

Reaktion im Reaktionsgefäß herrschende Konzentration geschätzt werden. Da wir inzwischen die Cyclisationskonstanten der übrigen Lactone auf eine bestimmte Anfangskonzentration bezogen haben, so erschien es uns für die Erreichung einwandfreier, vergleichbarer Resultate wünschenswert, die obige Schätzung durch einen Versuch bei einer bekannten Anfangskonzentration zu ersetzen. Wir fanden nunmehr eine höhere C-Konstante und machten in einer Fussnote ausdrücklich auf die früher zu tief gefundene Konstante aufmerksam.

Anstatt nun diesen Zusammenhang so aufzufassen, wie er aus unseren Texten hervorgeht, nimmt der obige Autor unsere geschätzte Konzentration als sicher richtig an und versucht sogar noch, den Eindruck zu erwecken, sie sei womöglich noch ungünstiger gewesen, obschon er in der gleichen Abhandlung auf S. 744, 23. Zeile von unten betont, dass beim Zulaufverfahren eine Abschätzung der Konzentration unmöglich sei. Dort wollte eben Herr *Salomon* zeigen, dass die Ermittlung der richtigen Konzentrationen erst durch seine kinetischen Messungen möglich geworden sei. In unserem Fall galt es dagegen zu zeigen, dass unsere Arbeiten im Gegensatz zu den seinigen keine zuverlässigen Resultate liefern können. Daher kommt es ihm gar nicht darauf an, diesmal unsere Schätzung trotz unserer Korrektur schlangweg als vollständig richtig hinzustellen, indem er sie direkt in einer tabellarischen Zusammenstellung (seine Tabelle 24) dazu benützt, um zu beweisen, dass das Zulaufverfahren beim 11-Ring unwirksam sei. Auf Grund „dieses“ Beweisverfahrens erklärt er hierauf unsere Versuche ohne weiteres als nicht reproduzierbar. Kommentare sind hier überflüssig<sup>1)</sup>.

Genf, Laboratorium der Firma *Firmenich & Co.* vormalis  
*Chuit, Naef & Co.*

---

### 135. Sur une nouvelle série de réactifs du groupe carbonyle, leur utilisation à l'extraction des substances cétoniques et à la caractérisation microchimique des aldéhydes et cétones <sup>2)</sup>

par André Girard et Georges Sandulesco.

(27. V. 36.)

Au cours de recherches effectuées dans ces dernières années et ayant pour objet l'isolement des hormones sexuelles cétoniques à partir des urines, nous avons été amenés à préparer de nouveaux réactifs du groupe carbonyle que nous croyons susceptibles de rendre d'appréciables services au laboratoire:

1<sup>o</sup> lorsqu'il s'agit d'extraire à partir des matières naturelles complexes, de très petites quantités de cétones qui y sont contenues.

2<sup>o</sup> d'isoler très rapidement et quantitativement les cétones qui ont pris naissance au cours d'une réaction chimique.

3<sup>o</sup> de différencier une aldéhyde d'une cétone.

---

<sup>1)</sup> Die Redaktion erklärt hiemit die Diskussion dieser Angelegenheit für abgeschlossen.

<sup>2)</sup> Communication présentée à l'assemblée d'été de la Société suisse de Chimie, le 28 août 1936, à Soleure; publiée avec l'autorisation spéciale du Comité de rédaction.

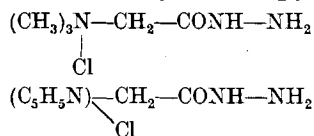
4<sup>o</sup> de caractériser la présence de substances carbonylées dans les matières naturelles par une réaction de précipitation analogue à celle des alcaloïdes.

Le but que nous nous étions proposé était, non plus d'engager les composés carbonylés en des combinaisons peu solubles, comme c'est le cas pour les semicarbazones, par exemple, mais tout au contraire de les combiner à des dérivés hydraziniques, tels que les nouveaux corps obtenus soient solubles dans l'eau et aussi peu solubles que possible dans les solvants organiques non hydroxylés.

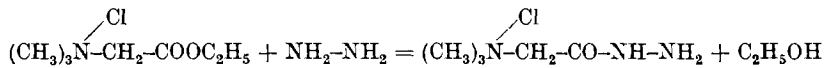
Le problème ainsi posé semblait pouvoir être résolu par l'emploi de l'aminoguanidine, ou de quelques-uns de ses dérivés de substitution azotés, tels la diaminoguanidine et la triaminoguanidine. En fait ces corps donnent bien avec les cétones des combinaisons solubles dans l'eau à la faveur des acides minéraux, mais ces combinaisons sont, en milieu acide, d'une instabilité telle qu'il est impossible de les utiliser dans la pratique.

