

CHROM. 9698

Note

Chromatographie sur couche mince des principaux cétooses

J.-P. PAPIN et M. UDIMAN

Laboratoire de Recherche Analytique, Service des Contrôles, L'Industrie Biologique Française S.A.*,
B.P. No. 48, 92231-Gennevilliers (France)

(Reçu le 28 juillet 1976)

Depuis l'important travail de Strecker et Montreuil¹, qui ont séparé les principaux cétooses par chromatographie sur papier, cette question à notre connaissance n'a pas été traitée dans son ensemble, bien qu'il s'agisse d'une série de sucres relativement homogène. Nous proposons donc quelques solvants destinés à séparer, sur couche mince de gel de silice, tous les cétooses de C₃ à C₆, auxquels nous avons adjoint six des huit cétooses connus en C₇ et deux cyclooses. Cette méthode a pour avantage l'usage de plaques de chromatographie sur couche mince toutes préparées du commerce, qui ne nécessitent ni imprégnation, ni traitement préalable.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Cétooses de référence (Tableau I)

Un certain nombre de cétooses n'étant pas disponible commercialement, il a été procédé à des préparations au laboratoire.

Techniques de préparation des cétooses

Cétooses préparés par épimérisation (Tableau II). Le D-thréo-pentulose, le D-érythro-pentulose, le D-psicose et le D-glucoheptulose ont été préparés par le procédé classique d'épimérisation des oses en milieu alcalin. Les trois premiers cétooses ont été obtenus par action de la pyridine sur respectivement le D-xylose, le D-arabinose et le D-fructose. Le D-glucoheptulose a été préparé par épimérisation du D-glucoheptose dans l'eau de chaux.

Cétooses préparés par oxydation biochimique (Tableau III). Un autre groupe de cétooses a été préparé à partir des polyols correspondants par action de l'*Acétobacter suboxydans* (Souche IP 53.162), cultivé à 30° en présence d'extrait de levure à pH 6.4.

Cétooses préparés par aldolisation. Un autre groupe de cétooses a été préparé par aldolisation en milieu alcalin selon Schoffer⁶, par action équimoléculaire du dihydroxy-1,3 propanone-2 sur un aldotérose dans l'eau de chaux à 20° pendant 20 min. Ainsi, avec le D-érythrose (origine: Fluka), on obtient un mélange en proportions variables de D-althro-, D-gluco- et D-alloheptulose; de même avec le D-thréose on obtient un mélange de D-ido- et D-galactoheptulose. (Le D-thréose avait été préparé par action du tétracétate de plomb sur le galactose⁷.)

Méthodes particulières. (a) Le DL-épi-inosose a été préparé par oxydation par

* Filiale de Pêchiney-Ugine-Kuhlmann S.A.

TABLEAU I
PRODUITS ÉTUDIÉS

<i>Cétose</i>	<i>Composé</i>	<i>Origine</i>
C ₃	Dihydroxy-1,3 propanone-2 (dihydroxyacétone)	Aldrich (Milwaukee, Wisc., États Unis)
C ₄	L-Glycéro-tétrulose* (erythrose)	
C ₅	D-thréo-Pentulose* (D-xylulose)	
	D-érythro-Pentulose* (D-ribulose)	
C ₆	D-Tagatose	E. Merck (Darmstadt, Allemagne Fédérale)
	D-Fructose	Prolabo (Paris, France)
	L-Sorbose	Roquette (Lesirem, France)
	D-Psicose* (D-allulose)	
C ₇	D-Idoheptulose*	
	D-Mannoheptulose	E. Merck
	D-Altroheptulose* (sédoheptulose)	
	L-Galactoheptulose* (perséulose)	
	D-Glucoheptulose*	
	D-Alloheptulose*	
Cycloses	D,L-épi-Inosose 2*	
	scyllo-Inosose*	

* Préparé au laboratoire.

TABLEAU II
CÉTOSES OBTENUS PAR ÉPIMÉRISATION

<i>Cétose obtenu</i>	<i>Ose de départ</i>	<i>Origine</i>
D-thréo-Pentulose ²	D-xylose	Baker (Phillipsburgh, N.J., États Unis)
D-érythro-Pentulose	D-arabinose	Fluka (Buchs, Suisse)
D-Psicose ³	D-fructose	Prolabo
D-Glucoheptulose	D-mannoheptulose	E. Merck

TABLEAU III
CÉTOSES OBTENUS PAR OXYDATION BIOCHIMIQUE

<i>Cétose obtenu</i>	<i>Polyol</i>	<i>Origine</i>
L-Glycérrotétrulose	<i>m</i> -erythritol	E. Merck
L-Galactoheptulose ⁴	perséitol	Sigma (St. Louis, Mo., États Unis)
scyllo-Inosose ⁵	<i>m</i> -inositol	E. Merck

l'acide nitrique du *m*-inositol⁸. (b) L'altroheptulose a été préparé selon Strecker⁹ par extraction du *Sedum acre** et destruction des aldoses à l'eau de brome en présence de carbonate de calcium, les aldoses s'oxydant en acides aldoniques qui sont éliminés sur résines échangeuses d'ions. La solution finale ne contenait que de l'altroheptulose et du fructose.

