

après séjour au frigo, se prend en masse. Le solide est lavé à la ligroïne, puis séché. On obtient 10,5 g de diméthylisoserine sous forme d'un produit blanc pulvérulent et hygroscopique (rdt. 76%). Pour les analyses le solide est recristallisé dans du dioxanne anhydre ou du benzène absolu, puis séché sous vide (0,01 mm Hg) sur P₂O₅. F. 147—149° (benzène). Hygroscopique.

C ₅ H ₁₁ O ₃ N	Calculé C 45,11	H 8,27	N 10,53	P.M. 133
	Trouvé „ 44,97	„ 8,35	„ 10,29	„ 132 (HClO ₄)
Chlorhydrate C ₅ H ₁₂ O ₃ NCl	F. 144—146°; litt. ¹⁾ : F. 145—146°.			
<i>N,N</i> -Diéthyl-isoserine (IIIb).	F. 133—134° (benzène). Hygroscopique.			
C ₇ H ₁₅ O ₃ N	Calculé N 8,69	P.M. 161	Trouvé N 8,77	P.M. 158 (HClO ₄)
<i>N,N</i> -Dipropyl-isoserine (IIIc).	F. 128—129° (benzène).			
C ₉ H ₁₉ O ₃ N	Calculé N 7,41	P.M. 189	Trouvé N 7,44	P.M. 189 (HClO ₄)
<i>N,N</i> -Dibutyl-isoserine (IIId).	F. 110—111° (benzène).			
C ₁₁ H ₂₃ O ₃ N	Calculé N 6,45	P.M. 217	Trouvé N 6,31	P.M. 221 (HClO ₄)

RÉSUMÉ.

Les isosérines N-disubstituées ont été préparées selon une nouvelle méthode consistant à additionner une amine aliphatique secondaire sur l'énol-acétate du pyruvate d'éthyle, puis à hydrolyser le produit d'addition.

Institut de chimie de l'Université de Neuchâtel.

205. Sur la composition chimique de la fumée du tabac.

I. Analyse de la fraction neutre

par J. Bonnet et S. Neukomm.

(3 VIII 56)

I. Introduction.

Un très grand nombre de publications médicales ou biologiques ont, au cours des 10 dernières années, établi de façon certaine l'existence de substances cancérigènes dans la fumée de tabac. Malgré diverses tentatives d'isolement de ces substances, aucun travail d'analyse chimique systématique n'a été entrepris sur ce sujet; jusqu'ici le but principal des recherches est resté la mise en évidence du benzo-3,4-pyrène¹⁾²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾⁶⁾. C'est pour tenter d'obtenir un plus grand nombre de données précises sur la totalité des composants cancéri-gènes de la fumée de tabac que nous avons entrepris cette étude.

¹⁾ R. H. Roffo, Bol. Inst. med. exptl. Cancer **15**, 349 (1938).

²⁾ B. I. Commins, R. L. Cooper & A. J. Lindsey, Brit. J. Cancer **8**, 296 (1954).

³⁾ R. L. Cooper, A. J. Lindsey & R. E. Waller, Chemistry and Ind. **1954**, 1418.

⁴⁾ G. Wright & E. Wynder, Cancer Res., **2**, 55 (1955).

⁵⁾ H. Lettré & A. Jahn, Naturwissenschaften **42**, 210 (1955).

⁶⁾ Masanori Kuratsune, J. Nat. Cancer Inst. **16**, 1485 (1956).

Notre programme a consisté à analyser séparément les fractions neutre, alcaline et acide. Nous traiterons ici de la fraction neutre.

Les méthodes générales pour la séparation, l'identification et le dosage furent la chromatographie et la spectrophotométrie; l'injection sous-cutanée ou le badigeonnage de la peau ont servi pour l'analyse biologique des produits isolés. Les recherches biologiques feront l'objet de publications séparées.

II. Préparation du goudron de fumée de cigarette.

Appareil à fumer.

L'appareil à fumer est représenté dans la fig. 1.

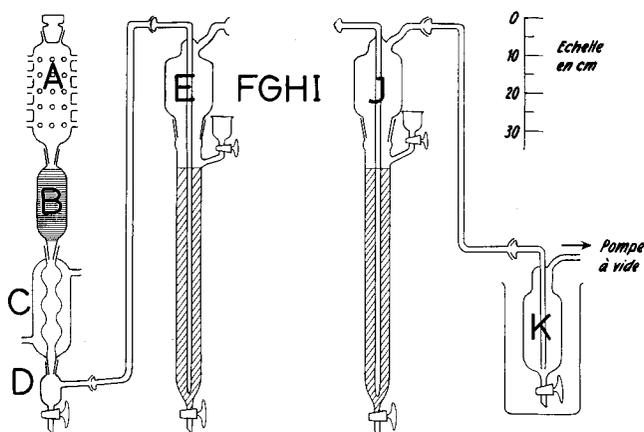


Fig. 1.