Le but recherché a été atteint par l'emploi d'hydrazides à fonction ammonium quaternaire, corps dont les premiers termes sont éminemment faciles à préparer, et qui, fait curieux, n'ont fait l'objet d'aucune étude jusqu'à ce jour.

Nous ne ferons état dans le présent travail que des corps dont les deux fonctions sont situées en  $\alpha$  et qui, seuls, sont aisément accessibles. Parmi eux nous n'avons retenu que deux substances: le chlorure de triméthyl-acéthydrazide-ammonium (réactif *T* par abréviation) et le chlorure d'acéthydrazide-pyridinium (réactif *P*):



Tous deux se préparent avec des rendements presque quantitatifs par action de l'hydrate d'hydrazine sur les éther-sels betaïniques correspondants en solution alcoolique.



La réaction est immédiate, elle s'effectue avec un vif dégagement de chaleur, et, si les concentrations sont convenables, le sel formé se sépare en magnifiques cristaux.

Le réactif *T* est en aiguilles blanches, éminemment solubles dans l'eau, qu'il faut garder en flacons bien bouchés, car il attire vivement l'humidité de l'air; il est soluble à froid dans 150 parties d'alcool absolu, plus soluble dans le méthanol, très soluble dans l'acide acétique, la glycérine, le glycol, insoluble dans les solvants organiques non hydroxylés.

Le réactif *P* est moins soluble que le précédent, il n'est pas hygroscopique, il peut être séché à l'air libre et conservé sans précautions.

Dans la technique on emploie de préférence ce dernier dont la préparation est plus économique. Par contre, comme nous le verrons plus loin, le réactif *T* permet seul la caractérisation qualitative du groupe carbonyle. En outre, sa plus grande solubilité fait que nous lui donnons volontiers la préférence au laboratoire.

*Combinaison avec les aldéhydes et cétones.*

En milieu strictement neutre la combinaison des réactifs *T* et *P* avec les composés carbonylés est toujours extrêmement lente, et dans un grand nombre de cas ne se produit pas du tout, même par un chauffage prolongé.

Une certaine acidité du milieu est indispensable et nous avons reconnu que la réaction se produit avec le maximum de rapidité au sein de l'acide acétique pur.

Comme l'emploi de ce solvant est cependant exceptionnel, nous effectuons presque toujours la réaction au sein de l'alcool, additionné de 10% d'acide acétique.

Le réactif sera toujours employé en large excès; dans la pratique nous opérons uniformément avec une solution alcoolique préparée extemporanément et renfermant 10% d'acide acétique et 5 ou 10% du réactif hydrazinique.

Dans ces conditions la combinaison est achevée après 20 à 30 minutes de chauffage à reflux; s'il s'agit de l'extraction d'une cétone inconnue, il est toutefois préférable de prolonger le reflux pendant une heure.

Les acéthydrazones à fonction ammonium quaternaire sont des corps cristallisés, solubles dans l'eau et les alcools, insolubles dans les solvants organiques non hydroxylés. Comme leur isolement à l'état pur n'est d'aucun secours pour l'identification des aldéhydes et cétones, nous ne les décrivons pas en tant qu'individus chimiques.

En solutions aqueuses elles se comportent comme de véritables alcaloïdes vis-à-vis des réactifs de précipitation de ce groupe, toutefois, seules les hydrazones dont le poids moléculaire est très élevé se laissent précipiter par les alcalis ou les carbonates alcalins.

Si la réaction du milieu est très voisine de la neutralité, ces solutions sont relativement stables: elles gardent leur limpidité pendant au moins 24 heures lorsque le  $p_H$  est compris entre 6,5 et 7.

Cette stabilité est d'ailleurs beaucoup plus grande à basse température, et on peut être amené, dans certains cas particuliers, à ne manipuler ces solutions qu'après addition de glace.

Tandis que les acéthydrazones quaternaires aldéhydiques se montrent d'une très grande stabilité vis-à-vis des acides, même minéraux, à l'ébullition, il en est tout autrement des solutions aqueuses obtenues par les réactifs *T* ou *P* et les cétones.

Si le  $p_H$  est inférieur à 6, l'hydrolyse se poursuit déjà à la température ordinaire très rapidement. Si la cétone est insoluble dans l'eau, une simple addition d'acide acétique dans la solution amène déjà un trouble après quelques minutes. L'acide oxalique produit une hydrolyse très rapide. Un acide minéral fort, tel que les acides chlorhydrique et sulfurique, ajoutés à une concentration voisine de normale provoque une hydrolyse totale, dans un temps qui varie d'une minute à une heure à la température ordinaire.

