, et en éloignant le benzaldéhyde en excès par entraînement à la vapeur d'eau au vide<sup>3)</sup>. Le 4,6-benzylidène- $\alpha$ -méthylglucoside obtenu est filtré, lavé, recristallisé dans un mélange eau-méthanol 1:1 (p. de f. 161<sup>0</sup>)<sup>4)</sup>, et méthylé selon *Jeanloz*<sup>5)</sup>. Après saponification du groupe benzylidène selon *Irvine et Scott*<sup>6)</sup> le 2,3-diméthyl- $\alpha$ -méthylglucoside (p. de f. 81<sup>0</sup>) en solution 10% dans H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> aq. 1,5 M est hydrolysé par chauffage à reflux de 4 heures. La solution bouillante est additionnée d'un léger excès d'une solution aqueuse concentrée chaude de Ba(OH)<sub>2</sub>, puis un courant de CO<sub>2</sub> est passé dans la solution toujours bouillante pour précipiter la baryte en excès<sup>7)</sup>. On filtre, et lave à l'eau chaude. La solution neutre obtenue est utilisée directement pour l'hydrogénation catalytique en 2,3-diméthyl-glucitol.

*2,3,6-Triméthylglucose.* Ce sucre est préparé selon *Jeanloz*<sup>8)</sup>.

*2,3,4-Triméthylglucose.* Le triméthyl-laevoglucosane est préparé selon *Zemplen et Braun*<sup>9)</sup> et hydrolysé comme ci-dessus.

*2,4,6-Triméthylglucose.* Le 3-benzylidiacétone-glucose<sup>10)</sup> est transformé selon *Freudenberg*<sup>11)</sup> en 3-benzylglucose. Celui-ci, après dissolution dans l'acétone est directement méthylé par le sulfate de méthyle en présence de NaOH aq. 30%<sup>12)</sup>. Après distillation de l'acétone et de l'alcool méthylique formé, on extrait 4 fois au chloroforme. Le sirop obtenu après évaporation de ce dernier est méthylé encore une fois et extrait de manière identique. Le sirop obtenu est distillé à 142—146<sup>0</sup> sous 0,2 mm de Hg. Le rendement en 3-benzyl-2,4,6-triméthyl- $\alpha + \beta$ -méthylglucoside ( $n_D^{20} = 1,4925$ ) est de 54%. Celui-ci, en solution à 8% dans l'éthanol à 98% est réduit en présence du 1/20 de son poids de Ni *Raney* par l'hydrogène sous 100 atmosphères et à 100<sup>0</sup> pendant deux heures. Le Ni *Raney* est filtré et l'alcool évaporé. Le toluène est éloigné au vide à 50<sup>0</sup>. Le 2,4,6-triméthyl- $\alpha + \beta$ -méthylglucoside est hydrolysé comme ci-dessus pour le 2,3-diméthylglucose. Après filtration et évaporation à sec, le résidu est recristallisé dans l'éther. Le 2,4,6-triméthylglucose pur, obtenu en rendement de 63% à partir du 3-benzyl-2,4,6-triméthyl- $\alpha + \beta$ -méthylglucoside, a les mêmes propriétés que celui de *Freudenberg et Plankenhorn*<sup>13)</sup>.

1) *T. S. Patterson et J. Robertson*, Soc. **1929**, 300.

2) *K. Freudenberg, H. Toepffer et C. Andersen*, B. **61**, 1758 (1928).

3) *R. Jeanloz*, communication privée.

4) Ce corps étant très facilement saponifié en milieu acide, il vaut mieux effectuer la recristallisation en présence d'un peu d'hydrogénocarbonate de sodium.

5) *R. Jeanloz*, Helv. **27**, 1509 (1944).

6) *J. C. Irvine et J. P. Scott*, Soc. **1913**, 582.

7) Ce procédé a été trouvé préférable à la neutralisation directe par le BaCO<sub>3</sub>, car celui-ci réagit lentement et seulement partiellement, ce qui en nécessite un fort excès rendant la filtration et le lavage plus compliqués.

8) *R. Jeanloz*, Helv. **27**, 1509 (1944).

9) *G. Zemplen et G. Braun*, B. **58**, 2567 (1925).

10) *M. H. Adams, R. E. Reeves et W. F. Goebel*, J. Biol. Chem. **140**, 653 (1941).

11) *K. Freudenberg*, B. **58**, 670 (1925). <sup>12)</sup> Cf. 8).