Technique chromatographique

Plaques chromatographiques. Nous avons utilisé les plaques finies pour CCM 20 cm × 20 cm (E. Merck, Art. 5721) de gel de silice 60, épaisseur de 0.25 mm sur support de verre.

* Famille: Crassulacées.

TABLEAU IV
SOLVANTS D'ÉLUTION

No.	Solvant	Proportion	Référence
1	Acétone-eau	90:10	10
2	Isopropanol-acétone-eau	40:50:10	
3	Propanol-acétone-eau	40:50:10	
4	Butanol-acétone-eau	40:50:10	11
5	Isopropanol-acétate d'éthyle-eau	40:50:10	
6	Isopropanol-acétate d'éthyle-eau	50:40:10	
7	Isopropanol-acétate d'éthyle-eau	60:30:10	
8	Isopropanol-acétate d'éthyle-eau	70:20:10	
9	Isopropanol-acétate d'éthyle-eau	83:11:6	12
10	Butanol-acétone-méthanol-eau	33:36:18:9	13
11	Acétate d'éthyle-butanol-méthanol-eau	80:15:15:10	
12	Ethanol-isobutanol-eau	60:30:10	14

TABLEAU V
COLORATIONS OBTENUES AVEC LE NAPHTHALÈNE DIOL-1,3

Les aldoses présentent une coloration bleu à bleu violet avec ce révélateur.

Cétose	Couleur
Dihydroxypropanone	rose violacé
Glycératétrulose	gris vert
Cétopentoses	ocre jaune virant au bleu ensuite
Cétohexoses	rouge vif
Cétoheptoses	rouge violacé
Cycloses	vert pâle

Dépôts. Le dépôt est punctiforme de l'ordre de $1 \mu\text{l}$ contenant environ 2-5 μg de cétose à 1.5 cm du bord inférieur de la plaque. La plaque est déposée dans la cuve contenant le solvant préparé 1 h avant utilisation. La migration ascendante est effectuée sur environ 15 cm. Le séchage se fait à l'air chaud.

Solvants d'éluion. Nous avons retenu 12 solvants de préparation directe par simple mélange (Tableau IV).

Détection des taches. La révélation* est effectuée par pulvérisation d'une solution de naphthalène diol-1,3 (naphtorésorcinol) à 0.2% dans l'éthanol contenant 5% d'acide sulfurique concentré, suivie d'un chauffage à 105-110° pendant quelques minutes. Les cétooses donnent les colorations variées et caractéristiques mentionnées dans le Tableau V.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les $R_F \times 100$ obtenus par la méthode décrite ci-dessus sont donnés à titre indicatif, car ils peuvent varier légèrement selon les conditions opératoires. Le $R_{F_{\text{FRU}}}$ est le rapport $\times 100$ entre le R_F du corps et le R_F du D-fructose (Tableau VI).

On peut faire la constatation suivante: grossièrement la migration tend à être inversement proportionnelle au poids moléculaire. En effet, le coefficient de partage

* Méthode classique décrite entre autre dans la réf. 15.

TABLEAU VI

VALEURS DES R_F ET $R_{F^{10}}$ a = $R_F \times 100$; b = $R_{F^{10}} \times 100$, Solvants d'éluéion 1-12, voir le Tableau IV.

	1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11		12	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
Dihydroxy- propanone	81	231	82	186	80	210	71	254	71	237	71	237	74	195	68	189	70	233	76	190	64	305	69	157
L-Glycéro- tétrulose	75	214	78	177	74	195	67	239	63	210	65	197	70	184	64	178	66	220	71	178	54	257	66	150
D-tiréo-Pentulose	70	200	76	173	72	189	63	225	61	203	63	191	69	182	64	178	66	220	69	173	46	219	66	150
D-érythro- Pentulose	60	171	64	145	60	136	50	179	49	163	51	155	55	145	52	144	50	167	59	148	38	181	56	127
D-Tagatose	50	143	60	136	54	123	43	154	41	137	45	136	51	134	48	133	47	157	54	135	28	133	56	127
D-Psicose	49	140	55	125	50	114	39	139	41	137	43	130	48	126	45	125	41	137	49	123	29	138	50	114
L-Sorbose	42	120	51	116	46	121	34	121	35	117	38	115	44	116	42	117	37	123	48	120	24	114	50	114
D-Fructose	35	100	44	100	38	100	28	100	30	100	33	100	38	100	36	100	30	100	40	100	21	100	44	100
D-Aliroheptulose	42	120	54	123	47	124	35	125	34	113	37	112	43	113	42	117	40	133	48	120	21	100	50	114
D-Manno- heptulose	32	91	43	98	39	103	27	96	29	97	32	97	38	100	38	106	33	110	41	103	18	86	47	107
D-Idoheptulose	33	94	41	93	36	95	28	100	30	100	31	94	35	92	35	97	27	90	35	88	19	90	41	93
D-Alloheptulose	24	69	37	84	32	84	21	75	25	83	28	85	33	87	33	92	27	90	33	83	14	67	39	89
D-Gluco- heptulose	22	63	33	75	29	76	20	71	23	77	26	79	31	82	32	89	24	80	32	80	14	67	39	89
L-Galacto- heptulose	17	49	25	57	22	58	15	54	19	63	19	58	23	61	23	64	16	53	23	58	12	57	29	66
D,L-épi- Inosose 2	10	29	9	20	9	24	6	21	6	20	6	18	7	18	6	17	4	13	10	25	6	29	9	20
scyllo-Inosose	4	11	4	9	4	11	2	7	3	10	3	9	4	11	3	8	2	7	5	13	3	14	5	11

