

*3,5-Dinitrobenzoylderivat XIXa.* Aus 140 mg Substanz mit 500 mg 3,5-Dinitrobenzoylchlorid in 3 ml Pyridin. Aus Methylenchlorid-Aceton 170 mg (70%) orangefarbige Kristalle, Smp. 215°.

$C_{23}H_{18}O_8N_2$  Ber. C 61,33 H 4,03 N 6,22% Gef. C 61,06 H 3,98 N 6,16%

*Benzoylderivat XIXb.* Mit Benzoylchlorid in Pyridin. Aus Alkohol Smp. 113°.

$C_{23}H_{20}O_4$  Ber. C 76,65 H 5,59% Gef. C 76,57 H 5,55%

*Tosylderivat XIXc.* Mit Tosylchlorid in Pyridin, 2 Tage bei 20°. Aus Alkohol Smp. 111–112°.

$C_{23}H_{22}O_5S$  Ber. C 67,30 H 5,40% Gef. C 67,20 H 5,50%

*2,4,6-Trimethoxy-9,10-dihydrophenanthren (XIXd).* Mit Dimethylsulfat und Pottasche in Aceton wie beim 2,4,6-Trimethoxyphenanthren beschrieben. Das chromatographisch gereinigte Öl wurde im Kugelrohr bei 180° im Hochvakuum destilliert.

$C_{17}H_{18}O_3$  Ber. C 75,53 H 6,71% Gef. C 75,74 H 7,23%

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung (Leitung W. MANSER) ausgeführt.

#### ZUSAMMENFASSUNG

2,4-Dimethoxy-6-hydroxy-9,10-dihydrophenanthren (XIX) steht strukturell dem als Orchinol (2,4-Dimethoxy-7-hydroxy-9,10-dihydrophenanthren) bezeichneten, induzierten Abwehrstoff erkrankter Knollen von *Orchis militaris* und dem biologisch inaktiven Loroglossol (wahrscheinlich 2,4-Dimethoxy-5-hydroxy-9,10-dihydrophenanthren) aus erkrankten Knollen von *Loroglossum hircinum* nahe und ist deshalb für biologische Versuche von Interesse.

Das Dihydrophenanthren-Derivat XIX wurde über das bereits bekannte 6,8-Dimethoxytetralon (XIII) aufgebaut, dessen Synthese verbessert wurde. Aus dem Tetralon XIII wurden für synthetische Zwecke einige in ihrer Konstitution nicht näher untersuchte Halogenide hergestellt.

Organisch-chemisches Laboratorium  
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich

## 286. Etudes sur les matières végétales volatiles CLXXXVIII<sup>1)</sup>. Sur l'absorption d'alcools terpéniques aliphatiques dans l'ultra-violet, de 185 à 225 m $\mu$

par Yves-René Naves et Charles Frei

(4. IX. 63)

Dans une note parue il y a dix ans<sup>2)</sup>, l'un de nous a montré que, contrairement aux assertions de plusieurs auteurs les alcools terpéniques aliphatiques ( $\alpha$ - et  $\beta$ -citronellols,  $\beta$ -nérol,  $\beta$ -géraniol,  $\beta$ -linalol) ne présentent, entre 201 et 220 m $\mu$ , aucune absorption sélective notable.

Les progrès accomplis depuis lors dans la construction de spectromètres photo-électriques et dans les techniques de mesure<sup>3)</sup> permettent d'étudier aujourd'hui avec

<sup>1)</sup> CLXXXVII<sup>e</sup> comm.: Helv. 46, 2139 (1963).

<sup>2)</sup> Y. R. NAVES, C. r. hebd. Séances Acad. Sci. 237, 146 (1953).

<sup>3)</sup> Voyez par ex.: D. W. TURNER, Far and Vacuum Ultraviolet Spectroscopy, dans F. C. NACHOJ & W. D. PHILIP: Determination of Organic Structures by Physical Methods, vol. II, 339 et suiv., Academic Press, New York and London 1962.

une relative facilité les absorptions jusqu'à 185 m $\mu$ . Aussi avons-nous repris l'étude de ces alcools, de leurs analogues et d'homologues sesquiterpéniques.