Si une solution aqueuse renferme, dissoutes à l'aide du réactif *T* (ou *P*) à la fois des aldéhydes et des cétones, l'addition de 50 grammes par litre d'acide sulfurique permet, après une heure de repos, de séparer quantitativement les cétones extractibles à l'éther, tandis que les aldéhydes demeurent en solution.

Il est généralement possible de décomposer ces combinaisons aldéhydiques, par intervention de la chaleur en milieu fortement acide, après addition d'un large excès de formol, mais cette régénération des aldéhydes dissoutes est malaisée et incomplète. De plus, les conditions sévères de l'hydrolyse altèrent souvent profondément les aldéhydes.

En pratique les réactifs *T* et *P* ne conviennent pas pour l'étude des aldéhydes.

Dans toute la mesure où il est permis d'extrapoler dans un tel domaine et de généraliser les constatations, trop peu nombreuses, faites jusqu'ici, nous dirons que cette haute résistance des hydrazones à fonction ammonium quaternaire, vis-à-vis de l'hydrolyse acide, est caractéristique du groupe aldéhydique et le différencie du groupe cétonique.

---

La technique d'isolement de la fraction cétonique totale d'une matière naturelle peut être ainsi schématisée:

1° la substance est dissoute dans l'alcool absolu, celui-ci additionné de 10% d'acide acétique exactement pesé ou mesuré, puis de 5 à 10% de réactif *T* ou *P* (selon la teneur probable en substances carbonylées). On porte le tout à reflux pendant 30 à 60 minutes.

2° après refroidissement on précipite cette solution alcoolique dans de l'eau glacée, contenant assez de soude pour neutraliser les 9/10 de l'acide acétique ajouté, ce qui amène automatiquement le  $p_H$  à une valeur convenable. Il sera bon de vérifier dans chaque cas, que le mélange ne bleuit pas l'indicateur au bromothymol. La

quantité d'eau et de glace ajoutée sera telle que le mélange final ne renfermera plus que 10 à 20 % d'alcool.

Cette solution sera copieusement extraite avec un solvant non hydroxylé approprié, l'éther par exemple, qui ne dissout aucune trace de la combinaison cétonique, puis,

3° la solution ainsi épuisée sera additionnée à froid d'acide chlorhydrique ou sulfurique, de manière à atteindre une concentration n. ou 0,5-n. Après une heure de repos à la température ambiante, on pratique une nouvelle extraction à l'éther, qui, par distillation fournit «la fraction cétonique totale» de la substance mise en expérience.

Il va sans dire, toutefois, que la pureté de cette fraction dépendra de quelques facteurs: perfection de l'extraction préalable, absence de substances très solubles dans l'eau et médiocrement solubles dans le solvant choisi, absence d'émulsion au cours de la première extraction.

Cette question des émulsions doit retenir quelque peu l'attention, car en pratique, c'est la seule difficulté qu'on est susceptible de rencontrer. Certaines cétones à poids moléculaires élevés donnent avec les réactifs *T* et *P* des combinaisons douées d'un pouvoir émulsionnant considérable. D'une façon tout à fait générale, l'addition d'une certaine quantité d'alcool permet de résoudre les émulsions. Pour chaque cas particulier, il existe une teneur minima d'alcool qui rend possible les séparations franches des couches hydro-alcoolique et étherée. Quelques tâtonnements suffiront pour la déterminer.

Si on a été amené, dans les cas très difficiles, (stéarone par exemple) à ajouter à la phase aqueuse une forte proportion d'alcool, l'extraction par l'éther des fractions non cétoniques pourra être assez incomplète, la fraction cétonique sera souillée, mais le passage d'un peu d'alcool dans la phase étherée n'entraînera pas de perte sensible de cétone.

Il est quelques cas extrêmes, cependant, où la formation d'émulsions est presque inévitable, en raison, sans doute, de la structure particulière des cétones et de leur poids moléculaire considérable. On devra alors modifier complètement le mode opératoire ci-dessus décrit, en mettant à profit la solubilité des combinaisons cétoniques du réactif *T*, et du réactif lui-même, dans le glycol et l'insolubilité presque totale de ce dernier solvant dans l'éther. On opérera de la manière suivante:

La matière à étudier est chauffée à reflux pendant une heure avec une quantité convenable d'alcool absolu, renfermant 10 % d'acide acétique et 5 à 10 % de réactif *T*. On ajoute ensuite à ce mélange une quantité de glycol égale au volume de l'alcool employé, puis on distille la majeure partie de ce dernier dans la vide.

