

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] A. SAI-HALASZ, *Experientia* 18, 137 (1962).  
 [2] J. R. VANE et coll., *Nature* 191, 1068 (1961).  
 [3] A. HOFFMANN, *Chimia* 14, 309 (1960).  
 [4] A. STOLL, F. TROXLER, J. PEYER & A. HOFFMANN, *Helv.* 38, 1466 (1955).  
 [5] M. E. SPEETER & W. C. ANTHONY, *J. Amer. chem. Soc.* 76, 6208 (1954).  
 [6] V. M. MIĆOVIĆ & M. L. J. MIHAILOVIĆ, *J. org. Chemistry* 18, 1190 (1953).  
 [7] C. W. HUFFMAN, *J. org. Chemistry* 23, 727 (1958).  
 [8] A. FISER, *J. Amer. chem. Soc.* 78, 3670 (1956).  
 [9] M. E. SPEETER & W. C. ANTHONY, *J. Pharmacol.* 14, 99 (1959).  
 [10] T. HOSHINO, *Liebigs Ann. Chem.* 520, 13 (1934).  
 [11] R. W. JACKSON, *J. biol. Chemistry* 88, 659 (1930).

### 133. Contribution à l'étude d'un produit de $\beta$ -hydroxyéthylation du rutoside

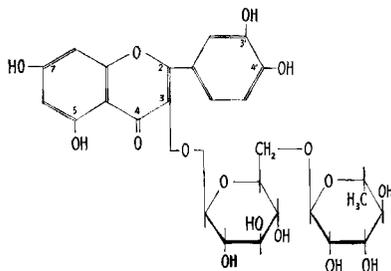
Partie 1

#### Isolement et identification des constituants majeurs par chromatographie sur papier

par P. Courbat, J. Favre†, R. Guerne et G. Uhlmann<sup>1)</sup>

(2 II 66)

**Introduction.** – Le rutoside (I) est peu soluble dans l'eau (0,013% à 20°; 0,5% à 98°) [1]; comme il possède 4 fonctions phénoliques aux positions 5, 7, 3' et 4', on peut en principe le transformer en dérivés hydrosolubles en introduisant par éthérisation ou estérification sur ces fonctions OH des restes appropriés.



Le traitement du rutoside par trois moles de glycolchlorhydrine par mole d'oside en milieu aqueux alcalin [2], conduit à un mélange constant d'O- $\beta$ -hydroxyéthyl-rutosides (HER) hydrosolubles, comme le montrent le comportement physique et chimique des principaux composants, l'examen en RMN. de l'un d'entre eux et l'analyse centésimale de deux d'entre eux. C'est une poudre jaune, légèrement hygroscopique, sans saveur ni odeur, extrêmement soluble dans l'eau et le méthanol, soluble dans la pyridine et les glycols, peu soluble dans l'éthanol, l'isopropanol, le buta-

<sup>1)</sup> Département Science, ZYMA S.A. (Directeur D<sup>r</sup> P. GRUMBACH).

nol-1, l'acétone, l'acétate d'éthyle et le chloroforme, pratiquement insoluble dans l'éther et les hydrocarbures.

En solution aqueuse, HER présente sous lumière UV.<sup>2)</sup> une forte fluorescence jaune-verdâtre qui devient de plus en plus bleue lorsqu'on augmente la dilution. En présence de chlorure d'aluminium, la solution aqueuse est jaune brillant à la lumière du jour et présente sous lumière UV. une forte fluorescence verdâtre.

Lorsqu'on traite HER en solution aquo-éthanolique par le magnésium en présence d'acide chlorhydrique, il se développe une coloration rouge persistante (réaction de la cyanidine).

La chromatographie sur papier nous a montré que nous étions en présence d'un mélange de dérivés plus ou moins hydroxyéthylés. Leur séparation et caractérisation au moyen de cette technique fait l'objet du présent travail.

**Partie théorique.** – L'hydroxyéthylation des fonctions phénoliques du rutoside (qui se trouvent en 5, 7, 3' et 4'; voir formule I) peut fournir théoriquement 15 corps: 4 mono-éthers, 6 di-éthers, 4 tri-éthers et 1 tétra-éther.

Dans la littérature nous n'avons trouvé aucune indication concernant la synthèse de l'un quelconque de ces 15 dérivés; de plus, aucun d'eux ne semble avoir été isolé des plantes.

