



Georges Sandulesco

The Chemistry Researcher - Collected Papers.



Edited by C. G. Sandulescu



CONTEMPORARY LITERATURE PRESS
Editura pentru Literatură Contemporană
București 2011



CONTEMPORARY LITERATURE PRESS
Editura pentru Literatură Contemporană



UNIVERSITATEA
DIN BUCUREȘTI
— VIRTUTE ET SAPIENTIA —



ISBN: 978-606-8366-02-9

© C. George Sandulescu 2011

Edited by C. George Sandulescu.

Technical editor: Lidia Vianu.

IT Publicaton: Cristina Petrescu.

Publicity: Ruxandra Câmpeanu.



Acknowledgments are due to the following:

1. The Science Service, Washington D.C., 7 April 1932. p. 15.
2. *Science News Letter*, 16 April 1932. p. 16.
3. *The Time Magazine*, 25 April 1932. p. 17.
4. Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences 1835-1965, <http://catalogue.bnf.fr/ark:/12148/cb343481087> . p. 53, 60, 66, 72, 95.
5. *Nature* 173, 27 February 1954, Dairy Research Section, Commonwealth Scientific Industrial and Research Organization, Melbourne, Australie. p. 98.

Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences 1835-1965,
<http://catalogue.bnf.fr/ark:/12148/cb343481087> :

SANDULESCO (Georges). 194. 1932. — Voir
Girard (André), 909, 1920.
— 195. 1932. — Id., 981.
— 196. 1933. — Contribution à la connaissance
des hormones sexuelles femelles (avec MM. Wang
Wen Tchung et André Girard), 137.
— 207. 1938. — Sur une nouvelle méthode de sépa-
ration quantitative des composés alcooliques
(avec M. André Girard), 874.

Georges Sandulesco

The Chemistry Researcher

1896 – 1978

COLLECTED PAPERS.



CONTEMPORARY LITERATURE PRESS
Editura pentru Literatură Contemporană

Table of Contents

PROLEGOMENA:

Biographical Outline. p. 7.

The Press Coverage: A Few Samples... p. 14.

The Romanian Academy 1938. p. 18.

PART ONE:

The Research Papers. (1 to 10.) p. 23.

1.	28.7.1922	Sur le dédoublement de l'acide phénoxypropionique et de l'acide orthonitro phénoxypropionique en leurs composants actifs.
2.	7.3.1927	Préparation et dédoublement de l'acide para-nitro-phényl-éthylacétique.
3.	23.7.1930	Sur la synthèse des oxycétone aromatiques.
4.	29.2.1932	Sur une nouvelle hormone sexuelle cristallisée retirée de l'urine des juments gravides.
5.	c.r.194.1932 p.909	Sur les hormones sexuelles cristallisées retirées de l'urine des juments gravides.
6.	21.11.1932	Sur une nouvelle hormone sexuelle cristallisée.
7.	9.1.1933	Contribution à la connaissance des hormones sexuelles femelles.
8.	11.3.1933	Sur l'absorption par la voie buccale de la folliculine et de son



- dérivé dihydrogéné.
9. 27.5.1936 Sur une nouvelle série de réactifs du groupe carbonyle, leur utilisation...
 10. 7.11.1938 Sur une nouvelle méthode de séparation quantitative des composés alcooliques.

PART TWO:

The Patents. Les Brevets. (1 to 11.) p. 99.

1. 28.3.1933 Verfahren zur Herstellung von Amino-essigsäurehydraziden.
2. 1.5.1934 Mode de préparation d'une classe de réactifs des cétones et ses applications.
3. 13.2.1936 Verfahren zur Darstellung von 3-Oxy-17-ketoverbindungen der Androstanreihe aus Sterinen.
4. 19.2.1936 Verfahren zur Darstellung von 17-Monoestern des Östradiols.
5. 23.6.1936 Betaines and Process for Preparing the Same.
6. 24.5.1937 Procédé pour la préparation de la testostérone et de ses esters.
7. 31.5.1937 Procédé d'obtention d'oxycétones polycycliques par dégradation ménagée des stérols.
8. 7.6.1938 Procédé de préparation de l'oestradiol à partir de l'urine des juments.
9. 8.5.1939 Procédé pour la séparation quantitative des composés hydroxylés.
10. 26.2.1940 Procédé pour la préparation des dérivés hydroxylés du γ , δ -diphényl-n-hexane.
11. 18.5.1942 Procédé pour la préparation des dérivés sulfamidés.



APPENDIX ONE:

Photographs of Georges Sandulesco. p. 112.

1. In the laboratory of the Sorbonne.
2. Monsieur et Madame. In Cannes.
3. December 1937. Skiing.
4. December 1937. Skiing.
5. Georges Sandulesco and André Girard.
6. 28 December 1960.
- 7-8. Avec M le Docteur André Girard et sa femme.
9. Georges Sandulesco and Dr. André Girard.
10. Georges Sandulesco en tenue de jardinier.
11. Georges Sandulesco avec ses collaborateurs, dans son jardin de Cannes.
- 12-14. Portraits.
15. Georges Sandulesco en diverse périodes de sa vie.
16. Georges Sandulesco: ses photos de passeport.

APPENDIX TWO:

Personalia. (1 to 16.) p. 127.

- 1-4. Extract de naștere.
5. Certificat de naștere.
6. Buletin de naștere.
7. Certificat de naționalitate.
8. School Leaving Certificate.
9. Diplome de Baccaluréat ès Sciences.
10. Degree Certificate: General Chemistry.
11. Degree Certificate: Applied Chemistry.
12. Degree Certificate: Biological Chemistry.
13. Diplome ès Sciences.
14. Acquisition of French Nationality.
- 15-16. Carnet de Ofițer.



PROLEGOMENA



CONTEMPORARY LITERATURE PRESS
Editura pentru Literatură Contemporană

BIOGRAPHICAL OUTLINE.

The Chemist of genius Georges Sandulesco was born in Rumania, at Sulina, on 27 May 1896.

At the time of his birth the town of Sulina was two most important things: it was both a river Harbour and a sea-port, the only way ships travelling on the Danube could go out into the wide sea. And in those days before rail or air transport, it was the only communication link beteen the East and the West. Between the Occident and the Orient. That is why, it was also the headquarters of the famous Commission Européenne du Danube (scrapped at the end of World War Two by the advent of the Communists in Eastern Europe—one of the very first symptoms of the advent of the Cold War).

Is that important for the present discussion? Yes, because Georges Sandulesco's father was a senior official of that International Commission, and lived in their headquarters. As it comes out from the birth Certificate, the baby was born on the very premises of La



Commission Internationale du Danube (which at the time was “international territory”). His father Ioan SANDULESCU was a chemist too—in fact, le pharmacien de la ville—who at about the turn of the century had won the big lot at the Vienna Lottery, as mentioned by Jean Bart in his book *Europolis, or Jurnal de Bord*. It was that very fact that allowed him to buy one or two ships; and to send some of his children to schools abroad.

Georges Sandulesco had two sisters and one brother. And his mother was Greek, from the island of Rhodos: she never spoke a word of any other language... She deliberately refused to speak any other language all her life.

The direct outcome of that was that I, Constantin-George Sandulescu, born in 1933, when I was barely old enough to be taken in order to be introduced to her, had to be taught modern Greek, for about a week in advance, in preparation of being formally introduced to her in person, and of exchanging a minimum of words in Greek.

Why do I have to mention Rada Cupa here to such an extent? The issue is important for the simple reason that it profoundly affects the pattern of language use within the restricted family as early as the 1880's. Which were the early years of reign of King Carol The First of Rumania. (Who was Carol Hohenzollern, and his mother-tongue when he was brought to Rumania was German.)

The language pattern within the inner circle of the Sandulescu family seems to have been the following in the years between 1880 and 1900—the years when all the four children—two boys, and two girls—were born. The girls were called Maria—Mary—and Evanthy. The boys



were called Nicholas – Nicolae – born in July 1891 (perhaps between the 20th and the 25th of the month), and George – Gheorghe – who was born on 27 May 1896.

Now the languages. (1) Everybody spoke Greek – modern Greek – to Rada Cupa. (2) Living within the headquarters of the Commission Européenne du Danube, the official language was French (as even indicated by the very name of that international institution). Then, both Mary and Nicholas were sent to school in Constantinople (the Istanbul of today!), and both became graduates of Robert College there (q.v.). Evanthy married early with a Greek called Cutzudis (I wish I remembered both his first name, and his profession... but I don't).

The languages of the house were Greek and French, English and Rumanian – more or less in that order...(I kept listening to Greek until late into my teen-years, thanks to my aunt Caliope Valsamachi, who was head-nurse at Spitalul Colțea, and visited us so very often especially after my father's death on 6 March 1946).

As to Georges – he was the favourite of his mother, who called him her "Sun", and kept him beside her. He went to primary school in Sulina, and then continued with the "lycée" at Braila, a far larger Danube port nearby.

When the Great War started, Georges was sent to Paris to study chemistry at the Sorbonne ([SEE Appendix](#)), and never returned to Rumania until September 1939, and that only because he was under obligation to sort out his military status on account of the outbreak of the Second World War. And that is when I met him for the first time,



during his stay at the *Hotel Athénée Palace* (which was full of German uniforms already). He was still a Rumanian subject at the time ([SEE his List of Papers and Patents...](#)), and married to a French lady (who never visited Rumania).

Georges Sandulesco graduated as a chemist from the Sorbonne in 1922, but he had started publishing research papers even the year before ([SEE the Section devoted to his published Papers](#)).

Not being a chemist, I cannot, unfortunately, make any comments about all the Research Papers (about ten or so in number), and about the Patents (also about ten or so in number!) that I have all in front of me. So, my very few comments would be rather anecdotal, and carry implications on the literary side... I will, let us say, insist on coincidences – the hobbyhorse of James Joyce's philosophy of life.

And I will only take up one or two. Or three.

For instance, he discovered one most important hormone ([SEE the Press Section](#)) on or around my own birthday – at the very beginning of the year 1933!

Then, throughout the 1930's he managed to publish one research paper every single year! And to top it all, a specific patent in his name every single year... Or almost. There are ten papers in all that I have here!

There are ten patents in all that I have here too. The holograph List of Patents – drafted in French – proves it beyond the shade of a doubt.

Serious research – on paper – started around 1930. Was completed 1940. And the patent picture is more or less the same... What neatness of



coincidence: all studies and all research achieved and completed in an operation sandwiched EXACTLY between the Two World Wars.

First achievement recognised by the Press in the early 1930's.

The crowning of achievement coming just before the start of the Second World War mess by being made a member of the Rumanian Academy. And accepting it by post. (SEE relevant correspondence in the Press Section).



Georges Sandulesco flatly refused Communism from square one. No communication at all with Rumania after the Russian occupation of 23 August 1944 and until his death in June 1978.

Rumania no longer existed to him. He—seemingly—no longer existed for Rumania. My mother complained in private and in silence of his total *oubli* of family and homeland.

But to me personally, it was the bonanza of my life. For the Communists never thought at any time that I had any relatives abroad. (Jewish families were permitted and allowed to have relatives abroad, and receive parcels and letters from them. Never so the *echt* Rumanian families. The Communists never allowed any *echt* Rumanians to have any contacts abroad... And my other uncle—Constantin Noica—was sentenced to no end of years in a Communist prison for attempting to



send one of his papers on Hegel of all philosophers for publication in Paris!).

In other words, this Beckettian total and complete non-existence of Georges Sandulesco in the West was meant for me, in Rumania, to be an open door to do my university studies, and even to leave the country twenty solid years before the collapse of Communism. In short, I had no relatives at all in the Capitalist World...

The last coincidence:

When did Georges Sandulesco become a French citizen?

The very year King Michael was thrown out of the country – the very year he had been a forgotten Member of the Rumanian Academy for solid ten years.

“Ten years!” all over the place is a mighty coincidence.



Now that a century has passed since he left Sulina for Paris in order to discover one of the major hormones of the human body, and a lot of other things by the side, it is my firm opinion that Rumania owes him attention, recognition, and gratitude.

After all, his discoveries were ALL made while he was a Rumanian citizen.

I do not go to the Academy for that. I go direct to the Internet.



With two uncles **already in the Rumanian Academy** on both sides of my family – the other uncle being the well-known philosopher Constantin Noica – I consider my point is being made that way...

C. George Sandulescu

sandulescu@monaco.mc

<http://sandulescu.perso.monaco.mc/>

<http://editura.mttlc.ro/>, Executive Advisor

http://en.wikipedia.org/wiki/C._George_Sandulescu



The Press Coverage: A Few Samples...



CONTEMPORARY LITERATURE PRESS
Editura pentru Literatură Contemporană

This Press Release was published by the *Science Service*, Washington D.C., on 7 April 1932.

FRENCH SCIENTISTS REPORT
TWO NEW SEX HORMONES

MAIL REPORT OF SCIENCE SERVICE,
WASHINGTON, D. C., April 7, 1932

By Dr. Victor Coffman
Science Service Correspondent

Copyright 1932 by Science Service

PARIS, April (S.S.).- Discovery of two substances that affect profoundly the growth and activity of female sex organs has just been reported to the French Academy of Sciences by Drs. André Girard and Georges Sandulesco of the Roussel Research Laboratories here. These substances are described as new sex hormones in addition to the remarkably active substance known as theelin, the female sex hormone which was discovered by an American, Prof. Edward A. Doisy of St. Louis University School of Medicine.

The two new hormones belong to the same chemical group, the oxy-ketones, which means that they are related to acetone and alcohol, or rather, phenol. They differ only slightly in composition. They all contain the same quantity of carbon and oxygen in their molecule, namely eighteen carbon and two oxygen atoms, and differ only in the number of hydrogen atoms in the molecule. While theelin has twenty-two hydrogen atoms, the newly-discovered hormones contain only twenty, and differ between themselves only in the arrangement of the atoms. The new hormones have been named "equiline" and "hippuline" because they have been extracted from the kidney excretion of pregnant mares. Several tons of this material had to be used in order to extract about three grains of the new hormones.

The action of equiline and hippuline differs from that of theelin, affecting chiefly only one of the female sex organs, whereas theelin affects more than one.

EDITORS: ATTENTION IS CALLED TO THE IMPORTANT EXCLUSIVE SCIENCE SERVICE FEATURE SERIES ON THE NEXT GREAT INVENTION-- WHAT THE WORLD NEEDS MOST. IT IS MAILED YOU TODAY. PAGE ONE PLAY AND EARLY USE IS URGED. Watson Davis



This article was published in the *Science News Letter* for 16 April 1932.

250

SCIENCE NEWS LETTER for April 16, 1932

BIOCHEMISTRY

Male Sex Hormone Prepared In Pure Form For First Time

THE MALE hormone, or gland secretion that is responsible for typically masculine physiology in men and male animals, has been prepared for the first time in fully purified, crystalline form by Dr. Adolf Butenandt of the University of Göttingen. Dr. Butenandt has also analyzed it and determined the proportions of carbon, hydrogen and oxygen that enter into its makeup. They are expressed by the formula $C_{27}H_{46}O$.

Although other physiologists have been at work on the same problem, the final crystallization of the hormone is regarded as of the greatest importance. When any preparation can be made in crystalline form, that signifies a high state of purity, which makes possible really accurate comparative physiological tests, and may even lead the way to synthetic preparation.

The male sex hormone seems to be very closely related chemically to its physiological analog, the female sex hormone. This hormone was prepared first in the United States by Professor Edward A. Doisy of the St. Louis University School of Medicine and was announced at the Thirteenth International Physiological Congress at Boston in August, 1929. Subsequently, Dr. Doisy was the first to announce the empirical formula of this female sex hormone, $C_{26}H_{44}O$. Dr. Butenandt announced the independent isolation of the female hormone some months subsequent to Dr. Doisy's announcement and the independent analysis, a short time after, thus confirming Dr. Doisy's findings.

Find Wide Usage

The female sex hormone is already being used in medicine to a considerable extent and it may be anticipated that its male counterpart will likewise find clinical employment after further tests on animals have given more data on which to base its first applications to human cases.

Dr. Butenandt, therefore, must be credited with the first isolation and analysis of the male hormone and the independent isolation and analysis of the female sex hormone.

Both the sex hormones are prepared from an ingredient that might well have gone into a witch's cauldron of

old—human urine. The female sex hormone can be prepared only from that of pregnant women. However, the long and elaborate processes of condensation and precipitation through which the material must be put before the final few crystals are isolated removes any suggestion of its original repulsive source.

Dr. Butenandt's announcement of the preparation of male sex hormone in crystalline form is made in the German science weekly, *Forschungen und Fortschritte*.

Science News Letter, April 16, 1932

BIOCHEMISTRY

French Scientists Report Two New Sex Hormones

By DR. VICTOR COFMAN,
Science Service Correspondent

DISCOVERY of two substances that affect profoundly the growth and activity of female sex organs has just been reported to the French Academy of Sciences by Drs. André Girard and Georges Sandulesco of the Roussel Research Laboratories in Paris. These substances are described as new sex hormones, in addition to the remarkably active substance known as theelin, the female sex hormone which was discovered by an American, Prof. Edward A. Doisy of the St. Louis University School of Medicine.

The two new hormones belong to the same chemical group, the oxy-ketones, which means that they are related to acetone and alcohol, or rather, phenol. They differ only slightly in composition. They all contain the same quantity of carbon and oxygen in their molecule, namely eighteen carbon and two oxygen atoms, and differ only in the number of hydrogen atoms in the molecule. While theelin has twenty-two hydrogen atoms, the newly-discovered hormones contain only twenty, and differ between themselves only in the arrangement of the atoms. The new hormones have been named "equiline" and "hippuline" because they have been extracted from the kidney excretion of pregnant mares. Several tons of this material had to be used in order to extract about

three grains of the new hormones.

The action of equiline and hippuline differs from that of theelin, affecting chiefly only one of the female sex organs, whereas theelin affects more.

Science News Letter, April 16, 1932

CHEMISTRY

Probably No Elements Heavier Than Uranium

HOPE that there are more than the 92 chemical elements now known is not bolstered up by theoretical studies made by Dr. V. V. Narliker, University of Cambridge scientist. Investigating the highest atomic number in the light of wave mechanics, Dr. Narliker finds that the highest possible atomic number seems to be 92, that of uranium, heaviest known element, and not 137 as previous studies had suggested. His report was made to *Nature*.

Science News Letter, April 16, 1932

STATEMENT OF THE OWNERSHIP, MANAGEMENT, CIRCULATION, ETC., REQUIRED BY THE ACT OF CONGRESS OF AUGUST 24, 1912

Of *Science News Letter* published weekly at Baltimore, Md., for April 1, 1932.

Washington, District of Columbia

Before me, a Notary Public in and for the District of Columbia aforesaid, personally appeared Watson Davis, who, having been duly sworn according to law, deposes and says that he is the Editor of the *Science News Letter* and that the following is, to the best of his knowledge and belief, a true statement of the ownership, management, etc., of the aforesaid publication for the date shown in the above caption, required by the Act of August 24, 1912, embodied in section 411, Postal Laws and Regulations, to wit:

1. That the names and addresses of the publisher, editor, managing editor, and business managers are:

Editor, Watson Davis, 21st and Constitution Ave., Washington, D. C.

2. That the owner is: Science Service, Inc., 21st and Constitution Ave., Washington, D. C., a non-profit corporation without stock, operating as the Institution for the Popularization of Science.

3. That the known bondholders, mortgagees, and other security holders owning or holding 1 per cent. or more of total amount of bonds, mortgages, or other securities are: None.

4. That the two paragraphs next above, giving the names of the owners, stockholders, and security holders, if any, contain not only the list of stockholders and security holders as they appear upon the books of the company but also, in cases where the stockholder or security holder appears upon the books of the company as trustee or in any other fiduciary relation, the name of the person or corporation for whom such trustee is acting, is given; also that the said two paragraphs contain statements embracing affiant's full knowledge and belief as to the circumstances and conditions under which stockholders and security holders who do not appear upon the books of the company as trustees, hold stock and securities in a capacity other than that of a bona fide owner; and this affiant has no reason to believe that any other person, association, or corporation has any interest direct or indirect in the said stock, bonds, or other securities than as so stated by him.

Watson Davis,
Editor.

Sworn to and subscribed before me this 28th day of March, 1932.

[SEAL]

Charles L. Wade

(My commission expires April 6, 1933.)



CONTEMPORARY LITERATURE PRESS
Editura pentru Literatură Contemporană

This article was published in the *Time Magazine* on 25 April **1932**.

Girard and Sandulesco: MEDICINE New Hormones.

Medicine: New Hormones

Monday, Apr. 25, 1932

Dr. Adolf Butenandt of Gottingen crystallized the female sex hormone theelin a few months after Dr. Edward Adelbert Doisy of St. Louis had done so, thereby losing the scientific glory of priority. Last week Dr. Butenandt announced ahead of anyone else that he had crystallized the analagous masculine hormone. The new crystal yet lacks a name.

Theelin affects the female procreative apparatus. **Two Parisians, Drs. André Girard and Georges Sandulesco**, last week announced crystallization of two more female sex hormones with specific actions. Because these hormones came from the urine of pregnant mares, they were named equiline and hippuline.

Time Magaziue, <http://www.time.com/time/magazine/article/0,9171,743631,00.html>

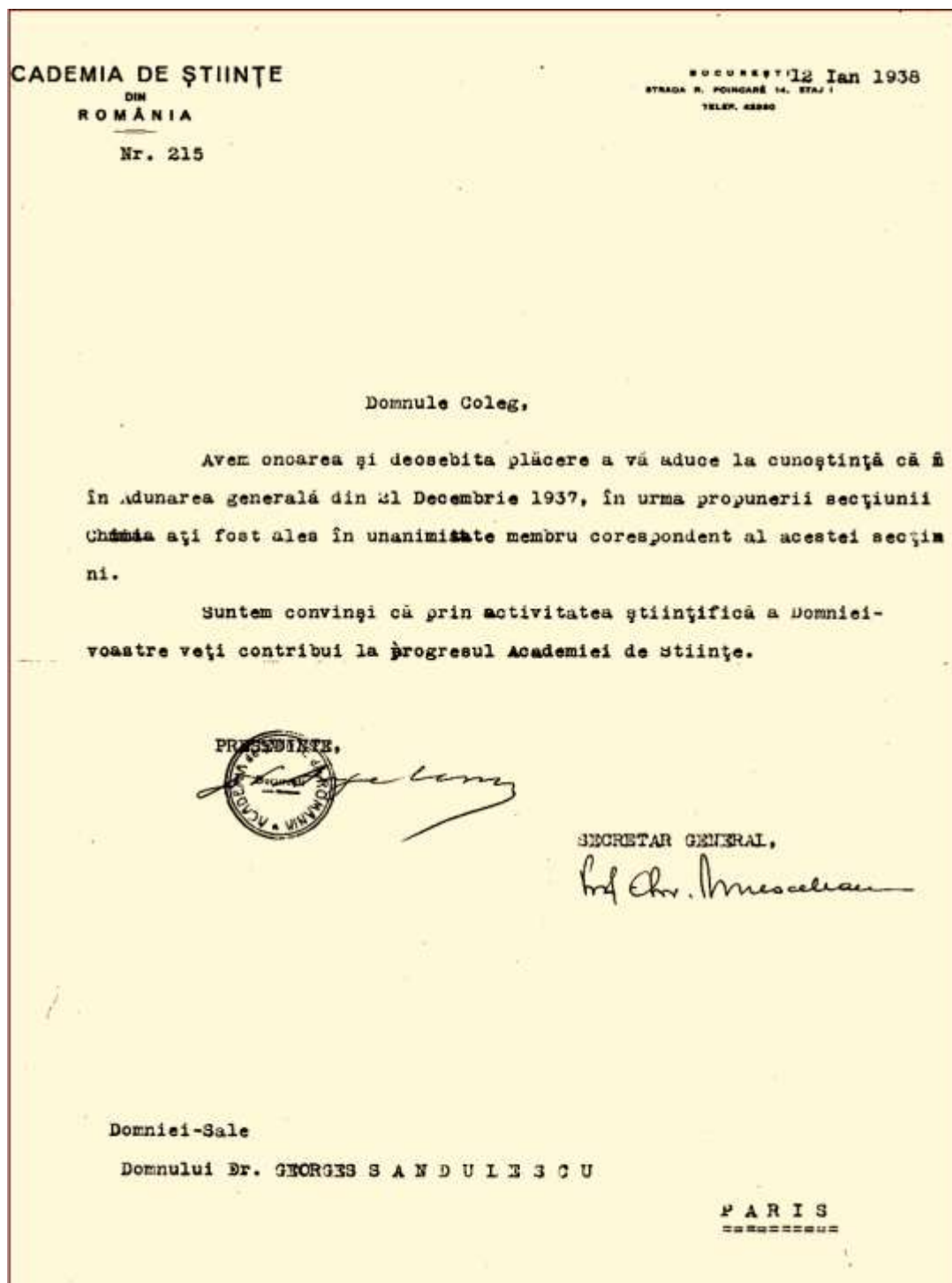


The Rumanian Academy 1938



CONTEMPORARY LITERATURE PRESS
Editura pentru Literatură Contemporană

This letter was sent by the President and the General Secretary of the Rumanian Academy on 12 January 1938.



This envelope is proof that on the eve of the Second World War the Rumanian Academy did not have any Paris address to send the letter to. Though the letter was drafted on 12 January 1938, this envelope is proof that it was only posted from Bucharest on 7 May 1938, when the exact address of the Paris addressee was at long last obtained (in those pre-war conditions).



Dr Constantin Angelescu (1869-1948) was, it said on the card, Minister of National Education. At the same time as he was President of the Academy.



Dr Christea Musceanu , the Secretary General, was Professor at the University of Bucharest, and also Rector of the Academy of Agronomical Sciences, as well as Member of the Academy of Sciences of Romania, at the date that we are talking about – 7 May 1938.



PART ONE

The Research Papers.



1. 28.7.1922 Sur le dédoublement de l'acide phénoxypropionique et de l'acide orthonitrophénoxypropionique en leurs composants actifs.

EXTRAIT DU *Bulletin de la Société chimique de France*,
4^e série, t. 31, p. 988; 1922.

Sur le dédoublement de l'acide phénoxypropionique et de l'acide orthonitrophénoxypropionique en leurs composants actifs, par E. FOURNEAU et G. SANDULESCO.

(28.7.1922).

Ayant eu l'occasion de préparer, en vue de recherches de chimiothérapie, des dérivés de l'acide phénoxyacétique et de l'acide phénoxypropionique, nous avons eu l'idée d'essayer le dédoublement de ce dernier acide et de ses dérivés nitrés, guidés surtout par les raisons suivantes :

1° La plupart des acides actifs connus naturels ou synthétiques possèdent soit des fonctions, soit des éléments accessoires (oxhydrile : acide phénylglycolique; halogène : acide phényldibromopropionique) qui gênent beaucoup quand on veut les faire entrer en réaction ; les oxhydriles s'opposant par exemple à la préparation des chlorures d'acides ; les halogènes, dont la liaison avec le carbone est peu stable, se détachant sous l'influence des alcalis faibles, des amines, etc. ;

2° Les acides actifs de la série aromatique ne sont pas d'une préparation aisée, ce qui a toujours limité leur emploi ;

3° Il y a peu de travaux portant sur l'influence que des fonctions diverses exercent sur le pouvoir rotatoire des acides aromatiques. On ne connaît à dire vrai qu'une étude de Cohen et Pennington, consacrée à l'éther benzoïque du menthol et de ses dérivés nitrés (*Chem. Soc. Trans.*, t. 113, p. 59-67).

Les auteurs constatent que l'introduction des fonctions nitrées augmente notablement le pouvoir rotatoire. Mais il ne s'agit pas ici, à proprement parler, du dédoublement d'un acide ou d'un éther nitré puisque les auteurs partent d'une substance qui possède déjà le pouvoir rotatoire ;

4° Par dessus tout nous désirions posséder en abondance un acide stable, facile à préparer, susceptible d'entrer dans des combinaisons à usages thérapeutiques (anesthésiques locaux, mydriatiques) — de façon à voir comment se comportent dans l'organisme des isomères actifs : ce genre de recherches étant jusqu'ici resté très limité ;

5° L'acide phénoxypropionique et surtout ses dérivés nitrés répondent à tous les desiderata ci-dessus. Ils sont faciles à préparer à l'état de grande pureté, ils cristallisent très bien, ils donnent aisément des chlorures d'acides, etc.



Pour dédoubler un acide en ses composants actifs, le moyen le plus simple et le plus usité consiste à séparer par cristallisations successives les sels droits et gauches que peuvent former ces acides avec des alcaloïdes appropriés.

Dans la pratique on rencontre des difficultés parfois insurmontables : ou bien les sels d'alcaloïdes ne cristallisent pas, ou bien, quand ils cristallisent, la séparation des isomères ne se fait pas. Le dédoublement d'une base par un acide actif offre des difficultés du même ordre.

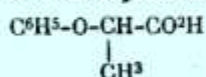
Après que nous eûmes mis en œuvre (pour l'acide phénoxypropionique) la plupart des alcaloïdes connus : quinine, brucine, strychnine, cinchonine, quinidine, cinchonidine, morphine, nous nous sommes trouvés fort peu avancés : tous les sels étaient incristallisables ou beaucoup trop solubles. Nous étions prêts à abandonner notre projet quand l'idée nous vint d'essayer la yohimbine dont l'emploi, à notre connaissance, n'avait jamais été envisagé (à cause du prix élevé sans doute). Le résultat fut tout à fait remarquable. Si l'on chauffe avec une quantité suffisante d'alcool à 10 0/0 l'acide phénoxypropionique et la yohimbine en quantités moléculaires, la dissolution se fait facilement ; on laisse refroidir et après quelques instants le sel de l'acide droit et de la yohimbine se sépare presque quantitativement. Il suffit d'une cristallisation pour l'avoir pur et l'acide qu'on en retire possède son pouvoir rotatoire maximum.

Il est certain que dans beaucoup de cas où l'on n'a pas pu réaliser ce dédoublement d'un racémique, ou simplement, quand on veut une amorce (acide phénylglycolique, par exemple), la yohimbine peut rendre de grands services (1).

L'acide phénoxypropionique et ses trois dérivés ont été préparés et décrits par Bischoff (*D. ch. G.*, t. 33, p. 925 et 1593).

Nous avons suivi exactement les indications qu'il a données.

Dédoublément de l'acide phénoxypropionique.



On dissout 39^{gr},0 de chlorhydrate de yohimbine (2) dans 2000 cc. d'eau chaude. On précipite la base par de l'ammoniaque, on

(1) Le chlorhydrate de yohimbine très pur provenait des Établissements Poulenc Frères.

(2) Nous publierons dans un prochain mémoire les détails relatifs à un dédoublement de l'acide phénylglycolique par la yohimbine.



l'essore et après l'avoir bien lavée on la verse sans la sécher dans un grand matras contenant 1500 cc. d'eau et 350 cc. d'alcool à 90°. On ajoute à ce mélange 16^{gr},60 d'acide phénoxypropionique et on porte le liquide à l'ébullition. Tout se dissout.

Après *quelques minutes* de repos, on voit apparaître des aiguilles dans le liquide et bientôt ce dernier est envahi par une abondante cristallisation en choux-fleur. On abandonne 3 jours à la glacière, on essore, on lave à l'eau et on obtient, après dessiccation à l'étuve à 50°, 21 gr. de produit sec. (Rendement théorique 26^{gr},05), On procède ensuite à une cristallisation.

1° Sel de yohimbine sec, 20 ; eau, 1500 cc.; alcool, 130; rendement, 11.80.

On met l'acide en liberté par NaOH (28 cc. par 11^{gr},80 d'acide). On essore la yohimbine, on rend le liquide filtré acide par HCl et on extrait l'acide phénoxypropionique avec de l'éther. L'acide est recristallisé dans 150 cc. d'eau. Belles aiguilles de 3 à 5 cm. de longueur.

Produit brut $\alpha = +1^{\circ},10$; tube de 15 cm., sol. dans alcool absolu (2 p. 200). T 21°.

$$(\alpha)_D = +36^{\circ},60$$

Première cristallisation : subst., 0,30 ; alcool abs., 25 ; T 21°.

$$\alpha = +0,58 \quad \text{tube de 20 cm.}$$

Deuxième cristallisation : subst., 0,30 ; alcool abs., 25°, T 21°.

$$\alpha = 0,58 \quad \text{tube de 20 cm.}$$

$$(\alpha)_D = \frac{0,94 \times 100}{2 \times 1,20} = +39^{\circ},3$$

On voit donc que l'acide est presque pur d'emblée.

Dédoublement de l'acide 1.2-nitrophénoxypropionique.

L'acide racémique préparé par Bischoff (*Loc. cit.*) fond à 157°.

Il est facile de le dédoubler par la yohimbine, mais la cinchonine peut également servir et, à cause de son prix peu élevé, nous l'avons préférée.

On prend :

Cinchonine cristallisée (de l'alcool).....	58 ^{gr} ,80
Acide o-nitrophénoxypropionique.....	42 ^{gr} ,2
Eau.....	5200 cc.
Alcool absolu.....	720 cc.



990 MEMOIRES PRÉSENTÉS A LA SOCIÉTÉ CHIMIQUE.

Porter à l'ébullition pour dissoudre, filtrer, abandonner un jour à la température ordinaire et 2 jours à la glacière.

Il se sépare 45 gr. de sel bien cristallisé qu'on fait recristalliser deux fois en suivant.