Sur la solution glycolique restante on effectue autant d'extractions avec de l'éther *sec* qu'il est nécessaire pour éliminer les fractions non cétoniques, sans se préoccuper de neutraliser l'acide acétique, puisqu'aucune hydrolyse n'est à craindre en milieu anhydre. Lorsque l'éther n'extrait plus rien, on dilue la solution glycolique avec un grand volume d'eau, on acidifie à la normale avec de l'acide sulfurique, puis après une heure d'abandon on extrait la fraction cétonique à l'éther.

C'est ce dernier mode opératoire qui fut appliqué sur un extrait de vitamine *E*, hautement purifié, que le Professeur *Drummond* voulut bien nous confier. La fraction cétonique qui pesait quelques milligrammes seulement fut trouvée inactive<sup>1)</sup>.

Il va sans dire que les deux modes opératoires que nous venons de décrire peuvent être modifiés et variés dans de grandes limites, et faire intervenir, par exemple, la filtration ou la centrifugation, à la place de l'extraction étherée.

Certaines cétones se combinent aux réactifs *T* et *P* avec des vitesses extrêmement variables, d'autres, une fois combinées, ne se laissent hydrolyser qu'avec plus ou moins de lenteur. Les deux phénomènes ne paraissent toutefois pas être le corollaire l'un de l'autre. Les méthylcétones semblent se combiner avec le maximum de rapidité: au sein de l'acide acétique la combinaison est totale en quelques secondes à froid, toutefois les arylméthylcétones font exception à cette règle, leur combinaison est considérablement plus lente. Cette action empêchante des groupes aryles, fixés sur le carbonyle, est portée au maximum dans les diarylcétones, c'est ainsi que la benzophénone ne se combine plus avec le réactif *T* qu'avec la plus extrême difficulté et avec le concours d'un chauffage très prolongé.

Les cyclanones, d'une façon générale, nous ont paru se combiner moins vite que les méthylcétones sauf lorsqu'elles renferment une double liaison en  $\alpha, \beta$  comme la cholesténone et la testostérone. Dans ce dernier cas, nous avons noté que les combinaisons hydro-solubles montraient une plus grande résistance à l'hydrolyse acide.

Cette grande variabilité dans l'aptitude à l'hydrolyse des hydrazones *T* a été mise, par nous, plusieurs fois à profit pour séparer, non seulement, les aldéhydes des cétones, mais effectuer un véritable fractionnement dans le groupe même des cétones.

Dans les conditions expérimentales habituelles, nous n'avons pas observé de fixation du réactif hydrazinique sur les doubles liaisons, dans le cas des cétones  $\alpha, \beta$  non saturées, cependant il nous paraît impossible d'exclure complètement cette possibilité.

---

<sup>1)</sup> *Drummond, Singer, Mac Walter, Biochem. J. 29, 2510 (1935).*

Comme il était prévisible, l'accumulation des groupements substituants dans le voisinage du carbonyle, atténue ou fait disparaître l'aptitude à la combinaison. C'est ainsi que le diméthyl-camphre ne se combine plus au réactif *T*, qui, à cet égard, se comporte comme la semicarbazide elle-même.

---

*Recherche qualitative des composés carbonylés.*

Nous avons vu que les hydrazones hydrosolubles fournies par les réactifs *T* et *P* se comportent comme de véritables sels d'alcaloïdes, à l'égard des réactifs généraux de précipitation de ce groupe. Comme certains d'entre eux ne donnent pas de précipités avec le chlorure de triméthyl-acéthylhydrazide-ammonium, *lorsque certaines conditions particulières sont réalisées*, il était possible de fonder sur l'emploi de ce dernier réactif (le réactif *P* ne convenant pas ici) une méthode de caractérisation de groupe pour les substances carbonylées.

L'acide picrique ne précipite pas le réactif *T* en solution convenablement diluée, par contre il précipite les hydrazones *T*, mais la sensibilité de cette réaction de précipitation est assez faible, de plus elle est très diminuée par la présence d'alcool et d'éther dans le milieu aqueux.

L'iodure double de bismuth et de potassium se montre un réactif beaucoup plus sensible; il ne précipite pas lui-même le réactif *T* lorsque les conditions suivantes sont réalisées:

1<sup>o</sup> dilution convenable de la phase aqueuse de manière que la concentration en réactif *T* ne dépasse pas 1/100.