dans la phase mobile diminue proportionnellement au nombre de groupements OH du cétose. Cependant, cette remarque est bien moins rigoureusement suivie pour les cétooses que pour les alditols¹⁶. Les cétooses, surtout à partir des cétopentoses, paraissent migrer sous forme cyclisée alors que les alditols le font sous forme linéaire. Ainsi s'expliquent les fréquents chevauchements entre les cétohexoses et cétoheptoses par exemple. C'est alors que la différence de couleur produite par le révélateur est utile pour l'identification et permet de ne pas confondre cétohexose et cétoheptose, même s'ils migrent dans la même zone.

Choix d'un solvant à utiliser

Il s'effectuera en fonction des séparations à effectuer. On utilisera les solvants suivants: No. 2 ou 3 pour la séparation des cétoheptoses, No. 2, 3, 4, 7, 8, 9 pour la séparation des cétohexoses, No. 1, 4 et 11 pour la séparation des cétopentoses, du glycéro-tétrulose et de la dihydroxypropanone. On note que les deux cyclooses et les deux cétopentoses sont convenablement séparés dans tous les systèmes. On peut ainsi séparer les différents cétooses, soit en solution pure, soit à partir d'un hydrolysats de polyosides.

CONCLUSION

Après avoir préparé au Laboratoire un certain nombre de cétooses non aisément disponibles, les auteurs ont choisi plusieurs systèmes d'éluion et de révélation pour la chromatographie sur couche mince des principaux cétooses. La technique peut s'appliquer non seulement aux solutions pures, mais aussi aux hydrolysats de polyosides contenant des cétooses.

REMERCIEMENTS

Nous remercions MM. les Professeurs J.-E. Courtois, J. Montreuil et J. Storck de l'intérêt qu'ils ont bien voulu montrer pour ce travail et de leurs conseils.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 G. Strecker et J. Montreuil, *V Int. Symp. Chromatogr. Electrophor.*, Bruxelles, Presses Académiques Européennes, Bruxelles, 1969, p. 340.
- 2 L. Hough et R. S. Theobald, *Methods Carbohyd. Chem.*, 1 (1962) 94.
- 3 S. Passeron et E. Recondo, *J. Chem. Soc.*, (1965) 813.
- 4 S. C. Prescott et C. G. Dunn, *Industrial Microbiology*, McGraw-Hill, New York, 3ème éd., 1959, p. 461.
- 5 T. Posternak, *Les cyclitols*, Hermann, Paris, 1962, p. 164.
- 6 R. Schoffer, *J. Org. Chem.*, 29 (1964) 1471.
- 7 A. S. Perlin, *Methods Carbohyd. Chem.*, 1 (1962) 64.
- 8 T. Posternak, *Les cyclitols*, Hermann, Paris, 1962, p. 162.
- 9 G. Strecker, *Thèse de doctorat*, Faculté des Sciences de Lille, 1970.
- 10 P. G. Pifferi, *Anal. Chem.*, 37 (1965) 925.
- 11 C. Conain, I. Gallo et M. A. Capitano, *Biochim. Biol. Sper.*, 4 (1965) 217.
- 12 L. Wassermann et H. Hanus, *Naturwissenschaften*, 50 (1963) 351.
- 13 I. I. Gavrilyuk, *Izv. Akad. Nauk. Mold. SSR*, 4 (1971) 32.
- 14 F. Tateo, *Sci. Aliment.*, 16 (1970) 150.
- 15 E. Stahl, *Thin-Layer Chromatography*, Springer-Verlag, Berlin, New York, 2ème éd., 1969, p. 888.
- 16 J.-P. Papin et M. Udiman, *J. Chromatogr.*, 115 (1975) 267.