Première cristallisation : sel, 40; alcool à 10 0/0, 2200 cc.; heures à T 0°; 2 jours à la glacière; rendement, 32 gr.

La deuxième cristallisation est faite en suivant exactement les mêmes indications.

D'un échantillon de chacun des sels obtenus, on sépare l'acide par trituration avec de l'ammoniaque. On filtre pour séparer la cinchonine. On acidule la liqueur filtrée et on fait recristalliser l'acide qui se sépare (pour 2,65 d'acide, 60 cc. d'eau). Parfois l'acide se précipite huileux; il faut prendre la précaution d'amorcer de temps en temps au cours du refroidissement.

1° Acide du sel brut :

$(\alpha) = 2^{\circ},34$; sol. à 0,8 0/0 dans l'alcool absolu; tube 20 cm.; T 21°.

$$(\alpha)_D = 160^{\circ}$$

2° Acide de sel cristallisé une fois :

$(\alpha) = 2^{\circ},40$; tube de 20 cm., T 21°; 0,8 0/0 dans l'alcool absolu;

$$(\alpha)_D = +166^{\circ},25$$

3° Acide du sel recristallisé deux fois $(\alpha)_D = +166.25$.

Par conséquent, une seule cristallisation du sel de cinchonine suffit pour donner l'acide pur. Il y a peu de dédoublement d'acides qui se fasse dans des conditions meilleures. Il faut noter que les cristallisations successives de l'acide (et non du sel) restent sans effet sur le pouvoir rotatoire et ce dernier ne dépasse pas 160.

Séparation de l'acide gauche. — Dans les eaux-mères du sel de l'acide droit se trouve le sel de l'acide gauche. On traite ces eaux-mères par l'ammoniaque pour séparer la cinchonine. Le filtrat, rendu légèrement acide par HCl, est évaporé dans le vide. L'acide qui se sépare en majeure partie, est extrait à l'éther et recristallisé une fois dans l'eau : il dévie fortement à gauche.

$\alpha = -1^{\circ},34$; tube de 15 cm., sol. à 0,8 0/0 dans l'alcool absolu, T 21°.

$$(\alpha)_D = \frac{1,56 \times 100}{1,5 \times 0,8} = -130^{\circ}$$

Si on fait recristalliser plusieurs fois l'acide, son pouvoir tend à diminuer, sans doute parce qu'il s'enrichit en racémique moins soluble. Après une recristallisation on note $(\alpha)_D = -116^{\circ},6$; après une troisième $(\alpha)_D = -110^{\circ},8$.



Pour avoir l'acide pur il faut donc le combiner de nouveau avec un alcaloïde approprié. Nous avons essayé la yohimbine et la cinchonine qui toutes deux conduisent au résultat cherché.

1° Acide, 6,09 (de pouvoir rotatoire, 131.25); yohimbine, 10.210; eau, 600; alcool, 120; rendement, 10 gr.

Libérer l'acide: $\alpha = -2^{\circ},38$, tube de 20 cm.; T 21° ; sol. à 0,80/0 dans l'alcool absolu.

$$(\alpha)_D = -161^{\circ},37$$

Après recristallisation du sel de yohimbine.

$$(\alpha)_D = -166^{\circ},00$$

2° Quand on passe par le sel de cinchonine, il n'est pas nécessaire de séparer l'acide des eaux-mères de cristallisation du sel de l'acide droit, puis de le recombinaison à l'alcaloïde. On évapore ces eaux-mères à petit volume. Le résidu pâteux est repris par de l'alcool à 10 0/0 chaud.

Par refroidissement le sel de cinchonine cristallise. L'acide est isolé; $\alpha = -2^{\circ},24$; tube 20 cm., T 21° ; sol. à 0,08 0/0 dans l'alcool absolu:

$$(\alpha)_D = -150^{\circ}$$

Deuxième cristallisation du sel:

Acide: $\alpha = -2^{\circ},40$; tube 20 cm.; T 21° ; sol. à 0,08 0/0 dans l'alcool absolu:

$$(\alpha)_D = 166^{\circ},25$$

L'acide gauche est donc tout à fait pur.

Points de fusion des acides phénoxypropionique et o-nitrophénoxypropionique:

L'acide o-nitrophénoxypropionique fond à 157° .

L'acide droit et l'acide gauche fondent à $111-112^{\circ}$.

En général le racémique fond plus bas que ses isomères; ici c'est le contraire, aussi le point de fusion des acides actifs s'abaisse au fur et à mesure qu'on les purifie.

Si on mélange au mortier parties égales de l'acide droit et de l'acide gauche, même en l'absence d'eau, on reproduit le racémique. Un pareil mélange, en effet, projeté à la surface d'un bain de mercure, ne fond pas avant $156-157^{\circ}$.

On a les mêmes résultats avec l'acide non nitré. L'acide phénoxypropionique racémique fond à 115° . L'acide droit à 87° , l'acide gauche à 87° .

On pouvait penser que les acides actifs formaient des hydrates, mais l'analyse montre qu'il n'en est rien.



992 MÉMOIRES PRÉSENTÉS A LA SOCIÉTÉ CHIMIQUE.

Nous avons essayé le dédoublement de l'acide *o*-nitrophénoxypropionique par d'autres alcaloïdes que la yohimbine et la cinchonine. Avec la strychnine, à la condition d'avoir une amorce, on a un très bon dédoublement et on obtient l'acide droit. La brucine, sans doute à cause du peu de différence de solubilité entre les sels, ne permet pas le dédoublement. Avec la cinchonidine, nous n'avons pas eu de séparation de sel cristallisé.

Nous nous proposons d'étendre ces recherches aux acides nitrés para et méta obtenus synthétiquement en partant des nitrophénols. Quand nous aurons les constantes des trois isomères nous pourrions aborder l'étude de la nitration des acides phénoxypropioniques droit et gauche et surtout de leurs éthers; l'éther phénoxypropionique donnant quantitativement un dérivé dinitré.

Laboratoire de chimie thérapeutique de l'Institut Pasteur.

EXTRAIT DU *Bulletin de la Société chimique de France*,
4^e série, t. 31, p. 988; 1922.



CONTEMPORARY LITERATURE PRESS
Editura pentru Literatură Contemporană

2. 7.3.1927 Préparation et dédoublement de l'acide para-nitro-phényl-éthylacétique.

**N° 48. — Préparation et dédoublement
de l'acide para-nitro-phényl-éthylacétique;
par MM. E. FOURNEAU et G. SANDULESCO.**

(7.3.1927.)

Dans deux mémoires antérieurs (1) nous avons publié quelques essais de dédoublement d'acides organiques et de leurs dérivés nitrés (acide phénoxypropionique et dérivés nitrés ortho-, méta-, para-). Nous espérons préparer, à l'aide de ces acides, des dérivés acidylés isomères d'aminoalcools à propriétés anesthésiques dont nous aurions pu ainsi étudier l'action physiologique en fonction de leur pouvoir rotatoire. Nous comptons aussi rencontrer dans ces acides certaines qualités (cristallisation facile des sels, point de fusion élevé, etc.) qui sont particulièrement recherchées des chimistes et qui les auraient rendus utilisables pour le dédoublement des bases racémiques.

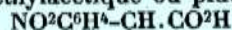
Aucun acide actif, en effet, ne répond à tous les desiderata; l'acide sulfobromocamphorique lui-même, qui a rendu de si grands services à Pope, ne nous a pas permis de dédoubler un seul amino-alcool de la série de la stovalne ou de l'éphédrine.

Or, les acides nitrophénoxypropioniques n'ont pas répondu à notre attente; ils pourront sans doute rendre des services dans certains cas mais, avec les amino-alcools, ils fournissent des éthers dont les sels sont difficilement cristallisables et, au surplus, très peu anesthésiques. (Les acides phénoxypropioniques sont, en réalité, des acides gras et on sait que les dérivés de ces acides sont peu ou pas anesthésiques.)

(1) FOURNEAU et SANDULESCO, Dédoublement de l'acide phénoxypropionique et de l'acide o-nitrophénoxypropionique en leurs composants actifs, *Bull. Soc. Ch.* 1922 (4), t. 34, p. 988. — FOURNEAU et SANDULESCO, Dédoublement des acides p-nitro et m-nitrophénoxypropioniques, *Bull. Soc. Ch.*, 1923 (4), t. 33, p. 459.



Nous avons porté nos efforts sur d'autres acides, tout d'abord sur l'acide phényléthylacétique ou plutôt sur son dérivé para-nitré



qui cristallise bien ⁽⁴⁾



Le nitrile de l'acide phényléthylacétique se prépare facilement avec d'excellents rendements en suivant les indications de Taboury et Boudroux ⁽²⁾. Les voici en quelques mots :

Dans un ballon surmonté d'un réfrigérant ascendant on place 34 gr. d'amidure de sodium finement pulvérisé que l'on recouvre avec 300 gr. de benzène anhydre ⁽³⁾. A l'aide d'une ampoule à brome on fait tomber lentement 90 gr. de cyanure de benzyle. Le liquide devient rouge foncé et s'échauffe. Après l'introduction du cyanure on chauffe 15 minutes au bain-marie, puis on laisse refroidir. Le liquide est brun. Il contient un faible dépôt d'amidure non attaqué.

On y ajoute à froid, goutte à goutte, 130 gr. d'iodure d'éthyle dissous dans 100 gr. de benzène. La réaction est vive; il se forme un abondant précipité d'iodure de sodium. Après avoir chauffé 15 minutes au B.-M., on laisse refroidir. On ajoute, en agitant, un égal volume d'eau. La couche benzénique est décantée et desséchée sur CaCl_2 . On chasse le benzène et on fractionne le résidu à la pression ordinaire. Fraction, 240-245°; rendement, 91 gr.

La saponification du nitrile est difficile; il faut le chauffer en tube scellé avec de l'acide chlorhydrique concentré pour le transformer en acide. Par contre le nitrile nitré s'hydrolyse très facilement.

Acide nitrophényléthylacétique.

Nitrophényléthylacétonitrile $\text{NO}_2\text{--C}_6\text{H}_4\text{--CH}(\text{C}_2\text{H}_5)(\text{CN})$. — On prend : Nitrile, 100 gr.; NO_3H (à 48°), 300 gr.; acide sulfurique, 600 gr. On maintient la température entre 0° et +5°. L'introduction du cyanure dans le mélange sulfonitrique doit être lente car le liquide s'échauffe fortement. On verse sur de la glace. Il se sépare un produit huileux qu'on sépare de la partie aqueuse dans une ampoule à décantation. On ajoute ensuite dans l'ampoule environ 200 cc. d'éther pour dissoudre l'huile qui adhère encore aux parois. La solution étherée est lavée avec une solution de CO_3Na^2 à 10 0/0. On chasse l'éther.

Saponification du nitrile : $\text{NO}_2\text{--C}_6\text{H}_4\text{--CH}(\text{C}_2\text{H}_5)\text{CN}$. — Le produit nitré brut est traité par un mélange de 300 cc. SO_4H^2 (66° Bé) et de 200 cc. H_2O . On chauffe jusqu'à commencement de réaction et on agite énergiquement pendant quelque temps. On porte à l'ébullition qu'on maintient 1/2 h. Par refroidissement le liquide se prend en masse. On ajoute 1 litre d'eau et on essore. Le produit essoré est dissous à chaud dans un excès de CO_3Na^2 . On épuise la solution à l'éther, on la décolore avec du noir animal et on la rend for-

(2) C. R., t. 150, p. 532.

(3) M. Boudroux emploie l'éther.



tement acide par HCl. (Rendement en produit brut : 95 gr. On fait cristalliser les 95 gr. dans 200 cc. de benzène. Le produit cristallisé fond à 119-120°.

Pour avoir le produit tout à fait pur, on fait recristalliser dans l'alcool à 50°. Les rendements de cette cristallisation sont bons. 35 gr. cristallisés dans 200 cc. d'alcool à 50° fournissent 27 gr. de produit pur, F. 122-123°.

La cristallisation du produit pur dans l'alcool à 50° est caractéristique. Elle se présente à la surface du liquide sous forme de petits carrés très régulièrement disposés.

L'acide, très soluble dans le chloroforme et l'éther acétique est peu soluble dans le benzène et CCl_4 , mais il y cristallise très bien. Le sel de soude donne des solutions à peine colorées en jaune.

Dosage : 0,330 acide nitré (en présence de phtaléine). Trouvé : 15^{cc}, 9 NaOH *n*. 10. Théor^t 15^{cc}, 7.

La place de la position nitrée est très facilement déterminée par une simple oxydation par le mélange suivant : Acide, 2 gr. ; MnO_2K , 10 gr. ; H_2O , 400 gr. On chauffe jusqu'à décoloration, on concentre et on précipite par l'acide chlorhydrique. Cristallisé dans l'eau, le produit obtenu fond à 234°. L'acide para-nitro-benzéique (Poulenc) F. 234°. Mélange, F. 234°.

Dosage : (Phtaléine) substance 0,275 exige 16^{cc}, 4, NaOH *n*. 10. Trouvé : 16^{cc}, 6.

Acide para-aminophényléthylacétique $\text{NH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{-CH(C}_2\text{H}_5\text{)COOH}$.
(4)

Acide nitré, 10 gr. ; $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 35 gr. On ajoute au mélange 50 cc. d'acide chlorhydrique concentré et 50 cc. d'eau. On chauffe au B.-M. jusqu'à dissolution complète. On évapore à sec dans le vide. Le résidu sec est dissous dans deux litres d'eau, puis l'étain est précipité par l'hydrogène sulfuré. On filtre et on évapore à siccité dans le vide. Le résidu est repris en deux fois par 25 cc. d'eau, on filtre et on précipite par NaOH jusqu'à acidité nulle au rouge Congo.

La précipitation du produit est extrêmement lente ; la précipitation totale exige quelques heures de repos dans un mélange réfrigérant. Il se précipite à l'état cristallisé.

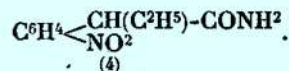
Propriétés. — Très soluble à chaud dans l'eau, cristallise par refroidissement en belles aiguilles. F. 142-143°.

Acide para-acétylaminophényléthylacétique $\text{C}_6\text{H}_4\text{-CH(C}_2\text{H}_5\text{)-COOH}$
 NH_2COCH_3
(4)

On le prépare en ajoutant successivement et en refroidissant 3 cc. d'anhydride acétique et 10 cc. de soude N concentrée à une solution de 2 gr. d'acide aminé dans 10 cc. d'acide sulfurique *n*.

Peu soluble dans l'eau à chaud. Cristallise en paillettes nacrées. Cristallisé dans l'alcool dilué il fond à 208-209°.



Amide de l'acide para-nitrophényléthylacétique :

2 gr. d'acide nitré sont chauffés au B.-M. avec un excès de chlorure de thionyle jusqu'à dissolution complète. On distille l'excès de SOCl_2 dans le vide au B.-M. On reprend le résidu par 25 cc. d'éther anhydre et on verse dans le même volume d'ammoniaque concentré. On distille l'éther, on essore le produit et on fait cristalliser dans environ 200 cc. d'eau légèrement ammoniacale. F. 139-140°. Se présente en belles aiguille jaune clair.

Dédoublement de l'acide para-nitrophényléthylacétique.

Les essais sont résumés dans le tableau suivant :

Cinchonine	Belles cristallisations. Pas de dédoublement.
Cinchonidine	— —
Quinine	— —
Quinidine	Très mauvaise cristallisation. Acide gauche.
Strychnine	Non cristallisable.
Brucine	Belle cristallisation. Pas de dédoublement.
Morphine	Belle cristallisation. Acide droit.

De tous les alcaloïdes, seule la morphine nous a permis d'avoir l'acide droit pur. L'acide gauche pur est très difficile à obtenir.

Une première opération effectuée sur 20 gr. de sel de morphine nous a conduit, après 3 cristallisations successives, à un acide de pouvoir rotatoire $(\alpha)_D = 445^\circ, 28$.

Le sel de morphine étant extrêmement peu soluble dans l'eau à froid et dans la plupart des solvants organiques, nous fûmes obligés de suivre la variation du pouvoir rotatoire de l'acide. D'ailleurs nous avons eu l'occasion, au cours de nos recherches, de constater que la variation du pouvoir rotatoire en valeur absolue du sel d'un alcaloïde peut provenir non seulement d'un enrichissement en l'un des deux acides énantiomorphes, mais aussi d'une dissociation partielle, suffisante pour accuser des variations de pouvoir rotatoire notables.

Pour avoir donc une garantie absolue sur le degré de pureté de l'acide actif contenu dans le sel d'alcaloïde au cours de la purification, il faut suivre son pouvoir rotatoire et non pas celui du sel de l'alcaloïde.

La morphine que nous avons employée a été purifiée avec soin. Elle avait pour pouvoir rotatoire $(\alpha)_D = -130^\circ, 5$ (morphine pure $(\alpha)_D = -130^\circ, 9$) (4).

Le sel de morphine obtenu dans la première opération et contenant un acide dé $(\alpha)_D = +15^\circ, 28$ nous a servi pour amorcer les cris-

(4) *Chem. Soc.*, t. 77, p. 1037.



tallisations de la deuxième opération; ceci nous a permis d'accélérer la purification.

Dédoublement. — Acide, 4^{gr},180; morphine, 6^{gr},060. Il vaut mieux pulvériser la morphine car la dissolution est lente. On dissout les quantités ci-dessus dans 700 cc. d'eau. Après un repos de 24 h. on obtient 6^{gr},500 à 6^{gr},700 de sel de morphine de l'acide droit.

Nous avons réuni quatre opérations identiques ce qui nous a fourni 26^{gr},500 de sel. C'est une quantité minimum car la purification est longue. L'acide contenu dans cette fraction a un pouvoir rotatoire de : $(\alpha)_D = +25^{\circ},33$.

On fait recristalliser le sel de morphine dans 30 cc. d'eau environ. Les rendements de 83-86 0/0 à la T de 20°. Au bout de la quatrième cristallisation, le produit est pur, car le pouvoir rotatoire de l'acide qu'on en retire reste constant.

Isolément de l'acide. — On dissout 1^{gr},5 de sel de morphine dans 70 cc. d'eau, à chaud. On filtre, on traite par 2^{cc},9 de soude normale, en amorçant avec une trace de morphine et on refroidit. On sépare la morphine et on précipite l'acide par l'acide chlorhydrique en refroidissant fortement la solution pour éviter la formation d'un précipité huileux. L'acide actif droit recristallisé dans l'alcool à 50 0/0, fond à 108-109° (acide racémique 123-124° $(\alpha)_D = +53,33$ (solution dans l'alcool absolu contenant 1,50 0/0 d'acide).

Traitement des eaux-mères. — Les eaux-mères sont évaporées à sec dans le vide. Le sel recristallisé dans l'eau donne un acide à pouvoir rotatoire $(\alpha)_D = -38^{\circ},66$ (1^{gr},5 dans 100 cc. de solution alc. abs., tube 20 cm.).

La troisième recristallisation nous a donné un acide $(\alpha)_D = -33^{\circ},3$ (mêmes conditions).

On peut déduire que le sel s'enrichit en acide droit.

Nous avons isolé l'acide et essayé de faire cristalliser le sel de brucine, mais il cristallise mal et, en somme, nous n'avons pas réussi jusqu'ici à obtenir l'acide gauche à l'état pur.

Nous poursuivons les essais de dédoublement en partant de l'acide para-acétylaminophényléthylacétique qui a l'avantage de fondre plus haut que l'acide nitré et dont les sels cristallisent très bien.

(Laboratoire de Chimie Thérapeutique, Institut Pasteur).



3. 23.7.1930 Sur la synthèse des oxycétones aromatiques.

23 juillet 1930

EXTRAIT DU *Bulletin de la Société chimique de France*,
4^e série, t. 47, p. 1300; 1930.

**N° 102. — Sur la synthèse des oxycétones aromatiques.
I. Ortho et para-acidyl-phénols à chaînes normales de
C⁴ à C⁹; par G. SANDULESCO et A. GIRARD.**

(23.7.1930.)

Les travaux aujourd'hui classiques de Dohme (1) et de Léonard (2) sur l'exaltation des propriétés bactéricides de la résorcine, par la présence de radicaux alcooliques fixés au noyau, devaient naturellement inciter les chimistes à étudier l'influence des chaînes latérales sur d'autres séries de médicaments dont l'activité thérapeutique est indiscutablement liée à la présence d'oxhydriles phénoliques.

Ayant en vue, plus particulièrement l'obtention des homologues supérieurs de l'acide salicylique, nous nous sommes attachés tout d'abord à la préparation des alcoyl phénols, que l'excellente méthode de réduction de Clemmensen permet d'atteindre, à partir des oxycétones correspondantes.

(1) DOHME, COX, MILLER, *J. Amer. ch. Soc.*, 1926, t. 48, p. 1688.

(2) LÉONARD, *J. Am. Méd. Ars.*, 1924, t. 83, p. 2005.



1301 MÉMOIRES PRÉSENTÉS A LA SOCIÉTÉ CHIMIQUE.

En ce qui concerne les dérivés salicylés, dont certains effets thérapeutiques s'exercent par l'intermédiaire du système nerveux central, d'autres arguments militaient encore en faveur de cette étude.

On sait que, dans la classe des hypnotiques, l'activité sur les centres nerveux semble être en corrélation étroite avec le coefficient de solubilité dans les lipoides : comme les homologues supérieurs de l'acide salicylique paraissaient devoir présenter une solubilité très accrue dans les solvants organiques, il était intéressant de rechercher dans quelle mesure la loi de Meyer-Overton pouvait être étendue aux dérivés salicylés.

Pendant l'exécution du présent travail, diverses recherches fragmentaires, en relation avec l'objet de notre étude, ont été publiées : les acides *p*-butyl et *p*-hexyl-salicyliques ont été décrits par Cox (3) tandis que la firme Hoffmann La Roche faisait breveter une méthode de préparation de l'acide hexyl-salicylique (4), enfin Rettger, Plastringe et Walley (5) ont étudié les propriétés bactéricides de l'ortho-*n*-butyl-phénol.

Réservant pour d'autres publications la partie physiologique et thérapeutique de notre travail, nous nous occuperons exclusivement dans ce premier mémoire de l'obtention des cétones phénoliques à chaînes normales et de leurs produits de réduction : les alcoyl-phénols.

Un petit nombre seulement de ces derniers corps ont été décrits jusqu'à présent, particulièrement dans la série ortho, que nous avons complétée, ainsi que la série para. Les méta-acidyl et alcoyl-phénol ne pouvant être atteints que par des voies synthétiques entièrement différentes de celles que nous avons suivies, feront l'objet d'études ultérieures.

Obligés, en outre, de préparer de grandes quantités de chacun de nos corps, nous avons été entraînés à rechercher des modifications de la technique opératoire propres à améliorer les rendements et à rendre possible le travail sur une échelle relativement grande.

Nombreuses sont les études parues, jusqu'à ce jour, sur l'obtention des oxycétones aromatiques, dont l'histoire remonte à Friedel et Crafts.

On peut grouper les méthodes de synthèse directes en trois catégories :

1° Condensation des acides libres avec les phénols à l'aide du chlorure de zinc anhydre (6);

2° Transposition des éthers-sels phénoliques en cétones-phénols, sous l'action à chaud du chlorure d'aluminium (transposition de

(3) Cox, *J. of Amer. Soc.*, 1930, n° 52, p. 352.

(4) Brevet suisse n° 127.649.

(5) RETTGER, PLASTRIDGE, WALLEY. *Centrbl. f. bakt. parasitenk.*, 1929, t. 111, p. 287.

(6) NENCKI, SIEBER, *J. pr. Ch.*, 1881 (2), t. 23, p. 147. — KOMAROWSKI, KOSTANECKI, *J. pr. Ch.*, 1891 (2), t. 43, p. 91. — GOLDZWEIG, KAISER, *J. pr. Ch.*, 1891 (2), t. 43, p. 86. — SCHARP, DOHME, *Br. Am.*, 1717098 du 15.11.1927 [C. (1929) 11, 1430]. — SHARP, DOHME, *Br. fr.* 600.693 du 11.7.1925.



Fries) (7); soit encore, en ce qui concerne les diphénols seulement, par le chlorure de zinc (8) ou l'oxychlorure de phosphore (9);

3^e Action des chlorures d'acides sur les phénols libres en présence du chlorure d'aluminium comme catalyseur (10).

Parmi ces diverses méthodes, celle de Fries et celle de Friedel-Crafts offrent seules un intérêt pratique pour l'obtention des cétones monophénoliques.

La technique de Fries a l'inconvénient de nécessiter la préparation préalable des éthers-sels phénoliques, mais surtout, sa conduite devient difficile dès que l'on opère sur des quantités excédant une molécule, la décomposition finale du mélange réactionnel par l'eau devenant extrêmement violente.

Quant à la synthèse directe de Friedel, son application paraissait délicate par suite de l'action de la fonction phénolique libre sur le chlorure d'aluminium, et le succès de la méthode restait étroitement lié au choix du solvant.

Behn, le premier, a signalé la supériorité du nitro-benzène sur tous les autres solvants préconisés, puis Rosenmund et Schulz ont préparé un certain nombre de cétones phénoliques par cette méthode.

Chopin (11) recommande l'emploi du chlorobenzène; au cours de nos recherches, nous n'avons pas trouvé de supériorité réelle à ce solvant.

Malheureusement le mode opératoire décrit par Rosenmund ne convient que pour des opérations portant sur de très faibles quantités; nous avons eu avec lui de graves mécomptes dès que nous avons voulu opérer sur des masses un peu plus grandes, par suite de la difficulté de maintenir le mélange réactionnel à une température suffisamment basse.

L'introduction du chlorure d'aluminium pulvérisé par petites fractions, dans un récipient qui doit être aussitôt bouché, est une opération plutôt pénible, aussi croyons-nous utile de signaler, dans la description détaillée que nous donnerons plus loin, que l'introduction du chlorure d'acide dans la solution nitrobenzénique renfermant à la fois le phénol et le chlorure d'aluminium, conduit au même résultat.

L'inconvénient principal du procédé réside dans l'emploi même du solvant. Il faut mettre en œuvre pour une partie de phénol, 2 à 3 parties de nitrobenzène, corps à point d'ébullition élevé, d'où une manipulation encombrante et relativement longue.

(7) FRIES et collaborateurs, *D. ch. G.*, 1908, t. 41, p. 4276; *D. ch. G.*, 1910, t. 43, p. 214; *D. ch. G.*, 1921, t. 54, p. 717; *D. ch. G.*, 1923, t. 56, p. 1305. — ROSENMUND, SCHNURR, *Lieb. Ann.*, 1923, t. 460, p. 56. — VON AUWERS, MAUSS, *D. ch. G.*, 1928, t. 61, p. 416; *D. ch. G.*, 1928, t. 61, p. 1495; *Lieb Ann.*, 1928, t. 460, p. 240; COX, *Am. Soc.*, 1930, t. 52, p. 352. — COULTHARD, MARSHALL, PYMAN, *Chem. Soc.*, 1930, p. 280.

(8) POPP, *Br. angl.* 287.967.

(9) OTT, *D. ch. G.*, 1926, t. 59, p. 1068.

(10) BEHN, *DRP* 95.901; ROSENMUND, SCHULZ, *Ar.*, 1927, t. 265, p. 308.

(11) CHOPIN, *Bull. Soc. chim.* (4), 1924, t. 35, p. 610. — *Br. fr.* 536.257 du 8.2.1922.



1908 MÉMOIRES PRÉSENTÉS A LA SOCIÉTÉ CHIMIQUE.

L'isolement des produits de la réaction par les alcalis, n'est pas réalisable comme nous le verrons plus loin, et la séparation du solvant par distillation fractionnée, n'est possible qu'avec les termes supérieurs.

Pour ces raisons, nous avons été amenés à rechercher une méthode plus simple, susceptible d'être appliquée sur une échelle plus vaste.

Si on fait réagir le chlorure d'aluminium anhydre sur un phénol, en quantités équimoléculaires, en chauffant au besoin, pour terminer la réaction, il se dégage une molécule d'acide chlorhydrique, et se forme une masse jaune brunâtre, solide à froid, ayant l'aspect de la colophane, devenant assez fluide du voisinage de 100°. Il semble qu'on puisse lui assigner la formule d'un phénolate chloro-aluminique :



Nous avons trouvé que ce corps était susceptible de réagir sur les chlorures d'acides, non plus à la température ordinaire, mais entre 120 et 140°, pour donner les produits normaux de la condensation de Friedel Craft, c'est-à-dire un mélange des oxycétone ortho et para.

Les rendements sont très élevés et oscillent entre 80 et 90 0/0. Nous donnerons plus loin un exemple détaillé du mode opératoire que nous avons suivi; il nous a permis de travailler avec une grande commodité sur des quantités supérieures à 1000 gr. de phénol par opération, sans qu'il soit besoin de munir l'appareil d'agitateur. Nous pensons que la méthode permettrait aisément d'atteindre l'échelle industrielle.

Propriétés générales des acetyl-phénols.

Les oxycétone de la série ortho, qui ont été jusqu'ici peu étudiées, et que nous avons obtenues de façon prédominante, diffèrent complètement quant à leurs propriétés physiques et chimiques de leurs isomères para.

Tandis que ces derniers sont toujours des corps parfaitement blancs et cristallisés, à points de fusion relativement élevés, peu solubles dans l'éther de pétrole, les isomères ortho sont des liquides ou des solides à bas points de fusion, faiblement colorés en jaune verdâtre, très solubles dans l'éther de pétrole. Cette propriété peut servir à leur séparation presque quantitative, combinée surtout à la distillation fractionnée; en effet, l'écart des points d'ébullition, pour les butyryl-phénols, est de 70°, sous 11 mm. de mercure, il excède encore 50° pour les nonoyl-phénols. A l'inverse des isomères para, les ortho sont tous entraînés à la vapeur d'eau.

La propriété la plus remarquable des orthoxycétone est leur faible tendance à donner des dérivés alcalins et cette propriété s'accroît à mesure qu'on s'élève dans la série.

Tandis que l'o-butyrylphénol se dissout entièrement dans la quantité calculée de soude normale, les o-valéryl et caproyl, dans les mêmes conditions, restent en majeure partie non dissous et



forment avec la liqueur alcaline des émulsions d'une grande ténacité qui ne permettent pas les mesures quantitatives. Avec l'*o*-heptoylphénol : 97 0/0 de l'oxycétone se séparent à l'état libre; avec les octoyl et nonoyl la dissolution est pratiquement nulle.

Si on agite ces derniers avec une liqueur sodique plus concentrée, la dissolution est également empêchée par suite de la faible solubilité des dérivés alcalins.

Notons que, toujours dans les mêmes conditions, les isomères de la série para sont complètement solubles dans la soude normale.

Dans une 2^e série d'expériences, nous avons opéré en présence de 30 cc. d'éther, en conservant les mêmes proportions équimoléculaires de phénol et de soude normale.

Après agitation, décantation de la couche étherée et distillation du solvant, nous avons pesé le phénol soustrait à l'agent alcalin. On retrouve ainsi 42 0/0 de l'*o*-butyrylphénol qui, dans le premier essai, s'était complètement dissous dans la lessive alcaline. On retire de même environ 90 0/0 de valéryl et 95 0/0 de caproylphénol. Pour les homologues supérieurs on retrouve dans la solution étherée la totalité du phénol mis en œuvre.

Cette particularité curieuse des orthoxycétones est à rapprocher des faits signalés par Vavon et Zaharia (12) montrant que l'extractibilité des phénols de leurs solutions alcalines, à l'aide de l'éther, est variable suivant la structure et la position des groupes substituants, les substitutions en ortho diminuant au maximum le caractère acide de l'oxhydryle phénolique.

En ce qui concerne toutefois le groupement CO, le fait ne laisse pas de surprendre un peu, en raison de son caractère électro-négatif qui paraissait, à priori, devoir le rapprocher du groupe NO².

Il faut rapporter, sans doute, à ce faible caractère phénolique des orthoxycétones, la grande difficulté qu'on éprouve à préparer leurs éthers-oxydes. Nos essais de méthylation, aussi bien avec l'iodure de méthyle qu'avec le sulfate diméthylque, ont échoué.

La benzylation réussit en opérant en présence de pyridine, mais les benzoates étant le plus souvent liquides, peuvent difficilement servir à la caractérisation de ces corps.

Par contre les semicarbazones se laissent facilement préparer et cristallisent fort bien. On les obtient en chauffant légèrement les cétones avec un faible excès de chlorhydrate de semicarbazide et d'acétate de potassium fondu, dans l'alcool dilué. Après un repos de quelques heures on essore les semicarbazones et on les recristallise dans l'alcool.

A l'inverse de leurs isomères ortho, les paraoxycétones se laissent aisément alcoyler et benzoyler par la méthode de Shotten-Baumann, les benzoates recristallisés dans l'alcool conviennent à leur caractérisation.

Enfin, tandis que les isomères para sont aisément réductibles en alcoylphénols par le zinc et l'acide chlorhydrique, la réduction des

(12) VAVON et ZAHARIA, 1928, *C. R.*, t. 187, p. 346.



1305 MÉMOIRES PRÉSENTÉS A LA SOCIÉTÉ CHIMIQUE.

isomères ortho est difficile dans les conditions ordinaires, et ici encore la difficulté grandit à mesure qu'on s'élève dans la série.

Réduction des oxycétones.

L'obtention des alcoylphénols par réduction du groupe CO suivant la méthode classique de Clemmensen, réussit bien pour tous les termes de la série para. L'opération dure 15 à 20 heures, les rendements qui varient de 75 à 90 0/0 sont les meilleurs lorsque l'amalgamation du zinc n'est pas trop complète et que l'attaque se poursuit plus rapidement.

