

ÉTUDE CHIMIO-TAXONOMIQUE DU GENRE *HYPERICUM*

II. IDENTIFICATION DE CONSTITUANTS DE DIVERSES HUILES ESSENTIELLES D'*HYPERICUM*

C. MATHIS et G. OURISSON

Faculté de Pharmacie et Institut de Chimie, Strasbourg, France

(Received 31 May 1963)

Résumé—Dans diverses huiles essentielles d'*Hypericum*, obtenues à partir des parties aériennes fraîches, nous avons pu identifier les composés suivants: méthyl-2-octane, n-nonane, n-undécane, α -pinène, β -pinène, limonène, myrcène, caryophyllène, α -terpinol, géranol, aldéhydes caprylique (n-octanal) et caprique (n-décanal) et probablement méthyl-2-décane. Nous décrivons les méthodes d'identification et, en appendice, nous donnons un tableau des temps de rétention en chromatographie gazeuse des substances recherchées dans les essences.

Abstract—The essential oils of *Hypericum* species, obtained from the fresh plant material (excepting the roots) have been found to contain: 2-methyloctane, n-nonane, n-undecane, α -pinene, β -pinene, limonene, myrcene, caryophyllene, α -terpineol, geraniol, n-octanal, n-decanal and probably 2-methyldecane. The methods employed for the identification are described; the retention times of various substances in vapour phase chromatography are given.

INTRODUCTION

L'ÉTUDE de la répartition de l'hypéricine dans le genre *Hypericum* a fait l'objet du précédent mémoire de cette série.¹ Cette étude n'avait pas posé de problème chimique, la structure et les caractéristiques de l'hypéricine étant parfaitement connues. Nous avons également cherché à utiliser les huiles essentielles des *Hypericum* à des fins chimio-taxonomiques; toutefois, ces huiles essentielles étant très mal connues, il a été nécessaire dans ce cas de procéder à l'identification préalable d'un certain nombre de leurs constituants. Dans la présente communication, nous décrivons l'obtention des essences de quelques espèces d'*Hypericum* et l'identification de leurs constituants; nous indiquons également, en annexe, quelques caractéristiques chromatographiques d'autres produits que nous avons envisagés comme constituants possibles de certaines essences; cette liste pourra s'avérer utile dans d'autres études. Dans la communication suivante,² nous décrirons la partie plus spécifiquement chimio-taxonomique de ce travail: l'étude de la distribution, dans le genre *Hypericum*, des constituants identifiés ici.

L'étude des essences d'*Hypericum* présente des difficultés considérables. En effet, ces essences sont de composition fort complexe: elles renferment jusqu'à 25 composants décelables par chromatographie gazeuse (Fig. 1). D'autre part, toutes les espèces étudiées se sont avérées pauvres en essence (rarement plus de 0,1 % de la plante fraîche) et il a souvent été difficile d'en récolter des quantités importantes. Enfin, et ce n'était pas le moindre problème, l'identification de certaines espèces est fort difficile, dans un genre dont la classification est loin d'être fixée.

¹ C. MATHIS et G. OURISSON, *Phytochemistry*, 2, 157 (1963).

² C. MATHIS et G. OURISSON, *Phytochemistry*, publication suivante (1963).

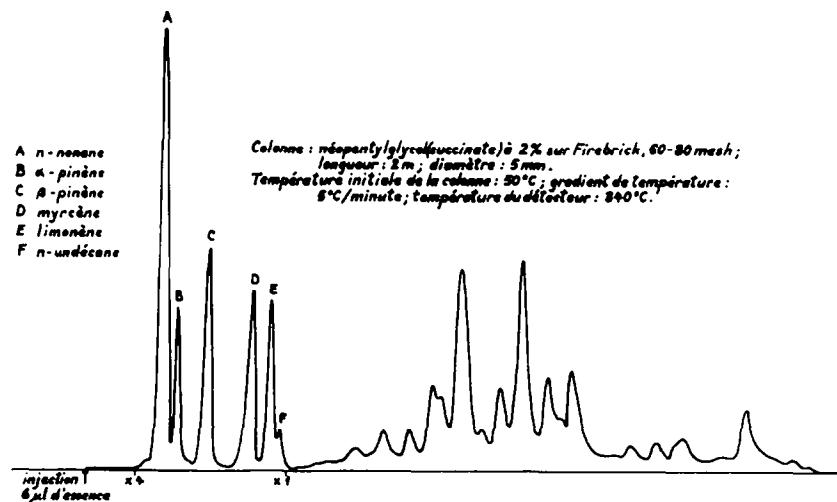


FIG. 1. CHROMATOGRAMME DE L'ESSENCE DE FRUITS D'*H. hircinum* L. EN PROGRAMMATION DE TEMPÉRATURE.

Appareil sécréteur des Hypéricacées

L'ordre des Guttiférales, dont fait partie la famille des Hypéricacées, est caractérisé par la présence presque constante d'un appareil sécréteur bien différencié, contenant des oléorésines ou des huiles essentielles. Le genre *Hypericum*, en particulier, présente des canaux sécréteurs dans les tiges et les racines, des poches sécrétrices dans les feuilles et les fleurs; ce sont les poches à essence translucides qui constituent les "perforations" des feuilles d'*H. perforatum* L. Van Tieghem³ en 1885, avait déjà étudié la répartition des organes sécréteurs dans la plante, pour les Hypéricacées et quelques familles voisines. En 1903, Weill⁴ a étudié les variations de l'appareil sécréteur des Hypéricacées, principalement à l'intérieur du genre *Hypericum*; il a constaté que la répartition des organes sécréteurs dans la plante ne présentait qu'une faible utilité taxonomique, étant semblable pour la plupart des espèces d'*Hypericum*. Récemment, Brunarska⁵ a procédé à des recherches anatomo-chimiques sur trois espèces d'*Hypericum* européennes et deux espèces ornementales.

Composition des essences des Hypéricacées. Travaux antérieurs

En 1905, Haensel⁶ avait déterminé quelques constantes physiques de l'essence d'*H. perforatum* L., recueillie par entraînement à la vapeur d'eau. Zellner et Porodko⁷, en 1925, étudient la composition de cette même essence; ils montrent la présence probable d' α -pinène (confirmée ultérieurement par Miller⁸ qui en a obtenu le nitrosochlorure cristallisé), et postulent celle de quelques sesquiterpènes (par des réactions colorées) et d'un ester isovaléria-nique (par son odeur). En 1933, Bogert et Marion⁹ isolent le n-nonane de *Sarothra gentianoides* L., Hypéricacée américaine actuellement rattachée au genre *Hypericum* par la plupart des auteurs sous le nom d'*H. sarothra* Mich. Enfin, Salgues¹⁰ a démontré la présence des

³ P. VAN TIEGHEM, *Bull. soc. bot. France* 31, 141 (1884) et *Ann. Sci. Natur.*, Botanique, 7ème série, 1, 47 (1885).

⁴ G. WEILL, Thèse Doct. Pharm. Paris, 1903, 190 p.

⁵ Z. BRUNARSKA, *Acta Biol. Cracoviensia*, série Botanique, 1, 69 (1885) et *Dissertationes Pharm.* 11, 75 (1959).

⁶ H. HAENSEL, *Deut. Apotheker-Ztg.* 20, 45 (1905).

⁷ J. ZELLNER et Z. PORODKO, *Arch. Pharm.* 263, 170 (1925).

⁸ E. R. MILLER, *J. Am. Pharm. Assoc.* 16, 824 (1927).

