

# SÉPARATION DE LA SOLANINE, DE LA CHACONINE ET DE LA SOLANIDINE PAR CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHES MINCES

R. PAQUIN

*Station de Recherches,  
La Pocatière, Québec (Canada)*

ET

M. LEPAGE

*Institut de Recherches sur les Aliments, Ferme Expérimentale Centrale, Edifice K. W. Neatby,  
Ottawa (Canada)*

(Reçu le 28 janvier 1963)

La solanine, la chaconine et la solanidine sont les principaux alcaloïdes présents dans les solanacées, particulièrement dans la pomme de terre (*Solanum tuberosum*). En plus d'un noyau aglycone, la solanidine, la solanine comprend une molécule de chacun des hydrates de carbone suivants: glucose, galactose et rhamnose. La chaconine ne diffère de la solanine que par l'absence de galactose<sup>1-3</sup>.

Le point de fusion a servi longtemps de critère principal pour mesurer le degré de pureté de ces substances. Cependant, dans le cas de la solanine, plusieurs auteurs ont rapporté différents points de fusion, soit de 235° à 285° environ, démontrant alors que certaines préparations n'avaient été que partiellement purifiées<sup>2</sup>. Heureusement, les techniques plutôt récentes de séparation par chromatographie sur papier et sur colonne ont permis de déceler dans les extraits de solanine la présence de la chaconine et de quelques composés contenant le même aglycone<sup>4, 5</sup>. La présence de ces substances analogues peut expliquer en partie la variation dans les points de fusion rapportés pour la solanine<sup>1, 6</sup>. Cependant, nous avons pu constater que la chromatographie sur papier ne permet pas de séparer la solanidine de la solanine et de la chaconine. D'autre part, il semble définitivement établi que la solanidine existe à l'état libre avec les deux autres alcaloïdes, atteignant jusqu'à 33 % de la quantité totale des trois alcaloïdes dans certaines variétés de pommes de terre<sup>3</sup>. Nous avons donc eu recours à la chromatographie sur couches minces pour effectuer une séparation plus complète. Cette méthode nous a aussi permis de vérifier le point de fusion et le degré de pureté de nos extraits. Ce sont les résultats de ces travaux que nous voulons présenter ici.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### *Préparation des alcaloïdes*

La méthode de BAKER *et al.*<sup>7</sup> fut généralement utilisée pour l'extraction des alcaloïdes de tubercules de pommes de terre conservés en caveau à 4° ou lyophilisés. Deux à dix grammes de tubercules moulus finement sont extraits dans un appareil à extraction continue durant 16 à 18 h avec du méthanol contenant 2 % d'acide acétique. Le méthanol est enlevé dans un évaporateur rotatif sous le vide à une température

inférieure à 30°. Après l'addition de 3 ml d'une solution d'acide sulfurique à 1 %, le résidu est filtré et le filtre lavé avec 3 autres ml de la même solution d'acide sulfurique. Le filtrat est alors alcalinisé avec de l'ammoniaque. Les alcaloïdes précipitent complètement à une valeur pH de 10.0 environ. Après avoir été refroidi, le précipité est enlevé par centrifugation ou par filtration et lavé plusieurs fois avec une solution ammoniacale à 1 %. A ce stade, la solanidine peut être séparée des deux autres alcaloïdes par extraction avec de l'acétone dans un extracteur Soxhlet durant 15 à 16 h. La solanine et la chaconine sont ensuite extraites du résidu à chaud avec de l'éthanol à 80 % d'où la solanine cristallise par refroidissement<sup>8</sup>. Pour la chromatographie, les échantillons de solanidine ou de solanine sont généralement solubilisés dans de l'éthanol contenant 1 à 2 % d'acide acétique.

La solanine et la chaconine furent séparées et purifiées par chromatographie sur colonne d'oxyde d'aluminium (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) suivant les techniques de PASESHNICHENKO ET GUSEVA<sup>6</sup>.

Les points de fusion furent déterminés avec l'appareil de Fisher-Johns calibré avec un sel pur de phénolphthaléine.

Des échantillons de solanidine et de solanine nous ont été fournis gratuitement par les Laboratoires Lyons de Londres et le Dr. A. ZITNAK du Collège Agricole de Guelph, Ontario.