13) *K. Freudenberg et E. Plankenhorn*, A. **536**, 257 (1938).

*3,4,6-Triméthylglucose.* Le diacétoneglucose est méthylié en solution acétonique par le sulfate de méthyle en présence de NaOH 30%<sup>1)</sup>. L'acétone est éloignée par distillation et le sirop obtenu est distillé à 158° sous 15 mm. de Hg. Le 3-méthyldiacétone-glucose est obtenu par cette méthode avec un rendement de 92%.

Le reste de la préparation est effectué selon *Sundberg, McCloskey, Rees et Coleman*<sup>2)</sup>.

*2,3,4,6-Tétraméthylglucose.* Il est préparé selon *Myrbäck et Gyllensvård*<sup>3)</sup>.

### *Hydrogénation catalytique des méthylglucoses en méthyl-glicitols.*

L'hydrogénation en méthyl-glicitols est effectuée d'une manière identique pour les divers méthylglucoses.

Une solution neutre de 100 mgr. à 10 gr. de méthylglucose dans 100 cm<sup>3</sup> d'eau est additionnée de 200 mgr. de Ni *Raney*<sup>4)</sup> et hydrogénée à 120° sous 100 atmosphères d'hydrogène pendant 16 heures dans un autoclave tournant en acier V2A à axe horizontal. On filtre du Ni *Raney* et vérifie le p<sub>H</sub> de la solution. Il est très important de travailler en solution parfaitement neutre. Un milieu acide détruit le catalyseur, un milieu alcalin épimérise le sucre<sup>5)6)</sup>.

Sur une partie aliquote de la solution, contenant environ 20 mgr. de substance, on contrôle que la réduction est totale par un dosage du pouvoir réducteur selon la méthode de *Willstätter et Schudel* modifiée<sup>7-9)</sup>. (L'emploi de solution d'iode et de thiosulfate 0,02 N permet de mettre en évidence jusqu'à 0,5 × 10<sup>-6</sup> mol.-gr. de méthylglucose.)

La solution de méthyl-glicitol est évaporée à sec au bain-marie. On reprend par l'acétone chaude, filtre, évapore à sec, et sèche au vide poussé sur P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Les rendements sont quantitatifs.

Les divers méthyl-glicitols préparés sont solubles dans l'eau, l'acétone, le méthanol, l'éthanol, la pyridine, et l'acétate d'éthyle chaud, peu solubles dans l'éther et le chloroforme, et insolubles dans le benzène et l'éther de pétrole. Ils sont très hygroscopiques.

### *2,3,4,6-Tétraméthyl-glicitol.*

Huile incolore.  $n_D^{20} = 1,4593$

$[\alpha]_D^{15} = +10,8^0 \pm 0,5^0$  (c = 4,35 dans l'eau)

87,07 mgr. dans 2 cm<sup>3</sup>; l = 1 dm;  $\alpha_D^{15} = +0,47^0 \pm 0,01^0$

3,814 mgr. ont donné 6,96 mgr. CO<sub>2</sub> et 3,14 mgr. H<sub>2</sub>O (F.W.)

C <sub>10</sub> H <sub>22</sub> O <sub>6</sub> (238,28)	Calculé C 50,40	H 9,31%
	Trouvé ,, 49,80	,, 9,21%

### *2,3,4-Triméthyl-glicitol.*

Cristaux blancs de p. de f. 64°.  $n_D^{20} = 1,4726$  (surfusion)

$[\alpha]_D^{15} = +8,3^0 \pm 0,5^0$  (c = 3,39 dans l'eau)

67,76 mgr. dans 2 cm<sup>3</sup>; l = 1 dm;  $\alpha_D^{15} = +0,28^0 \pm 0,01^0$

3,960 mgr. ont donné 6,92 mgr. CO<sub>2</sub> et 3,08 mgr. H<sub>2</sub>O (F.W.)

C <sub>9</sub> H <sub>20</sub> O <sub>6</sub> (224,25)	Calculé C 48,20	H 8,99%
	Trouvé ,, 47,69	,, 8,70%

<sup>1)</sup> Cf. <sup>8)</sup> p. 1697.

<sup>2)</sup> R. L. Sundberg, C. M. McCloskey, D. E. Rees et G. H. Coleman, Am. Soc. **67**, 1080 (1945).