Au cours des dernières dix années, de nombreux travaux ont été consacrés à l'absorption due aux liaisons éthyléniques. On en a tiré des systématiques résumant la position et l'intensité des maxima d'absorption ou l'intensité d'absorption à une longueur d'onde donnée, d'après les substituants portés par le chaînon éthylénique et les contraintes subies par ce chaînon<sup>4</sup>). Ces études ont notamment porté sur des substances terpénoïdes ou stéroïdes.

Les bandes d'absorption principales d'origine éthylénique sont, en général, larges et intenses. Elles sont dues au passage d'un électron d'une orbitale liante sur une orbitale antiliante sans changement de spin. Ce genre de transition est désigné, dans la terminologie de MULLIKEN, par le symbole  $N \rightarrow V$  ( $= \pi \rightarrow \pi^*$ )<sup>5</sup>). Les bandes sont accompagnées d'autres bandes résultant des excitations  $N \rightarrow R$  (absorptions de RYDBERG) qui ne se manifestent au mieux, dans les conditions de nos mesures, pour les substances dont il sera question, que par des épaulements sur la bande principale du côté des grandes longueurs d'onde.

La présence et la répartition de substituants sur le chaînon éthylénique déterminent un déplacement de l'absorption vers les grandes longueurs d'onde, sans modification sensible de l'allure générale du spectre. Ces déplacements sont dus à des effets d'hyperconjugaison et aussi à des effets inductifs. Les deux catégories d'effets apportent une contribution positive à l'effet bathochrome total.

L'absorption due à l'hydroxyle alcoolique est, on le sait, assez basse dans la région spectrale considérée. Nous l'avons confirmé par l'étude du dihydrocitronellol et par celle de l'hexahydronérolidol.

Nos mesures ont été effectuées avec un spectromètre à réseau OPTICA CF 4 DR. Les spectres ont pu être enregistrés soit à double faisceau soit à simple faisceau. L'appareil était rempli d'azote pur et il a été utilisé jusqu'à 185 m $\mu$ , longueur d'onde où l'importance de la lumière diffuse (stray light) était encore tolérable. Les alcools ont été dissous dans l'heptane, et les concentrations choisies de telle sorte que, pour les épaisseurs de cuves utilisées, les maxima d'absorption observés correspondaient à la meilleure précision du spectromètre, soit à une valeur de transmission  $1/e$  de 40% environ par rapport à la référence (voir partie expérimentale). L'erreur moyenne commise dans la détermination des coefficients d'absorption fut toutefois d'environ 8%, en raison notamment du «bruit de fond» introduit dans le signal par la cellule, d'un défaut de linéarité de notre instrument auquel ne put être apportée qu'une correction partielle (la précision photométrique était de  $\pm 2\%$ ), et enfin de l'approximation de la correction exigée par l'effet de la lumière diffuse.

L'influence de la lumière diffuse, c'est-à-dire de l'apport d'énergie par des radiations d'autres longueurs d'onde que la longueur d'onde de mesure, peut être éliminée en usant de la relation suivante:

$$T = \frac{T' \text{ solution} - T' \text{ filtre} (I \text{ solution}/I \text{ filtre})}{T' \text{ solvant} - T' \text{ filtre} (I \text{ solvant}/I \text{ filtre})}$$

$T$  = transmission corrigée

$T'$  solution = transmission apparente de la solution plus la cuve.

$T'$  solvant = transmission apparente du solvant plus la cuve.

<sup>4</sup>) Voir notamment: a) L. C. JONES & L. W. TAYLOR, *Analyt. Chemistry* 27, 223 (1955); b) K. STICH, G. RÖTZLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 42, 1480 (1959); c) J. H. CHAPMAN & A. C. PARKER, *J. chem. Soc.* 1961, 2075; d) S. F. MASON, *Quart. Rev.* 15, 298 (1961).

<sup>5</sup>) R. S. MULLIKEN & C. A. RIEKE, *Rep. Progr. Physics* 8, 231 (1941).

- $T'$  filtre = transmission apparente d'un filtre perméable à la seule lumière diffuse.  
 $I$  solution = intensité de la lumière diffuse transmise par la solution.  
 $I$  solvant = intensité de la lumière diffuse transmise par le solvant.  
 $I$  filtre = intensité de la lumière diffuse transmise par le filtre.