L'O-butyrylphénol peut être réduit également avec un rendement de 70 0/0, mais le produit distillé donne encore une coloration violette avec le chlorure ferrique, ce qui témoigne qu'il renferme encore une faible quantité de cétone très difficilement séparable par fractionnement.

Par contre l'orthoheptoylphénol ne nous a donné après 15 heures que 15 0/0 environ de produit réduit, et cet échec s'est encore accentué avec les termes plus élevés.

Attribuant à un défaut de solubilité des cétones dans le milieu aqueux, la lenteur extrême de la réduction, nous avons alors remplacé l'eau du mélange acide de Clemmensen par l'acide acétique. En opérant avec un mélange à parties égales d'acide acétique et d'acide chlorhydrique fumant, l'attaque du zinc se poursuit très rapidement, tandis que du gaz chlorhydrique se dégage à l'extrémité du réfrigérant. L'opération est considérablement améliorée, et le rendement en heptylphénol tout à fait pur atteint 80 0/0 (13).

Les orthoalcoylphénols fournissent difficilement des dérivés cristallisés pouvant servir à leur caractérisation : les benzoates, les phényl et diphenyluréthanes ne conviennent pas. Par contre, les acides phénoxyacétiques que l'on obtient avec facilité par condensation du chloracétate d'éthyle en présence d'éthylate de soude, suivie de saponification, cristallisent en belles aiguilles soyeuses, à points de fusion définis, se prêtant bien à un titrage acidimétrique précis.

On les obtient tout à fait purs en les recristallisant à chaud dans un mélange de benzène et d'éther de pétrole.

PARTIE EXPÉRIMENTALE.

(En collaboration avec M. E. Degerholm).

Exemple de synthèse des oxycétones dans le nitrobenzène.

N-heptoylphénols. — Dans un ballon de 2 litres on dissout 135 gr. de chlorure d'aluminium finement pulvérisé, dans 200 cc. de

(13) Il est probable également que l'élévation de la température d'ébullition du mélange, sous l'influence de l'acide acétique, joue ici un rôle important, et que le phénomène est comparable à l'augmentation considérable du rendement de la réduction de Bouveault et Blanc lorsque, suivant la technique adoptée par l'industrie, on substitue l'alcool butylique à l'alcool éthylique.



nitrobenzène. On refroidit la solution obtenue (14) et on ajoute lentement, à l'aide d'une ampoule à brome, une dissolution de 94 gr. de phénol dans 100 cc. du même solvant.

On fait alors couler lentement 148 gr. de chlorure d'heptoyle dilué dans 50 cc. de nitrobenzène, en ayant soin de refroidir le ballon par de l'eau glacée. On abandonne ensuite le mélange pendant une nuit, puis on verse le contenu du ballon dans environ deux litres d'acide chlorhydrique faible; on porte enfin le tout à l'ébullition pendant une demi-heure pour achever la décomposition des complexes aluminiques.

Ce mode opératoire, qui est commode pour des opérations n'excédant pas une molécule gramme, doit être abandonné pour des opérations plus importantes.

Rosenmund extrait les phénols, en agitant avec de la soude à 15 0/0 la solution nitrobenzénique diluée avec de l'éther, comme les orthoxycétone sont pratiquement insolubles dans les liqueurs alcalines, l'auteur ne parvient à isoler des mélanges réactionnels que les isomères para qu'il décrit seuls.

La distillation dans le vide permet par contre de séparer avec facilité, d'abord le nitrobenzène, puis l'isomère ortho, enfin la para-xycétone. On recueille entre 135 et 160 sous 11 mm. 70 gr. d'un liquide verdâtre et mobile (environ 33 0/0 du rendement théorique) constitué par de l'o-heptoylphénol à peu près pur.

Entre 160 et 220° distille un produit qui cristallise aussitôt dans le ballon récepteur. On en obtient 96 gr. (soit 46 0/0 du rendement théorique), c'est le paraheptoylphénol, encore souillé par un peu d'isomère ortho dont on le débarrasse facilement par un simple lavage à l'éther de pétrole.

L'isomère para étant fort peu soluble dans ce solvant nous avons mis à profit cette particularité dans une 2^e opération.

Le produit brut, total, débarrassé de la majeure partie de son solvant est traité par 500 cc. d'éther léger de pétrole, on recueille 88 gr. d'un précipité cristallin blanc constitué par l'isomère para pur. La perte subie n'est que de 6 0/0 par rapport au rendement du premier procédé d'extraction, et cette faible quantité est aisément récupérée lors du fractionnement de l'isomère ortho.

Synthèse des oxycétone en absence de solvant.

On introduit dans un ballon de 2 litres, d'abord 94 gr. (1 mol.) de phénol, ensuite 133 gr. de chlorure d'aluminium anhydre (1 mol.) finement pulvérisé (15) puis on mélange intimement les deux pro-

(14) Il est indispensable d'opérer à basse température, sans quoi le phénol réagirait sur le chlorure d'aluminium pour donner un complexe insoluble gênant par la suite la réaction. Si on omet cette précaution et si on laisse la température s'élever, il se déclenche une réaction d'allure très vive entre le nitrobenzène et le complexe aluminique, qui aboutit à une masse charbonneuse.

(15) Les rendements sont considérablement influencés par la qualité du chlorure d'aluminium employé. Le commerce fournit aujourd'hui



1307

MÉMOIRES PRÉSENTÉS A LA SOCIÉTÉ CHIMIQUE.

duits en imprimant à la masse un mouvement de rotation énergétique. Ceci fait, on adapte rapidement au ballon un réfrigérant ascendant muni d'une ampoule à brome de grande capacité, et on place l'appareil ainsi monté sur un bain d'huile à 100° pendant un quart d'heure environ.

Au bout de ce temps il s'est dégagé une molécule d'acide chlorhydrique et le phénate chloroaluminique formé se présente sous forme d'une masse homogène semifluide.

Sur cette dernière, maintenue toujours à une température voisine de 100°, on fait couler à l'aide de l'ampoule à brome, une molécule de chlorure d'acide. Il se produit une réaction vive avec dégagement d'acide chlorhydrique et liquéfaction de la masse. On a soin, pendant toute la durée de cette opération, d'agiter le ballon, dans le but d'étendre le chlorure d'acide sur toute la surface du complexe d'aluminium. Nous avons observé que la réaction est plus complète quand elle est menée à vive allure, aussi la durée d'introduction du chlorure d'acide ne doit-elle pas dépasser un quart d'heure.

Après avoir ajouté la totalité du chlorure d'acide, on continue d'agiter la masse semifluide pour éviter la formation de grumeaux qui ne réagissent que très lentement, puis on chauffe le bain d'huile une heure à 125-130°. Par refroidissement on obtient au fond du ballon une résine brunâtre ressemblant à de la colophane. Le chlorure d'aluminium engagé dans une combinaison complexe avec les oxycétones formées (16) a perdu ses propriétés agressives envers l'eau, aussi la décomposition de la masse vitreuse doit-elle se faire à l'eau chaude additionnée d'acide chlorhydrique.

Dans ces conditions, le mélange des cétones vient se rassembler à la surface de l'eau, sous forme d'une huile fortement teintée.

On siphonne la couche aqueuse et on lave la masse huileuse deux fois à l'eau chaude, dans le ballon même. On introduit le produit ainsi débarrassé d'aluminium dans un appareil à distiller et on fractionne finalement sous pression réduite.

Les rendements en produit brut (mélange des isomères ortho et para) oscillent entre 80 et 90 0/0 de la théorie. L'isomère ortho prédomine, en général, avec un pourcentage de 45 à 60, contre 30 à 40 0/0 pour le dérivé para substitué.

Nous avons constaté, en outre, la présence d'une très faible proportion de produit disubstitué ortho-para. On retire ce dernier corps de l'éther de pétrole ayant servi à la purification de l'isomère para.

un chlorure pulvérisé, tout à fait blanc, auquel il convient de donner la préférence.

Sa conservation étant toutefois difficile, en raison de la pression qu'il développe dans les récipients, nous conseillons de boucher ceux-ci avec des bouchons de caoutchouc munis de soupapes à mercure.

(16) On sait, d'après les travaux de PFEIFFER (*D. ch. G.*, t. 44, p. 2653), que les orthoxycétones aromatiques fournissent avec certains chlorures métalliques, des complexes ayant l'aspect des laques.



*Réduction de l'O-octoylphénol en o-octylphénol
en présence d'acide acétique.*

500 gr. de zinc en grenailles sont dégraissés à l'aide d'éther de pétrole, séchés à l'air, puis décapés par l'acide chlorhydrique dilué.

Le métal est amalgamé par un contact de 3 heures avec 600 cc. d'une solution de chlorure mercurique à 4 0/0. On décante l'eau surnageante, puis on place la grenaille dans un ballon de 3 litres, avec 750 gr. d'acide acétique et 750 gr. d'acide chlorhydrique fumant ordinaire puis 220 gr. d'ortho-octoylphénol (1 molécule).

Après 20 heures d'ébullition à reflux, on laisse refroidir, on décante la couche liquide surnageante, qui est devenue incolore, on étend d'eau la liqueur acétique, on l'épuise avec un peu de benzène, qu'on ajoute au phénol décanté, et on distille sous pression réduite.

On recueille 165 gr. d'octylphénol pur ($E_{b11} = 160-162^\circ$) soit 80 0/0 du Rendement théorique.

Pendant l'exécution du présent travail, plusieurs des corps qui font l'objet de notre étude, ont été décrits par Coulthard (17). Comme certaines constantes physiques trouvées dans la littérature ne concordent pas pleinement avec les nôtres, nous croyons utile de reprendre ci-après la description complète des corps de la série, ainsi que des dérivés cristallisés que nous avons préparés dans un but de purification, d'analyse et d'identification : benzoates, semicarbazones, acides phénoxyacétiques.

A. OXY-CÉTONES.



Isomère Ortho (17). R^1 45 0/0, liquide mobile, verdâtre, $E_{b9} = 119^\circ$; F. $10^\circ, 5-10^\circ, 6$; $D_{25} = 1,0683$; $n_D^{25,5} = 1,5375$.

Semicarbazone. Crist. incolores (alcool), F. $192-193^\circ$ (capillaire).

Analyse (18). — Subst., $0,87, 2148$; SO^4H^2 $n/10$, $9^{ce}, 65$. — Trouvé : N 0/0, 6,29. — Calculé pour $C^{11}H^{15}O^2N^3$: 6,33.

Isomère para (17). R^1 30 0/0. Solide blanc sol. dans les solv. organiques.

Crist. dans le benzène F. $91^\circ-91^\circ, 5$; distille à $187-188^\circ$ sous 9 mm.

Benzoate. Aig. incolores (alcool) F. $107-107^\circ, 5$.



Isomère ortho. R^1 56 0/0, liquide mobile, verdâtre, distillant à 130 sous 10 mm.; reste liquide malgré un long séjour à -18° ; $D_{25} = 1,0435$; $n_D^{25,5} = 1,5309$.

(17) COULTHARD, MARSHALL, PYMAN, *loc. cit.*

(18) Dosage de l'azote d'après VEIBEL, *Bull. Soc. chim.*, (4). 1927, t. 41, p. 1410.



1309 MÉMOIRES PRÉSENTÉS A LA SOCIÉTÉ CHIMIQUE.

Analyse (micro Liebig). — Subst., 3^{mg}, 125; CO₂, 8^{mg}, 478; H₂O, 2,245. — Trouvé : C 0/0, 73,98; H 0/0, 8,04. — Calculé pour C¹¹H¹⁴O₂ : C 0/0, 74,42; H 0/0, 7,92.

Semicarbazone. Crist. incolores (alcool), F. 204–204°,5 (capillaire).

Analyse. — Subst., 0^{gr}, 2723; SO⁴H²n/10 11^{cc}, 45. — Trouvé : N 0/0, 5,87. — Calculé pour C¹²H¹⁷O²N³ : 5,88.

Isomère para (17). R^t 29 0/0. Solide incolore, fusible (éther de pétrole) 63°; Eb₁₀ = 197°,5–198°,5.

Benzoate. Crist. incolores (alcool absolu) F. 92°.



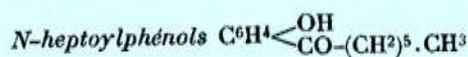
Isomère ortho (17). — R^t 56 0/0, liquide mobile, verdâtre Eb₁₀ = 142–143°; F. 17°,2–17°,4; D₂₀ = 1,0260; n_D^{20,5} = 1,5254.

Semicarbazone. Crist. incolores (alcool) F. 179° (bain de mercure).

Analyse. — Subst., 0^{gr}, 4064; SO⁴H²n/10 16^{cc}, 2. Trouvé : N 0/0, 5,58. — Calculé pour C¹³H¹⁹O²N³ : 5,62.

Isomère para (17). R^t 34 0/0. Solide incolore, F. 61° (benzène + éther de pétrole) Fb₁₀ = 207–208°.

Benzoate. Aig. incol. (alcool absolu), F. 105°,5.



Isomère Ortho (17). R^t 48 0/0, liquide verdâtre, Eb₁₀ = 155–156°; F. 9°,8; D₂₀ = 1,0110; n_D^{20,5} = 1,5209.

Semicarbazone. Crist. incolores (alcool), F. 162°. (Bain de mercure).

Analyse. — Subst., 0^{gr}, 3652; SO⁴H²n/10 13^{cc}, 9. — Trouvé : N 0/0, 5,32. — Calculé pour C¹⁴H²¹O²N³ : N/3 0/0, 5,32.

Isomère Para (17). R^t 41 0/0, solide blanc, crist. dans le benzène, F. 91°, 91°,5 (le point de fusion de ce corps est identique avec celui du parabutrylphénol, toutefois le mélange des deux cétones par parties égales, entraîne une dépression du point de fusion de 20° environ).

Benzoate. Crist. incolores, F. 96°,5–97° (alcool).

Acétate. — Obtenu par une heure d'ébullition avec l'anhydride acétique en présence d'une goutte de SO⁴H². On le purifie par redissolution dans l'éther et lavage à la soude diluée. Solide incolore, crist. dans l'éther de pétrole en tablettes brillantes, F. 46°,5, Eb₉ = 194–195°.



Isomère ortho. R^t 45 0/0, corps verdâtre, Eb₁₁ = 169–170°; cristallise aisément et fond à 22°,3; D₂₀ = 0,9989; n_D^{20,5} = 1,5169.

Analyse (micro Liebig). — Subst., 4^{mg}, 562; CO₂, 12,740; H₂O, 3,796. — Trouvé : C 0/0, 76,15; H 0/0, 9,29. — Calculé pour C¹⁴H²⁰O₂ : C 0/0, 76,31; H 0/0, 9,16.

Semicarbazone. Crist. incol. (alcool), F. 157–158° (bain de mercure).



G. SANDULESCO ET A. GIRARD.

1310

Analyse. — Subst., 0,2613; $\text{SO}^3\text{H}^2 n/10$ 9^{cc},45. — Trouvé : N 0/0, 5,06. — Calculé pour $\text{C}^{15}\text{H}^{23}\text{O}^2\text{N}^3$: N/3 0/0, 5,05.

Isomère Para. — R^t 38 0/0, très soluble dans la plupart des solvants, Crist. dans l'éther de pétrole léger en tables incolores, F. 62°; Eb₁₀ = 224-225°.

Analyse (micro Liebig). — Subst., 5^{mg},422; CO², 15,166; H²O, 4,470. — Trouvé : C 0/0, 76,26; H 0/0, 9,22. — Calculé pour $\text{C}^{14}\text{H}^{20}\text{O}^2$: C 0/0, 76,31; H 0/0, 9,16.

Benzoate. — Crist. incol., F. 107-108° (alcool).



Isomère Ortho. R^t 55 0/0. Gros crist. fondant à 18°4, distillant à 180 sous 10 mm. très solubles dans les solvants organiques, même l'éther de pétrole; D₂₀ = 0,9887; $n_D^{25,5} = 1,5139$.

Analyse. — Subst., 2^{mg},256; CO², 6,347; H²O, 1,854. — Trouvé : C 0/0, 76,72; H 0/0, 9,62. — Calculé pour $\text{C}^{15}\text{H}^{22}\text{O}^2$: C 0/0, 76,86; H 0/0, 9,47.

Semicarbazone. Crist incol., F. 164 (bain de mercure).

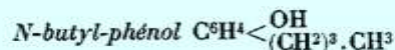
Analyse. — Subst., 0,1958; $\text{SO}^3\text{H}^2 n/10$ 6^{cc},75. — Trouvé : N 0/0, 4,82. — Calculé pour $\text{C}^{16}\text{H}^{25}\text{O}^2\text{N}^3$: N/3 0/0, 4,81.

Isomère para. R^t 35 0/0. Cristallise dans l'éther de pétrole léger en prismes rectangulaires incolores F. 54°5 très solubles dans les solvants usuels et distille à 232° sous 10 mm.

Analyse. — Subst., 5^{mg},999; CO², 16,851; H²O, 5,121. — Trouvé : C 0/0, 76,60; H 0/0, 9,55. — Calculé pour $\text{C}^{15}\text{H}^{22}\text{O}^2$: C 0/0, 76,86; H 0/0, 9,47.

Benzoate. Crist. incolores, F. 99°8 (alcool absolu).

B. ALCOYLPHÉNOLS.



Isomère Ortho. Rendement de la réduction : 83 0/0 (en prés. d'acide acétique) liquide incolore ayant une faible odeur de créosote, Eb₁₀ = 109°5-110°; D₂₀ = 0,9774; $n_D^{25,5} = 1,5180$.

Acide phénoxyacétique. Aig. incol. F. 105°5 (éther de pétrole).

Isomère Para. R^t 86 0/0 (sans acide acétique). Cristallise aisément et fond à 22°; $n_D^{25,5} = 1,5165$; $n_D^{45,5} = 1,5082$.

Benzoate. Cristallise en aiguilles fondant à 27°.



Isomère ortho. — R^t 72 0/0 (en prés. d'acide acétique; liquide incolore et inodore à froid, incristallisable à -20°; D₂₀ = 0,9635; $n_D^{25,5} = 1,5132$.

Acide phénoxyacétique. Crist. de l'éther de pétrole en aig. soyeuses, F. 77°-77°5.

Isomère para. R^t 79 0/0. Corps blanc, inodore, F. 23, très soluble



1311 MÉMOIRES PRÉSENTÉS A LA SOCIÉTÉ CHIMIQUE.

dans les solvants organiques, sauf l'éther de pétrole à froid, $Eb_{10} = 134-136^{\circ}$; $n_D^{25,5} = 1,5119$; $n_D^{45,5} = 1,5038$.

Benzoate. Crist. dans l'alcool absolu en fines paillettes, F. $51^{\circ}-51^{\circ},5$.



Isomère ortho. R¹ 80 0/0 (en présence d'acide acétique); F. -2° ; $Eb_{10} = 135-136^{\circ}$; $D_{23} = 0,9524$; $n_D^{25,5} = 1,5089$.

Acide phénoxyacétique. Aig. inc. crist. dans l'éther de pétrole, F. $89^{\circ},5-90^{\circ}$. — Titrage acidimétrique dans l'alcool, en présence de phtaléine : Subst., 0,1681 trouve $7^{cc},1 NaOH n/10$; calculé pour $C^{14}H^{20}O^3$: $7^{cc},1$.

Isomère para (17). — R¹ 77 0/0; solide incolore F. 28° ; $Eb_{10} = 146-147^{\circ}$; $n_D^{45,5} = 1,4996$.

Benzoate. Très soluble dans les solvants, F. $26^{\circ},5$.

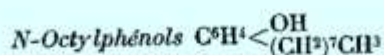


Isomère ortho (17). R¹ 90 0/0 (ac. acétique); liquide incolore, $Eb_{10} = 147-148^{\circ}$; F. $+3^{\circ}$; $D_{23} = 0,9432$; $n_D^{25,5} = 1,5058$.

Acide phénoxyacétique. Crist. incol. (éther de pétrole), F. $71^{\circ},5$. — Titrage acidimétrique : P. M. trouvé : 252. — Calculé : 250.

Isomère para (17). R¹ 73 0/0. Solide incolore $Eb_9 = 157^{\circ}$; F. 26° , très soluble dans les solvants, $n_D^{45,5} = 1,4969$.

Benzoate. — F. $40^{\circ},5-41^{\circ}$ (alcool).



Isomère ortho. R¹ 79 0/0. Corps blanc, F. $18^{\circ}-18^{\circ},5$; $Eb_{11} = 160-162^{\circ}$; $D_{23} = 0,9362$; $n_D^{25,5} = 1,5029$.

Acide phénoxyacétique. Aig. soyeuses, F. $88^{\circ}-88^{\circ},5$. — Titrage acidimétrique : Subst., 0,3170, exige $12^{cc},0 NaOH n/10$. — Trouvé : 11,9.

Isomère para. — R¹ 85 0/0. Solide blanc, F. $41-42^{\circ}$; $Eb_{10} = 169^{\circ}$; $n_D^{45,5} = 1,4938$.

Benzoate (alcool). F. $40^{\circ},5$.



Isomère ortho. R¹ 85 0/0. $Eb_{13} = 176-177^{\circ}$; F. $19^{\circ},5$; $D_{23} = 0,9309$; $n_D^{25,5} = 1,5005$.

Acide phénoxyacétique. Crist. inc., F. $75^{\circ},5$ (éther de pétrole). — Titrage acidimétrique : Subst., 0,1651. — Trouvé : $NaOH n/10 5^{cc},8$. Calculé : 5,9.

Isomère para. R¹ 80 0/0. Solide blanc, F. $42^{\circ},5$; $Eb_{10} = 180-181^{\circ}$, très soluble dans les solvants organiques, $n_D^{45,5} = 1,4920$.

Benzoate. F. $36^{\circ},2$ (alcool).



G. SANDULESCO ET A. GIRARD.

1312

Alcoylphénols	Points d'ébullition	Points de fusion	Densités	Indices de réfraction à 20°	Points de fusion des benzates	Indices de réfraction à 45°	Points de fusion des acides phénoxyacétiques
<i>o-n</i> -Butylphénol.	$E_{b_{10}} = 109,5-110^{\circ}$	Reste liquide à -20°	$D_{23} = 0,9774$	1,5180	"	"	$105^{\circ}5$
<i>p-n</i> -Butylphénol.	$E_{b_{11}} = 125-126^{\circ}$	+ 22°	"	1,5165	27°	1,5082	"
<i>o-n</i> -Pentylphénol.	$E_{b_{10}} = 122-124^{\circ}$	Reste liquide à -20°	$D_{23} = 0,9635$	1,5132	"	"	$77-77^{\circ}5$
<i>p-n</i> -Pentylphénol.	$E_{b_{10}} = 134-136^{\circ}$	+ 23°	"	1,5119	$51-51^{\circ}5$	1,5038	"
<i>o-n</i> -Hexylphénol.	$E_{b_{10}} = 135-136^{\circ}$	Point de solidification -2°	$D_{23} = 0,9524$	1,5089	"	"	$89,5-90^{\circ}$
<i>p-n</i> -Hexylphénol.	$E_{b_{10}} = 146-147^{\circ}$	+ 28°	"	"	$26^{\circ}5$	1,4996	"
<i>o-n</i> -Heptylphénol.	$E_{b_{10}} = 147-148^{\circ}$	+ 2 à $+3^{\circ}$	$D_{23} = 0,9432$	1,5058	"	"	$71^{\circ}5$
<i>p-n</i> -Heptylphénol.	$E_{b_9} = 157^{\circ}$	+ 26°	"	"	$40,5-41^{\circ}$	1,4969	"
<i>o-n</i> -Octylphénol.	$E_{b_{11}} = 160-162^{\circ}$	+ 18 à $+18^{\circ}5$	$D_{23} = 0,9362$	1,5029	"	"	$88-88^{\circ}5$
<i>p-n</i> -Octylphénol.	$E_{b_{10}} = 169^{\circ}$	Point de solidification + 41 à 42°	"	"	$40^{\circ}5$	1,4938	"
<i>o-n</i> -Nonylphénol.	$E_{b_{13}} = 176-177^{\circ}$	+ 19 à 20°	$D_{23} = 0,9309$	1,5005	"	"	$75^{\circ}5$
<i>p-n</i> -Nonylphénol.	$E_{b_{10}} = 180-181^{\circ}$	Point de solidification + $42^{\circ}5$	"	"	$36^{\circ}2$	1,4920	"



1313

MÉMOIRES PRÉSENTÉS A LA SOCIÉTÉ CHIMIQUE.

Acyphénols	Points d'ébullition	Points de fusion	Densités	Indices de réfraction à 25°5	Points de fusion des benzozates	Points de fusion des semicarbazones
<i>o-n</i> -Butyrylphénol	Eb ₉ = 119°	10, 5-10° 6	D ₂₄ — 1, 0683	1, 5375	"	192-193° Capillaire
<i>p-n</i> -Butyrylphénol	Eb ₉ = 187-188°	91-91° 5	"	"	107-107° 5	"
<i>o-n</i> -Valérylphénol	Eb ₁₀ = 130°	Reste liquide à — 12°	D ₂₄ — 1, 0435	1, 5309	"	204-205° Capillaire
<i>p-n</i> -Valérylphénol	Eb ₁₀ = 197, 5-198° 5	63°	"	"	92°	"
<i>o-n</i> -Caproylphénol	Eb ₁₀ = 142-143°	17, 2-17° 4	D ₂₄ — 1, 0280	1, 5254	"	179° Bain de mercure
<i>p-n</i> -Caproylphénol	Eb ₁₀ = 207-208°	61°	"	"	105° 5	"
<i>o-n</i> -Heptoylphénol	Eb ₁₀ = 155-156°	9° 8	D ₂₄ — 1, 0110	1, 5209	"	162° Bain de mercure
<i>p-n</i> -Heptoylphénol	Eb ₉ = 214°	91-91° 5	"	"	96, 5-97°	"
<i>o-n</i> -Octoylphénol	Eb ₁₄ = 169-170°	22° 3	D ₂₄ — 0, 9989	1, 5169	"	157-158° Bain de mercure
<i>p-n</i> -Octoylphénol	Eb ₁₀ = 242-225°	62°	"	"	107-108°	"
<i>o-n</i> -Nonoylphénol	Eb ₁₀ = 180°	18° 4	D ₂₄ — 0, 9887	1, 5139	"	164° Bain de mercure
<i>p-n</i> -Nonoylphénol	Eb ₁₀ = 232°	54° 5	"	"	99, 8-100°	"



Résumé.

Nous avons trouvé que la méthode de choix pour l'obtention des oxycétones aromatiques, consistait à faire réagir les chlorures d'acides sur le phénol libre, en présence de la quantité moléculaire de chlorure d'aluminium, sans emploi de solvant.

L'opération se conduit en deux temps : préparation préalable d'un phénolate chloroaluminique Ar-O-AlCl_2 , sur lequel on fait réagir, sans précautions, le chlorure d'acide.

Les orthoxycétones sont ainsi obtenues d'une manière prédominante.

En outre, nous avons observé que la réduction de ces derniers corps, selon Clemmensen, est considérablement facilitée par le travail dans un milieu riche en acide acétique.

Nous avons préparé tous les termes des ortho et paraoxycétones à chaînes normales, de C^4 à C^9 , leurs produits de réduction ; les alcoylphénols et une série de dérivés cristallisés permettant leur caractérisation.

Nous résumons, dans un tableau annexé à ce mémoire, toutes les constantes physiques que nous avons trouvées.

EXTRAIT DU *Bulletin de la Société chimique de France*,
4^e série, t. 47, p. 1300 ; 1930.



4. 29.2.1932 Sur une nouvelle hormone sexuelle cristallisée retirée de l'urine des juments gravides.

CHIMIE BIOLOGIQUE. — *Sur une nouvelle hormone sexuelle cristallisée retirée de l'urine des juments gravides*. Note (1) de MM. A. GIRARD, G. SANDULESCO, A. FRIDENSON et M. IR. J. J. RUTGERS.

La découverte de Zondek, démontrant le passage des hormones sexuelles dans l'urine des femmes enceintes, a été le point de départ d'une importante série des travaux chimiques qui ont abouti à l'isolement de la folliculine cristallisée [Butenandt (2), Doisy (3)]. Cette substance est une oxycétone de formule $C^{18}H^{32}O^3$. Marrian (4) a découvert une deuxième substance $C^{18}H^{34}O^3$, elle-même étroitement apparentée à la folliculine; une tonne d'urine de femme, après épuisement par 5000^{cc} de chloroforme, produit en moyenne 60^{cc} de folliculine et 0^{cc},6 de corps de Marrian.

Zondek a fait connaître que l'urine des juments gravides était beaucoup plus riche en substances œstrogènes que celle des femmes enceintes.

C'est à la suite de cette constatation que nous entreprîmes l'extraction des hormones sexuelles à partir de cette matière première.

Avant son épuisement aux solvants, l'urine doit être soumise à une hydrolyse acide, qui a pour effet de détruire une combinaison fragile, hydrosoluble, des hormones. L'extraction des hormones à partir de l'extrait total a été conduite en suivant, dans leurs grandes lignes, les techniques opératoires publiées par Butenandt et Doisy (*loc. cit.*). Les hormones se séparent sous forme d'une masse brune résineuse que l'on purifie par des cristallisations répétées dans l'alcool.

Les eaux mères alcooliques sont traitées pendant un quart d'heure à l'ébullition, par la semi-carbazide. Par refroidissement les semi-carbazones, presque totalement insolubles dans l'alcool, se séparent. Après hydrolyse acide, elles fournissent une nouvelle quantité d'oxycétones qui est jointe à la portion principale.

Les cristallisats ainsi obtenus, dont l'activité physiologique s'était révélée presque aussi grande que celle de la folliculine humaine pure, en différaient

(1) Séance du 29 février 1932.

(2) A. BUTENDANT, *Untersuchungen über das weibliche Sexualhormon*, Weidmannsche Buchhandlung, Berlin, 1931.

(3) *Journ. biol. Chemistry*, 87, 1930, p. 357; 91, 1931, p. 791.

(4) MARRIAN, *Bioch. Jn.*, 24, 1930, p. 435.



(2)

cependant par un point de fusion très imprécis et surtout un pouvoir rotatoire notablement plus élevé.

En soumettant la substance à une longue série de cristallisations fractionnées dans l'alcool, nous sommes parvenus à la diviser en trois groupes de fractions :

1° Une fraction de tête de très faible solubilité et de pouvoir rotatoire voisin de $(\alpha)_D = +170^\circ$.

2° Des fractions de cœur, plus solubles dont le pouvoir rotatoire spécifique était compris entre $+230^\circ$ et $+260^\circ$.

3° Des fractions de queue de solubilité assez grande dont le pouvoir rotatoire descendait jusqu'à $+140^\circ$.

L'étude polarimétrique de ces diverses fractions révélait ainsi l'existence d'au moins trois corps différents, dont nous avons entrepris la séparation.

La fraction $(\alpha)_D = +170^\circ$, de beaucoup la plus abondante, était constituée par la folliculine elle-même. Après cinq recristallisations dans l'alcool méthylique, l'éther acétique, le dioxane, ses constantes physiques s'établirent ainsi :

$(\alpha)_D^{25} = +163^\circ$ (en solution à 1 pour 100 dans le dioxane); F. 259° - 260° (corr.); semi-carbazone : F. 266° - 267° (corr.); oxime : F. 241° - 242° ; benzoate $(\alpha)_D^{25} = +128^\circ$ (à 1 pour 100 dans le dioxane); F. 218° - 219° (corr.); éther oxyde méthylique : F. 173° - 174° (corr.).

M. Gaudefroy, qui a eu l'obligeance d'effectuer pour nous l'étude cristallographique, reconnut que la substance pouvait exister sous deux modifications cristallines différentes, l'une appartenant au système orthorhombique, l'autre au système monoclinique; cette dernière était en tous points identique à la theeline de Doisy étudiée au point de vue cristallographique par Slawson (¹).

Les fractions dont le pouvoir rotatoire était intermédiaire entre $+170^\circ$ et $+240^\circ$ purent être enrichies systématiquement par des épuisements répétés à l'éther froid; les éthers réunis furent ensuite distillés progressivement. La substance nouvelle se concentrait dans les eaux mères finales. Il fut ainsi possible de réunir à partir de sept tonnes d'urine de jument, 1^{re} environ d'une fraction possédant un pouvoir rotatoire supérieur à 250° mais qui fondait encore sur un grand intervalle de degrés.

La majeure partie de la nouvelle substance restait dans les fractions intermédiaires.

(¹) SLAWSON, *Journ. biol. Chemistry*: **87**, 1930, p. 373.



(3)

Les traitements à l'éther, même répétés, ne permirent pas de pousser plus avant la purification de l'oxycétone à pouvoir rotatoire élevé, par contre ce but fut atteint par l'emploi de l'éther acétique. Mais, tandis qu'avec l'éther la fraction restée dissoute se montrait la plus riche en corps nouveau, ce fut l'inverse avec l'éther acétique.

On procéda alors par cristallisations simples et l'on recueillit ainsi après un grand nombre d'opérations 100^{ms} environ d'un corps dont le pouvoir rotatoire ne s'élevait plus et qui fondait sur 2°.

$(\alpha)_D^{20} = +308^\circ$ (en solution à 1 pour 100 dans le dioxane). F. 238°-240° (corr.) (en tube capillaire par immersion instantanée).

