

SUR L'IDENTIFICATION CHROMATOGRAPHIQUE DE BASES PYRAZINIQUES

P. DIETRICH ET D. MERCIER

Institut de Biologie Physico-chimique, Paris (France)

Au cours des dernières années un grand nombre de travaux concernant l'altération des sucres en présence d'acides aminés ou d'amines (réaction de MAILLARD¹) ont été publiés. Un résumé complet de ces recherches a été donné récemment par HODGE². En étudiant le mécanisme de la réaction entre sucres et acides aminés, plusieurs auteurs³⁻⁷ ont pu montrer que le traitement d'un sucre par le NH_3 (ou une amine) fournit, parmi d'autres produits de réaction, des bases pyraziniques. Il est connu aussi que les composés carbonylés, α -aminés, se condensent facilement sur eux-mêmes en fournissant des dérivés de la pyrazine (ou de la dihydro-pyrazine). Ainsi p. ex. une solution méthanolique ou aqueuse de D-fructosamine dépose, après quelques jours, des cristaux de fructosazine (di-(tétrahydroxy-1',2',3',4'butyl-1')-2,5 pyrazine)⁸. Etant donné que l'isolement des bases pyraziniques du milieu réactionnel est souvent assez difficile, nous voudrions décrire une méthode chromatographique que nous utilisons, dans notre laboratoire, pour la détermination de bases dérivées de la pyrazine.

SÉPARATION DE PYRAZINES EN PHASE GAZEUSE

Au cours de nos travaux nous étions particulièrement intéressés dans la séparation et la détermination de bases pyraziniques volatiles. Ainsi nous étions amenés à étudier tout d'abord la possibilité d'une séparation de ces bases par chromatographie gaz-liquide. Cette méthode a été employée avec succès pour l'identification de bases

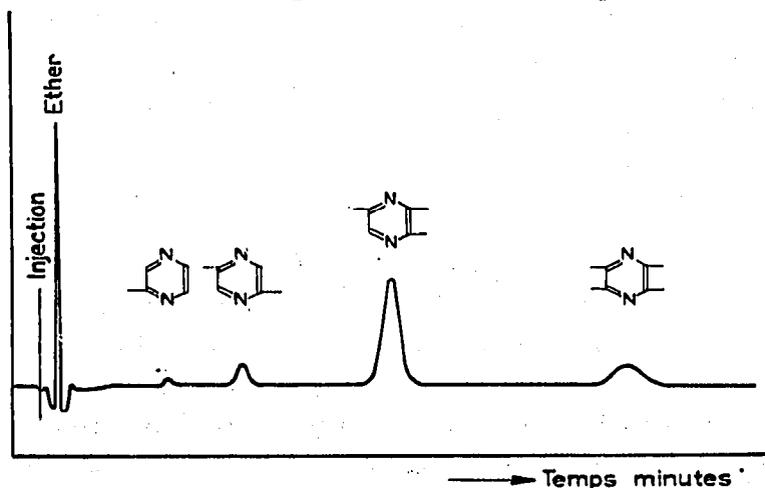


Fig. 1. Chromatographie gaz-liquide d'une préparation synthétique de triméthylpyrazine, montrant des impuretés mono-, di- et tétra-méthylés.

pyridiniques⁹⁻¹¹. Quelques essais d'orientation nous ont montré que, par chromatographie gaz-liquide, on arrive facilement à séparer les différentes bases pyraziniques homologues, c'est à dire pyrazine, monométhyl-pyrazine, diméthyl-pyrazine etc. Dans la Fig. 1 nous reproduisons une chromatographie typique d'un mélange de bases pyraziniques méthylées.

Par contre, des essais de séparation de bases pyraziniques isomères, comme celle des diméthyl-pyrazines (2,3-, 2,5- et 2,6), qui montrent de très faibles différences de point d'ébullition, ne donnaient pas des résultats satisfaisants. Pour cette raison nous nous sommes proposés de combiner, pour l'identification des bases pyraziniques volatiles, la chromatographie gaz-liquide à la chromatographie sur papier.

SÉPARATION DES ACIDES PYRAZINE-CARBOXYLIQUES SUR PAPIER

L'identification des bases pyraziniques méthylées ou alcoylées séparées d'abord en groupes par chromatographie en phase gazeuse, peut être effectuée par chromatographie sur papier des acides pyrazine-carboxyliques, obtenus par oxydation par le $KMnO_4$. En suivant un travail de KUFFNER ET FADERL¹² qui ont décrit la séparation chromatographique sur papier des différents acides pyridine-mono- et di-carboxyliques nous avons trouvé que le mélange *n*-butanol-acide formique-eau (4:1:1) convenait bien pour la séparation des acides pyrazine-carboxyliques. La révélation des acides pyrazine-carboxyliques peut être effectuée facilement par une solution aqueuse de $FeSO_4$. Dans le Tableau I nous donnons les valeurs des R_F obtenues pour les différents acides.