A: Cylindre percé de 30 orifices dans lesquelles on place les cigarettes.

B: Cylindre contenant de la laine de verre retenant les plus grosses particules.

C: Réfrigérant à boules.

D: Trappe.

E, F, G, H, I, J: Six colonnes contenant de petites billes de verre et du benzène.

K: Trappe à benzène plongeant dans un bac contenant un mélange de glace et de HCl conc.

Une petite pompe à palette, marchant en continu, a servi à faire le vide.

Nous avons fait fumer les cigarettes de la manière suivante: Les aspirations, de 2 à 3 sec, sont faites toutes les 30 sec environ; chaque cigarette est fumée au cours de 14 aspirations. En effet, au départ, avec les 30 orifices garnis de cigarettes, on allume 2 cigarettes toutes les 30 sec et lorsque toutes les cigarettes ont été allumées, on enlève toutes les 30 sec deux mégots d'environ 1,5 cm pour les remplacer par deux nouvelles cigarettes dès qu'il est temps de refaire l'aspiration. Nous avons allumé les cigarettes par une flamme de gaz non éclairante.

Après avoir fait fumer le nombre de cigarettes désiré, on vide les six colonnes de l'appareil (fig. 1) dont on rince toutes les pièces avec du benzène. Le benzène de lavage est joint à celui qui a absorbé la fumée. Ainsi, l'analyse porte sur l'ensemble des goudrons contenus dans toutes les parties du montage.

Toutes les opérations décrites ci-après se rapportent à une quantité de goudron équivalant à 500 cigarettes.

Nous avons toujours travaillé avec une même marque de cigarette de tabac noir.

III. Analyse de la fraction neutre.

Pour la recherche des substances qui nous intéressent, le seul moyen d'investigation suffisamment sensible est l'analyse spectrophotométrique; mais la quantité relativement considérable de produits à forte absorption ne permet de voir aucun spectre caractéristique lors des séparations chromatographiques du mélange des goudrons neutres bruts. Avant de passer à l'analyse, nous avons dû faire préalablement une séparation en plusieurs sous-fractions.

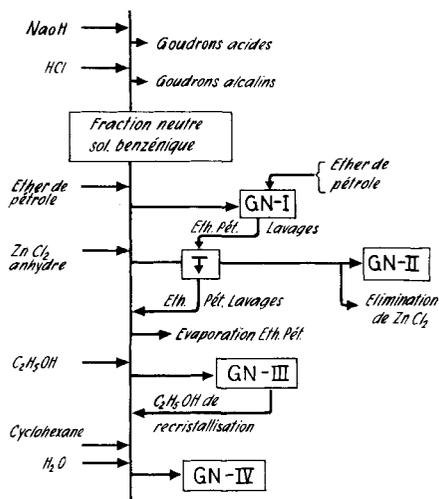


Fig. 2.

Mode opératoire: On commence par éliminer de la solution benzénique les goudrons acides et alcalins au moyen de plusieurs lavages avec NaOH 1-n. et HCl 1-n.

GN-I: La solution benzénique est évaporée jusqu'à 25 cm³ environ et portée, par addition d'éther de pétrole, à 200 cm³. Le précipité (GN-I) brun-foncé est lavé avec 3 fois 50 cm³ d'éther de pétrole, qu'on conserve séparément pour laver le précipité GN-II.

GN-II: On ajoute au filtrat obtenu après séparation de GN-I, du ZnCl₂ anhydre, par petites portions, en agitant, jusqu'à ce que le ZnCl₂ additionné reste incolore. On filtre sur laine de verre le chlorure de zinc ayant entraîné GN-II et on lave le produit solide par l'éther de pétrole ayant servi à laver le précipité GN-I (3 × 50 cm³). Pour éliminer les sels de zinc du précipité, on laisse l'éther de pétrole s'évaporer ou on l'enlève par un rinçage rapide à l'éther; on dissout le mélange ZnCl₂ et GN-II dans l'éther qu'on lave doucement par une solution diluée de NaHCO₃; on évapore une partie de l'éther, on ajoute du benzène, on finit de distiller l'éther, on lave avec du Na₂CO₃ 2-n. et chasse le reste de benzène.