#### *Chromatographie sur couches minces*

Les techniques de chromatographie sur couches minces furent utilisées pour séparer les trois alcaloïdes et pour vérifier leur degré de pureté après chaque essai de purification. Les plaques de verre de 20 cm × 20 cm sont recouvertes d'une couche mince de silica gel G et développées par voie ascendante pendant deux heures jusqu'à une hauteur de 12 à 15 cm environ dans des jarres contenant différents solvants<sup>9</sup>. Après le séchage des plaques à l'air libre, les alcaloïdes sont révélés par la pulvérisation d'une solution saturée de trichlorure d'antimoine dans le chloroforme (réactif de Carr-Price). Les alcaloïdes apparaissent avec une coloration mauve qui change au violet après chauffage pendant quelques minutes à 70°. Le réactif de Marquis peut aussi être pulvérisé sur les plaques de verre<sup>10</sup>. Malheureusement, la coloration pourpre à violet des taches disparaît rapidement et les plaques sèchent difficilement.

#### *Dosage des alcaloïdes*

Les alcaloïdes furent dosés par colorimétrie avec un spectrophotomètre Beckmann, modèle DU, à une longueur d'onde de 570 m $\mu$  suivant la méthode de BAKER *et al.*<sup>7</sup>.

#### *Hydrolyse des alcaloïdes*

La solanine et la chaconine ont été hydrolysées dans une solution N d'acide chlorhydrique suivant les indications de ROOKE *et al.*<sup>11</sup>. Pour la séparation des hydrates de carbone de la solution hydrolysée, nous sommes servis de la chromatographie sur papier à deux dimensions en utilisant comme solvants du phénol saturé d'eau dans la première direction et un mélange de butanol-acide acétique-eau (4:1:5, phase supérieure) dans la deuxième direction, et comme révélateur, le phthalate acide d'aniline<sup>12</sup>. Les taches des hydrates de carbone prennent alors une coloration brune.

## RÉSULTATS ET DISCUSSION

*Dosage par colorimétrie des alcaloïdes*

La Fig. 1 montre que les courbes obéissent à la loi de Bouguer et Beer du moins aux concentrations de 0 à 40  $\mu\text{g}$  par ml pour la solanidine, et de 0 à 125  $\mu\text{g}$  par ml pour la solanine. On constate de plus que la densité optique de la solanidine à des

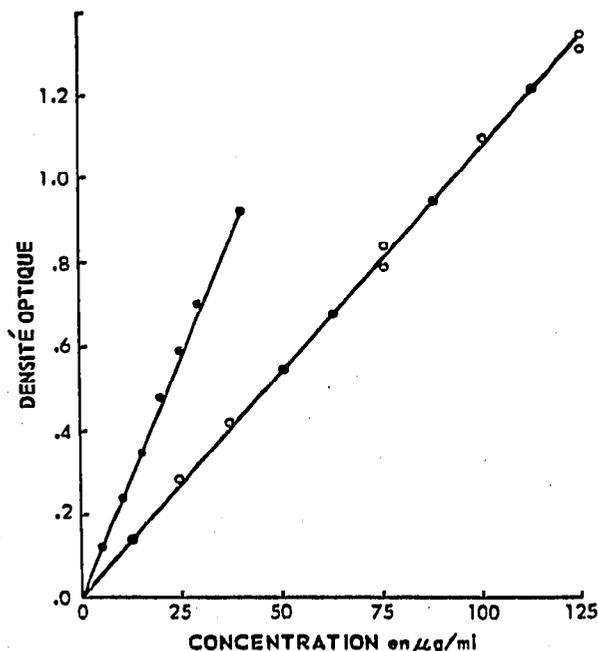


Fig. 1. Variation de la densité optique de la solanine et de la solanidine en fonction de la concentration exprimée en  $\mu\text{g/ml}$  de solution colorée après traitement avec le réactif de Marquis<sup>7</sup>. O—O Solanine;  $y = 0.01085x$ . ●—● Solanidine;  $y = 0.02337x$ .

concentrations égales est plus de deux fois plus grande que celle de la solanine. Ceci démontre que la portion aglycone de la solanine et de la chaconine, la solanidine, réagit seule avec le réactif de Marquis, indépendamment de la présence des hydrates de carbone.

*Chromatographie sur couches minces*

Le Tableau I donne les différents solvants utilisés pour la séparation des trois alcaloïdes sur les plaques de verre recouvertes de silica gel, les valeurs de  $R_F$  correspondantes et la forme des taches pour chacun des alcaloïdes. C'est un mélange d'une partie d'acide acétique et de trois parties d'éthanol à 95 % qui a donné les meilleurs résultats avec des valeurs de  $R_F$  de 0.22, 0.54 et 0.62 respectivement pour la solanine, la chaconine et la solanidine. Si toutefois on a observé des valeurs de  $R_F$  différentes d'un chromatogramme à l'autre pour une même substance, cela n'a pas eu de conséquence puisque le rapport des mobilités des taches demeurerait constant. La chromatographie sur couches minces nous a permis de déceler des quantités aussi minimes que 1  $\mu\text{g}$  de solanidine et 2  $\mu\text{g}$  de solanine ou de chaconine.