⁹ M. T. BOGERT et S. J. MARION, *J. Am. Chem. Soc.* 55, 4187 (1933).

¹⁰ R. SALGUES, *Qualitas Plantarum et Materiae Vegetabilis* 8, 38 (1961).

aldéhydes saturés linéaires en C₁₀ et C₁₂ dans les essences de racines d'espèces européennes d'*Hypericum*.

De nombreux auteurs ont dosé l'essence d'*H. perforatum* L. et les rendements sont, en général, de l'ordre de 1 à 2 g par kg de plante fraîche. En 1952 notamment, Roth¹¹ a dosé les essences d'une vingtaine d'espèces d'*Hypericum*; il a également étudié les variations de la teneur en essence d'*H. perforatum* L. au courant de l'année.

ISOLEMENT ET CARACTÉRISATION DES CONSTITUANTS DES ESSENCES D'*HYPERICUM*

Isolement et fractionnement des huiles essentielles

Toutes les essences ont été obtenues par entraînement à la vapeur d'eau des parties aériennes fraîches, parfois des feuilles ou des fruits, avec ou sans épuisement des eaux par un solvant facilement volatil (voir Tableau 1). Trois espèces seulement ont fourni plus de 10 g d'essence: *H. perforatum* L., *H. hirsutum* L. et *H. calycinum* L.; dans ces trois cas, une distillation fractionnée a fourni une série de fractions qui ont été examinées par diverses méthodes analytiques et dont un certain nombre ont fourni des produits identifiables.

Méthodes analytiques

Pour orienter l'identification des constituants, nous nous sommes basés avant tout sur leur comportement chromatographique en phase vapeur et sur couche mince. En phase vapeur, le temps de rétention sur colonne non-polaire (graisse de silicium p.ex.) donne, par comparaison, une bonne indication du point d'ébullition approximatif. Sur chromatoplaques, on peut aisément apprécier la polarité du produit d'après la nature du solvant éluant, et sa fonctionnalité par des modifications sélectives du support¹² ou du produit.^{13, 14} Chaque fois que cela a été possible, ces indications ont été complétées par la détermination du spectre infra-rouge (I.R.), du spectre de résonance magnétique nucléaire (R.M.N.) et du pouvoir rotatoire. Une fois la nature d'un constituant rendue ainsi probable, nous avons procédé, à l'aide de toutes ces méthodes, à la comparaison directe avec la substance authentique.

Identification des constituants

Méthyl-2-octane. Les fractions de tête de l'essence d'*H. perforatum* L. (E_b₇₆₀: 140°–145°) contiennent un composé nettement prédominant, d'après la chromatographie gazeuse: leur spectre I.R. révèle quelques faibles bandes attribuables à des impuretés éthyléniques, mais autrement est celui d'un carbure saturé. Nous avons donc éliminé tous les composés non-saturés par ozonisation, puis chromatographie sur silice. Le produit obtenu est un mélange de deux hydrocarbures saturés. Le moins abondant (2–3 pour cent) a été identifié comme étant le n-nonane par comparaison de son temps de rétention avec un échantillon authentique (voir aussi plus bas).

Le produit majeur (97–98 pour cent) a été identifié comme étant le méthyl-2-octane (CH₃)₂CH—(CH₂)₅—CH₃ pour les raisons suivantes.

¹¹ L. ROTH, *Äther. Öle, Riechstoffe, Parfümer., Essenz. und Aromen*, **2**, 137 (1952).

¹² C. B. BARRETT, M. S. J. DALLAS et F. B. PADLEY, *Chem. & Ind.* **24**, 1050 (1962).

¹³ J. G. KIRCHNER, J. M. MILLER et G. J. KELLER, *Anal. Chem.* **23**, 420 (1951).

¹⁴ C. MATHIS et G. OURISSON, *J. Chromatog.*, à l'impression (1963).

- (a) Son point d'ébullition (140°–145°C) est intermédiaire entre celui du n-nonane et celui du n-octane (150° et 125°C respectivement).¹⁵
- (b) Son spectre de R.M.N. présente un pic large, centré à 75 c/s du tétraméthylsilane (groupes CH et CH₂) et un doublet dissymétrique à 49 et 55 c/s (groupes CH₃); l'intensité relative des deux groupes de pics implique un rapport très voisin de 11 protons dans les groupes CH et CH₂, pour 9 dans les groupes CH₃. Le fait que l'on distingue parfaitement un doublet ($J = 6$ c/s) correspondant à deux groupes méthyles confirme la présence du groupe isopropyle; le troisième groupe méthyle donne un signal complexe, caché sous l'une des composantes de ce doublet.
- (c) Son spectre infra-rouge révèle un groupe gem-diméthyle (1370–1380 cm^{−1}). D'autre part, il est identique en tous points à celui du méthyl-2-octane, reproduit dans la cartothèque DMS;¹⁶ il est très différent de ceux des isomères également reproduits dans cette cartothèque, ce qui tranche la question.

A notre connaissance, c'est la première fois que le méthyl-2-octane a été isolé dans le règne végétal.

n-Nonane. La première fraction de distillation de l'essence d'*H. hirsutum* L., chromatographiée sur silice, a fourni le n-nonane à plus de 90% de pureté chromatographique (l'impureté étant le n-undécane: voir plus bas). Ce n-nonane a été identifié par les critères suivants.

- (a) Son point d'ébullition est de 38° sous 15 mm Hg (littérature:¹⁷ Eb₁₁: 39,5°).
- (b) Son spectre de R.M.N. montre, comme pour tous les carbures linéaires, deux massifs, l'un dû aux groupes méthylènes de la chaîne (centré à 75 c/s), l'autre qui culmine à 54 c/s et qui est très caractéristique du multiplet dissymétrique des méthyles terminaux des chaînes aliphatiques normales.¹⁸ Leur intensité relative est de 14 à 6 environ, ce qui correspond bien au rapport des protons des –CH₂– aux protons des groupes –CH₃.
- (c) Son spectre infra-rouge, à bande δ (CH₃) symétrique faible, unique, est identique à celui du n-nonane authentique; il est vrai que ce critère n'a que peu de valeur à lui seul, puisque les autres hydrocarbures linéaires de complexité voisine s'en distinguent mal.

n-Undécane. La seconde fraction de distillation de l'essence d'*H. hirsutum* L., chromatographiée sur silice, est constituée de n-undécane, à plus de 90% de pureté chromatographique (l'impureté étant le n-nonane). Cet hydrocarbure a été identifié par les mêmes critères que le n-nonane: Eb₁₅: 74° (littérature:¹⁷ Eb₁₅: 81°); R.M.N., intensité relative des deux bandes: 18 à 6; I.R. identique à celui du n-undécane authentique.

α- et β-pinènes. La distillation de l'essence d'*H. calycinum* L. a fourni des fractions dont certaines correspondaient à des produits purs en chromatographie gazeuse.

L'une des fractions a montré un spectre I.R. rigoureusement identique à celui de l'α-pinène de référence. Le comportement de ce produit en chromatographie gazeuse, avec diverses phases stationnaires, et en chromatographie sur couche mince, avec adsorbant chargé ou non de nitrate d'argent,¹² renforce cette conclusion. La chromatographie sur couche mince, avec époxydation directe sur la plaque par l'acide *p*-nitroperbenzoïque,¹⁹

¹⁵ J. D. WHITE et A. R. GLASGOW, *J. Res. Nat. Bur. Stand.* **19**, 423 (1937).

¹⁶ Carothèque DMS, No. 2593, Verlag Chemie, Weinheim et Butterworths Scientific Publications, London.