GN-III: Le filtrat après séparation de GN-II est évaporé. On reprend par 100 cm³ de C₂H₅OH et refroidit à -5°. On obtient un précipité qu'on recrystallise 2 fois, qu'on lave chaque fois par du C₂H₅OH refroidi à -10°. Le précipité est alors parfaitement blanc et ne contient aucun produit absorbant dans l'UV.

GN-IV: Tous les filtrats sont réunis et évaporés jusqu'à 50 cm³ environ. On ajoute du cyclohexane, puis 200 cm³ d'eau. On extrait la solution aqueuse au cyclohexane jusqu'à disparition de toute fluorescence dans le cyclohexane. Chaque fois que nous avons utilisé du cyclohexane, nous l'avons d'abord lavé sur H₂SO₄ conc., puis sur NaOH, distillé et finalement purifié par passage sur Al₂O₃.

a) *Fractions GN-I et GN-II*: Elles sont constituées de produits de couleur foncée. Au cours de la discussion sur la composition globale de la fraction neutre, à la fin de ce texte, nous reviendrons sur la nature de ces substances.

b) *Fraction GN-III*: Les substances de cette sous-fraction sont transparentes aux UV., inertes au Br₂ à froid, à H₂SO₄ conc., à HNO₃ conc., au KMnO₄ alcalin. De plus, aucun groupement fonctionnel n'ayant été décelé, nous en avons conclu que ces substances étaient des paraffines.

Nous les avons étudiées par séparation chromatographique sur Al₂O₃, en éluant par de l'éther de pétrole (Eb. 50–60°) contenant des quantités croissantes de benzène, jusqu'à 40%. Les F. observés dans les résidus des différents éluats passent de 63° à 75° (F. corr.). Ceci indiquerait que nous sommes en présence de paraffines ayant des chaînes de 29 à 35 atomes de carbone.

Nous avons trouvé environ 100 mg de paraffine par 100 cigarettes.

c) *Fraction GN-IV*: Nous avons fait une première séparation chromatographique de GN-IV et nous avons regroupé les éluats selon les observations faites au spectrophotomètre. Nous avons délimité six fractions de GN-IV A à GN-IV F (fig. 3).

GN-IV A: tous les éluats avant la sortie de l'anthracène.

GN-IV B: les éluats contenant la totalité de l'anthracène et du pyrène, décelables au spectrophotomètre.

GN-IV C: les éluats ne contenant plus de pyrène et jusqu'à la première partie d'une double zone brune, visible lors de la chromatographie sous forme de deux anneaux contigus, l'inférieur peu coloré, le supérieur fortement coloré en brun.

GN-IV D: les éluats contenant l'anneau fortement coloré.

GN-IV E: les éluats après la double zone brune, mais avant la sortie d'une nouvelle zone brune, migrant à nouveau sous la forme d'un anneau coloré facilement visible.

GN-IV F: les éluats contenant cette dernière zone brune.

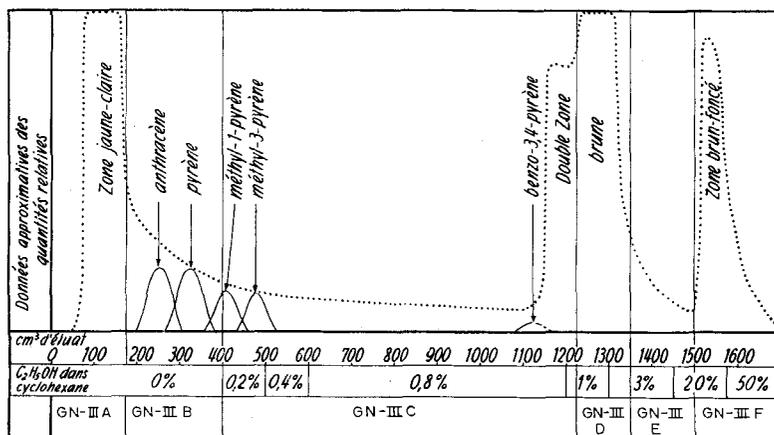


Fig. 3.

.....: Absorption de fond au spectrophotomètre.

Sur cette fig., lire GN-IV au lieu de GN-III.

Remarques: 1° Concernant la courbe de l'absorption de fond. Nous avons mesuré de combien il fallait diluer chaque solution éluee pour que la transmission optique fût de 70% à 250 mμ; ces valeurs ne représentant que des données relatives de l'opacité optique d'un éluat à l'autre, nous avons tracé cette courbe sans noter de coordonnées s'y rapportant.