Les propriétés physiques de ce nouveau corps sont extrêmement voisines de celles de la folliculine, toutefois il se montre un peu plus soluble que cette dernière dans tous les solvants; comme elle, il se sublime avec facilité dans le vide profond entre 170° et 200°.

Les propriétés chimiques, de même, se confondent complètement avec celles de la folliculine, et le nouveau corps se prête avec la même facilité à l'obtention de tous les dérivés connus de l'hormone ovarienne.

La discussion des analyses, l'étude cristallographique, l'étude du spectre d'absorption dans l'ultraviolet, la description des dérivés, la mesure de l'activité physiologique (qui paraît nettement inférieure à celle de la folliculine) feront l'objet d'un prochain Mémoire.

Pour rappeler à la fois l'origine équine de cette nouvelle hormone et son étroite parenté avec la folliculine, nous proposons de la désigner désormais sous le nom d'équiline.

(Extrait des *Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences*,
t. 194, p. 909, séance du 7 mars 1932.)



Cette communication a été publiée, à son époque, dans Gallica. Académie des sciences. Comptes rendus hebdomadaires des séances. 1932. Tome 194. Pages 909, 910, 911.

[ark:/12148/cb343481087/date](https://nbn-resolving.org/urn:nbn:fr:gallica-ark:/12148/cb343481087/date)

SÉANCE DU 7 MARS 1932.

909

CHIMIE BIOLOGIQUE. — *Sur une nouvelle hormone sexuelle cristallisée retirée de l'urine des juments gravides*. Note ⁽¹⁾ de MM. **A. GIRARD**, **G. SANDULESCO**, **A. FRIDENSON** et **M. IR. J. J. RUTGERS**, transmise par M. R. Fosse.

La découverte de Zondek, démontrant le passage des hormones sexuelles dans l'urine des femmes enceintes, a été le point de départ d'une importante série des travaux chimiques qui ont abouti à l'isolement de la folliculine cristallisée [Butenandt ⁽²⁾, Doisy ⁽³⁾]. Cette substance est une oxycétone de formule $C^{18}H^{32}O^3$. Marrian ⁽⁴⁾ a découvert une deuxième substance $C^{18}H^{34}O^3$, elle-même étroitement apparentée à la folliculine; une tonne d'urine de femme, après épuisement par 5000^{cc} de chloroforme, produit en moyenne 60^{mg} de folliculine et 0^g,6 de corps de Marrian.

Zondek a fait connaître que l'urine des juments gravides était beaucoup plus riche en substances œstrogènes que celle des femmes enceintes.

C'est à la suite de cette constatation que nous entreprîmes l'extraction des hormones sexuelles à partir de cette matière première.

Avant son épuisement aux solvants, l'urine doit être soumise à une hydrolyse acide, qui a pour effet de détruire une combinaison fragile, hydrosoluble, des hormones.

⁽¹⁾ Séance du 29 février 1932.

⁽²⁾ A. BUTENDANT, *Untersuchungen über das weibliche Sexualthormon*, Weidmannsche Buchhandlung, Berlin, 1931.

⁽³⁾ *Journ. biol. Chemistry*, 87, 1930, p. 357; 91, 1931, p. 791.

⁽⁴⁾ MARRIAN, *Bioch. Jn.*, 24, 1930, p. 435.



L'extraction des hormones à partir de l'extrait total a été conduite en suivant, dans leurs grandes lignes, les techniques opératoires publiées par Butenandt et Doisy (*loc. cit.*). Les hormones se séparent sous forme d'une masse brune résineuse que l'on purifie par des cristallisations répétées dans l'alcool.

Les eaux mères alcooliques sont traitées pendant un quart d'heure à l'ébullition, par la semi-carbazide. Par refroidissement les semi-carbazones, presque totalement insolubles dans l'alcool, se séparent. Après hydrolyse acide, elles fournissent une nouvelle quantité d'oxycétones qui est jointe à la portion principale.

Les cristallisats ainsi obtenus, dont l'activité physiologique s'était révélée presque aussi grande que celle de la folliculine humaine pure, en différaient cependant par un point de fusion très imprécis et surtout un pouvoir rotatoire notablement plus élevé.

En soumettant la substance à une longue série de cristallisations fractionnées dans l'alcool, nous sommes parvenus à la diviser en trois groupes de fractions :

1° Une fraction de tête de très faible solubilité et de pouvoir rotatoire voisin de $(\alpha)_D = +170^\circ$.

2° Des fractions de cœur, plus solubles dont le pouvoir rotatoire spécifique était compris entre $+230^\circ$ et $+260^\circ$.

3° Des fractions de queue de solubilité assez grande dont le pouvoir rotatoire descendait jusqu'à $+140^\circ$.

L'étude polarimétrique de ces diverses fractions révélait ainsi l'existence d'au moins trois corps différents, dont nous avons entrepris la séparation.

La fraction $(\alpha)_D = +170^\circ$, de beaucoup la plus abondante, était constituée par la folliculine elle-même. Après cinq recristallisations dans l'alcool méthylique, l'éther acétique, le dioxane, ses constantes physiques s'établirent ainsi :

$(\alpha)_D^{25} = +163^\circ$ (en solution à 1 pour 100 dans le dioxane); F. $259^\circ-260^\circ$ (corr.); semi-carbazone : F. $266^\circ-267^\circ$ (corr.); oxime : F. $241^\circ-242^\circ$; benzoate $(\alpha)_D^{25} = +128^\circ$ (à 1 pour 100 dans le dioxane); F. $218^\circ-219^\circ$ (corr.); éther oxyde méthylique : F. $173^\circ-174^\circ$ (corr.).

M. Gaudefroy, qui a eu l'obligeance d'effectuer pour nous l'étude cristallographique, reconnut que la substance pouvait exister sous deux modifications cristallines différentes, l'une appartenant au système orthorhombique, l'autre au système monoclinique; cette dernière était en tous points identique à la theeline de Doisy étudiée au point de vue cristallographique par Slawson (1).

(1) SLAWSON, *Journ. biol. Chemistry*, 87, 1930, p. 373.



SÉANCE DU 7 MARS 1932.

911

Les fractions dont le pouvoir rotatoire était intermédiaire entre $+170^\circ$ et $+240^\circ$ purent être enrichies systématiquement par des épuisements répétés à l'éther froid; les éthers réunis furent ensuite distillés progressivement. La substance nouvelle se concentrait dans les eaux mères finales. Il fut ainsi possible de réunir à partir de sept tonnes d'urine de jument, 1^{re} environ d'une fraction possédant un pouvoir rotatoire supérieur à 250° mais qui fondait encore sur un grand intervalle de degrés.

La majeure partie de la nouvelle substance restait dans les fractions intermédiaires.

Les traitements à l'éther, même répétés, ne permirent pas de pousser plus avant la purification de l'oxycétone à pouvoir rotatoire élevé, par contre ce but fut atteint par l'emploi de l'éther acétique. Mais, tandis qu'avec l'éther la fraction restée dissoute se montrait la plus riche en corps nouveau, ce fut l'inverse avec l'éther acétique.

On procéda alors par cristallisations simples et l'on recueillit ainsi après un grand nombre d'opérations 100^{ms} environ d'un corps dont le pouvoir rotatoire ne s'élevait plus et qui fondait sur 2° .

$(\alpha)_D^{25} = +308^\circ$ (en solution à 1 pour 100 dans le dioxane). F. $238^\circ-240^\circ$ (corr.) (en tube capillaire par immersion instantanée).

Les propriétés physiques de ce nouveau corps sont extrêmement voisines de celles de la folliculine, toutefois il se montre un peu plus soluble que cette dernière dans tous les solvants; comme elle, il se sublime avec facilité dans le vide profond entre 170° et 200° .

Les propriétés chimiques, de même, se confondent complètement avec celles de la folliculine, et le nouveau corps se prête avec la même facilité à l'obtention de tous les dérivés connus de l'hormone ovarienne.

La discussion des analyses, l'étude cristallographique, l'étude du spectre d'absorption dans l'ultraviolet, la description des dérivés, la mesure de l'activité physiologique (qui paraît nettement inférieure à celle de la folliculine) feront l'objet d'un prochain Mémoire.

Pour rappeler à la fois l'origine équine de cette nouvelle hormone et son étroite parenté avec la folliculine, nous proposons de la désigner désormais sous le nom d'équiline.



5. c.r. 194. 1932. p.909 Sur les hormones sexuelles cristallisées retirées de l'urine des juments gravides.

CHIMIE BIOLOGIQUE. — Sur les hormones sexuelles cristallisées retirées de l'urine des juments gravides. Note de MM. A. GERARD, G. SANDULESCO, A. FRIDENSON, C. GAUDEPROY et IN. J. J. RUTGERS.

Nous avons mis en évidence (1) dans les urines des juments gravides l'existence de deux nouveaux corps cristallins à caractère d'hormones, accompagnant la folliculine.

Nous avons poursuivi l'étude de ces trois substances.

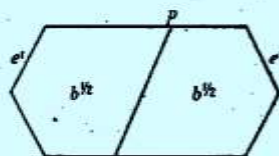
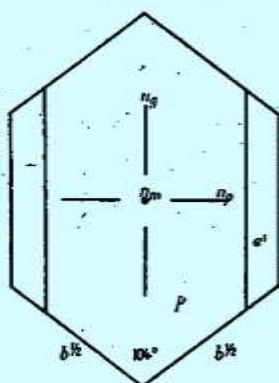


Fig. 1. — Folliculine, modification orthorhombique.

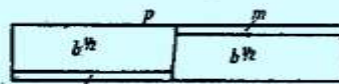
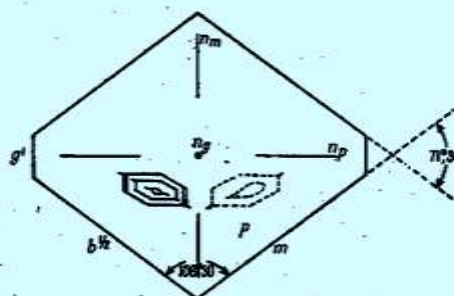


Fig. 2. — Équiline.

Description cristallographique de l'équiline et de la folliculine (C. GAUDEPROY). — Les cristaux d'équiline (fig. 2) qui se déposent d'une solution

(1) *Comptes rendus*, 194, 1932, p. 909.

(2)

dans l'éther acétique sont transparents, fluorescents en violet clair dans l'ultraviolet de Wood, se présentent en paillettes ou en tables losangiques souvent tronquées aux angles aigus.

Ils sont du système orthorhombique avec l'hémiédrie énantiomorphe. Les faces observées sont $p\{001\}$ dominantes, $1/2 b^{1/2}$ ou $1/2 \{\bar{1}\bar{1}\bar{1}\}$ (sphénoïde inverse), $g'\{010\}$, $m\{110\}$ petites et parfois $h'\{100\}$.

Les principaux angles sont :

$$m : m = 108^\circ 30' \pm 10' \quad \text{et} \quad m : b^{1/2} = 168^\circ 33' \pm 10';$$

les paramètres sont $a : b : c = 0,720 \pm 0,005 : 1 : 2,88 \pm 0,01$.

Les indices de réfraction sont

$$\begin{aligned} n_g &= 1,705 \pm 0,005 && \text{suivant } Ox; \\ n_m &= 1,677 \pm 0,005 && \text{suivant } Ox; \\ n_p &= 1,534 \pm 0,003 && \text{suivant } Oy, \end{aligned}$$

bissectrice aiguë. L'angle apparent des axes est voisin de 70° .

Clivage h' distinct, fragile.

L'équiline se distingue de la folliculine par ses propriétés cristallographiques et optiques. Tandis que l'équiline n'est connue que sous la forme orthorhombique, la folliculine est dimorphe : monoclinique ⁽¹⁾ par précipitation dans l'alcool dilué, orthorhombique dans l'alcool méthylique pur. La modification monoclinique se transforme en l'orthorhombique par fusion ou sublimation.

La modification orthorhombique de la folliculine (*fig. 1*) se distingue de l'équiline d'abord par sa forme en tables épaisses hexagonales, biseautées sur deux de ses bords parallèles à une direction de symétrie.

Les faces observées sont : $p\{001\}$ dominantes, $c'\{011\}$, $1/2 b^{1/2}$ ou $1/2 \{\bar{1}\bar{1}\bar{1}\}$ (sphénoïde inverse). Les paramètres sont :

$$a : b : c = 0,776 \pm 0,002 : 1 : 1,626 \pm 0,004.$$

Les indices sont : $n_g = 1,701 \pm 0,005$ suivant Ox ; $n_m = 1,615 \pm 0,003$ suivant Ox ; $n_p = 1,520 \pm 0,003$ suivant Oy .

Le signe optique est négatif comme pour l'équiline, mais l'angle apparent des axes optiques, voisin de 120° , ne permet pas de voir les pôles des deux axes à la fois comme dans l'équiline.

Enfin la folliculine orthorhombique a deux clivages p , h' distincts, tandis que l'équiline n'en a qu'un ⁽²⁾.

(¹) SLAWSON, *Journ. biol. Chem.*, 87, 1930, p. 373.

(²) Une description plus détaillée des deux corps sera faite dans un autre recueil.



(3)

Équiline. — La formule de cette nouvelle hormone est très probablement $C^{18}H^{20}O^2$. Le corps, qui possède les mêmes groupements fonctionnels que la folliculine, s'en différencie au point de vue chimique par une double liaison supplémentaire mise en évidence par bromuration suivant la technique de Rosenmund.

Analyse (moyenne de 7 combustions) (RUTGERS):

Trouvé: C pour 100, 80,07; H pour 100, 7,52. Calculé pour $C^{18}H^{20}O^2$: C pour 100, 80,55; H pour 100, 7,52.

Semi-carbazone: Aiguilles microscopiques (pyridine). F. 265-267° (corr.) (capill. immers. inst.). Très peu soluble dans l'alcool.

Oxime: Aiguilles prismatiques microscopiques (alcool dilué). F. 221-223° (corr.) en brunissant (tube capill. immers. inst.).

Dérivé benzoylé: Tablettes rectangulaires brillantes (alcool). F. 197-198° (corr.) (bain de mercure). Analyse (moyenne de deux combustions). Trouvé: C pour 100, 80,48; H pour 100, 6,55. Calculé pour $C^{28}H^{24}O^3$: C pour 100, 80,60; H pour 100, 6,50.

L'équiline est aisément sublimable dans le vide profond entre 170 et 200° et paraît posséder la même tension de vapeur que la folliculine.

Le spectre d'absorption dans l'ultraviolet est tout à fait analogue à celui de la folliculine donné par Butenandt; il présente en solution alcoolique un maximum au voisinage de 2840 UA et un minimum au voisinage de 2500 UA. L'absorption augmente ensuite très rapidement dans l'ultraviolet.

Activité physiologique. — Pouvoir œstrogène sept fois inférieur à celui de la folliculine chez le rat adulte castré.

La nouvelle hormone provoque avec la même netteté l'ouverture prématurée du vagin des rats impubères suivant la technique de Doisy mais vis-à-vis de ce test particulier son activité est seulement inférieure de un tiers à celle de la folliculine.

Par des cristallisations répétées dans l'alcool méthylique des fractions les plus solubles et de faible pouvoir rotatoire $(\alpha)_D + 145^\circ$ nous sommes parvenus à isoler à l'état de pureté une troisième hormone cristallisée qui semble répondre à la formule $C^{18}H^{20}O^2$ et serait ainsi un isomère de l'équiline, dont elle se différencie nettement par sa cristallisation en aiguilles et son pouvoir rotatoire spécifique faible $(\alpha)_D = +128^\circ$ (à 1 pour 100 dans le dioxane). Elle fond à 233° (corr.).

Elle fixe le brome avec moins de facilité que l'équiline. Elle se sublime sans altération. La semi-carbazone est remarquable par son aspect gélatineux, se résolvant finalement en très fines aiguilles microscopiques.

Nous proposons pour cette nouvelle hormone sous le nom d'hippuline.



(4)

Analyse : *a.* Subst., 4^{mg}, 798; CO₂, 14^{mg}, 178; H₂O, 3^{mg}, 212; Trouvé : C pour 100, 80,58; H pour 100, 7,49. *b.* Subst., 3^{mg}, 812; CO₂, 11^{mg}, 228; H₂O, 2^{mg}, 550. Trouvé : C pour 100, 80,32; H pour 100, 7,49. Calculé pour C¹⁸H²⁰O² : C pour 100, 80,55; H pour 100, 7,52.

L'activité œstrogène de l'hippuline est approximativement la même que celle de l'équiline.

(Extrait des *Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences*,
t. 194, p. 1020, séance du 14 mars 1932.)

GAUTHIER-VILLARS, IMPRIMEUR-LIBRAIRE DES COMPTES RENDUS DES SÉANCES DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES.
93948-31 Paris. — Quai des Grands-Augustins, 55.



Cette communication a été publiée, à son époque, dans *Gallica. Académie des sciences. Comptes rendus hebdomadaires des séances*. 1932. Tome 194. Pages 1020, 1021, 1022.

[ark:/12148/cb343481087/date](https://nbn-resolving.org/urn:nbn:fr:gallica-1020-1021-1022)

SÉANCE DU 14 MARS 1932.

1020

ACADÉMIE DES SCIENCES.

CHIMIE BIOLOGIQUE. — *Sur les hormones sexuelles cristallisées retirées de l'urine des juments gravides*. Note de MM. A. GIRARD, G. SANDULESCO, A. FRIDENSON, C. GAUDEFROY et Dr. J. J. RUTGERS, présentée par M. R. Fosse.

Nous avons mis en évidence ⁽¹⁾ dans les urines des juments gravides l'existence de deux nouveaux corps cristallins à caractère d'hormones, accompagnant la folliculine.

Nous avons poursuivi l'étude de ces trois substances.

Description cristallographique de l'équiline et de la folliculine (C. GAUDEFROY). — Les cristaux d'équiline (*fig. 2*) qui se déposent d'une solution

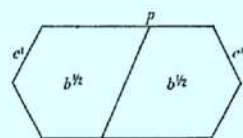
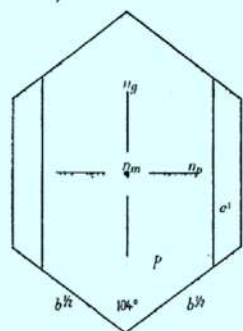


Fig. 1. — Folliculine, modification orthorhombique.

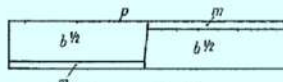
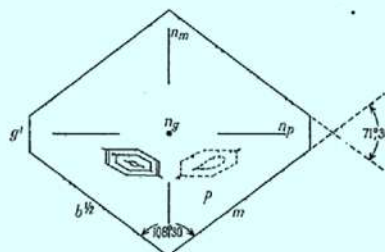


Fig. 2. — Équiline.

dans l'éther acétique sont transparents, fluorescents en violet clair dans l'ultraviolet de Wood, se présentent en paillettes ou en tables losangiques souvent tronquées aux angles aigus.

Ils sont du système orthorhombique avec l'hémiédrie énantiomorphe. Les faces observées sont $p\{001\}$ dominantes, $1/2 b^{1/2}$ ou $1/2 \{111\}$ (sphénoïde inverse), $g^1\{010\}$, $m\{110\}$ petites et parfois $h^1\{100\}$.

⁽¹⁾ *Comptes rendus*, 194, 1932, p. 909.



SÉANCE DU 14 MARS 1932.

1021

Les principaux angles sont :

$$m : m = 108^{\circ} 30' \pm 10' \quad \text{et} \quad m : b'' = 168^{\circ} 33' \pm 10';$$

les paramètres sont $a : b : c = 0,720 \pm 0,005 : 1 : 2,88 \pm 0,01$.

Les indices de réfraction sont

$$\begin{aligned} n_g &= 1,705 \pm 0,005 && \text{suivant } Oz; \\ n_m &= 1,677 \pm 0,005 && \text{suivant } Ox; \\ n_p &= 1,534 \pm 0,003 && \text{suivant } Oy, \end{aligned}$$

bissectrice aiguë. L'angle apparent des axes est voisin de 70° .Clivage h' distinct, fragile.

L'équiline se distingue de la folliculine par ses propriétés cristallographiques et optiques. Tandis que l'équiline n'est connue que sous la forme orthorhombique, la folliculine est dimorphe : monoclinique ⁽¹⁾ par précipitation dans l'alcool dilué, orthorhombique dans l'alcool méthylique pur. La modification monoclinique se transforme en l'orthorhombique par fusion ou sublimation.

La modification orthorhombique de la folliculine (*fig. 1*) se distingue de l'équiline d'abord par sa forme en tables épaisses hexagonales, biseautées sur deux de ses bords parallèles à une direction de symétrie.

Les faces observées sont : $p\{001\}$ dominantes, $d'\{011\}$, $1/2 b''$ ou $1/2 \{\bar{1}\bar{1}\bar{1}\}$ (sphénoïde inverse). Les paramètres sont :

$$a : b : c = 0,776 \pm 0,003 : 1 : 1,626 \pm 0,004.$$

Les indices sont : $n_g = 1,701 \pm 0,005$ suivant Ox ; $n_m = 1,615 \pm 0,003$ suivant Oz ; $n_p = 1,520 \pm 0,003$ suivant Oy .

Le signe optique est négatif comme pour l'équiline, mais l'angle apparent des axes optiques, voisin de 120° , ne permet pas de voir les pôles des deux axes à la fois comme dans l'équiline.

Enfin la folliculine orthorhombique a deux clivages p , h' distincts, tandis que l'équiline n'en a qu'un ⁽²⁾.

Équiline. — La formule de cette nouvelle hormone est très probablement $C^{18}H^{22}O^2$. Le corps, qui possède les mêmes groupements fonctionnels que la folliculine, s'en différencie au point de vue chimique par une double liaison supplémentaire mise en évidence par bromuration suivant la technique de Rosenmund.

⁽¹⁾ SLAWSON, *Journ. biol. Chem.*, 87, 1930, p. 373.

⁽²⁾ Une description plus détaillée des deux corps sera faite dans un autre recueil.



Analyse (moyenne de 7 combustions) (Rørgens) :

Trouvé : C pour 100, 80,07; H pour 100, 7,52. Calculé pour $C^{18}H^{22}O^2$: C pour 100, 80,55; H pour 100, 7,52.

Semi-carbazone : Aiguilles microscopiques (pyridine). F. 265-267° (corr.) (capill. immers. inst.). Très peu soluble dans l'alcool.

Oxime : Aiguilles prismatiques microscopiques (alcool dilué). F. 221-223° (corr.) en brunissant (tube capill. immers. inst.).

Dérivé benzoylé : Tablettes rectangulaires brillantes (alcool). F. 197-198° (corr.) (bain de mercure). Analyse (moyenne de deux combustions). Trouvé : C pour 100, 80,48; H pour 100, 6,55. Calculé pour $C^{22}H^{24}O^2$: C pour 100, 80,60; H pour 100, 6,50.

L'équiline est aisément sublimable dans le vide profond entre 170 et 200° et paraît posséder la même tension de vapeur que la folliculine.

Le spectre d'absorption dans l'ultraviolet est tout à fait analogue à celui de la folliculine donné par Butenandt; il présente en solution alcoolique un maximum au voisinage de 2840 UA et un minimum au voisinage de 2500 UA. L'absorption augmente ensuite très rapidement dans l'ultraviolet.

Activité physiologique. — Pouvoir œstrogène sept fois inférieur à celui de la folliculine chez le rat adulte castré.

La nouvelle hormone provoque avec la même netteté l'ouverture prématurée du vagin des rats impubères suivant la technique de Doisy mais vis-à-vis de ce test particulier son activité est seulement inférieure de un tiers à celle de la folliculine.

Par des cristallisations répétées dans l'alcool méthylique des fractions les plus solubles et de faible pouvoir rotatoire (α)_D + 145° nous sommes parvenus à isoler à l'état de pureté une troisième hormone cristallisée qui semble répondre à la formule $C^{18}H^{22}O^2$ et serait ainsi un isomère de l'équiline, dont elle se différencie nettement par sa cristallisation en aiguilles et son pouvoir rotatoire spécifique faible (α)_D = + 128° (à 1 pour 100 dans le dioxane). Elle fond à 233° (corr.).

Elle fixe le brome avec moins de facilité que l'équiline. Elle se sublime sans altération. La semi-carbazone est remarquable par son aspect gélatineux, se résolvant finalement en très fines aiguilles microscopiques.

Nous proposons pour cette nouvelle hormone sous le nom d'hippuline.

Analyse : a. Subst., 4^{me}, 798; CO², 14^{me}, 178; H²O, 3^{me}, 212; Trouvé : C pour 100, 80,58; H pour 100, 7,49. b. Subst., 3^{me}, 812; CO², 11^{me}, 228; H²O, 2^{me}, 550. Trouvé : C pour 100, 80,32; H pour 100, 7,49. Calculé pour $C^{18}H^{22}O^2$: C pour 100, 80,55; H pour 100, 7,52.

L'activité œstrogène de l'hippuline est approximativement la même que celle de l'équiline.



6. 21.11.1932 Sur une nouvelle hormone sexuelle cristallisée.

21 novembre 1932

CHIMIE BIOLOGIQUE. — *Sur une nouvelle hormone sexuelle cristallisée.*
Note de MM. A. GIRARD, G. SANDULESCO, A.-FRIDENSON et J.-J. RUTGERS.

Dans deux précédentes Communications ⁽¹⁾ consacrées à l'étude des hormones sexuelles retirées de l'urine des juments gravides, nous avons décrit à côté de la folliculine $C^{14}H^{22}O^2$, reconnue formellement identique avec l'hormone de la femme, deux nouvelles hormones, de formule $C^{14}H^{20}O^2$, l'équiline ($[\alpha]_D = +308^\circ$), l'hippuline ($[\alpha]_D = +128^\circ$), cette dernière obtenue malheureusement en quantité trop faible pour pouvoir être complètement étudiée.

Diverses observations nous ayant fait entrevoir à côté de ces trois substances, l'existence d'une cétone phénolique à pouvoir rotatoire faible, nous avons cherché à l'isoler en utilisant une méthode inspirée des travaux de Vavon ⁽²⁾ sur le partage des phénols entre les solvants organiques et les solutions aqueuses alcalines. Il est juste de dire qu'une technique assez semblable avait déjà été employée par Doisy, pour la séparation de la folliculine de son hydrate.

La différence dans les degrés d'acidité des différentes hormones nous a permis d'isoler à l'état pur une nouvelle oxycétone œstrogène dont toutes les propriétés rendent évidente la parenté avec la folliculine. La nouvelle hormone moins hydrogénée que l'équiline a reçu le nom d'*équilénine*.

L'équilénine étant nettement plus acide que les autres hormones oxycétoniques, présentes dans l'urine de jument, a été obtenue par le jeu alterné d'extractions fractionnées aux alcalis dilués et de cristallisations dans l'alcool.

A partir des eaux mères de cristallisation des hormones totales, provenant de 52 tonnes d'urine, il fut possible par une série extrêmement longue de fractionnements et de cristallisations, d'isoler 15,50 de la nouvelle hormone à l'état de complète pureté, présentant le pouvoir rotatoire fixe: $(\alpha)_D^{16} = +87^\circ$ (en solution dans le dioxane à 1 pour 100).

⁽¹⁾ *Comptes rendus*, 194, 1932, p. 909; 194, 1932, p. 1020.

⁽²⁾ *Comptes rendus*, 187, 1928, p. 346.



(2)

Propriétés physiques et chimiques. — L'équilénine cristallise de l'alcool d'une manière très caractéristique, formant des buissons arrondis de très fines aiguilles.

Elle fond à 258°-259° (corr.) en tube capillaire par immersion instantanée, en se colorant.

Chauffée lentement au contact de l'air elle se transforme complètement vers 245° en une matière colorante rouge violacée. Le « rouge d'équilénine » paraît amorphe, il n'est pas sublimable et se dissout dans les alcalis en donnant une solution d'un beau vert bleu.

Dans le vide profond l'équilénine se sublime dans les mêmes limites de température que la folliculine sans subir de racémisation.

La nouvelle hormone est sensiblement plus soluble que la folliculine dans les divers solvants; l'alcool absolu en dissout 6^s,3 par litre à 18° et 25° à l'ébullition.

Analyse. — Trouvé : C pour 100, 81,42; 81,23; 81,18; H pour 100, 6,93; 7,05; 6,82.

Calculé pour C¹⁸H¹⁸O² : C pour 100, 81,16; H pour 100, 6,82.

L'équilénine donne un dérivé benzoylé : Aiguilles (alcool) F. 222-223° (corr.) en tube capillaire par immersion instantanée.

L'acétate F : 156-157° (mercure).

L'oxime cristallise dans l'alcool dilué en aiguilles prismatiques microscopiques F. 249-250° (corr.).

Soumise à la bromuration suivant la méthode de Rosenmund, elle réagit plus lentement que la folliculine et la bromuration s'arrête après l'obtention d'un dérivé monobromé ⁽¹⁾ qui, recristallisé dans le propanol se présente en belles aiguilles F. 225-227° (corr.) (capillaire) avec dégagement gazeux et décomposition.

Analyse. — Trouvé : Br pour 100, 21,58, 21,78; C pour 100, 62,82; H pour 100, 4,92.

Calculé pour C¹⁸H¹⁷O²Br : Br pour 100, 23,16; C pour 100, 62,55; H pour 100, 4,96.

Étude cristallographique (M. Gaudefroy) : Par évaporation spontanée

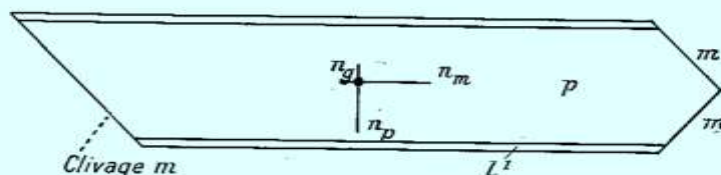
⁽¹⁾ On sait depuis les travaux récents de Marrian (*Lancet*, 223, 1932, p. 282), que la folliculine ne donne pas, comme on l'avait cru, un dérivé d'addition dibromé, mais un dérivé de substitution monobromé. Il est également probable que le produit de bromuration de l'équilénine, que nous n'avons pas isolé, ni analysé, doit répondre à la formule C¹⁸H¹⁹O²Br², dont nous nous proposons de reprendre l'étude.



(3)

d'une solution dans l'alcool méthylique, on obtient des aiguilles souvent groupées en oursins.

Les cristaux, du système orthorhombique, ont la forme de tables, p , hexagonales, très allongées suivant un axe de symétrie OX ; les deux



petits côtés, traces des faces m , font entre eux un angle de $90-91^\circ$. On peut distinguer au microscope, sur les longues arêtes, un biseau e^1 . Clivage m , peu marqué.

Optiquement négatif; l'angle des axes est assez grand; le plan des axes est perpendiculaire à l'allongement; la vibration n_g est dirigée suivant OZ et n_m suivant OX .

$n_m = 1,718 \pm 0,003$; n_p voisin de $1,51$.

Vu l'angle des axes, la biréfringence $n_g - n_p$ est notablement supérieure à $0,2$, c'est-à-dire exceptionnellement forte.

Les données analytiques ci-dessus conduisent à assigner à l'équilénine la formule $C^{18}H^{18}O^2$ que nous tenons pour certaine. Si l'on admet que la nouvelle hormone possède la même structure tétracyclique (Butenandt) que la folliculine, ce que la similitude des deux substances rend très vraisemblable, on est conduit à envisager dans l'équilénine l'existence d'un noyau naphthalénique, seule hypothèse conciliable avec la non-additivité vis-à-vis du brome, et que nous nous proposons de vérifier par l'étude des produits d'hydrogénation.

Au point de vue physiologique l'équilénine se montre considérablement moins active que la folliculine à l'égard du test d'Allen-Doisy : en première approximation son pouvoir œstrogène serait de 12 à 20 fois moindre.

(Extrait des *Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences*,
t. 195, p. 981, séance du 21 novembre 1932.)

GAUTHIER-VILLARS ET C^{ie}, IMPRIMEURS-LIBRAIRES DES COMPTES RENDUS DES SÉANCES DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES.
95551-32 Paris. — Quai des Grands-Augustins, 55.



CONTEMPORARY LITERATURE PRESS
Editura pentru Literatură Contemporană

Cette communication a été publiée, à son époque, dans Gallica. Académie des sciences. Comptes rendus hebdomadaires des séances. 1932. Tome 195. Pages 981, 982, 983.

[ark:/12148/cb343481087/date](https://nvl.net/ark:/12148/cb343481087/date)

SÉANCE DU 21 NOVEMBRE 1932.

981

CHIMIE BIOLOGIQUE. — *Sur une nouvelle hormone sexuelle cristallisée*. Note de MM. A. GIRARD, G. SANDULESCO, A. FRIDENSON et J.-J. RUTGERS, présentée par M. Fosse.

Dans deux précédentes Communications ⁽¹⁾ consacrées à l'étude des hormones sexuelles retirées de l'urine des juments gravides, nous avons décrit à côté de la folliculine $C^{18}H^{22}O^2$, reconnue formellement identique avec l'hormone de la femme, deux nouvelles hormones, de formule $C^{18}H^{20}O^2$, l'équiline ($[\alpha]_D = +308^\circ$), l'hippuline ($[\alpha]_D = +128^\circ$), cette dernière obtenue malheureusement en quantité trop faible pour pouvoir être complètement étudiée.