TABLEAU I

VALEURS DES R_F DES ACIDES PYRAZINE-CARBOXYLIQUES
Solvent: *n*-butanol-acide formique-eau (4:1:1); révélation: $FeSO_4$

Acide	R_F^*	Coloration avec $FeSO_4$
Pyrazine-monocarboxylique	0.64	Rouge-jaune
Pyrazine-dicarboxylique-2,3	0.49	Rouge-Bordeaux
Pyrazine-dicarboxylique-2,5	0.42	Violette
Pyrazine-dicarboxylique-2,6	0.71	Rouge-violette
Pyrazine-tricarboxylique	0.57	Rouge-violette
Pyrazine-tétracarboxylique	0.31	Violette

* Valeurs de R_F obtenues en utilisant des quantités de 10-15 μ de chaque acide.

Pour l'oxydation des bases pyraziniques alcoylées en acides pyrazine-carboxyliques nous avons employé une solution de $KMnO_4$ à 4 %. En utilisant ce réactif l'oxydation des différentes bases pyraziniques alcoylées ainsi que celle d'autres bases pyraziniques (comme par exemple de la fructosazine) est complète après 5-6 heures (à une température de 80-100°). Le produit brut d'oxydation (en solution dans l'eau et après décantation du MnO_2) peut être employé, sans autre purification, pour les chromatographies sur papier. Ceci permet d'effectuer ces oxydations en partant de 1-2 mg d'un mélange de bases pyraziniques.

Bibliographie p. 69.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Chromatographie gaz-liquide

Les chromatographies des bases pyraziniques volatiles ont été effectuées sur un appareil de la maison Griffin & Tatlock, Angleterre.

Phase stationnaire: Di-nonyl-phtalate.

Phase mobile: Azote (débit: 2.8 l/h).

Température de la colonne: 120°.

Pression à l'entrée de la colonne: 400 mm.

Pression à la sortie de la colonne: 90 mm.

Chromatographie sur papier

Pour toutes les chromatographies nous avons employé le papier Whatman No. 1 (chromatographies ascendantes en laissant couler le solvant pendant 15 heures; la révélation est faite avec une solution de FeSO₄ à 0.5 %). Le solvant indiqué plus haut (*n*-butanol-acide formique-eau (4:1:1)) permet une bonne séparation des différents acides pyrazine-carboxyliques.

REMERCIEMENTS

Nous remercions Monsieur E. LEDERER de l'intérêt qu'il a témoigné à ce travail et les Etablissements Firmenich et Cie. (Genève) pour leur aide financière.

RÉSUMÉ

Description de la séparation de bases pyraziniques volatiles par chromatographie gaz-liquide et de la séparation des acides pyrazine-carboxyliques par chromatographie sur papier.

SUMMARY

Description of the separation of volatile pyrazine bases by gas-liquid chromatography and the separation of the pyrazine-carboxylic acids by paper chromatography.

BIBLIOGRAPHIE

- ¹ L. C. MAILLARD, *Compt. rend.*, 154 (1912) 66.
- ² J. E. HODGE, *Agricultural and Food Chem.*, 1 (1953) 928.
- ³ A. GOTTSCHALK, *Nature*, 167 (1951) 845.
- ⁴ C. D. HURD, in *Contributions of Browning Research to Ration Item Stability*, pp. 21-23, Chicago, Ill., Research and Development Associates, Food and Container Institute, Inc., 1952.
- ⁵ L. F. WIGGINS ET W. S. WISE, *Chem. and Ind.*, (1955) 656.
- ⁶ B. K. DAVISON ET L. F. WIGGINS, *Chem. and Ind.*, (1956) 982.
- ⁷ L. HOUGH, J. K. N. JONES ET E. L. RICHARDS, *J. Chem. Soc.*, (1952) 3854.
- ⁸ L. DE BRUYN, *Rec. trav. chim.*, 18 (1899) 72.
- ⁹ A. T. JAMES, *Biochem. J.*, 52 (1952) 242.
- ¹⁰ W. J. MURRAY ET A. F. WILLIAMS, *Chem. and Ind.*, (1956) 1020.
- ¹¹ V. T. BROOKS ET G. A. COLLINS, *Chem. and Ind.*, (1956) 1021.
- ¹² F. KUFFNER ET N. FADERL, *Monatsh.*, 86 (1955) 995.

Reçu le 5 juin 1957