2° Concernant les autres courbes de la fig. 3, voir les remarques suivant la fig. 4, sous 2° et 4°.

Lors de cette séparation, malgré trois zones de très forte absorption, nous pouvons déjà voir au-dessus de 320μ les pics de l'anthracène, du pyrène, du méthyl-1- et du méthyl-3-pyrène et du benzo-3,4-pyrène qui se sépare en partie de la zone brune. A ce stade de séparation, on voit de légères inflexions indiquant la présence d'autres hydrocarbures aromatiques, mais comme toute analyse spectrophotométrique dans l'UV. est empêchée par une absorption de fond trop forte, il est impossible de les déterminer à ce moment.

Mode opératoire de la séparation de GN-IV: Par évaporation, on ramène le volume de la solution de cyclohexane à 2 cm^3 environ. On chromatographie sur Al_2O_3 (oxyde d'aluminium standardisé, *Riedel-de Haën*), dans une colonne de $40 \text{ cm} \times 3 \text{ cm}$. Pour l'élu-tion nous avons utilisé du cyclohexane contenant des quantités croissantes d'alcool éthylique absolu (voir fig. 3).

Fraction GN-IV A: Les hydrocarbures que l'on est en droit d'attendre ont de 1 à 2 noyaux benzéniques; par conséquent, leurs spectres d'absorption vont se trouver dans l'UV. seulement; pour pouvoir en faire l'analyse spectrophotométrique, nous les avons séparés par une précipitation à l'acide picrique à basse température et purifiés sous forme de leurs picrates.

Mode opératoire: On évapore le cyclohexane; on reprend par quelques cm^3 de $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, on ajoute environ 50 cm^3 de $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ saturé d'acide picrique. On refroidit le mélange sous légère agitation, en 4 ou 5 étapes, jusqu'à -25° . On filtre à -25° ; on lave avec de l'alcool saturé d'acide picrique à -15° puis refroidi à -25° . On recristallise deux fois le précipité dans ces mêmes conditions. On dissout le précipité dans de l'alcool à 50° , on ajoute de l'éther de pétrole et de l'eau (3 à 4 fois la valeur du volume d'alcool). On extrait plusieurs fois à l'éther de pétrole. On lave, sur NaOH dil., l'éther de pétrole qu'on évapore ensuite. On reprend par du cyclohexane, on chromatographie sur Al_2O_3 . L'élu-tion se fait avec du cyclohexane; les éluats sont analysés au spectrophotomètre en UV.

Remarque: Les très faibles quantités d'hydrocarbure rendent cette méthode délicate. La séparation a été répétée cinq fois; dans un cas elle a complètement échoué. Nous n'avons pu que comparer les spectres obtenus à ceux de substances connues; nous n'avons pas pu utiliser d'autres moyens d'identification. Cette remarque s'applique aussi aux autres déterminations qualitatives.

Résultats: Les hydrocarbures, identifiés par leurs bandes d'absorption, sont cités dans leur ordre d'élu-tion.

Triméthyl-1,3,5-benzène: obtenu quatre fois.

Triméthyl-1,2,4-benzène: élué en même temps que le composé précédent; vu en faible quantité deux fois.

Naphtalène: trouvé trois fois; il sort nettement séparé des deux premiers hydrocarbures.

Phénylacétylène: obtenu quatre fois; il suit de près le naphtalène.

Diméthyl-1,8-naphtalène: incertain; dans une seule expérience il nous a paru être présent.

Acénaph-tène: obtenu trois fois.

Acénaph-tylène: incertain dans les quatre précipitations.

Fluorène: trouvé une fois; ce composé a été mis en évidence avec certitude dans la fraction GN-IV B.

Ajoutons qu'il devrait se trouver dans la fraction GN-IV A au moins deux hydrocarbures non aromatiques: l'acétylène et le monométhylacétylène. Notre méthode d'investigation ne nous permettait pas de conserver des composés aussi volatiles.

L'acétylène a fait déjà l'objet d'une étude quantitative dans la fumée de cigarette⁷⁾; mais on doit de plus admettre la présence de méthylacétylène. Il est connu depuis longtemps⁸⁾ que des hydrocarbures supérieurs peuvent se former par pyrosynthèse à partir

7) *J. B. Fishel & J. F. Haskins*, Ind. Eng. Chemistry **41**, 1374 (1949).