2<sup>o</sup> addition à la phase aqueuse de 10% d'iodure de potassium cristallisé.

3<sup>o</sup> emploi, en quantité limitée, d'un réactif convenablement dilué et renfermant une teneur minimum d'acide minéral.

Ce réactif est le suivant:

Iodure de bismuth pur pulvérisé . . .	1 gr.
Iodure de potassium . . . . .	10 „
Acide chlorhydrique concentré . . .	5 cm <sup>3</sup>
Eau, Q.S. pour . . . . .	100 „

La présence d'une hydrazone *T* dans la solution provoque la formation immédiate d'un précipité orangé floconneux. On ne tiendra pas compte du beau précipité cristallin rouge qui se forme parfois au fond des tubes à essais, après quelques heures d'abandon, et qui est dû au réactif *T* lui-même. La production de ce dernier est toujours extrêmement lente.

En pratique la solution aqueuse, dans laquelle on cherche à caractériser la présence de composés carbonylés, aura la même

composition que celle précédemment décrite, c'est-à-dire qu'elle renfermera 10% d'alcool, 1% de réactif *T* plus ou moins complètement combiné, 1% d'acide acétique neutralisé pour les 9/10, enfin elle sera saturée d'éther, à la suite de l'extraction des substances non cétoniques. Comme les iodobismuthates des hydrazones *T* sont solubles dans l'éther, la sensibilité de la réaction sera accrue si on a eu soin d'éliminer la majeure partie de l'éther en soufflant avec la bouche par un tube effilé plongeant au fond du tube à essais; après 1 à 2 minutes de soufflage l'éther est pratiquement éliminé.

On prélèvera donc 10 cm<sup>3</sup> de la solution dans l'ampoule à décantation, on ajoutera 1 gr. d'iodure de potassium cristallisé, on chassera l'éther comme nous venons de l'indiquer, puis on ajoutera 1 cm<sup>3</sup> du réactif iodobismuthique. Si cette quantité de réactif n'est pas suffisante pour précipiter la totalité des cétones ou aldéhydes présentes on ajoutera une nouvelle quantité de réactif jusqu'à ce que l'eau-mère présente une coloration jaune.

Mais le réactif, de beaucoup le plus sensible, dont nous recommandons particulièrement l'emploi est l'iodomercurate de potassium, employé lui aussi dans des conditions bien définies.

On préparera donc la solution suivante:

Iodure de mercure . . . . .	5 gr.
Iodure de potassium . . . . .	10 „
Eau . . . . .	500 cm <sup>3</sup>

On prélèvera 10 cm<sup>3</sup> de la solution aqueuse à examiner dans un large tube à essais, on éliminera l'éther avec soin par 2 à 3 minutes de soufflage et on ajoutera 1 cm<sup>3</sup> de la solution iodomercurique. Si les hydrazones *T* sont en quantité importante, on versera du réactif jusqu'à ce que le précipité n'augmente plus; s'il ne se produit qu'un louche on se gardera d'ajouter un excès de réactif.

Au cours de la préparation du réactif *T*, de petites quantités de bases prennent naissance, qui donnent des précipités très peu solubles avec l'iodomercurate de potassium. Il est donc indispensable de n'employer pour la recherche précédente qu'un réactif de très grande pureté, spécialement préparé et conservé en tube scellé, qu'on contrôlera au moment de l'emploi, par des essais témoins.

Il va sans dire que la cause d'erreur très grossière, que constituerait la présence d'alcaloïdes vrais dans la matière à essayer, devra être éliminée par un traitement approprié, tel qu'une extraction très complète de la substance, mise en solution étherée, par l'acide chlorhydrique dilué.

La sensibilité de la méthode que nous venons de décrire, est en général grande, bien qu'elle comporte de très importantes variations suivant la nature des composés carbonylés et surtout la grandeur de leur poids moléculaire.



L'iodomercurate de potassium donne encore un louche très sensible avec des solutions renfermant 30  $\gamma$  d'aldéhyde cinnamique par  $\text{cm}^3$ .

Avec la folliculine la sensibilité est telle qu'elle permet de mettre en évidence la présence de quelques  $\gamma$  dans un essai microchimique

---

Les nouveaux hydrazides à fonction ammonium quaternaire, qui font l'objet de ce mémoire, ne sauraient prétendre se substituer aux grands réactifs du carbonyle qui ont joué un rôle si important dans le progrès de la chimie organique et notamment dans l'analyse immédiate des matières naturelles. Ils permettront cependant, presque toujours, de concentrer dans une très faible fraction la totalité des substances cétoniques présentes dans un extrait quelconque, même lorsque celles-ci n'existent qu'en quantités pratiquement impondérables, ce qu'aucune autre méthode ne permettait de réaliser.