¹⁷ F. KRAFFT, *Ber. deut. chem. Ges.* **15**, 1687 (1882).

¹⁸ J. A. POPPLE, W. G. SCHNEIDER et H. J. BERNSTEIN, *High-Resolution Nuclear Magnetic Resonance*, McGraw-Hill Book Company Inc., New York (1959), p. 234.

¹⁹ M. VILKAS, *Bull. soc. chim. France*, 1401 (1959).

fournit, comme avec l' α -pinène, un spot d'époxyde caractéristique. Il s'agit du (+)- α -pinène: $[\alpha]_D = +45^\circ$ (litt.²⁰: $+51^\circ$).

Une autre fraction de la même distillation contient plus de 95% de β -pinène. Comme l' α -pinène, le β -pinène a été caractérisé en chromatographie gazeuse et sur couche mince. Son spectre I.R., très caractéristique par suite des bandes intenses dues au groupe méthylène, est identique à celui du β -pinène de référence. De plus, l'ozonisation suivant la méthode de Conia et Leriverend²¹ donne la nopinone, facilement identifiable par son spectre I.R. et sa dinitro-2,4-phénylhydrazone, à point de fusion et à spectre U.V. caractéristiques. Il s'agit du (-)- β -pinène: $[\alpha]_D = -18^\circ$ (litt.²²: -23°).

Limonène. La fraction résiduelle de l'essence d'*H. calycinum* L. a été chromatographiée sur alumine; on obtient ainsi, dans l'éther de pétrole, une fraction à odeur de citron qui est rechromatographiée sur silice chargée de nitrate d'argent²³; on recueille du limonène à 95% de pureté (d'après la chromatographie gazeuse). Le limonène a été identifié, par comparaison avec le produit pur, d'après son spectre infra-rouge très révélateur, son R_f sur chromatoplaque avec ou sans nitrate d'argent, le R_f de son époxyde sur chromatoplaque, ses temps de rétention sur plusieurs colonnes en chromatographie gazeuse.

Il s'agit du (+) limonène qui correspond, en stéréochimie absolue, au (+)- α -pinène²⁴ (trouvé: $[\alpha]_D = +102^\circ$; litt.²²: $+125^\circ$).

Méthyl-2-décane. Comme nous le verrons dans la partie expérimentale, la bromation d'une essence fait disparaître tous les pics, en chromatographie gazeuse, sauf ceux dus à des carbures saturés.

Avec l'essence d'*H. olympicum* L., ce traitement laisse subsister quatre pics dont trois ont déjà été identifiés: méthyl-2-octane, n-nonane, n-undécane. Le quatrième pic présente, sur plusieurs phases stationnaires, le même temps de rétention que le méthyl-2-décane ($E_b = 190^\circ$) que nous avons obtenu par synthèse; il ne peut donc être dû à un éthylnonane, un diméthyl-nonane, etc., à points d'ébullition nettement plus bas, donc à temps de rétention plus faibles sur colonne peu polaire: par contre, on ne peut distinguer entre eux les méthylécanes, à points d'ébullition très voisins (méthyl-3-décane: 191° ; méthyl-4-décane: 187° C.).²⁵

C'est seulement par analogie avec le méthyl-2-octane que nous supposons que le méthyl-décane identifié est le méthyl-2-décane. Il n'a pas été possible d'en isoler des quantités suffisantes pour confirmer cette présomption.

Myrcène. Constituant mineur des essences d'*Hypericum* étudiées, le myrcène n'a pu être caractérisé que par des méthodes analytiques, par comparaison avec le myrcène pur. Son comportement en chromatographie sur couche mince montre qu'il s'agit d'un monoterpène à trois doubles liaisons (voir Partie expérimentale, méthodes analytiques). En chromatographie gazeuse, son temps de rétention sur plusieurs phases stationnaires est le même que celui du myrcène pur; ce caractère est probablement suffisant pour le différencier des autres monoterpènes acycliques, puisque l'*allo*-ocimène p.ex. donne des temps de rétention nettement différents. L'étude en chromatographie gazeuse du myrcène extrait des chromatoplaques renforce les conclusions précédentes. L'époxydation du myrcène pur par l'acide *p*-nitroperbenzoïque, directement sur la chromatoplaque, fournit un spot d'époxyde

²⁰ F. H. THURBER et R. C. THIELKE, *J. Am. Chem. Soc.* **53**, 1030 (1931).

²¹ J. M. CONIA et P. LERIVEREND, *Compt. rend.* **250**, 1078 (1960).

²² J. PLIVA et V. HEROUT, *Collect. trav. chim. Tchécoslov.* **15**, 160 (1950).

²³ B. DE VRIES, *Chem. & Ind.* **24**, 1049 (1962).

²⁴ W. HUCKEL, *J. prakt. Chemie* **157**, 225 (1941).

²⁵ E. TERRES, L. BRINKMANN, D. FISCHER, D. HULLSTRUNG, W. LOZ et G. WEISBROD, *Brennstoff-Chem.* **40**, 279 (1959).

qu'on observe également avec les essences d'*Hypericum*, suffisamment riches en myrcène et traitées dans les mêmes conditions.

En dehors de ces arguments, suffisants à notre avis pour conclure à la présence de myrcène, il est intéressant de noter que les essences d'*Hypericum* les plus riches en myrcène sont aussi souvent riches en limonène; or on sait que le myrcène se cyclise facilement en limonène.

Caryophyllène. Les fractions sesquiterpéniques complexes de l'essence d'*H. perforatum* L. renferment une petite quantité d'un sesquiterpène qui est très probablement le caryophyllène pour différentes raisons. Sur chromatoplaque avec ou sans nitrate d'argent, le R_f du sesquiterpène et la coloration fournie par divers révélateurs sont les mêmes que pour le caryophyllène pur. L'action de l'acide *p*-nitroperbenzoïque ou de l'acide perphthalique sur le caryophyllène fournit, sur chromatoplaque, deux spots d'époxydes qu'on retrouve également sur les fractions sesquiterpéniques de l'essence d'*H. perforatum* L., traitées de la même façon. Le sesquiterpène étudié (extrait de chromatoplaques éluées, mais non révélées) présente, en chromatographie gazeuse, sur deux phases stationnaires, les temps de rétention du caryophyllène.

α -Terpinéol. Lors de la chromatographie sur alumine des fractions peu volatiles de l'essence d'*H. calycinum* L. (voir limonène), les éluats à l'éther présentent un composé nettement prédominant qui, d'après son comportement sur chromatoplaque, est un alcool monoterpénique. Par chromatographie sur silice chargée de nitrate d'argent, nous avons obtenu une fraction renfermant près de 98 % de cet alcool (l'impureté étant probablement un autre alcool monoterpénique). La comparaison avec le produit pur nous a permis de conclure à l' α -terpinéol pour les raisons suivantes. Les spectres infra-rouges de l' α -terpinéol et de l'alcool étudié sont rigoureusement identiques. En chromatographie sur couche mince, l'alcool à identifier présente les R_f et les colorations données par l' α -terpinéol. Les modifications fonctionnelles, effectuées simultanément sur l'alcool inconnu et l' α -terpinéol, donnent des spots identiques sur chromatoplaques: mêmes hydrocarbures (dont le limonène) par déshydratation par l'acide sulfurique concentré, mêmes deux époxydes par action de l'acide *p*-nitroperbenzoïque, alcool intact par acétylation pyridinée. En chromatographie en phase gazeuse, l'alcool étudié et l' α -terpinéol présentent des temps de rétention identiques sur plusieurs phases stationnaires.