KUHN & Löw [3], JURD & HOROWITZ [4] et PACHECOT & GROUILLER [5] ont observé que les dérivés flavoniques possédant en 3 et 5 des groupes alcoxy ou osyloxy présentent en UV. une fluorescence bleue ou bleu pâle; lorsque seul l'hydroxyle en 5 est étherifié et celui en 3 est libre, la fluorescence est jaune, et enfin, quand l'hydroxyle en 5 est libre, la fluorescence est soit fortement diminuée soit nulle.

En généralisant ces constatations – les dérivés de ce type du rutoside ne sont pas tous connus – on s'attendra à ce qu'en lumière UV. les dérivés du rutoside à fonction phénolique libre en 5 possèdent une fluorescence (jaune) faible ou nulle, tandis que ceux à OH en 5 étherifié (le rutoside possède en 3 un groupe osyloxy) présenteront une fluorescence bleue.

Pour obtenir des quantités pondérables des constituants de HER, nous avons appliqué aux dérivés O-hydroxyéthylés les méthodes chromatographiques dont l'efficacité n'est plus à démontrer, ceci après avoir essayé sans succès les techniques de séparation suivantes:

- a) Extraction au SOXHLET au moyen de solvants organiques (alcools, éther, acétate d'éthyle, cétones, etc.).
- b) Partage entre deux phases liquides.
- c) Précipitation fractionnée (dans EtOH).
- d) Précipitation fractionnée au moyen d'acétate de plomb à différents pH.
- e) Electrophorèse sur papier<sup>3)</sup>.

<sup>2)</sup> Lampe Chromatolux L. N. (360 nm), PLEUGER S.A., Wijnegem, Belgique.

<sup>3)</sup> En électrophorèse horizontale, sous 110 à 220 V, en utilisant une solution aqueuse de borax à 2% (pH 9,4) et pour une durée de 5 à 10 h suivant la tension, on voit HER se séparer partiellement par migration très lente vers la cathode, en 4 constituants: 2, jaunes à la lumière naturelle, et 2, à fluorescence bleue sous UV. Dans les mêmes conditions, en utilisant une solution aqueuse de carbonate d'ammonium à 0,15% (pH 7,8), on peut voir 3 substances jaunes et 4 à fluorescence bleue sous UV. Toutefois, avec cette technique nous n'avons pas obtenu des quantités pondérables des constituants de HER purs.

- f) Extraction à contre-courant selon CRAIG.  
 g) Chromatographie sur colonne de silice, de magnésol, d'alumine acide ou basique, de poudre de cellulose, de polyamides (chromatographie de partage ou à gradient de pouvoir éluant).

Seule la chromatographie sur papier, quoique fastidieuse, nous a fourni des résultats satisfaisants, et en particulier la chromatographie descendante avec les solvants suivants:  $n$ -BuOH-MeOH-H<sub>2</sub>O (10:1:3) (fig. 1), et  $n$ -BuOH-AcOH-H<sub>2</sub>O (6:1:2) (fig. 2). Nous avons pu ainsi distinguer dans HER 12 constituants, dont 5 en proportions nettement plus importantes; les autres ne sont présents qu'en faibles quantités (leur somme est inférieure à 2% du mélange), aussi les avons-nous négligés.