L'application rigoureuse de cette relation échoue en raison de l'inexistence d'un filtre idéal et de l'impossibilité pratique de déterminer les facteurs entre parenthèses. Nous avons choisi comme filtre une solution 2M en chlorure de potassium, pratiquement opaque sous 1 mm au-dessous de 200  $m\mu$ , et dont la transmission augmente rapidement au-delà de cette longueur d'onde. Du fait que la région de transparence se trouve plus près de la région dans laquelle se situent les absorptions principales dues aux liaisons éthyléniques que celle des filtres VYCOR habituellement utilisés par d'autres auteurs, les mesures avec un filtre de KCl méritent plus de confiance et justifient mieux la substitution des rapports  $I$  solution/ $I$  filtre et  $I$  solvant/ $I$  filtre par le facteur 1 ainsi qu'on le fait habituellement.

Tableau 1. Résultats des mesures spectroscopiques

Référence		$\lambda_{max}$ ( $m\mu$ )	$\epsilon$	$\lambda_{1000}$ ( $m\mu$ )
<i>Une seule double liaison</i>				
1	$\beta$ -citronellol	entre 186 et 189	env. 10 000	210,5
2	$\alpha$ -citronellol (Rhodinol)	entre 186 et 189	env. 9 000	206,5
3	Dihydro-7,8- $\beta$ -linalol	entre 186 et 189	env. 8 500	211
4	Dihydro-2,3-linalol	au-dessous de 185	(3000 à 185 $m\mu$ )	194
5	Tétrahydro-2,3,6,7-nérolidol	au-dessous de 185	(5500 à 185 $m\mu$ )	195
6	Dihydro-7,8-méthyl-3- $\beta$ -linalol	entre 189 et 192	env. 11 500	217
<i>Plusieurs liaisons insaturées</i>				
7	$\beta$ -géraniol	entre 190 et 195	18 000	
8	$\beta$ -nérol	entre 189 et 194	18 000	
9	Dihydro-11,12- $\beta$ -nérolidols	entre 189 et 194	19 000	
10	$\beta$ -farnésols	entre 192 et 196	28 500	
11	$\beta$ -linalol	au-dessous de 185	(14 500 à 185 $m\mu$ )	
12	Méthyl-3- $\beta$ -linalol	entre 185 et 189	env. 14 000	
13	$\beta$ -nérolidols	entre 187 et 191	22 500	
14	Lavandulol	entre 185 et 189	17 000	
<i>Alcools saturés</i>				
15	Dihydrocitronellol	—	(750 à 185 $m\mu$ )	—
16	Hexahydro-nérolidol	—	(600 à 185 $m\mu$ )	—

Nos mesures ont donné les résultats suivants:

On peut admettre qu'en l'absence d'une structure « en paliers » de la courbe d'absorption au-dessous de 185  $m\mu$ , et si l'on suppose que l'intensité au maximum est du même ordre et que la largeur de bande n'est pas sensiblement altérée, le maximum dû au groupe vinyle peut être déduit de celui dû au groupe isopropylidène (dihydro-7,8- $\beta$ -linalol,  $\beta$ -citronellol) en considérant l'absorption à 185  $m\mu$ . On peut aussi considérer les valeurs de longueur d'onde pour lesquelles le coefficient d'absorption = 1000. Tout ceci admis et considéré, on en peut déduire que le maximum d'absorption relatif au groupe  $-\text{CH}=\text{CH}_2$  du dihydro-2,3-linalol et du tétrahydro-2,3,6,7-nérolidol se trouve entre 175 et 180  $m\mu$ .