Ces arguments ne laissent aucun doute sur la présence de l' α -terpinéol. Le pouvoir rotatoire trouvé ($[\alpha]_D = +20^\circ$), correspond à un produit fortement racémisé (litt.²⁶: $+98^\circ$ pour le (+) α -terpinéol).

Géraniol. Nous n'avons pu isoler l'alcool mélangé à l' α -terpinéol en petite quantité dans l'essence d'*H. calycinum* L. Mais il s'agit certainement du géraniol d'après les résultats suivants. Ce corps se comporte comme un alcool monoterpénique en chromatographie sur couche mince (R_f et révélation avec le chlorure d'antimoine). Modifié directement sur chromatoplaque en même temps que du géraniol pur, cet alcool donne le citral par action de l'anhydride chromique, et le même ester par acétylation pyridinée (l' α -terpinéol n'est pas estérifié dans ces conditions). En chromatographie gazeuse, l'alcool étudié présente les temps de rétention du géraniol, ce qui permet de le différencier même du nérol (voir Tableau 5).

Aldéhyde caprylique ou n-octanal. D'après le spectre I.R., la deuxième fraction de l'essence d'*H. hirsutum* L. contient un aldéhyde saturé (bande intense à 1700 cm^{-1}) qui, d'après le point d'ébullition de la fraction ($E_{b15} = 60^\circ\text{--}74^\circ$) pourrait être le n-octanal ($E_{b15} = 68^\circ$). En chromatographiant sur alumine (voir n-undécane), les composés carbonylés

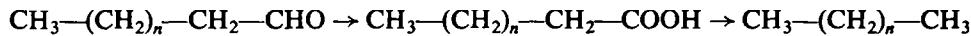
²⁶ W. HUCKEL, *Chem. Ber.* **80**, 39 (1947).

se retrouvent dans les éluats étherés qui vont servir à l'identification. Les aldéhydes saturés, séparés des autres composés par chromatographie sur couche mince, sont extraits à partir des plaques et étudiés en chromatographie gazeuse; les temps de rétention du pic principal sont ceux du n-octanal, sur plusieurs phases stationnaires. La dinitro-2,4-phénylhydrazone du composé étudié et celle du n-octanal ont les mêmes R_f sur chromatoplaque et présentent dans l'ultra-violet la bande caractéristique des composés carbonylés saturés ($\lambda_{\text{max}} = 360 \text{ m}\mu$). La réduction par le borohydrure de sodium directement sur la chromatoplaque conduit au n-octanol identifiable par son comportement en chromatographie sur couche mince et en chromatographie en phase gazeuse.

Aldéhyde caprique ou n-décanal. On l'isole dans le résidu de la distillation de l'essence d'*H. hirsutum* L. et on le caractérise de la même façon que le n-octanal.

Biogénèse des carbures saturés

L'étude chimique qui précède montre que les essences d'*Hypericum* renferment à la fois des aldéhydes saturés linéaires à nombre pair d'atomes de carbone et des carbures saturés linéaires à nombre impair d'atomes de carbone. Or on sait qu'on peut passer des aldéhydes aux carbures à un carbone en moins par oxydation, puis décarboxylation:



D'après Sigmund,²⁷ ces transformations peuvent se faire en une étape sous l'action de la lumière u.v. Il semble donc probable que la plante utilise le même mécanisme et que les carbures proviennent de la dégradation des aldéhydes à 1 atome de carbone en plus.

D'ailleurs, quelques espèces de *Pinus* renferment également aldéhydes et carbures saturés, alors que la plupart des espèces de pins sont riches en monoterpènes. On pouvait donc penser que les carbures constituaient des produits de dégradation des monoterpènes. Mais dans le cas des *Pinus*, Sandermann et Schweers²⁸ ont montré, à l'aide d'acide mévalonique marqué, que le n-heptane provenait directement de la condensation linéaire de plusieurs molécules d'acide acétique.

Dans les essences d'*Hypericum*, on a trouvé jusqu'à présent les aldéhydes en C₁₂, C₁₀ et C₈ et les carbures en C₁₁ et C₉. Mais il est possible que certaines essences d'*Hypericum*, recueillies sans solvant, montreront la présence de n-heptane que nous n'avons pu mettre en évidence jusqu'ici.

D'autre part, nous avons isolé, dans l'essence d'*H. perforatum* L., le méthyl-2-octane qui, *a priori*, peut provenir soit d'un monoterpène par réduction et perte d'un groupement méthyle, soit directement de l'acide acétique comme son isomère, le n-nonane. L'origine monoterpénique paraît cependant exclue pour deux raisons: nous n'avons pu retrouver, dans aucune essence d'*Hypericum*, le diméthyl-2,6-octane qui pourrait être un composant intermédiaire entre les monoterpènes et les carbures saturés (à condition qu'il y ait réduction avant la perte du groupement méthyle); d'autre part, pour le méthylécane que nous avons également caractérisé, l'origine monoterpénique n'entre plus en ligne de compte.

CONCLUSIONS

L'étude de diverses essences d'*Hypericum* nous a permis d'identifier 13 constituants dont la plupart sont des composants majeurs. Il reste à identifier un certain nombre de composants mineurs, au moins aussi nombreux, dont les plus intéressants du point de vue

²⁷ F. SIGMUND, *Monatsh. Chem.* **52**, 190 (1929).

²⁸ W. SANDERMANN et W. SCHWEERS, *Chem. Ber.* **93**, 2266 (1960).

TABLEAU 1. RENDEMENTS EN ESSENCE DES DIFFÉRENTES ESPÈCES D'*Hypericum*

No.	Nom de l'espèce	Parties de plante étudiées	Lieu de récolte	Date de récolte	Stade d'évolution de la plante	Rendement en essence (%) et méthode d'isolation
1	<i>H. androsaemum</i> L.	p. aériennes	Strasbourg (jardin botanique)			
2	"	feuilles	"	"	1.7	Début fructification
3	"	feuilles	"	"	15.6	Floraison
4	"	fruits	"	"	0.6	S
5	<i>H. calycinum</i> L.	"	Strasbourg (jardins)			
6	"	"	"	"	19.6	"
7	"	feuilles	"	"	16.8	Fructification
8	"	"	"	"	10.7	Début floraison
9	<i>H. elatum</i> Ait.	p. aériennes	Paris (jardin botanique)			
10	<i>H. hircinum</i> L.	feuilles	Strasbourg (jardin botanique)			
11	"	fruits	"	"	27.9	Fin fructification
12	<i>H. hirsutum</i> L.	p. aériennes	Mulhouse (Forêt du Rhin)			
13	<i>H. humifusum</i> L.	"	Wissembourg (prairie)			
14	<i>H. inodorum</i> Willd.	"	Paris (jardin botanique)			
15	<i>H. montanum</i> L.	"	Saverne (clairière plaine)			
16	"	"	Colmar (clairière montagne)			
17	<i>H. moserianum</i> André (= <i>H. calycinum</i> L. × <i>H. patulum</i> Thunb.)	"	Strasbourg (jardin)			
18	<i>H. moserianum</i> André (= <i>H. calycinum</i> L. × <i>H. patulum</i> Thunb.)	"	"	"	10.8	Début floraison
19	<i>H. olympicum</i> L.	"	Strasbourg (jardin botanique)			
20	"	"	"	"	27.9	Fructification
21	<i>H. patulum</i> Thunb.	"	Strasbourg (jardins)			
22	<i>H. patulum</i> Thunb. var. <i>hennyi</i> Bean	"	"	"	11.8	Début fructification
23	"	"	"	"	8.8	Début floraison
24	"	fruits	"	"	1.10	Fructification
25	<i>H. pulchrum</i> L.	p. aériennes	Saverne (clairière plaine)			
26	<i>H. perforatum</i> L.	"	Strasbourg (prairie) - Colmar (clairière)			
27	"	"	Strasbourg (prairie)			
28	"	"	Strasbourg (jardin botanique)			
29	"	"	"	"	20.6	Avant floraison
30	"	"	"	"	26.6	Début floraison
31	"	feuilles	"	"	3.8	Fin floraison
32	"	fruits	"	"	26.8	Début fructification
33	<i>H. perforatum</i> L. × <i>H. quadrangulum</i> L.	p. aériennes	Saverne (prairie)			
					18.8	"
					18.8	"
					11.7	Fin floraison