La chromatographie sur couches minces nous a aussi aidés à vérifier rapidement le degré de pureté des alcaloïdes à chacune des étapes de leur purification. C'est ainsi

TABLEAU I

VALEURS DE  $R_F$  ET FORME DES TACHES DE LA SOLANINE, DE LA CHACONINE ET DE LA SOLANIDINE OBTENUES AVEC DIFFÉRENTS SOLVANTS

Solvant*	Concentration	Solanine		Chaconine		Solanidine	
		$R_F$	Tache	$R_F$	Tache	$R_F$	Tache
CHCl <sub>3</sub> -AcOH-BuOH	5:1:4	0	—	0	—	—	allongé
CHCl <sub>3</sub> -AcOH-MeOH	85:2:13	0	—	0	—	0.51	ovale
AcOH-EtOH 95 %	3:1	0.1	allongée	0.2	allongée	0.80	ronde
	1:1	0.21-0.22	ovale	0.56	ovale	0.63-0.65	ovale
	1:2	0.24-0.30	ovale	0.46-0.55	ovale	0.60-0.66	ovale
	1:3	0.22	ovale	0.54	ovale	0.62-0.67	ovale
	1:9	0.27-0.38	ovale	0.50-0.52	ovale	0.60-0.80	ronde
DIBK-AcOH-H <sub>2</sub> O	8:5:1	0	—	0	—	0.05-0.10	ronde

\* CHCl<sub>3</sub> = chloroforme; AcOH = acide acétique glacial; BuOH = butanol; MeOH = méthanol; EtOH = éthanol; DIBK = diisobutyl-cétone.

qu'on a pu démontrer que nos préparations de solanine possédaient un degré de pureté sinon supérieur, du moins égal à ceux des échantillons obtenus des Laboratoires Lyons de Londres et du Dr. A. ZIRNAK de Guelph (Fig. 2). Cette méthode nous a aussi permis de constater que la chaconine, différemment de la solanine, est beaucoup plus soluble dans l'éthanol à 80 %.

Si nous comparons cette technique à la chromatographie sur papier, nous constatons qu'en plus des avantages inhérents à la technique elle-même, tels que rapidité, économie d'espace, de matériel, de solvant, facilité de reproduction par photographie ou décalque, usage des acides forts, etc., la chromatographie sur couches minces nous a permis de séparer les trois alcaloïdes (Fig. 2), alors qu'on ne pouvait séparer que la chaconine et la solanine par la chromatographie sur papier. De plus, après l'arrosage au chlorure d'antimoine, le papier devient raide et cassant, ce qui le rend plus difficile à manier et à conserver. Les plaques de verre n'offrent pas cet inconvénient.

#### *Elution quantitative*

Nous avons essayé d'éluier les alcaloïdes des plaques après avoir prélevé les taches avec une petite spatule et en utilisant divers solvants tels que les acides sulfurique à 1 %, chlorhydrique à 8 % ou acétique à 5 %, et l'éthanol à 95 %. Aucun de ces solvants, soit seul ou en mélange, n'a pu extraire plus de 40 à 50 % des alcaloïdes. Nous avons aussi tenté d'éluier les alcaloïdes après les avoir mélangés avec du silica gel dans une éprouvette et en nous servant des mêmes solvants. Ces essais n'ont pas donné de meilleurs résultats. La substance éluée forme un précipité avec le réactif de Marquis, ce qui empêche sa détermination par colorimétrie. Cependant, la solanidine mélangée au silica gel est extraite à 100 % avec de l'éther, mais éluée des chromatogrammes à 50 % seulement avec ce solvant. Le silica gel adsorberait donc très fortement les alcaloïdes.

#### *Point de fusion des alcaloïdes*

Le point de fusion de ces alcaloïdes purifiés fut déterminé à plusieurs reprises et comparé à ceux d'échantillons obtenus des Laboratoires Lyons de Londres et du



Fig. 2. Chromatographie sur couches minces de la solanine, de la chaconine et de la solanidine. Taches de gauche à droite: A:  $\alpha$ -solanine du Dr. A. ZITNAK; B et C: deux de nos extraits d' $\alpha$ -solanine; D: solanine des Laboratoires Lyons de Londres; E: solanidine des Laboratoires Lyons; F: solanine,  $\alpha$ -chaconine et solanidine; G: solanine et  $\alpha$ -chaconine, H:  $\alpha$ -chaconine.