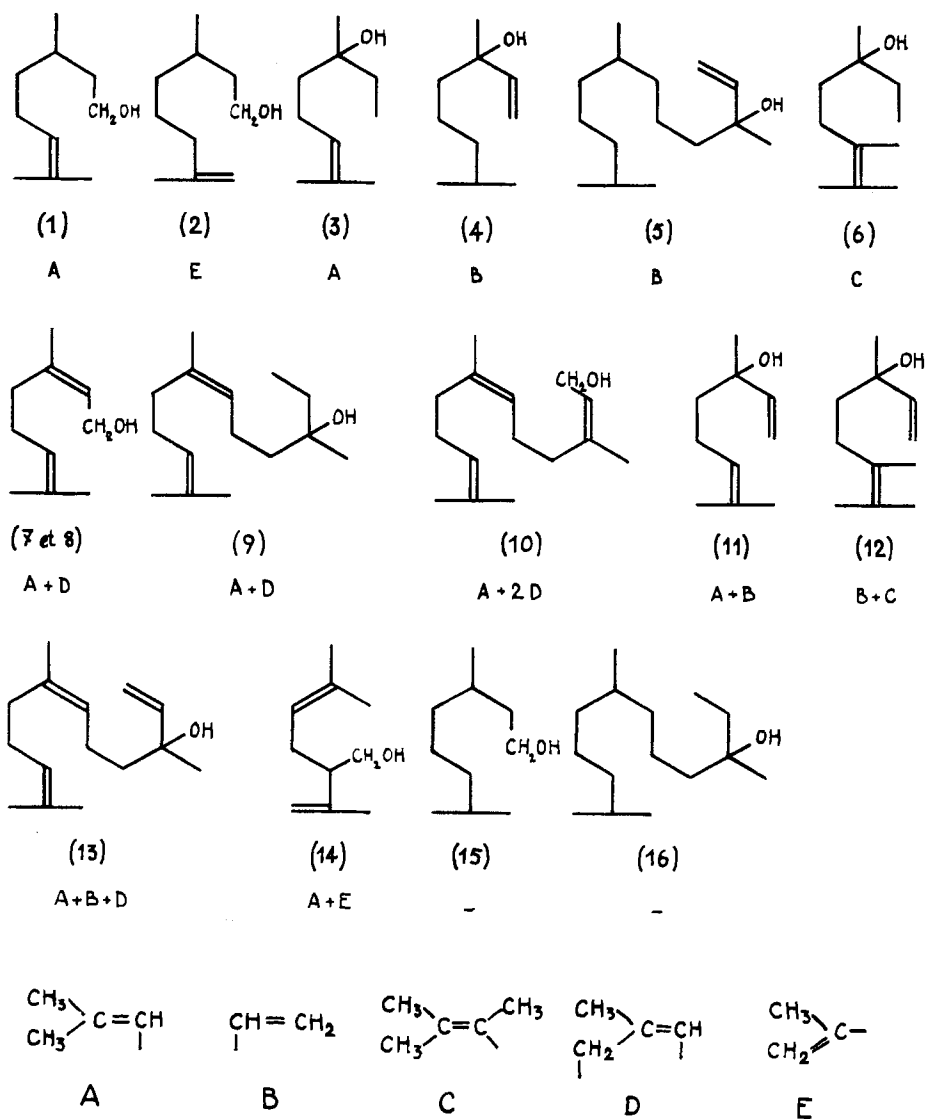


Tableau 11. Les substances examinées

On constate que si les groupements éthyléniques peuvent être distingués par leur absorption chez les alcools monoéthyléniques, tel n'est plus le cas chez les alcools polyéthyléniques. Du fait des largeurs des bandes, il n'apparaît qu'une bande de superposition (linalol, méthyl-3-linalol, nérolidol).

En outre, on remarque que:

1. Le nérol et le géraniol, stéréo-isomères, ne sont pas appréciablement différenciés dans les conditions de nos mesures. On en peut déduire que la composition stéréo-isomérique des préparations de farnésol, de nérolidol et de dihydro-11,12-nérolidol étudiées ne marque pas leur absorption.