34	<i>H. quadrangulatum</i> L.	"	Strasbourg (forêt du Rhin)	15.8	Début fructification	1,2 C
35	"	"	Strasbourg (jardin botanique)	25.6	Début floraison	1,4 S
36	"	"	"	7.8	Début fructification	0,8 S
37	"	"	Hauts Vosges	15.7	Floraison	1,2 S
38	<i>H. tetrapierum</i> Fries	"	Thann (clairière)	20.8	Début fructification	1 C
39	"	"	Strasbourg (forêt du Rhin)	15.8	Fin floraison	1 C
40	<i>H. undulatum</i> Schousb.	"	Strasbourg (jardin botanique)	7.8	Début fructification	1,15 S

B. Essences obtenues sur des plantes cultivées à partir des graines (toujours isolées par la méthode de Stahl)

No.	Nom de l'espèce*	Partie de plante étudiées	Origine des graines	Date de récolte	Stade d'évolution de la plante	Rendement en essence (%/o)
41	<i>H. ascyron</i> L.	p. aériennes	Bruxelles	14.8	2ème année début fructification	0,8
42	<i>H. atomarium</i> Boiss.	"	Graz	13.8	"	0,25
43	(<i>H. barbatum</i> Jacq.)	"	Bonn	24.8	1ère année (ni fleurs ni fruits)	0,35
44	<i>H. barbatum</i> Jacq.	"	Fribourg	22.8	2ème année (ni fleurs ni fruits)	0,5
45	<i>H. canariense</i> L.	"	Kew	17.9	1ère année (ni fleurs ni fruits)	1,1
46	(<i>H. chinense</i> L.)	"	"	24.9	"	0,6
47	<i>H. coris</i> L.	"	Paris	26.8	2ème année début fructification	0,8
48	<i>H. degenerii</i> Bormm.	"	Strasbourg	14.8	"	0,6
49	<i>H. dubium</i> Leers	"	Cambridge	6.8	1ère année (ni fleurs ni fruits)	0,9
50	<i>H. elegans</i> Steph.	"	Bonn	11.9	1ère année fructification	0,45
51	<i>H. gebleei</i> Ledeb.	"	Riga	16.8	2ème année début fructification	1
52	<i>H. hookerianum</i> Wight et Arn.	"	Fribourg	2.8	2ème année début floraison	0,7
53	"	"	"	26.9	2ème année fructification	0,85
54	(<i>H. kalmianum</i> L.)	"	Paris	24.8	2ème année (ni fleurs ni fruits)	0,5
55	<i>H. maculatum</i> Crantz	"	Gand	6.9	1ère année (ni fleurs ni fruits)	0,7
56	<i>H. orientale</i> L.	"	Fribourg	13.8	2ème année début fructification	0,85
57	(<i>H. polphyllum</i> Boiss.)	"	Paris	15.9	1ère année fructification (rare fruits)	0,65
58	(<i>H. prolificum</i> L.)	"	Rostock	15.9	1ère année (ni fleurs ni fruits)	0,45
59	<i>H. prolificum</i> L.	"	Fribourg	26.8	2ème année début fructification	0,7
60	<i>H. rhodopeum</i> Friv.	"	Graz	23.8	2ème année (ni fleurs ni fruits)	0,6
61	<i>H. rupestre</i> Boiss.	"	Fribourg	20.8	2ème année (ni fleurs ni fruits)	0,5
62	<i>H. tomentosum</i> L.	"	Genève	17.8	1ère année (ni fleurs ni fruits)	0,5

* Pour les espèces entre parenthèses, il subsiste un doute sur l'identité botanique avec des espèces voisines.

biogénétique et chimio-taxonomique sont certainement les sesquiterpènes. En dehors du caryophyllène, les sesquiterpènes de l'essence d'*H. perforatum* L. n'ont pu être identifiés avec des sesquiterpènes connus; en particulier, nous n'avons pu retrouver les sesquiterpènes présumés par Zellner et Porodko par des réactions colorées. Il reste donc à résoudre un problème intéressant, mais très complexe, pour compléter nos connaissances sur la composition chimique des essences d'*Hypericum*.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Isolement des huiles essentielles (voir Tableau 1)

Pour les espèces d'*Hypericum* disponibles en quantité notable (de l'ordre du kg), nous avons opéré dans un appareil de Clevenger, avec relargage des eaux au chlorure de sodium et épuisement à l'éther.

Pour les espèces peu abondantes, nous avons utilisé l'appareil de Stahl légèrement modifié où l'essence, recueillie dans le pentane, est obtenue par simple décantation.

Pour les parties aériennes fraîches de *H. perforatum* L. (dont nous avions 44 kg), nous avons opéré dans un alambic industriel, aux usines Chiris à Grasse,* avec épuisement des eaux au chlorure de méthylène. Cette essence (59 g) a été ensuite entraînée à nouveau à la vapeur au laboratoire, dans un appareil en verre, pour la purifier (56 g).

Distillation fractionnée des huiles essentielles

H. perforatum L. Nous avons distillé 52 g d'essence (voir Tableau 1, référence 26) dans une microcolonne à bande tournante (Verre et Technique) (Tableau 2).

TABLEAU 2. DISTILLATION FRACTIONNÉE DE L'ESSENCE D'*H. perforatum* L.

Eb	Pression (mm)	Poids recueilli	Composition
140°-145°	760	12 g	méthyl-2-octane, n-nonane
146°-149°	760	3 g	n-nonane, α -pinène
54°-105°	15	13 g	pinènes, etc.
120°-125°	5	3,5 g	sesquiterpènes surtout
125°	5	10 g	sesquiterpènes surtout
126°-140°	5	2,5 g	sesquiterpènes surtout
140°-200°	5	3 g	—
(résidu nettement altéré par le chauffage)			

H. hirsutum L. Nous avons distillé 10 g d'essence (provenant des parties aériennes) dans un appareil à colonne Vigreux, sous vide (15 mm Hg) et sous azote (Tableau 3).

H. calycinum L. Nous avons effectué la distillation sur 58 g d'essence de fruits d'*H. calycinum* L. (cf. Tableau 1) dans l'appareil à bande tournante, à la pression ordinaire (Tableau 4).

* Nous tenons à exprimer nos très vifs remerciements à Messieurs les Directeurs des Établissements Chiris (Grasse) d'avoir bien voulu mettre un alambic à notre disposition pour effectuer ce travail.

TABLEAU 3. DISTILLATION FRACTIONNÉE DE L'ESSENCE
D'*H. hirsutum* L.