Diverses observations nous ayant fait entrevoir à côté de ces trois substances, l'existence d'une cétone phénolique à pouvoir rotatoire faible, nous avons cherché à l'isoler en utilisant une méthode inspirée des travaux de Vavon ⁽²⁾ sur le partage des phénols entre les solvants organiques et les solutions aqueuses alcalines. Il est juste de dire qu'une technique assez semblable avait déjà été employée par Doisy, pour la séparation de la folliculine de son hydrate.

La différence dans les degrés d'acidité des différentes hormones nous a permis d'isoler à l'état pur une nouvelle oxycétone œstrogène dont toutes les propriétés rendent évidente la parenté avec la folliculine. La nouvelle hormone moins hydrogénée que l'équiline a reçu le nom d'*équilénine*.

L'équilénine étant nettement plus acide que les autres hormones oxycétoniques, présentes dans l'urine de jument, a été obtenue par le jeu alterné d'extractions fractionnées aux alcalis dilués et de cristallisations dans l'alcool.

A partir des eaux mères de cristallisation des hormones totales, provenant

⁽¹⁾ *Comptes rendus*, 194, 1932, p. 909; 194, 1933, p. 1030.

⁽²⁾ *Comptes rendus*, 187, 1928, p. 346.



de 52 tonnes d'urine, il fut possible par une série extrêmement longue de fractionnements et de cristallisations, d'isoler 1^g,50 de la nouvelle hormone à l'état de complète pureté, présentant le pouvoir rotatoire fixe: $(\alpha)_D^{16} = +87^\circ$ (en solution dans le dioxane à 1 pour 100).

Propriétés physiques et chimiques. — L'équilénine cristallise de l'alcool d'une manière très caractéristique, formant des buissons arrondis de très fines aiguilles.

Elle fond à 258° - 259° (corr.) en tube capillaire par immersion instantanée, en se colorant.

Chauffée lentement au contact de l'air elle se transforme complètement vers 245° en une matière colorante rouge violacée. Le « rouge d'équilénine » paraît amorphe, il n'est pas sublimable et se dissout dans les alcalis en donnant une solution d'un beau vert bleu.

Dans le vide profond l'équilénine se sublime dans les mêmes limites de température que la folliculine sans subir de racémisation.

La nouvelle hormone est sensiblement plus soluble que la folliculine dans les divers solvants; l'alcool absolu en dissout 6^g,3 par litre à 18° et 25° à l'ébullition.

Analyse. — Trouvé : C pour 100, 81,43; 81,23; 81,18; H pour 100, 6,93; 7,05; 6,82.

Calculé pour $C^{15}H^{13}O^2$: C pour 100, 81,16; H pour 100, 6,82.

L'équilénine donne un dérivé benzoylé : Aiguilles (alcool) F. 222 - 223° (corr.) en tube capillaire par immersion instantanée.

L'acétate F : 156 - 157° (mercure).

L'oxime cristallise dans l'alcool dilué en aiguilles prismatiques microscopiques F. 249 - 250° (corr.).

Soumise à la bromuration suivant la méthode de Rosenmund, elle réagit plus lentement que la folliculine et la bromuration s'arrête après l'obtention d'un dérivé monobromé ⁽¹⁾ qui, recristallisé dans le propanol se présente en belles aiguilles F. 225 - 227° (corr.) (capillaire) avec dégagement gazeux et décomposition.

⁽¹⁾ On sait depuis les travaux récents de Marrian (*Lancet*, 223, 1932, p. 282), que la folliculine ne donne pas, comme on l'avait cru, un dérivé d'addition dibromé, mais un dérivé de substitution monobromé. Il est également probable que le produit de bromuration de l'équilénine, que nous n'avons pas isolé, ni analysé, doit répondre à la formule $C^{15}H^{13}O^2Br$, dont nous nous proposons de reprendre l'étude.



SÉANCE DU 21 NOVEMBRE 1932.

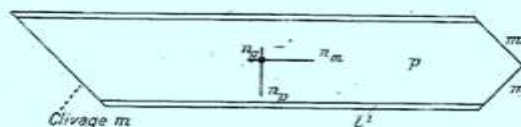
983

Analyse. — Trouvé : Br pour 100, 21,58, 21,78; C pour 100, 62,82; H pour 100, 4,92.

Calculé pour $C^{14}H^{18}O^2Br$: Br pour 100, 23,16; C pour 100, 62,55; H pour 100, 4,96.

Étude cristallographique (M. Gaudetroy) : Par évaporation spontanée d'une solution dans l'alcool méthylique, on obtient des aiguilles souvent groupées en oursins.

Les cristaux, du système orthorhombique, ont la forme de tables, p , hexagonales, très allongées suivant un axe de symétrie OX ; les deux



petits côtés, traces des faces m , font entre eux un angle de $90-91^\circ$. On peut distinguer au microscope, sur les longues arêtes, un biseau e' . Clivage m , peu marqué.

Optiquement négatif; l'angle des axes est assez grand; le plan des axes est perpendiculaire à l'allongement; la vibration n_z est dirigée suivant OZ et n_y suivant OX .

$n_m = 1,718 \pm 0,003$; n_p voisin de 1,51.

Vu l'angle des axes, la biréfringence $n_z - n_y$ est notablement supérieure à 0,2, c'est-à-dire exceptionnellement forte.

Les données analytiques ci-dessus conduisent à assigner à l'équilénine la formule $C^{14}H^{18}O^2$ que nous tenons pour certaine. Si l'on admet que la nouvelle hormone possède la même structure tétracyclique (Butenandt) que la folliculine, ce que la similitude des deux substances rend très vraisemblable, on est conduit à envisager dans l'équilénine l'existence d'un noyau naphthalénique, seule hypothèse conciliable avec la non-additivité vis-à-vis du brome, et que nous nous proposons de vérifier par l'étude des produits d'hydrogénation.

Au point de vue physiologique l'équilénine se montre considérablement moins active que la folliculine à l'égard du test d'Allen-Doisy : en première approximation son pouvoir œstrogène serait de 12 à 20 fois moindre.

A 15^h35^m l'Académie se forme en Comité secret.



7. 9.1.1933 Contribution à la connaissance des hormones sexuelles femelles.

J. Jan. 1933

CHIMIE BIOLOGIQUE. — *Contribution à la connaissance des hormones sexuelles femelles*. Note de MM. G. SANDULESCO, WANG WEN TCHUNG, et A. GIRARD.

Dans une récente Communication ⁽¹⁾ nous avons fait connaître l'existence, dans les urines des juments gravides, d'une nouvelle hormone oxycétonique cristallisée, l'équilénine $C^{18}H^{18}O^3$, dans laquelle nous avons admis l'existence d'un noyau naphthalénique.

Conduits par cette hypothèse, nous avons été amenés à rechercher si, comme le font la plupart des dérivés du naphthalène, l'équilénine ne donnait pas de complexes avec l'acide picrique et d'autres polynitrophénols.

L'expérience a pleinement répondu à notre attente et nous avons trouvé dans l'acide picrique un réactif de précipitation permettant d'isoler en quelques minutes l'équilénine des mélanges d'hormones les plus complexes.

La combinaison de l'équilénine avec l'acide picrique répond à la formule $C^{18}H^{18}O^3 \cdot C^6H^2OH(NO^2)^3$; elle se présente en très fines aiguilles rouge orangé, solubles à raison de 17^g,5 par litre dans la solution alcoolique bouillante d'acide picrique à 5 pour 100. Cette même solution n'en dissout que 1^g par litre à 20°.

La solubilité du picrate d'équilénine à froid, bien que faible, ne permet pas de séparer cette hormone de la folliculine, lorsqu'elle se trouve en mélange avec cette dernière dans une proportion inférieure à 1/10. Il est alors nécessaire de concentrer l'équilénine dans les eaux mères alcooliques par quelques cristallisations fractionnées.

L'acide styphnique donne également avec la nouvelle hormone une très belle combinaison équimoléculaire cristallisant en aiguilles jaune orangé, mais trop soluble pour pouvoir être avantageusement utilisée.

Dans une solution alcoolique saturée de 2.4.6-trinitrorésorcine, elle se dissout à raison de 72^g par litre à l'ébullition et de 8^g à 15°.

Le picrate et le styphnate d'équilénine, après une seule recristallisation

⁽¹⁾ *Comptes rendus*, 193, 1932, p. 981.



(2)

dans l'alcool saturé d'acide picrique ou d'acide styphnique, sont purs, et il suffit, pour isoler l'hormone qu'ils renferment, d'agiter leur suspension éthérée avec une solution diluée de carbonate de soude.

Poursuivant l'étude des combinaisons picriques des hormones, nous avons constaté que la folliculine donne aussi, dans certaines conditions, une combinaison picrique, mais celle-ci est extrêmement dissociable et ne renferme qu'une demi-molécule d'acide picrique. Elle se présente en gros cristaux rouge brun, solubles dans l'acide picrique alcoolique bouillant à 6 pour 100 à raison de 75^g par litre et de 8^g,6 à 20°.

Pour obtenir cette combinaison il suffit de faire cristalliser ensemble l'hormone et la quantité calculée d'acide picrique dans la solution alcoolique saturée. Si la cristallisation n'est pas amorcée, l'hormone se sépare seule tout d'abord, et ce n'est qu'après un long repos que les gros cristaux bruns apparaissent, grossissent au détriment des cristaux d'hormone qui finissent par disparaître après plusieurs jours.

La découverte du picrate d'équilénine nous a permis de constater que cette hormone est en réalité un des constituants principaux du mélange des hormones de la jument. Elle est presque inexistante jusqu'au 175^e jour de la gestation, elle apparaît en quantité fort appréciable vers le 200^e jour pour devenir très abondante dans les derniers mois de la gravidité, alors que la folliculine décroît considérablement.

La recherche de petites quantités d'équilénine peut se faire avec facilité en la transformant en rouge d'équilénine par chauffage au contact de l'air. Nous avons basé sur cette propriété un procédé de dosage colorimétrique fort sensible. Si l'on enferme dans une ampoule de 5^{cm}³ à fond rond, scellée à la lampe, 2^{mg} d'un mélange d'hormones quelconque et qu'on l'immerge pendant 3 minutes dans un grand tube à essais renfermant du diphényle bouillant (255°), la transformation de l'équilénine en rouge d'équilénine est complète. On ouvre l'ampoule, on redissout dans l'acétone, on ajoute un volume d'eau et l'on titre colorimétriquement, soit par comparaison avec une solution de fuchsine, soit mieux avec du rouge d'équilénine pur.

Cette épreuve nous a permis de constater : 1° que la folliculine de l'urine de femme ne renferme pas d'équilénine; 2° que tous les échantillons d'hormones de jument en notre possession, en contenaient en proportions importantes, y compris un échantillon ayant subi vingt cristallisations successives.

Comme le pouvoir rotatoire spécifique de cette hormone est faible (+ 87°),



(3)

on peut tenir pour certain que sa présence a faussé toutes les mesures de pouvoir rotatoire et probablement d'autres constantes physiques publiées jusqu'ici, dont la révision s'imposera dans un avenir prochain.

Il nous a paru intéressant de rechercher une méthode d'élimination complète de l'équilénine, dans la folliculine déjà purifiée, nous y sommes encore parvenus par l'emploi des combinaisons picriques.

La folliculine et l'équilénine cristallisent avec l'acide picrique selon des proportions différentes et suivant des types cristallins absolument distincts; il s'ensuit qu'en présence d'acide picrique, les deux corps perdent leur tendance à la syncristallisation.

Le picrate de folliculine, deux fois recristallisé, donne une hormone qui ne présente plus la réaction rouge.

Nous avons préparé les nouveaux dérivés suivants de l'équilénine :

Éther oxyde méthylique : longues aiguilles (alcool) F. 197-198° (corr.) (capill. immers. instant.). Donne la réaction rouge, mais par un chauffage plus prolongé.

Semicarbazone : aiguilles microscopiques. F. 268° (capill.) en se décomposant.

Picrate : $C^{18}H^{18}O^2.C^6H^3O^2N^2$; prismes microscopiques rouge orangé. Fond entre 205 et 208° (corr.) en se décomposant (capill.).

Picrate de l'acétate : lamelles microscopiques rouge orangé. F. 106-107° (mercure).

Styphnate : aiguilles microscopiques jaune orangé. Fond à 212-213° en se décomposant (capill. par immers. instant.).

L'équilénine, que nous avons pu préparer en quantités relativement grandes, semble devoir jouer un rôle important dans l'étude de la constitution des hormones femelles grâce aux possibilités de coupures et de transformations toutes particulières qu'offre le noyau naphtolique.

(Extrait des *Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences*,
t. 196, p. 137, séance du 9 janvier 1933.)



Cette communication a été publiée, à son époque, dans Gallica. Académie des sciences. Comptes rendus hebdomadaires des séances. 1933. Tome 196. Pages 137, 138, 139, 140.

[ark:/12148/cb343481087/date](https://nbn-resolving.org/urn:nbn:fr:gallica-ark:/12148/cb343481087/date)

SÉANCE DU 9 JANVIER 1933.

137

CHIMIE BIOLOGIQUE. — *Contribution à la connaissance des hormones sexuelles femelles*. Note de MM. G. SANDULESCO, WANG WEN TCHUNG, et A. GIRARD, présentée par M. FOSSE.

Dans une récente Communication ⁽¹⁾ nous avons fait connaître l'existence, dans les urines des juments gravides, d'une nouvelle hormone oxycé-

⁽¹⁾ *C. R. Soc. Biol.*, 107, 1931, p. 1584, et 110, 1932, p. 564.

⁽²⁾ *Comptes rendus*, 193, 1932, p. 981.

G. R., 1933, 1^{er} Semestre, (T. 196, N° 2.)



tonique cristallisée, l'équilénine $C^{18}H^{18}O^2$, dans laquelle nous avons admis l'existence d'un noyau naphthalénique.

Conduits par cette hypothèse, nous avons été amenés à rechercher si, comme le font la plupart des dérivés du naphthalène, l'équilénine ne donnait pas de complexes avec l'acide picrique et d'autres polynitrophénols.

L'expérience a pleinement répondu à notre attente et nous avons trouvé dans l'acide picrique un réactif de précipitation permettant d'isoler en quelques minutes l'équilénine des mélanges d'hormones les plus complexes.

La combinaison de l'équilénine avec l'acide picrique répond à la formule $C^{18}H^{18}O^2.C^6H^3OH(NO^2)^3$; elle se présente en très fines aiguilles rouge orangé, solubles à raison de 17^g,5 par litre dans la solution alcoolique bouillante d'acide picrique à 5 pour 100. Cette même solution n'en dissout que 1^g par litre à 20°.

La solubilité du picrate d'équilénine à froid, bien que faible, ne permet pas de séparer cette hormone de la folliculine, lorsqu'elle se trouve en mélange avec cette dernière dans une proportion inférieure à 1/10. Il est alors nécessaire de concentrer l'équilénine dans les eaux mères alcooliques par quelques cristallisations fractionnées.

L'acide styphnique donne également avec la nouvelle hormone une très belle combinaison équimoléculaire cristallisant en aiguilles jaune orangé, mais trop soluble pour pouvoir être avantageusement utilisée.

Dans une solution alcoolique saturée de 2.4.6-trinitrorésorcine, elle se dissout à raison de 72^g par litre à l'ébullition et de 8^g à 15°.

Le picrate et le styphnate d'équilénine, après une seule recristallisation dans l'alcool saturé d'acide picrique ou d'acide styphnique, sont purs, et il suffit, pour isoler l'hormone qu'ils renferment, d'agiter leur suspension étherée avec une solution diluée de carbonate de soude.

Poursuivant l'étude des combinaisons picriques des hormones, nous avons constaté que la folliculine donne aussi, dans certaines conditions, une combinaison picrique, mais celle-ci est extrêmement dissociable et ne renferme qu'une demi-molécule d'acide picrique. Elle se présente en gros cristaux rouge brun, solubles dans l'acide picrique alcoolique bouillant à 6 pour 100 à raison de 75^g par litre et de 8^g,6 à 20°.

Pour obtenir cette combinaison il suffit de faire cristalliser ensemble l'hormone et la quantité calculée d'acide picrique dans la solution alcoolique saturée. Si la cristallisation n'est pas amorcée, l'hormone se sépare



seule tout d'abord, et ce n'est qu'après un long repos que les gros cristaux bruns apparaissent, grossissent au détriment des cristaux d'hormone qui finissent par disparaître après plusieurs jours.

La découverte du picrate d'équilénine nous a permis de constater que cette hormone est en réalité un des constituants principaux du mélange des hormones de la jument. Elle est presque inexistante jusqu'au 175^e jour de la gestation; elle apparaît en quantité fort appréciable vers le 200^e jour pour devenir très abondante dans les derniers mois de la gravidité, alors que la folliculine décroît considérablement.

La recherche de petites quantités d'équilénine peut se faire avec facilité en la transformant en rouge d'équilénine par chauffage au contact de l'air. Nous avons basé sur cette propriété un procédé de dosage colorimétrique fort sensible. Si l'on enferme dans une ampoule de 5^{cm} à fond rond, scellée à la lampe, 2^{me} d'un mélange d'hormones quelconque et qu'on l'immerge pendant 3 minutes dans un grand tube à essais renfermant du diphényle bouillant (255°), la transformation de l'équilénine en rouge d'équilénine est complète. On ouvre l'ampoule, on redissout dans l'acétone, on ajoute un volume d'eau et l'on titre colorimétriquement, soit par comparaison avec une solution de fuchsine, soit mieux avec du rouge d'équilénine pur.

Cette épreuve nous a permis de constater : 1° que la folliculine de l'urine de femme ne renferme pas d'équilénine; 2° que tous les échantillons d'hormones de jument en notre possession, en contenaient en proportions importantes, y compris un échantillon ayant subi vingt cristallisations successives.

Comme le pouvoir rotatoire spécifique de cette hormone est faible (+87°), on peut tenir pour certain que sa présence a faussé toutes les mesures de pouvoir rotatoire et probablement d'autres constantes physiques publiées jusqu'ici, dont la révision s'imposera dans un avenir prochain.

Il nous a paru intéressant de rechercher une méthode d'élimination complète de l'équilénine, dans la folliculine déjà purifiée, nous y sommes encore parvenus par l'emploi des combinaisons picriques.

La folliculine et l'équilénine cristallisent avec l'acide picrique selon des proportions différentes et suivant des types cristallins absolument distincts; il s'ensuit qu'en présence d'acide picrique, les deux corps perdent leur tendance à la syncristallisation.

Le picrate de folliculine, deux fois recristallisé, donne une hormone qui ne présente plus la réaction rouge.



Nous avons préparé les nouveaux dérivés suivants de l'équilénine :

Éther oxyde méthylique : longues aiguilles (alcool) F. 197-198° (corr.) (capill. immers. instant.). Donne la réaction rouge, mais par un chauffage plus prolongé.

Semicarbazone : aiguilles microscopiques. F. 268° (capill.) en se décomposant.

Picrate : $C^{12}H^{18}O^2.C^6H^3O^3N^2$; prismes microscopiques rouge orangé. Fond entre 205 et 208° (corr.) en se décomposant (capill.).

Picrate de l'acétate : lamelles microscopiques rouge orangé. F. 106-107° (mercure).

Styphnate : aiguilles microscopiques jaune orangé. Fond à 212-213° en se décomposant (capill. par immers. instant.).

L'équilénine, que nous avons pu préparer en quantités relativement grandes, semble devoir jouer un rôle important dans l'étude de la constitution des hormones femelles grâce aux possibilités de coupures et de transformations toutes particulières qu'offre le noyau naphtolique.

A 15^h 50^m l'Académie se forme en Comité secret.

La séance est levée à 16^h 10^m.

É. P.



8. 11.3.1933 Sur l'absorption par la voie buccale de la folliculine et de son dérivé dihydrogéné.

Extrait des *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie*.
(Séance du 11 mars 1933. — Tome CXII, page 964).

1933

SUR L'ABSORPTION PAR LA VOIE BUCCALE DE LA FOLLICULINE ET DE SON DÉRIVÉ DIHYDROGÉNÉ,

par A. GIRARD, G. SANDULESCO et A. FRIDENSON.

On sait que l'hormone ovarienne, administrée par la voie buccale aux Rats et Souris femelles castrées, n'exerce son action œstrogène qu'à des doses considérablement supérieures à celles qui se montrent actives par voie sous-cutanée. Comme la folliculine résiste complètement à l'action des sucs digestifs, on est conduit à admettre qu'elle ne franchit que pour une faible part la muqueuse gastro-intestinale. Le taux de cette absorption est d'ailleurs fort variable suivant les conditions de l'administration, le fractionnement des doses, la dilution des solutions, la présence d'alcool ou d'autres substances ; il a été très diversement apprécié par les auteurs, qui ont admis un coefficient d'absorption variant de $1/3$ à $1/100^*$ (1*). En fait, par administration buccale il est extrêmement difficile, avec la folliculine pure, de réaliser l'œstrus des petits Rongeurs, avec des doses inférieures à six fois la dose nécessitée par la voie sous-cutanée.

A cet égard, l'hormone de Marrian, hydrate de folliculine, dans laquelle la fonction cétone est remplacée par une fonction glycol, se comporte différemment et Doisy a montré (2*) depuis longtemps qu'elle est seulement 2 à 3 fois moins active par la voie digestive que par injection en solution aqueuse fractionnée.

Conduits par cette observation, nous avons été amenés à rechercher si la dihydrofolliculine, produit d'hydrogénation partielle de l'hormone ovarienne, dans lequel une fonction alcool secondaire remplace le groupement cétonique, et dont nous avons reconnu l'activité œstrogène, ne posséderait pas un meilleur taux d'absorption digestive que l'hormone cétonique elle-même.

La dihydrofolliculine a été préparée par nous, en soumettant l'hormone α pure ($[\alpha]_D = +162.5$) à l'action du sodium et de l'alcool, et plus récemment par une hydrogénation catalytique ménagée en présence de nickel. Elle se forme seule dans ces conditions, sans production de pinacone, la réduction n'engendrant, selon toute apparence, qu'un seul des deux stéréo-isomères que la théorie permet de prévoir.

C'est un corps blanc, cristallisé en belles aiguilles ; point de

(1*) Laqueur, $1/100^*$; Allen, Dickens et Dodds, $1/25^*$; Banti, $1/24^*$; Loewe, $1/20^*$; Zondek, $1/5^*$; Dorn, $1/2.5^*$; Schoeller, $1/6^*$.

(2*) Curtis et Doisy. *Journ. of biol. Chem.*, 1931, t. 94, p. 650.



fusion 174-175° (corrigé), $[\alpha]_D^{17} = +80^\circ$ (à 1 p. 100 dans le dioxane), extrêmement soluble dans l'alcool et 3 à 4 fois plus soluble dans l'eau que la folliculine.

Administré *per os* en 3 fractions égales, à des Rats femelles castrées, suivant le rythme de Doisy, la dihydrofolliculine s'est révélée légèrement plus active que la folliculine elle-même, injectée à dose égale en solution huileuse, en injection unique. 54 animaux ont reçu à l'aide d'une pipette une solution aqueuse de dihydrofolliculine (contenant 1 microgramme par goutte) suivant une échelle de doses allant de 3 microgrammes à 15 microgrammes; les divers lots ont fourni des pourcentages de réponses positives allant de 66 p. 100 à 100 p. 100. Les Rats dont nous nous sommes servis sont d'une race très peu sensible, chez laquelle une dose totale de 4 microgrammes de folliculine cristallisée est nécessaire pour réaliser un pourcentage d'effets positifs de 66 p. 100, en injection huileuse unique.

Cependant, administrée par voie sous-cutanée, en injection huileuse unique, la dihydrofolliculine se montre sensiblement moins active que la folliculine elle-même. 96 animaux ont reçu ainsi comparativement et alternativement des doses de folliculine α pure et de son dérivé dihydrogéné variant de 4 à 16 microgrammes. D'une manière très régulière nous avons observé que le dérivé dihydrogéné fournissait, à dose égale (4 microgrammes), un pourcentage de réponses positives inférieur à celui de la folliculine : 47 p. 100 contre 66 p. 100; 58 p. 100 contre 69 p. 100. L'égalité de réponse est obtenue avec des doses qui sont dans le rapport de 4 à 3 approximativement.

Dans le moment où nous achevions ces expériences, nous eûmes connaissance d'une note très récente de MM. Schwenk et Hildebrandt (3*) relative à l'action physiologique de la dihydrofolliculine. Ces auteurs, utilisant des méthodes de réduction qu'ils ne précisent pas, sont parvenus à isoler deux isomères dont l'un fond à 168-170°, [vraisemblablement identique à celui que nous avons nous-mêmes préparé (4*)], l'autre fondant à 198-204°. L'activité physiologique de ces deux corps, étudiée selon la méthode d'Allen-Doisy en milieu aqueux (les auteurs disent : suspension et non solution aqueuse) s'est révélée extrêmement élevée : 30 millions d'unités-Souris par gr. pour le premier, 20 millions pour le second, tandis que l'oxycétone de départ titrait seulement de 4,5 à 5 millions d'unités-Souris.

Les résultats discordants observés par les auteurs allemands et par nous-mêmes s'expliquent aisément par la différence des mé-

(3*) Schwenk et Hildebrandt. *Naturwissenschaften*, 1933, p. 177.

(4*) La dihydrofolliculine a été préparée par nous dès le mois d'avril 1932; elle a fait l'objet d'échanges de correspondances avec des savants anglais et a été signalée par l'un de nous en juillet dernier à l'occasion des réunions qui groupèrent à Londres les principaux hormonologistes étrangers.



thodes de titrage employées (milieu aqueux et injection fractionnée d'une part, milieu huileux et injection unique de l'autre). Cependant la petitesse de l'action physiologique de l'hormone ayant servi de matière première aux opérations de réduction, ne laisse pas de surprendre, et il n'est pas douteux que celle-ci n'était pas constituée par l'hormone α pure, dont l'activité physiologique est voisine de celle assignée par MM. Schwenk et Hildebrandt à leurs dérivés hydrogénés. La présence d'isomères dans les produits de réduction pourrait ainsi s'expliquer aisément.

Quoi qu'il en soit, il reste acquis que la dihydro- α -folliculine (Point de fusion $174-175^\circ$) ; $[\alpha]_{D17} = +80^\circ$) est un corps de très haute activité physiologique, possédant sur l'hormone elle-même le très précieux avantage d'un passage facile et peut-être quantitatif par la voie digestive, propriété éminemment précieuse au point de vue particulier de l'usage thérapeutique.



9. 27.5.1936 Sur une nouvelle série de réactifs du groupe carbonyle, leur utilisation...

27 mai 1936

135. Sur une nouvelle série de réactifs du groupe carbonyle, leur utilisation à l'extraction des substances cétoniques et à la caractérisation microchimique des aldéhydes et cétones ¹⁾

par André Girard et Georges Sandulesco.

(27. V. 36.)

Au cours de recherches effectuées dans ces dernières années et ayant pour objet l'isolement des hormones sexuelles cétoniques à partir des urines, nous avons été amenés à préparer de nouveaux réactifs du groupe carbonyle que nous croyons susceptibles de rendre d'appréciables services au laboratoire:

1° lorsqu'il s'agit d'extraire à partir des matières naturelles complexes, de très petites quantités de cétones qui y sont contenues.

2° d'isoler très rapidement et quantitativement les cétones qui ont pris naissance au cours d'une réaction chimique.

3° de différencier une aldéhyde d'une cétone.

¹⁾ Communication présentée à l'assemblée d'été de la Société suisse de Chimie, le 28 août 1936, à Soleure; publiée avec l'autorisation spéciale du Comité de rédaction.



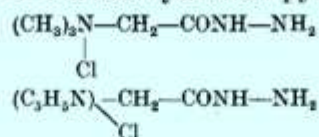
4^o de caractériser la présence de substances carbonylées dans les matières naturelles par une réaction de précipitation analogue à celle des alcaloïdes.

Le but que nous nous étions proposé était, non plus d'engager les composés carbonylés en des combinaisons peu solubles, comme c'est le cas pour les semicarbazones, par exemple, mais tout au contraire de les combiner à des dérivés hydraziniques, tels que les nouveaux corps obtenus soient solubles dans l'eau et aussi peu solubles que possible dans les solvants organiques non hydroxylés.

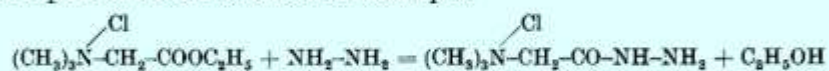
Le problème ainsi posé semblait pouvoir être résolu par l'emploi de l'aminoguanidine, ou de quelques-uns de ses dérivés de substitution azotés, tels la diaminoguanidine et la triaminoguanidine. En fait ces corps donnent bien avec les cétones des combinaisons solubles dans l'eau à la faveur des acides minéraux, mais ces combinaisons sont, en milieu acide, d'une instabilité telle qu'il est impossible de les utiliser dans la pratique.

Le but recherché a été atteint par l'emploi d'hydrazides à fonction ammonium quaternaire, corps dont les premiers termes sont éminemment faciles à préparer, et qui, fait curieux, n'ont fait l'objet d'aucune étude jusqu'à ce jour.

Nous ne ferons état dans le présent travail que des corps dont les deux fonctions sont situées en α et qui, seuls, sont aisément accessibles. Parmi eux nous n'avons retenu que deux substances: le chlorure de triméthyl-acéthydrazide-ammonium (réactif *T* par abréviation) et le chlorure d'acéthydrazide-pyridinium (réactif *P*):



Tous deux se préparent avec des rendements presque quantitatifs par action de l'hydrate d'hydrazine sur les éther-sels betainiques correspondants en solution alcoolique.



La réaction est immédiate, elle s'effectue avec un vif dégagement de chaleur, et, si les concentrations sont convenables, le sel formé se sépare en magnifiques cristaux.

Le réactif *T* est en aiguilles blanches, éminemment solubles dans l'eau, qu'il faut garder en flacons bien bouchés, car il attire vivement l'humidité de l'air; il est soluble à froid dans 150 parties d'alcool absolu, plus soluble dans le méthanol, très soluble dans l'acide acétique, la glycérine, le glycol, insoluble dans les solvants organiques non hydroxylés.



Le réactif *P* est moins soluble que le précédent, il n'est pas hygroscopique, il peut être séché à l'air libre et conservé sans précautions.

Dans la technique on emploie de préférence ce dernier dont la préparation est plus économique. Par contre, comme nous le verrons plus loin, le réactif *T* permet seul la caractérisation qualitative du groupe carbonyle. En outre, sa plus grande solubilité fait que nous lui donnons volontiers la préférence au laboratoire.

Combinaison avec les aldéhydes et cétones.

En milieu strictement neutre la combinaison des réactifs *T* et *P* avec les composés carbonylés est toujours extrêmement lente, et dans un grand nombre de cas ne se produit pas du tout, même par un chauffage prolongé.

Une certaine acidité du milieu est indispensable et nous avons reconnu que la réaction se produit avec le maximum de rapidité au sein de l'acide acétique pur.

Comme l'emploi de ce solvant est cependant exceptionnel, nous effectuons presque toujours la réaction au sein de l'alcool, additionné de 10% d'acide acétique.

Le réactif sera toujours employé en large excès; dans la pratique nous opérons uniformément avec une solution alcoolique préparée extemporanément et renfermant 10% d'acide acétique et 5 ou 10% du réactif hydrazinique.

Dans ces conditions la combinaison est achevée après 20 à 30 minutes de chauffage à reflux; s'il s'agit de l'extraction d'une cétone inconnue, il est toutefois préférable de prolonger le reflux pendant une heure.

Les acéthydrazones à fonction ammonium quaternaire sont des corps cristallisés, solubles dans l'eau et les alcools, insolubles dans les solvants organiques non hydroxylés. Comme leur isolement à l'état pur n'est d'aucun secours pour l'identification des aldéhydes et cétones, nous ne les décrivons pas en tant qu'individus chimiques.

En solutions aqueuses elles se comportent comme de véritables alcaloïdes vis-à-vis des réactifs de précipitation de ce groupe, toutefois, seules les hydrazones dont le poids moléculaire est très élevé se laissent précipiter par les alcalis ou les carbonates alcalins.

Si la réaction du milieu est très voisine de la neutralité, ces solutions sont relativement stables: elles gardent leur limpidité pendant au moins 24 heures lorsque le p_H est compris entre 6,5 et 7.

Cette stabilité est d'ailleurs beaucoup plus grande à basse température, et on peut être amené, dans certains cas particuliers, à ne manipuler ces solutions qu'après addition de glace.



Tandis que les acéthydrazones quaternaires aldéhydiques se montrent d'une très grande stabilité vis-à-vis des acides, même minéraux, à l'ébullition, il en est tout autrement des solutions aqueuses obtenues par les réactifs *T* ou *P* et les cétones.

Si le p_H est inférieur à 6, l'hydrolyse se poursuit déjà à la température ordinaire très rapidement. Si la cétone est insoluble dans l'eau, une simple addition d'acide acétique dans la solution amène déjà un trouble après quelques minutes. L'acide oxalique produit une hydrolyse très rapide. Un acide minéral fort, tel que les acides chlorhydrique et sulfurique, ajoutés à une concentration voisine de normale provoque une hydrolyse totale, dans un temps qui varie d'une minute à une heure à la température ordinaire.

Si une solution aqueuse renferme, dissoutes à l'aide du réactif *T* (ou *P*) à la fois des aldéhydes et des cétones, l'addition de 50 grammes par litre d'acide sulfurique permet, après une heure de repos, de séparer quantitativement les cétones extractibles à l'éther, tandis que les aldéhydes demeurent en solution.