Dr. A. ZITNAK de Guelph. On a constaté que ce critère de pureté qui a été utilisé très souvent dans le passé<sup>2,8,13,14</sup>, se montrait très peu utile dans le cas de la solanine et de la chaconine. Les cristaux de solanine commencent à brunir vers 238–240°, se rétrécissent et deviennent vitreux vers 248–249°. Ils forment une masse gélatineuse vers 250–255° qui épaisit et devient noirâtre vers 260–262° en dégageant une odeur de sucre brûlé. Par contre la solanidine qui ne contient pas de sucre dans sa molécule fond rapidement à 214–216°. La chromatographie sur couches minces devient donc un moyen très recommandable de vérifier de façon rapide et pratique le degré de pureté de la chaconine et de la solanine surtout dans l'obligation où nous sommes d'apporter peu d'attention au point de fusion.

#### REMERCIEMENTS

Nous remercions sincèrement les Laboratoires J. Lyons et Compagnie Ltée de Londres, et le Dr. A. ZITNAK du Collège Agricole de Guelph, Ontario, de leurs échantillons de solanine et de solanidine qu'ils nous ont fournis gratuitement. Nous remercions aussi monsieur GUY PELLETIER de son aide technique dans la poursuite de ces travaux.

#### RÉSUMÉ

Une méthode rapide de séparation par chromatographie sur couches minces de la

solanine, de la chaconine et de la solanidine, est décrite dans le présent article. Elle se compare favorablement à la chromatographie sur papier pour la séparation de ces trois alcaloïdes de la pomme de terre. La détermination du point de fusion des alcaloïdes y est aussi discutée.

#### SUMMARY

A rapid method for the separation of the potato alkaloids, solanine, chaconine and solanidine by thin-layer chromatography is described. The results compare favourably with those obtained by paper chromatography of these compounds. The melting point determination of these alkaloids is also discussed.

#### BIBLIOGRAPHIE

- <sup>1</sup> G. DUCET ET S. SÉMÈRE, *Ann. Agron., Annexe II*, (1957) 141.
- <sup>2</sup> T. A. HENRY, *The Plant Alkaloids*, J & A. Churchill Ltd., Londres, 1949, p. 804.
- <sup>3</sup> A. ZITNAK, *Can. J. Biochem. Physiol.*, 39 (1961) 1257.
- <sup>4</sup> R. KUHN ET J. LÖW, *Chem. Ber.*, 88 (1955) 289.
- <sup>5</sup> R. KUHN ET J. LÖW, *Ann. Acad. Sci. Fennicae, Ser. A II*, 60 (1955) 488.
- <sup>6</sup> V. A. PASESHNICHENKO ET A. R. GUSEVA, *Biokhimiya*, 21 (1956) 606.
- <sup>7</sup> L. C. BAKER, L. H. LAMPITT ET O. B. MEREDITH, *J. Sci. Food Agr.*, 4 (1955) 197.
- <sup>8</sup> B. E. KLINE, H. VON ELBE, N. A. DAHLE ET S. M. KUPCHAN, *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 107 (1961) 807.
- <sup>9</sup> BRINKMANN Instruments Inc., *Tech. Bull.*, 20 (1962) 8.
- <sup>10</sup> E. PFANKUCH, *Biochem. Z.*, 295 (1937) 44.
- <sup>11</sup> H. S. ROOKE, J. H. BUSHILL, L. H. LAMPITT ET E. M. JACKSON, *J. Soc. Chem. Ind. (London)*, 62 (1943) 20.
- <sup>12</sup> R. J. BLOCK, E. L. DURRUM ET G. ZWEIG, *A Manual of Paper Chromatography and Paper Electrophoresis*, Academic Press, New-York, 1958, p. 710.
- <sup>13</sup> D. H. DABBS ET R. J. HILTON, *Can. J. Technol.*, 31 (1953) 213.
- <sup>14</sup> V. PRELOG ET O. JEGER, dans R. H. F. MANSKE ET H. O. HOLMES, *The Alkaloids, Chemistry and Physiology*, Vol. III, Academic Press, New-York, 1953, p. 247.

*J. Chromatog.*, 12 (1963) 57-62