Eb*	Poids recueilli	Composition
38°-40°	4,9 g	n-nonane surtout
60°-74°	2,4 g	n-undécane surtout
Résidu	2,3 g	sesquiterpènes et aldéhydes saturés surtout

* Sous vide 15 mm Hg.

TABLEAU 4. DISTILLATION FRACTIONNÉE DE L'ESSENCE D'*H. calycinum* L.

Eb*	Poids recueilli	Composition
147°-150°	14 g	n-nonane, α -pinène
150°-156°	8 g	α -pinène pinènes
157°-162°	10 g	
162°-164°	11 g	β -pinène presque pur
164°-175°	4,5 g	β -pinène, myrcène, limonène
Résidu	7 g	limonène, α -terpinéol surtout

* A la pression ordinaire.

Identification des constituants

Les spectres de R.M.N. ont été mesurés sur un appareil Varian A-60, en utilisant le tétrachlorure de carbone comme solvant. Les spectres infra-rouges ont été déterminés, en solution dans le chloroforme, avec un spectrographe Beckmann IR-5-A. On trouvera dans le tableau 5 les phases stationnaires utilisées pour l'identification des constituants en chromatographie gazeuse. Les méthodes de caractérisation sur chromatoplaque sont également étudiées séparément.

Méthyl-2-octane. D'après le spectre infra-rouge, le constituant prédominant de la première fraction de l'essence d'*H. perforatum* L. est un carbure saturé. Nous avons soumis 3 g de cette fraction à une ozonolyse dans le chlorure de méthylène et la pyridine.²¹ Après élimination de la pyridine par l'acide chlorhydrique et du chlorure de méthylène par évaporation, nous avons soumis le résidu à une chromatographie sur silice Merck avec élution à l'éther de pétrole: le premier éluat obtenu renfermait au moins 97% de méthyl-2-octane (l'impureté étant le n-nonane).

n-Nonane et n-undécane. Pour isoler le n-nonane, nous avons chromatographié sur silice Merck la première fraction de l'essence d'*H. hirsutum* L. (4,9 g): l'éluat à l'éther de pétrole, le plus riche en n-nonane, nous a servi pour les spectres infra-rouge et R.M.N.; il était encore souillé de 4 à 5% de n-undécane. Le même traitement, appliqué à la deuxième fraction de l'essence d'*H. hirsutum* L. (2,4 g), a fourni le n-undécane à 90% de pureté, uniquement souillé par le n-nonane.

α - et β -pinènes. D'après la chromatographie gazeuse, certaines fractions (voir Tableau 4) de l'essence d'*H. calycinum* L. sont constituées par des pinènes presque purs: 2ème fraction

(150°-156°): 98% α -pinène (impureté: β -pinène); 4ème fraction (162°-164°): 95-96% β -pinène (impuretés: α -pinène, myrcène, limonène).

Nous avons effectué les mesures physiques directement sur ces fractions. α -pinène: $[\alpha]_D^{20} = +45^\circ$; β -pinène: $[\alpha]_D^{20} = -18^\circ$.

Avec l' α -pinène pur et celui à caractériser, l'époxydation directe sur chromatoplaque par l'acide *p*-nitroperbenzoïque donne des spots de mêmes R_f (0,75) et de mêmes colorations (solvant: hexane-acétate d'éthyle 9-1; révélateurs: chlorure d'antimoine, aldéhyde anisique).

Pour caractériser le β -pinène, nous avons soumis 1 g de la quatrième fraction (essence *H. calycinum* L.) à l'ozonolyse dans le mélange chlorure de méthylène-pyridine²¹; après élimination de la pyridine par l'acide chlorhydrique, nous avons chromatographié sur alumine Merck et obtenu ainsi 600 mg de nopinone liquide. Cette cétone a été identifiée d'une part par son spectre infra-rouge, d'autre part par sa dinitro-2-4-phénylhydrazone: $F = 142^\circ$ et $\lambda_{\text{max}} = 348 \text{ m}\mu$ dans le spectre ultra-violet. Nous avons opéré par comparaison avec du β -pinène pur, traité dans les mêmes conditions.

Limonène. Nous avons chromatographié sur colonne d'alumine Merck les 7 g résiduels de la distillation fractionnée de l'essence d'*H. calycinum* L. Les éluats à l'éther de pétrole (3 g) présentent une forte odeur de citron, les temps de rétention du limonène en chromatographie gazeuse et les caractères du limonène sur chromatoplaques. Nous les avons purifiés par chromatographie sur une colonne de 60 g de silice G Merck contenant 5% de nitrate d'argent; on obtient ainsi du limonène à plus de 95% de pureté, souillé encore surtout par le myrcène; c'est ce produit qui nous a servi à faire le spectre infra-rouge et la mesure du pouvoir rotatoire: $[\alpha]_D^{20} = +102^\circ$.

L'époxydation sur chromatoplaque a été effectué dans les mêmes conditions que pour l' α -pinène (avec le mélange hexane-acétate d'éthyle 9-1, R_f de l'époxyde voisin de 0,65).

Méthyl-2-décane. Nous avons traité 20 mg d'essence d'*H. olympicum* L. par le brome suivant la méthode que nous préconisons pour la caractérisation des carbures saturés (voir plus loin). Le résidu est comparé en chromatographie gazeuse, sur plusieurs phases stationnaires (voir Tableau 5) avec le méthyl-2-décane que nous avons préparé par synthèse à partir de la 2-décanone.²⁵

Myrcène. Sur la dernière fraction de distillation de l'essence d'*H. calycinum* L., nous avons effectué de la chromatographie en couche mince, avec l'hexane comme solvant. À partir des chromatoplaques, nous avons extrait le myrcène par le pentane et nous l'avons étudié en chromatographie gazeuse, sur deux phases stationnaires, par comparaison avec le myrcène pur (voir Tableau 5).

Sur la même fraction, nous avons caractérisé le myrcène par époxydation sur chromatoplaque, de la même façon que l' α -pinène (avec le mélange hexane-acétate d'éthyle 9-1, R_f de l'époxyde voisin de 0,60).

Caryophyllène. La fraction sesquiterpénique de l'essence d'*H. perforatum* L. ($E_{b_5} = 125^\circ$) renferme un peu de caryophyllène que nous avons mis en évidence de la façon suivante: nous avons enrichi 1 g de cette fraction en caryophyllène (jusqu'à 40% environ) par chromatographie sur 30 g de silice chargée de 5% de nitrate d'argent. Nous avons comparé la fraction enrichie et le caryophyllène pur sur chromatoplaque, soit directement soit après époxydation par l'acide *p*-nitroperbenzoïque. (R_f des époxydes: 0,70 et 0,65 avec le solvant hexane-acétate d'éthyle 9-1). En extrayant le caryophyllène des chromatoplaques (on opère comme pour le myrcène), on l'identifie en chromatographie gazeuse, sur deux phases stationnaires par comparaison avec le caryophyllène pur (voir Tableau 5).

α -Terpinol. Dans la chromatographie sur colonne d'alumine (voir limonène), les éluats

à l'éther (2,5 g) sont récupérés et rechromatographiés sur 120 g de silice G Merck : on obtient ainsi une fraction (200 mg) constituée par de l' α -terpinol presque pur (environ 98%). Nous l'avons identifié sur cette fraction, par comparaison avec le produit pur à l'aide du spectre infra-rouge, de la chromatographie gazeuse (voir Tableau 5) et des modifications fonctionnelles en chromatographie sur couche mince (monoterpènes obtenus par déshydratation : R_f = 0,55 et 0,65 avec l'hexane ; époxydes de l' α -terpinol : R_f = 0,15 et 0,20 avec le mélange hexane-acétate d'éthyle 9-1).