8) *M. Berthelot*, C. r. hebd. Séances Acad. Sci Paris **53**, 481 (1866); Ann. Chim. et Phys. **9**, 446 (1866).

de l'acétylène. Dans la combustion de la cigarette, la formation des hydrocarbures aromatiques doit se faire par condensation et d'acétylène et de méthylacétylène, qui est seul capable de former des triméthylbenzènes et le grand nombre des autres hydrocarbures méthylés. Il nous paraît intéressant de souligner la présence de phénylacétylène en tant que fragment intermédiaire possible dans la formation des molécules grosses.

Fraction GN-IV B: Ainsi que le montre le schéma de séparation chromatographique (fig. 3) on délimite GN-IV B par les éluats contenant la totalité de l'anthracène et du pyrène que nous voulions doser.

L'analyse se fait en deux étapes: une chromatographie de l'ensemble de la fraction GN-IV B, ce qui permet le dosage précis de l'anthracène et du pyrène; puis, pour permettre une étude spectrophotométrique facile dans l'UV., une oxydation par FeCl_3 des éluats réunis en 3 ou 4 groupes, les produits d'oxydation étant chromatographiés à nouveau.

Mode opératoire: On évapore le cyclohexane des éluats de la fraction GN-IV B à 2 cm^3 . On chromatographie cette solution sur Al_2O_3 . L'éluat se fait par du cyclohexane seul, dans une colonne de $30 \text{ cm} \times 1,2 \text{ cm}$. Vitesse d'écoulement $20 \text{ cm}^3/\text{h}$. On réunit les éluats en 3 ou 4 groupes. On évapore le cyclohexane dans chacune de ces sous-fractions. On reprend par $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (50 cm^3), on ajoute 3 à 5 g de FeCl_3 crist.; on laisse 1 h au bain-marie à 80° . On ajoute du cyclohexane et de l'eau. On extrait les hydrocarbures jusqu'à disparition de toute fluorescence dans le cyclohexane d'extraction. On évapore à petit volume le cyclohexane préalablement lavé par NaOH dil.; on chromatographie sur une colonne de $15 \text{ cm} \times 1,2 \text{ cm}$.

Nous ne donnons pas de courbes d'étalonnage pour le dosage de l'anthracène et du pyrène, car il est indispensable de les établir avec une absorption de fond artificielle identique à celle de l'expérience. Quoique cette absorption ne change que dans de faibles proportions d'une expérience à l'autre, l'étalonnage est néanmoins à refaire chaque fois. Cette remarque s'applique à toutes les déterminations quantitatives.

Mode opératoire: On prend une partie d'un éluat de la fraction GN-IV D, concentrée en substances colorées. On dilue cette solution jusqu'à obtenir une courbe d'absorption de fond exactement superposable à celle observée dans l'éluat où l'on veut faire le dosage. On dissout dans un volume connu de cette solution un poids connu de l'hydrocarbure que l'on désire doser. On fait plusieurs dilutions, toujours avec la solution préparée à partir de GN-IV D. On fait les spectres de ces solutions à différentes concentrations; on mesure la hauteur du ou des maxima dépassant la courbe de l'absorption de fond, perpendiculairement à cette courbe; on porte dans un diagramme ces mesures et les concentrations correspondantes; on obtient une ou des droites qui permettent de doser l'hydrocarbure élué dans l'expérience.

Remarque: Tout au long de la chromatographie de GN-IV, les substances colorées qui sont responsables de l'absorption de fond présentent des spectres de même allure: une courbe sans maxima défini, sans points d'inflexion, qui tend vers la valeur de 0% de transmission optique, plus ou moins rapidement selon la dilution et de plus en plus rapidement à mesure que la longueur d'onde diminue. Ainsi, pour faire artificiellement l'absorption de fond en vue d'un dosage, on peut prendre, en principe, n'importe quel éluat. Cependant, GN-IV D présente l'avantage d'être riche en produits colorés créant l'absorption de fond et de ne pas contenir d'autres substances, nous semble-t-il.

Résultats: Qualitativement, nous avons trouvé les hydrocarbures suivants:

Phénanthrène; méthyl-9-phénanthrène; un homologue non déterminé (pics principaux à 258 et 298μ). Il pourrait s'agir d'un dérivé diméthylé du phénanthrène.

Fluorène; méthyl-9-fluorène. Il commence à apparaître un homologue que nous retrouverons dans la fraction GN-IV C.

Anthracène.

Pyrène; méthyl-1-pyrène qui se trouve également réparti dans GN-IV B et GN-IV C. Benzo-1,2-anthracène, en faible proportion dans cette fraction.