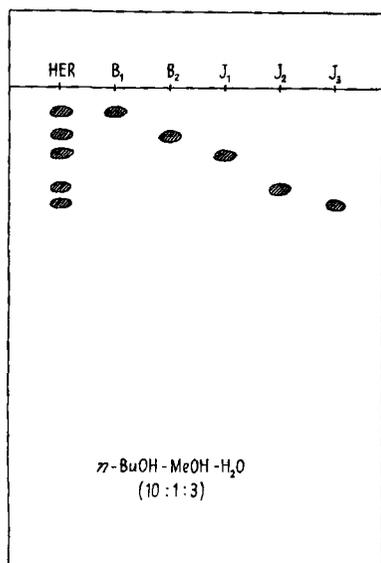


Fig. 1. Dessin schématique des taches des composés majeurs de HER

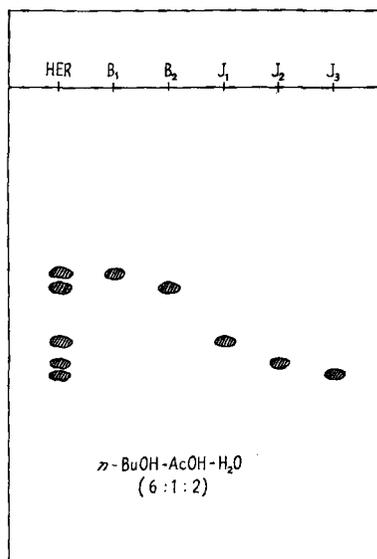


Fig. 2. Dessin schématique des taches des composés majeurs de HER

Parmi les 5 constituants principaux du HER, 2 ( $B_1$  et  $B_2$ ) pratiquement invisibles sur les chromatogrammes à la lumière du jour, présentent une forte fluorescence bleu brillant en UV.; les 3 autres ( $J_1$ ,  $J_2$  et  $J_3$ ) se marquent par des taches jaunes à jaune-brunâtre à la lumière du jour, alors qu'en UV. ils ne présentent pas de fluorescence.

Des évaluations<sup>4)</sup> des teneurs de HER en ces 5 constituants dans quatre séries d'analyses ont fourni des chiffres compris entre les limites suivantes:  $B_1$  7 à 10%;  $B_2$  5 à 8%;  $J_1$  60 à 65%;  $J_2$  8 à 12%;  $J_3$  5 à 8%.

Traitées par le chlorure d'aluminium ou l'acide borique, les taches de  $J_1$ ,  $J_2$  et  $J_3$  prennent une forte fluorescence jaune brillant sous lumière UV., permettant de détecter jusqu'à 0,1  $\mu$ g de substance. En présence de vapeurs ammoniacales,  $J_1$ ,  $J_2$  et  $J_3$  apparaissent en UV. avec une fluorescence jaune-verdâtre. Certains réactifs tels que la benzidine diazotée, l'Echtblau et l'Echtschwarzsalz K [6] donnent des colorations spécifiques mais malheureusement peu sensibles.

<sup>4)</sup> Voir partie expérimentale, p. 1206.

Les renseignements chromatographiques que nous avons obtenus ne permettent pas à eux seuls de déterminer la structure des composés flavoniques étudiés, mais ils peuvent aider pour leur caractérisation.

Un mémoire ultérieur sera consacré à l'identification des constituants majeurs du HER par spectrophotométrie UV.

Nous remercions M. J.-CL. DAGUET de l'aide qu'il nous a accordée spécialement dans les travaux chromatographiques.

### Partie expérimentale

Les F. ont été déterminés au bloc MAQUENNE. Les microanalyses ont été effectuées par M. le Dr K. EDER, Ecole de Chimie, Université de Genève.

*Isolement des constituants majeurs du HER par chromatographie descendante sur papier.* Sur la largeur d'une feuille de papier pour chromatographie SCHLEICHER & SCHUELL 2043 b gl. (40×50 cm) on applique sous forme d'un trait à 6 cm du bord, une solution aqueuse d'environ 50 mg de HER. Le papier est séché à la température ordinaire et à l'air, puis équilibré dans la cuve chromatographique 12 h à 25°, à l'abri de la lumière, en présence du solvant: *n*-BuOH-MeOH-H<sub>2</sub>O (10:1:3). On laisse alors migrer le solvant pendant 60 h (le front dépasse largement le bord inférieur du papier). Le chromatogramme est ensuite soigneusement séché à l'air, à l'obscurité et à température ambiante (un séchage à haute température entraîne une absorption irréversible d'une partie des composés sur le papier).

La lumière UV. permet de repérer une large bande B à fluorescence bleue, et trois bandes jaunes J<sub>1</sub>, J<sub>2</sub> et J<sub>3</sub>. Ces bandes sont découpées et extraites séparément, à l'abri de la lumière, soit par élution dans une cuve chromatographique au moyen du mélange MeOH-H<sub>2</sub>O (50:50 *v/v*), soit au SOXHLET par MeOH. Chaque éluat est concentré sous vide et rechromatographié séparément. A cet effet quatre papiers ayant reçu respectivement B, J<sub>1</sub>, J<sub>2</sub> et J<sub>3</sub> sont équilibrés 12 h en présence du solvant: *n*-BuOH-AcOH-H<sub>2</sub>O (6:1:2) dans les mêmes conditions que précédemment, puis soumis à la chromatographie proprement dite, qui dure 15 à 20 h pour J<sub>3</sub>, 24 à 30 h pour J<sub>2</sub>, 2 à 3 jours pour J<sub>1</sub> et 5 jours pour B.

Après séchage des chromatogrammes, on constate sous lumière UV. que la bande B s'est dédoublée en bandes B<sub>1</sub> et B<sub>2</sub> tandis que les bandes J<sub>1</sub>, J<sub>2</sub> et J<sub>3</sub> sont restées simples. Toutes les bandes sont découpées, puis extraites au SOXHLET par MeOH. L'évaporation des solutions respectives fournit: B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, J<sub>1</sub>, J<sub>2</sub> et J<sub>3</sub>.