Il est généralement possible de décomposer ces combinaisons aldéhydiques, par intervention de la chaleur en milieu fortement acide, après addition d'un large excès de formol, mais cette régénération des aldéhydes dissoutes est malaisée et incomplète. De plus, les conditions sévères de l'hydrolyse altèrent souvent profondément les aldéhydes.

En pratique les réactifs *T* et *P* ne conviennent pas pour l'étude des aldéhydes.

Dans toute la mesure où il est permis d'extrapoler dans un tel domaine et de généraliser les constatations, trop peu nombreuses, faites jusqu'ici, nous dirons que cette haute résistance des hydrazones à fonction ammonium quaternaire, vis-à-vis de l'hydrolyse acide, est caractéristique du groupe aldéhydique et le différencie du groupe cétonique.

La technique d'isolement de la fraction cétonique totale d'une matière naturelle peut être ainsi schématisée:

1° la substance est dissoute dans l'alcool absolu, celui-ci additionné de 10% d'acide acétique exactement pesé ou mesuré, puis de 5 à 10% de réactif *T* ou *P* (selon la teneur probable en substances carbonylées). On porte le tout à reflux pendant 30 à 60 minutes.

2° après refroidissement on précipite cette solution alcoolique dans de l'eau glacée, contenant assez de soude pour neutraliser les 9/10 de l'acide acétique ajouté, ce qui amène automatiquement le p_H à une valeur convenable. Il sera bon de vérifier dans chaque cas, que le mélange ne bleuit pas l'indicateur au bromothymol. La



quantité d'eau et de glace ajoutée sera telle que le mélange final ne renfermera plus que 10 à 20% d'alcool.

Cette solution sera copieusement extraite avec un solvant non hydroxylé approprié, l'éther par exemple, qui ne dissout aucune trace de la combinaison cétonique, puis,

3° la solution ainsi épuisée sera additionnée à froid d'acide chlorhydrique ou sulfurique, de manière à atteindre une concentration n. ou 0,5-n. Après une heure de repos à la température ambiante, on pratique une nouvelle extraction à l'éther, qui, par distillation fournit «la fraction cétonique totale» de la substance mise en expérience.

Il va sans dire, toutefois, que la pureté de cette fraction dépendra de quelques facteurs: perfection de l'extraction préalable, absence de substances très solubles dans l'eau et médiocrement solubles dans le solvant choisi, absence d'émulsion au cours de la première extraction.

Cette question des émulsions doit retenir quelque peu l'attention, car en pratique, c'est la seule difficulté qu'on est susceptible de rencontrer. Certaines cétones à poids moléculaires élevés donnent avec les réactifs *T* et *P* des combinaisons douées d'un pouvoir émulsionnant considérable. D'une façon tout à fait générale, l'addition d'une certaine quantité d'alcool permet de résoudre les émulsions. Pour chaque cas particulier, il existe une teneur minima d'alcool qui rend possible les séparations franches des couches hydro-alcoolique et étherée. Quelques tâtonnements suffiront pour la déterminer.

Si on a été amené, dans les cas très difficiles, (stéarone par exemple) à ajouter à la phase aqueuse une forte proportion d'alcool, l'extraction par l'éther des fractions non cétoniques pourra être assez incomplète, la fraction cétonique sera souillée, mais le passage d'un peu d'alcool dans la phase étherée n'entraînera pas de perte sensible de cétone.

Il est quelques cas extrêmes, cependant, où la formation d'émulsions est presque inévitable, en raison, sans doute, de la structure particulière des cétones et de leur poids moléculaire considérable. On devra alors modifier complètement le mode opératoire ci-dessus décrit, en mettant à profit la solubilité des combinaisons cétoniques du réactif *T*, et du réactif lui-même, dans le glycol et l'insolubilité presque totale de ce dernier solvant dans l'éther. On opérera de la manière suivante:

La matière à étudier est chauffée à reflux pendant une heure avec une quantité convenable d'alcool absolu, renfermant 10% d'acide acétique et 5 à 10% de réactif *T*. On ajoute ensuite à ce mélange une quantité de glycol égale au volume de l'alcool employé, puis on distille la majeure partie de ce dernier dans la vide.



— 1100 —

Sur la solution glycolique restante on effectue autant d'extractions avec de l'éther *sec* qu'il est nécessaire pour éliminer les fractions non cétoniques, sans se préoccuper de neutraliser l'acide acétique, puisqu'aucune hydrolyse n'est à craindre en milieu anhydre. Lorsque l'éther n'extrait plus rien, on dilue la solution glycolique avec un grand volume d'eau, on acidifie à la normale avec de l'acide sulfurique, puis après une heure d'abandon on extrait la fraction cétonique à l'éther.

C'est ce dernier mode opératoire qui fut appliqué sur un extrait de vitamine *E*, hautement purifié, que le Professeur *Drummond* voulut bien nous confier. La fraction cétonique qui pesait quelques milligrammes seulement fut trouvée inactive¹⁾.

Il va sans dire que les deux modes opératoires que nous venons de décrire peuvent être modifiés et variés dans de grandes limites, et faire intervenir, par exemple, la filtration ou la centrifugation, à la place de l'extraction étherée.

Certaines cétones se combinent aux réactifs *T* et *P* avec des vitesses extrêmement variables, d'autres, une fois combinées, ne se laissent hydrolyser qu'avec plus ou moins de lenteur. Les deux phénomènes ne paraissent toutefois pas être le corollaire l'un de l'autre. Les méthylcétones semblent se combiner avec le maximum de rapidité: au sein de l'acide acétique la combinaison est totale en quelques secondes à froid, toutefois les arylméthylcétones font exception à cette règle, leur combinaison est considérablement plus lente. Cette action empêchante des groupes aryles, fixés sur le carbonyle, est portée au maximum dans les diarylcétones, c'est ainsi que la benzophénone ne se combine plus avec le réactif *T* qu'avec la plus extrême difficulté et avec le concours d'un chauffage très prolongé.

Les cyclanones, d'une façon générale, nous ont paru se combiner moins vite que les méthylcétones sauf lorsqu'elles renferment une double liaison en α, β comme la cholesténone et la testostérone. Dans ce dernier cas, nous avons noté que les combinaisons hydro-solubles montraient une plus grande résistance à l'hydrolyse acide.

Cette grande variabilité dans l'aptitude à l'hydrolyse des hydrazones *T* a été mise, par nous, plusieurs fois à profit pour séparer, non seulement, les aldéhydes des cétones, mais effectuer un véritable fractionnement dans le groupe même des cétones.

Dans les conditions expérimentales habituelles, nous n'avons pas observé de fixation du réactif hydrazinique sur les doubles liaisons, dans le cas des cétones α, β non saturées, cependant il nous paraît impossible d'exclure complètement cette possibilité.

¹⁾ *Drummond, Singer, Mac Walter, Biochem. J. 29, 2510 (1935).*



Comme il était prévisible, l'accumulation des groupements substituants dans le voisinage du carbonyle, atténue ou fait disparaître l'aptitude à la combinaison. C'est ainsi que le diméthylcamphre ne se combine plus au réactif *T*, qui, à cet égard, se comporte comme la semicarbazide elle-même.

Recherche qualitative des composés carbonylés.

Nous avons vu que les hydrazones hydrosolubles fournies par les réactifs *T* et *P* se comportent comme de véritables sels d'alcaloïdes, à l'égard des réactifs généraux de précipitation de ce groupe. Comme certains d'entre eux ne donnent pas de précipités avec le chlorure de triméthyl-acéthydrazide-ammonium, *lorsque certaines conditions particulières sont réalisées*, il était possible de fonder sur l'emploi de ce dernier réactif (le réactif *P* ne convenant pas ici) une méthode de caractérisation de groupe pour les substances carbonylées.

L'acide picrique ne précipite pas le réactif *T* en solution convenablement diluée, par contre il précipite les hydrazones *T*, mais la sensibilité de cette réaction de précipitation est assez faible, de plus elle est très diminuée par la présence d'alcool et d'éther dans le milieu aqueux.

L'iodure double de bismuth et de potassium se montre un réactif beaucoup plus sensible; il ne précipite pas lui-même le réactif *T* lorsque les conditions suivantes sont réalisées:

1° dilution convenable de la phase aqueuse de manière que la concentration en réactif *T* ne dépasse pas 1/100.

2° addition à la phase aqueuse de 10% d'iodure de potassium cristallisé.

3° emploi, en quantité limitée, d'un réactif convenablement dilué et renfermant une teneur minimum d'acide minéral.

Ce réactif est le suivant:

Iodure de bismuth pur pulvérisé . .	1 gr.
Iodure de potassium	10 „
Acide chlorhydrique concentré . . .	5 cm ³
Eau, Q.S. pour	100 „

La présence d'une hydrazone *T* dans la solution provoque la formation immédiate d'un précipité orangé floconneux. On ne tiendra pas compte du beau précipité cristallin rouge qui se forme parfois au fond des tubes à essais, après quelques heures d'abandon, et qui est dû au réactif *T* lui-même. La production de ce dernier est toujours extrêmement lente.

En pratique la solution aqueuse, dans laquelle on cherche à caractériser la présence de composés carbonylés, aura la même



composition que celle précédemment décrite, c'est-à-dire qu'elle renfermera 10% d'alcool, 1% de réactif *T* plus ou moins complètement combiné, 1% d'acide acétique neutralisé pour les 9/10, enfin elle sera saturée d'éther, à la suite de l'extraction des substances non cétoniques. Comme les iodobismuthates des hydrazones *T* sont solubles dans l'éther, la sensibilité de la réaction sera accrue si on a eu soin d'éliminer la majeure partie de l'éther en soufflant avec la bouche par un tube effilé plongeant au fond du tube à essais; après 1 à 2 minutes de soufflage l'éther est pratiquement éliminé.

On prélèvera donc 10 cm³ de la solution dans l'ampoule à décantation, on ajoutera 1 gr. d'iodure de potassium cristallisé, on chassera l'éther comme nous venons de l'indiquer, puis on ajoutera 1 cm³ du réactif iodobismuthique. Si cette quantité de réactif n'est pas suffisante pour précipiter la totalité des cétones ou aldéhydes présentes on ajoutera une nouvelle quantité de réactif jusqu'à ce que l'eau-mère présente une coloration jaune.

Mais le réactif, de beaucoup le plus sensible, dont nous recommandons particulièrement l'emploi est l'iodomercurate de potassium, employé lui aussi dans des conditions bien définies.

On préparera donc la solution suivante:

Iodure de mercure	5 gr.
Iodure de potassium	10 „
Eau	500 cm ³

On prélèvera 10 cm³ de la solution aqueuse à examiner dans un large tube à essais, on éliminera l'éther avec soin par 2 à 3 minutes de soufflage et on ajoutera 1 cm³ de la solution iodomercurique. Si les hydrazones *T* sont en quantité importante, on versera du réactif jusqu'à ce que le précipité n'augmente plus; s'il ne se produit qu'un louche on se gardera d'ajouter un excès de réactif.

Au cours de la préparation du réactif *T*, de petites quantités de bases prennent naissance, qui donnent des précipités très peu solubles avec l'iodomercurate de potassium. Il est donc indispensable de n'employer pour la recherche précédente qu'un réactif de très grande pureté, spécialement préparé et conservé en tube scellé, qu'on contrôlera au moment de l'emploi, par des essais témoins.

Il va sans dire que la cause d'erreur très grossière, que constituerait la présence d'alcaloïdes vrais dans la matière à essayer, devra être éliminée par un traitement approprié, tel qu'une extraction très complète de la substance, mise en solution étherée, par l'acide chlorhydrique dilué.

La sensibilité de la méthode que nous venons de décrire, est en général grande, bien qu'elle comporte de très importantes variations suivant la nature des composés carbonylés et surtout la grandeur de leur poids moléculaire.



L'iodomercurate de potassium donne encore un louche très sensible avec des solutions renfermant 30 γ d'aldéhyde cinnamique par cm^3 .

Avec la folliculine la sensibilité est telle qu'elle permet de mettre en évidence la présence de quelques γ dans un essai microchimique

Les nouveaux hydrazides à fonction ammonium quaternaire, qui font l'objet de ce mémoire, ne sauraient prétendre se substituer aux grands réactifs du carbonyle qui ont joué un rôle si important dans le progrès de la chimie organique et notamment dans l'analyse immédiate des matières naturelles. Ils permettront cependant, presque toujours, de concentrer dans une très faible fraction la totalité des substances cétoniques présentes dans un extrait quelconque, même lorsque celles-ci n'existent qu'en quantités pratiquement impondérables, ce qu'aucune autre méthode ne permettait de réaliser.

Plusieurs substances cétoniques, douées d'une très grande activité physiologique, ont été découvertes dans ces dernières années, tant dans les urines, que dans les tissus animaux et végétaux. La folliculine de l'urine des femelles gravides, l'androstérone et la trans-déhydro-androstérone de l'urine d'homme, la testostérone du testicule et la progestérone du corps jaune, se laissent concentrer ou isoler par notre méthode avec la plus grande facilité.

Récemment, Reichstein¹⁾ au cours d'un travail fondamental sur l'hormone corticosurrénale et les substances si intéressantes qui l'accompagnent, a utilisé avec succès les propriétés du chlorure de triméthyl-acéthydrazide-ammonium.

Entre nos mains, le réactif *T* a permis de réaliser, dès 1931, la première fabrication industrielle de la folliculine. Depuis nous avons pu, grâce à lui, mettre en évidence la présence de constituants cétoniques dans de nombreuses substances naturelles où leur présence était jusqu'ici ignorée, telle l'huile d'olives, par exemple, dont le principe odorant est de nature cétonique. Des essences naturelles réputées pour leur pauvreté en substances carbonylées ont fourni, par le traitement décrit plus haut, une importante fraction cétonique dont nous nous proposons de poursuivre l'étude.

PARTIE EXPÉRIMENTALE.

Préparation du chlorure de triméthyl-acéthydrazide-ammonium.

Dans un ballon de 5 litres on introduit 2 litres d'alcool absolu, 984 gr. de chloracétate d'éthyle, puis 280 gr. de triméthylamine anhydre, préalablement bien refroidie dans un mélange réfrigérant.

¹⁾ Reichstein, *Helv.* **19**, 29 (1936).



La réaction commence presque aussitôt et l'échauffement porte le liquide vers 75°, sans qu'il y ait toutefois perte sensible d'amine. Après 12 à 24 heures de repos, on ajoute de nouveau 200 gr. de triméthylamine, et on laisse la réaction s'achever d'elle-même jusqu'au lendemain. On s'assurera que la réaction est complète en précipitant quelques centimètres cubes de la liqueur dans l'eau acidulée; la solution ainsi obtenue doit être limpide et ne plus présenter l'odeur du chloracétate d'éthyle.

Dans la solution d'éther-sel éthylique de la bétaine ainsi obtenue, on ajoute, d'un seul coup, 400 gr. d'hydrate d'hydrazine pur. Une réaction immédiate très exothermique se produit, accompagnée d'un léger dégagement de bulles gazeuses. On agite vivement le liquide, qui, après un temps variant de quelques minutes à une heure, se prend en un magma cristallin très compact. Après un jour de refroidissement à la glacière, on jette sur filtre, on essore avec soin la masse d'aiguilles blanches, on la lave avec un peu d'alcool absolu glacé, en évitant, autant que possible, de prolonger le contact avec l'humidité de l'air. Le réactif *T* est ensuite séché dans le vide sulfurique.

Les eaux-mères alcooliques, concentrées dans le vide, fournissent une nouvelle quantité de réactif, un peu moins pur toutefois.

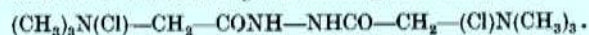
Le rendement du premier jet dépasse souvent 1100 gr. et le rendement général est voisin de 90% de la théorie.

Il est essentiel de garder le chlorure de triméthyl-acéthydrazide-ammonium dans des flacons très bien bouchés, dans lesquels sa conservation est indéfinie.

Exposé à l'humidité atmosphérique le réactif *T* s'altère en développant une odeur très désagréable.

Dans la technique il est inutile de le dessécher, et on le conserve fort longtemps dans des pots bien bouchés avec les 15 ou 20% d'alcool qu'il peut retenir.

Le produit brut, précédemment obtenu, n'est pas tout à fait pur, il est souvent souillé d'un faible pourcentage de dihydrazide symétrique



Tel quel, il convient parfaitement pour l'usage courant, mais non pour la recherche qualitative des substances carbonylées, à l'iodure de mercure.

Pour l'avoir tout à fait pur on modifiera comme suit la préparation précédente.

La solution alcoolique, contenant l'éther-sel éthylique de la bétaine, est introduite lentement dans un ballon de 5 litres entouré d'un mélange réfrigérant et muni d'un dispositif d'agitation énergique, dans celui-ci on a placé 2 litres d'alcool et 600 gr. d'hydrate d'hydrazine (soit un excès de 50% sur la quantité théorique). On règle la vitesse d'introduction, de telle manière que la température à l'intérieur du



ballon se maintienne entre 10 et 15°. Le réactif *T* ne tarde pas à se séparer en une bouillie de fines aiguilles, qu'on essore et lave ensuite très complètement à l'alcool absolu. Après une seule cristallisation dans ce solvant il est chimiquement pur. On le sèche dans le vide sulfurique et le conserve autant que possible en ampoules scellées en vue des travaux analytiques. Comme l'eau-mère de la préparation précédente renferme un excès de 200 gr. d'hydrazine, on peut l'utiliser à la préparation d'une nouvelle quantité de réactif, moins pur, en la faisant réagir sur une liqueur d'éther-sel éthylique de la betaine préparée à partir de 1 litre d'alcool, 492 gr. de chloracétate d'éthyle et 240 gr. de triméthylamine.

Le chlorure de triméthyl-acéthhydrazide-ammonium fond à 192° (corr.) en se décomposant légèrement.

Préparation du chlorure d'acéthhydrazide-pyridinium.

Dans un ballon de 5 litres muni d'un réfrigérant à reflux, on introduit 2 litres d'alcool absolu, 632 gr. de pyridine pure anhydre et 984 gr. de chloracétate d'éthyle.

On porte le tout deux à trois heures à reflux, jusqu'à ce qu'une prise d'essai, précipitée dans l'eau acidulée par l'acide sulfurique, s'y dissolve complètement, et que l'odeur du chloracétate d'éthyle ait disparu.

Dans la solution ainsi obtenue, et convenablement refroidie, on verse d'un seul coup 400 gr. d'hydrate d'hydrazine dissous dans 500 cm³ d'alcool absolu.

Une réaction très exothermique se développe aussitôt, accompagnée d'un vif dégagement de bulles gazeuses. Le réactif *P* se sépare presque immédiatement, souvent légèrement coloré en rose.

On l'essore, le lave sur filtre avec de l'alcool froid, dans lequel il est peu soluble, et le sèche à l'air libre. Rendement 90 % de théorie.

Si on désire l'avoir tout à fait pur, on pourra utiliser la modification que nous avons décrite précédemment à propos du réactif *T*.

La recristallisation, qui est, en pratique, inutile, peut se faire, soit dans l'alcool éthylique, soit mieux dans le méthanol.

Par cristallisation lente nous avons obtenu le chlorure d'acéthhydrazide-pyridinium en aiguilles magnifiques mesurant 4 à 5 cm de longueur et se décomposant, avant de fondre, au dessus de 200° (corr.).

Extraction de la folliculine (oestrone) à partir d'extraits d'urine de juments gravides.

500 gr. d'une huile d'hormone brute, provenant de l'extraction par les solvants organiques, d'urines de juments gravides, préa-



lablement concentrées et soumises à l'hydrolyse acide, sont dissous dans 1,5 litres d'alcool absolu. Cette solution est introduite dans un ballon muni d'un réfrigérant à reflux, et additionnée de 150 gr. d'acide acétique cristallisable, exactement pesé, et de 75 gr. de réactif *T*. Le tout est porté à reflux pendant une heure.

Dans un grand flacon de 20 litres on introduit 7 litres d'eau, 3 kg de glace pilée, 3 litres d'éther et une quantité de soude concentrée correspondant à la neutralisation exacte de 135 gr. d'acide acétique, puis on verse, d'un seul coup, le contenu du ballon et agite vigoureusement le flacon pendant 5 à 6 minutes.

Le liquide se décante très vite en deux couches limpides, tandis qu'une substance goudronneuse noire adhère aux parois. On sépare quantitativement la couche aqueuse et on la soumet aussitôt à une deuxième extraction avec 2 litres d'éther (dont la neutralité aura été vérifiée). Après une bonne agitation, suivie de repos, on sépare la couche aqueuse qui est faiblement colorée en brun.

Celle-ci est additionnée de 800 cm³ d'acide chlorhydrique concentré et de trois litres d'éther, puis abandonnée au repos pendant une heure. On effectue une agitation de 5 minutes au début, pour faire passer en solution dans l'éther, l'œstrone, au fur et à mesure de sa séparation, et avant qu'elle ne cristallise, puis on renouvelle cette agitation de quart d'heure en quart d'heure. Après décantation, la couche aqueuse est de nouveau extraite à l'éther. Les éthers réunis sont lavés avec du carbonate de sodium dilué, jusqu'à soustraction de toutes les fractions acides, puis distillés.

Après avoir chassé les dernières portions de l'éther dans le vide, on recueille une huile brunâtre d'odeur aromatique assez agréable, dans laquelle la majeure partie de la folliculine cristallise déjà après quelques heures, accompagnée de ses hormones satellites l'équiline et l'équilénine.

L'huile dans laquelle baignent les cristaux, est constituée par un mélange très complexe de cétones, dont les unes sont phénoliques et les autres insolubles dans les alcalis. On termine la séparation des hormones en mettant à profit ce dernier mode de fractionnement.

Il est convenable, avant d'isoler la fraction phénolique-cétonique, de soumettre l'huile brune à une légère saponification alcaline, car la folliculine semble y exister partiellement à l'état étherifié.

Préparation d'alcool méthylique exempt d'acétone.

L'alcool méthylique, pur du commerce, ne renferme en général que de faibles quantités d'acétone qui doivent cependant être éliminées dans certains cas particuliers. Ces faibles quantités d'acétone peuvent être très facilement soustraites de la manière suivante.



— 1107 —

L'alcool est additionné de 5% d'acide acétique et de la quantité convenable de réactif *P* (d'ailleurs très variable suivant la richesse en acétone); après une heure de chauffage à reflux, on distille l'alcool au bain-marie. On effectue ensuite une deuxième distillation, après avoir dissous un excès de sodium pour fixer la petite quantité d'acide acétique entraînée et saponifier une trace d'acétate de méthyle, formée pendant le premier temps de l'opération.

Paris, 11, Square de Port Royal.



10. 7.11.1938 Sur une nouvelle méthode de séparation quantitative des composés alcooliques.

CHIMIE BIOLOGIQUE. — *Sur une nouvelle méthode de séparation quantitative des composés alcooliques*. Note de MM. **GEORGES SANDULESCO** et **ANDRÉ GIRARD**.

Parmi les nombreuses méthodes préconisées pour la séparation des composés alcooliques, d'un milieu complexe, seul le procédé de Haller ⁽¹⁾ aux monoesters phthaliques ou succiniques présente un certain degré de généralité. Cependant, avec les termes élevés voisins ou supérieurs à C²⁰, les difficultés opératoires deviennent très grandes et les séparations incomplètes.

Les propriétés remarquables des combinaisons ammoniums quaternaires que nous avons appliquées à l'extraction des composés carbonylés ⁽²⁾ nous ont incité à chercher une technique analogue applicable aux alcools, en engageant ceux-ci sous forme d'esters bétainiques.

Pour des raisons d'ordre pratique, nous avons donné la préférence à la préparation préalable des esters chloracétiques par action d'un excès d'anhydride chloracétique sur l'alcool, suivie de la combinaison des chloroesters formés avec une base tertiaire en milieu indifférent, *non hydroxylé*, et en vase clos.

Les esters des alcools primaires et secondaires s'obtiennent avec la plus grande facilité par l'anhydride chloracétique à la température du bain-marie; ceux des alcools tertiaires, corps fragiles, exigent d'après Boulez ⁽³⁾ la dilution dans un milieu indifférent (carbure ou éther-oxyde). Il s'ensuit que la combinaison des composés alcooliques contenus dans un mélange de nature inconnue doit s'effectuer toujours dans un solvant indifférent. La méthode s'applique de même aux phénols à solubilité très faible dans les alcalis, comme c'est le cas des orthoxy-cétones.

Les esters ammoniums ainsi obtenus se dissolvent aisément dans l'eau et leur solution aqueuse peut être soumise à plusieurs extractions aux solvants, sans qu'il en résulte un partage pour la combinaison hydro-

⁽¹⁾ *Comptes rendus*, 122, 1896, p. 865.

⁽²⁾ *Helvetica Chimica Acta*, 19, 1936, p. 1095.

⁽³⁾ *Bull. Soc. Chim. France*, 4^e série, 1, 1907, p. 147.



(2)

soluble. Au cours des extractions, certains dérivés ammoniums, notamment ceux des stérols, ont une tendance à émulsionner le milieu. On évite cet inconvénient par addition de 10 à 20 pour 100 d'acide acétique ou lactique à la phase aqueuse.

La grande sensibilité des esters α aminés aux alcalis, signalée comme propriété générale par E. Fischer, est précieuse pour le cas qui nous occupe. Elle permet, en effet, la régénération des alcools engagés dans la combinaison hydrosoluble, par simple addition d'un excès de potasse à la solution aqueuse maintenue à la température ordinaire.

La méthode est utilisable aussi dans le cas particulier des phénols-alcools, comme on en rencontre dans le groupe des hormones œstrogènes.

A cet effet il suffit de bloquer d'abord la fonction phénol sous forme de benzoate par la technique de Schotten-Baumann, pour séparer ensuite à l'état d'ester-ammonium, cette catégorie de composés de la multitude de phénols simples que renferme un extrait d'urine. Ce dernier procédé a reçu une application importante, en permettant d'isoler l'œstradiol et l'œstriol à partir des fractions non cétoniques des extraits d'urine de jument gravis.

Enfin son grand pouvoir d'extraction nous a permis d'isoler les constituants alcooliques contenus en très faible proportion dans les produits naturels. Ainsi, le cholestérol, à la dilution de 1^{er} par litre d'huile d'olive, est extrait quantitativement par cette méthode. Toutefois, le produit est accompagné d'impuretés complexes à caractère alcoolique.

Mode opératoire. — Nous effectuons la chloracétylation par chauffage à l'abri de l'humidité pendant 3 à 4 heures au bain-marie bouillant avec une quantité d'anhydride chloracétique variable (suivant l'indice d'acétyle) mais ne descendant pas au-dessous de 10 pour 100 en poids de la substance mise en œuvre; celle-ci étant dissoute dans son poids de dioxane pur.

Afin d'éliminer l'excès d'anhydride chloracétique et l'acide chloracétique formé, on dissout le mélange réactionnel dans l'éther et on lave la solution étherée d'abord avec son volume d'eau, puis deux ou trois fois avec une solution de bicarbonate de soude.

Le produit chloracétylé brut, obtenu après distillation de l'éther, est redissous dans son poids de dioxane et introduit dans un récipient à parois épaisses. Le contenu du flacon est additionné ensuite d'un excès de 10 à 20 pour 100 de triéthylamine pure (ou de triméthylamine anhydre en solution dioxanique) par rapport à la quantité calculée suivant la teneur en hydroxyle de la substance primitive. Le flacon hermétiquement bouché est immergé dans un bain-marie et chauffé à 100° pendant 1 à 2 heures. Ce traitement transforme assez souvent la solution dioxanique en gelée par suite de l'insolubilité des chlorures d'ammoniums quaternaires.

Le flacon est refroidi lentement, puis son contenu est repris successivement avec de



(3)

l'éther et de l'eau renfermant 10 à 20 pour 100 de son volume d'acide acétique. Toutes les solutions rassemblées dans une ampoule à décanter donnent deux phases distinctes, sans émulsion. On décante la phase aqueuse et l'on épuise de nouveau la solution étherée avec un peu d'acide acétique dilué. Les solutions acides réunies, puis extraites une fois à l'éther, contiennent tous les composés alcooliques à l'état de chlorures d'esters ammoniums.

Pour régénérer les alcools, on traite la phase aqueuse additionnée d'un certain volume d'éther par une lessive de soude jusqu'à réaction alcaline persistante à la phtaléine. Il y a échauffement notable et les alcools mis en liberté sont extraits instantanément par l'éther. Une ébullition de la solution alcaline est superflue.

Il est aisé de concevoir que ce mode opératoire peut être largement modifié suivant les cas.

Bien que plusieurs alcools tertiaires se soient comportés normalement dans ce traitement, des réserves doivent être faites en ce qui concerne les substances de ce groupe très sensibles aux agents de déshydratation.

Enfin les esters méthyliques des acides-alcools ne subissant pas sensiblement de saponification au cours des traitements peuvent être séparés aisément. Ainsi dans un mélange synthétique de ricinoléate et d'oléate de méthyle l'un et l'autre peuvent être séparés quantitativement, et il semble possible d'entrevoir une application importante de la méthode dans l'analyse immédiate des corps gras.

(Extrait des *Comptes rendus des séances de l'Académie des sciences*,
t. 207, p. 874, séance du 7 novembre 1938.)



Cette communication a été publiée, à son époque, dans Gallica. Académie des sciences. Comptes rendus hebdomadaires des séances. 1938. Tome 207. Pages 874, 875, 876.

[ark:/12148/cb343481087/date](https://nvl.net/ark:/12148/cb343481087/date)

874

ACADÉMIE DES SCIENCES.

CHIMIE BIOLOGIQUE. — *Sur une nouvelle méthode de séparation quantitative des composés alcooliques*. Note de MM. **GEORGES SANDULESCO** et **ANDRÉ GIRARD**, présentée par M. Richard Fosse.

Parmi les nombreuses méthodes préconisées pour la séparation des composés alcooliques, d'un milieu complexe, seul le procédé de Haller ⁽¹⁾ aux monoesters phtaliques ou succiniques présente un certain degré de généralité. Cependant, avec les termes élevés voisins ou supérieurs à C²⁰, les difficultés opératoires deviennent très grandes et les séparations incomplètes.

Les propriétés remarquables des combinaisons ammoniums quaternaires que nous avons appliquées à l'extraction des composés carbonylés ⁽²⁾ nous ont incité à chercher une technique analogue applicable aux alcools, en engageant ceux-ci sous forme d'esters bétainiques.

Pour des raisons d'ordre pratique, nous avons donné la préférence à la préparation préalable des esters chloracétiques par action d'un excès d'anhydride chloracétique sur l'alcool, suivie de la combinaison des chloroesters formés avec une base tertiaire en milieu indifférent, *non hydroxylé*, et en vase clos.

Les esters des alcools primaires et secondaires s'obtiennent avec la plus

⁽¹⁾ *Comptes rendus*, 122, 1896, p. 865.

⁽²⁾ *Helvetica Chimica Acta*, 19, 1936, p. 1095.



grande facilité par l'anhydride chloracétique à la température du bain-marie; ceux des alcools tertiaires, corps fragiles, exigent d'après Boulez⁽²⁾ la dilution dans un milieu indifférent (carbure ou éther-oxyde). Il s'ensuit que la combinaison des composés alcooliques contenus dans un mélange de nature inconnue doit s'effectuer toujours dans un solvant indifférent. La méthode s'applique de même aux phénols à solubilité très faible dans les alcalis, comme c'est le cas des orthoxy-cétones.

Les esters ammoniums ainsi obtenus se dissolvent aisément dans l'eau et leur solution aqueuse peut être soumise à plusieurs extractions aux solvants, sans qu'il en résulte un partage pour la combinaison hydrosoluble. Au cours des extractions, certains dérivés ammoniums, notamment ceux des stérols, ont une tendance à émulsionner le milieu. On évite cet inconvénient par addition de 10 à 20 pour 100 d'acide acétique ou lactique à la phase aqueuse.

La grande sensibilité des esters α aminés aux alcalis, signalée comme propriété générale par E. Fischer, est précieuse pour le cas qui nous occupe. Elle permet, en effet, la régénération des alcools engagés dans la combinaison hydrosoluble, par simple addition d'un excès de potasse à la solution aqueuse maintenue à la température ordinaire.

La méthode est utilisable aussi dans le cas particulier des phénols-alcools, comme on en rencontre dans le groupe des hormones œstrogènes.

A cet effet il suffit de bloquer d'abord la fonction phénol sous forme de benzoate par la technique de Schotten-Baumann, pour séparer ensuite à l'état d'ester-ammonium, cette catégorie de composés de la multitude de phénols simples que renferme un extrait d'urine. Ce dernier procédé a reçu une application importante, en permettant d'isoler l'oestradiol et l'oestriol à partir des fractions non cétoniques des extraits d'urine de jument gravis.

Enfin son grand pouvoir d'extraction nous a permis d'isoler les constituants alcooliques contenus en très faible proportion dans les produits naturels. Ainsi, le cholestérol, à la dilution de 1^{er} par litre d'huile d'olive, est extrait quantitativement par cette méthode. Toutefois, le produit est accompagné d'impuretés complexes à caractère alcoolique.

Mode opératoire. — Nous effectuons la chloracétylation par chauffage à l'abri de l'humidité pendant 3 à 4 heures au bain-marie bouillant avec une quantité d'anhydride chloracétique variable (suivant l'indice d'acétyle) mais ne descendant pas au-dessous

(²) *Bull. Soc. Chim. France*, 4^e série, 1, 1907, p. 147.



de 10 pour 100 en poids de la substance mise en œuvre; celle-ci étant dissoute dans son poids de dioxane pur.