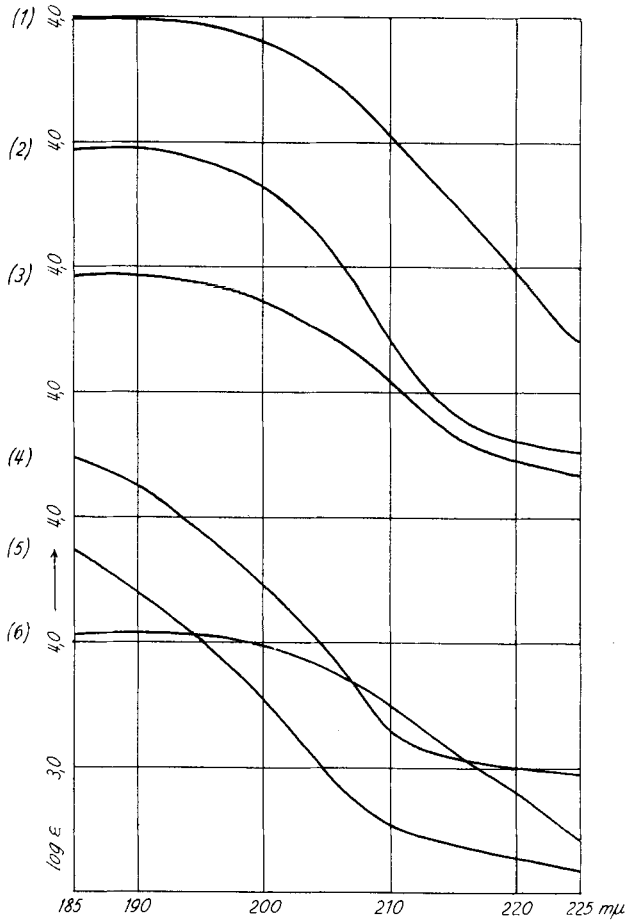


Fig. 1

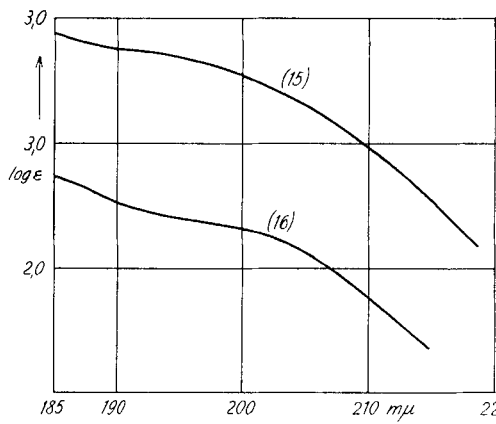


Fig. 3

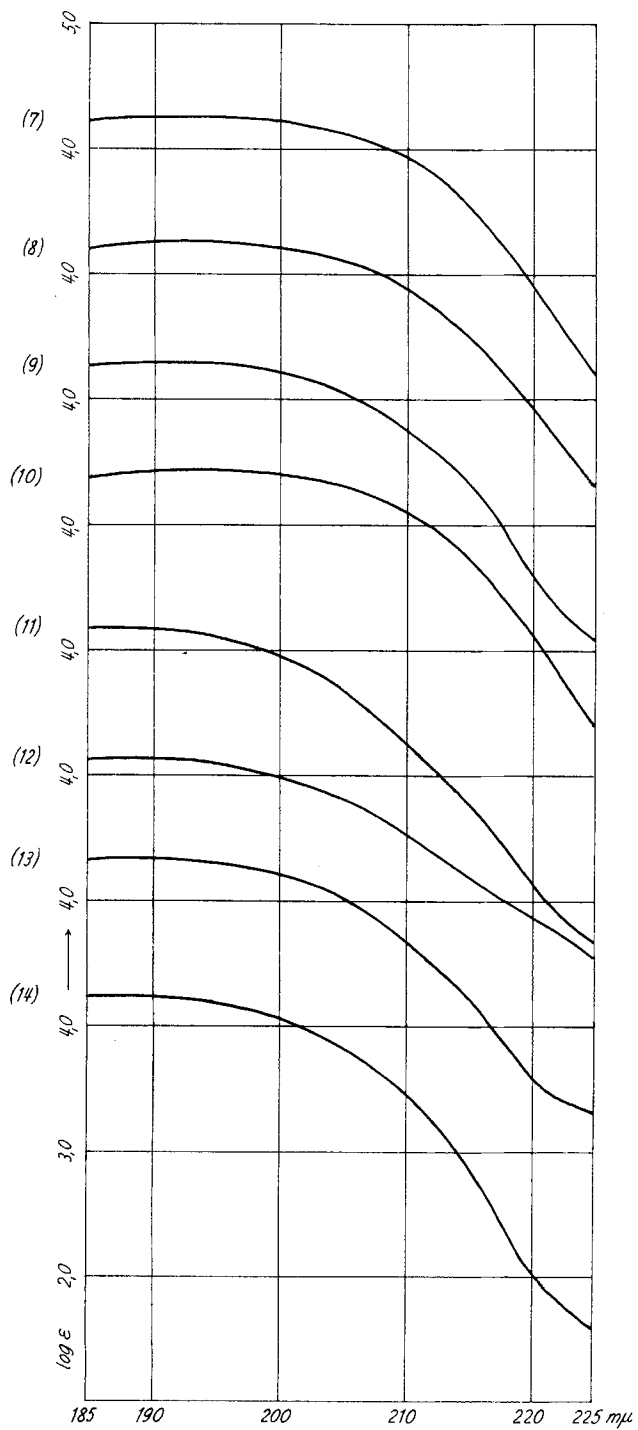


Fig. 2

2. A la liaison insaturée dans le groupe A correspond une absorption de plus courte longueur d'onde que dans le cas du triméthyl-2,4,4-pentène-2 étudié par CHAPMAN & PARKER<sup>4c</sup>) ( $\lambda_{max} = 193,5 \text{ m}\mu$ ;  $\varepsilon = 8000$ ). Avec le lavandulol on observe la somme des absorptions A + E. Un groupe E donne, dans le triméthyl-2,4,4-pentène-1:  $\lambda_{max} = 193 \text{ m}\mu$ ;  $\varepsilon = 7000$ .

3. Les valeurs mesurées avec le dihydro-7,8-méthyl-3-linalol sont proches de celles relatives au tétraméthyléthylène (STICH, ROTZLER & REICHSTEIN<sup>4b</sup>)):  $\lambda_{max} = 196,5 \text{ m}\mu$ ;  $\varepsilon = 11500$ ). CHAPMAN & PARKER<sup>4c</sup>) admettent pour ce type de liaison  $\lambda_{max} = 199$  à  $202 \text{ m}\mu$ .

Les spectres d'absorption, dans les conditions où nous les avons mesurés, ne peuvent servir à déterminer ces alcools individuellement dans leurs mélanges, ni même à estimer les proportions relatives des alcools de divers types. Tout au plus pourrait-on envisager de déterminer l'ensemble des alcools d'un même type dans des mélanges de substances ne renfermant pas d'autres substances insaturées ou d'amines, notamment.

**Partie expérimentale.** – Les substances étudiées étaient sensiblement pures, ainsi qu'il résultait de leurs chromatographies de vapeurs dans des conditions convenables.

Le *n*-heptane utilisé était le produit MÉRCK, n° de référence 4366, desséché par percolation sur gel de silice. Sa transmission, sous 1 mm d'épaisseur, était de 70% à 185 m $\mu$ .