Rechromatographiées dans les solvants: *iso*-PrOH-AcOH-H<sub>2</sub>O (10:3:87) ou AcOH-H<sub>2</sub>O (3:7) (technique ascendante), ou *n*-BuOH saturé de H<sub>2</sub>O (technique descendante), ces 5 fractions se montrent homogènes.

Les 5 constituants isolés de HER obtenus d'abord sous forme de poudres jaunes, amorphes, sont cristallisables dans MeOH. Les températures de décomposition et les microanalyses de deux d'entre eux figurent dans le Tableau I.

Tableau I. Les 5 constituants majeurs de HER

Composé	Formule brute	Nombre OH phénoliques		F. déc.	Microanalyses			
		éthérifiés	libres		Calculé		Trouvé	
					% C	% H	% C	% H
B <sub>1</sub>	C <sub>35</sub> H <sub>46</sub> O <sub>20</sub>	4	—	182–183°	53,43	5,89		
B <sub>2</sub>	C <sub>33</sub> H <sub>42</sub> O <sub>19</sub>	3	1	—	53,26	5,70		
J <sub>1</sub>	C <sub>33</sub> H <sub>42</sub> O <sub>19</sub>	3	1	180–181°	53,36	5,70	53,03	5,93
J <sub>2</sub>	C <sub>31</sub> H <sub>38</sub> O <sub>18</sub>	2	2	194–196°	53,29	5,48		
J <sub>3</sub>	C <sub>29</sub> H <sub>34</sub> O <sub>17</sub>	1	3	245–247°	53,21	5,23	53,10	5,38

*Evaluation des teneurs de HER en ces 5 constituants majeurs (v. chiffres indiqués plus haut).* L'évaluation est basée sur les quantités obtenues dans 4 séries de séparations comportant chacune 30 chromatogrammes.

*Chromatographie sur papiers tamponnés respectivement au phosphate et au borate.* – La chromatographie sur papiers tamponnés respectivement au phosphate (pH 8,7) et au borate (pH 8,7) [7] permet de mettre en évidence la présence d'un groupement formé de deux OH phénoliques voisins, ou d'un OH phénolique en *ortho* par rapport au C carbonyle des composés flavoniques [8]. En effet, l'ion borate forme un complexe avec ces deux types de structures, ce qui entraîne une diminution caractéristique du Rf par rapport au Rf obtenu sur du papier au tampon phosphate.

Les résultats obtenus par cette technique avec deux systèmes de solvants (v. Tableau II) montrent un abaissement caractéristique du Rf pour J<sub>1</sub>, J<sub>2</sub>, J<sub>3</sub> et le rutoside, abaissement qui fait défaut pour B<sub>1</sub> et B<sub>2</sub>. Or le rutoside possède deux OH phénoliques voisins (en 3' et 4') d'une part et d'autre part un groupe OH libre (en 5) situé en *ortho* par rapport au C carbonyle (en 4). J<sub>1</sub>, J<sub>2</sub> et J<sub>3</sub> doivent donc posséder soit un reste OH en 5, soit deux OH voisins (en 3' et 4'), soit encore des OH libres en 5, 3' et 4'. Par contre, chez B<sub>1</sub> et B<sub>2</sub>, l'hydroxyle en 5 et l'un ou l'autre des hydroxyles en 3' et 4', voire les deux, sont vraisemblablement hydroxyéthylés.

Tableau II. Valeurs des Rf des 5 composants et du rutoside sur papier imprégné de tampon

Solvant	<i>n</i> -BuOH saturé d'H <sub>2</sub> O		<i>n</i> -BuOH-MeOH-H <sub>2</sub> O (10:1:3)	
	phosphate	borate	phosphate	borate
B <sub>1</sub>	0,02	0,01	0,13	0,13
B <sub>2</sub>	0,05	0,06	0,16	0,12
J <sub>1</sub>	0,11	0,02	0,23	0,13
J <sub>2</sub>	0,15	0,03	0,27	0,13
J <sub>3</sub>	0,20	0,02	0,32	0,13
Rutoside	0,06	0,00	0,18	0,00

*Chromatographie sur papier imprégné de chlorure d'aluminium* (résultats v. Tableau III). La chromatographie sur papier imprégné de chlorure d'aluminium [9] permet de caractériser la présence d'un OH phénolique en *ortho* par rapport au groupe carbonyle. Appliquée aux constituants du HER, cette chromatographie permet de vérifier s'ils possèdent ou non en 5 un OH libre, la chélation de la molécule par le métal exigeant la présence de cet hydroxyle, et cette chélation entraînant une diminution sensible du Rf par rapport à celui obtenu sur papier non traité.