Quantitativement, nous avons déterminé l'anthracène: $10,5 \gamma$ et le pyrène: $9,7 \gamma$ pour 100 cigarettes. Nous estimons l'erreur relative à 10%. Les seuls dosages que nous avons pu trouver dans la littérature indiquent $10,2$ et $9,0 \gamma$ respectivement²⁾.

Fraction GN-IV C: L'analyse se fait selon la même méthode que pour la fraction GN-IV B. D'abord une chromatographie (colonne de 45 cm × 1,2 cm; vitesse d'écoulement 20 cm³/h); le benzo-3,4-pyrène est dosé au cours de cette séparation. Puis nous avons regroupé les éluats (de 25 cm³) par deux ou par trois, nous avons oxydé par FeCl₃, comme décrit plus haut, et analysé au spectrophotomètre après une nouvelle chromatographie des produits d'oxydation des éluats de chaque sous-fraction.

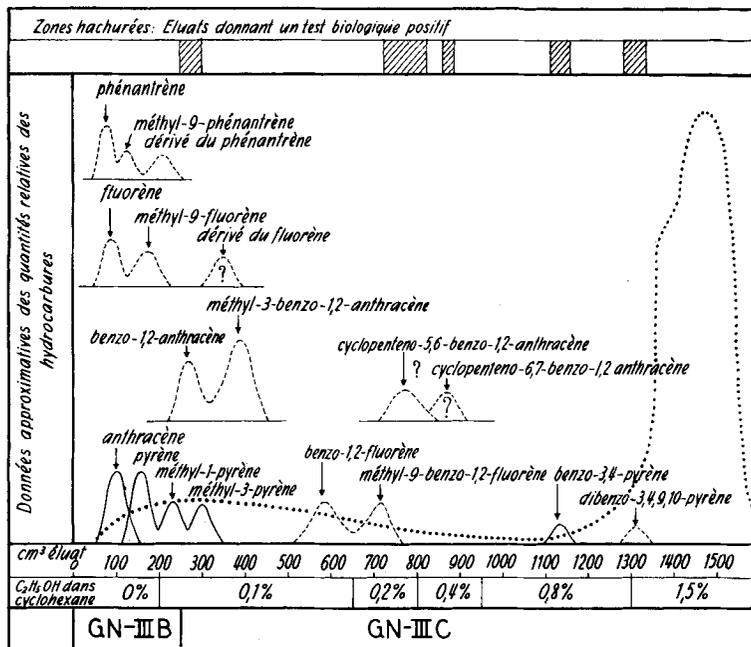


Fig. 4.

.....: Absorption de fond; échelle très réduite par rapport à celle des hydrocarbures.
: Courbes représentatives des hydrocarbures élués, visibles seulement après oxydation par FeCl₃.

Remarques: 1° La courbe de l'absorption de fond a été déterminée selon la méthode utilisée pour la fig. 3.

2° Les autres courbes montrent à quelle concentration sortent les hydrocarbures, relativement d'un éluat à l'autre.

3° Plusieurs hydrocarbures se trouvant parfois dans le même éluat, nous avons placé, pour la clarté du schéma de chromatographie, les courbes d'éluat à différentes hauteurs. En réalité, toutes ces courbes devraient être rabattues sur la base du schéma.

4° Les surfaces de ces courbes d'éluat représentent des données quantitatives, mais qui doivent être considérées comme des valeurs indiquant l'ordre de grandeur seulement.

En effet, les difficultés d'obtenir des produits suffisamment purs, ou tout simplement de les obtenir, nous ont empêchés dans certains cas de faire des dosages précis. Par exemple, le cyclopenténo-5,6-benzo-1,2-anthracène, les méthylpyrènes ont été dosés comme s'il s'agissait respectivement du benzo-1,2-anthracène et du pyrène.

Parfois les bandes d'absorption utilisables pour une détermination quantitative se trouvent, selon la longueur d'onde, dans des régions où la courbe générale de l'absorption de fond est trop près du 0% de transmission optique; les dosages faits dans ces conditions ne peuvent être qu'entachés d'une erreur considérable. C'est le cas pour les benzofluorènes,

le phénanthrène etc. Nous avons pensé qu'il pouvait être utile, malgré tout, d'indiquer des ordres de grandeurs. Ces quantités approximatives peuvent se déduire en comparant les surfaces des courbes d'élution des quatre hydrocarbures dosés avec précision (anthracène, pyrène, benzo-1,2-anthracène et benzo-3,4-pyrène), aux autres surfaces marquées dans la fig. 4.