Afin d'éliminer l'excès d'anhydride chloracétique et l'acide chloracétique formé, on dissout le mélange réactionnel dans l'éther et on lave la solution étherée d'abord avec son volume d'eau, puis deux ou trois fois avec une solution de bicarbonate de soude.

Le produit chloracétylé brut, obtenu après distillation de l'éther, est redissous dans son poids de dioxane et introduit dans un récipient à parois épaisses. Le contenu du flacon est additionné ensuite d'un excès de 10 à 20 pour 100 de triéthylamine pure (ou de triméthylamine anhydre en solution dioxanique) par rapport à la quantité calculée suivant la teneur en hydroxyle de la substance primitive. Le flacon hermétiquement bouché est immergé dans un bain-marie et chauffé à 100° pendant 1 à 2 heures. Ce traitement transforme assez souvent la solution dioxanique en gelée par suite de l'insolubilité des chlorures d'ammoniums quaternaires.

Le flacon est refroidi lentement, puis son contenu est repris successivement avec de l'éther et de l'eau renfermant 10 à 20 pour 100 de son volume d'acide acétique. Toutes les solutions rassemblées dans une ampoule à décanter donnent deux phases distinctes, sans émulsion. On décante la phase aqueuse et l'on épuise de nouveau la solution étherée avec un peu d'acide acétique dilué. Les solutions acides réunies, puis extraites une fois à l'éther, contiennent tous les composés alcooliques à l'état de chlorures d'esters ammoniums.

Pour régénérer les alcools, on traite la phase aqueuse additionnée d'un certain volume d'éther par une lessive de soude jusqu'à réaction alcaline persistante à la phthaléine. Il y a échauffement notable et les alcools mis en liberté sont extraits instantanément par l'éther. Une ébullition de la solution alcaline est superflue.

Il est aisé de concevoir que ce mode opératoire peut être largement modifié suivant les cas.

Bien que plusieurs alcools tertiaires se soient comportés normalement dans ce traitement, des réserves doivent être faites en ce qui concerne les substances de ce groupe très sensibles aux agents de déshydratation.

Enfin les esters méthyliques des acides-alcools ne subissant pas sensiblement de saponification au cours des traitements peuvent être séparés aisément. Ainsi dans un mélange synthétique de ricinoléate et d'oléate de méthyle l'un et l'autre peuvent être séparés quantitativement, et il semble possible d'entrevoir une application importante de la méthode dans l'analyse immédiate des corps gras.

A 15*35* l'Académie se forme en Comité secret.



THE GIRARD REACTION

Nature **173**, 401-402 (27 February 1954).

The Girard Reaction

D. A. FORSS & E. A. DUNSTONE

Dairy Research Section, Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, Melbourne, Australia. Sept. 22.

Girard and Sandulesco¹ developed a method now known as the 'Girard reaction' for the isolation of small amounts of ketosteroids such as the sex hormones from natural products. Aldehydes and ketones in the mixture are converted into water-soluble hydrazone derivatives by treatment with the 'Girard P' or 'T' reagent, and the non-carbonyl compounds are removed by extraction with a non-polar solvent like ether. The ketone complexes are rapidly decomposed with mineral acid; but the aldehyde derivatives are claimed to be stable except in the presence of a large excess of acid and formaldehyde.

1. Girard, A. , and Sandulesco, G. , *Helv. Chim. Acta* **19**, 1095 (1936). | [Article](#) | [ChemPort](#) |
2. Lederer, E. , and Nachmias, G. , *Bull. Soc. chim. France*, 400 (1949).



PART TWO

The Patents.

Les Brevets.



1. 28.3.1933 Verfahren zur Herstellung von Amino-essigsäurehydraziden.

DEUTSCHES REICH



AUSGEGEBEN AM
21. FEBRUAR 1936

REICHSPATENTAMT
PATENTSCHRIFT
Nr 622 508
KLASSE 12q GRUPPE 13
L 83442 IVa/12q
Tag der Bekanntmachung über die Erteilung des Patents: 14. November 1935

Les Laboratoires Français de Chimiothérapie, André Girard
und Georges Sandulesco in Paris

Verfahren zur Herstellung von Aminoessigsäurehydraziden

Patentiert im Deutschen Reiche vom 28. März 1933 ab

Bekanntlich verbinden sich die Carbonylverbindungen (Aldehyde und Ketone) leicht mit Natriumbisulfit, Hydroxylamin und gewissen Substitutionsprodukten des Hydrazins. Tatsächlich reagiert jedoch das Natriumbisulfit nur mit den Aldehyden und einer kleinen Anzahl Ketonen, wie Methylketonen kleineren Molekulargewichtes. Dabei entstehen wasserlösliche Verbindungen, deren Bildung jedoch selten quantitativ ist, da man gezwungen ist, in heterogenem Medium zu arbeiten.

Andererseits setzt die nicht unbedeutende Löslichkeit der Oxime und der verschiedenen Hydrazone in den organischen Lösungsmitteln gewisse Grenzen bei der Anwendung von Hydroxylamin und der verschiedenen bekannten Hydrazinabkömmlinge. Diese Löslichkeit verhindert die Anwendung dieser Reagenzien in den Fällen, in welchen die Carbonylverbindungen nur einen geringen Bruchteil der zu behandelnden Masse darstellen, wie es z. B. bei den Hormonen mit Ketonnatur der Fall ist.

Außerdem verlangt die Wiedergewinnung der Ketone und Aldehyde aus den obengenannten wenig löslichen Verbindungen die Anwendung energischer Hydrolysemittel, die oft schädlich wirken, wenn die Aldehyde und Ketone diesen Mitteln gegenüber empfindlich sind.

Um diesen Nachteilen abzuweichen, wird mit der vorliegenden Erfindung danach gestrebt, ein Reagens darzustellen, das in mehreren organischen Lösungsmitteln, insbesondere in Alkohol, löslich ist und welches sich mit den Aldehyden und allen Ketonen verbindet und dadurch zur Entstehung wasserlöslicher Verbindungen der Carbonylgruppe führt. Diese Verbindungen müssen in Äther sehr wenig löslich sein und müssen sich leicht genug zersetzen lassen, um eine quantitative Wiedergewinnung auch der unbeständigsten Aldehyde und Ketone zu gestatten.

Es hat sich herausgestellt, daß diese Bedingungen durch den Gebrauch von Aminoessigsäurehydraziden mit quartärer Ammoniumgruppe erfüllt werden. Sie haben die allgemeine Formel

$$(X)(R_1)(R_2)(R_3)N \cdot CH(R_4) \cdot CO \cdot NH \cdot NH_2$$

in welcher X Halogen, R₁ Wasserstoff oder einen aliphatischen Rest und R₂, R₃ und R₄ aliphatische Reste oder den Rest eines heterocyclischen Ringes bedeuten.

Diese Verbindungen werden leicht durch Einwirkung von Hydrazin oder dessen Hydrate in der Kälte auf die Betainester oder deren Salze erhalten. Dabei findet eine sehr lebhaft Reaktion unter starker Wärmeentwicklung statt. 1 Mol Alkohol wird abgespalten, und das Hydrazid kristallisiert alsbald mit fast quantitativer Ausbeute aus.

Es ist vorteilhaft, in absolutalkoholischer Lösung zu arbeiten, und es ist nicht nötig, von abgetrenntem Betainester auszugehen.



2. 1.5.1934 Mode de préparation d'une classe de réactifs des cétones et ses applications.

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE.

MINISTÈRE DU COMMERCE ET DE L'INDUSTRIE.

DIRECTION DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE.

BREVET D'INVENTION.

Gr. 14. — Cl. 8. N° 767.464

Mode de préparation d'une classe de réactifs des cétones et ses applications.

LABORATOIRES FRANÇAIS de CHIMIOTHÉRAPIE et MM. André GIRARD et Georges SANDULESCO résidant en France (Seine).

Demandé le 19 décembre 1933, à 14^h 10^m, à Paris.
Délivré le 1^{er} mai 1934. — Publié le 18 juillet 1934.
 (Demande de brevet déposée en Allemagne le 28 mars 1933. — Déclaration des déposants.)

L'objet de la présente invention est la préparation et la reconnaissance des propriétés spéciales d'un groupe de réactifs habiles à se combiner avec les aldéhydes et les cétones de tout groupe. Ces combinaisons sont solubles dans l'eau, insolubles à l'éther et assez facilement dissociables pour permettre la régénération quantitative des aldéhydes ou des cétones dissoutes.

Ce groupe de réactifs est celui des hydrazides à fonction ammonium quaternaire; ils ont la forme générale

$$\begin{array}{c} R^1 \quad R^2 \\ \diagdown \quad \diagup \\ R^3 - N - CH - CO - NH - NH^+ \\ \diagup \quad \diagdown \\ R^4 \quad X \end{array}$$

On les prépare par action à froid de l'hydrazine ou de son hydrate sur les éthers des bétaines ou leurs sels.

La réaction se développe immédiatement exothermique, avec élimination d'alcool.

Les radicaux R^1 , R^2 , R^3 peuvent être remplacés par des chaînes fermées et R^4 par H.

On peut de préférence opérer en alcool absolu, et il n'est pas nécessaire d'isoler l'éther de bétaine.

Celui-ci se prépare en solution par le procédé connu de l'action d'une molécule d'amine tertiaire sur une molécule d'éther halogéné. Après quoi on ajoute l'hydrate d'hydrazine.

On pourrait opérer par processus inverse, 30 mais avec des rendements plus faibles.

On pourrait encore faire agir l'hydrazine sur les anhydrides ou les chlorures des éthers sels des acides à fonction ammonium quaternaire ou employer toute méthode de préparation des hydrazides appliquée à ce cas particulier.

En réaction sur les aldéhydes ou les cétones, et en particulier avec les hormones sexuelles cétoniques, on obtient des hydrazones solubles dans l'eau, sans coefficient de partage avec l'éther ou les solvants organiques non hydroxylés.

Ces hydrazones très instables en milieu aqueux redonnent les aldéhydes et les cétones non altérées par excès d'aldéhyde formique.

Suivent deux exemples indicatifs :

Exemple 1. — Préparation du chlorure de triméthylacéthylhydrazide-ammonium.

$$Cl (OH^+)^- - N - CH^3 - CO - NH - NH^+$$

Dans un ballon de 5 litres on verse 2 litres

Prix du fascicule 13 francs.



3. 13.2.1936 Verfahren zur Darstellung von 3-Oxy-17-ketoverbindungen der Androstanreihe aus Sterinen.



4. 19.2.1936 Verfahren zur Darstellung von 17-Monoestern des Östradiols.



5a. 23.6.1936 Betaines and Process for Preparing the Same.

Patented June 23, 1936
2,045,132

UNITED STATES PATENT OFFICE

2,045,132
BETAINES AND PROCESS FOR
PREPARING THE SAME

André Girard and Georges Sandulesco, Paris,
France, assignors to Les Laboratoires Français
de Chimiothérapie, Paris, France, a corpora-
tion of France

No Drawing. Application March 27, 1934, Serial
No. 717,592. In Germany March 28, 1935

7 Claims. (Cl. 260—25)

The object of the present invention is to provide a group of reagents capable of combining with aldehydes and ketones of any group whatever. The combinations thus obtained are soluble in water, insoluble in ether (C₂H₅—O—C₂H₅) or any organic non-hydroxylated solvent and are readily dissociated, thus permitting the quantitative regeneration of the dissolved aldehydes and ketones.

The reagents of this group are quaternary ammonium salts with an hydrazide group, whose general formula is the following:

$$\begin{array}{c} R_1 \quad R_2 \\ | \quad | \\ R_3 - N - CH - CO - NH - NH_2 \\ | \\ R_4 \quad X \end{array}$$

These bodies are obtained by causing hydrazine or its hydrate to react, when cold, on the esters of betaines or their salts.

The reaction, which is exothermic, starts immediately, alcohol being eliminated.

The radicals R₁, R₂, and R₃ may be any radicals depending on the bodies treated and can be replaced by closed chains and the radical R₄ is an alkyl group or can be replaced by hydrogen; X stands for an halogen.

It is preferable to work in absolute alcohol. It is not necessary to separate the betaine ester.

The latter is prepared in solution by the known process which consists in causing a molecule of a tertiary amine to react on a molecule of a halogenated ester. The hydrazine hydrate is then added to the resulting product.

We might operate through a reverse process, but in this case the yields would be smaller.

We might also, according to the present invention, cause the hydrazine to react on the anhydrides or the chlorides of the betaines, i. e. of acids having a quaternary ammonium or pyridinium group or make use of any other method of preparing hydrazides as can be applied to the particular instance.

By causing the hydrazides thus obtained to react on aldehydes or ketones, and especially on ketonic sexual hormones, we obtain water-soluble hydrazones, having no solubility in non-hydroxylated organic solvents.

These hydrazones are very unstable in an aqueous medium and they yield back the aldehydes and the ketones without alteration when treated according to known methods for the dissociation of hydrazones, and notably when treated by an excess of formaldehyde, in the presence of an inorganic strong acid.

We will now give two examples of the invention:

Example I.—Preparation of trimethylacetylhydrazide-ammonium chloride.

$$Cl(CH_3)_3 - N - CH_2 - CO - NH - NH_2$$

In a container of a volume of 5 liters, we pour 2 liters of absolute alcohol, 940 grams of pure ethyl chloroacetate, and then 250 grams of anhydrous trimethylamine which has been previously thoroughly cooled in a refrigerating mixture. The formation of ethyl ester of betaine starts immediately, and the temperature of the container quickly reaches 75° C. After complete cooling we again add 200 grams of trimethylamine. This addition is followed by a new heating. The mass is allowed to cool completely for twenty-four hours.

The ethyl ester of betaine, which is quantitatively formed in the course of this reaction, remains dissolved.

In the thoroughly cooled solution we add 380 grams of pure hydrazine hydrate at a time. A very strongly exothermic reaction is immediately started and after stirring, the reaction mixture is left alone. After a short time (several minutes) crystallization starts and finally the whole of the mass solidifies. After a period of twelve hours in a refrigerated medium, we dry the product and wash it with icy cold absolute alcohol. We obtain 1100 grams of the finished product. After evaporation, the mother liquors yield 70 grams of the product. The total amount thus obtained corresponds to 95% of the theoretical amount. Trimethylacetylhydrazide-ammonium chloride is a white solid body which is highly soluble in water, hygroscopic, very soluble in methanol, in crystallizable acetic acid and adapted to be dissolved in boiling absolute alcohol; it melts at 192° C. with decomposition.

Example II.—Preparation of acetylhydrazide-pyridinium chloride.

$$\begin{array}{c} CH_3 - CH - CH_3 \\ | \quad | \\ CH_2 - CH_2 - N - CH_2 - CO - NH - NH_2 \\ | \\ Cl \end{array}$$


5b. 23.6.1936 Betaines and Process for Preparing the Same.

2

We cause the following mixture to boil for ten hours, with reflux:

Anhydrous pyridine.....	800 grams
Ethyl chloracetate.....	1230 grams
Alcohol.....	4 liters

until the reaction mixture has become entirely soluble in water and has lost its tear producing odor.

After cooling, we progressively add 500 grams of hydrazine hydrate dissolved in its volume of absolute alcohol.

A reaction is immediately started and the whole mass of the liquid solidifies. The acethydrazide-pyridinium chloride is freed from liquid, washed with absolute alcohol and then dried in the atmosphere. It is pure after a single recrystallization in alcohol of 96°.

The amount of final product that is obtained is 85% of the theoretical amount.

Acethydrazide-pyridinium chloride melts at 201-202° C. and crystallizes out of 90 per cent alcohol as white needles. It is less soluble than the product of Example 1 and is not hygroscopic.

What we claim is:

1. A method for the manufacture of water-soluble compounds adapted to form water-soluble, readily dissociatable combinations with carbonyl containing compounds, which comprises causing hydrazine to react on an halide of a body selected from the group consisting of ethyl ester of betaine and ethyl ester of pyridine betaine.
2. The manufacture of trimethylacethydrazide-ammonium chloride, which comprises causing ethyl chloracetate to react on anhydrous trimethylamine in absolute alcohol medium, thus forming chloride of betaine ethyl ester, and causing hydrazine hydrate to react with said chloride of betaine ethyl ester.
3. Water-soluble compounds adapted to form with carbonyl containing compounds, water-soluble hydrazones that can be readily dissociated by known hydrazone dissociating media, said

2,045,132

water-soluble compounds being represented by general formula—

$$\begin{array}{c} R_1 \quad R_4 \\ | \quad | \\ R_2 - N - CH - CO - NH - NH_2 \\ | \quad | \\ R_3 \quad X \end{array}$$

in which R₁, R₂, R₃ stand for alkyl groups, X stands for an halogen, R₄ is selected from the group consisting of alkyl groups and hydrogen.

4. The water-soluble compounds of claim 3, in which R₁, R₂, R₃ are connected into a closed chain forming a pyridine ring with the nitrogen.

5. As a new product, trimethylacethydrazide-ammonium chloride represented by formula—

$$Cl(CH_3)_3N-CH_2-CO-NH-NH_2$$

being a white, hygroscopic solid which is soluble in water, methanol, acetic acid and boiling absolute alcohol, which melts at 192° C. with decomposition.

6. As a new product, acethydrazide-pyridinium chloride represented by formula—

$$\begin{array}{c} CH-CH \\ / \quad \backslash \\ CH \quad CH \\ \backslash \quad / \\ CH=CH \end{array} \begin{array}{c} N-CH_2-CO-NH-NH_2 \\ | \\ Cl \end{array}$$

adapted to crystallize out of 90 per cent alcohol in white needles and melting at 201-202° C.

7. The manufacture of acethydrazide-pyridinium chloride, which comprises causing ethyl chloracetate to react on anhydrous pyridine in the presence of alcohol, thus forming chloride of pyridine betaine ethyl ester:

$$\begin{array}{c} CH-CH \\ / \quad \backslash \\ CH \quad CH \\ \backslash \quad / \\ CH=CH \end{array} \begin{array}{c} N-CH_2-COO-C_2H_5 \\ | \\ Cl \end{array}$$

and causing hydrazine hydrate to react with said chloride of pyridine betaine ethyl ester.

ANDRÉ GIRARD.
GEORGES SANDULESCO.



6. 24.5.1937 Procédé pour la préparation de la testostérone et de ses esters.

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE.
MINISTÈRE DU COMMERCE ET DE L'INDUSTRIE.
DIRECTION DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE.

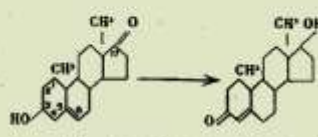
BREVET D'INVENTION.
Gr. 14. — Cl. 8. N° 817.340

Procédé pour la préparation de la testostérone et de ses esters.
Société : LES LABORATOIRES FRANÇAIS DE CHIMIOTHÉRAPIE, MM. André GIRARD et Georges SANDULESCO résidant en France (Seine).

Demandé le 3 février 1937, à 16^h 44^m, à Paris.
Délivré le 24 mai 1937. — Publié le 1^{er} septembre 1937.
(2 demandes de brevets déposées en Allemagne le 4 février 1936. — Déclaration des déposants.)

Pour la préparation de la testostérone (Δ-4,5-androstène-3-one-17-ol) on connaît jusqu'ici deux voies chimiques partant toutes les deux de la trans-déhydroandrostérone.

5



me 214, page 176) après blocage de la double liaison par les halogènes. On deshalogène ensuite la cétone avec migration de la double liaison de la position 5,6 — en position 4,5 et obtient finalement après élimination du radical benzyle la testostérone.

D'après la deuxième méthode (Butenandt, 30
Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft année 1935, tome 68, page 1859; Ruzicka, Helvetica Chimica Acta année 1935, tome 18, page 1264) on transforme d'abord la trans-déhydroandrostérone en androstène-diol dont on acétyle les deux groupes hydroxyle, puis on utilise la différence dans la vitesse de saponification des deux groupes ester pour préparer le monoacétate-17 que l'on oxyde comme indiqué plus haut 40 pour obtenir après saponification la testostérone.

Les deux méthodes comportent certains défauts pour l'utilisation industrielle. En utilisant la première on n'évite pas l'hydrogénéation simultanée de la double liaison en sorte qu'il se forme des mélanges difficilement séparables; quant à l'autre méthode la monosaponification du diacétate ne se fait pas quantitativement, de sorte qu'il se forme un mélange de 4 corps dont le fractionnement est très pénible.

Le procédé des inventeurs est exempt des

L'une (Ruzicka, Helvetica Chimica Acta 1935, tome 18, page 1478) consiste à soumettre l'acétate de la trans-déhydroandrostérone à une hydrogénation ménagée qui permettrait de réduire le groupement cétone en groupe alcool secondaire sans hydrogéner simultanément la double liaison, à benzoyler ensuite le groupe alcool formé en position 17 et de soumettre l'ester mixte à une saponification modérée attaquant seulement le groupe acétyle en position 3, mais non pas le groupe benzyle en position 17 et à oxyder ensuite le groupe hydroxyle libre suivant les méthodes classiques connues pour le squelette du cholestérol (Windaus, Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, année 1906, tome 39, page 518 et Bonstedt, Zeitschr. r. physiol. Chem. année 1933, tome 214, page 176) après blocage de la double liaison par les halogènes. On deshalogène ensuite la cétone avec migration de la double liaison de la position 5,6 — en position 4,5 et obtient finalement après élimination du radical benzyle la testostérone.

D'après la deuxième méthode (Butenandt, 30
Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft année 1935, tome 68, page 1859; Ruzicka, Helvetica Chimica Acta année 1935, tome 18, page 1264) on transforme d'abord la trans-déhydroandrostérone en androstène-diol dont on acétyle les deux groupes hydroxyle, puis on utilise la différence dans la vitesse de saponification des deux groupes ester pour préparer le monoacétate-17 que l'on oxyde comme indiqué plus haut 40 pour obtenir après saponification la testostérone.

Les deux méthodes comportent certains défauts pour l'utilisation industrielle. En utilisant la première on n'évite pas l'hydrogénéation simultanée de la double liaison en sorte qu'il se forme des mélanges difficilement séparables; quant à l'autre méthode la monosaponification du diacétate ne se fait pas quantitativement, de sorte qu'il se forme un mélange de 4 corps dont le fractionnement est très pénible.

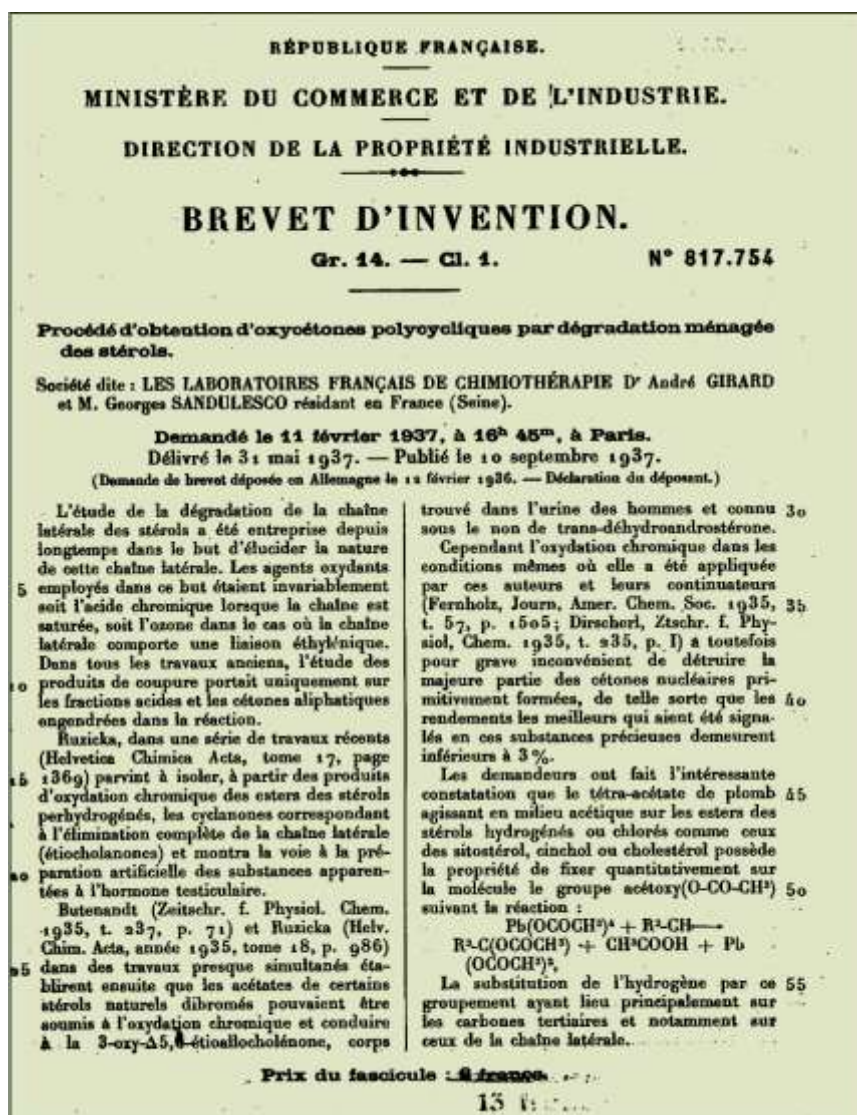
Le procédé des inventeurs est exempt des

Prix du fascicule : 15 Francs.

15



7. 31.5.1937 Procédé d'obtention d'oxycétones polycycliques par dégradation ménagée des stéroïdes.



8. 7.6.1938 Procédé de préparation de l'oestradiol à partir de l'urine des juments.

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE.
MINISTÈRE DU COMMERCE ET DE L'INDUSTRIE.
DIRECTION DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE.

BREVET D'INVENTION.

Gr. 14. — Cl. 1. N° 831.354

Procédé de préparation de l'oestradiol à partir de l'urine des juments.

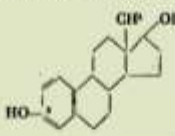
M. Georges SANDULESCO et Société : LES LABORATOIRES FRANÇAIS DE CHIMIOTHÉRAPIE résidant en France (Seine).

Demandé le 24 juillet 1937, à 11^h 37^m, à Paris.
Délivré le 7 juin 1938. — Publié le 1^{er} septembre 1938.
(Demande de brevet déposée en Allemagne le 25 juillet 1936. — Déclaration des déposants.)

On sait que l'efficacité oestrogène de l'urine des juments gravides dépend en grande partie de l'oestrone et des substances qui y sont associées, l'équiline et l'équilénine, qui sont aussi des oxycétones.

Les demandeurs ont découvert qu'un extrait, préparé à partir de l'urine hydrolysée des juments et débarrassée de toutes les substances cétoniques qu'elle contient par les réactifs mentionnés dans le brevet français 787.464 du 19 décembre 1933 aux noms des Laboratoires français de chimiothérapie et de MM. André Girard et Georges Sandulesco, possède encore une efficacité oestrogène considérable. Cette efficacité dépend de la partie phénolique de l'extrait débarrassé des cétones et varie suivant l'origine de l'urine, la période de gravidité à laquelle l'urine a été recueillie et sa conservation (particulièrement dans le cas de fermentations anaérobies en vase clos, elle peut représenter la presque totalité de l'activité primitive).

Cette activité oestrogène de l'extrait est due principalement à l'oestradiol ayant pour formule



et dont le point de fusion est de 174-175° C (coûlé),

$[\alpha]_D^{17} = +80^\circ$ (dans le dioxane).

La portion phénolique de l'urine de juments, qui a été débarrassée de toutes les substances cétoniques, est une huile brun rougeâtre à odeur relativement forte, qui n'a aucune tendance à cristalliser. Quoique la majeure partie de cette portion compren-

ne les composés purement phénoliques, la quantité des composés, qui sont à la fois phénols et alcools, est très petite, l'oestradiol qui forme la partie constitutive principale de ces phénols-alcools ne s'y trouvant que dans la proportion d'environ 1-2%, et par conséquent la séparation de cet oestradiol est très difficile, sinon impossible.

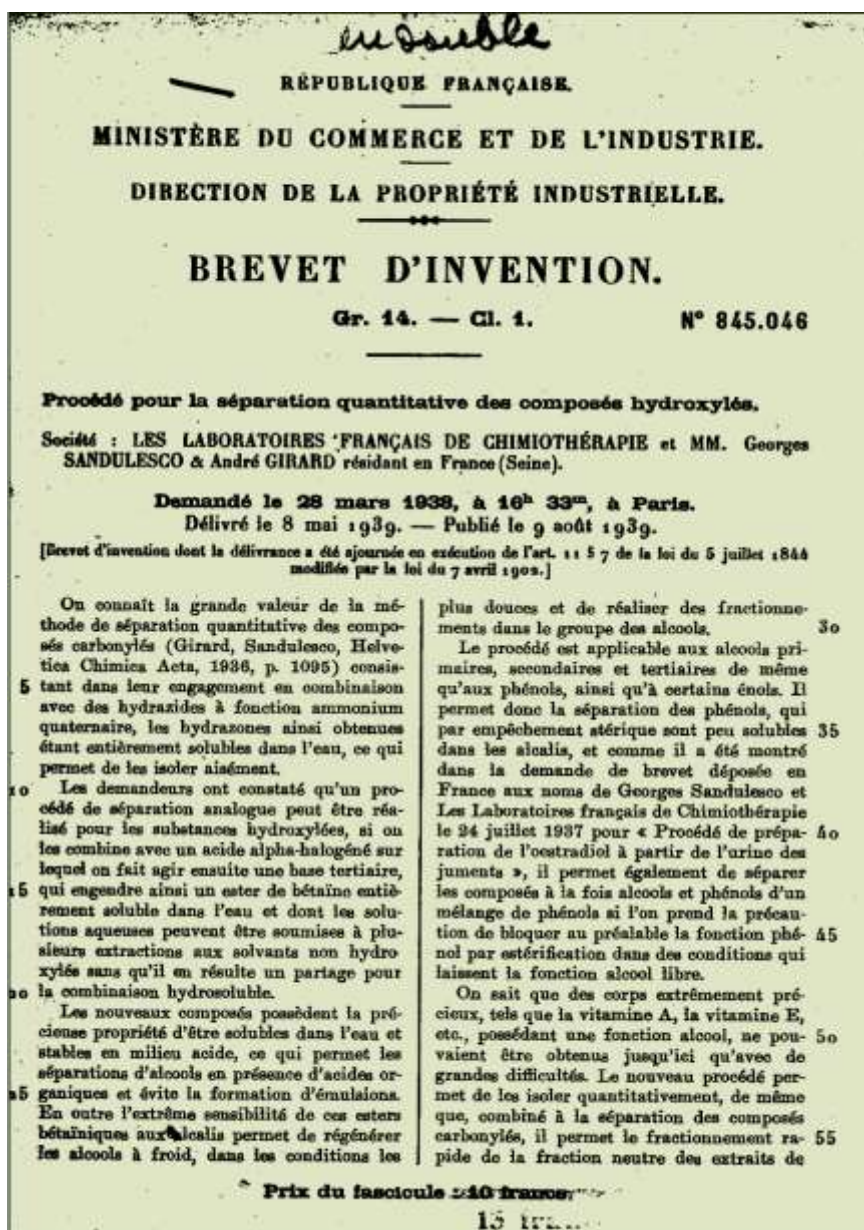
Les demandeurs ont constaté qu'on peut obtenir ces derniers composés facilement et

Prix du fascicule 10 francs.

15



9. 8.5.1939 Procédé pour la séparation quantitative des composés hydroxylés.



10. 26.2.1940 Procédé pour la préparation des dérivés hydroxylés du γ , δ -diphényl-n-hexane.

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE.

MINISTÈRE DU COMMERCE ET DE L'INDUSTRIE.

DIRECTION DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE.

BREVET D'INVENTION.

Gr. 14. — Cl. 1. N° 855.879

Procédé pour la préparation des dérivés hydroxylés du γ , δ -diphényl-n-hexane.

Société : LES LABORATOIRES FRANÇAIS DE CHIMIOTHÉRAPIE et MM. André GIRARD et Georges SANDULESCO résident en France (Seine).

Demandé le 8 février 1939, à 15^h 23^m, à Paris.
Délivré le 26 février 1940. — Publié le 22 mai 1940.

[Brevet d'invention dont la délivrance a été ajournée en exécution de l'article 11, § 7, de la loi du 5 juillet 1844 modifiée par la loi du 7 avril 1902.]

On connaît la grande activité œstrogène du 4,4'-dioxo- γ , δ -diphényl-n-hexane (Dodds, Nature, t. 142, p. 1121, 1938), substance très difficilement accessible jusqu'ici. Il a été trouvé que ce corps ainsi que ses analogues de la formule générale :

$$\text{CH}^{\text{R}} - \text{CH}^{\text{R}'} - \text{CH} - \text{CH} - \text{CH}^{\text{R}} - \text{CH}^{\text{R}'}$$

(où R et R' désignent des radicaux oxybenzéniques identiques ou non, mono- ou polysubstitués par des groupements fonctionnels) peuvent être préparés d'une façon très simple et avec des rendements excellents à partir de produits couramment accessibles, par condensation des n-propyl-oxy-benzènes α -halogénés avec élimination de l'halogène et soudure des deux radicaux en présence d'un métal à action déhalogénante suivant la formule :

$$\text{CH}^{\text{R}} - \text{CH}^{\text{R}'} - \text{CH} - \text{CH} - \text{CH}^{\text{R}} - \text{CH}^{\text{R}'} \rightarrow \text{CH}^{\text{R}} - \text{CH}^{\text{R}'} - \text{CH} - \text{CH} - \text{CH}^{\text{R}} - \text{CH}^{\text{R}'} + \text{MX} + \text{H}_2$$

On travaille avantageusement après blocage des groupes hydroxyle sous forme d'esters, d'éthers-oxydes ou d'acétals mixtes, en présence d'un solvant indifférent anhydre et en employant de préférence le sodium, le potassium ou leur alliage liquide comme agent de condensation. Pour obtenir le dérivé hydroxylé libre du γ , δ -diphényl-n-hexane il suffit de saponifier suivant les méthodes habituelles l'ester, l'éther-oxyde ou l'acétal mixte obtenu. Dans le cas des esters une telle saponification n'est pas toujours désirable, les produits possédant une action plus prolongée que les phénols libres.