Dans les deux solvants utilisés (v. Tableau III), un abaissement caractéristique n'est obtenu que pour J<sub>1</sub>, J<sub>2</sub>, J<sub>3</sub> et le rutoside. Ces résultats confirment ceux obtenus au moyen des papiers tamponnés, à savoir que l'hydroxyle en 5 est vraisemblablement étherifié dans les composés B<sub>1</sub> et B<sub>2</sub> alors qu'il doit être libre dans les autres.

Tableau III. Valeurs des Rf des 5 composants majeurs et du rutoside sur papier non traité et sur papier au chlorure d'aluminium dans 2 solvants

Solvant	<i>n</i> -BuOH saturé d'H <sub>2</sub> O		<i>n</i> -BuOH-MeOH-H <sub>2</sub> O (10:1:3)	
	non traité	AlCl <sub>3</sub>	non traité	AlCl <sub>3</sub>
Papier				
B <sub>1</sub>	0,05	0,04	0,05	0,04
B <sub>2</sub>	0,08	0,07	0,10	0,07
J <sub>1</sub>	0,16	0,02	0,14	0,03
J <sub>2</sub>	0,29	0,03	0,21	0,05
J <sub>3</sub>	0,37	0,03	0,24	0,07
Rutoside	0,25	0,02	0,26	0,02

*Etude chromatographique à partir des Rf.* BATE-SMITH & WESTALL [10] ont montré que dans une série de composés se distinguant les uns des autres par le nombre de certains substituants,

les valeurs du  $R_f$  sont liées au nombre de ces substituants; ainsi, la grandeur  $R_M$  définie par l'expression:

$$R_M = \log \left( \frac{1}{R_f} - 1 \right)$$

est une fonction linéaire du nombre de substituants d'un type déterminé.

Dans le cas des constituants du HER, que nous avons isolés, nous pouvons admettre que nous avons affaire à des composés respectivement mono-, di-, tri- et tétra-éthérifiés du rutoside.

Nous avons vérifié l'équation de BATE-SMITH & WESTALL en chromatographie descendante au moyen de deux solvants, l'un neutre (pH 6,9), l'autre acide (pH 2,8), pour des déplacements du front du solvant d'une part de 22 cm, d'autre part de 40 cm, et pour des quantités de substances de l'ordre de 10  $\mu\text{g}$ .

Tableau IV. Valeurs des  $R_f$ , et des  $R_M$  correspondants, des 5 constituants du HER et du rutoside sur papier non traité

Solvant	<i>n</i> -BuOH saturé d' $\text{H}_2\text{O}$ (pH = 6,9)		<i>n</i> -BuOH-AcOH- $\text{H}_2\text{O}$ (4:1:5) (pH = 2,8)	
	22 cm	40 cm	22 cm	40 cm
Parcours du solvant	22 cm	40 cm	22 cm	40 cm
Durée	10 h	30 h	7 h	24 h
Mesures	$R_f$ $R_M$	$R_f$ $R_M$	$R_f$ $R_M$	$R_f$ $R_M$
$B_1$	0,18 +0,65	0,03 +1,5	0,39 +0,19	0,26 +0,45
$B_2$	0,24 +0,50	0,05 +1,27	0,42 +0,14	0,28 +0,41
$J_1$	0,31 +0,35	0,06 +1,24	0,53 -0,05	0,31 +0,35
$J_2$	0,38 +0,21	0,10 +0,95	0,58 -0,14	0,35 +0,26
$J_3$	0,65 -0,27	0,14 +0,79	0,60 -0,18	0,38 +0,21
Rutoside	0,76 -0,50	0,21 +0,57	0,59 -0,16	0,48 +0,03