^{5°} On peut trouver dans la littérature ⁹⁾¹⁰⁾ la représentation des spectres d'absorption indiqués sur la fig. 4.

Résultats: Méthyl-1-pyrène, déjà vu dans GN-IV B; méthyl-3-pyrène.

Un homologue du fluorène non déterminé (pic principal à 305 m μ).

Benzo-1,2-anthracène; méthyl-3'-benzo-1,2-anthracène; cyclopenténo-5,6-benzo-1,2-anthracène; nous sommes incertains de la présence du cyclopenténo-6,7-benzo-1,2-anthracène.

Benzo-1,2-fluorène et un dérivé, semble-t-il, méthylé en position 9.

Benzo-3,4-pyrène; dibenzo-3,4,9,10-pyrène. Ces deux derniers hydrocarbures sont partiellement détruits par l'oxydation au FeCl₃.

Nos déterminations quantitatives rapportées à 100 cigarettes nous ont donné 8,0 \pm 0,5 γ de benzo-1,2-anthracène; 2,2 \pm 0,2 γ de benzo-3,4-pyrène; Cooper³⁾ trouve 1 γ de benzo-3,4-pyrène environ, pour 100 cigarettes.

Nous avons fait une expérience avec une surcharge de 5 γ de benzo-3,4-pyrène; nous en avons trouvé après chromatographie une quantité augmentée des 5 γ de surcharge.

Le dibenzo-3,4,9,10-pyrène n'a pas pu être dosé correctement, car nous ne l'avons trouvé qu'après l'oxydation par FeCl₃; il doit s'en trouver environ 1 γ pour 100 cigarettes.

Fraction GN-IV D: Elle contient une quantité importante de produits colorés, créant une absorption de fond trop forte pour pouvoir faire une analyse spectrophotométrique convenable. Cependant, il est peu probable que d'autres composés aromatiques, à l'exception des hydrocarbures à 6 noyaux benzéniques ou plus, soient élués dans cette fraction, car la phase mobile ne présente pas encore une polarité suffisante.

Fraction GN-IV E: Lors de l'analyse spectrophotométrique de cette fraction, nous n'y avons pas observé de maxima ou même de points d'inflexion pouvant laisser supposer la présence d'un composé aromatique.

Fraction GN-IV F: Cette fraction a été rechromatographiée dans une colonne de 25 cm \times 1,2 cm. GN-IV F est vide de tout composé pouvant être caractérisé par un spectre d'absorption défini.

Fin de l'élution de GN-IV: Nous avons continué l'élution après GN-IV F par C₂H₅OH à 100%, par C₂H₅OH contenant des quantités croissantes de H₂O (jusqu'à 20%), puis par C₂H₅OH contenant 20% de HCl 2-n. L'oxyde d'aluminium pouvant être considéré, à ce moment, comme complètement désactivé, nous l'avons lavé dans la colonne successivement par de l'acétone, du benzène et du CCl₄.

Au cours de ces différentes opérations, nous avons observé au spectrophotomètre une absorption de fond peu importante ou négligeable, mais jamais de spectre pouvant être caractéristique d'un composé aromatique.

IV. Discussion.

La masse principale de la fraction neutre est constituée par des substances colorées, passant du jaune au brun noir, de l'état liquide à l'état solide. Les substances que nous avons déterminées qualitativement n'en sont qu'une très petite partie. En effet, 100 cigarettes représentent pour la fraction neutre une masse de goudron de 2,0 g,

⁹⁾ R. A. Friedel & M. Orchin, *Ultraviolet Spectra of Aromatic Compounds*, John Wiley and Sons édit., New York 1951.

¹⁰⁾ R. N. Jones, *J. Amer. chem. Soc.* **62**, 148 (1940).

et les hydrocarbures que nous avons trouvés pèsent au total 100 mg environ, les hydrocarbures aromatiques étant certainement inférieurs en poids à 1 mg.

Parmi ces hydrocarbures, plusieurs présentent des propriétés cancérigènes¹¹⁾ (tableau I).

Tableau I.