Géraniol. Au cours de la chromatographie sur silice de l' α -terpinol, on recueille des fractions contenant un deuxième alcool monoterpénique, comparable au géraniol par son comportement sur chromatoplaque (R_f = 0,25 avec le mélange hexane-acétate d'éthyle 9-1 et coloration rouge, puis vert sale avec le chlorure d'antimoine) et en chromatographie gazeuse (voir Tableau 5). Cet alcool présente les mêmes propriétés fonctionnelles sur chromatoplaque que le géraniol pur : l'anhydride chromique donne le citral, identifié par son R_f (0,50 avec le mélange hexane-acétate d'éthyle 9-1) et sa révélation avec la dinitrophénylhydrazine et le chlorure d'antimoine ; l'acétylation pyridinée conduit à un ester monoterpénique (R_f = 0,70 avec le mélange hexane-acétate d'éthyle 9-1).

n-Octanal (aldéhyde caprylique). En chromatographiant sur silice la deuxième fraction de l'essence d'*H. hirsutum* L. (voir undécane), on obtient un résidu de 150 mg à partir des éluats éthérés. Ce résidu renferme, d'après la chromatographie gazeuse, un composé prédominant qui présente, sur deux phases stationnaires, les temps de rétention du n-octanal (voir Tableau 5). En chromatographie sur couche mince, ce composé présente comme le n-octanal un R_f voisin de 0,50 avec le mélange hexane-acétate d'éthyle 9-1 et se révèle en jaune avec la dinitrophénylhydrazine ; sa dinitrophénylhydrazone présente le même R_f que celle du n-octanal avec le même mélange solvant (0,40). En réduisant l'aldéhyde par le borohydrure de sodium, il se forme l'alcool n-octylique, caractérisé par son temps de rétention en chromatographie gazeuse (voir Tableau 2), par sa révélation (acide sulfurique + aldéhyde) et son R_f sur chromatoplaque (0,35 avec le mélange hexane-acétate d'éthyle 9-1).

n-Décanal (aldéhyde caprique). La chromatographie sur silice Merck du résidu de la distillation de l'essence d'*H. hirsutum* L. (2,3 g) fournit 350 mg de résidu à partir des éluats éthérés. Sur ce résidu, on caractérise le n-décanal par les mêmes méthodes que le n-octanal : sur chromatoplaque R_f = 0,50 pour le n-décanal, R_f = 0,40 pour sa dinitrophénylhydrazone, R_f = 0,35 pour l'alcool n-décylique ; pour les temps de rétention en chromatographie gazeuse du n-décanal et de l'alcool décylique, voir Tableau 5.

Chromatographie en couche mince

Nous avons opéré sur silice G de Merck, avec des plaques de verre de 10 × 21 cm (pour une plaque : 2,5 g de silice G et 10 ml d'eau ; application sans étaleur ; activation : 2 heures à 150°). Le développement a été fait sur 16 cm environ dans différentes conditions.

Pour les hydrocarbures. Hexane pur. En opérant à -15°, on ralentit la montée du solvant et on abaisse le R_f en augmentant la sélectivité. Ainsi les α - et β -pinènes, mal séparés à +20°, le sont très bien à -15°. On obtient, à -15°, les R_f approximatifs suivants :

Carbures saturés, > 0,90 ; mono- et sesquiterpènes à 1 double liaison (ex. : pinènes, cédrènes), 0,85 à 0,65 ; mono- et sesquiterpènes à 2 doubles liaisons (ex. : limonène, caryophyllène), 0,65 à 0,45 ; mono- et sesquiterpènes à 3 doubles liaisons (ex. : myrcène, humulène), 0,45 à 0,25.

Dans les couples d'isomères α - et β -pinènes (R_f 0,78 et 0,72), α - et β -cédrènes (R_f 0,72 et 0,67), c'est l'isomère exo-méthylénique qui migre le plus lentement.

Pour les composés oxygénés. (a) Hexane-acétate d'éthyle (9:1), à température ordinaire, on obtient les R_f suivants:

Hydrocarbures, > 0,90; cinéole, époxydes et esters terpéniques, 0,80 à 0,60; aldéhydes et cétones, 0,60 à 0,40; alcools, 0,40 à 0,10; Acides, 0.

(b) Hexane-acétate d'éthyle (8:2) ou hexane-méthanol (98:2) pour l'étude particulière des alcools.

Pour les terpènes, nous avons utilisé la révélation à chaud soit par le chlorure d'antimoine, soit par l'aldéhyde anisique ou la vanilline en milieu sulfurique. Avec le chlorure d'antimoine une coloration rouge virant lentement au vert sale, s'est avérée caractéristique des monoterpènes et de leurs dérivés oxygénés. Les réactifs aldéhydiques, quoique moins spécifiques, donnent des colorations plus variées, permettant souvent de distinguer des corps voisins. L'apparition d'une coloration bleue avec les vapeurs de brome ou les vapeurs nitreuses révèle la présence d'un sesquiterpène azulénogène.

Pour révéler les composés carbonylés, nous avons utilisé la dinitro-2,4-phénylhydrazine (2,4-DNPH: 1 g; SO_4H_2 concentré: 2 g; méthanol: 97 g). Pour tous les autres composés, nous avons révélé par SO_4H_2 concentré à froid, puis à chaud.

Chromatographie en phase gazeuse

Les résultats donnés dans le Tableau 5 concernent les composants identifiés dans les essences d'*Hypericum* ou des substances déjà décrites dans d'autres essences en général.

TABLEAU 5. TEMPS DE RÉTENTION RELATIFS DES CONSTITUANTS DES HUILES ESSENTIELLES†

Substance	Point d'ébullition (°C)	Graisse de silicone 165°*	Carbowax 1500		NPGS 2%		Craig 10%	
			85°*	175°†	100°*	210°†	90°*	200°†
HYDROCARBURES SATURÉS:								
n-heptane	98°	0,42	0,28		0,45		0,50	
n-octane	125°	0,57	0,37		0,56		0,58	
n-nonane	150°	0,79	0,50		0,75		0,73	
n-décanne	174°	1,17	0,84		1,14		1	
n-undécane	197°	1,70	1,40		2,05	0,48	1,44	0,40
n-dodécane	216°			0,31	3,20	0,52	2,8	0,43
n-tridécane	234°			0,33	0,58			0,48
méthyl-2-octane	143°	0,70	0,40		0,68	0,42	0,67	
méthyl-2-décanne	190°	1,50	1,30		1,92	0,47	1,40	
diméthyl-2-6-octane	158°	0,90	0,58		0,87		0,82	
MONOTERPÈNES:								
(et composés voisins)								
myrcène	166°	1,08	2,15		1,60	0,50	1,67	0,42
alloocimène	188°		6		1,95		2,10	
limonène	177°	1,36	2,75		1,74	0,51	2	0,43
α -phéllandrine	174°	1,27	2,10		1,68		1,74	
β -phéllandrine	178°	1,41	2,70		1,90		1,98	
α -terpinène	180°		2,20		1,84		1,88	
α -pinène	155°	1	1	0,18	1	0,46	1	0,37
β -pinène	164°	1,19	1,67		1,32	0,49	1,40	0,40
camphène	160°	1,10	1,27		1,22		1,20	
Δ -3-carène	170°	1,35	1,95		1,60		1,58	
paracymène	177°		3,6	0,34	2,6	0,55	2,70	
cumène	152°		2,5	0,27	1,60	0,50	1,76	

† Temps de rétention relatifs à *l' α -pinène et †au caryophyllène.