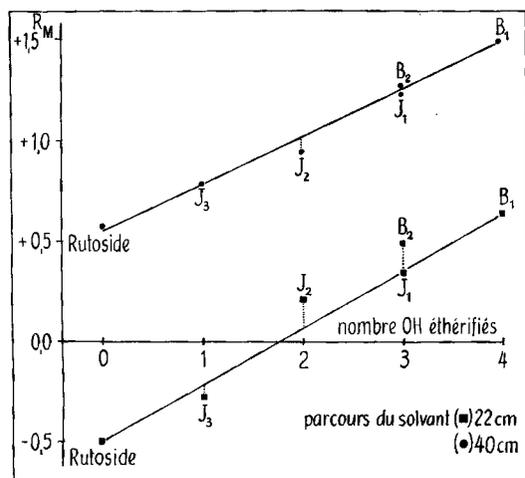


Fig. 3. Distribution des  $R_M$  des constituants majeurs du HER et du rutoside en fonction du nombre de OH éthérifiés

$R_M$  obtenus au moyen du solvant *n*-BuOH saturé d'eau

Les  $R_f$  trouvés et les  $R_M$  calculés sont indiqués dans le Tableau IV; les diagrammes correspondants (v. figures 3 et 4) montrent qu'en attribuant aux divers composants le nombre de OH étherifiés indiqués, on obtient effectivement chaque fois une droite avec une bonne approximation.

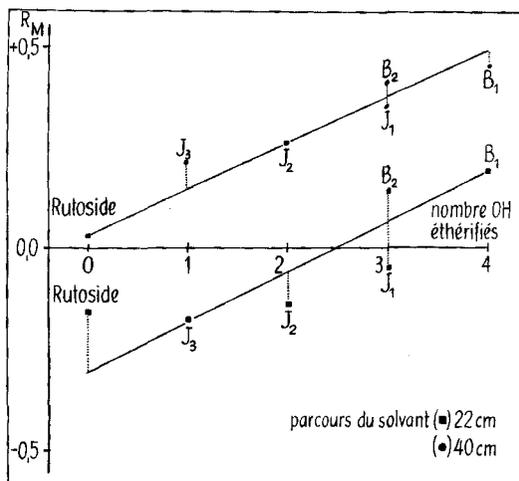


Fig. 4. Distribution des  $R_M$  des constituants majeurs du HER et du rutoside en fonction du nombre de OH étherifiés

$R_M$  obtenus au moyen du solvant  $n$ -BuOH-AcOH-H<sub>2</sub>O (4:1:5)

*Examen du reste osidique des constituants isolés de HER.* 40 à 50 mg de chacun des constituants B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, J<sub>1</sub>, J<sub>2</sub> et J<sub>3</sub> sont dissous respectivement dans 1 à 1,5 ml HCl 1N et hydrolysés par chauffage de 1 h au bain-marie bouillant; refroidies à +4°, les solutions sont filtrées sur creuset filtrant G4, et les filtres, lavés avec un peu d'eau. Les filtrats, traités selon BAILEY & PRIDHAM [11], sont passés successivement sur Amberlite IR-120 puis sur Dowex 50. Après lavages des résines avec un peu d'eau, on évapore les solutions sous vide jusqu'à réduction des volumes respectifs à 1 ml. Des prises de 10  $\mu$ l de ces solutions sont chromatographiées sur papier SCHLEICHER & SCHUELL 2043b mg/l, selon la technique ascendante (migration sur environ 30 cm) au moyen des solvants *a*:  $n$ -BuOH-AcOH-H<sub>2</sub>O (4:1:5) phase supérieure, et *b*: AcOEt-Pyridine-H<sub>2</sub>O (10:4:3); comme références on a chromatographié des solutions standard de D-glucose<sup>5</sup>) et de L-rhamnose<sup>6</sup>). Après aspersion des chromatogrammes avec une solution éthanolique renfermant 0.2 % de naphtorésorcine et 0,1 vol. d'acide orthophosphorique et exposition des papiers à 105° pendant 10 à 15 min, les oses apparaissent colorés en bleu sur fond rose.

Chacun des constituants de HER laisse apparaître seulement deux taches d'égale intensité et dont les  $R_f$  sont identiques à ceux des substances de référence, à savoir:

Solvant *a*: D-glucose,  $R_f = 0,16$ ; L-rhamnose,  $R_f = 0,33$ .

Solvant *b*: D-glucose,  $R_f = 0,41$ ; L-rhamnose,  $R_f = 0,73$ .

Dans les constituants du HER, le reste osidique n'a donc pas été modifié au cours de l'hydroxy-éthylation.