Substance	Activité cancérigène	Quantité pour 100 cig.
Benzo-3,4-pyrène	forte	0,0022 mg
Dibenzo-3,4,9,10-pyrène	forte	0,0010 mg(?)
Cyclopenténo-5,6-benzo-1,2-anthracène	moyenne	?
Cyclopenténo-6,7-benzo-1,2-anthracène	faible	?
Benzo-1,2-anthracène.	très faible ¹²⁾ ¹³⁾	0,0080 mg

En ce qui concerne l'activité cancérigène, nous devons souligner ici que le dibenzo-3,4,9,10-pyrène est le seul des 5 isomères des dibenzopyrènes à n'avoir pas été testé sur l'animal; la théorie électronique des molécules cancérigènes prévoit qu'il doit être actif, car il est dépourvu de région L et l'indice complexe de sa région K est de $3,157 \beta^{14)}$. Nos propres recherches biologiques nous ont permis de confirmer entièrement l'activité des substances en question¹⁵⁾.

En ce qui concerne les produits colorés formant l'absorption de fond au spectrophotomètre, *Commins* et coll.²⁾ ont émis l'hypothèse que ce sont des esters. Mais le comportement chromatographique de ces substances nous a conduits à admettre qu'il s'agit plutôt de produits plus ou moins polymérisés. En effet, à partir du liquide jaune de la fraction GN-IV A, peu polaire, on arrive facilement à former des composés bruns de polarité identique aux autres produits colorés de la fraction neutre. L'oxydation par FeCl_3 donne principalement une substance de même polarité que les composés de la fraction GN-IV D. L'oxydation lente à l'air, le chauffage prolongé conduisent au même résultat. L'oxydation par un persulfate donne, suivant les conditions, des composés semblables soit à GN-I et GN-II, soit à GN-I seul.

En conclusion, il est plus vraisemblable de considérer ces produits colorés comme des polymères de poids moléculaire plus ou moins grand, selon leur degré de polymérisation, se formant par pyrosynthèse lors de la combustion de la cigarette à partir d'aldéhydes, de cétones, du pyrrol et de ses dérivés.

¹¹⁾ *J. L. Hartwell*, Survey of Compounds Which Have Been Tested for Carcinogenic Activity, P.H.S., Bethesda (Md.) 1951.

¹²⁾ *P. Steiner*, Cancer Res. **15**, 632 (1955).

¹³⁾ *E. Boyland*, Cancer Res. **12**, 77 (1952).

¹⁴⁾ *A. & B. Pullman*, Cancérisation et structure moléculaire, Masson édit., Paris 1955, p. 104.

¹⁵⁾ *S. Neukomm & J. Bonnet*, en préparation.

RÉSUMÉ.

Par séparation chromatographique et analyse spectrophotométrique de la fraction neutre du goudron provenant de la fumée de cigarette, nous avons isolé 25 hydrocarbures; la structure exacte de deux d'entre eux n'est pas précisée et la présence de trois autres ne peut être affirmée.

Parmi ces hydrocarbures, quatre (cinq si l'on tient compte de la présence probable du cyclopenténo-6,7-benzo-1,2-anthracène) sont cancérigènes.

Quantitativement, nous avons trouvé dans la fumée provenant de 100 cigarettes: 2,2 γ de benzo-3,4-pyrène; 10,2 γ d'anthracène; 9,7 γ de pyrène; 8,0 γ de benzo-1,2-anthracène.

Les seuls produits trouvés autres que les hydrocarbures aromatiques précités sont, d'une part des paraffines et, d'autre part des polymères de poids moléculaires variables et dont le pouvoir cancérigène doit être encore étudié.

Centre anticancéreux romand (Lausanne).
Service des recherches expérimentales.
Dir. PD. Dr. *S. Neukomm*.

206. Studien zur Passivität des Nickels.**Studien zum anodischen Verhalten des Nickels III**

von **G. Trümpler** und **W. Saxer**.

(24. VIII. 56.)

In einer früheren Mitteilung¹⁾ brachten wir einen Beitrag zur Frage des Einflusses der Verunreinigungen des Nickels auf dessen anodisches Verhalten, aus dem hervorging, in wie hohem Masse gerade auch die Aspekte der Passivierung von diesen Verunreinigungen abhängen.

Im folgenden berichten wir über einige weitere Ergebnisse aus dem gleichen Problemkreis, wieder von sehr spezieller Natur, in der Erwägung, dass in der Frage nach den wirklichen Vorgängen bei der Passivierung des Nickels, nach ihrem Mechanismus, die von den in der Literatur bisher geäußerten theoretischen Ansichten weitgehend offengelassen werden musste, eine Einengung der Möglichkeiten gerade durch möglichst zahlreiche spezielle Versuchsergebnisse am ehesten erreicht werden könnte.

¹⁾ *G. Trümpler & W. Saxer, Helv. 36, 1630 (1953); Diss. W. Saxer ETH., Zürich 1955.*