TABLEAU 5. TEMPS DE RÉTENTION RELATIFS DES CONSTITUANTS DES HUILES ESSENTIELLES‡—suite

Substance	Point d'ébullition (°C)	Graisse de silicone 165°*	Carbowax 1500		NPGS 2%		Craig 10%	
			85°*	175°†	100°*	210°†	90°*	200°†
SESQUITERPÈNES:								
α-gurjunène	115° (10 mm)				0,79	0,87		0,68
α-cédrène	122° (12 mm)				0,92	0,98		0,93
β-cédrène					1,07	1,07		1,04
longifolène	126° (15 mm)				0,96	1,02		0,98
aromadendrène	122° (10 mm)				1,20	1,12		1,07
calarène	122° (13 mm)				1,04	1,02		0,94
caryophyllène	130° (14 mm)				1	1		1
humulène	133° (16 mm)				1,22	1,13		1,16
OXYDES:								
cinéol 1-8	176°	1,48	3,20	0,32	2,20	0,54	2,40	0,56
ALDÉHYDES:								
aldéhyde caprylique	168°			4	0,36	3,10	0,58	0,59
aldéhyde nonylque	185°				0,48	0,68		0,68
aldéhyde caprique	208°				0,66	0,80		0,77
aldéhyde laurique	230°				1,35	1,08		1,12
aldéhyde myristique	166° (24 mm)						1,67	1,85
aldéhyde benzoïque	178°						0,74	0,90
aldéhyde anisique	248°				4,40	1,86		2,90
citral	228°				1,50	2		1,28
citronnelal	206°				0,62	0,83		0,75
CÉTONES:								
méthylheptylcétone	195°				0,89	0,82		0,88
méthylnonylcétone	229°				0,92	0,90		0,90
méthylhepténone	174°				0,48	1,90	0,58	0,62
menthone	210°						0,78	0,83
carvone	230°						1,10	1,40
nopinone	210°						0,84	1,10
ALCOOLS, ESTERS:								
alcool n-octylique	195°				0,75	0,72		0,75
alcool n-décylique	233°				1,57	1		1,02
alcool n-dodécylique	257°					1,54		1,60
3-nonanol	195°				0,58	0,68		0,70
2-undécanol	232°				1,35	1,08		1,02
diméthyl-2,6-octanol	212°				1,06	0,85		0,88
alcool benzylique	205°				2,40	1,12		1,66
géraniol	230°				2,10	0,57		1,32
nérol	225° (745 mm)				1,82	0,57		1,22
citronnelol	222°				1,57	0,57		1,08
linalol	200°				0,70	0,59		0,72
α-terpinéol	220°				1,32	0,95		1,12
valérianate d'amyle	204°				0,35	0,60		0,58
acétate d'octyle	210°				0,58	0,72		0,70
acétate de benzyle	214°					0,88		1,24
acétate de linalyle	220° déc.				0,75	0,94		0,80
acétate de citronellyle	172° (34 mm)				1,08	1,12		1
formiate de géranyle	114° (15 mm)					0,90		1,07
acétate de géranyle	244°				1,52	0,95		1,15
propionate de géranyle							1,06	1,32
butyrate de géranyle	152° (18 mm)						1,24	1,56

‡Temps de rétention relatifs à *l'α-pinène et †au caryophyllène.

Un grand nombre de ces substances ont déjà été étudiées en chromatographie gazeuse, en particulier les monoterpènes.²⁹ Le Tableau 5 a pour but de montrer d'abord nos méthodes d'étude des essences qui peuvent présenter un intérêt général; d'autre part, il montre qu'avec un appareil très simple comme l'Aerograph Hy-FI, on peut obtenir des séparations intéressantes, encore peu décrites, des sesquiterpènes, des esters terpéniques, d'alcools et de composés carbonylés moins connus.

Appareils utilisés

Aerograph Hy-FI modèle A-600-B (Tableau 5: colonnes NPGS et Craig). Détecteur à ionisation de flamme; gaz détecteur: hydrogène (20 ml/minute); gaz vecteur: azote (10 ml/minute); enregistreur avec intégrateur de surface des pics; colonne: longueur, 2,50 m; diamètre, 3,15 mm.

Phases stationnaires: succinate de néopentylglycol à 2% (NPGS) sur Firebrick 60-80 mesh; succinate de butanediol à 10% (Craig) sur Chromosorb 60-80 mesh.

Prises d'essai: 0,1-0,2 µl pour les produits purs, 0,5-1 µl pour les essences.

Fractomètre 116 Perkin-Elmer (Tableau 5: colonnes silicone et carbowax). Détecteur: catharomètre à fil chauffant; gaz vecteur: hydrogène (pression d'entrée = 1,5 kg/cm²); enregistreur sans intégrateur; colonne: longueur, 4 m; diamètre, 5 mm.

Phases stationnaires: graisse de silicone et polyéthylèneglycol (Carbowax 1500).

Prises d'essai: 1-2 µl pour les produits purs, 5-10 µl pour les essences.

Appareil à programmation de température modèle 720 (F. and M. Scientific Corporation) (voir Fig. 1; non utilisé pour la mesure des temps de rétention). Détecteur: catharomètre à fil chauffant; température: 340° C.; gaz vecteur: hydrogène (60 ml/minute); enregistreur avec intégrateur de surface des pics; colonne: longueur, 2 m; diamètre, 5 mm.

Phase stationnaire: succinate de néopentylglycol 2% sur Firebrick 60-80 mesh.

Explications concernant le Tableau 5. Les constituants les plus volatils et les moins polaires ont été étudiés sur les colonnes à basse température (100° ou moins), alors que les autres substances ont été examinées à température voisine de 200°. Sur la colonne de graisse de silicone où les substances les plus volatiles ont leur optimum à 165°, les autres composés sortiraient à des températures trop élevées.

Les temps de rétention en valeur absolue étant trop variables, nous donnons dans le Tableau 5 les temps de rétention relatifs par rapport à une substance de référence; nous avons choisi l'α-pinène pour les composés les plus volatils, le caryophyllène pour les autres substances. Nous indiquons également les points d'ébullition afin de pouvoir mieux interpréter les temps de rétention. On voit que le succinate de néopentylglycol est peu polaire et se rapproche de la graisse de silicone, alors que le succinate de butanediol, plus polaire, est intéressant pour la séparation des sesquiterpènes et des alcools terpéniques en particulier.

Identification des carbures saturés par bromation des essences

Dix à vingt mg d'essence, en solution dans le pentane, sont traités par une solution de brome à 10% dans le pentane; on arrête l'addition de brome, lorsque la solution reste colorée en jaune. On filtre la solution pentanique sur une microcolonne d'alumine (un tube de verre effilé p.ex.) et on la concentre au bain-marie avec beaucoup de précaution, sans l'évaporer complètement pour éviter les pertes en carbures. Cette solution, étudiée en

²⁹ M. H. KLOUWEN et R. ter HEIDE, *J. Chromatog.*, 7, 297 (1962).

chromatographie gazeuse avec une sensibilité élevée, ne présente plus que les pics des carbures saturés. Sur colonne non-polaire, le temps de rétention est fonction du point d'ébullition du carbure saturé et permet donc son identification.

Remerciements—Nous remercions très vivement les établissements Chiris (Grasse), Givaudan (Genève) et Dérivés Résiniques et Terpéniques (Dax) des échantillons de produits qu'ils ont bien voulu nous fournir.