On obtient aussi par exemple par condensation de deux molécules de bromhydrate d'anéthol le 4,4'-diméthoxy- γ , δ -diphényl-n-hexane qui, après saponification fournit le 4,4'-dioxo- γ , δ -diphényl-n-hexane. La condensation d'une molécule de bromhydrate d'isoeufrol et d'une molécule de bromhydrate d'anéthol fournit à côté des deux corps symétriques le 4-oxy-3',4'-méthylène-dioxy- γ , δ -diphényl-hexane. En faisant réagir deux molécules de chlorhydrate d'éther méthylque de l'isoeugénol (propényl-3,4-vératrol) on ob-

Prix du fascicule : 10 francs.

13



11. 18.5.1942 Procédé pour la préparation des dérivés sulfamidés.

ÉTAT FRANÇAIS.

SECRÉTARIAT D'ÉTAT A LA PRODUCTION INDUSTRIELLE.

SERVICE DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE.

BREVET D'INVENTION.

Gr. 14. — Cl. 8. N° 874.629

Procédé pour la préparation de dérivés sulfamidés.

Société : LES LABORATOIRES FRANÇAIS DE CHIMIOTHÉRAPIE et MM. GEORGES SANDULESCO et ANDRÉ GIRARD résidant en France (Seine).

Demandé le 11 avril 1941, à 16^h 26^m, à Paris.
Délivré le 18 mai 1942. — Publié le 13 août 1942.

[Brevet d'invention dont la délivrance a été ajournée en exécution de l'art. 11 § 7 de la loi du 5 juillet 1844 modifiée par la loi du 7 avril 1900.]

Les demandeurs ont constaté qu'on arrive à exalter considérablement les propriétés chimiothérapeutiques de la p-amino-benzène-sulfamide par des substitutions appropriées de la molécule telles que celles décrites plus loin. Cette étude les a amenés à une série nouvelle de corps répondant à la formule générale :

$$\text{NH}_2 - \text{C}_6\text{H}_4 - \text{SO}_2\text{NH} - \text{C} \begin{array}{l} \text{NH} \\ | \\ \text{S} - \text{R} \end{array}$$

(R étant un radical alcoyle, aryle, aralcoyle ou hétérocyclique) dont la préparation fait l'objet de la présente demande.

Pour obtenir ces composés on fait réagir de préférence un halogénure d'un acide benzène-sulfonique para-substitué de la formule générale :

$$\text{R}' - \text{C}_6\text{H}_4 - \text{SO}_2\text{X}$$

(R' étant un groupement aminé ou tout autre groupement se laissant transformer ultérieurement en un groupement amine, tel qu'un groupement nitro, nitroso, azo, hydrazo, acylamino ou alcoylamino, etc., et X un halogène) sur une isothionurée S-substituée et on régénère ensuite, s'il y a lieu, la fonction amine par des opérations appropriées.

On peut également faire réagir le sulfohalogénure sur la thionurée elle-même et isomériser par la chaleur le corps intermédiairement obtenu en dérivé N-acylé, puis créer secondairement la substitution désirée sur l'atome de soufre.

A la place du sulfohalogénure on peut employer les anhydrides d'acides sulfoniques.

Les exemples suivants illustrent l'invention sans toutefois la limiter :

Exemple 1. — 235 gr. 5 de p-acétaminobenzène-sulfochlorure sont dissous dans 800 cc de méthyléthylcétone et introduits dans un ballon dans lequel se trouvent 140 grammes de sulfate de 8-méthylisothiazurée dissous dans 600 cc d'eau. On munit le ballon d'un agitateur mécanique, on met l'agitation en route et tout en maintenant la température intérieure du ballon à $+10^\circ$ par refroidissement extérieur on ajoute petit à petit 205 cc de soude 10 N. Lorsque toute la soude a été introduite, on ajoute de l'acide acétique jusqu'à réaction acide à la phthaléine. Le produit réactionnel est filtré et lavé à l'eau. On obtient ainsi la majeure partie du produit. Un deuxième jet peut être obtenu par distillation de la méthyléthylcétone. On sèche et recristallise dans la méthyléthyl-

Prix du fascicule : 10 francs.



APPENDIX One

Photographs of Georges Sandulesco.

1896 - 1978



CONTEMPORARY LITERATURE PRESS
Editura pentru Literatură Contemporană

In the laboratory of the Sorbonne.



Monsieur et Madame. In Cannes.



CONTEMPORARY LITERATURE PRESS
Editura pentru Literatură Contemporană

December 1937. Skiing.



December 1937. Skiing.



CONTEMPORARY LITERATURE PRESS
Editura pentru Literatură Contemporană

Georges Sandulesco et Dr. André Girard.



CONTEMPORARY LITERATURE PRESS
Editura pentru Literatură Contemporană

28 December 1960



CONTEMPORARY LITERATURE PRESS
Editura pentru Literatură Contemporană

Avec M. le Docteur André Girard et sa femme.



Georges Sandulesco et Dr. André Girard.



CONTEMPORARY LITERATURE PRESS
Editura pentru Literatură Contemporană

Georges Sandulesco, en tenue de jardinier.



Georges Sandulesco, avc ses collaborateurs, dans son jardin de Cannes.



Georges Sandulesco: Protraits.





CONTEMPORARY LITERATURE PRESS
Editura pentru Literatură Contemporană



*Georges Sandulesco
en diverses périodes
de sa vie.*



*Georges Sandulesco:
Ses photos de passeport.*



APPENDIX Two

Personalia.



1. Extract de naștere. Page 1.

17084/33

REGATUL ROMÂNIEI

Primăria comunei *Suhina*
Plasa *Tulcea*
Județul

OFICIUL STĂRII CIVILE

EXTRACT

Din registrul actelor de *naștere* pe anul *1896*

No. *104.*

George Sandulescu
Protestant Român

Nașutul meu mie optzeci și cinci ani, căsătorit, home-
stai în domeniul meu optzeci, la ora două după a-
miază, act de naștere a lui George Sandulescu
de nașturalis, născut pe 10 în comuna Suhina
la ora mea dimineață în casa parohială
din strada Elisabetei. Căciul este
născut la Comisia Europeană Română
fiu a lui Ion Sandulescu în stare de
fai și paroh, de profesie funcționar și a
doamnei Roda Sandulescu născută Căpă în stare
de fai și cinci ani, de profesie comerciant
bucuri domiciliat în Suhina. După declarația
făcută de tatăl care nu a înfățișat capitulul.
Intâlnit moarte. Vasile Comide în stare de
cinci și trei ani, de profesie comerciant,
olărlău moarte. Alături de nașutul în
stare de patruzeci și cinci ani, de profesie
comerciant, domiciliat în Suhina,
care are subscris acest act după ce
le lămură în prezența cu noi.



3. Extract de naștere. Page 3.



4. Extract de naștere. Page 4.

Formular No. _____

CĂ PENTRU CHITANȚE

Factura *Sylva*
Comuna *Sulina*
No. *2693* al recepției,
No. _____ al jurnalului,

Sau, pentru a receptiv încredințez că am primit de la
Dn. *St. Dumitru*

următoarele sume:

Pentru *un extract naștere 10/4/96* 1

(Art. _____ din buget),

Pentru _____

(Art. _____ din buget),

Total _____

Adresa pe care tat. lei *mine*

Anul *1916* luna *Martie* ziua *10*

Percepție *D. Prăghia*



5. Certificat de naștere.


 Municipality of Salina
 Municipality of Salina
 Municipality of Salina
 Municipality of Salina

Official of the Civil Registry
 R. A. T. B. A. C. T.

Din registrul actelor stărei civile pentru anul 1986, 1987

Nr. 104
 S. S. S. S. S.
 Sandulescu

Proba de
 S. S. S. S. S.

Din anul una mie opt sute nouăzeci și șase, luna Mai în com
 acti uni mila la ore două după amiază; Act de naștere a lui
 George Sandulescu de sex masculin, născut era în comuna Salina
 la ora șase dimineață în casa părinților din strada Elisab
 beta Doamna cetăii etabilimentelor Comisariatului Săracilor Doam
 bine, în a c-ului Ioan Sandulescu în starea de trei ani și șase
 luni, de profesie funcționar, și a Doamnei Maria Sandulescu nă
 cută în oraș, în starea de trei ani și șase luni, de profesie comi
 ch, ambii domiciliu în Salina, după declarațiunile făcute de
 tatăl omului de-a treisprezece copilul. În ziua următoare: Vasili Iac
 născut, în starea de cinci ani și trei luni, de profesie comerciant,
 al căruia marcată Milica Sandulescu, în starea de patru ani și
 șase luni, de profesie comerciant, ambii domiciliu în Salina, și
 cu subscrisă acest act, după ce li s-a citit în prezența de noi
 și cu declarațiunile, constatate după legea de noi înainte de
 tatăl lui, Adjunctul Primarului Urbei Salina, și ofițer stă
 civile.

Declarațiunile (a) I. Sandulescu
 (a) V. Ioanides
 Marcată: (a) Milica Sandulescu

Ofițer stărei civile delegat (a) I. J. J. J. J.
 Pentru Confirmare: *[Signature]*

R. A. T. B. A. C. T.
 Municipality of Salina
 Municipality of Salina
 Municipality of Salina



6. Buletin de naștere.

 **BULETIN DE NASCERE**
PENTRU COMUNELE URBANE

No. 104 Județul Iuliusa
Sta Salina
Primăria comunei Salina

Numele de familie Sandulescu
Prenumele de botez George
Născut la douăzeci și șapte. Mai
Strada Elisabeta Birnău No. pară
Inscris... astăzi în registru sub No. 104
Fiul a Doi Ioan Sandulescu
Și a Doi Ado Sandulescu
Spre credință s'a liberat acest bilet pentru a servi la ce-
remonia religioasă.

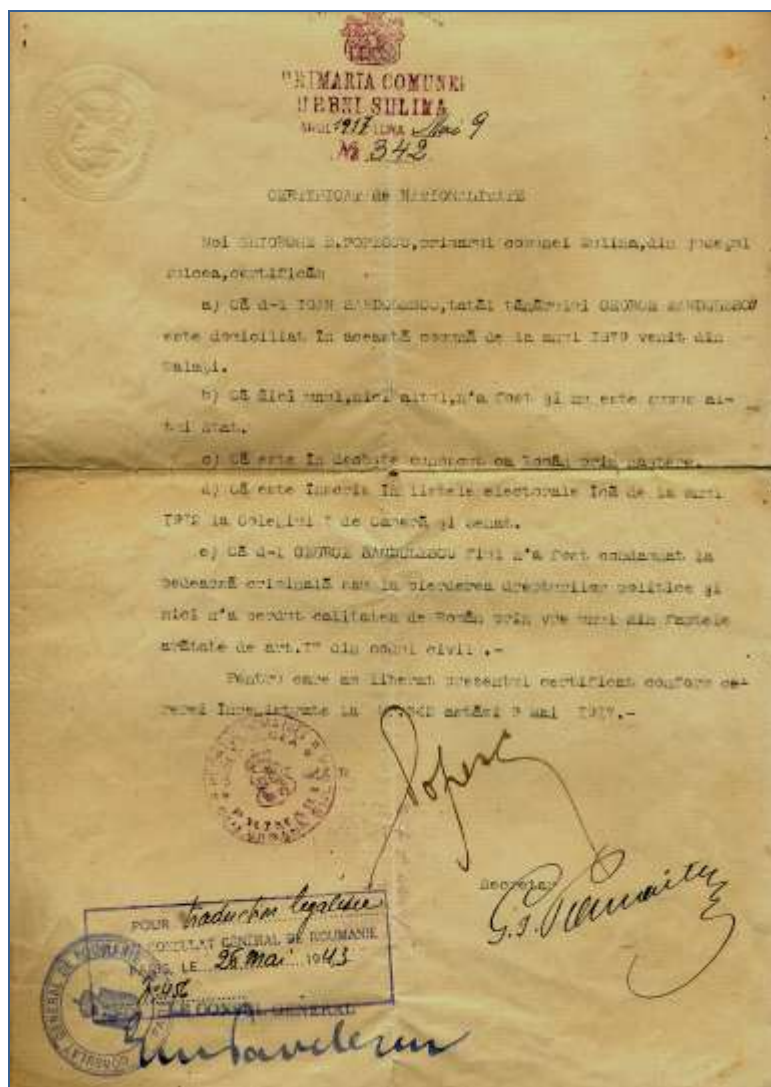
(Sigiliul primăriei)

PRIMAR, D. J. J. J.

Anul una mie opt sute nouăzeci și 6 luna Mai ziua 28



7. Certificat de naționalitate.



8. La data de 99 Iunie 1903, Georges Sandulesco obține Certificatul de absolvire al Școlii Primare de Băieți din Sulina.

School Leaving Certificate.

MINISTERUL CULTELOR ȘI AL INSTRUȚIUNII PUBLICE
INVETĂMINTUL PRIMAR DIN ROMÂNIA

Scoala primară de băieți
Sulina

CERTIFICAT DE ABSOLVIRE

Se atestă că, elevul Sandulescu George, născut la anul 1896, luna ..., ziua ..., în comuna Sulina, județul ..., de religie ... și de naștere ..., copil al ... de profesie ..., domiciliat în ... a terminat învățământul primar cu următoarele rezultate:

INDICAREA TRIMESTRULUI	Obiectele de studiu și notele										SITUAȚIA DIN ANI PRECEDENȚI				
	Limba Română	Matematică	Geografie	Istorie	Științe	Artă	Handicraft	Alte	Medie	Progres	ANUL ȘCOLAR	Progres	Medie	Progres	
I	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
II	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
III	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
Medie generală	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	

Observații:

Acord certificat s'a putut în conformitate cu matriculele școlii și actele ce ni s'a prezentat, dând dreptul de a studia în școala de învățământ primar.

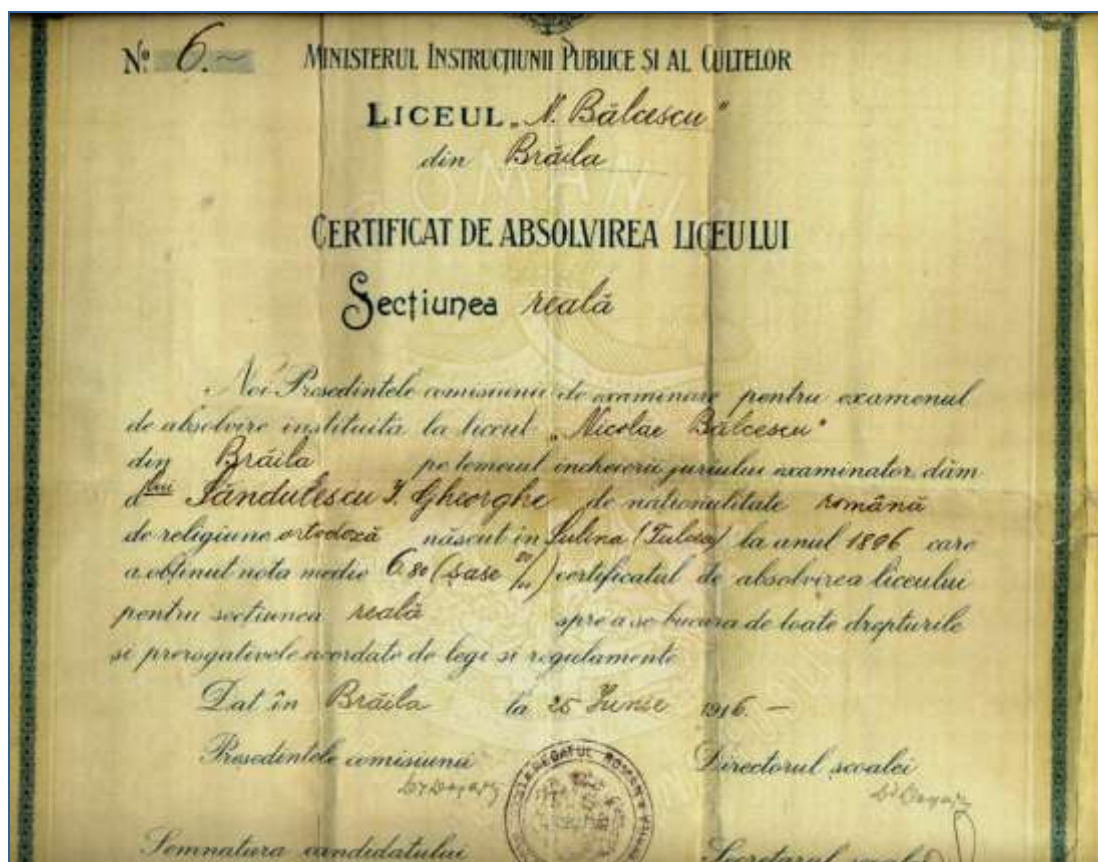
Directorul Școlii ...
Data 99 Iunie 1903 Locul Sulina

Secretarul școlii Sandulescu George



9. La data de 25 Iunie 1916, Georges Sandulesco a obținut Certificatul de absolvire a Secțiunii Reale de la Liceul „Nicolae Bălcescu” din Brăila (echivalent al Certificatului de Bacalaureat).

Diplome de Baccaluréat ès Sciences.



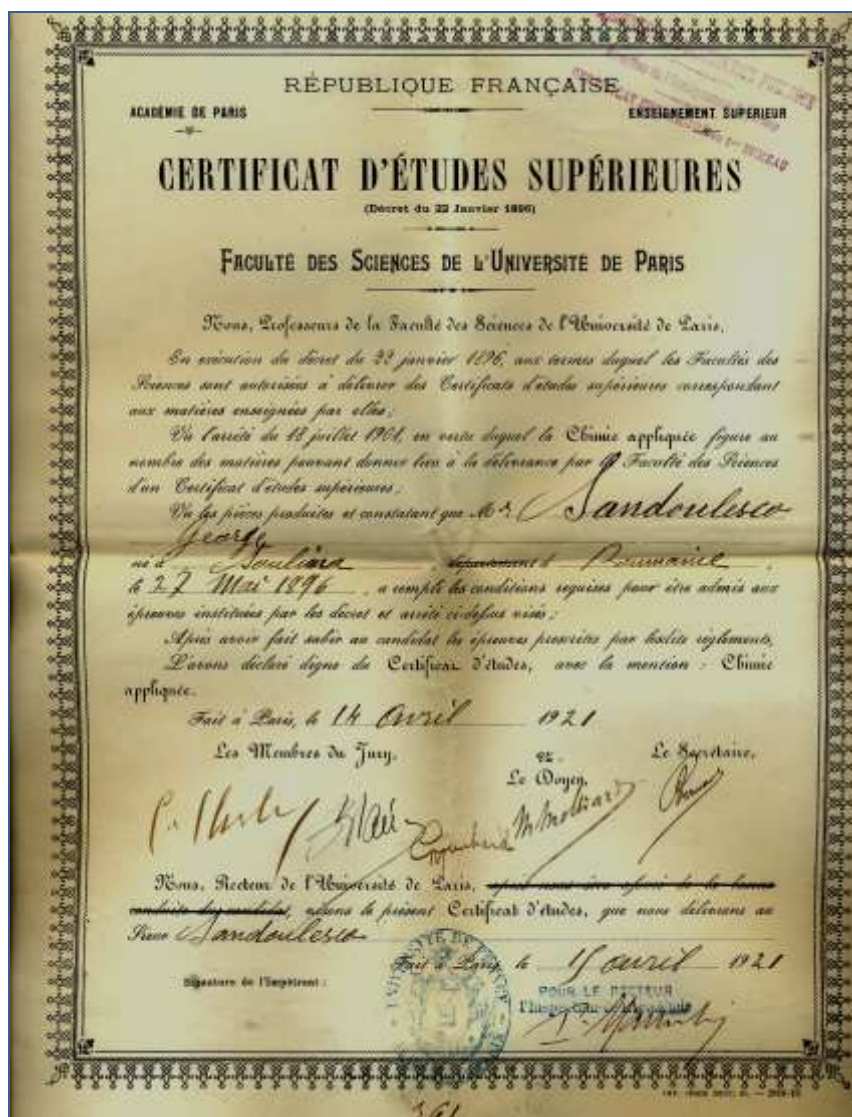
10. La data de 31 iulie 1920, Georges Sandulesco obține Certificatul de Studii Superioare al Facultății de Științe de la Paris (La Sorbonne), la secția de Chimie Generală.

Degree Certificate: General Chemistry.



11. La data de 14 aprilie 1921, Georges Sandulesco obține Certificatul de Studii Superioare al Facultății de Științe de la Paris (La Sorbonne), la secția de Chimie Aplicată.

Degree Certificate: Applied Chemistry.



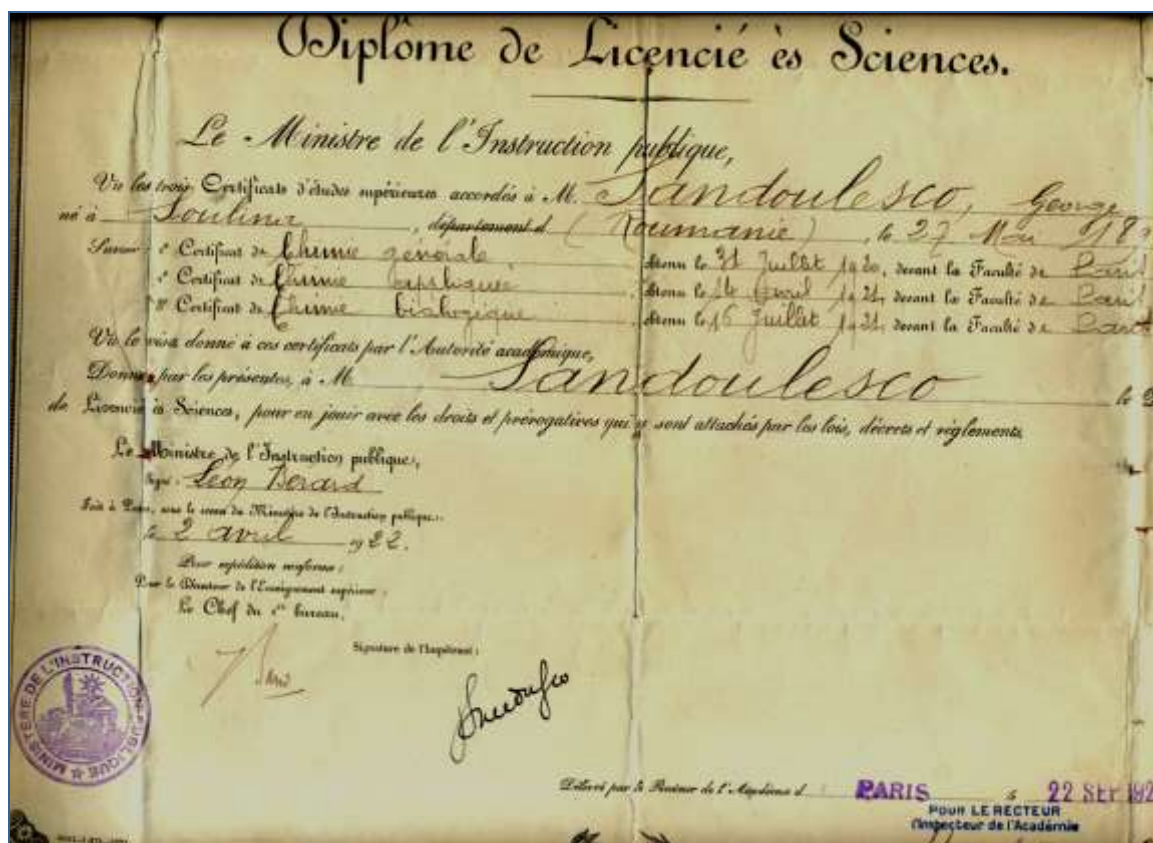
12. La data de 16 iulie 1921, Georges Sandulesco obține Certificatul de Studii Superioare al Facultății de Științe de la Paris (La Sorbonne), la secția de Chimie Biologică.

Degree Certificate: Biological Chemistry.



13. La data de 22 septembrie 1922, Georges Sandulesco obține confirmarea de către Ministrul Instrucțiunii Publice a Diplomei de Licențiat în Științe.

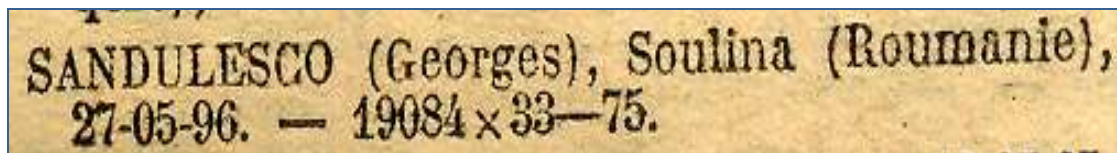
Diplôme ès Sciences.



14. Georges Sandulesco a obținut cetățenia franceză prin Decretul Guvernului francez abia în 1948, la peste treizeci de ani de la sosirea sa pentru prima dată în Franța, înainte de primul Război Mondial.

Acordarea cetățeniei franceze a fost confirmată prin apariția numelui său în *Journal Officiel de la République Française*, purtând data de 25 aprilie 1948.

Acquisition of French Nationality in April 1948.



25 Avril 1948 JOURNAL OFFICIEL DE LA RÉPUBLIQUE FRANÇAISE 4035	
NATURALISATIONS ET RÉINTEGRATIONS	
Arrêté du 16 avril 1948 portant naturalisation, réintégration, mention d'absence comme membre suppléant de l'élection du Palais national attaché à l'acquisition de leurs parents, français de naissance. Le président du conseil des ministres, sur le rapport du ministre de la santé publique et de la population, Vu l'arrêté du 12 octobre 1945 portant liste de la nationalité française, contrôle les listes sur l'acquisition et la perte de la nationalité, ainsi que sur la franchise du droit	
ARNALDI, née LEMMI, France (Italie), 24-05-92. — 2194 x 42-42. ARAGONI, née FOLGER, la Roche (Suisse), 11-09-21. — 2088 x 25-22. ANDREONI (Gaston), Gennes (Italie), 26-09-98. — 2020 x 36-23. ANDREWS (Hector), Lefevre (Pologne), 20-02-08. — 2234 x 36-25. ANCHERI, des COGLIONI, Florence (Italie), 03-06-28. — 2271 x 25-28. ANCHERI (Dorotea), Bessand (Opre-Mari-Lines), 17-04-03. — 2070 x 24-20. ARLANIAN, née ARLANIAN, Gai (Ave M. deute), 07-06-06. — 2202 x 25-16. ARLANIAN (Dorotea), Gai (Ave M. deute), 29-04-06. — 2202 x 25-16. ARLANIAN, née KARAYAN, Algérie (Ave M. deute), 12-04-06. — 2202 x 25-16.	BATTELLI, née VILA, Castel de Aze (Portugal), 15-05-04. — 2202 x 25-16. BATTELLI (Hector), Angoulême (France), 11-02-21. — 2088 x 25-22. BATTELLI (Hector), Angoulême (France), 11-02-21. — 2088 x 25-22. BAUTHELET (Victor), Varsovie (Pologne), 09-01-01. — 2054 x 27-25. BAUTHELET, née BRANATOWICZ, Varsovie (Pologne), 09-01-01. — 2054 x 27-25. BEHRENDT (Hector), Karpacz (Ave M. deute), 24-02-03. — 2202 x 25-16. BEHRENDT, née COCHERONNET, Karpacz (Ave M. deute), 24-02-03. — 2202 x 25-16. BEHRENDT, née COCHERONNET, Karpacz (Ave M. deute), 24-02-03. — 2202 x 25-16. BEHRENDT, née COCHERONNET, Karpacz (Ave M. deute), 24-02-03. — 2202 x 25-16. BEHRENDT, née COCHERONNET, Karpacz (Ave M. deute), 24-02-03. — 2202 x 25-16.

4036 JOURNAL OFFICIEL DE LA RÉPUBLIQUE FRANÇAISE	
BOUQUIN (Joseph), Valence (Espagne), 23-01-07. — 2194 x 42-42. BOUQUIN (Louis), Sesto al Reghena (Italie), 23-02-21. — 2202 x 25-16. BOUQUIN, née BREZZO, Bodelucero (Italie), 14-04-22. — 2202 x 25-16. BOUQUIN (Marc), Domo Dossola (Italie), 02-11-05. — 2202 x 25-16. BOUQUIN (Georges), Castel di Giallo (Italie), 11-03-03. — 2202 x 25-16. BOUQUIN (Gaston), Castel di Giallo (Italie), 23-04-21. — 2202 x 25-16. BOUQUIN, née KIEZBAUM, Loda (Pologne), 15-10-05. — 2194 x 42-42. BOUQUIN (Hector), Loda (Pologne), 16-04-03. — 2194 x 42-42. BOUQUIN (Hector), Saint-Agata (Italie), 29-11-11. — 2202 x 25-16. BOUQUIN, née CORRA, Isola della Scala (Italie), 23-03-08. — 2194 x 42-42. BOUQUIN (Armando), Santa Maria (Italie), 05-01-07. — 2194 x 42-42. BOUQUIN (Malka), Varsovie (Pologne), 01-02-18. — 2202 x 25-16. BOUQUIN (Mordka), Varsovie (Pologne), 15-12-01. — 2194 x 42-42. BOUQUIN, née SALAMANOWICZ, Varsovie (Pologne), 06-10-07. — 2194 x 42-42. BOUQUIN, née SOLA, Ivry-sur-Seine, 13-05-01. — 2088 x 25-22. BOUQUIN (Romaine), Sals Biellesse (Italie), 20-01-04. — 2194 x 42-42. BOUQUIN (Wolf), Varsovie (Pologne), 25-10-12. — 2202 x 25-16. BOUQUIN, née ZAKS, Katowice (Pologne), 29-11-20. — 2202 x 25-16. BOUQUIN (Armando), Ruda (Pologne), 01-01-06. — 2194 x 42-42.	SALVI (Antoine), Bormano (Italie), 10-05-27. — 2202 x 25-16. SAMMARTINO, née SCHLENA, Tunis (Tunisie), 25-10-11. — 2202 x 25-16. SAMMARTINO (Seigneur), Tunis (Tunisie), 09-08-11. — 2202 x 25-16. SAMMARTINO, née NICOLAN, Adda Baraz (Turquie), 14-05-12. — 2202 x 25-16. SAMMARTINO (Pierre), Maraca (Turquie), 30-04-06. — 2202 x 25-16. SANCHEZ (Andree), Alba de Tallas (Espagne), 18-12-26. — 2202 x 25-16. SANCHEZ (Hector), Avila (Espagne), 08-10-20. — 2202 x 25-16. SANCINI (Dimitrie), Gessate (Italie), 05-02-02. — 2202 x 25-16. SANCINI, née BERTINI, Gessate (Italie), 27-10-02. — 2202 x 25-16. SANDALUNIAN (Maurice), Smyrne (Turquie), 05-10-02. — 2194 x 42-42. SANDALUNIAN, née YAZEGIAN, Smyrne (Turquie), 20-07-19. — 2194 x 42-42. SANDULESCO (Georges), Soulina (Roumanie), 27-05-96. — 19084 x 33-75. SANCINETTI (Ivan), Sestri (Italie), 16-07-07. — 2202 x 25-16. SANNICOLA (Giovanni), Terragnole (Italie), 26-12-02. — 2202 x 25-16. SANTAFE (Joseph), Rubiales (Espagne), 08-09-11. — 2202 x 25-16. SANTAGA (Joseph), Magliana (Italie), 15-11-06. — 2202 x 25-16. SANTAGA, née ROSINA, Magliana (Italie), 25-08-09. — 2202 x 25-16. SARRESIAN (Hector), Salonique (Grèce), 29-06-23. — 2202 x 25-16. SAVAIANO (Joseph), Fozzillas (Gard), 07-05-29. — 2202 x 25-16. SAVAIANO, née SAVAIA, Porto Farina (Tunisie), 10-05-27. — 2202 x 25-16.



15. Carnet de ofițer. Locotenent de geniu / 1.

Ministerul Armatei

Corpul de trupă sau serviciul
Regimentul 5. Pionieri

Model F.
TRIBUNAL
2e JA
SEINE
N. 8011

Ne varietur
Paris, le 20/10/1912

Carnetul No. *) *156*

al

Ofițerului de Rezervă

Numele *Sandulescu*

Pronumele *George*

Gradul *Locotenent*

Arma *Geniu*

Corpul de trupă *Regt. 5. Pionieri*

*) Fiecare carnet va purta un număr de ordine dat de corpul sau serviciul care l'a emis.
In acest scop corpurile de trupă și serviciile armatei vor ține un tabel de seriile carnetelor Md. E1. ce-au emis cu indicarea posesorului.



16. Carnet de ofițer. Locotenent de geniu / 2.