<sup>3)</sup> K. Myrbäck et E. Gyllensvård, Svensk. Kem. Tidskr. **53**, 461 (1941).

<sup>4)</sup> L'alliage *Raney* (53% Al—47% Ni) nous a été gracieusement fourni par la maison H. Jacob, à Genève, que nous remercions vivement. Le Ni *Raney* activé a été préparé selon Borisoglebskii, Ž. prikl. Chim. **13**, 571 (1940); C. A. **31**, 1032/1 (1941).

<sup>5)</sup> W. E. Cake, Am. Soc. **44**, 860 (1922).

<sup>6)</sup> M. L. Wolfrom, B. W. Lew, R. A. Hales et R. M. Goepf, Am. Soc. **68**, 2342 (1946).

<sup>7)</sup> R. Willstätter et G. Schudel, B. **51**, 780 (1918).

<sup>8)</sup> K. Linderström-Lang et H. Holter, Ann. chim. anal. **39**, 116 (1934); C. r. Trav. Carlsberg **19**, 1 (1934).

<sup>9)</sup> R. Jeanloz, Helv. **29**, 57 (1946).

*2,3,6-Triméthyl-glucitol.*

Huile incolore.  $n_D^{20} = 1,4725$   
 $[\alpha]_D^{15} = +3,4^0 \pm 0,5^0$  (c = 2,64 dans l'eau)  
 52,73 mgr. dans 2 cm<sup>3</sup>; l = 1 dm;  $\alpha_D^{15} = +0,09^0 \pm 0,01^0$   
 3,990 mgr. ont donné 6,99 mgr. CO<sub>2</sub> et 3,23 mgr. H<sub>2</sub>O (F.W.)  

C <sub>9</sub> H <sub>20</sub> O <sub>6</sub> (224,25)	Calculé C 48,20	H 8,99%
	Trouvé ,, 47,81	,, 9,06%

*2,4,6-Triméthyl-glucitol.*

Huile incolore.  $n_D^{20} = 1,4728$   
 $[\alpha]_D^{15} = +13,1^0 \pm 0,5^0$  (c = 2,52 dans l'eau)  
 50,41 mgr. dans 2 cm<sup>3</sup>; l = 1 dm;  $\alpha_D^{15} = +0,33^0 \pm 0,01^0$   
 3,908 mgr. ont donné 6,83 mgr. CO<sub>2</sub> et 3,14 mgr. H<sub>2</sub>O (F.W.)  

C <sub>9</sub> H <sub>20</sub> O <sub>6</sub> (224,25)	Calculé C 48,20	H 8,99%
	Trouvé ,, 47,69	,, 8,99%

*3,4,6-Triméthyl-glucitol.*

Huile incolore.  $n_D^{20} = 1,4728$   
 $[\alpha]_D^{20} = +15,1^0 \pm 0,5^0$  (c = 2,06 dans l'eau)  
 41,11 mgr. dans 2 cm<sup>3</sup>; l = 1 dm;  $\alpha_D^{20} = +0,31^0 \pm 0,01^0$   
 3,884 mgr. ont donné 6,86 mgr. CO<sub>2</sub> et 3,16 mgr. H<sub>2</sub>O (F.W.)  

C <sub>9</sub> H <sub>20</sub> O <sub>6</sub> (224,25)	Calculé C 48,20	H 8,99%
	Trouvé ,, 48,20	,, 9,10%

*2,3-Diméthyl-glucitol.*

Huile incolore.  $n_D^{20} = 1,4852$   
 $[\alpha]_D^{15} = +13,0^0 \pm 0,5^0$  (c = 2,54 dans l'eau)  
 50,86 mgr. dans 2 cm<sup>3</sup>; l = 1 dm;  $\alpha_D^{15} = 0,33^0 \pm 0,01^0$   
 3,974 mgr. ont donné 6,67 mgr. CO<sub>2</sub> et 2,92 mgr. H<sub>2</sub>O (F.W.)  