Plusieurs substances cétoniques, douées d'une très grande activité physiologique, ont été découvertes dans ces dernières années, tant dans les urines, que dans les tissus animaux et végétaux. La folliculine de l'urine des femelles gravides, l'androstérone et la trans-déhydro-androstérone de l'urine d'homme, la testostérone du testicule et la progestérone du corps jaune, se laissent concentrer ou isoler par notre méthode avec la plus grande facilité.

Récemment, *Reichstein*<sup>1)</sup> au cours d'un travail fondamental sur l'hormone corticosurrénale et les substances si intéressantes qui l'accompagnent, a utilisé avec succès les propriétés du chlorure de triméthyl-acéthydrazide-ammonium.

Entre nos mains, le réactif *T* a permis de réaliser, dès 1931, la première fabrication industrielle de la folliculine. Depuis nous avons pu, grâce à lui, mettre en évidence la présence de constituants cétoniques dans de nombreuses substances naturelles où leur présence était jusqu'ici ignorée, telle l'huile d'olives, par exemple, dont le principe odorant est de nature cétonique. Des essences naturelles réputées pour leur pauvreté en substances carbonylées ont fourni, par le traitement décrit plus haut, une importante fraction cétonique dont nous nous proposons de poursuivre l'étude.

#### PARTIE EXPÉRIMENTALE.

##### *Préparation du chlorure de triméthyl-acéthydrazide-ammonium.*

Dans un ballon de 5 litres on introduit 2 litres d'alcool absolu, 984 gr. de chloracétate d'éthyle, puis 280 gr. de triméthylamine anhydre, préalablement bien refroidie dans un mélange réfrigérant.

---

<sup>1)</sup> *Reichstein*, Helv. **19**, 29 (1936).

La réaction commence presque aussitôt et l'échauffement porte le liquide vers 75°, sans qu'il y ait toutefois perte sensible d'amine. Après 12 à 24 heures de repos, on ajoute de nouveau 200 gr. de triméthylamine, et on laisse la réaction s'achever d'elle-même jusqu'au lendemain. On s'assurera que la réaction est complète en précipitant quelques centimètres cubes de la liqueur dans l'eau acidulée; la solution ainsi obtenue doit être limpide et ne plus présenter l'odeur du chloracétate d'éthyle.

Dans la solution d'éther-sel éthylique de la betaine ainsi obtenue, on ajoute, d'un seul coup, 400 gr. d'hydrate d'hydrazine pur. Une réaction immédiate très exothermique se produit, accompagnée d'un léger dégagement de bulles gazeuses. On agite vivement le liquide, qui, après un temps variant de quelques minutes à une heure, se prend en un magma cristallin très compact. Après un jour de refroidissement à la glacière, on jette sur filtre, on essore avec soin la masse d'aiguilles blanches, on la lave avec un peu d'alcool absolu glacé, en évitant, autant que possible, de prolonger le contact avec l'humidité de l'air. Le réactif *T* est ensuite séché dans le vide sulfurique.

Les eaux-mères alcooliques, concentrées dans le vide, fournissent une nouvelle quantité de réactif, un peu moins pur toutefois.

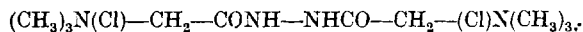
Le rendement du premier jet dépasse souvent 1100 gr. et le rendement général est voisin de 90% de la théorie.

Il est essentiel de garder le chlorure de triméthyl-acéthylhydrazide-ammonium dans des flacons très bien bouchés, dans lesquels sa conservation est indéfinie.

Exposé à l'humidité atmosphérique le réactif *T* s'altère en développant une odeur très désagréable.

Dans la technique il est inutile de le dessécher, et on le conserve fort longtemps dans des pots bien bouchés avec les 15 ou 20% d'alcool qu'il peut retenir.

Le produit brut, précédemment obtenu, n'est pas tout à fait pur, il est souvent souillé d'un faible pourcentage de dihydrazide symétrique



Tel quel, il convient parfaitement pour l'usage courant, mais non pour la recherche qualitative des substances carbonylées, à l'iodure de mercure.

Pour l'avoir tout à fait pur on modifiera comme suit la préparation précédente.