*Identification par la résonance magnétique nucléaire des protons aromatiques de J<sub>1</sub> isolé du HER<sup>7</sup>*). Le spectre de RMN. de J<sub>1</sub> (fig. 5) a été pris au moyen d'un appareil VARIAN A-60, sur une solution dans le deutéro-diméthylsulfoxyde (environ 90 mg pour 0,4 ml). D'après MASSICOT et coll. [12], les protons du noyau phényle sur C-2 des dérivés flavoniques apparaissent sous forme de deux groupes de signaux, dont l'un (7,63 ppm) correspond aux protons en 2' et 6', alors que

<sup>5</sup>) Produit anhydre, Ph. H. V, *purum* FLUKA A.G., Buchs, SG.

<sup>6</sup>) Produit *puriss.* FLUKA A.G., Buchs SG.

<sup>7</sup>) Nous remercions la CIBA SOCIÉTÉ ANONYME à Bâle et particulièrement MM. les Drs R. F. ZÜRCHER et E. MÉNARD de leur contribution à la réalisation de cette étude.

l'autre (7,11 ppm) correspond aux protons en 3', 4' et 5'. L'intégration de la courbe spectrale de  $J_1$  montre que le premier multiplet correspond à 2 protons (en 2' et 6') et le second à un seul proton (situé en 5'). Les protons aromatiques en 8 et 6 se marquent respectivement par un signal à 6,69 ppm et à 6,36 ppm (d'après l'intégration un seul proton par signal).

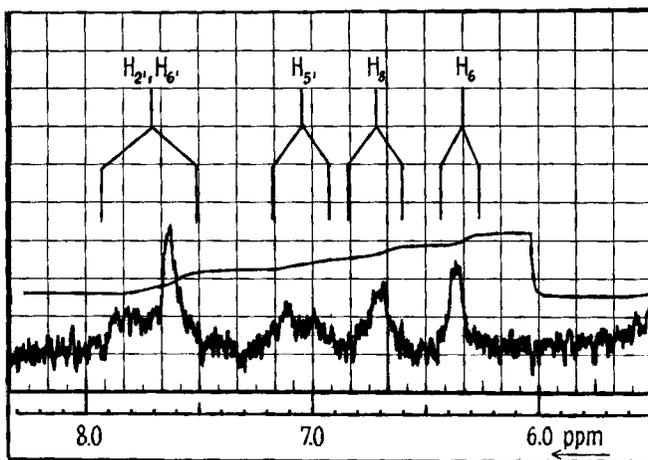


Fig. 5. Spectre de RMN. de  $J_1$ , partie correspondant aux protons aromatiques

Ainsi donc, la présence des protons aux positions 6, 8, 2', 5' et 6' montre pour  $J_1$  qu'il n'y a eu ni substitution ni polymérisation lors de l'hydroxyéthylation du rutoside.

**Discussion.** – 1. Le composé  $B_1$  doit être, d'après l'étude des  $R_M$ , un dérivé tétra-éthérifié; il doit s'agir dès lors du tétra-O-hydroxyéthyl-5, 7, 3', 4'-rutoside. En effet, cette substance présente en UV. la fluorescence bleue caractéristique selon KUHN & LÖW [3], JURD & HOROWITZ [4], PACHECOT & GROUILLER [5] des flavones portant en 3 et en 5 des restes OR. L'absence de OH libre en 5 est mis en évidence par la chromatographie sur papier imprégné de chlorure d'aluminium. Les chromatographies sur papiers tamponnés respectivement au borate et au phosphate montrent l'absence de deux OH phénoliques voisins d'une part et confirment d'autre part l'éthérification du OH en 5.

2. Le composé  $B_2$ , d'après l'étude des  $R_M$ , doit être un tri-éther dans lequel le OH en 5, caractérisable à l'état libre par la chromatographie sur papier au chlorure d'aluminium, est éthérifié, ce que confirme, selon les auteurs [3] [4] [5], la fluorescence bleue observée sous lumière UV. L'absence de deux OH phénoliques voisins est montrée par les chromatographies en présence respectivement de borate et de phosphate.

Les seuls tri-éthers du rutoside répondant à ces critères sont les dérivés tri-éthérifiés en 5, 7, 4', en 5, 7, 3' ou en 5, 3', 4'. Les données chromatographiques dont on dispose ne permettent pas de distinguer lequel de ces trois isomères est  $B_2$ .

3. Le composé  $J_1$ , d'après les diagrammes des  $R_M$ , est un tri-éther à OH libre en 5, d'après les chromatographies sur papier imprégnés de chlorure d'aluminium. Il doit s'agir dès lors du tri-O-hydroxyéthyl-7, 3', 4'-rutoside. Le OH libre en 5, démontré également par les chromatographies sur papiers tamponnés respectivement au borate et au phosphate, justifie, selon KUHN & LÖW [3], JURD & HOROWITZ [4], PACHECOT & GROUILLER [5], l'absence de fluorescence sous lumière UV.