C <sub>8</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub> (210,22)	Calculé C 45,71	H 8,63%
	Trouvé ,, 45,80	,, 8,22%

*Azoylation des méthyl-glucitols en azoyl-méthyl-glucitols.*

Les divers méthyl-glucitols sont azoylés dans des conditions identiques. 50 à 200 mgr. de méthyl-glucitol sont additionnés de chlorure de l'acide azoïque<sup>1)</sup> en excès de 20% sur la quantité théorique<sup>2)</sup> et de 8 cm<sup>3</sup> de pyridine anhydre purifiée au permanganate. On laisse pendant 24 heures à 36°, puis chauffe pendant 8 heures à reflux à l'abri de l'humidité. Après refroidissement on ajoute goutte à goutte en agitant 0,5 cm<sup>3</sup> d'eau pour détruire l'excès de chlorure d'acide sans former d'anhydride azoïque qui est très difficilement séparable des azoyl-méthyl-glucitols<sup>4)</sup>. Après 30 minutes la pyridine est distillée au vide et le résidu obtenu est débarrassé de la pyridine qu'il contient par séchage de 2 heures au vide poussé.

1) Organic Syntheses, **25**, 86, 87 (1945), (New York).

2) W. S. Reich, C. r. **208**, 589, 748 (1939); Biochem. J. **33**, 1000 (1939).

3) J. K. Mertzweiler, D. M. Carney et F. F. Farley, Am. Soc. **65**, 2367 (1943).

4) G. H. Coleman, D. E. Rees, R. L. Sundberg et C. M. McCloskey, Am. Soc. **67**, 381 (1945).

On reprend le résidu par 25 cm<sup>3</sup> de chloroforme et secoue dans un entonnoir à séparation avec 25 cm<sup>3</sup> d'eau contenant 1% d'HCl pour enlever le chlorhydrate de pyridine et les dernières traces de pyridine. L'acide azoïque précipite, et l'on filtre le tout sur un filtre 3G3 garni d'une couche de 0,5 cm d'épaisseur d'alumine III. L'alumine est lavée par 3 portions de 2 cm<sup>3</sup> de chloroforme. La couche aqueuse est séparée, et la couche chloroformique est secouée encore avec deux portions de 25 cm<sup>3</sup> d'eau contenant 1% d'HCl. Il est très important d'enlever les dernières traces de pyridine car celles-ci gêneraient la chromatographie de purification. La couche chloroformique, séparée, est évaporée à sec au vide, et le résidu est séché au vide poussé sur P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> pendant deux heures.

On procède alors à la chromatographie de purification qui permet d'éloigner des azoyl-méthyl-glucitols les traces d'acide azoïque et de méthyl-glucitols partiellement azoylés et ayant donc encore des hydroxyles libres. Ces impuretés gêneraient les analyses chromatographiques ultérieures. Le résidu précédent est dissous dans 8 cm<sup>3</sup> de chloroforme et passé à travers une colonne d'oxyde d'aluminium III de deux cm. de diamètre sur 7 cm. de hauteur, imbibée de chloroforme. On développe par 100 cm<sup>3</sup> de chloroforme. L'acide azoïque se trouve au sommet de la colonne, les méthyl-glucitols incomplètement azoylés et possédant encore des hydroxyles libres forment une bande de 1 à 2 cm. de haut au milieu de la colonne, tandis que les méthyl-glucitols totalement azoylés ont entièrement passé dans le filtrat. Celui-ci est évaporé à sec et le résidu est séché 2 heures au vide poussé. Le rendement est de 90—93% à partir des méthyl-glucitols.

Les azoyl-méthyl-glucitols sont recristallisés dans l'acétate d'éthyle ou l'alcool éthylique à 98%. Ils sont solubles dans le chloroforme, le benzène, le chlorobenzène, le nitrobenzène, la pyridine, l'acétone, l'éther éthylique, l'éther butylique normal, l'acétate d'éthyle chaud, l'éthanol bouillant, peu solubles dans l'éther de pétrole, le méthanol, l'éthanol froid, et insolubles dans l'eau. Ils sont roses à l'état cristallin, et passent au rouge sombre par fusion.

#### *1,5-Diazoyl-2,3,4,6-tétraméthyl-glucitol.*

Cristaux roses, p. de f. 159° (acétate d'éthyle ou éthanol)

$[\alpha]_D^{15} = -55^\circ \pm 2^\circ$  (c = 0,62 dans le benzène)<sup>1)</sup>

12,33 mgr. dans 2 cm<sup>3</sup>; l = 1 dm;  $\alpha_D^{15} = -0,34^\circ \pm 0,01^\circ$

2,686 mgr. ont donné 0,213 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (22°, 725 mm) (F.W.)