La solution alcoolique, contenant l'éther-sel éthylique de la betaine, est introduite lentement dans un ballon de 5 litres entouré d'un mélange réfrigérant et muni d'un dispositif d'agitation énergique, dans celui-ci on a placé 2 litres d'alcool et 600 gr. d'hydrate d'hydrazine (soit un excès de 50% sur la quantité théorique). On règle la vitesse d'introduction, de telle manière que la température à l'intérieur du

ballon se maintienne entre 10 et 15°. Le réactif *T* ne tarde pas à se séparer en une bouillie de fines aiguilles, qu'on essore et lave ensuite très complètement à l'alcool absolu. Après une seule cristallisation dans ce solvant il est chimiquement pur. On le sèche dans le vide sulfurique et le conserve autant que possible en ampoules scellées en vue des travaux analytiques. Comme l'eau-mère de la préparation précédente renferme un excès de 200 gr. d'hydrazine, on peut l'utiliser à la préparation d'une nouvelle quantité de réactif, moins pur, en la faisant réagir sur une liqueur d'éther-sel éthylique de la betaïne préparée à partir de 1 litre d'alcool, 492 gr. de chloracétate d'éthyle et 240 gr. de triméthylamine.

Le chlorure de triméthyl-acéthydrazide-ammonium fond à 192° (corr.) en se décomposant légèrement.

*Préparation du chlorure d'acéthydrazide-pyridinium.*

Dans un ballon de 5 litres muni d'un réfrigérant à reflux, on introduit 2 litres d'alcool absolu, 632 gr. de pyridine pure anhydre et 984 gr. de chloracétate d'éthyle.

On porte le tout deux à trois heures à reflux, jusqu'à ce qu'une prise d'essai, précipitée dans l'eau acidulée par l'acide sulfurique, s'y dissolve complètement, et que l'odeur du chloracétate d'éthyle ait disparu.

Dans la solution ainsi obtenue, et convenablement refroidie, on verse d'un seul coup 400 gr. d'hydrate d'hydrazine dissous dans 500 cm<sup>3</sup> d'alcool absolu.

Une réaction très exothermique se développe aussitôt, accompagnée d'un vif dégagement de bulles gazeuses. Le réactif *P* se sépare presque immédiatement, souvent légèrement coloré en rose.

On l'essore, le lave sur filtre avec de l'alcool froid, dans lequel il est peu soluble, et le sèche à l'air libre. Rendement 90% de théorie.

Si on désire l'avoir tout à fait pur, on pourra utiliser la modification que nous avons décrite précédemment à propos du réactif *T*.

La recristallisation, qui est, en pratique, inutile, peut se faire, soit dans l'alcool éthylique, soit mieux dans le méthanol.

Par cristallisation lente nous avons obtenu le chlorure d'acéthydrazide-pyridinium en aiguilles magnifiques mesurant 4 à 5 cm de longueur et se décomposant, avant de fondre, au dessus de 200° (corr.).

*Extraction de la folliculine (oestrone) à partir d'extraits d'urine de juments gravides.*

500 gr. d'une huile d'hormone brute, provenant de l'extraction par les solvants organiques, d'urines de juments gravides, préa-

lablement concentrées et soumises à l'hydrolyse acide, sont dissous dans 1,5 litres d'alcool absolu. Cette solution est introduite dans un ballon muni d'un réfrigérant à reflux, et additionnée de 150 gr. d'acide acétique cristallisable, exactement pesé, et de 75 gr. de réactif *T*. Le tout est porté à reflux pendant une heure.

Dans un grand flacon de 20 litres on introduit 7 litres d'eau, 3 kg de glace pilée, 3 litres d'éther et une quantité de soude concentrée correspondant à la neutralisation exacte de 135 gr. d'acide acétique, puis on verse, d'un seul coup, le contenu du ballon et agite vigoureusement le flacon pendant 5 à 6 minutes.

Le liquide se décante très vite en deux couches limpides, tandis qu'une substance goudronneuse noire adhère aux parois. On sépare quantitativement la couche aqueuse et on la soumet aussitôt à une deuxième extraction avec 2 litres d'éther (dont la neutralité aura été vérifiée). Après une bonne agitation, suivie de repos, on sépare la couche aqueuse qui est faiblement colorée en brun.

Celle-ci est additionnée de 800 cm<sup>3</sup> d'acide chlorhydrique concentré et de trois litres d'éther, puis abandonnée au repos pendant une heure. On effectue une agitation de 5 minutes au début, pour faire passer en solution dans l'éther, l'œstrone, au fur et à mesure de sa séparation, et avant qu'elle ne cristallise, puis on renouvelle cette agitation de quart d'heure en quart d'heure. Après décantation, la couche aqueuse est de nouveau extraite à l'éther. Les éthers réunis sont lavés avec du carbonate de sodium dilué, jusqu'à soustraction de toutes les fractions acides, puis distillés.