4. *Le composé J<sub>2</sub>* doit être, d'après l'étude des R<sub>M</sub>, un diéther; des deux OH phénoliques libres, l'un se trouve en 5, d'après les chromatographies sur papier au chlorure d'aluminium, ce qui est confirmé, d'après KUHN & LÖW [3], JURD & HOROWITZ [4], PACHECOT & GROULLER [5], par l'absence de fluorescence sous lumière UV. Les variations des R<sub>f</sub> observées dans les chromatographies en présence respectivement de borate et de phosphate doivent être imputées à l'hydroxyle phénolique libre en 5.

Les seuls diéthers du rutoside à OH libre en 5, sont les diéthers en 7,3', en 7,4' ou en 3',4'. Les critères chromatographiques ne permettent pas de faire un choix entre ces structures.

5. *Le composé J<sub>3</sub>* est, d'après les diagrammes des R<sub>M</sub>, un dérivé monoéthérifié; des trois OH phénoliques qu'il possède dès lors, l'un se trouve en 5, d'après les chromatographies sur papier à chlorure d'aluminium, ce qui est confirmé, d'après les auteurs [3] [4] [5], par l'absence de fluorescence en UV. Il reste donc le choix entre les mono-O-hydroxyéthyl-rutosides éthérifiés en 7, en 3' ou en 4'. De nouveau, les données chromatographiques ne permettent pas de faire un choix parmi ces trois dérivés.

#### RÉSUMÉ

Les cinq constituants majeurs du mélange obtenu par hydroxyéthylation des fonctions phénoliques du rutoside selon [2], ont été isolés par chromatographie sur papier, et leurs proportions relatives, évaluées. La comparaison des R<sub>f</sub> obtenus respectivement sur papier non traité, sur papiers tamponnés respectivement au borate et au phosphate, et sur papier imprégné de chlorure d'aluminium, de même que l'étude des R<sub>M</sub> ont permis d'attribuer une structure définie à deux de ces substances, alors qu'un choix restreint de structures peut être proposé pour les trois autres.

Laboratoire de développement chimique  
ZYMA S.A., Nyon (Suisse)

#### BIBLIOGRAPHIE

- [1] J. Q. GRIFFITH, CH. F. KREWSON & J. NAGHSKI, «Rutin and Related Flavonoids», p. 14, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania (USA), 1955.
- [2] J. FAVRE, Brevet suisse 349614 (1957).
- [3] R. KUHN & I. LÖW, Ber. deutsch. chem. Ges. 77, 211 (1944).
- [4] L. JURD & R. M. HOROWITZ, J. org. Chemistry 22, 1622 (1957).
- [5] H. PACHECOT & A. GROULLER, Bull. Soc. chim. France 1965, 782.
- [6] R. NEU, Mikrochem. 196 (1957); Z. analyt. Chem. 151, 321 (1956), 153, 184 (1956); Arch. Pharmaz. 292, 431 (1959); Nature 182, 660 (1958); Z. PROCHÁZKA, «Handbuch der Papierchromatographie», vol. 1, p. 327, VEB Gustav Fischer Verlag, Iena, 1958.
- [7] Z. PROCHÁZKA, «Handbuch der Papierchromatographie», vol. 1, p. 315, VEB Gustav Fischer Verlag, Iena, 1958.
- [8] C. A. WACHTMEISTER, Acta chem. scand. 5, 976 (1951); M. K. SEIKEL, J. Amer. chem. Soc. 77, 5685 (1955); C. G. NORDSTRÖM & T. SWAIN, Arch. Biochemistry Biophysics 73, 220 (1958); L. JURD, J. Chromatog. 4, 369 (1960).
- [9] C. G. NORDSTRÖM & T. SWAIN, Chemistry & Ind. 1953, 823; Arch. Biochemistry Biophysics 60, 329 (1956).
- [10] E. C. BATE-SMITH & R. G. WESTALL, Biochimica biophysica Acta 4, 427 (1950).
- [11] R. W. BAILEY & J. B. PRIDHAM, Chromatographic Reviews 4, 114 (1962).
- [12] J. MASSICOT & J.-P. MARTHE, Bull. Soc. chim. France 1962, 1962; J. MASSICOT, J.-P. MARTHE & S. HEITZ, *ibid.* 1963, 2712.