C<sub>36</sub>H<sub>38</sub>O<sub>8</sub>N<sub>4</sub> (654,69) Calculé N 8,56 Trouvé N 8,75%

#### *1,5,6-Triazoyl-2,3,4-triméthyl-glucitol.*

Cristaux roses, p. de f. 85° (éthanol)

$[\alpha]_D^{18} = +50^\circ \pm 2^\circ$  (c = 0,61 dans le benzène)<sup>1)</sup>

12,12 mgr. dans 2 cm<sup>3</sup>; l = 1 dm;  $\alpha_D^{18} = +0,30^\circ \pm 0,01^\circ$

2,265 mgr. ont donné 0,197 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (15°, 727 mm) (E.P.F.)

C<sub>45</sub>H<sub>44</sub>O<sub>9</sub>N<sub>6</sub> (848,88) Calculé N 9,91 Trouvé N 9,86%

#### *1,4,5-Triazoyl-2,3,6-triméthyl-glucitol.*

Cristaux roses, p. de f. 170° (éthanol)

$[\alpha]_D^{18} = +30^\circ \pm 2^\circ$  (c = 0,57 dans le benzène)<sup>1)</sup>

11,45 mgr. dans 2 cm<sup>3</sup>; l = 1 dm;  $\alpha_D^{18} = 0,17^\circ \pm 0,01^\circ$

4,150 mgr. ont donné 0,361 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (22°, 723 mm) (E.P.F.)

C<sub>48</sub>H<sub>44</sub>O<sub>9</sub>N<sub>6</sub> (848,88) Calculé N 9,91 Trouvé N 9,58%

<sup>1)</sup> Le coefficient d'extinction élevé des azoyl-méthyl-glucitols ne permet pas de travailler avec des concentrations et longueurs de cuves plus grandes.

*1,3,5-Triazol-2,4,6-triméthyl-glucitol.*

Cristaux roses, p. de f. 61° (éthanol)

$$[\alpha]_{\text{D}}^{18} = -36^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{ (c = 0,64 dans le benzène)}^1)$$

$$12,79 \text{ mgr. dans } 2 \text{ cm}^3; l = 1 \text{ dm}; \alpha_{\text{D}}^{18} = -0,23^{\circ} \pm 0,01^{\circ}$$

2,559 mgr. ont donné 0,228 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (17°, 725 mm) (E.P.F.)C<sub>48</sub>H<sub>44</sub>O<sub>9</sub>N<sub>6</sub> (848,88)    Calculé N 9,91    Trouvé N 10,00%*1,2,5-Triazol-3,4,6-triméthyl-glucitol.*

Cristaux roses, p. de f. 201° (acétate d'éthyle ou éthanol)

$$[\alpha]_{\text{D}}^{19} = -86^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{ (c = 0,64 dans le benzène)}^1)$$

$$12,73 \text{ mgr. dans } 2 \text{ cm}^3; l = 1 \text{ dm}; \alpha_{\text{D}}^{19} = -0,55^{\circ} \pm 0,01^{\circ}$$

2,908 mgr. ont donné 0,264 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (22°, 725 mm) (F.W.)C<sub>48</sub>H<sub>44</sub>O<sub>9</sub>N<sub>6</sub> (848,88)    Calculé N 9,91    Trouvé N 10,02%*1,4,5,6-Tétraazol-2,3-diméthyl-glucitol.*

Cristaux roses, p. de f. 181° (acétate d'éthyle ou éthanol)

$$[\alpha]_{\text{D}}^{15} = +104^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{ (c = 0,71 dans le benzène)}^1)$$

$$14,11 \text{ mgr. dans } 2 \text{ cm}^3; l = 1 \text{ dm}; \alpha_{\text{D}}^{15} = +0,73^{\circ} \pm 0,01^{\circ}$$

3,062 mgr. ont donné 0,299 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (17°, 714 mm) (E.P.F.)C<sub>60</sub>H<sub>50</sub>O<sub>10</sub>N<sub>9</sub> (1043,06)    Calculé N 10,74    Trouvé N 10,78%*Coefficient d'extinction et dosage photométrique des azoyl-méthyl-glucitols.*

$$\text{Coefficient d'extinction} = 100 \times \log_{10} \frac{I_0}{I} \times \frac{v}{p \cdot e}$$

où: v = volume du solvant en cm<sup>3</sup>  
 p = poids de substance en mgr.  
 e = épaisseur de la cuve en cm.