Le spectromètre utilisé a été l'appareil OPTICA modèle CF 4 DR, n° de série 414. La bande passante, qui traduit le pouvoir séparateur du monochromateur, déterminé notamment par la sensibilité de la cellule de détection et par l'énergie dans le faisceau de référence commandant l'ouverture de la fente, variait en fonction de la longueur d'onde de la manière suivante: à 220 m $\mu$ : 0,1 m $\mu$ ; à 210 m $\mu$ : 0,1 m $\mu$ ; à 200 m $\mu$ : 0,12 m $\mu$ ; à 195 m $\mu$ : 0,20 m $\mu$ ; à 190 m $\mu$ : 0,35 m $\mu$  et à 185 m $\mu$ : 0,70 m $\mu$ .

L'intensité de la radiation diffuse (stray light) diminuait rapidement de 185 à 190 m $\mu$ , où elle était négligeable. A 185 m $\mu$ , la valeur de *T'* filtre dans la formule figurant plus haut était de 3,5% d'après les mesures effectuées avec le filtre de KCl 2M dans une cuve de 1 mm.

L'erreur du calibrage en longueur d'onde due essentiellement à une faible non-linéarité de la dispersion du réseau n'a pas dépassé 0,4 m $\mu$ . L'erreur photométrique a été déterminée à l'aide de solutions normalisées de chromate<sup>6</sup>) et de bichromate<sup>7</sup>) de potassium, entre 220 m $\mu$  et 380 m $\mu$ . Elle était au maximum de 2%. Nous avons admis qu'elle se reportait jusqu'à 185 m $\mu$ .

Les cuves étaient en suprasil, de 1 mm d'épaisseur, appareillées à 0,001 mm près. Une attention particulière a été apportée à leur nettoyage, réalisé dans un mélange chromique sous l'action d'un émetteur ultrasonore.

Les solutions ont été préparées à l'aide de micropipettes de 1 ml (à 0,0001 ml près) et de fioles jaugées de 10 ml (à 0,008 ml près) de P. HAACK, Vienne.