Après avoir chassé les dernières portions de l'éther dans le vide, on recueille une huile brunâtre d'odeur aromatique assez agréable, dans laquelle la majeure partie de la folliculine cristallise déjà après quelques heures, accompagnée de ses hormones satellites l'équiline et l'équilénine.

L'huile dans laquelle baignent les cristaux, est constituée par un mélange très complexe de cétones, dont les unes sont phénoliques et les autres insolubles dans les alcalis. On termine la séparation des hormones en mettant à profit ce dernier mode de fractionnement.

Il est convenable, avant d'isoler la fraction phénolique-cétonique, de soumettre l'huile brune à une légère saponification alcaline, car la folliculine semble y exister partiellement à l'état étherifié.

#### *Préparation d'alcool méthylique exempt d'acétone.*

L'alcool méthylique, pur du commerce, ne renferme en général que de faibles quantités d'acétone qui doivent cependant être éliminées dans certains cas particuliers. Ces faibles quantités d'acétone peuvent être très facilement soustraites de la manière suivante.

L'alcool est additionné de 5% d'acide acétique et de la quantité convenable de réactif *P* (d'ailleurs très variable suivant la richesse en acétone); après une heure de chauffage à reflux, on distille l'alcool au bain-marie. On effectue ensuite une deuxième distillation, après avoir dissous un excès de sodium pour fixer la petite quantité d'acide acétique entraînée et saponifier une trace d'acétate de méthyle, formée pendant le premier temps de l'opération.

Paris, 11, Square de Port Royal.

---

**136. Über Bestandteile der Nebennieren-Rinde VI<sup>1)</sup>.**  
**Trennungsmethoden, sowie Isolierung der Substanzen F. a. H und J**  
von T. Reichstein.  
(29. VIII. 36.)

In der ersten Mitteilung<sup>2)</sup> dieser Reihe wurde die Isolierung der Substanzen A—G sowie zweier Nebenprodukte beschrieben. Die hier interessierenden Inhaltsstoffe der Nebennieren-Rinde, in deren rohem Gemisch sich das eigentliche Rindenhormon „Cortin“ vorfindet, stellen ein Gemenge stark sauerstoff-beladener Sterin-abkömmlinge dar, die teils recht schwer voneinander zu trennen sind. Für die Trennung wurde in ausgiebigem Masse von dem neuen Keton-reagens von A. Girard<sup>3)</sup> Gebrauch gemacht, das wohl als das bequemste Reagens angesehen werden kann, das heute bekannt ist, welches die Abtrennung von Ketonen aus Gemischen in schonendster Weise gestattet<sup>4)</sup>. Die Ausführung dieser wichtigen Stufe wurde früher nur schematisch angedeutet. Da Girard seine Methodik in diesem Heft bekanntgibt<sup>5)</sup>, so soll im experimentellen Teil auch gleich die Anwendung zur Trennung von Cortin-Konzentraten beschrieben werden.

Trotz der an sich ungünstigen Löslichkeitsverhältnisse gelingt es auch hier, mit Hilfe von Girard-Reagens fast quantitative Tren-

---

<sup>1)</sup> V. Mitteilung siehe dieses Heft, S. 979. Die Arbeit wurde wiederum durch grosszügige Unterstützung seitens der *Haco-Gesellschaft*, Gümlingen, und der *N. V. Organon*, Oss, Holland, ermöglicht, denen auch hier der verbindlichste Dank ausgesprochen sei.

<sup>2)</sup> Helv. 19, 29 (1936).

<sup>3)</sup> Franz. Patent 767464; C. 1935, I 959. Herr Dr. A. Girard hatte die Freundlichkeit, uns nicht nur die Benützung seines Reagens für diesen Zweck zu gestatten, sondern auch seine speziellen Erfahrungen noch vor der Publikation in diesem Heft zur Verfügung zu stellen, wofür ihm nochmals der beste Dank ausgesprochen sei.

<sup>4)</sup> Die Kritik von Anchol und Schoenheimer, J. Biol. Chem. 114, 539 (1936), ist bei richtiger Anwendung unberechtigt. Die leichte Spaltbarkeit der Zwischenverbindung ist für die schonende Isolierung von Ketonen aus Gemischen gerade von grösstem Vorteil.

<sup>5)</sup> Helv. 19, 1095 (1936).