Une solution benzénique d'azoyl-méthyl-glucitols est photométrée contre du benzène pur au photomètre de *Pulfrich* en employant un filtre S 47 et une cuve de 1 cm d'épaisseur. La loi de *Beer* est suivie exactement dans les limites de lecture possibles, soit entre 0,02 et 1,5 mgr. de substance par cm<sup>3</sup> de benzène.

Le coefficient d'extinction est de:

176 ± 1 pour le 1,5-diazoyl-2,3,4,6-tétraméthyl-glucitol

209 ± 1 pour les quatre triazol-triméthyl-glucitols

233 ± 1 pour le 1,4,5,6-tétraazol-2,3-diméthyl-glucitol.

Les fractions obtenues après élution des différentes bandes des chromatogrammes de séparation sont évaporées à sec, dissoutes dans un volume connu de benzène et dosées par photométrie.

*Séparations chromatographiques (cf. tableau).*

*Généralités.* Des tubes de 0,8, 1,03, 1,30, et 1,65 cm. de diamètre sont utilisés pour des quantités d'azoyl-méthyl-glucitols à chromatographier de 2,5 à 40 mgr. Les conditions les meilleures sont: 1 cm<sup>3</sup> d'alumine par mgr. de substance à chromatographier, et un rapport diamètre: hauteur de colonne d'alumine de 1:7.

Pour séparer le 1,5-diazoyl-2,3,4,6-tétraméthyl-glucitol des triazol-triméthyl-glucitols, on emploie le benzène pour le remplissage de la colonne, la mise en solution et le développement, et l'alumine III comme adsorbant.

<sup>1)</sup> Le coefficient d'extinction élevé des azoyl-méthyl-glucitols ne permet pas de travailler avec des concentrations et longueurs de cuves plus grandes.

Pour séparer les triazolyl-triméthyl-glucitols entre eux, et le 1,4,5-triazolyl-2,3,6-triméthyl-glucitol du 1,4,5,6-tétrazolyl-2,3-diméthyl-glucitol, on emploie le chloroforme pour le remplissage de la colonne, la mise en solution et le développement, et l'alumine I comme adsorbant.

*Préparation de la colonne.* Le bas du tube est garni d'un tampon d'ouate surmonté d'un disque de papier filtre. Une suspension de floridine XXF dans le solvant approprié est versée dans le tube de façon à former une colonne de 2 à 5 cm. de haut après sédimentation. Pendant la sédimentation, les parois du tube sont martelées afin d'obtenir une colonne homogène. Puis deux longueurs de colonne<sup>1)</sup> de solvant sont passées sous une légère aspiration en ayant soin que la floridine ne devienne jamais sèche. On verse alors d'un coup une suspension d'alumine dans le solvant approprié, et martèle les parois du tube pendant la sédimentation. Le sommet de la colonne d'adsorbant est garni d'un disque de papier filtre, et l'on fait passer une longueur de colonne de solvant en ayant soin de ne pas laisser sécher la colonne.

Le solvant s'écoule par gravité sans surpression; sa vitesse linéaire d'écoulement  $V_c$ <sup>2)</sup>, mesurée dans la colonne d'adsorbant, doit être comprise entre 2,5 et 4 mm. par minute. Elle est réglée par la hauteur de la couche de floridine au bas de la colonne.

*Chromatographie.* Un mélange de quantités connues d'azolyl-méthyl-glucitols en solution de 1 à 2% dans le solvant approprié est filtrée à travers la colonne et forme une bande initiale de 3 à 5 mm. de haut. Cette bande est développée par passage d'une quantité de solvant telle que la bande inférieure atteigne le bas de la colonne d'alumine. 20 à 30 longueurs de colonne sont nécessaires pour ce développement. Le solvant est amené de manière continue par un dispositif qui maintient son niveau constant dans le tube de chromatographie.

Dans les séparations dans le benzène sur l'alumine III, le 1,5-diazolyl-2,3,4,6-tétraméthyl-glucitol reste au sommet de la colonne, en une bande nette et intense, tandis que le composé triméthylé forme une bande plus diffuse au bas de celle-ci. Dans les séparations dans le chloroforme sur l'alumine I, la bande supérieure, parfois un peu diffuse, se trouve au milieu de la colonne lorsque la bande inférieure, nette et intense, atteint le bas de la colonne d'alumine.