Une faible évaporation de l'heptane hors des cuves n'a pu être évitée et pour cette raison, les valeurs de  $\varepsilon$  peuvent être excessives.

Nous avons utilisé en référence la même cuve remplie d'heptane, qui a été ensuite remplie de la solution.

#### SUMMARY

The ultra-violet spectra of a number of aliphatic terpene and sesquiterpene alcohols together with their hydrogenated derivatives have been measured between 185 and 225 m $\mu$ .

<sup>6</sup>) M. G. MELLON, Analytical Absorption Spectroscopy, p. 261, New York and London 1950.

<sup>7</sup>) J. M. VANDENBELT, J. opt. Soc. America 50, 24 (1960).

The spectra of the heptanic solutions show a single, intense, large and smooth band due to the  $N \rightarrow V$  type transition. The position of the band maximum is defined within a few  $m\mu$ . In the case of monoolefinic alcohols, the measurements on parent olefinic hydrocarbons with respect to intensity and position of maxima have been confirmed. As to the polyolefinic alcohols, the UV. spectra will allow to determine the number of double bonds involved.

Laboratoires de Recherches de  
GIVAUDAN, Société Anonyme,  
Vernier-Genève

## 287. Dosage de traces de vitamine $B_{12}$ par celui du groupe CN qu'elle renferme

par D. Monnier, R. Saba et Y. Galiounghi

Dédié au professeur TH. POSTERNAK à l'occasion de son soixantième anniversaire

(9 IX 63)

La vitamine  $B_{12}$  ( $C_{63}H_{88}O_{14}N_{14}PCo$ ) renferme, entre autre, 1 atome de cobalt, 1 groupe  $CN^-$  et le radical caractéristique diméthyl-5,6-benzimidazole.

De nombreuses méthodes de dosage ont été proposées. La méthode colorimétrique directe recommandée par la pharmacopée helvétique V n'est ni assez sensible, ni assez sélective pour le but que nous nous proposons de doser des traces de  $B_{12}$  dans les produits pharmaceutiques. La méthode polarographique permet de déceler jusqu'à 0,02  $\mu g$  de  $B_{12}$  mais les résultats ne sont pas reproductibles. BACHER et coll.<sup>1)</sup> utilisent la méthode de dilution isotopique: elle ne permet pas de doser moins de 5  $\mu g$  de vitamine. RUDKIN & TAYLOR<sup>2)</sup> transforment la  $B_{12}$  en di-cyanocobalamine, le complexe formé est extrait par l'alcool benzylque, puis par l'eau et dosé par colorimétrie. BOXER & RICKARDS<sup>3)</sup> déterminent le groupement diméthyl-5,6-benzimidazole par colorimétrie et fluorimétrie. IRELAND & FANTES<sup>4)</sup> font une hydrolyse et estérifient les acides rouges qui en résultent. Toutes ces méthodes sont relativement peu sensibles, et les résultats, peu reproductibles.

Tableau I. Vitamine  $B_{12}$  et ses principaux analogues

Nom	Groupe mobile	Radical caractéristique dérivé de	Source naturelle
Cyanocobalamine ( $B_{12}$ )	$CN^-$	diméthyl-5,6-benzimidazole	foie et liqueur de fermentation
Hydroxocobalamine ( $B_{12a}$ )	$OH^-$	diméthyl-5,6-benzimidazole	liqueur de fermentation ou décomposition de la $B_{12}$
Aquocobalamine ( $B_{12b}$ )	$OH_2$	diméthyl-5,6-benzimidazole	les mêmes que pour la vit. $B_{12a}$
Nitrocobalamine ( $B_{12c}$ )	$NO_2^-$	diméthyl-5,6-benzimidazole	liqueur de fermentation
Pseudo-vitamine $B_{12}$	$CN^-$	adénine	matière fécale de porc

<sup>1)</sup> F. A. BACHER, A. E. BOLEY & C. E. SHONK, *Analyt. Chemistry* 26, 1146 (1954).

<sup>2)</sup> G. O. RUDKIN & R. J. TAYLOR, *Analyt. Chemistry* 24, 1155 (1952).

<sup>3)</sup> G. E. BOXER & J. C. RICKARDS, *Arch. Biochemistry* 29, 75 (1950).

<sup>4)</sup> K. H. FANTES & D. M. IRELAND, *Biochem. J.* 46, XXXIV (1950).