Une fois le développement terminé, on fait passer deux longueurs de colonne d'éther de pétrole (p. d'éb. 45—60°) à travers la colonne, et on laisse sécher celle-ci pendant 15 minutes. Les différentes bandes sont alors extraites du tube au moyen d'une spatule dont l'extrémité est recourbée, et versées chacune dans un petit tube vide garni d'un tampon d'ouate à la base. On élue alors les différentes bandes en faisant passer de l'acétone dans les tubes où elles ont été recueillies. L'élution est immédiate, et, après deux lavages, quantitative. Les filtrats sont recueillis et évaporés à sec. Les résidus, dissous dans le benzène sont dosés par photométrie. Ils sont ensuite cristallisés dans l'éthanol 98%, et identifiés par leur point de fusion et le point de fusion du mélange avec un spécimen authentique. Le tableau mentionne les principales séparations chromatographiques effectuées.

Les six mélanges binaires des quatre triazolyl-triméthyl-glucitols ont été séparés avec des erreurs inférieures à 15%.

Les dérivés triméthylés ont été séparés des dérivés di- et tétraméthylés avec des erreurs inférieures à 5%.

#### RÉSUMÉ.

1° La synthèse du 2,3,4,6-tétraméthyl-glucitol, du 2,3,4-triméthyl-glucitol, du 2,3,6-triméthyl-glucitol, du 2,4,6-triméthyl-glucitol, du 3,4,6-triméthyl-glucitol, et du 2,3-diméthyl-glucitol a été effectuée.

<sup>1)</sup> Une longueur de colonne est la quantité de développant se trouvant dans la colonne d'adsorbant pendant la chromatographie. Ce terme, impropre mais consacré par l'usage, désigne donc un volume.

<sup>2)</sup> Cf. réf. 1), p. 1694.

2° Ces méthyl-glucitols ont été respectivement azoylés en 1,5-diazoyl-2,3,4,6-tétraméthyl-glucitol, 1,5,6-triazoyl-2,3,4-triméthyl-glucitol, 1,4,5-triazoyl-2,3,6-triméthyl-glucitol, 1,3,5-triazoyl-2,4,6-triméthyl-glucitol, 1,2,5-triazoyl-3,4,6-triméthyl-glucitol, et 1,4,5,6-tétraazoyl-2,3-diméthyl-glucitol.

3° Des mélanges artificiels de ces azoyl-méthyl-glucitols ont été séparés par chromatographie.

Laboratoire de Chimie organique et inorganique  
de l'Université de Genève.

## 207. Recherches sur l'amidon XXXIV<sup>1)</sup>.

### La constitution de la lichénine

(2ème communication <sup>2)</sup>)

par R. A. Boissonnas.

(16 VIII 47)

La constitution de la lichénine a été étudiée récemment par Kurt H. Meyer et P. Gürtler<sup>3)</sup>). Par l'action de l'acide periodique sur la lichénine et par l'identification des sucres méthylés obtenus par hydrolyse de la lichénine entièrement méthylée ( $\% - \text{OCH}_3 = 45,6$ ), ces deux auteurs ont montré que la lichénine était composée de restes de glucose liés par des liaisons 1—4 dans la proportion de  $73 \pm 4\%$  et par des liaisons 1—3 dans la proportion de  $27 \pm 4\%$ .

Nous avons vérifié ces résultats en appliquant à la lichénine entièrement méthylée notre méthode d'analyse chromatographique décrite précédemment<sup>5)</sup>.

L'hydrolysate de la lichénine perméthylée est hydrogéné, azoylé, purifié, séparé par chromatographie, dosé et identifié, dans exactement les mêmes conditions que celles employées pour les sucres méthylés de référence.

On obtient ainsi:

$68 \pm 4\%$  de 1,4,5-triazoyl-2,3,6-triméthyl-glucitol (liaisons 1—4)  
 $32 \pm 4\%$  de 1,3,5-triazoyl-2,4,6-triméthyl-glucitol (liaisons 1—3)  
ce qui correspond, dans les limites d'erreurs indiquées, aux résultats de Kurt H. Meyer et P. Gürtler.

<sup>1)</sup> Communication N° XXXIII, Helv. **30**, 1689 (1947).

<sup>2)</sup> 1ère communication: Helv. **30**, 751 (1947).

<sup>3)</sup> Kurt H. Meyer et P. Gürtler, Helv. **30**, 751 (1947).

<sup>4)</sup> P. Gürtler, Thèse N° 1091. Université de Genève.

<sup>5)</sup> R. A. Boissonnas, Helv. **30**, 1689 (1947).